

Treball final de grau

Estudi: Grau en Enginyeria Química

Títol: Modelització i optimització del procés de fermentació del cacau

Document: Memòria

Alumne: Jaime Wilfrido López Vásquez

Tutor: Jaume Pinsach Boada

Departament: Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària

Àrea: Enginyeria Química

Convocatòria (mes/any): Setembre/2024

ÍNDIX

1.	RESUM.....	1
2.	PARAULES CLAU	2
3.	AGRAÏMENTS.....	3
4.	INTRODUCCIÓ.....	4
4.1	EL CACAU	4
4.1.1	VARIETATS DE CACAU.....	5
4.1.2	REGIONS PRODUCTORES DEL GRA DE CACAU	8
4.2	ETAPES DEL PROCÉS D'OBTENCIÓ DEL GRA DE CACAU EN ORIGEN I A DESTINACIÓ ..	8
4.2.1	RECOL·LECCIÓ	9
4.2.2	FERMENTACIÓ	10
4.2.3	ASSECAT.....	17
4.2.4	SELECCIÓ.....	17
4.2.5	TORREFACCIÓ	18
4.3	EXPOSICIÓ DEL PROBLEMA.....	19
5.	OBJECTIUS	20
6.	MATERIALS I MÈTODES	21
6.1	DEFINICIÓ DEL MODEL.....	21
6.2	CALIBRACIÓ DEL MODEL.....	29
6.3	OPTIMITZACIÓ	43
7.	RESULTATS I DISCUSSIÓ	45
7.1	DEFINICIÓ DEL MODEL.....	45
7.2	CALIBRACIÓ DEL MODEL.....	48
7.3	OPTIMITZACIÓ	55
8.	CONCLUSIONS I RECOMANACIONS.....	63
9.	PRESSUPOST I PLANIFICACIÓ	64
9.1	PRESSUPOST DEL TREBALL.....	64
9.2	PLANIFICACIÓ DEL TREBALL.....	64
10.	BIBLIOGRAFIA.....	66

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1.- Evolució de la producció del gra de cacau al món, del 1961 al 2018 (Antolinez Sandoval et al., 2020).....	4
Figura 2.- Varietat Crioll	6
Figura 3.- Varietat Foraster	6
Figura 4: Varietat Trinitari	7
Figura 5.- Varietat Híbrida	7
Figura 6.- Regions productores de llavors de cacau (Ozturk and Young, 2017)	8
Figura 7.- Etapes del procés d'obtenció del gra de cacau realitzades pels productors de cacau en origen i culminades per l'indústria a destinació	9
Figura 8.- Recol·lecció de les baines de cacau.....	9
Figura 9.- Tisora d'esporgar.....	9
Figura 10.- Contingut de les baines de cacau (Santander Muñoz et al., 2020).....	10
Figura 11.- Distribució dels gèneres de (a) llevats (Y); (b) bacteris làctics (LAB); (c) bacteris acètics (AAB) (Díaz-Muñoz and De Vuyst, 2022).....	11
Figura 12.- Gèneres de llevats identificats des del 1937 fins al 2021 i mètodes de fermentació a diferents països (Schwan et al., 2023)	12
Figura 13: Xarxa de fonts de carboni i llevats inicials durant la fermentació del cacau (Schwan et al., 2023)	14
Figura 14: Dinàmica de la biomassa (De Vuyst and Weckx, 2016).....	16
Figura 15.-Degradació i cinètica de producció de les fonts de carboni (De Vuyst and Weckx, 2016)	16
Figura 16.- Esquema simplificat dels processos que es donen durant les 3 etapes que constitueixen l'etapa de fermentació	16
Figura 17.- Esquema del model plantejat de la fermentació del gra de cacau	22
Figura 18.- Diagrama de blocs del model proposat (1/5)	29
Figura 19.- Diagrama de blocs del model proposat (2/5)	30
Figura 20.- Diagrama de blocs del model proposat (3/5)	31
Figura 21.- Diagrama de blocs del model proposat (4/5)	32
Figura 22.-Diagrama de blocs del model proposat (5/5)	33
Figura 23.- Disseny del procés de fermentació millorat	44
Figura 24.- Esquema del model plantejar de la fermentació del gra de cacau.....	45
Figura 25.- Superposició valors experimentals i predits de la glucosa	50
Figura 26.- Superposició valors experimentals i predits de la fructosa	51
Figura 27.- Superposició valors experimentals i predits de l'etanol	51
Figura 28.-Superposició valors experimentals i predits de l'àcid làctic	52
Figura 29.-Superposició valors experimentals i predits de l'àcid acètic	52
Figura 30.- Superposició valors experimentals i predits dels <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	53
Figura 31.- Superposició valors experimentals i predits dels <i>Lactobacillus plantarum</i>	53
Figura 32.- Superposició valors experimentals i predits dels <i>Acetobacter acetii</i>	54
Figura 33.- Disseny del procés de fermentació millorat	57
Figura 34.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de la glucosa	57
Figura 35.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de la fructosa	58
Figura 36.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'etanol.....	58
Figura 37.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'àcid làctic	59
Figura 38.-Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'àcid làctic	59

Figura 39.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	60
Figura 40.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels <i>Lactobacillus plantarum</i>	60
Figura 41.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels <i>Acetobacter aceti</i>	61
Figura 42.- Diagrama de Gantt de la planificació del projecte	65

ÍNDEX DE TAULES

Taula 1.- Taxa de creixement i mortalitat de la biomassa i decadència de les fonts de carboni del model de l'etapa de fermentació del gra de cacau.....	25
Taula 2.- Constants de saturació	26
Taula 3.- Rendiments	27
Taula 4.- Velocitats de creixement màximes dels microorganismes	27
Taula 5.- Paràmetres de mortalitat dels microorganismes	28
Taula 6.- Paràmetres de decaïment	28
Taula 7.- Variables	28
Taula 8.- Valors inicials de les diferents variables del model (Lefeber, Gobert, et al., 2011)	34
Taula 9.- Rangs de treballs de les constants de saturació.....	35
Taula 10.- Rangs de treball dels rendiments.....	35
Taula 11.- Taula 10, continuació	36
Taula 12.-Rangs de treball de les velocitats de creixement màximes dels microorganismes	37
Taula 13.- Rangs de treball dels paràmetres de mortalitat dels microorganismes	37
Taula 14.- Rangs de treball dels paràmetres de decaïment.....	38
Taula 15.- Variació de la temperatura en funció del temps (Ramos et al., 2014)	39
Taula 16.- Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Lip et al., 2020).....	40
Taula 17.- Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels <i>Lactobacillus plantarum</i> (Matejčková et al., 2016)	40
Taula 18.-Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels <i>Acetobacter Aceti</i> (De Ory, Romero and Cantero, no date).....	40
Taula 19.- Valors experimentals de l'evolució de les fonts de carboni (Lefeber, Gobert, et al., 2011)	41
Taula 20.- Valors experimentals de l'evolució dels microorganismes (Miguel et al., 2017).....	41
Taula 21.- Rangs de treball de temperatura	43
Taula 22.- Taxa de creixement i mortalitat de la biomassa i decadència de les fonts de carboni del model de l'etapa de fermentació del gra de cacau.....	47
Taula 23.- Valors estimats de les constants de saturació	48
Taula 24.-Valors estimats dels paràmetres de decaïment.....	48
Taula 25.- Valors estimats dels rendiments	49
Taula 26.-Valors estimats de les mortalitats dels microorganismes.....	50
Taula 27.- Rangs de treball de temperatura	56
Taula 28.- Resum costos.....	64

1. RESUM

Aquest treball té la finalitat de millorar l'estat de producció dels productors de cacau a Sant Carlos, un poble d'Equador. Actualment, els productors pateixen les fluctuacions de preu derivades de les dinàmiques del mercat. Atès que l'etapa de fermentació, que es du a terme en origen, és clau per establir els preus de venda, el present treball desenvolupa un model del procés de fermentació del cacau amb l'objectiu de proposar millores a nivell de disseny del procés i condicions d'operació per tal de millorar-ne la productivitat i, per tant, augmentar la capacitat de negociació dels productors enfront els intermediaris. Es pretén que aquestes millores siguin aplicables en origen, donada la limitació de recursos.

2. PARAULES CLAU

- Saccharomyces Cerevisiae
- Lactobacillus Plantarum
- Acetobacter Aceti
- Fermentació
- Balanços de matèria
- Cinètiques
- Modelització

3. AGRAÏMENTS

De tot cor, vull agrair a en Jaume Pinsach Boada, el meu tutor de TFG, per ser el meu company en aquesta aventura tan boja. Quan li vaig proposar el tema i es va decidir realitzar la modelització i calibració d'un procés, no m'imaginava ni un 20% del que comportaria aquest treball. Sens dubte, la ignorància té els seus avantatges. Agraeixo el seu temps invertit (que no ha estat poc), la seva actitud i, sobretot, la seva paciència, ja que avançar en aquest treball ha estat tot un repte. Sovint, quan fèiem dos passos endavant, en reculàvem quatre, donant la sensació de no avançar o fins i tot d'empitjorar la situació. Aquest treball m'ha estat molt útil per assimilar molts conceptes havia treballat al llarg del grau. També agraeixo els seus consells, que m'han ajudat a pensar d'una manera més crítica i estructurada.

Gràcies a la seva guia i suport he après que tot esforç té la seva recompensa i que de tot se'n surt.

Finalment, vull agrair a la meva família per tot el suport en el desenvolupament d'aquest treball. La seva comprensió, paciència i ànims han estat fonamentals per poder superar aquest repte i mantenir la motivació en tot moment.

4. INTRODUCCIÓ

L'experiència de tastar un producte mundialment conegut com a xocolata sol ser agradable degut a la dolçor del producte. La xocolata destaca per la seva diversitat de sabors, i combinacions, abastant tot tipus de gustos i preferències personals. Tots aquests productes comparteixen un mateix ingredient: el gra de cacau.

Gràcies al creixement de la indústria de la xocolata, la popularitat i la demanda del cacau cada cop és major (Figura 1), estenent la seva utilització en diversos sectors com el de la cosmètica, on s'utilitza en cremes hidratants i màscares facials. Però el gra de cacau no només és clau per l'elaboració de productes de consum a nivell global, sinó que també és una font de vida per als productors en origen.

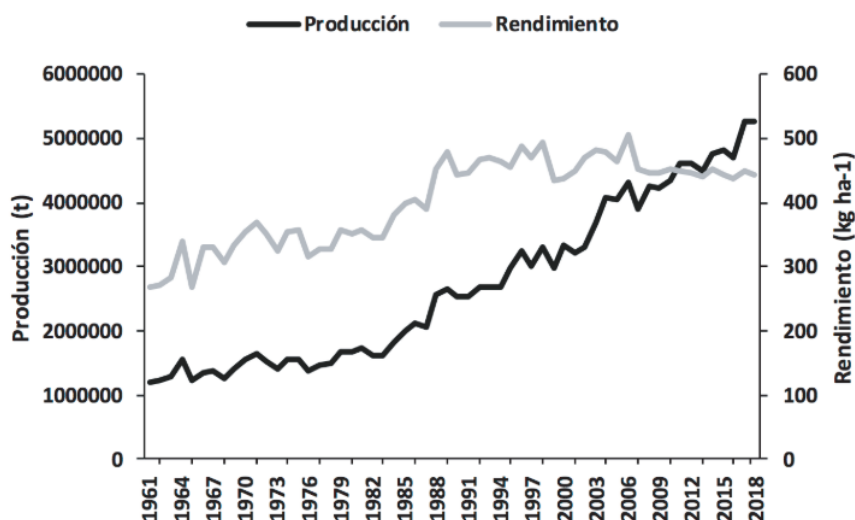


Figura 1.- Evolució de la producció del gra de cacau al món, del 1961 al 2018 (Antolinez Sandoval et al., 2020)

4.1 EL CACAU

El cacau pertany a la família *Sterculioideae* i al gènere *Theobroma*, el qual conté 22 espècies (Antolinez Sandoval et al., 2020). D'aquestes, el *Theobroma cacao* L., conegut com l'arbre de cacau, és l'espècie més destacada degut al valor econòmic de les seves llavors. Una curiositat destacable és que el nom *Theobroma cacao* L. va ser atorgat pel botànic Carlos Linneo, formulant un joc de paraules gregues a partir de l'origen del cacau. I és que el seu consum es remonta a la cultura dels Olmeques (Motamayor et al., 2002; Rangel-Fajardo et al., 2012). Antigament es consumien aquestes llavors en forma de beguda, generalment composta per les llavors, aigua i xili. No obstant això, el seu consum no era habitual ja que es creia que la baina de cacau era un

fruit diví i, per aquest motiu, aquesta beguda era reservada per a festes o esdeveniments importants. Amb el pas del temps, la cultura del cacau es va expandir a les civilitzacions Maia i Asteca. Amb tot això, el botànic Carlos Linneo va desenvolupar el joc de paraules format pels termes "*theo*" (que significa Déu), "*broma*" (que significa aliment), i "*cacao*", que es deriva de les llengües Olmeca i Maia ("*Kakaw*") (Motamayor et al., 2008; Rangel-Fajardo et al., 2012).

Aquest és un arbre perenne natiu de les regions tròpicals humides d'Amèrica. Solen créixer entre 8 i 15 metres d'altura (Lima et al., 2011), tot i que poden arribar als 25 metres (Antolínez Sandoval et al., 2020). No obstant això, en condicions de cultiu intensiu aquesta es pot limitar entre 2.5 i 3 metres mitjançant la poda (Lima et al., 2011) per millorar-ne el control fitosanitari (per prevenir, combatre i eliminar plagues). L'arbre de cacau inicia el seu cicle de floració i fructificació entre els 3 i 4 anys després de la seva sembra, arribant a la seva collita màxima entre els 6 i 7 anys de vida (Cacao, no date). Produeix fruits de manera contínua al llarg de tot l'any, generant entre 15 i 20 baines anualment. Aquestes baines presenten una varietat de formes, polimorfes amb formes esfèriques o còniques, que mesuren entre 10 i 20 cm de longitud i 7 cm d'amplada amb un pes que oscil·la entre els 200 i els 1000 g (Cacao, no date).

L'arbre de cacau es va desenvolupar de manera independent al nord i al sud d'Amèrica, evolucionant com a dues subespècies diferents, *Theobroma cacao subspecies cacao* i *Theobroma cacao subspecies sphaerocarpum* (Motamayor et al., 2002, 2008; Valencia Carreño et al., 2022), conegudes com a les varietats Crioll i Foraster, respectivament. Més endavant, va aparèixer de forma natural una espècie híbrida entre el Crioll i el Foraster, anomenada Trinitari. Es creu que la seva primera aparició va ser a l'illa Trinitat, on, degut a un huracà, gran part de la plantació de l'espècie Crioll va ser arrasada i la seva replantació va originar aquesta nova espècie (Rangel-Fajardo et al., 2012; Herrera-García, Aragón-Obando and Aguilar-Bustamante, 2018). Malgrat les diferències morfològiques i genotípiques entre les espècies de cacau, el sistema de classificació d'aquest es basa en els atributs del sabor de les seves llavors (Lima et al., 2011).

4.1.1 VARIETATS DE CACAU

La varietat Crioll (Figura 2) presenta una baixa robustesa i productivitat. La seva predisposició a malalties, insectes i estrès en limita la seva presència en els cultius en comparació amb altres varietats. Els seus fruits, allargats i acabats en punta, adquireixen un color vermell o groc un cop madurs, amb uns profunds solcs que presenten una superfície rugosa. Les seves llavors

presenten una forma arrodonida de color blanc o morat molt clar (Bhattacharjee and Akoroda, 2018; Herrera-García, Aragón-Obando and Aguilar-Bustamante, 2018).



Figura 2.- Varietat Crioll

La varietat Foraster (Figura 3) presenta una robustesa i rendiment més alts respecte a l'espècie Crioll. Els seus fruits, allargats amb extrems rodons, adquireixen un color groc un cop madurs. D'altra banda, presenten uns solcs amb una rugositat menys pronunciada que en la varietat Crioll. Les seves llavors presenten una forma aplanada de color morat (Bhattacharjee and Akoroda, 2018; Herrera-García, Aragón-Obando and Aguilar-Bustamante, 2018).



Figura 3.- Varietat Foraster

La varietat Trinitari (Figura 4) presenta unes característiques intermèdies entre les Crioll i Foraster. Presenta una gran robustesa, alta productivitat i resistència a malalties i insectes. Els seus fruits i llavors presenten una àmplia variabilitat, tot i que els seus fruits adquireixen sempre una tonalitat morada un cop madurs (Bhattacharjee and Akoroda, 2018; Herrera-García, Aragón-Obando and Aguilar-Bustamante, 2018).



Figura 4: Varietat Trinitari

Tradicionalment, aquesta és la principal classificació de varietats. No obstant això, amb el pas del temps, s'han desenvolupat altres tipus de classificació com ara la de varietats híbrides (on s'inclou la Trinitari) (Motamayor et al., 2008; Bhattacharjee and Akoroda, 2018), que es classifiquen en funció de la semblança amb les varietats Crioll i Foraster, influint també a l'estructura i el sabor del cacau.

En aquest cas (Figura 5), s'observa un exemplar d'una varietat híbrida de cacau. Morfològicament, presenta una superfície rugosa amb uns solcs pronunciats. Un cop madura, aquesta baina adquireix un color groc-verdós (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date), amb proporcions majors respecte les varietats Crioll i Foraster, presentant una major semblança a la varietat Crioll.



Figura 5.- Varietat Híbrida

En l'actualitat, el consum de varietats híbrides és més freqüent que el de les espècies "pures" pel fet que presenten una major robustesa, productivitat i resistència a malalties, contribuint a millorar els ingressos mínims dels productors (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date; De Vuyst and Weckx, 2016; Antolinez Sandoval et al., 2020).

4.1.2 REGIONS PRODUCTORES DEL GRA DE CACAU

Degut a l'anteriorment esmentada demanda creixent del cacau (Figura 1), la producció de cacau s'ha expandit per diverses regions (Figura 6) com Ghana, Nigèria, Camerun, Uganda, Índia, Brasil, Equador, Mèxic, Perú i Madagascar, entre d'altres (Moreira et al., 2013; Ozturk and Young, 2017). En algunes regions de l'àrea equatorial, el cacau s'ha convertit en un element essencial per al creixement econòmic.

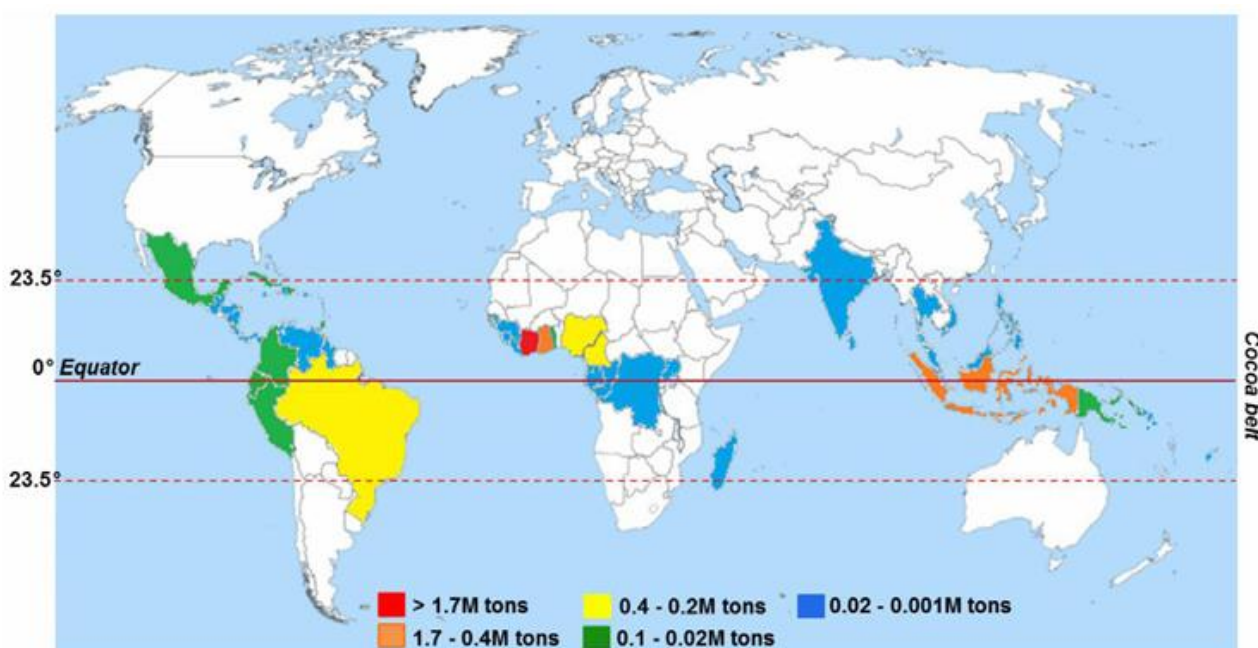


Figura 6.- Regions productores de llavors de cacau (Ozturk and Young, 2017)

4.2 ETAPES DEL PROCÉS D'OBTENCIÓ DEL GRA DE CACAU EN ORIGEN I A DESTINACIÓ

Les baines alberguen una polpa blanca viscosa que envolta la llavor de l'arbre de cacau, coneguda com a gra. El consum immediat del contingut de les baines no és una pràctica habitual ja que el gra de cacau és amarg, i la polpa, malgrat ser dolça, desprèn un olor fort (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date; De Vuyst and Weckx, 2016). Per tal que el seu consum sigui agradable, es processa el contingut de les baines mitjançant una sèrie d'etapes (Figura 7). Les primeres són realitzades pels productors en origen (recol·lecció, fermentació, assecat i selecció), mentre que la darrera es realitza en indústries ubicades a destinació (torrefacció).

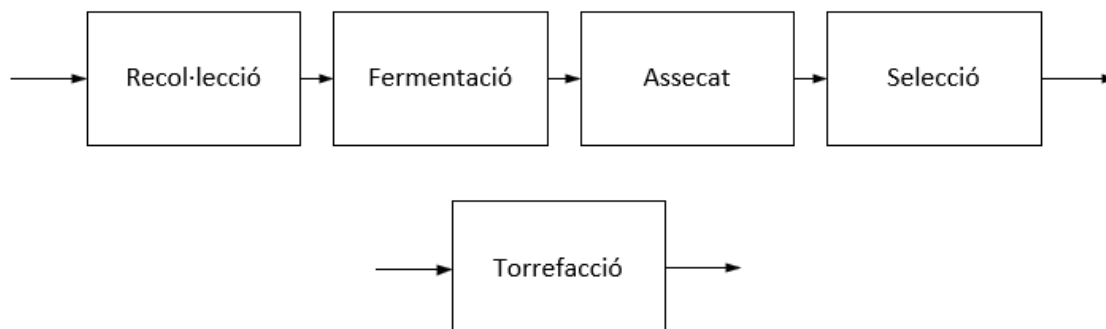


Figura 7.- Etapes del procés d'obtenció del gra de cacau realitzades pels productors de cacau en origen i culminades per l'indústria a destinació

4.2.1 RECOL·LECCIÓ

La recol·lecció (Figura 8) és una fase dedicada a la recollida i agrupació de les baines madures. Aquesta etapa es caracteritza per a la seva delicadesa, ja que una mala recol·lecció pot perjudicar el creixement de les futures baines. Per aquest motiu, per a una bona recol·lecció s'utilitzen unes tisores d'esporgar (Figura 9) (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date).



Figura 8.- Recol·lecció de les baines de cacau



Figura 9.- Tisora d'esporgar

4.2.2 FERMENTACIÓ

La fermentació és una etapa que es realitza de forma natural en origen, iniciant-se per l'exposició del contingut de les baines de cacau a l'aire. La massa que fermenta consta d'una polpa blanca viscosa que envolta la llavor (Figura 10). El gra consta de dos cotiledons, un embrió i una cobertura externa (closca) (Ozturk and Young, 2017; Santander Muñoz *et al.*, 2020). Els cotiledons estan constituïts per dos tipus de cèl·lules, les parenquimàtiques o d'emmagatzematge (glòbuls de greix i cossos proteics, entre d'altres) i les pigmentades (polifenols i metilxantines) (Lima *et al.*, 2011). Aquestes darreres cèl·lules són les responsables de l'amargor de la llavor. A més, el gra conté sucres (4–6% de midó, 4–6% de pentosans, 2–3% de cel·lulosa, 2–3% de sacarosa), proteïnes (10–15%) i polifenols (15%) (Santander Muñoz *et al.*, 2020). D'altra banda, la polpa és una substància dolça, viscosa i àcida (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022). Habitualment conté un 82–87% d'aigua, 10–15% d'olis (glucosa, fructosa i sacarosa), 2–3% de pentosans, 1–3% d'àcid cítric i 1–1.5% de pectina (Santander Muñoz *et al.*, 2020). La composició concreta depèn de factors com l'altitud, les pràctiques agronòmiques durant el cultiu, del grau de maduració de les baines, el temps d'emmagatzematge, així com del temps d'exposició a l'aire, entre d'altres (De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022).

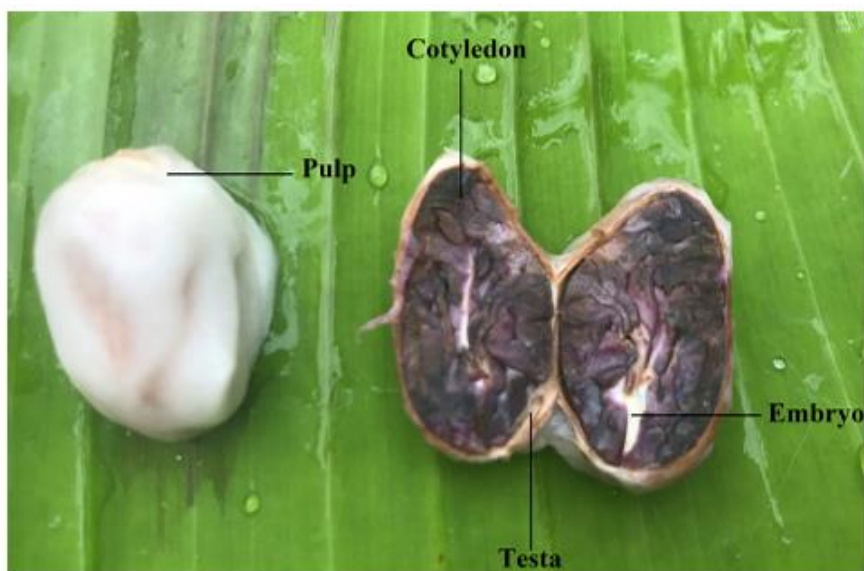


Figura 10.- Contingut de les baines de cacau (Santander Muñoz *et al.*, 2020)

La polpa del cacau alberga una abundant diversitat de microorganismes (Figura 11), els quals són responsables de l'inici i del desenvolupament d'aquesta etapa de fermentació. A data d'avui,

no existeix una descripció de la població microbiana ben definida (Lima *et al.*, 2011) degut a que la fermentació és una etapa complexa i es porta a terme en condicions no controlades. Malgrat el volum produït i la importància del cacau, l'etapa de fermentació encara es troba en estudi ja que es desconeix la importància i el paper que desenvolupen molts d'aquests microorganismes. A més, encara se'n continuen descobrint de nous. Tot i així, estudis apunten que la diversitat d'aquests microorganismes està estretament relacionada amb la diversitat dels components aromàtics del cacau. Els més significatius i estudiats a data d'avui són els llevats (Y), els bacteris làctics (LAB) i els bacteris acètics (AAB) (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Díaz-Muñoz and De Vuyst, 2022; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022).

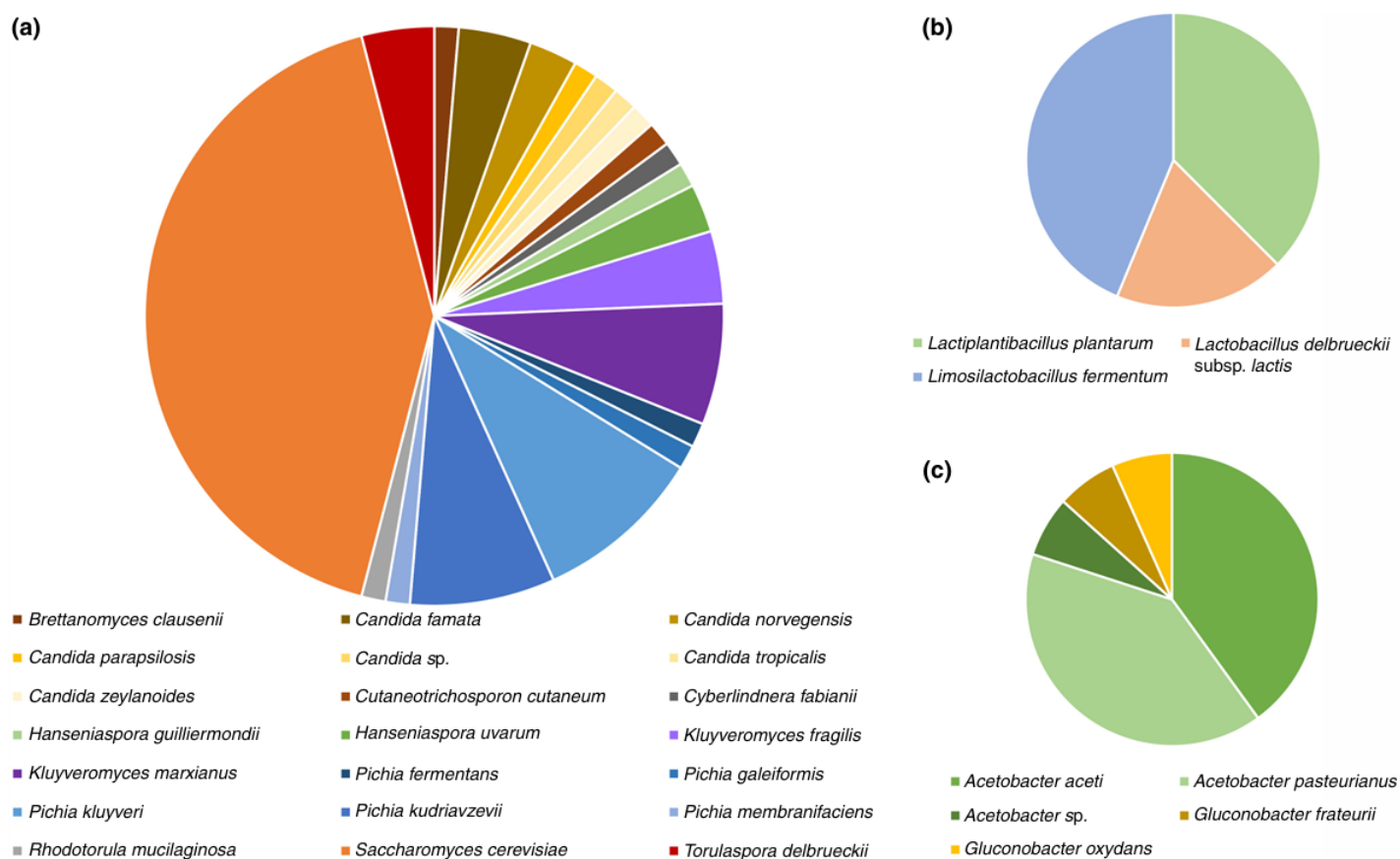


Figura 11.- Distribució dels gèneres de (a) llevats (Y); (b) bacteris làctics (LAB); (c) bacteris acètics (AAB) (Díaz-Muñoz and De Vuyst, 2022)

La fermentació es realitza agrupant el contingut de les baines de cacau en caixes, cistelles o plataformes, entre d'altres. L'elecció del mètode depèn de la regió i, sovint, es basa en tradicions locals (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date; De Vuyst and Weckx, 2016; Schwan *et al.*, 2023) (Figura 12).

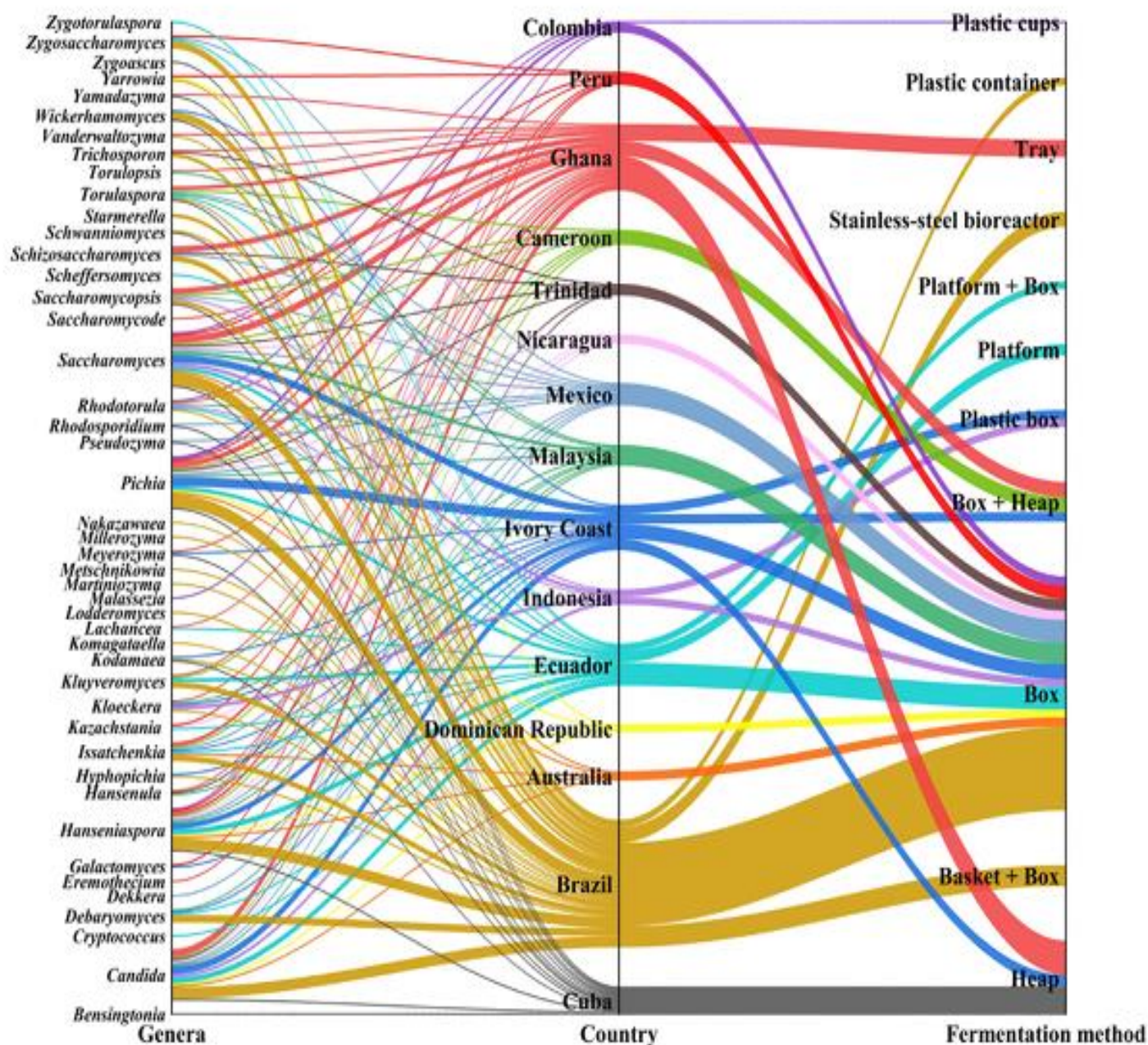


Figura 12.- Gèneres de llevats identificats des del 1937 fins al 2021 i mètodes de fermentació a diferents països (Schwan *et al.*, 2023)

Amb tot, la fermentació es caracteritza per les constants variacions en el temps de les espècies microbianes predominants en la polpa. És important destacar que no existeix un període de temps específic per l'etapa de fermentació ja que depèn de factors com la varietat de cacau, les condicions ambientals de la regió i del grau de maduresa de la baina, entre d'altres.

Tal i com s'ha esmentat anteriorment, l'inici de la fermentació ve marcada per l'exposició del contingut de les baines a l'aire. Això permet una inoculació derivada de la contaminació microbiana de l'entorn, causada per factors com l'aire, la pols, els insectes i les eines (Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022). Un cop la fermentació ha començat, l'empaquetament compacte de la massa de polpa dona lloc a una primera fase anaeròbica que s'allarga 24-48 hores. Durant aquesta primera fase, les baixes concentracions d'oxigen, juntament amb la temperatura ambient i l'acidesa inicial de la polpa, ofereixen condicions avantatjoses per al creixement dels llevats (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022).

Els llevats són responsables de la despectinització (eliminació o reducció de la pectina), donant lloc a la líquüefacció de la polpa, fet que provoca el drenatge (alliberació de suors) i la reducció de la viscositat d'aquesta. En conseqüència, es produeix l'entrada d'aire a la massa de la polpa i als grans de cacau. El llevat també produeix l'invertasa, un enzim que permet descomposar la sacarosa en glucosa i fructosa. Com a resultat, el contingut d'ambdós components augmenta, respecte als continguts inicialment a la polpa. Posteriorment, la glucosa com la fructosa són metabolitzats mitjançant una glucòlisis produint etanol i àcid acètic (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022) (Figura 16).

L'entrada d'aire provoca la transició d'una etapa anaeròbica a una etapa aeròbica, estimada en una duració entre 24 a 72 hores (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022). Aquesta transició, juntament amb l'augment del pH, la disminució de la glucosa i l'augment de la temperatura (degut a l'activitat microbiana, les fonts de carboni, les condicions ambientals..), fan que les condicions siguin més favorables pels microorganismes LAB respecte als llevats. En conseqüència les espècies LAB creixen mentre que el llevat comença a disminuir. Aquestes espècies metabolitzen la glucosa i fructosa mitjançant la glucòlisi i la via de la fosfocetolasa pentosa (PKP), produint etanol, àcid acètic i àcid làctic com a productes (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022) (Figura 16).

Tal i com es pot observar en la Figura 13, existeix una gran diversitat de fonts de carboni. Així doncs, és important destacar que totes les fonts produïdes i detallats amb anterioritat durant les tres fases corresponen als més comuns i estudiats. No obstant això, això no significa que siguin els més significatius o representatius, ja que encara es desconeix quina és la seva importància i la seva interacció al complet.

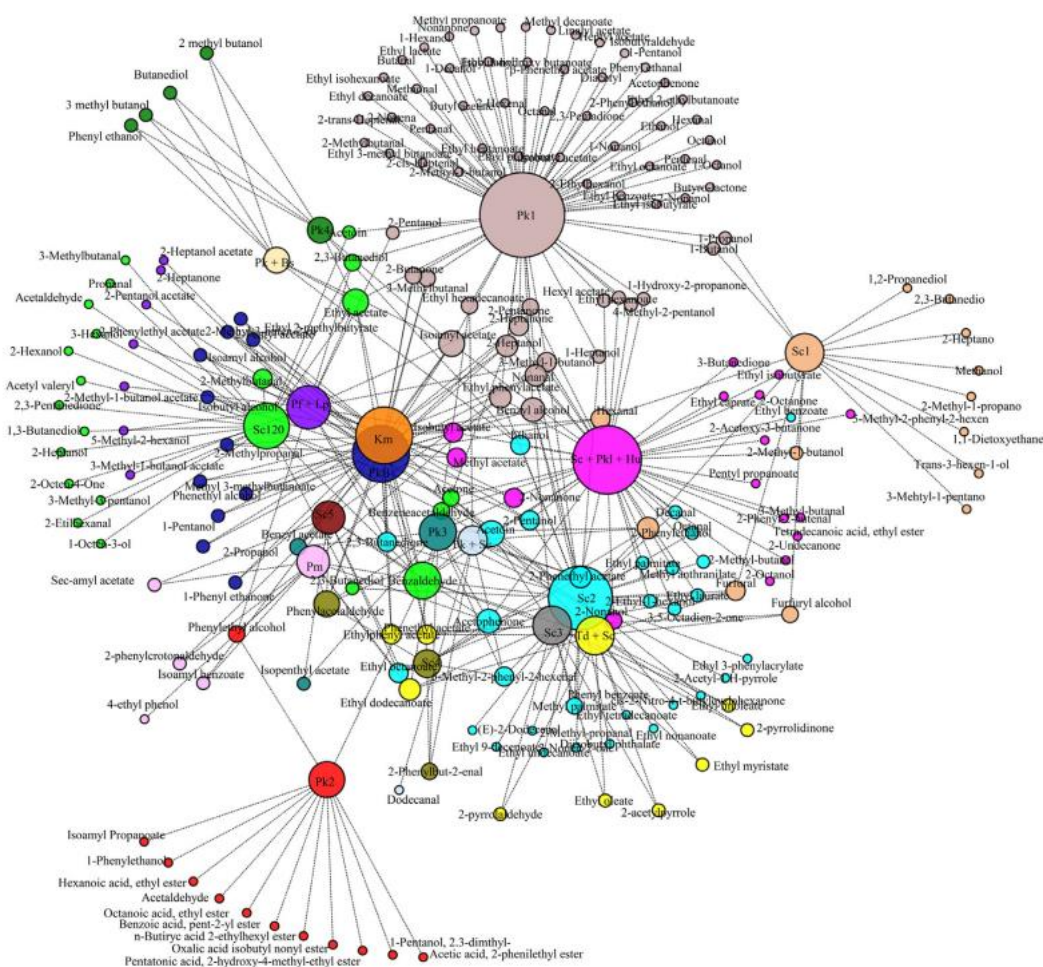


Figura 13: Xarxa de fonts de carboni i llevats inicials durant la fermentació del cacau (Schwan et al., 2023)

En el cas de la llavor, durant el procés de fermentació, factors com la penetració d'àcid acètic i etanol, l'increment de la temperatura i la reducció del pH provoquen la mort de l'embrió. Com a conseqüència, es produeix la descomposició d'estructures subcel·lulars dins de la llavor, impossibilitant així la seva germinació (Lima *et al.*, 2011; De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022).

Com a resultat d'aquests factors, es produeixen nombroses conversions enzimàtiques i l'alliberament de diversos compostos. Les reaccions enzimàtiques generen aminoàcids lliures i pèptids hidrofòbics, com ara l'alanina, fenilalanina, leucina i tirosina, els quals són precursors que contribueixen al sabor característic del cacau (Afoakwa *et al.*, 2008). A més, la degradació de Strecker (conversió d'un aminoàcid a un aldehid i una amina en medi àcid) produeix aldehids amb aromes únics. Per exemple, la degradació de l'alanina pot donar notes afruitades, la de la fenilalanina pot proporcionar notes dolces i amargues, i la de la leucina pot induir notes de xocolata (Afoakwa *et al.*, 2008).

Paral·lelament, la interacció del complex de proteïnes i pèptids amb els polifenols provoca la coloració marró típica dels grans de cacau fermentats (Afoakwa *et al.*, 2008).

Amb tot, l'etapa de fermentació és clau en el procés d'obtenció del gra de cacau, ja que és on es produeixen els precursors de sabor, aroma i color. Aquestes propietats són decisives per a l'acceptació del producte al mercat. Tot i així, no ha rebut la suficient atenció, portant-se a terme en condicions no controlades i, essent poc estudiada respecte les restants etapes de l'obtenció del cacau. En conseqüència, a data d'avui, no existeix cap estudi que descrigui la totalitat d'aquesta etapa.

Les figures 14 i 15 (Figura 14 , Figura 15) presenten l'evolució dels fonts de carboni i microorganismes més representatius, on s'observa que evolucionen en paral·lel, tot i que en proporcions diferents, a causa de les condicions generades durant l'etapa de fermentació (Lima *et al.*, 2011; De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022), les quals afavoreixen el creixement i desenvolupament dels microorganismes i les fonts de carboni o contràriament la seva decadència.

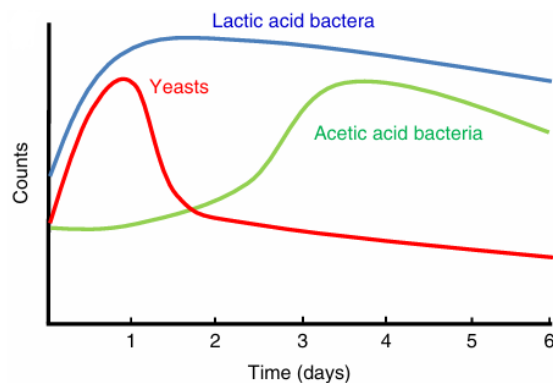


Figura 14: Dinàmica de la biomassa (De Vuyst and Weckx, 2016)

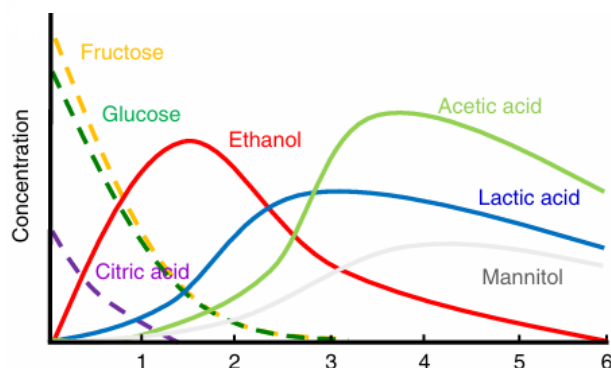


Figura 15.-Degradació i cinètica de producció de les fonts de carboni (De Vuyst and Weckx, 2016)

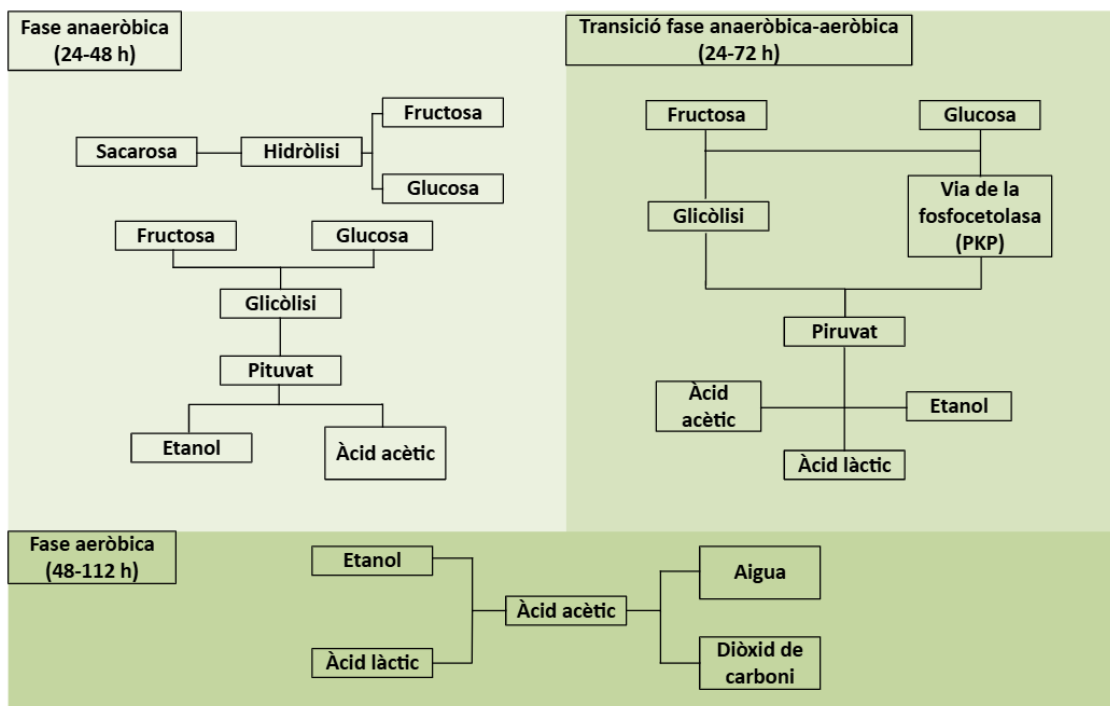


Figura 16.- Esquema simplificat dels processos que es donen durant les 3 etapes que constitueixen l'etapa de fermentació

4.2.3 ASSECAT

Un cop disposem del cacau fermentat, tradicionalment s'exposa al sol de 7 dies a 3 setmanes (Lima *et al.*, 2011) per assecar-los i reduir-ne la humitat. (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022) Alternativament, es poden assecar d'altres formes com l'assecat a l'ombra, l'assecat al forn o amb assecadores mecàniques, entre d'altres. Tot i així, s'ha demostrat que la millor opció tant econòmica com en termes de qualitat és l'assecat al sol (Afoakwa *et al.*, 2008; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020). En aquesta etapa, es redueix l'humitat entre el 6% i com a màxim el 8 %, ja que a partir d'aquí existeix la probabilitat del creixement de fongs. L'humitat òptima és el 7 % (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date; De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022), degut a que el cacau es ven en funció del pes i, per tant, un assecat excessiu produeix un menor pes, traduïnt-se en un menor benefici.

4.2.4 SELECCIÓ

Durant aquesta etapa es fixa un preu per a la comercialització dels grans. Es selecciona un lot d'aproximadament 50 grans i es realitza un tall longitudinal a cadascun d'ells. Observant ambdues meitats en funció del seu color, es verifica si la fermentació s'ha produït i el seu estat. El color òptim va des d'un marró fosc fins a un marró clar (Obediencia and Brosas, no date). En el cas que les llavors presentin un color morat o gris, indica que la fermentació no s'ha produït adequadament. En conseqüència, el gra de cacau enlloc de ser considerat una matèria primera, es considerarà un residu (Papalexandratou *et al.*, 2011) i, degut a que no tindrà les t0 desitjades (sabor, aroma i color). D'altra banda, es determina la quantitat de grans amb fongs. (Wilfrido Remigio Cedaño Peña, no date; De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022) En el cas del seu emmagatzematge, ha de ser a una humitat relativa del 65 al 70% (Lima *et al.*, 2011) per evitar la colonització de fongs i el creixement microbià.

4.2.5 TORREFACCIÓ

Un cop les indústries disposen del gra a destinació, es realitza una etapa de torrefacció per potenciar el sabor del cacau derivat dels precursors de la fermentació i per desprendre la closca de la llavor (Afoakwa *et al.*, 2008; Ozturk and Young, 2017; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022) mitjançant l'aplicació de calor durant un període de temps. D'aquesta manera, es redueix el contingut del gra en àcids volàtils i, en conseqüència, de l'acidesa d'aquest (Afoakwa *et al.*, 2008). Aquesta torrefacció es sol donar en un procés industrial amb control de temperatura per assolir i/o superar la temperatura d'evaporació dels àcids volàtils amb l'objectiu d'eliminar-ne la màxima quantitat possible. D'aquesta manera es pot obtenir una qualitat determinada i diferenciar el producte final d'altres empreses que també processen el gra de cacau a destinació.

4.3 EXPOSICIÓ DEL PROBLEMA

Ésser productor de cacau és una feina habitual a Sant Carlos, el meu poble d'origen a l'Equador, on la prosperitat de moltes famílies depèn en gran mesura de la producció de cacau.

Al mateix temps, tot productor de cacau s'enfronta a les fluctuacions del preu del cacau, produïdes per les variables del mercat (canvis en oferta i demanda, plagues, condicions climàtiques....). Aquestes fluctuacions posen en risc la subsistència i la prosperitat dels petits productors ja que són més vulnerables als canvis i no tenen una capacitat de reacció tan gran respecte les regions amb més capacitat de producció. D'altra banda, la seva capacitat de negociació és mínima donada la incapacitat de vendre la matèria primera directament al client final (empresa), veient-se obligats a vendre a un intermediari amb poder de negociació. A més, les àrees de venda tant dins com fora del poble són limitades. Així doncs, opten per vendre en la zona més propera, a preus de venda baixos, normalment a preus acceptants (accepten les condicions que diu el mercat per l'oferta). Això es degut a que es complica l'accés a mercats lucratiu, donat que a major distància major és el cost de transport de la matèria primera. A més, no es disposen de carreteres i infraestructures en bon estat que faciliti l'accés. Així mateix, molts productors tenen una capacitat d'innovació limitada a causa de la inversió requerida.

En alguns casos, les fluctuacions exerceixen tal pressió forçant a petits productors a abandonar la producció de cacau i explorar altres opcions de conreus com a única opció per no enfonsar-se i subsistir.

Per tant, es pretén crear una diferenciació i un valor afegit que atragui als intermediaris amb major poder de negociació, de tal forma que incrementi el benefici econòmic dels productors que actualment el porten a terme, i en conseqüència, la millora del procés de fermentació.

5. OBJECTIUS

L'objectiu d'aquest treball és proposar millores a l'etapa de fermentació del cacau realitzades pels productors de cacau en origen per tal de millorar-ne la productivitat.

En concret:

- a) Es definirà un model capaç de descriure l'evolució de les variables més significatives de l'etapa de fermentació mitjançant el plantejament i resolució simultània dels balanços i equacions cinètiques més representatives d'aquesta.
- b) Es calibrarà el model mitjançant dades experimentals obtingudes de fonts bibliogràfiques, per garantir que el model representi de forma significativa el procés real de fermentació.
- c) El model del procés de fermentació obtingut permetrà proposar millores a nivell de disseny i operació del procés actual.

6. MATERIALS I MÈTODES

6.1 DEFINICIÓ DEL MODEL

Per a la descripció del comportament de les fonts de carboni i dels microorganismes, es realitzaran una sèrie de consideracions. Això farà que el model no reflecteixi la realitat al detall; no obstant això, serà prou representatiu per capturar les tendències i patrons generals del procés.

En primer lloc, es considerarà una fermentació superficial i homogènia. És a dir, es considerarà que la fermentació es produeix només en la polpa del gra de cacau, i que en cada punt d'aquesta polpa la fermentació es produeix de manera uniforme. Aquesta uniformitat es defineix com el fet que totes les regions de la polpa són exposades d'igual manera pels microorganismes i a factors com les condicions ambientals (temperatura, humitat, etc.).

En segon lloc, es considerarà que la qualitat dels grans de cacau depèn únicament de la fermentació, ja que, dins dels diversos factors que intervenen en la qualitat d'aquest (l'espècie tractada, les pràctiques agrícoles, les condicions ambientals, la fermentació, entre d'altres), la fermentació és l'encarregada d'alliberar el potencial genètic inherent del gra de cacau (Papalexandratou *et al.*, 2011). Així doncs, sense aquesta etapa, el cacau, no té valor al mercat.

En tercer lloc, es consideraran els microorganismes i les fonts de carboni més significatives i estudiades. Els microorganismes més significatius i estudiats són els llevats (Y), els bacteris làctics (LAB) i els bacteris acètics (AAB). En detall, dins de cada microorganisme trobem diversos genomes. De la mateixa manera, els genomes més significatius dels darrers microorganismes són els *Saccharomyces cerevisiae* (Y), els *Lactobacillus plantarum* (LAB) i els *Acetobacter acetii* (AAB). En el cas de les fonts de carboni, trobem que les més significatives i estudiades són la sacarosa, la fructosa, la glucosa, l'etanol, l'àcid acètic i l'àcid làctic (De Vuyst and Weckx, 2016; De Vuyst and Leroy, 2020; Santander Muñoz *et al.*, 2020; Díaz-Muñoz and De Vuyst, 2022; Gutiérrez-Ríos *et al.*, 2022).

A banda de les consideracions, aquesta modelització s'enfocarà a l'Equador, un país productor de cacau, que alhora, és el meu país d'origen. Així, es descartarà la sacarosa com a font de carboni significativa, ja que en un estudi s'ha demostrat que la polpa de les espècies de cacau a l'Equador no contenen aquesta font de carboni (Papalexandratou *et al.*, 2011).

En base a les consideracions descrites, el model busca predir el creixement i desenvolupament dels llevats (*Saccharomyces cerevisiae*) i dels bacteris làctics (*Lactobacillus plantarum*) en glucosa (V1, V3) i en fructosa (V2, V9). En el cas dels llevats, es metabolitzen en etanol i àcid acètic, mentre que els bacteris làctics els metabolitzen en etanol, àcid làctic i àcid acètic. En ambdós casos les metabolitzacions és duen a terme a través de la glucòlisi i la via de la fosfocetolasa pentosa (PKP). Paral·lelament, es busca que, a mesura que avanci la primera metabolització, el model sigui capaç de predir el creixement i desenvolupament dels bacteris acètics (*Acetobacter aceti*) a partir de les fonts de carboni produïdes: etanol (V4), àcid làctic (V5) i àcid acètic (V10). A més, els bacteris acètics són capaços d'oxidar l'etanol i l'àcid làctic en àcid acètic. D'altra banda, per replicar l'esperança de vida limitada de tots tres microorganismes, Y, LAB i AAB, s'introdueix una taxa de mortalitat, essent V6, V7 i V8, respectivament. Donat que la fermentació no està totalment descrita i comporta una abundant xarxa de fonts de carboni i interaccions (Figura 13), s'inclou un paràmetre de decaïment en les fonts de carboni, etanol (V11), àcid làctic (V12) i àcid acètic (V13), per ajudar a capturar-ne la seva evolució ja que aquestes són metabolitzades per altres microorganismes (nombre indefinit) (Figura 13).

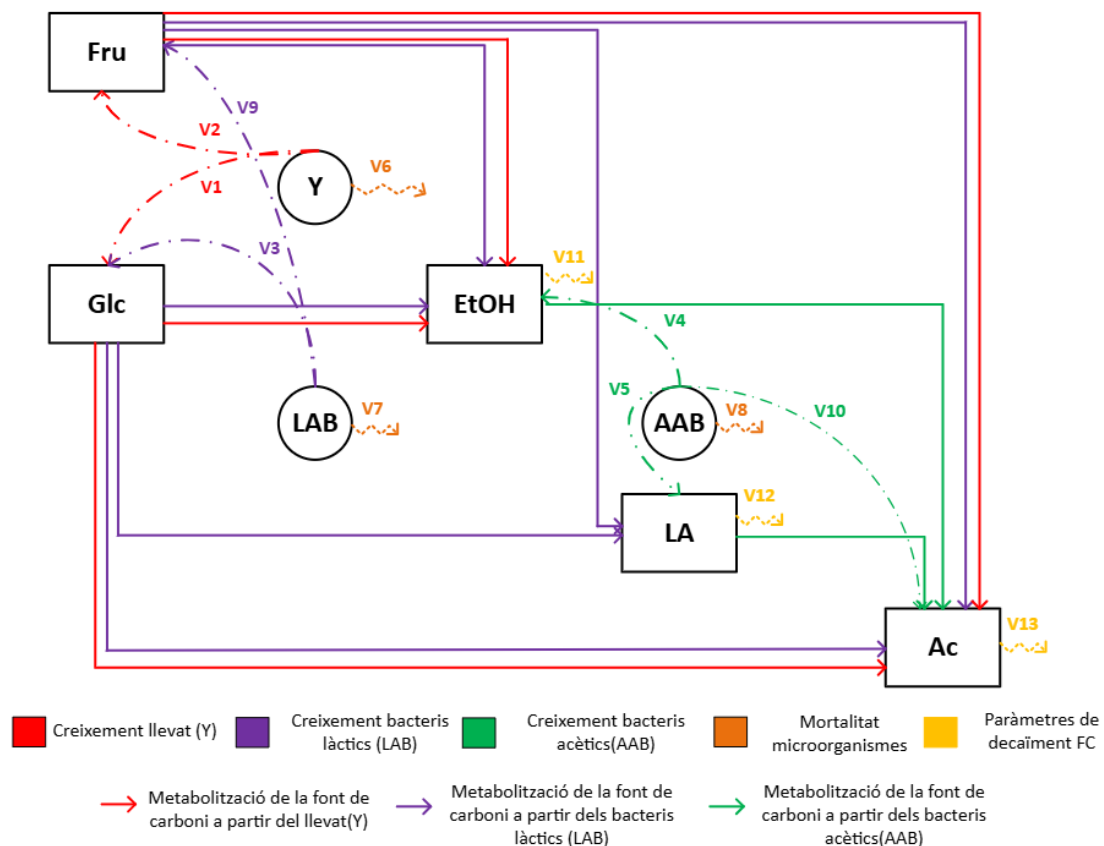


Figura 17.- Esquema del model plantejat de la fermentació del gra de cacau

El darrer esquema (Figura 17) ha estat inspirat per l'estudi “*Exploring cocoa beans fermentation mechanisms by kinetic modelling*” (Moreno-Zambrano *et al.*, 2018; Moreno-Zambrano, Ullrich and Hütt, 2022). Inicialment, es va replicar l'esquema original per tal de corroborar la consistència entre els resultats i les simulacions. En aquest cas, es va observar que hi havia moltes discrepàncies i que l'esquema era incapaç de reflectir la realitat basada en les dades experimentals. Així, es va decidir aprofitar aquest coneixement i aplicar canvis tenint en compte les consideracions descrites.

Per tal de quantificar l'evolució de les fonts de carboni i dels microorganismes en l'esquema proposat (Figura 17), s'apliquen balanços específics, considerant un sistema discontinu. L'estructura general del balanç és la següent, on el signe i el nombre de paràmetres dependrà de la font tractada.

$$E + G = S + A \rightarrow 0 + A = 0 + G \rightarrow A = G$$

$$\frac{d[\text{Glc} / \text{Fru} / \text{EtOH} / \text{LA} / \text{Ac} / \text{Y} / \text{LAB} / \text{AAB}]}{dt} = -Y_X \cdot V_Y + Y_{X'} \cdot V_{Y'} - V_Z \pm \dots$$

Aplicant el balanç específic per a cada variable considerada obtenim:

$$\frac{d[\text{Glc}]}{dt} = -Y_{\text{Glc}|Y} \cdot \mathbf{V}_1 - Y_{\text{Glc}|LAB} \cdot \mathbf{V}_3 \quad \text{Eq 1}$$

$$\frac{d[\text{Fru}]}{dt} = -Y_{\text{Fru}|Y} \cdot \mathbf{V}_2 - Y_{\text{Fru}|LAB} \cdot \mathbf{V}_9 \quad \text{Eq 2}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{EtOH}]}{dt} = & Y_{\text{EtOH}|Y}^{\text{Glc}} \cdot \mathbf{V}_1 + Y_{\text{EtOH}|Y}^{\text{Fru}} \cdot \mathbf{V}_2 + Y_{\text{EtOH}|LAB}^{\text{Glc}} \cdot \mathbf{V}_3 + Y_{\text{EtOH}|LAB}^{\text{Fru}} \cdot \mathbf{V}_9 \\ & - Y_{\text{EtOH}|AAB} \cdot \mathbf{V}_4 - \mathbf{V}_{11} \end{aligned} \quad \text{Eq 3}$$

$$\frac{d[\text{LA}]}{dt} = Y_{\text{LA}|LAB}^{\text{Glc}} \cdot \mathbf{V}_3 + Y_{\text{LA}|LAB}^{\text{Fru}} \cdot \mathbf{V}_9 - Y_{\text{LA}|AAB} \cdot \mathbf{V}_5 - \mathbf{V}_{12} \quad \text{Eq 4}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{Ac}]}{dt} = & Y_{\text{Ac}|Y}^{\text{Glc}} \cdot \mathbf{V}_1 + Y_{\text{Ac}|Y}^{\text{Fru}} \cdot \mathbf{V}_2 + Y_{\text{Ac}|LAB}^{\text{Glc}} \cdot \mathbf{V}_3 + Y_{\text{Ac}|LAB}^{\text{Fru}} \cdot \mathbf{V}_9 + Y_{\text{Ac}|AAB}^{\text{EtOH}} \cdot \mathbf{V}_4 \\ & + Y_{\text{Ac}|AAB}^{\text{LA}} \cdot \mathbf{V}_5 - Y_{\text{Ac}|AAB} \cdot \mathbf{V}_{10} - \mathbf{V}_{13} \end{aligned} \quad \text{Eq 5}$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = \mathbf{V}_1 + \mathbf{V}_2 - \mathbf{V}_6 \quad \text{Eq 6}$$

$$\frac{d[LAB]}{dt} = V_3 + V_9 - V_7 \quad \text{Eq 7}$$

$$\frac{d[AAB]}{dt} = V_4 + V_5 + V_{10} - V_8 \quad \text{Eq 8}$$

Per tal de descriure el creixement i decreixement simultani dels microorganismes en funció de la seva dominància seqüencial s'apliquen les equacions de Monod (Monod, no date, *Moreno-Zambrano et al., 2018*) (Taula 1)

Taula 1.- Taxa de creixement i mortalitat de la biomassa i decadència de les fonts de carboni del model de l'etapa de fermentació del gra de cacau

Creixement llevat (Y)	Creixement bacteris làctics (LAB)	Creixement bacteris acètics (AAB)	Mortalitat microorganismes	Paràmetres de decaïment
$V_1 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Glc}} \cdot [Glc]}{[Glc] + K_{Glc}^Y} \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_3 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Glc}} \cdot [Glc]}{[Glc] + K_{Glc}^{LAB}} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_4 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{EtOH}} \cdot [EtOH]}{[EtOH] + K_{EtOH}^{AAB}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_6 = K_y \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_{11} = K_{EtOH} \cdot [EtOH]$ $\left(\frac{mg\ EtOH}{h \cdot g\ polpa}\right)$
$V_2 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Fru}} \cdot [Fru]}{[Fru] + K_{Fru}^Y} \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_9 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Fru}} \cdot [Fru]}{[Fru] + K_{Fru}^{LAB}} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_5 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{LA}} \cdot [LA]}{[LA] + K_{LA}^{AAB}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_7 = K_{LAB} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_{12} = K_{LA} \cdot [LA]$ $\left(\frac{mg\ LA}{h \cdot g\ polpa}\right)$
		$V_{10} = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{Ac}} \cdot [Ac]}{[Ac] + K_{Ac}^{AAB}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_8 = K_{AAB} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa}\right)$	$V_{13} = K_{Ac} \cdot [Ac]$ $\left(\frac{mg\ Ac}{h \cdot g\ polpa}\right)$

El model és compost per 8 equacions, on s'inclouen 39 paràmetres (Taula 2, Taula 3, Taula 4, Taula 5, Taula 6) i 8 variables (Taula 7). En el cas dels paràmetres, es poden classificar en 5 categories diferents: poden ser constants de saturació (K_x), velocitats de creixement de microorganismes ($\mu_{màx}^{x'FC}$), rendiments ($Y_{x''}$), paràmetres de mortalitat de les biomasses (K_y) i paràmetres de decaïment de les fonts de carboni (K_z).

Definint aquestes categories com:

- Constant de saturació: Indiquen la concentració a partir de la qual la velocitat de creixement de la biomassa és la meitat de la màxima ($\frac{mg \text{ Font de carboni}}{g \text{ polpa}}$).
- Rendiment: Indiquen l'eficiència amb què els microorganismes metabolitzen una font de carboni ($\frac{mg \text{ Font de carboni}}{mg \text{ Biomassa}}$).
- Velocitat de creixement màxima dels microorganismes: Indiquen la velocitat de creixement màxima dels microorganismes ($\frac{1}{h}$).
- Paràmetres de mortalitat de les biomasses: Indiquen la taxa a la qual es degraden o moren els microorganismes ($\frac{1}{h}$).
- Paràmetres de decaïment de les fonts de carboni: Indiquen la taxa a la qual es degraden les fonts de carboni ($\frac{1}{h}$).

Taula 2.-Constants de saturació

Paràmetre	Unitats	Interpretació
K_{Glc}^Y	$\frac{mg \text{ Glc}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de llevat en glucosa
K_{Fru}^Y	$\frac{mg \text{ Fru}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de llevat en fructosa
K_{Glc}^{LAB}	$\frac{mg \text{ Glc}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris làctics en glucosa
K_{Fru}^{LAB}	$\frac{mg \text{ Fru}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris làctics en fructosa
K_{Act}^{LAB}	$\frac{mg \text{ Act}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris làctics en àcid cítric
K_{EtOH}^{AAB}	$\frac{mg \text{ EtOH}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris acètics en etanol
K_{LA}^{AAB}	$\frac{mg \text{ LA}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris acètics en àcid làctic
K_{Ac}^{AAB}	$\frac{mg \text{ Ac}}{g \text{ polpa}}$	Constant de saturació del substrat del creixement de bacteris acètics en àcid acètic

Taula 3.- Rendiments

Paràmetre	Unitats	Interpretació
$Y_{Glc Y}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	Rendiment de la conversió de glucosa a llevat
$Y_{Fru Y}$	$\frac{mg\ Fru}{mg\ Y}$	Rendiment de rendiment de la conversió de fructosa a llevat
$Y_{EtOH Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ Y}$	Rendiment de llevat a etanol a partir de glucosa
$Y_{Ac Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ Y}$	Rendiment de llevat a àcid acètic a partir de glucosa
$Y_{EtOH Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ Y}$	Rendiment de llevat a etanol a partir de fructosa
$Y_{Ac Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ Y}$	Rendiment de llevat a àcid acètic a partir de fructosa
$Y_{Glc LAB}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ LAB}$	Rendiment de la conversió de glucosa a bacteris acètics
$Y_{Fru LAB}$	$\frac{mg\ Fru}{mg\ LAB}$	Rendiment de la conversió de fructosa a bacteris acètics
$Y_{EtOH LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a etanol a partir de glucosa
$Y_{LA LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a àcid làctic a partir de glucosa
$Y_{Ac LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a àcid acètic a partir de glucosa
$Y_{EtOH LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a etanol a partir de fructosa
$Y_{LA LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a àcid làctic a partir de fructosa
$Y_{Ac LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	Rendiment de bacteris làctics a àcid acètic a partir de fructosa
$Y_{EtOH AAB}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ AAB}$	Rendiment de la conversió d'etanol a bacteris àcids
$Y_{LA AAB}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ AAB}$	Rendiment de la conversió d'àcid làctic a bacteris àcids
$Y_{Ac AAB}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	Rendiment de la conversió d'àcid acètic a bacteris àcids
$Y_{Ac AAB}^{EtOH}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	Rendiment de bacteris acètics a àcid acètic a partir d'etanol
$Y_{Ac AAB}^{LA}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	Rendiment de bacteris acètics a àcid acètic a partir d'àcid làctic

Taula 4.- Velocitats de creixement màximes dels microorganismes

Paràmetre	Unitats	Interpretació
$\mu_{màx}^{Y_{Glc}}$	h^{-1}	Màxim creixement de llevat en glucosa
$\mu_{màx}^{Y_{Fru}}$	h^{-1}	Màxim creixement de llevat en fructosa
$\mu_{màx}^{LAB_{Glc}}$	h^{-1}	Màxim creixement de bacteris làctics en glucosa
$\mu_{màx}^{LAB_{Fru}}$	h^{-1}	Màxim creixement de bacteris làctics en fructosa
$\mu_{màx}^{AAB_{EtOH}}$	h^{-1}	Màxim creixement de bacteris acètics en etanol
$\mu_{màx}^{AAB_{LA}}$	h^{-1}	Màxim creixement de bacteris acètics en àcid làctic
$\mu_{màx}^{AAB_{Ac}}$	h^{-1}	Màxim creixement de bacteris acètics en àcid acètic

Taula 5.- Paràmetres de mortalitat dels microorganismes

Paràmetre	Unitats	Interpretació
K_y	h^{-1}	Constant de mortalitat de llevat
K_{LAB}	h^{-1}	Constant de mortalitat de bacteris acètics
K_{AAB}	h^{-1}	Constant de mortalitat de bacteris làctics

Taula 6.- Paràmetres de decaïment

Paràmetre	Unitats	Interpretació
K_{EtOH}	h^{-1}	Paràmetre de decaïment de l'etanol
K_{LA}	h^{-1}	Paràmetre de decaïment de l'àcid làctic
K_{Ac}	h^{-1}	Paràmetre de decaïment de l'àcid acètic

Per tant, tal i com s'indica en el model descrit per les equacions proposades (Eq 1, Eq 2, Eq 3, Eq 4, Eq 5, Eq 6, Eq 7, Eq 8), les variables considerades són:

Taula 7.- Variables

Variable	Unitats	Interpretació
[Y]	$\frac{mg Y}{g polpa}$	Concentració del llevat més significatiu (<i>Saccharomices cerevisiae</i>)
[LAB]	$\frac{mg LAB}{g polpa}$	Concentració del bacteri làctic més significatiu (<i>Lactobacillus Plantarum</i>)
[AAB]	$\frac{mg AAB}{g polpa}$	Concentració del bacteri acètic més significatiu (<i>Accetobacter Aceti</i>)
[Glc]	$\frac{mg Glc}{g polpa}$	Concentració de glucosa
[Fru]	$\frac{mg Fru}{g polpa}$	Concentració de fructosa
[EtOH]	$\frac{mg EtOH}{g polpa}$	Concentració d'etanol
[LA]	$\frac{mg LA}{g polpa}$	Concentració d'àcid làctic
[Ac]	$\frac{mg Ac}{g polpa}$	Concentració d'àcid acètic

6.2 CALIBRACIÓ DEL MODEL

Per a l'implementació i resolució de les equacions cinètiques del model s'utilitza l'entorn de simulació Simulink de l'aplicatiu MATLAB® versió R2024a. Aquest entorn de simulació és capaç de combinar el càlcul numèric i el llenguatge de programació, essent ideal per a l'anàlisi de dades i la modelització. Simulink permet construir models mitjançant blocs gràfics. Així doncs, el model proposat s'introdueix en forma de diagrama de blocs (Figura 18, Figura 19, Figura 20, Figura 21, Figura 22).

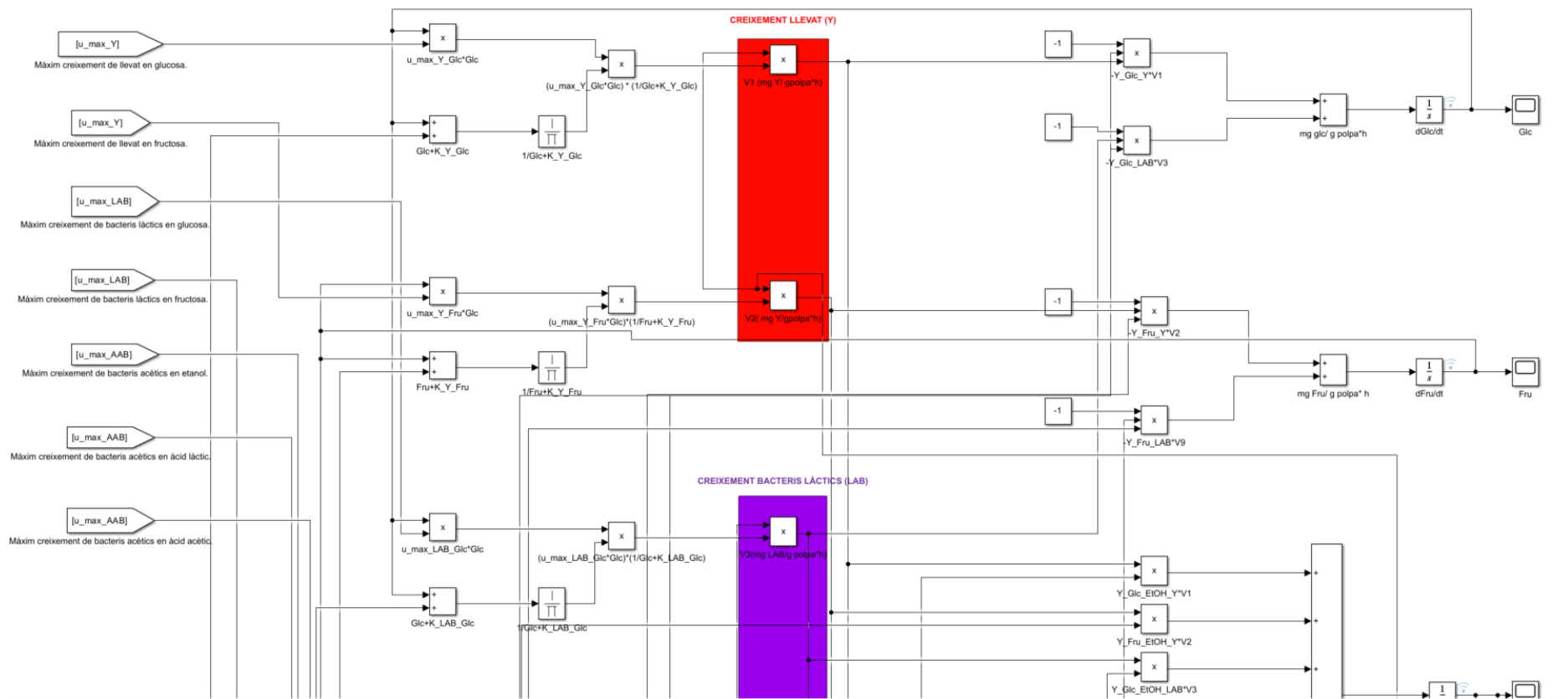


Figura 18.- Diagrama de blocs del model proposat (1/5)

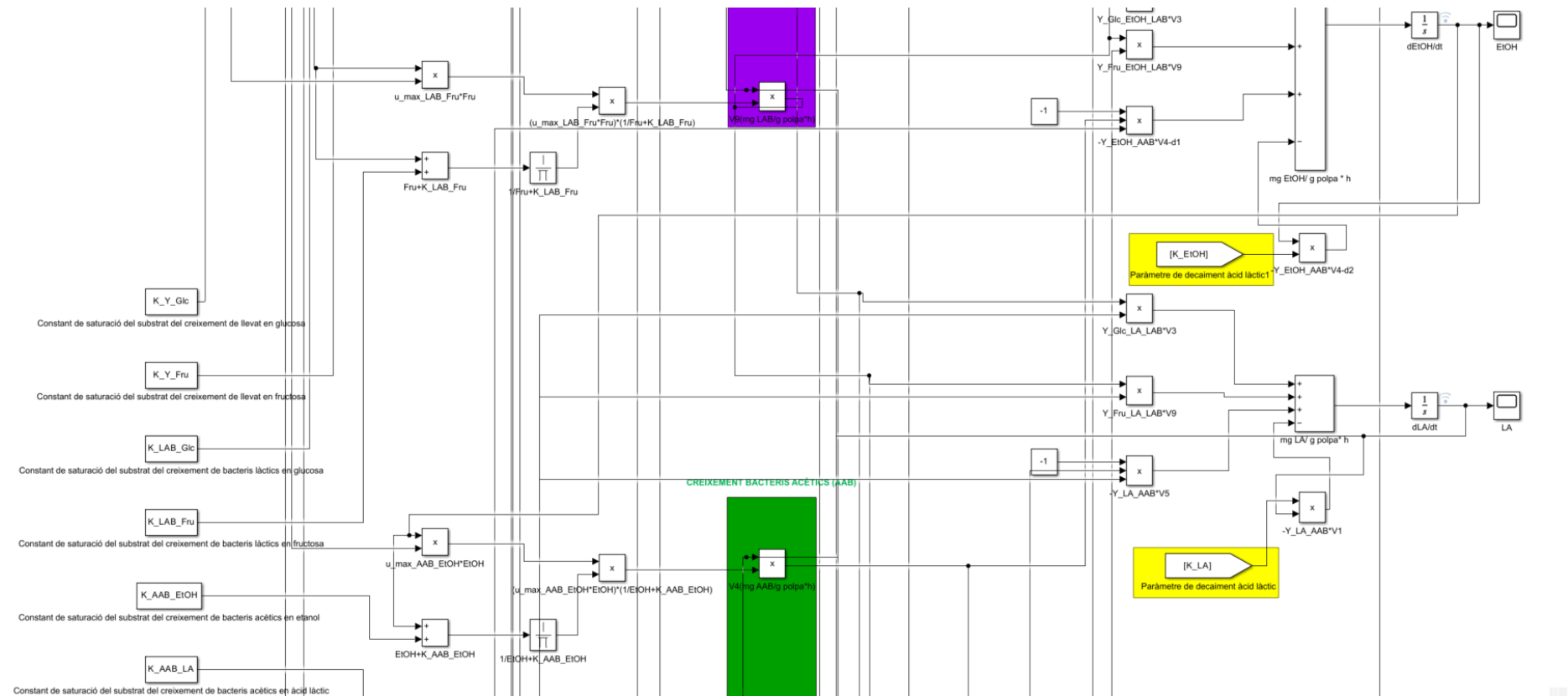


Figura 19.- Diagrama de blocs del model proposat (2/5)

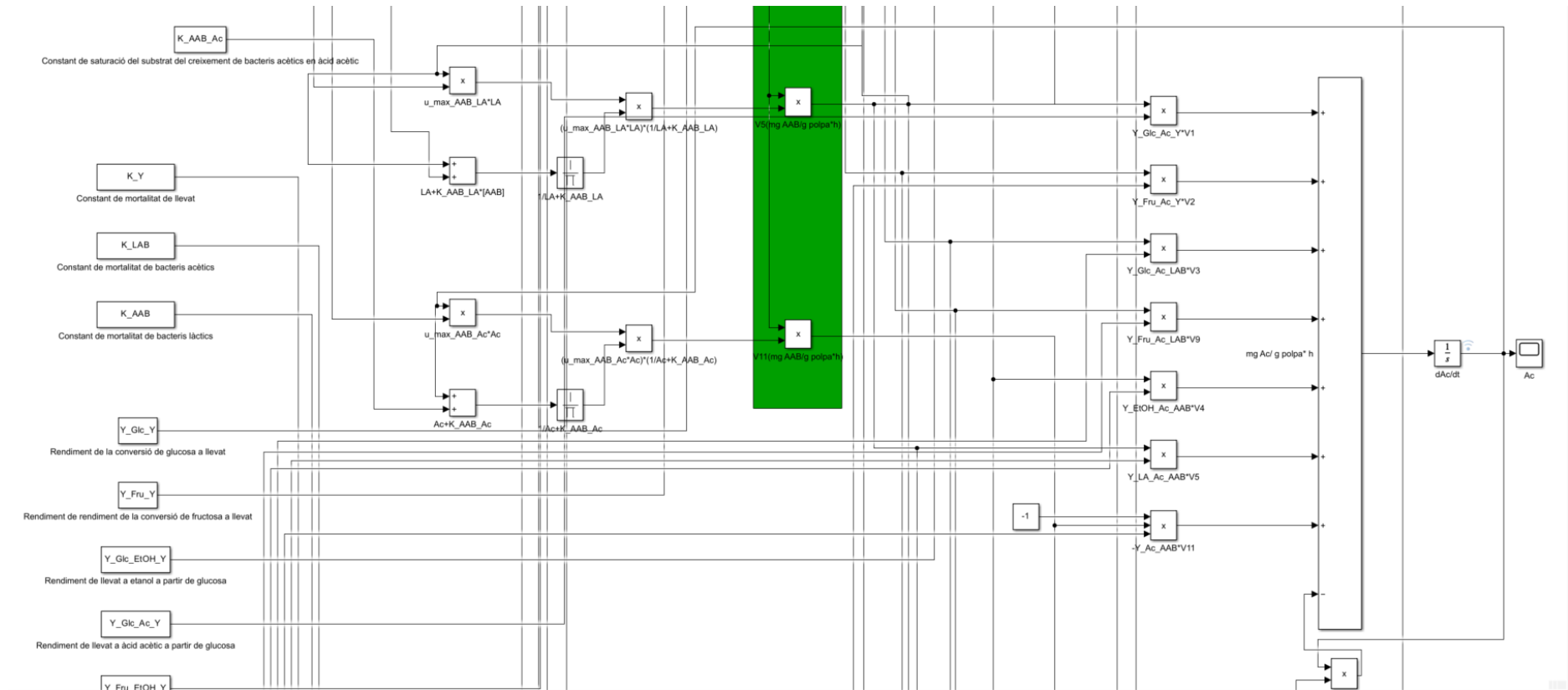


Figura 20.- Diagrama de blocs del model proposat (3/5)

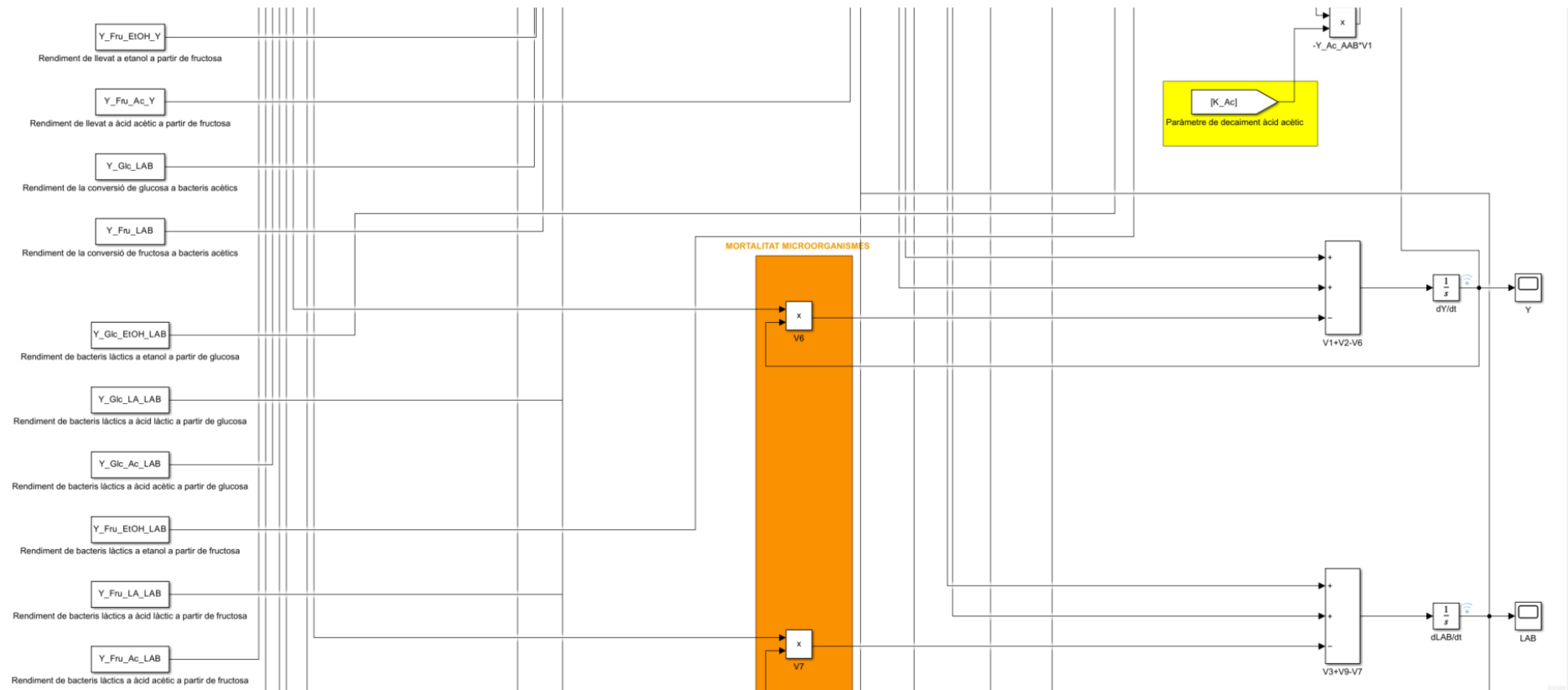


Figura 21.- Diagrama de blocs del model proposat (4/5)

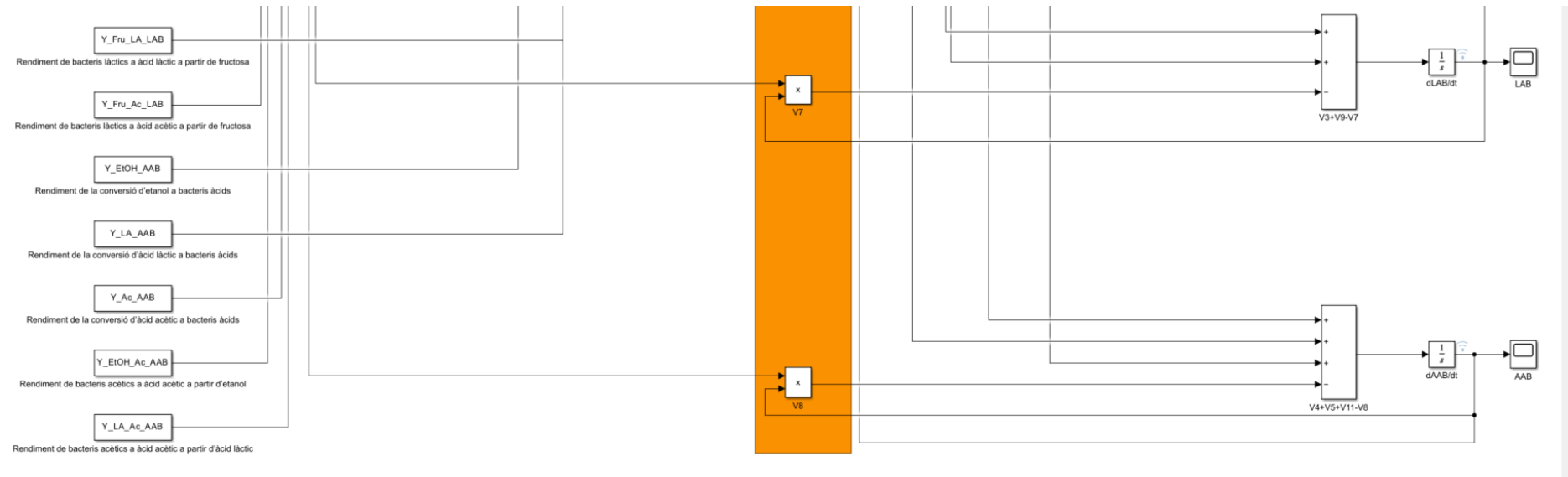


Figura 22.-Diagrama de blocs del model proposat (5/5)

Per a la calibració dels paràmetres de les equacions cinètiques, s'utilitza l'aplicatiu estimador de paràmetres integrat dins del Simulink (versió R2024a). Aquest aplicatiu estima els paràmetres utilitzant el mètode de mínims quadrats no lineals i l'algoritme reflectiu de regió de confiança (configuració predeterminada). Per a una correcta estimació és necessari introduir valors inicials a les diferents variables, establir un rang de treball dels paràmetres a estimar i introduir uns valors de referència. Per tal que el model reflecteixi de forma significativa el procés real, els valors de referència per ajustar el model corresponen a dades experimentals obtingudes a fonts bibliogràfiques.

Els valors inicials de les variables es detallen a la Taula 8.

Taula 8.- Valors inicials de les diferents variables del model (Lefeber, Gobert, et al., 2011)

Variable	Unitats	Valor
$[Y]_0$	$\frac{mg\ Y}{g\ polpa}$	275.63
$[LAB]_0$	$\frac{mg\ LAB}{g\ polpa}$	0.138
$[AAB]_0$	$\frac{mg\ AAB}{g\ polpa}$	0.079
$[Glc]_0$	$\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$	95.6
$[Fru]_0$	$\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$	182
$[EtOH]_0$	$\frac{mg\ EtOH}{g\ polpa}$	0
$[LA]_0$	$\frac{mg\ LA}{g\ polpa}$	0
$[Ac]_0$	$\frac{mg\ Ac}{g\ polpa}$	0

El rang de treball dels paràmetres considerats es basen en un estudi exhaustiu de diverses fonts bibliogràfiques i estudis previs. Aquest procés permet acotar i limitar les finites opcions i descartar valors incoherents, sabent que aquest paràmetre "X" no pot arribar a 1000 i/o 400, per exemple. Cal destacar que, encara que alguns valors estimats puguin estar fora d'aquest rang, seran considerats com a possibles resultats, si i només si, hi ha coherència i relació entre els paràmetres. Això es degut a que cada estudi s'ha efectuat en condicions específiques diferents.

Malauradament, per diversos paràmetres (K_{Fru}^{LAB} , K_{LA}^{AAB} , K_{EtOH} , K_{LA} , K_{Ac} , $Y_{Ac|Y}^{Glc}$, $Y_{Fru|LAB}$, $Y_{LA|AAB}$, $Y_{Ac|AAB}$, $Y_{Ac|AAB}^{EtOH}$, $Y_{EtOH|Y}^{Fru}$, $Y_{Ac|Y}^{Fru}$) encara no existeixen estudis que proporcionin valors concrets ni orientatius. En aquests casos, es prendran les dades relacionades disponibles per establir rangs de treball raonables (Taula 9, Taula 10, Taula 14)

Taula 9.- Rangs de treballs de les constants de saturació

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
K_{Glc}^Y	$\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$	0.27 (Kouamé <i>et al.</i> , 2021) 0.171(Y. Albernas-Carvajal ^{1*} , 2015) [0.001- 0.5]; 35.322; 34.366; 30.015 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[0.001-35.322]
K_{Fru}^Y	$\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$	35.492; 25.015; 41.386(Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[25.015-41.386]
K_{Glc}^{LAB}	$\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$	0.04 (Pramono I], Harmayani and Utami, no date) [0.790-178]; 37.966; 31.664; 19.272 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[0.04-37.966]
K_{Fru}^{LAB}	$\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$	----	[0.04-37.966]
K_{EtOH}^{AAB}	$\frac{mg\ EtOH}{g\ polpa}$	4.8 (Hill and Daugulis, no date) 21.1(J.M.GOMEZ, no date) 16.056; 3.818; 4.056 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[4.056-16.056]
K_{LA}^{AAB}	$\frac{mg\ LA}{g\ polpa}$	----	[0-7]
K_{Ac}^{AAB}	$\frac{mg\ Ac}{g\ polpa}$	12.6 (J.M.GOMEZ, no date)	[0-12.6]

Taula 10.- Rangs de treball dels rendiments

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
$Y_{Glc Y}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.03; 0.004; 0.008 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[0-0.03]
$Y_{Fru Y}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.024; 0.004 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[0-0.024]
$Y_{EtOH Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.134 ; 0.08 ; 0.122 (Moreno-Zambrano <i>et al.</i> , 2018)	[0-0.134]
$Y_{Ac Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	----	[0-0.134]
$Y_{EtOH Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	----	[0-0.134]
$Y_{Ac Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	---	[0-0.134]

Taula 11.- Taula 10, continuació

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
$Y_{Glc LAB}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ LAB}$	[0.005-0.222]; 0.034; 0.049; 0.301 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0-0.301]
$Y_{Fru LAB}$	$\frac{mg\ Fru}{mg\ LAB}$	----	[0-0.301]
$Y_{EtOH LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	0.011; 0.006; 0.014 (Lefeber et al., 2010)	[0-0.014]
$Y_{LA LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	0.345 (Lefeber, Janssens, et al., 2011); 0.38; 0.385; 0.468(Lefeber et al., 2010)	[0-0.468]
$Y_{Ac LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	0.209 (Lefeber, Janssens, et al., 2011); 0.061 ; 0.051 ; 0.085 (Lefeber et al., 2010)	[0-0.209]
$Y_{EtOH LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	0.005; 0.003 ; 0.014 (Lefeber et al., 2010)	[0-0.005]
$Y_{LA LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	0.403(Lefeber, Janssens, et al., 2011) 0.885; 0.831(Lefeber et al., 2010)	[0-0.403]
$Y_{Ac LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	0.179 (Lefeber, Janssens, et al., 2011); 0.026 ; 0.024 ; 0.024 (Lefeber et al., 2010)	[0-0.179]
$Y_{EtOH AAB}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ AAB}$	0.007 (Gómez and Cantero, 1998); [0.006-0.124]; 0.001;0.003; 0.006 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0-0.124]
$Y_{LA AAB}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ AAB}$	---	[0-0.015]
$Y_{Ac AAB}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	---	[0-0.015]
$Y_{Ac AAB}^{EtOH}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	---	[0-0.015]
$Y_{Ac AAB}^{LA}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	0.001; 0.015; 0.003 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0-0.015]

Taula 12.-Rangs de treball de les velocitats de creixement màximes dels microorganismes

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
$\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Glc}}$	h^{-1}	0.44(Paalme et al., no date) [0.50-0.51] (Mrwebi, 2004) 0.45 (Kouamé et al., 2021) 0.35 (ScienceDirect', no date) [0.078-0.53]; 0.253; 0.063; 0.368 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.0781-0.53]
$\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Fru}}$	h^{-1}	0.27 (Arroyo-López, Querol and Barrio, 2009) 0.25 (ScienceDirect', no date) [0.01-0.166];0.359; 0.083; 0.572 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.083-0.572]
$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Glc}}$	h^{-1}	0.627 (Georgieva et al., 2009) 0.17 (Pramono I], Harmayani and Utami, no date) [0.007-1.41]; 0.358; 0.414; 0.499 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.0072-1.41]
$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Fru}}$	h^{-1}	[0.007-1.41]; 0.358; 0.414; 0.499 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.007-1.41]
$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{EtOH}}$	h^{-1}	0.16(Hill and Daugulis, no date) [0.011-0.25]; 0.380; 0.025; 0.022 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.011-0.380]
$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{LA}}$	h^{-1}	0.008; 0.025; 0.022 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.008-0.025]
$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{Ac}}$	h^{-1}	0.037 (Hill and Daugulis, no date)	[0-0.037]

Taula 13.- Rangs de treball dels paràmetres de mortalitat dels microorganismes

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
K_y	h^{-1}	0.033; 0.052; 0.092 (Moreno-Zambrano et al., 2018) 0.0505 (Y. Albornas-Carvajal1*, 2015)	[0.033-0.092]
K_{LAB}	h^{-1}	0.005; 0.064; 0.069 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.005-0.069]
K_{AAB}	h^{-1}	0.007; 0.001 (Moreno-Zambrano et al., 2018)	[0.001-0.007]

Taula 14.- Rangs de treball dels paràmetres de decaïment

Paràmetre	Unitats	Referència	Rang de treball
K_{EtOH}	h^{-1}	----	[0-0.021]
K_{LA}	h^{-1}	----	[0-0.03]
K_{Ac}	h^{-1}	----	[0-0.03]

A banda dels rangs de treball dels paràmetres, per assegurar que els valors de les estimacions siguin raonables i aplicables en situacions reals, s'han considerat diversos factors.

En primer lloc, s'ha tingut en compte l'estat d'oxidació de les fonts de carboni, ja que a menor estat d'oxidació, major és l'energia continguda per la font, i per tant, major és l'eficiència amb que els microorganismes metabolitzen la font de carboni a una altra. L'ordre proposat d'oxidació és: glucosa, fructosa, etanol, àcid làctic i àcid acètic.

En segon lloc, s'estableixen limitacions en els rendiments, establint un valor mínim de 0 i un valor màxim de 1. Aquestes limitacions es basen a la llei de la conservació de la matèria, la qual estableix que la matèria no es crea ni es destrueix, si no que es transforma. Així, un rendiment superior a 1 significaria que la biomassa és capaç de metabolitzar una font de carboni i crear matèria. Així mateix, un rendiment negatiu no és viable perquè es tracta d'una mesura d'eficiència en la qual la biomassa converteix producte en altres subproductes.

D'altra banda, s'ha anat amb molta cura amb la constant de saturació (Taula 9), ja que si una variable té una concentració inicial superior a la constant de saturació, la velocitat de reacció a temps 0 començarà a la màxima velocitat. En canvi, si una variable té una concentració inicial inferior a la constant de saturació, la velocitat de reacció a temps 0 serà inferior a la meitat de la velocitat màxima, i per tant serà més lenta.

Finalment, en els paràmetres de decaïment (Taula 14) i mortalitat (Taula 13) s'ha tingut en compte l'estabilitat del producte, ja que no es degrada ràpidament, així com la velocitat de reacció, establint rangs mínims.

Durant la calibració dels paràmetres, es va detectar que la sensibilitat del model era molt elevada a causa de la quantitat de paràmetres (39). En conseqüència, petits canvis en un paràmetre produïen variacions significatives en els resultats. Aquesta sensibilitat es significativament més gran en les velocitats de creixement respecte els altres paràmetres. Així, es va optar per fixar els paràmetres de rendiment, constants de saturació i mortalitat dels microorganismes un cop calibrats, reduint així el nombre de paràmetres de 39 a 10.

La temperatura és un paràmetre que no s'inclou directament en el model, tot i així, la seva variació en el temps afecta a la velocitat de creixement. Com a contramesura es van harmonitzar les velocitats de creixement, establint un valor estàndard per a cada biomassa. Per tal de reflectir l'efecte de la temperatura, el valor estàndard variarà en funció del temps segons dades experimentals obtingudes de fonts bibliogràfiques. Per a que la variació es produeixi, és necessari introduir dades experimentals de temperatura en funció del temps. Així, el model detectarà que, a les 30 hores, hi ha una temperatura específica i, per tant, una velocitat determinada.

En el cas dels paràmetres de decaïment, ha estat impossible reflectir les diverses interaccions entre els metabòlits (Figura 13) amb un únic valor. Per capturar millor aquestes interaccions, s'han introduït diversos valors estimats per a cada paràmetre de decaïment que varien en funció del temps.

Per reflectir de manera dinàmica com aquestes variables (temperatura, velocitat de creixement, paràmetres de decaïment) varien en funció del temps en l'entorn de simulació Simulink, s'implementen una sèrie de condicionals que ajusten els diversos valors en forma de rampes, essent transicions graduals que permeten simular l'augment o la disminució de les variables al llarg del temps.

Pel que fan els valors de les variables harmonitzades, trobem:

Taula 15.- Variació de la temperatura en funció del temps (Ramos et al., 2014)

Paràmetre	Unitats	Temps	Valor
T	K	0	298.4
		12	298.9
		36	299.4
		60	301.5
		84	316.2
		108	317.1
		132	318.5
		156	322.4

Taula 16.- Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels *Saccharomyces cerevisiae* (Lip et al., 2020)

Paràmetre	Unitats	Temperatura	Valor
$\mu_{m\grave{a}x}^Y$	$\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Glc}}$	273	0.059
		303	0.416
		312	0.236

Taula 17.- Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels *Lactobacillus plantarum* (Matejčeková et al., 2016)

Paràmetre	Unitats	Temperatura	Valor
$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB}$	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Glc}}$	273	0.04
		288	0.07
		291	0.12
		294	0.17
		298	0.26
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Fru}}$	303	0.36
		307	0.39
		310	0.37
		313	0.19

Taula 18.- Harmonització de les velocitats de creixement màxima dels *Acetobacter Aceti* (De Ory, Romero and Cantero, no date)

Paràmetre	Unitats	Temperatura	Valor
$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB}$	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{EtOH}}$	273	0.026
		293	0.038
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{LA}}$	298	0.056
		303	0.094
		308	0.011

Pel que fan les dades experimentals de les fonts de carboni i dels microorganismes, trobem els següents valors:

Taula 19.- Valors experimentals de l'evolució de les fonts de carboni (Lefeber, Gobert, et al., 2011)

Temps (h)	Glucosa ($\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$)	Fructosa ($\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$)	Etanol ($\frac{mg\ EtOH}{g\ polpa}$)	Àcid làctic ($\frac{mg\ LA}{g\ polpa}$)	Àcid acètic ($\frac{mg\ Ac}{g\ polpa}$)
0	95.6	182	0	0	0
24	44.5	70.2	2.3	3.08	4.34
48	30.7	9.11	8.99	0.35	0.73
72	7.77	12.4	16.6	12.4	6.89
96	0.36	1.11	14.3	16.3	38.5
120	0.51	1.76	5.95	6.52	18.8
144	0	0	3.68	3.74	10.6

Taula 20.- Valors experimentals de l'evolució dels microorganismes (Miguel et al., 2017)

Temps (h)	Y ($\frac{\log\ CFU\ Y}{ml}$)	LAB ($\frac{\log\ CFU\ LAB}{ml}$)	AAB ($\frac{\log\ CFU\ AAB}{ml}$)	Y ($\frac{mg\ Y}{g\ polpa}$)	LAB ($\frac{mg\ LAB}{g\ polpa}$)	AAB ($\frac{mg\ AAB}{g\ polpa}$)
0	3.31	1.09	1.5	275.64	0.14	0.08
12	3.5	2.02	----	426.91	1.18	----
36	3.34	2.69	2.69	295.35	5.51	1.23
60	3.3	2.43	2.65	269.36	3.03	1.13
84	2.22	2.02	2.69	22.40	1.18	1.23
108	1.82	1.95	2.17	8.92	1.00	0.37
132	1.52	1.74	2.84	4.47	0.62	1.74
156	1.52	1.39	3.3	4.47	0.28	5.03

Atès que les dades experimentals de les biomasses (*Saccharomyces cerevisiae* (Y), *Lactobacillus plantarum* (LAB) i *Acetobacter aceti* (AAB)) es troben expressades en altres unitats (log CFU/ml) i provenen d'una alíquota diluïda, es realitza un factor de conversió per saber la concentració "real" i per obtenir una harmonització de les unitats.

En primer lloc, es passen els log CFU a CFU. Contínuament, s'aplica un factor de conversió específic per a cada biomassa *Saccharomyces cerevisiae* (Y), *Lactobacillus plantarum* (LAB) i *Acetobacter aceti* (AAB) per passar de CFU a pg, essent 15, 1.25 i 0.28 pg/CFU (Monod, no date, Moreno-Zambrano et al., 2018), respectivament. Un cop aplicat el factor de conversió, es passen els pg a mg. A partir d'aquí, es realitza el producte per 10^6 , pel fet que les dades provenen d'una alíquota diluïda 10^6 vegades. Posteriorment, es realitza el producte pel volum total de 225 ml i, alhora, es realitza el quocient amb la quantitat real treballada de massa de cacau, que és de 25g.

En aquest cas, s'observa una gran diferència entre el factor de conversió del llevat respecte les altres biomasses. Això es deu al fet que aquests factors de conversió actualment no s'han reportat. En concret, s'han aproximat a partir de la morfologia basada en les dimensions habituals de les cèl·lules de cada biomassa, assumint una forma esfèrica o cilíndrica.

Exemple càlcul concentració biomassa $\frac{mg\ Y/LAB/AAB}{g\ polpa}$

$$\frac{10^{\log CFU}}{ml} \rightarrow X \frac{CFU}{ml} \cdot \frac{15/1.25/0.28\ pg}{1\ CFU} \cdot \frac{1}{10^9 pg} \cdot 10^6 \cdot \frac{225\ ml}{25\ g\ polpa}$$

Un cop l'aplicatiu estimador de paràmetres disposa dels valors inicials per a les diverses variables, del rang de treball per als paràmetres a estimar i dels valors de referència, s'inicia el procés d'estimació.

6.3 OPTIMITZACIÓ

Per a l'optimització del procés de fermentació, es combinen millores de disseny i condicions d'operació amb l'objectiu d'obtenir la màxima eficiència possible.

Pel que fa a les condicions d'operació, un dels factors clau és la temperatura. Les variacions d'aquesta variable (Taula 21) s'implementen mitjançant un bany Maria. Aquesta tècnica consisteix a submergir el recipient on es realitzarà la fermentació del gra dins d'un altre recipient amb aigua calenta. Per assegurar que la temperatura es mantingui dins del rang, s'utilitzarà un termòmetre. Així, en cas que la temperatura baixi, es realitzaran aportacions d'aigua calenta, mentre que en cas que la temperatura augmenti (donat que es algunes reaccions són exotèrmiques) es realitzaran aportacions d'aigua freda al bany.

Taula 21.- Rangs de treball de temperatura

Rang de temperatura (K)	Velocitat harmonitzada del creixement microbià (h ⁻¹)
[298-303]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.059$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.36$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.0584$
[303-307]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.416$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.36$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.094$
[313-315]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.236$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.19$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.011$

Pel que fa a les condicions de disseny, es proposa iniciar el procés de fermentació en una caixa estàndard a temperatura ambient. Un cop el procés hagi avançat fins a un punt determinat, es traspasarà la meitat del contingut a una segona caixa en paral·lel, on també s'introduirà la mateixa quantitat de polpa fresca. Aquest pas permet augmentar la capacitat del lot inicial i reduir el període d'adaptació del procés a les condicions ambientals.

Posteriorment, després d'un temps determinat, el contingut de les caixes es traspasarà a una tercera caixa que operarà a una temperatura òptima. Finalment, es traspasarà el contingut a

una altra caixa, que es mantindrà a una temperatura superior a l'òptima durant un temps determinat.

Així, el disseny del procés millorat (Figura 23) es basa en un sistema de tres caixes en sèrie, connectades en paral·lel amb un altre conjunt de tres caixes en sèrie, cadascuna amb una temperatura fixada. Aquest enfocament permet una gestió més eficient de les condicions de fermentació.

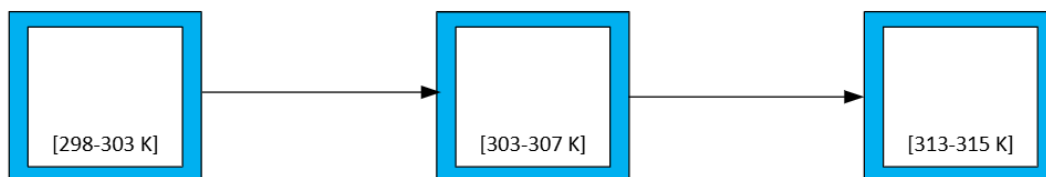


Figura 23.- Disseny del procés de fermentació millorat

Per tal de quantificar la concentració de la barreja, s'utilitza la següent expressió:

$$C_f = \frac{(C_1 \cdot m_1) + (C_0 \cdot m_2)}{m_1 + m_2} \quad \text{Eq 9}$$

On:

- C_f → Concentració de la barreja de la massa de fermentació
- C_1 → Concentració de la polpa fermentada
- C_0 → Concentració de la polpa fresca
- m_1 → Massa de la polpa fermentada
- m_2 → Massa de la polpa fresca

7. RESULTATS I DISCUSSIÓ

7.1 DEFINICIÓ DEL MODEL

En base a les consideracions descrites a la secció 6.1 (fermentació superficial i homogènia, fonts de carboni i microorganismes més significatius i la dependència de la fermentació amb la qualitat del producte final), s'ha desenvolupat un model capaç de descriure el creixement i desenvolupament dels llevats (Y) i dels bacteris làctics (LAB) en glucosa (V1, V3) i en fructosa (V2, V9). Alhora, es captura la metabolització dels Y en etanol i àcid acètic, i la metabolització dels LAB en etanol, àcid làctic i àcid acètic. Paral·lelament, es descriu que, a mesura que avanci la primera metabolització, el consum d'etanol (V4), àcid làctic (V5) i àcid acètic (V10) esdevingui el creixement i desenvolupament dels bacteris acètics (AAB). A més, es captura l'esperança de vida de tots tres microorganismes (Y, LAB, AAB) a partir d'una taxa de mortalitat, essent V6, V7 i V8, respectivament. També es captura l'evolució de l'etanol, àcid làctic i àcid acètic a partir dels paràmetres de decaïment, essent V11, V12 i V13 respectivament.

Per tal de representar visualment el darrer procés, es va desenvolupar el següent esquema.

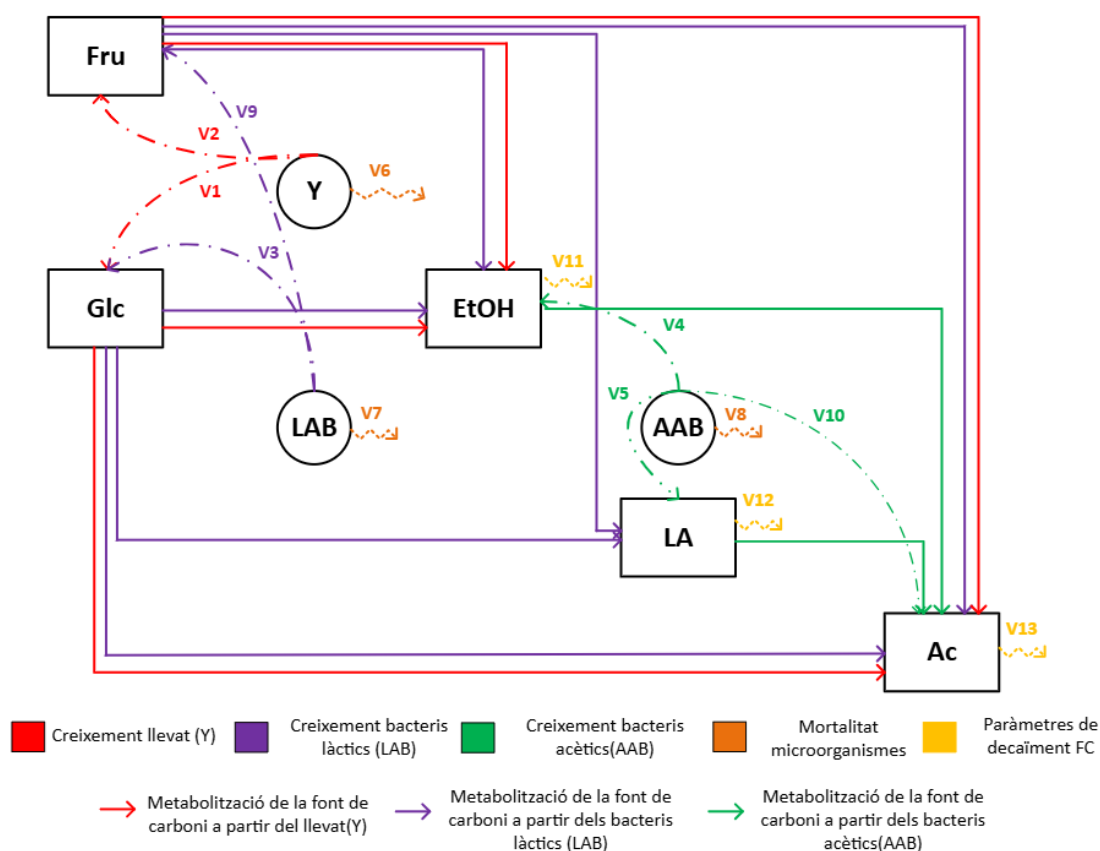


Figura 24.- Esquema del model plantejar de la fermentació del gra de cacau

Per tal de quantificar l'evolució de les fonts de carboni i dels microorganismes en l'esquema proposat (Figura 17, Figura 24), es van desenvolupar les següents equacions (Eq 1, Eq 2, Eq 3, Eq 4, Eq 5, Eq 6, Eq 7, Eq 8).

$$\frac{d[Glc]}{dt} = -Y_{Glc|Y} \cdot V_1 - Y_{Glc|LAB} \cdot V_3 \quad \text{Eq 1}$$

$$\frac{d[Fru]}{dt} = -Y_{Fru|Y} \cdot V_2 - Y_{Fru|LAB} \cdot V_9 \quad \text{Eq 2}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[EtOH]}{dt} = & Y_{EtOH|Y}^{Glc} \cdot V_1 + Y_{EtOH|Y}^{Fru} \cdot V_2 + Y_{EtOH|LAB}^{Glc} \cdot V_3 + Y_{EtOH|LAB}^{Fru} \cdot V_9 \\ & - Y_{EtOH|AAB} \cdot V_4 - V_{11} \end{aligned} \quad \text{Eq 3}$$

$$\frac{d[LA]}{dt} = Y_{LA|LAB}^{Glc} \cdot V_3 + Y_{LA|LAB}^{Fru} \cdot V_9 - Y_{LA|AAB} \cdot V_5 - V_{12} \quad \text{Eq 4}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[Ac]}{dt} = & Y_{Ac|Y}^{Glc} \cdot V_1 + Y_{Ac|Y}^{Fru} \cdot V_2 + Y_{Ac|LAB}^{Glc} \cdot V_3 + Y_{Ac|LAB}^{Fru} \cdot V_9 + Y_{Ac|AAB}^{EtOH} \cdot V_4 \\ & + Y_{Ac|AAB}^{LA} \cdot V_5 - Y_{Ac|AAB} \cdot V_{10} - V_{13} \end{aligned} \quad \text{Eq 5}$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = V_1 + V_2 - V_6 \quad \text{Eq 6}$$

$$\frac{d[LAB]}{dt} = V_3 + V_9 - V_7 \quad \text{Eq 7}$$

$$\frac{d[AAB]}{dt} = V_4 + V_5 + V_{10} - V_8 \quad \text{Eq 8}$$

Les equacions emprades, són compostes per 39 paràmetres, dividits entre constants de saturació (Taula 2), rendiments (Taula 3), velocitats de creixement màximes dels microorganismes (Taula 4), paràmetres de mortalitat de les biomasses (Taula 5) i paràmetres de decaïment de les fonts de carboni (Taula 6), i 8 variables (Taula 7), que corresponen a la concentració de les fonts de carboni i dels microorganismes.

Per tal d'apreciar el contingut de les V, veure Taula 1, Taula 22.

Taula 22.- Taxa de creixement i mortalitat de la biomassa i decadència de les fonts de carboni del model de l'etapa de fermentació del gra de cacau

Creixement llevat (Y)	Creixement bacteris làctics (LAB)	Creixement bacteris acètics (AAB)	Mortalitat microorganismes	Paràmetres de decaïment
$V_1 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Glc}} \cdot [Glc]}{[Glc] + K_{Glc}^{Y_{Glc}}} \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_3 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Glc}} \cdot [Glc]}{[Glc] + K_{Glc}^{LAB_{Glc}}} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_4 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{EtOH}} \cdot [EtOH]}{[EtOH] + K_{EtOH}^{AAB_{EtOH}}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_6 = K_y \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_{11} = K_{EtOH} \cdot [EtOH]$ $\left(\frac{mg\ EtOH}{h \cdot g\ polpa} \right)$
$V_2 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{Y_{Fru}} \cdot [Fru]}{[Fru] + K_{Fru}^{Y_{Fru}}} \cdot [Y]$ $\left(\frac{mg\ Y}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_9 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{LAB_{Fru}} \cdot [Fru]}{[Fru] + K_{Fru}^{LAB_{Fru}}} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_5 = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{LA}} \cdot [LA]}{[LA] + K_{LA}^{AAB_{LA}}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_7 = K_{LAB} \cdot [LAB]$ $\left(\frac{mg\ LAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_{12} = K_{LA} \cdot [LA]$ $\left(\frac{mg\ LA}{h \cdot g\ polpa} \right)$
		$V_{10} = \frac{\mu_{m\grave{a}x}^{AAB_{Ac}} \cdot [Ac]}{[Ac] + K_{Ac}^{AAB_{Ac}}} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_8 = K_{AAB} \cdot [AAB]$ $\left(\frac{mg\ AAB}{h \cdot g\ polpa} \right)$	$V_{13} = K_{Ac} \cdot [Ac]$ $\left(\frac{mg\ Ac}{h \cdot g\ polpa} \right)$

7.2 CALIBRACIÓ DEL MODEL

Els valors dels paràmetres estimats del model descrit a la secció 6.1 estimats es detallen a les següents taules (Taula 23, Taula 24, Taula 25, Taula 26).

Taula 23.- Valors estimats de les constants de saturació

Paràmetre	Unitats	Valor
K_{Glc}^Y	$\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$	34.808
K_{Fru}^Y	$\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$	39.827
K_{Glc}^{LAB}	$\frac{mg\ Glc}{g\ polpa}$	54.985
K_{Fru}^{LAB}	$\frac{mg\ Fru}{g\ polpa}$	60.004
K_{EtOH}^{AAB}	$\frac{mg\ EtOH}{g\ polpa}$	3.436
K_{LA}^{AAB}	$\frac{mg\ LA}{g\ polpa}$	3.617
K_{Ac}^{AAB}	$\frac{mg\ Ac}{g\ polpa}$	2.967

Taula 24.-Valors estimats dels paràmetres de decaïment

Paràmetre	Unitats	Temps	Valor
K_{Ac}	h^{-1}	0	0.003
		96	0.03
		144	0
K_{LA}	h^{-1}	0	0
		24	0.03
		36	0
		96	0.03
		144	0
K_{EtOH}	h^{-1}	0	0.015
		72	0.01

Taula 25.- Valors estimats dels rendiments

Paràmetre	Unitats	Valor
$Y_{Glc Y}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.13
$Y_{Fru Y}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.228
$Y_{EtOH Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.018
$Y_{Ac Y}^{Glc}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.022
$Y_{EtOH Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.018
$Y_{Ac Y}^{Fru}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ Y}$	0.038
$Y_{Glc LAB}$	$\frac{mg\ Glc}{mg\ LAB}$	0.1
$Y_{Fru LAB}$	$\frac{mg\ Fru}{mg\ LAB}$	0.227
$Y_{EtOH LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	0.018
$Y_{LA LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	0.471
$Y_{Ac LAB}^{Glc}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	0.002
$Y_{EtOH LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ LAB}$	0.018
$Y_{LA LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ LAB}$	0.471
$Y_{Ac LAB}^{Fru}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ LAB}$	0.040
$Y_{EtOH AAB}$	$\frac{mg\ EtOH}{mg\ AAB}$	0.093
$Y_{LA AAB}$	$\frac{mg\ LA}{mg\ AAB}$	0.0001
$Y_{Ac AAB}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	0.002
$Y_{Ac AAB}^{EtOH}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	0.015
$Y_{Ac AAB}^{LA}$	$\frac{mg\ Ac}{mg\ AAB}$	0.007

Taula 26.-Valors estimats de les mortalitats dels microorganismes

Paràmetre	Unitats	Valor
K_y	h^{-1}	0.068
K_{LAB}	h^{-1}	0.197
K_{AAB}	h^{-1}	0.089

Les següents figures (Figura 25, Figura 26, Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 30, Figura 31, Figura 32) representen el comportament del model calibrat respecte les dades experimentals.

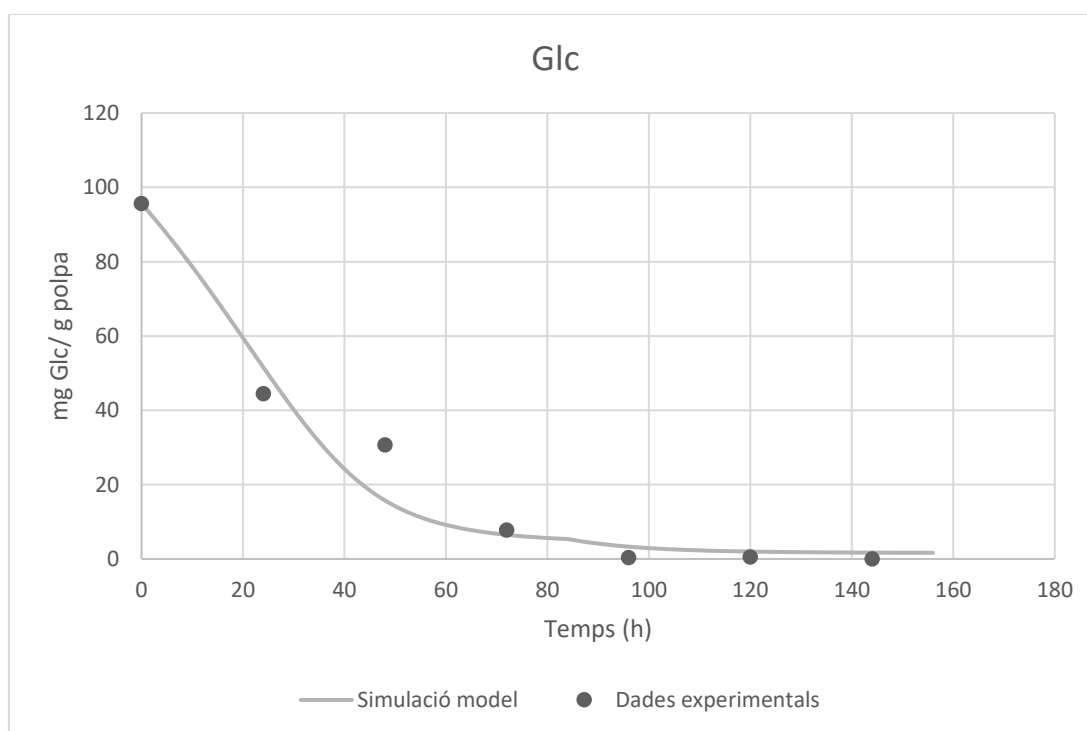


Figura 25.- Superposició valors experimentals i predits de la glucosa

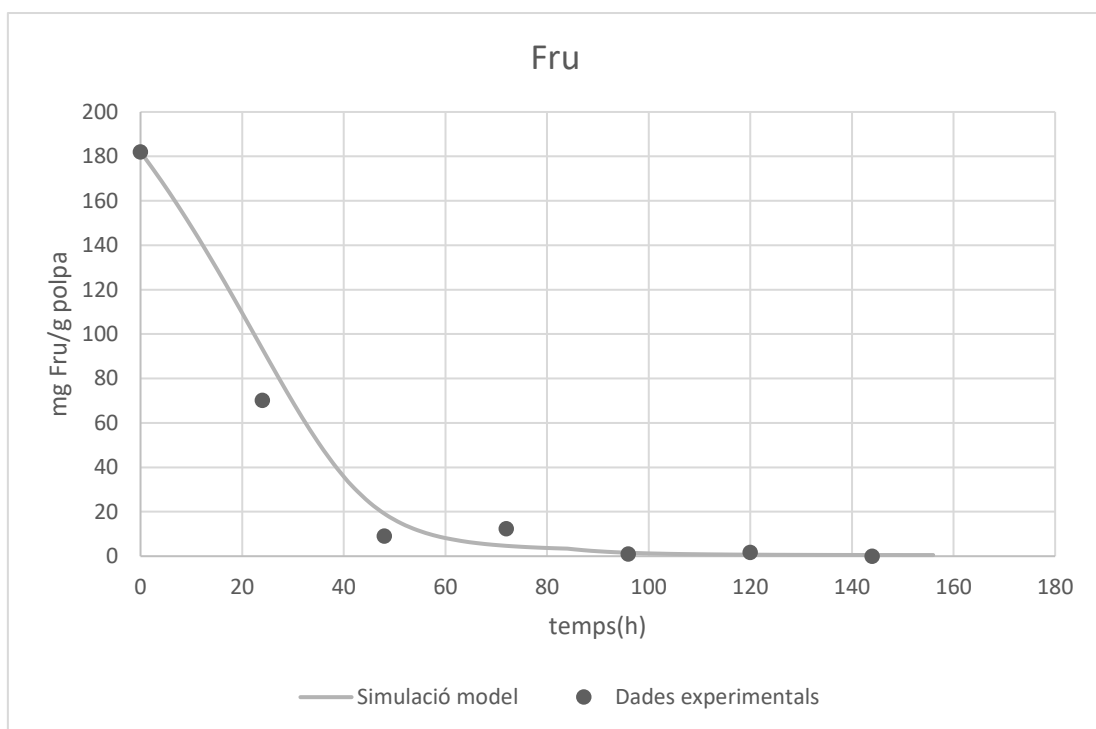


Figura 26.- Superposició valors experimentals i predits de la fructosa

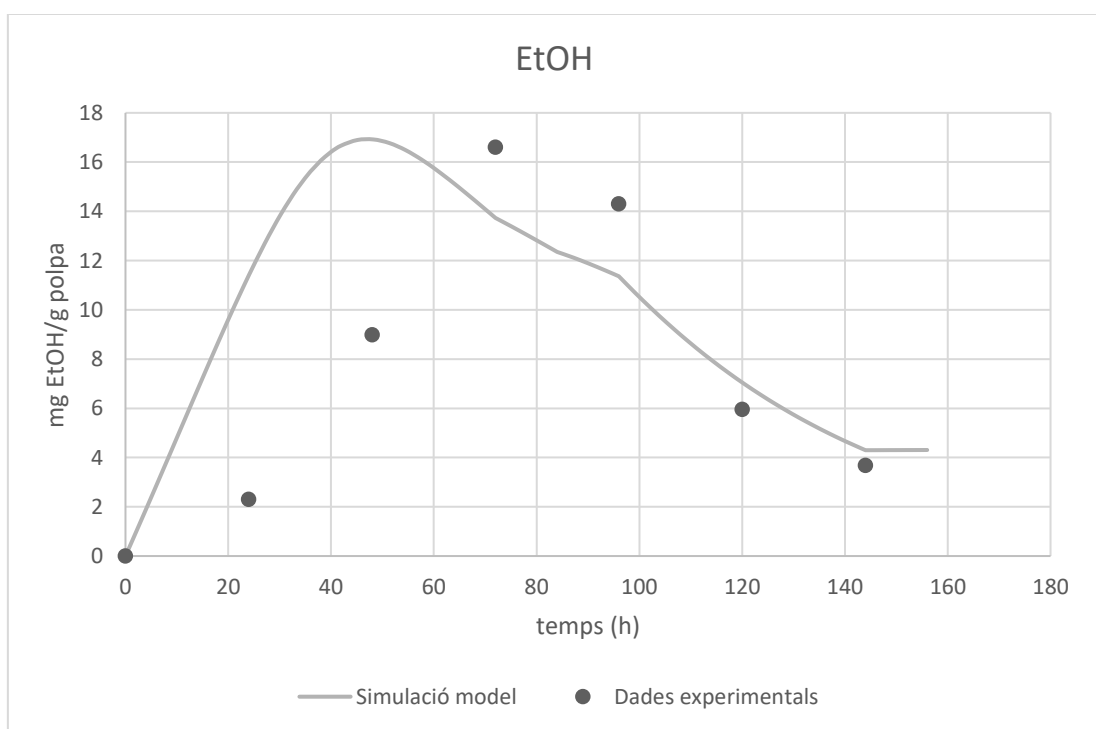


Figura 27.- Superposició valors experimentals i predits de l'etanol

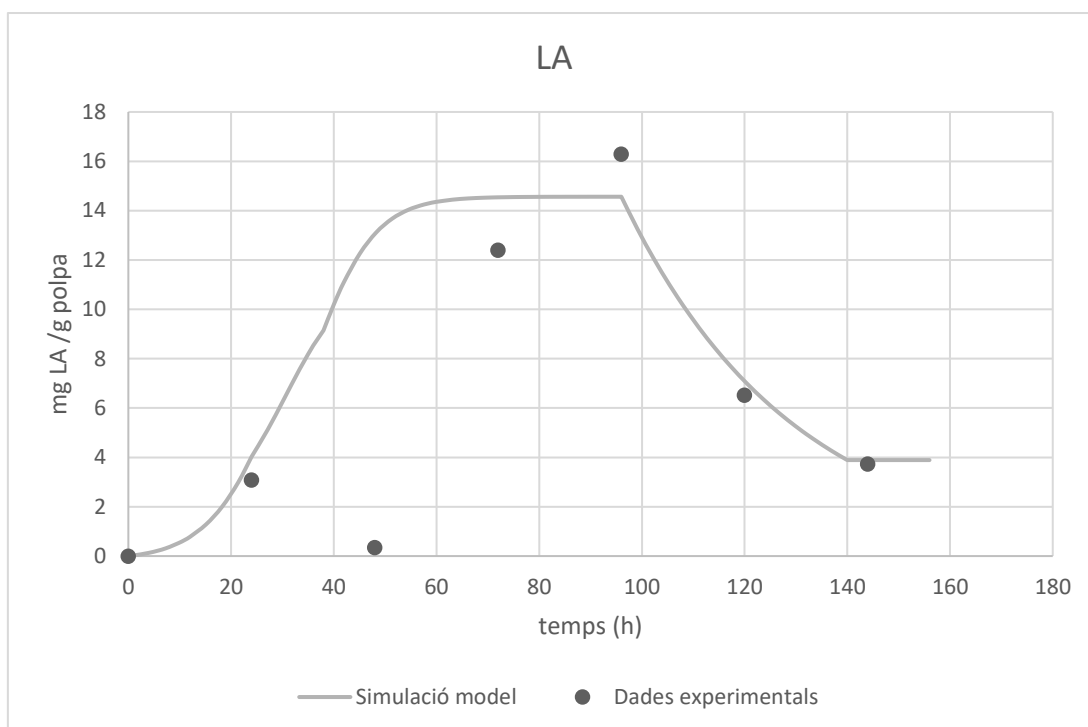


Figura 28.-Superposició valors experimentals i predits de l'àcid làctic

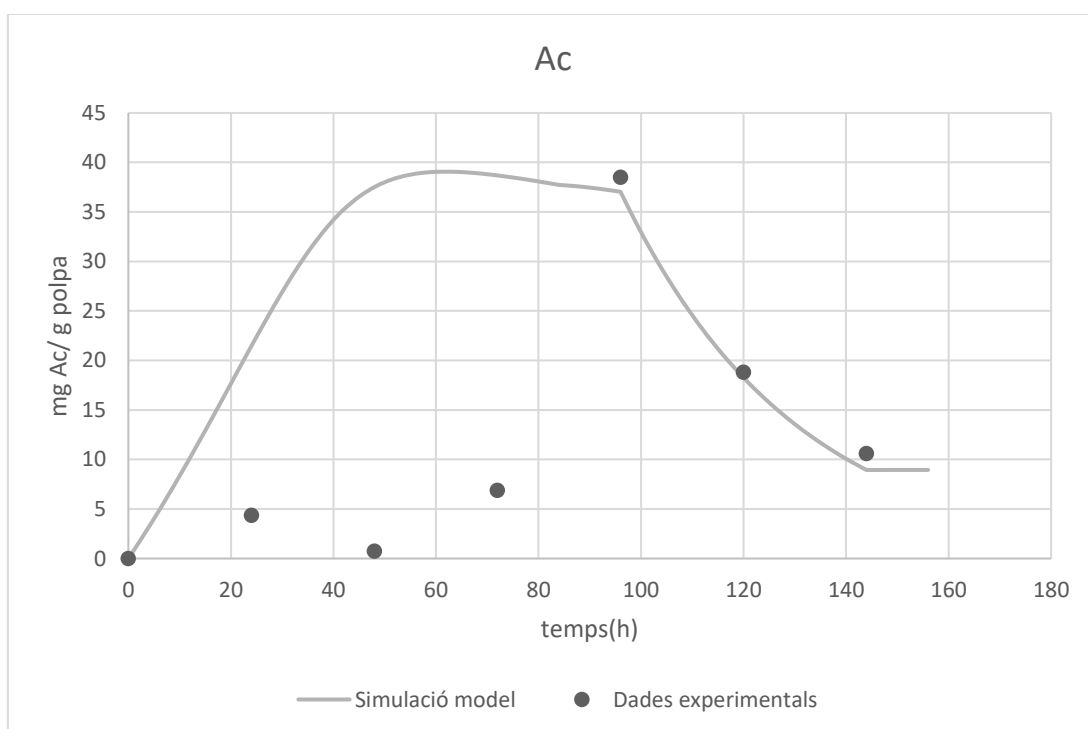


Figura 29.-Superposició valors experimentals i predits de l'àcid acètic

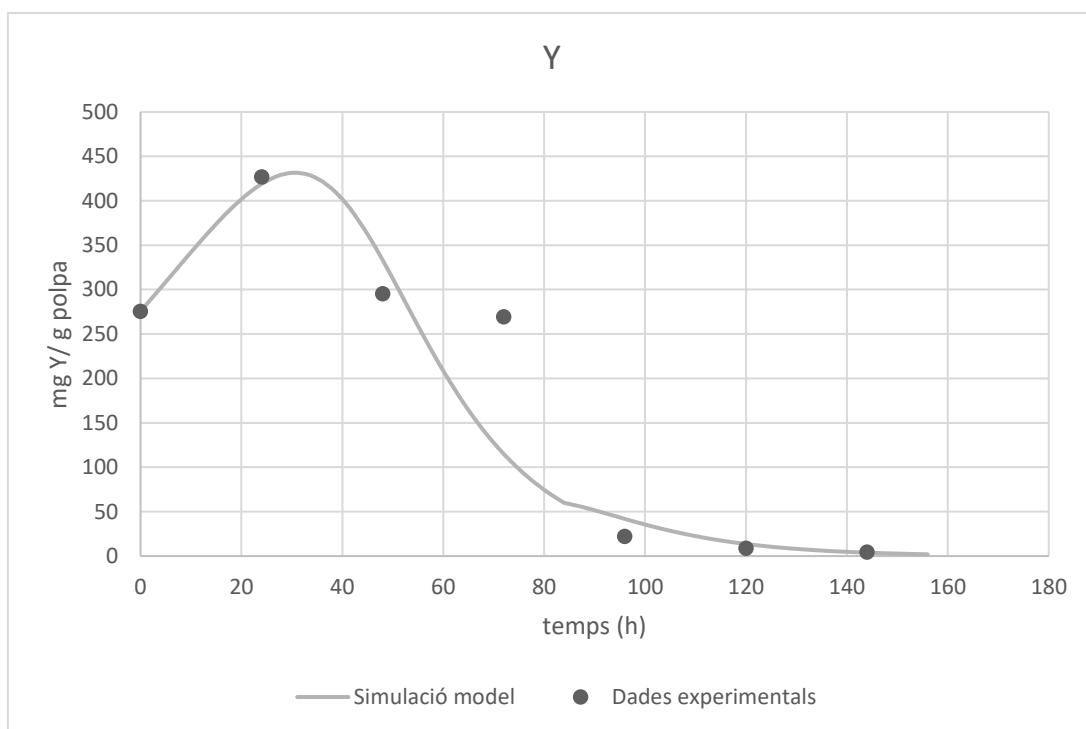


Figura 30.- Superposició valors experimentals i predits dels *Saccharomyces cerevisiae*

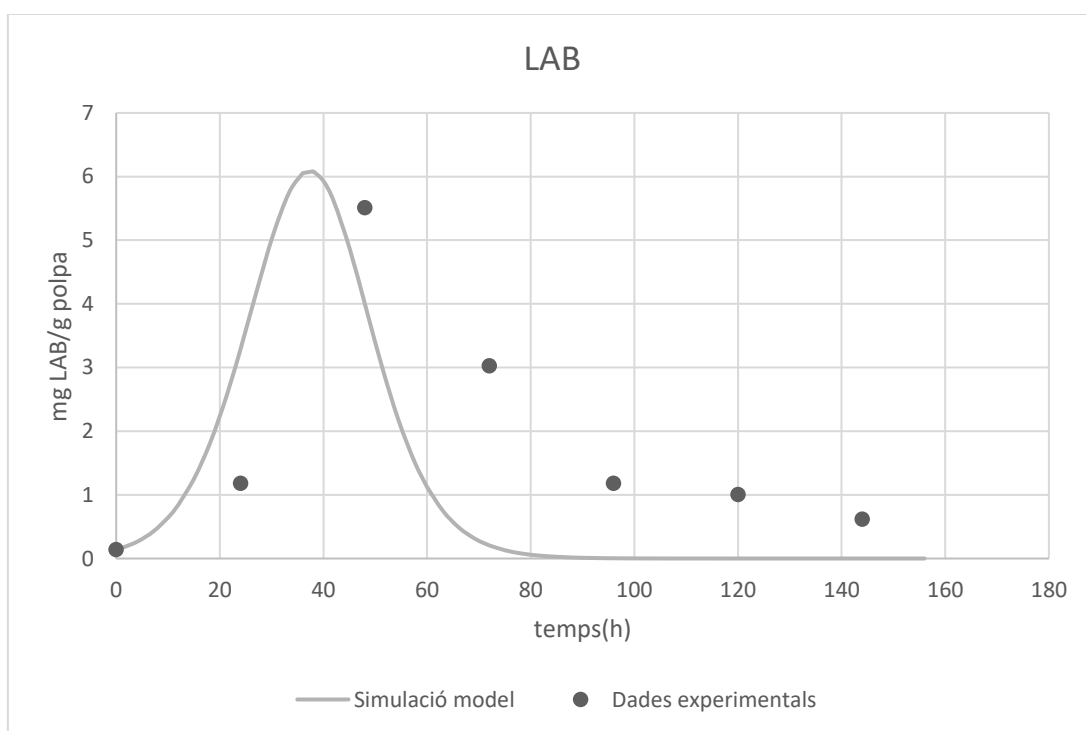


Figura 31.- Superposició valors experimentals i predits dels *Lactobacillus plantarum*

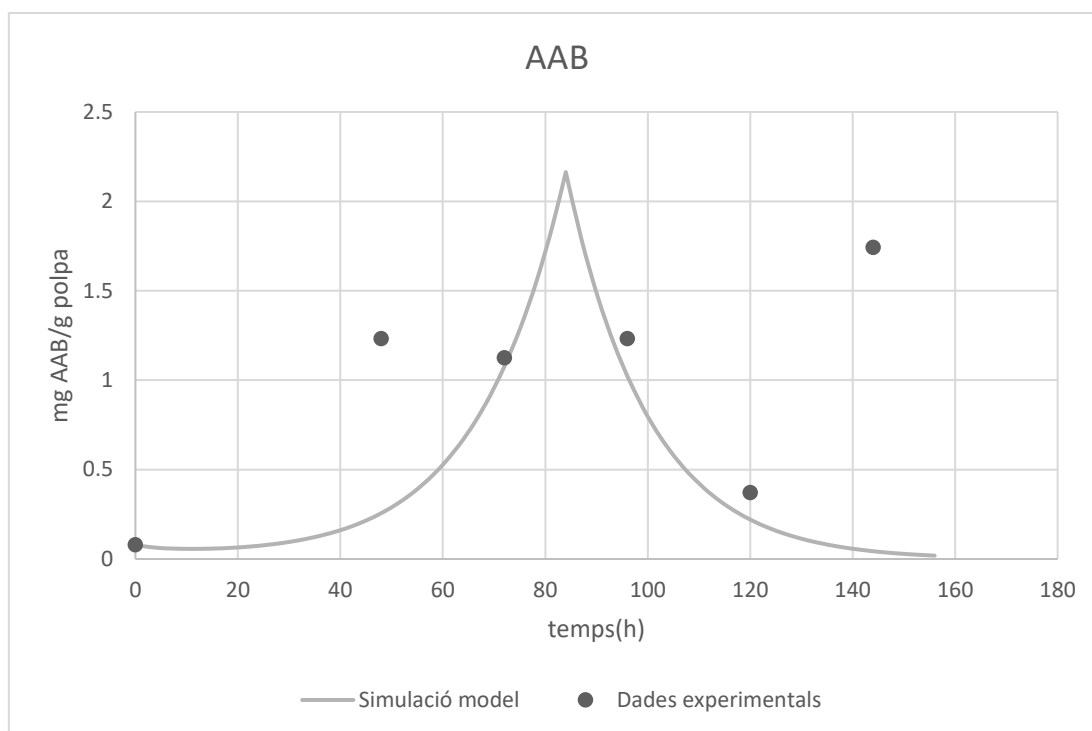


Figura 32.- Superposició valors experimentals i predits dels Acetobacter aceti

La primera part del model (Figura 17) formada per glucosa, fructosa, llevat i lactobacillus (Figura 25, Figura 26, Figura 30, Figura 31), presenta una tendència molt propera a la realitat, magnituds com a velocitats força alineades a la realitat. Tot i així, la consegüent etapa del procés (Figura 17) formada per acetobàcter aceti, etanol, àcid làctic i àcid acètic (Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 32) no es prediu amb la mateixa precisió.

Aquesta segona part, presenta certes discrepàncies en la proximitat de les tendències (experimental i predites), on es conclou que no es tracta simplement d'un ajust de paràmetres, ja que la forma de les prediccions del model no s'alinea amb les dades experimentals. Això es reflecteix en el rang de creixement i la velocitat de creixement o decreixement, on s'observa que es produeixen en períodes de temps diferents. Per tant, la predicció d'aquesta segona part és incompleta i en conseqüència, caldria incloure altres variables al model per tal de millorar la precisió de les prediccions.

No obstant això, cal destacar el llevat és 2 ordres de magnitud superior respecte a les altres biomasses disponibles, i en conseqüència el seu comportament és predominant en el model. Així doncs, les variacions produïdes per la seva activitat tenen un impacte molt més significatiu en els resultats generals del model, opacant les contribucions de les altres biomasses. Per tant,

malgrat la manca de precisió d'aquesta segona etapa, l'efecte global sobre la qualitat i la dinàmica de l'etapa de fermentació no és significatiu.

A més, cal tenir en compte que la combinació d'estudis, consideracions i simplificacions, juntament amb la necessitat de garantir que els valors dels paràmetres reflecteixin la realitat (dades experimentals) i que alhora siguin valors coherents, afegeix una gran complexitat al model i al procés de calibració.

7.3 OPTIMITZACIÓ

Per a l'optimització del procés de fermentació, es combinen millores de disseny i condicions d'operació.

Pel que fa a les condicions d'operació, l'anàlisi dels valors de temperatura i velocitat de creixement dels microorganismes (Taula 15, Taula 16, Taula 17, Taula 18, Taula 21), demostra que la temperatura té un efecte directe sobre la velocitat de creixement dels microorganismes. Per tant, és convenient controlar-la per tal de millorar la productivitat. Tot i així, donat que es tracta d'un procés no totalment descrit, es desconeix quin efecte i quina magnitud pot tenir treballar des d'un inici a una temperatura òptima (on la velocitat de creixement és màxima) sobre les diverses fonts de carboni i les interaccions entre elles (Figura 13). És clar que algunes reaccions poden ser accelerades. No obstant això, es podria alterar l'equilibri entre elles. A més, els llevats són responsables de la liqüefacció de la polpa, on es produeix l'entrada d'aire a causa de l'alliberament de suors. Si la fermentació és molt ràpida, l'entrada d'aire no és òptima, i en conseqüència, l'activitat dels microorganismes és perjudicada. Per tant, modificar les condicions d'operació no està exempt de riscos. Així, es decideix aplicar-les de manera controlada i en moments concrets per tal de minimitzar qualsevol possible interacció.

Els rangs de treball de temperatura escollits (Taula 21, Taula 27) es basen en l'harmonització de la velocitat de creixement (Taula 16, Taula 17, Taula 18) i les variacions de les temperatures (Taula 15).

Taula 27.- Rangs de treball de temperatura

Rang de temperatura (K)	Velocitat harmonitzada del creixement microbià (h ⁻¹)
[298-303]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.059$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.36$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.0584$
[303-307]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.416$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.36$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.094$
[313-315]	$\mu_{m\grave{a}x}^Y = 0.236$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{LAB} = 0.19$
	$\mu_{m\grave{a}x}^{AAB} = 0.011$

Donat que els rangs específics requerits no necessiten un control excessivament precís, s'implementa la tècnica del bany Maria, ja que és fàcil d'implementar i de monitoritzar. A més, comporta una inversió mínima en comparació amb altres sistemes de control de temperatura.

Pel que fa a les millores de disseny (Figura 23 ,Figura 33), es té en compte les condicions d'operació i el procés original de fermentació a l'Equador, on actualment es realitza a l'aire lliure o en caixes de fusta, en una sola etapa. Donat que la fermentació es pot considerar dominada per tres successions microbianes es pretén dividir el procés en tres etapes per tal de millorar el control i l'eficiència del procés. Aquesta divisió permet una gestió més precisa de les condicions ambientals i una optimització específica de cada fase.

Es pretén iniciar el procés de fermentació en una caixa estàndard a temperatura ambient durant un temps determinat. A partir d'aquí, es traspasarà la meitat del contingut a una segona caixa en paral·lel, amb les mateixes condicions. Contínuament, en ambdues caixes s'introduirà la mateixa quantitat de polpa fresca. Així, el lot inicial es divideix en 2 lots d'igual magnitud. El procés avançarà en paral·lel, traspassant el contingut de cada caixa a la següent en sèrie a intervals determinats, amb cada caixa treballant a una temperatura fixa.

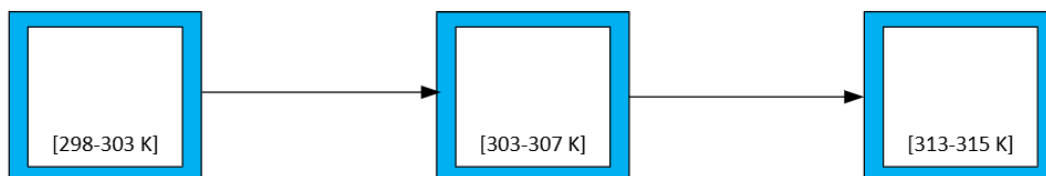


Figura 33.- Disseny del procés de fermentació millorat

Les següents figures (Figura 34, Figura 35, Figura 36, Figura 37, Figura 38, Figura 39, Figura 40, Figura 41) representen el comportament de les diferents variables sota diverses condicions de disseny i operació (Figura 23), detallades a la secció 6.3, respecte el comportament del model calibrat.

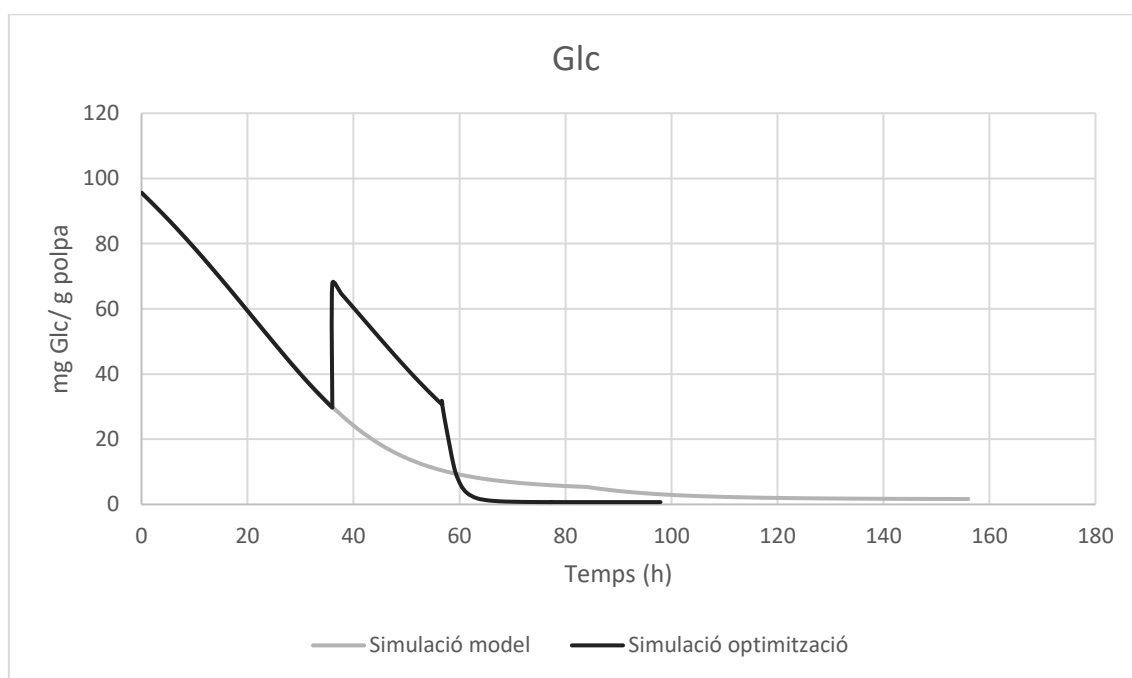


Figura 34.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de la glucosa

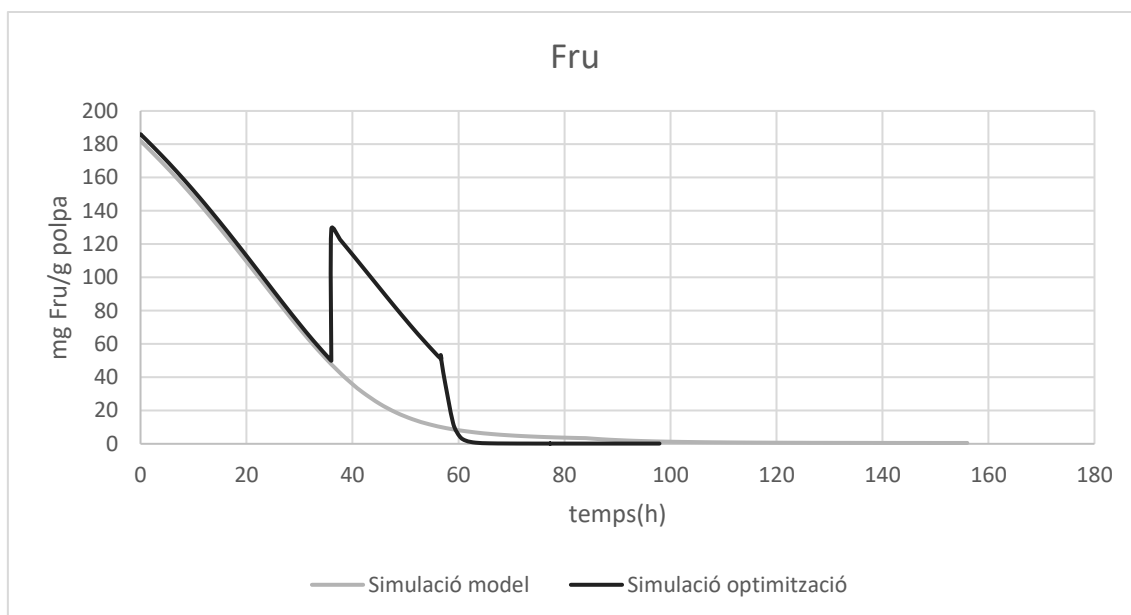


Figura 35.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de la fructosa

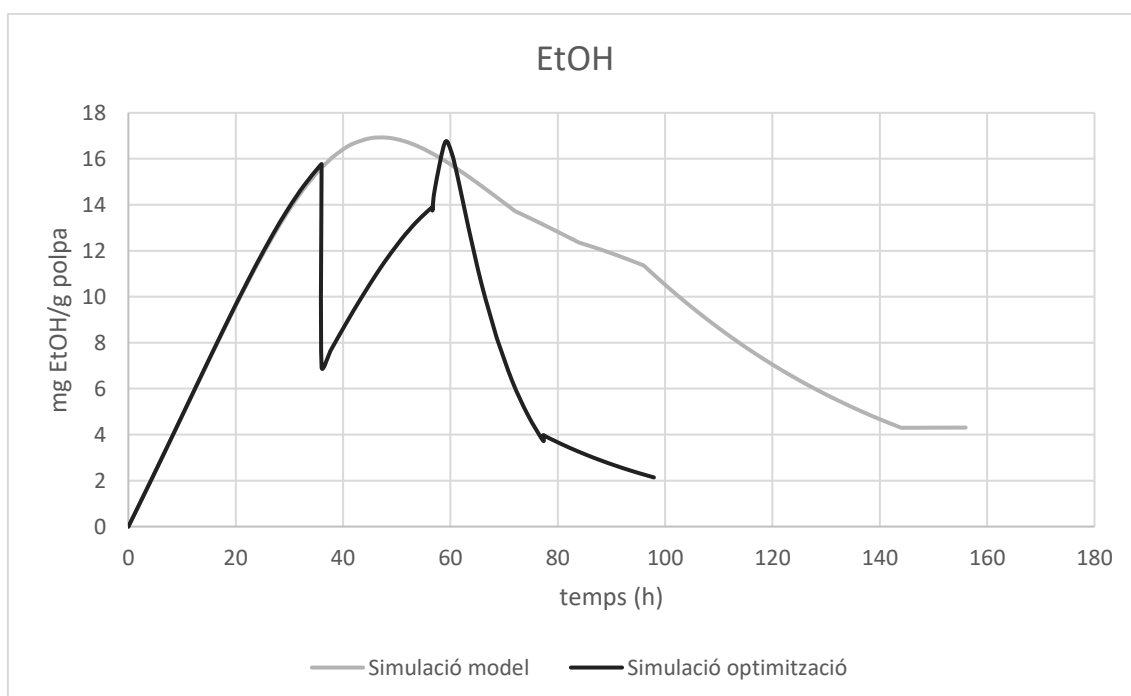


Figura 36.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'etanol

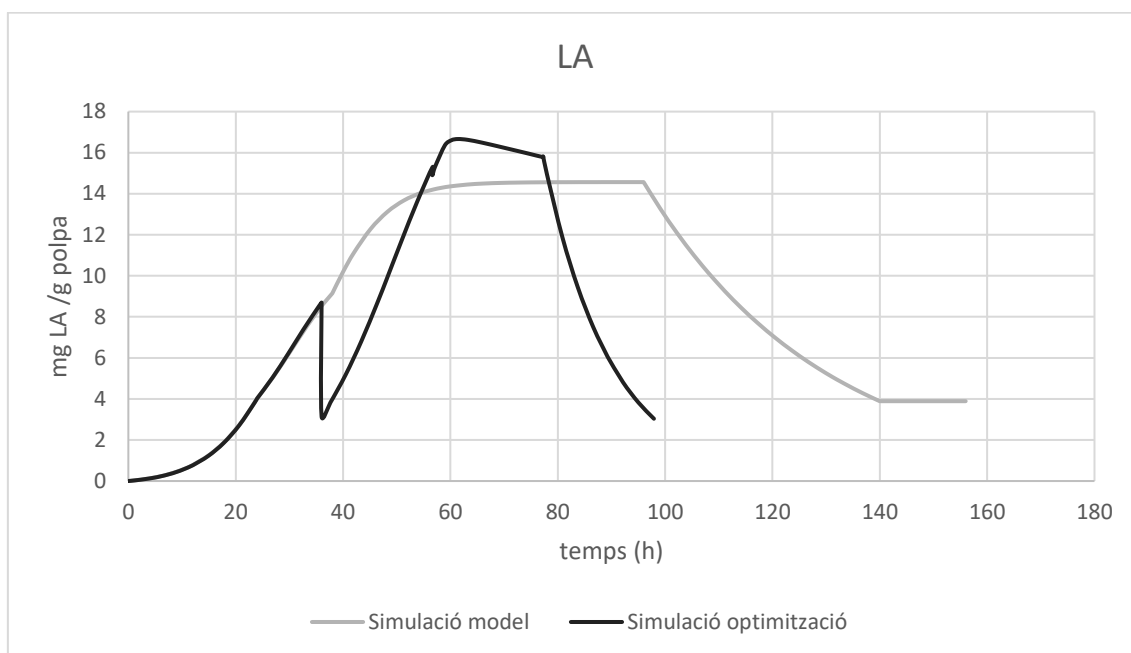


Figura 37.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'àcid làctic

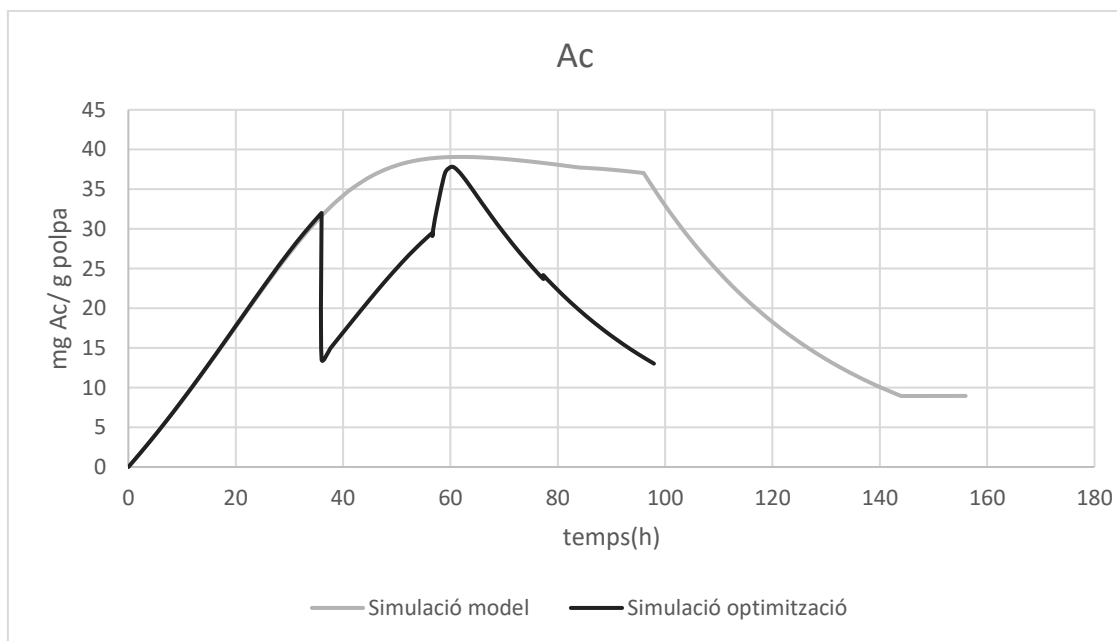


Figura 38.- Superposició valors predits i valors de l'optimització de l'àcid làctic

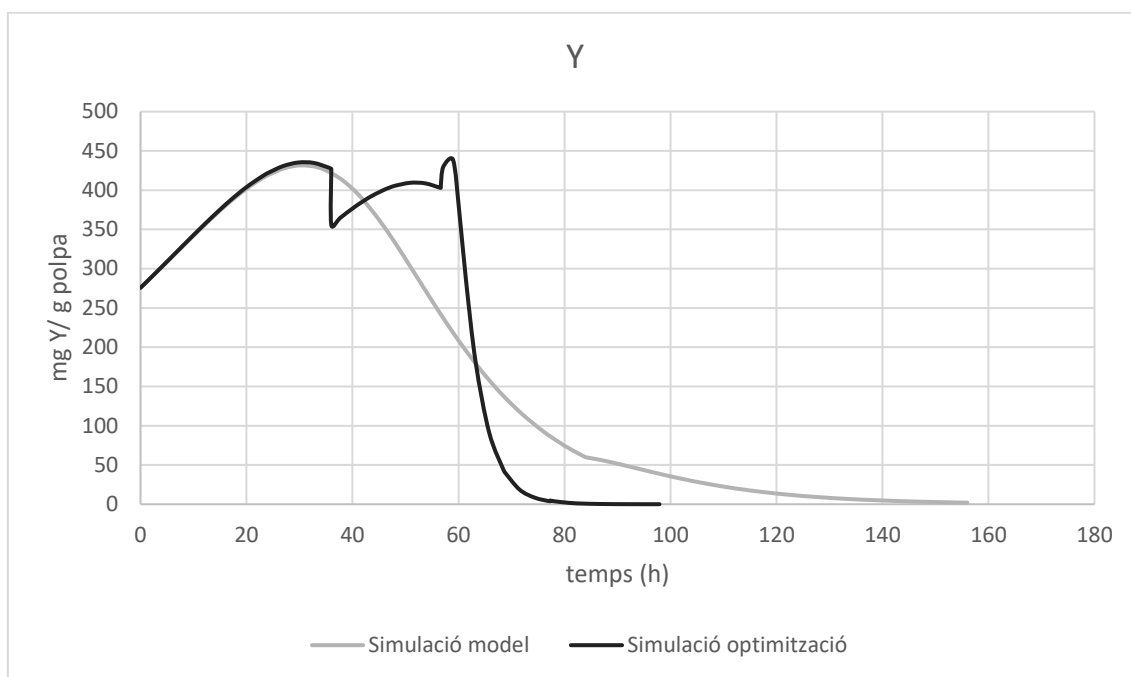


Figura 39.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels *Saccharomyces cerevisiae*

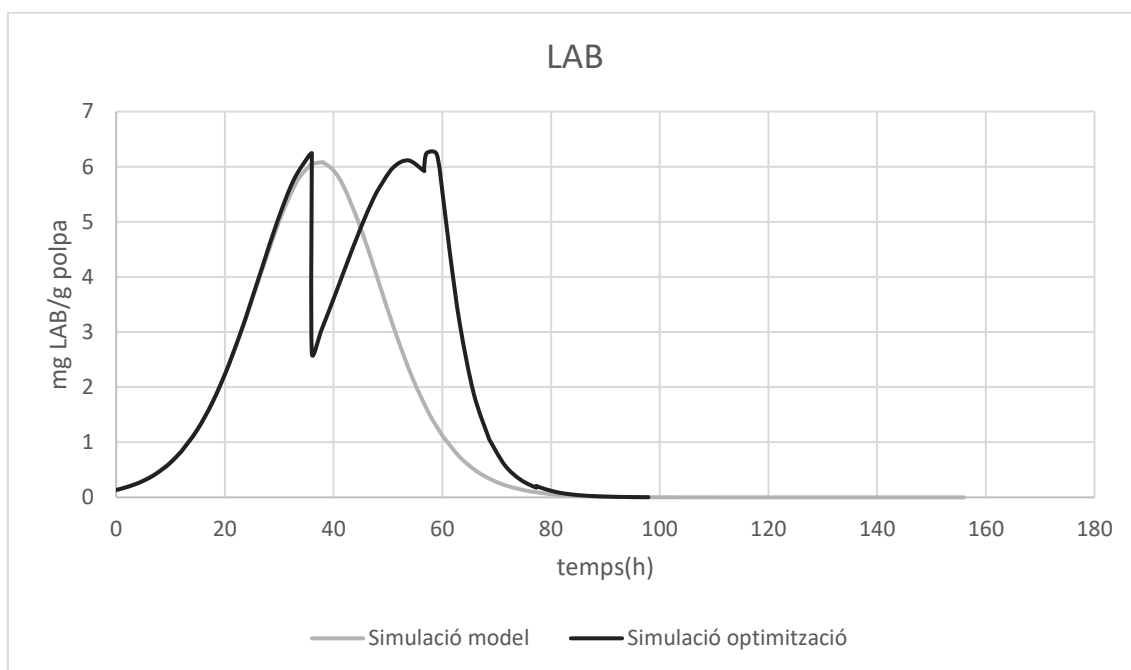


Figura 40.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels *Lactobacillus plantarum*

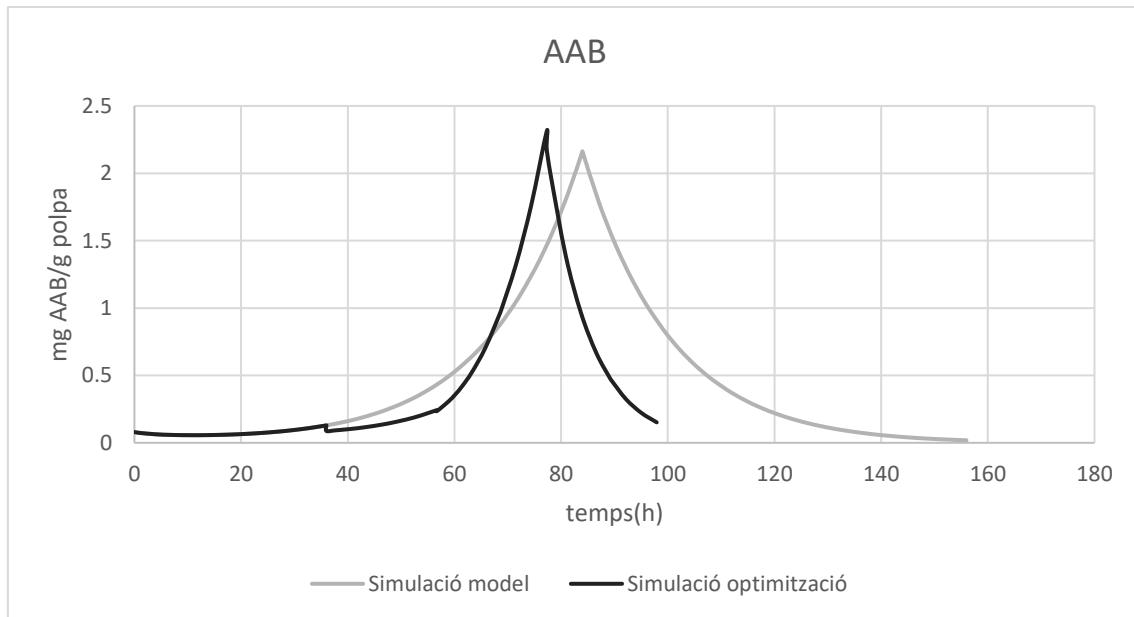


Figura 41.-Superposició valors predits i valors de l'optimització dels Acetobacter acetí

El comportament de les diferents variables del procés millorat es presenten en diferents períodes de temps: 0-36, 36-56, 56-76 i 76-96 hores, corresponents a les millores de disseny i operació aplicades. Les tendències observades són coherents, arribant a valors propers als obtinguts amb el model calibrat.

En el primer període de temps, corresponent a la primera caixa, es presenta l'evolució de les variables a temperatura ambient, on es busca proporcionar suficient temps per a que es produeixin possibles reaccions que no s'han inclòs en el model, i desfavorir el creixement dels llevats (Y) i afavorir el creixement dels bacteris làctics (LAB). Encara que ambdós microorganismes consumeixen les mateixes fonts de carboni (glucosa i fructosa), els Y disposen d'una capacitat de consum més gran i, a causa de la seva magnitud superior, aquest consum és més pronunciat. D'aquesta manera, quan els LAB comencin a créixer, disposaran de suficient font de carboni per al seu desenvolupament òptim.

A les 36 hores, el creixement dels Y i LAB és màxim. En aquest punt, es traspasa la meitat del contingut de la primera caixa a la caixa en paral·lel, on també es treballa a temperatura ambient, i s'hi afegeix en ambdós casos la mateixa quantitat de polpa fresca, fet que provoca la dilució de les biomasses, i l'increment de la glucosa i fructosa. Per tant, des de l'inici del procés es disposa d'una major proporció de microorganismes actius fet que provoca l'acceleració de la

metabolització i la reducció de la pèrdua de calor de la polpa, escurçant el període d'adaptació. D'aquesta manera, la fermentació s'accelera sense comprometre les possibles interaccions. En aquest punt, es deixa treballar fins a les 20 hores, moment en què el creixement dels microorganismes torna a ser màxim. A partir d'aquí, en ambdós casos, tot el contingut de la primera caixa es transfereix a la segona caixa de la sèrie.

En el tercer període de temps, s'augmenta la temperatura, accelerant la velocitat de creixement. Aquest efecte té un impacte menor en la primera part del model, ja que la quantitat de glucosa i fructosa és inferior. Un cop el creixement dels AAB assoleix la concentració màxima, es passa al següent període de temps, en el qual, a les 76 hores, en ambdós casos, tot el contingut de la segona caixa es transfereix a la tercera caixa de la sèrie, on s'augmenta a una temperatura a un nivell superior a l'òptim, fet que disminueix totes les velocitat per tal d'augmentar el temps d'interacció entre les variables.

Suposant una base de càlcul de 100 kg, el model proposat és capaç de reproduir el procés en 156 hores. Aplicant l'optimització, el model permet duplicar la producció en un menor temps. A les 36 hores, dels 100 kg inicials, la meitat es traspasa a la caixa en paral·lel i, alhora, en ambdues caixes s'introdueix la mateixa quantitat de polpa fresca, de manera que totes dues caixes disposen de 100 kg. Aplicant les condicions d'operació, el procés es completa en 96 hores. Per tant, la producció passa de 0,64 kg/h a 2,08 kg/h.

8. CONCLUSIONS I RECOMANACIONS

El model descrit és capaç de proporcionar una visió representativa, tot i que incompleta del comportament de les variables més significatives de l'etapa de fermentació del cacau.

A causa del desconeixement de les possibles interaccions entre les diferents fonts de carboni, s'han realitzat simplificacions basades en les consideracions proposades, excloent certes reaccions no estudiades. Aquestes simplificacions fan que, a l'hora de calibrar el model, la segona part del mateix no reflecteixi la realitat (dades experimentals) al complert. Per tant, el model resulta incomplet, i és necessari incorporar paràmetres addicionals per ajustar-lo amb més precisió. No obstant això, és suficientment representatiu com per proposar alternatives que permetin optimitzar el disseny i les condicions d'operació del procés replicable en origen.

Es proposa dividir l'etapa de fermentació en tres fases i aplicar mitjançant un bany Maria un rang de temperatures de fàcil control, on el valor màxim és de 42 °C, podent assolir-lo mitjançant l'aportament d'aigua calenta i freda. Aquesta configuració evita la necessitat de sistemes de refrigeració més complexos i costosos. A més, la independència dels lots en el procés de fermentació no només minimitza els riscos en cas d'imprevistos, sinó que també facilita la transferència de calor i matèria, millorant la convecció gràcies al menor volum de cada lot.

Aplicant l'optimització proposada, la producció passa de 0,64 kg/h a 2,08 kg/h. Aquest resultat és molt positiu, però, donades les diverses simplificacions realitzades, seria bo validar aquest model de forma experimental, on probablement hi hagi discrepàncies entre la teoria i la realitat.

9. PRESSUPOST I PLANIFICACIÓ

9.1 PRESSUPOST DEL TREBALL

Donat que es tracta d'un procés basat en un estudi exhaustiu de fonts bibliogràfiques, no s'han utilitzat consumibles, subcontractacions ni inversions. Així, considerat únicament el cost de la mà d'obra (7 €/h), i suposant una jornada de 5 hores durant 166 dies (Figura 42), el cost total del treball és de 5810 € (Taula 28) (impostos no inclosos).

Taula 28.- Resum costos

Assumpte	Cost [€]
Mà d'obra	5810
Consumibles	----
Subcontractats	----
Inversions	----
Total	5810

9.2 PLANIFICACIÓ DEL TREBALL

Per dur a terme el treball final de grau, es va seguir la següent planificació (Figura 42). A partir d'aquí, es va analitzar el procés d'obtenció d'aquesta matèria primera i es van identificar les dificultats que pateixen els productors en origen. Amb els coneixements actuals, es va plantejar què es podia fer per millorar la situació actual, definint així els objectius. Així, es va procedir amb la creació del model, el qual es va calibrar utilitzant dades experimentals per garantir que el procés reflectís la realitat. Aquesta fita va ser la més exigent tant en temps com en esforç, a causa de la sensibilitat del model. Un cop el model va ser capaç de capturar adequadament els patrons generals del procés, es van plantejar optimitzacions a nivell de disseny i operació, corroborades per les simulacions del model. La redacció de la memòria es va dur a terme en paral·lel amb el desenvolupament del projecte, per tal de capturar-ne els màxims detalls possibles

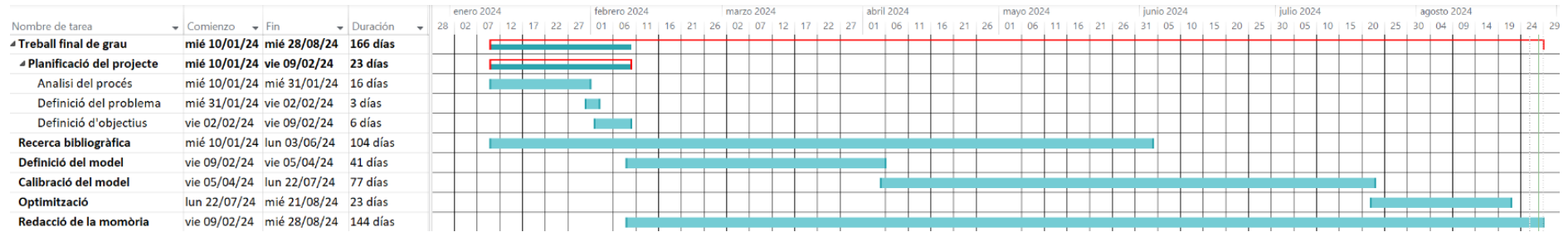


Figura 42.- Diagrama de Gantt de la planificació del projecte

10. BIBLIOGRAFIA

Afoakwa, E.O. *et al.* (2008) 'Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), pp. 840–857. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408390701719272>.

Antolinez Sandoval, E.Y. *et al.* (2020) 'Estado actual de la cacaocultura: una revisión de sus principales limitantes', *Ciencia y Agricultura*, 17(2), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.19053/01228420.v17.n2.2020.10729>.

Bhattacharjee, R. and Akoroda, M. (2018) 'Taxonomy and classification of cacao', in, pp. 3–18. Available at: <https://doi.org/10.19103/as.2017.0021.01>.

Cacao, T. (no date) *Hoja botánica: Cacao*.

Díaz-Muñoz, C. and De Vuyst, L. (2022) 'Functional yeast starter cultures for cocoa fermentation', *Journal of Applied Microbiology*. John Wiley and Sons Inc, pp. 39–66. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.15312>.

Gutiérrez-Ríos, H.G. *et al.* (2022) 'Yeasts as Producers of Flavor Precursors during Cocoa Bean Fermentation and Their Relevance as Starter Cultures: A Review', *Fermentation*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/fermentation8070331>.

Herrera-García, K., Aragón-Obando, E. and Aguilar-Bustamante, V. (2018) 'Diversidad genética en 105 accesiones de cacao (*Theobroma cacao* L.) colectadas en nicaragua, utilizando 10 marcadores moleculares tipo SSR', *La Calera*, 15(25), pp. 54–62. Available at: <https://doi.org/10.5377/calera.v15i25.5972>.

Hill, G.A. and Daugulis, A.J. (no date) *Phenol inhibition kinetics for growth of Acetobacter aceti on ethanol*.

J.M.GOMEZ, L.E.R.I.C.Y.D.C. (no date) 'Growth Kinetics of acetobacter-aceti in alcoholic media'. Available at: https://es.scribd.com/document/465182521/88903265-Cinetica-de-Crecimiento-de-Acetobacter-Aceti-1-pdf#fullscreen&from_embed (Accessed: 21 March 2024).

Kouamé, C. *et al.* (2021) 'Development of a model for the alcoholic fermentation of cocoa beans by a *Saccharomyces cerevisiae* strain', *International Journal of Food Microbiology*, 337. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108917>.

Lefeber, T. *et al.* (2010) 'Kinetic analysis of strains of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa pulp simulation media toward development of a starter culture for cocoa bean fermentation', *Applied and Environmental Microbiology*, 76(23), pp. 7708–7716. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.01206-10>.

Lefeber, T., Gobert, W., *et al.* (2011) 'Dynamics and species diversity of communities of lactic acid bacteria and acetic acid bacteria during spontaneous cocoa bean fermentation in vessels', *Food Microbiology*, 28(3), pp. 457–464. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.10.010>.

Lefeber, T., Janssens, M., *et al.* (2011) 'Interesting starter culture strains for controlled cocoa bean fermentation revealed by simulated cocoa pulp fermentations of cocoa-specific lactic acid bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), pp. 6694–6698. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.00594-11>.

Lima, L.I.J.R. *et al.* (2011) 'Theobroma cacao L., "the food of the gods": Quality determinants of commercial cocoa beans, with particular reference to the impact of fermentation', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(8), pp. 731–761. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408391003799913>.

Lip, K.Y.F. *et al.* (2020) 'Selection and subsequent physiological characterization of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains during continuous growth at sub- and supra optimal temperatures', *Biotechnology Reports*, 26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00462>.

Matejčková, Z. *et al.* (2016) 'Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature', *Acta Chimica Slovaca*, 9(2), pp. 104–108. Available at: <https://doi.org/10.1515/acs-2016-0018>.

Miguel, M.G. da C.P. *et al.* (2017) 'Cocoa fermentation: Microbial identification by MALDI-TOF MS, and sensory evaluation of produced chocolate', *LWT*, 77, pp. 362–369. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.076>.

Monod, J. (no date) *THE GROWTH OF BACTERIAL CULTURES*. Available at: www.annualreviews.org/aronline.

- Moreira, I.M. da V. *et al.* (2013) 'Microbial succession and the dynamics of metabolites and sugars during the fermentation of three different cocoa (*Theobroma cacao* L.) hybrids', *Food Research International*, 54(1), pp. 9–17. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.001>.
- Moreno-Zambrano, M. *et al.* (2018) 'A mathematical model of cocoa bean fermentation', *Royal Society Open Science*, 5(10). Available at: <https://doi.org/10.1098/rsos.180964>.
- Moreno-Zambrano, M., Ullrich, M.S. and Hütt, M.T. (2022) 'Exploring cocoa bean fermentation mechanisms by kinetic modelling', *Royal Society Open Science*, 9(2). Available at: <https://doi.org/10.1098/rsos.210274>.
- Motamayor, J.C. *et al.* (2002) 'Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas', *Heredity*, 89(5), pp. 380–386. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800156>.
- Motamayor, J.C. *et al.* (2008) 'Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.)', *PLoS ONE*, 3(10). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>.
- Obediencia, D.C. and Brosas, D.G. (no date) *Cacao Bean Quality Assessment Procedure: A Method for Classification Process*. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/330194037>.
- De Ory, I., Romero, L.E. and Cantero, D. (no date) *Modelling the kinetics of growth of Acetobacter aceti in discontinuous culture: influence of the temperature of operation*.
- Ozturk, G. and Young, G.M. (2017) 'Food Evolution: The Impact of Society and Science on the Fermentation of Cocoa Beans', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Blackwell Publishing Inc., pp. 431–455. Available at: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12264>.
- Paalme, T. *et al.* (no date) *Growth efficiency of zyxwvutsrqponmlkjihgfedcbaZYXWVUTSRQPONMLKJIHGFEDCB Saccharomyces cerevisiae on glucose/ethanol media with a smooth change in the dilution rate (A-stat)*.
- Papalexandratou, Z. *et al.* (2011) 'Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of the microbiota associated with traditional ecuadorian spontaneous cocoa bean fermentations', *Applied and Environmental Microbiology*, 77(21), pp. 7698–7714. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.05523-11>.

'_Physiological evaluation of yeast strains under anaerobic conditions using glucose, fructose, or sucrose as the carbon source - ScienceDirect' (no date).

Pramono I], Y.B., Harmayani, E. and Utami, T. (no date) *KINETIKA PERTUMBUHAN Lactobacillus plantarum dan Lactobacillus sp.. PADA MEDIA MRS CAIR [Growth Kinetics of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus sp. in MRS Medium]*.

Ramos, C.L. *et al.* (2014) 'Impact of different cocoa hybrids (*Theobroma cacao* L.) and *S. cerevisiae* UFLA CA11 inoculation on microbial communities and volatile compounds of cocoa fermentation', *Food Research International*, 64, pp. 908–918. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.033>.

Rangel-Fajardo, M.A. *et al.* (2012) *ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DE LA SEMILLA DEL CACAO (Theobroma cacao L.) CRIOLLO MEXICANO ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF THE MEXICAN CACAO (Theobroma cacao L.) SEED*, *Artículo Científico Rev. Fitotec. Mex.*

Santander Muñoz, M. *et al.* (2020) 'An overview of the physical and biochemical transformation of cocoa seeds to beans and to chocolate: Flavor formation', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor and Francis Inc., pp. 1593–1613. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1581726>.

Schwan, R.F. *et al.* (2023) 'The essential role of spontaneous and starter yeasts in cocoa and coffee fermentation', *FEMS Yeast Research*. Oxford University Press. Available at: <https://doi.org/10.1093/femsyr/foad019>.

Valencia Carreño, L. *et al.* (2022) 'Recursos genéticos de variedades de cacao tipo Nacional en Ecuador: una revisión sistemática', *Ciencia y Tecnología*, 15(2), pp. 31–44. Available at: <https://doi.org/10.18779/cyt.v15i2.582>.

De Vuyst, L. and Leroy, F. (2020) 'Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes', *FEMS Microbiology Reviews*. Oxford University Press, pp. 432–453. Available at: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa014>.

De Vuyst, L. and Weckx, S. (2016) 'The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development', *Journal of Applied Microbiology*, pp. 5–17. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.13045>.

Wilfrido Remigio Cedaño Peña (no date) 'Ecuadorian Cocoa Producer'. 2024.

Y. Albornas-Carvajal^{1*}, J.P.G.G.C.L.R.R. y E.G.S. 1 (2015) 'Primera aproximación a la cinética de la obtención de etanol mediante sacarificación y fermentación simultánea del bagazo', pp. 1–6.