

Sensor virtual para la estimación de concentración de etanol en fermentación continua

Virtual sensor for estimating ethanol concentration in continuous fermentation

F. Gonzalez ^a, P.A. Valle ^a, C. Plata-Ante ^a, J.R. Cárdenas-Valdez ^a, L.N. Coria ^a, R. Ramírez-Villalobos ^{a,*}

^aDepartamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Tecnológico Nacional de México / IT de Tijuana, Tijuana 22435, Baja California, Mexico

Resumen

Este trabajo presenta el desarrollo de un sensor virtual para un proceso de fermentación continua, modelando el comportamiento de *Kluyveromyces marxianus*, una levadura empleada en la industria vinícola por su capacidad para fermentar azúcares simples y actuar como agente de biocontrol. La medición directa del etanol presenta latencias que dificultan el control eficiente del proceso. Para superar esta limitación, se emplea un modelo mecanicista que describe las interacciones dinámicas entre biomasa, glucosa y etanol. A partir de este modelo, se diseña un sensor virtual que estima dichas concentraciones a partir de datos medibles. La solución se implementa en tiempo real mediante dos microcontroladores comunicados por puerto serial y utilizando el método de Runge-Kutta para la integración numérica. Los resultados muestran alta concordancia entre los estados simulados y estimados. A diferencia de enfoques previos basados en redes neuronales o filtros de Kalman, la propuesta combina un modelo mecanicista con análisis de observabilidad estructural e implementación en microcontroladores de bajo costo.

Palabras Clave: Estimación de etanol, fermentación continua, instrumentación biotecnológica, *kluyveromyces marxianus*, sensor virtual.

Abstract

This work presents the development of a virtual sensor for a continuous fermentation process, modeling the behavior of *Kluyveromyces marxianus*, a yeast widely used in the wine industry due to its ability to ferment simple sugars and act as a biocontrol agent. Direct measurement of ethanol often involves delays that hinder efficient process control. To overcome this limitation, a mechanistic model describing the dynamic interactions among biomass, glucose, and ethanol is employed. Based on this model, a virtual sensor is designed to estimate these concentrations from easily measurable variables. The solution is implemented in real time using two microcontrollers, connected via serial communication and relying on the Runge-Kutta method for numerical integration. The results show a high degree of agreement between simulated and estimated states. Unlike previous approaches based on neural networks or Kalman filters, the proposed method combines a mechanistic model with structural observability analysis and implementation on low-cost microcontrollers.

Keywords: Ethanol estimation, continuous fermentation, biotechnological instrumentation, *kluyveromyces marxianus*, virtual sensor.

1. Introducción

Los procesos fermentativos desempeñan un papel fundamental en la industria biotecnológica moderna, empleándose ampliamente en la producción de alimentos, bebidas, bioetanol, enzimas y compuestos farmacéuticos (Salazar *et al.*, 2023). Entre las especies más utilizadas se encuentra *Kluyveromyces*

marxianus, una levadura conocida por su capacidad para fermentar azúcares simples de manera eficiente, su tolerancia a condiciones adversas y su utilidad como organismo de biocontrol (Bilal *et al.*, 2022). Su modelado dinámico mediante ecuaciones diferenciales no lineales permite describir con precisión los fenómenos cinéticos que regulan el proceso fermentativo, constituyendo una base sólida para el diseño de herramientas

*Autor para correspondencia: ramon.ramirez@tectijuana.edu.mx

Correo electrónico: fabian.gonzalez193@tectijuana.edu.mx (Fabian Gonzalez), paul.valle@tectijuana.edu.mx (Paul Antonio Valle Trujillo), corina.plata@tectijuana.edu.mx (Corina Plata Ante), jose.cardenas@tectijuana.edu.mx (José Ricardo Cárdenas Valdez), luis.coria@tectijuana.edu.mx (Luis Nestor Coria de los Ríos), ramon.ramirez@tectijuana.edu.mx (Ramón Ramírez Villalobos).

Historial del manuscrito: recibido el 17/07/2025, última versión-revisada recibida el 20/10/2025, aceptado el 14/10/2025, publicado el 25/03/2026. **DOI:** <https://doi.org/10.29057/icbi.v14iEspecial.15504>



de supervisión basadas en modelos.

En contextos industriales, el monitorear y controlar en tiempo real las variables del proceso es crucial para optimizar el rendimiento, reducir tiempos de producción y garantizar la calidad final. No obstante, la medición directa de ciertos componentes clave, como la concentración de etanol, suele presentar latencias, altos costos, tiempos de respuesta elevados o requerimientos instrumentales complejos y específicos que dificultan su integración en sistemas de control en tiempo real. Una alternativa robusta y económica frente a la instrumentación tradicional es el uso de sensores virtuales, también conocidos como observadores de estado. Estos sistemas permiten estimar en tiempo real variables no accesibles directamente mediante la integración de un modelo matemático y la información disponible de sensores físicos (Fortuna *et al.*, 2007; Kadlec *et al.*, 2009; Veloso *et al.*, 2009). En particular, los enfoques basados en modelos mecanicistas resultan especialmente útiles cuando se dispone de un conocimiento detallado de la dinámica del proceso, como ocurre en fermentaciones con cinéticas bien caracterizadas (Babary, 1993). La precisión de dichos estimadores está fuertemente condicionada por la observabilidad del sistema, es decir, por la capacidad de reconstruir el estado interno completo a partir de las salidas medidas. El análisis estructural de observabilidad resulta especialmente relevante en sistemas no lineales, donde las condiciones de observabilidad dependen de la región del espacio de estados y de la combinación específica de parámetros del modelo (Hermann y Krener, 2003).

Diversos enfoques de sensores virtuales han sido aplicados en bioprocesos, incluyendo métodos basados en redes neuronales, técnicas de identificación empírica y filtros de Kalman extendidos. Aunque estas propuestas han mostrado resultados prometedores, su implementación suele depender de plataformas computacionales de mayor capacidad y no siempre consideran un análisis formal de observabilidad. En contraste, el presente trabajo aporta un enfoque novedoso al combinar un modelo mecanicista con un análisis estructural de observabilidad e implementarlo en tiempo real sobre microcontroladores de bajo costo, ampliando así el potencial de aplicación práctica de los sensores virtuales en procesos fermentativos. En el presente artículo se propone el diseño e implementación de un sensor virtual para un proceso de fermentación continua modelado a partir del comportamiento de *Kluyveromyces marxianus*. A diferencia de enfoques puramente computacionales, el sistema desarrollado opera en tiempo real mediante microcontroladores de bajo costo, donde uno de ellos se utiliza actúa como un proceso de fermentación de referencia y el otro ejecuta el observador de estados. Ambos dispositivos se comunican vía puerto serial y utilizan el método de Runge-Kutta de cuarto orden para integrar las ecuaciones diferenciales del modelo. El desempeño del observador se evalúa mediante métricas de error y análisis gráfico, incluyendo gráficas de violín para comparar la distribución de las señales simuladas y estimadas. Asimismo, se realiza un estudio simbólico del determinante de la matriz de observabilidad, lo que permite identificar regiones del espacio de estados donde la estimación es teóricamente garantizable. Los resultados confirman la factibilidad del enfoque para aplicaciones embebidas en monitoreo y control de bioprocesos.

El resto del documento se organiza de la siguiente manera. En la Sección 2 se presentan los preliminares matemáticos. En

la Sección 3 se describe el modelo mecanicista utilizado para representar la dinámica del proceso de fermentación. En la Sección 4 se presenta un análisis de la observabilidad del modelo mecanicista, así como el observador propuesto. En la Sección 5 se presenta la implementación del observador propuesto en una plataforma embebida y se detallan los resultados obtenidos a partir de la virtualización del proceso y validación experimental, incluyendo el análisis de errores. Finalmente, la Sección 6 expone las conclusiones generales del trabajo y plantea posibles líneas de investigación futura.

2. Preliminares matemáticos

A lo largo de todo este artículo, el conjunto de números reales se representa mediante $\mathbb{R}$. Además, en las siguientes secciones, se utilizarán los siguientes teoremas.

Teorema 1 (véase (Boutat y Zheng, 2021)). *Un sistema de la forma*

$$\dot{x} = f(x), \quad x \in \mathbb{R}^n \quad (1)$$

$$y = h(x), \quad (2)$$

es localmente observable para toda $x(t)$ si para una constante k se cumple

$$\dim(dO) = \text{rank} \begin{bmatrix} dh(x) \\ dL_f h(x) \\ \vdots \\ dL_f^k h(x) \end{bmatrix} = n. \quad (3)$$

Es localmente (o globalmente) observable si la condición anterior se cumple para toda $x \in X$ (o para toda $x \in \mathbb{R}^n$).

3. Modelo mecanicista *Kluyveromyces marxianus*

El modelado mecanicista en sistemas biológicos tiene su origen en la necesidad de comprender el comportamiento de procesos dinámicos complejos, como los que ocurren en la fermentación. A diferencia de los modelos empíricos, que se basan en datos experimentales para establecer relaciones estadísticas entre variables, los modelos mecanicistas parten de las relaciones fundamentales del sistema como las leyes de conservación de masa y energía, las reacciones bioquímicas involucradas y las cinéticas de crecimiento biológico (Du *et al.*, 2022).

El modelado dinámico del sistema de fermentación mediante *Kluyveromyces marxianus* permite describir el comportamiento cinético de la fermentación alcohólica. Este proceso bioquímico es catalizado por células microbianas (biomasa), que metabolizan azúcares reductores, principalmente glucosa, dando lugar a la formación de etanol como metabolito primario, junto con una serie de subproductos secundarios. El presente estudio considera un régimen de fermentación discontinua (*batch*), operado bajo condiciones isotérmicas controladas en laboratorio y con concentraciones iniciales de sustrato (glucosa) previamente definidas (Salazar *et al.*, 2023). El sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que describe la dinámica

del proceso se detalla a continuación

$$\dot{x} = \frac{\rho_1 xy}{\rho_2 + y} - \rho_3 xz - \rho_4 x, \quad (4)$$

$$\dot{y} = -\rho_5 xy - \rho_6 yz - \rho_7 y, \quad (5)$$

$$\dot{z} = \rho_8 xz + \rho_9 yz - \rho_{10} z, \quad (6)$$

donde $x(t)$ representa la concentración de biomasa (g/L), $y(t)$ representa la concentración de glucosa (g/L), $z(t)$ representa la producción de etanol y la unidad de tiempo t se da en horas. Las descripciones y unidades de todos los parámetros del Sistema (4)-(6) se dan en la Tabla 1, mientras que sus valores y referencias se discuten en la secciones superiores.

Tabla 1: Parámetros del modelo (4)-(6).

Parámetro	Descripción	Unidad
ρ_1	Tasa máxima de crecimiento de biomasa	h^{-1}
ρ_2	Constante de afinidad con el sustrato	g/L
ρ_3	Tasa de inhibición del crecimiento de biomasa debido a la acumulación de productos	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_4	Tasa de muerte de biomasa	h^{-1}
ρ_5	Tasa de consumo para el crecimiento de biomasa	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_6	Tasa de consumo para la producción de etanol	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_7	Tasa de descomposición espontánea de glucosa	h^{-1}
ρ_8	Producción de etanol asociada con la tasa de crecimiento de biomasa	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_9	Glucosa convertida en etanol	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_{10}	Tasa de degradación de etanol	h^{-1}

A continuación, se describe formalmente el sistema. La dinámica del crecimiento de biomasa se modela mediante la Ecuación (1). El primer término sigue la forma clásica de Monod para el crecimiento microbiano (Monod, 2012), donde ρ_1 representa la tasa máxima de crecimiento de biomasa y ρ_2 corresponde a la constante de afinidad o semivelocidad para el consumo de glucosa. El segundo término describe la muerte celular inducida por toxicidad asociada a la acumulación de etanol, modelada mediante la ley de acción de masas (Britton y Britton, 2003), con una tasa de reacción ρ_3 . Este término tiene signo negativo, ya que la acumulación de etanol incrementa la fluidez de la membrana celular y altera negativamente la funcionalidad de las proteínas de membrana, lo cual puede inhibir el crecimiento celular o inducir la muerte celular (Ding *et al.*, 2009; Kubota *et al.*, 2004). El tercer término incorpora la tasa de muerte natural de las células de levadura ρ_4 , atribuida principalmente al agotamiento de los recursos del entorno (Fonseca *et al.*, 2007). La dinámica de la glucosa se describe en la Ecuación (2) como una función decreciente, cuyos dos primeros términos obedecen a la ley de acción de masas. El primero representa el consumo de glucosa asociado al crecimiento celular, mientras que el segundo describe el consumo destinado a la producción de etanol, con tasas ρ_5 y ρ_6 , respectivamente. El tercer término

modela la tasa de descomposición espontánea de la glucosa ρ_7 (Wolfenden y Yuan, 2008), derivada del hecho de que el medio de cultivo se encuentra en un recipiente sellado bajo condiciones de fermentación por lotes, sin reposición de nutrientes (especialmente glucosa). La evolución del etanol se encuentra descrita en la Ecuación (3). El primer término representa la producción de etanol asociada al crecimiento celular, dado que el etanol es un metabolito primario generado a partir de reacciones esenciales para el crecimiento (Rodrussamee *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2013). El segundo término modela la conversión de glucosa a etanol no directamente ligada al crecimiento, atribuida a requerimientos energéticos para el mantenimiento celular, particularmente en términos de energía libre de Gibbs (Rodrussamee *et al.*, 2011; Amin *et al.*, 1984). Ambos términos se expresan conforme a la ley de acción de masas, con tasas ρ_8 y ρ_9 . Finalmente, el tercer término considera la degradación del etanol, con una tasa ρ_{10} . La Figura 1 presenta un diagrama de flujo que resume la dinámica del sistema.

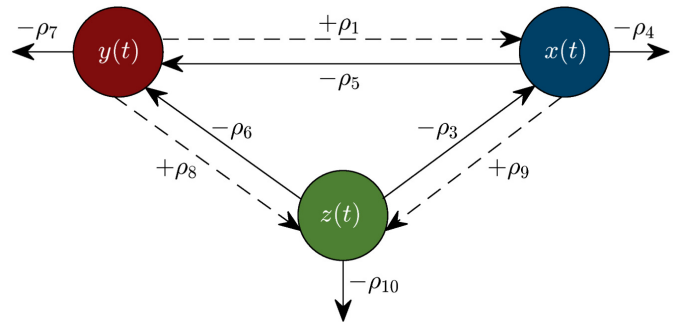


Figura 1: Diagrama de flujo que describe las interacciones entre cada variable y su relación correspondiente con cada parámetro.

4. Estimación de la concentración etanol

Si se define el vector de estados $\xi = [x, y, z]^T \in \mathbb{R}^3$, el Sistema (4)-(6) puede ser descrito por la siguiente representación en espacio de estados.

$$\dot{\xi} = f(\xi), \quad (7)$$

con

$$f(\xi) = \begin{bmatrix} f_1(\xi) \\ f_2(\xi) \\ f_3(\xi) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\rho_1 xy}{\rho_2 + y} - \rho_3 xz - \rho_4 x \\ -\rho_5 xy - \rho_6 yz - \rho_7 y \\ \rho_8 xz + \rho_9 yz - \rho_{10} z \end{bmatrix} \quad (8)$$

A continuación, se propone un observador tipo Luenberger no lineal para estimar la concentración de etanol considerando como salida del sistema la concentración de biomasa $x(t)$. El observador tiene la siguiente estructura

$$\dot{\hat{\xi}} = f(\hat{\xi}) + L(x - \hat{x}), \quad (9)$$

donde $\hat{\xi}(t) = [\hat{x}, \hat{y}, \hat{z}]^T \in \mathbb{R}^3$ representa la estimación del vector $\xi(t)$ y $L = [l_1, l_2, l_3]^T \in \mathbb{R}^3$ representa el vector de ganancia del observador.

Ahora, se analizará la observabilidad del Sistema (4)-(6).

La matriz de observabilidad O está dada por

$$O = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ \frac{\partial f_2}{\partial x}(\xi) & \frac{\partial f_2}{\partial y}(\xi) & \frac{\partial f_2}{\partial z}(\xi) \\ \frac{\partial f_3}{\partial x}(\xi) & \frac{\partial f_3}{\partial y}(\xi) & \frac{\partial f_3}{\partial z}(\xi) \end{bmatrix} \quad (10)$$

con

$$\frac{\partial f_2}{\partial x}(\xi) = \frac{\rho_1 y}{\rho_2 + y} - \rho_3 z - \rho_4 \quad (11)$$

$$\frac{\partial f_2}{\partial y}(\xi) = \frac{\rho_1 \rho_2 x}{(\rho_2 + y)^2} \quad (12)$$

$$\frac{\partial f_2}{\partial z}(\xi) = -\rho_3 x \quad (13)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial f_3}{\partial x}(\xi) = & \frac{(\rho_2 \rho_4 - \rho_1 y + \rho_4 y + \rho_2 \rho_3 z + \rho_3 y z)^2}{(\rho_2 + 2)^2} \\ & - \frac{\rho_1 \rho_2 (\rho_7 + 2\rho_5 x + \rho_6 z) y}{(\rho_2 + y)^2} \\ & - \rho_3 (2\rho_8 x - \rho_{10} + \rho_9 y) z, \end{aligned} \quad (14)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial f_3}{\partial y}(\xi) = & \frac{\rho_1 \rho_2 x ((2\rho_1 - 2\rho_4 + \rho_7) y - \rho_2 (2\rho_3 + \rho_6) z)}{(\rho_2 + y)^3} \\ & - \frac{\rho_1 \rho_2 x ((2\rho_3 - \rho_6) y z + \rho_2 (2\rho_4 + \rho_7))}{(\rho_2 + y)^3} \\ & - \frac{\rho_1 \rho_2 \rho_5 x^2}{(\rho_2 + y)^2} - \rho_3 \rho_9 x z, \end{aligned} \quad (15)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial f_3}{\partial z}(\xi) = & \rho_3 (2\rho_4 + \rho_{10} - \rho_8 x - \rho_9 y + 2\rho_3 z) x \\ & + \frac{\rho_1 \rho_6 x y^2}{(\rho_2 + y)^2} - \frac{\rho_1 (2\rho_3 + \rho_6) x y}{\rho_2 + y}. \end{aligned} \quad (16)$$

El determinante de la matriz de observabilidad, constituye una condición suficiente (aunque no necesaria) para garantizar la observabilidad local. A continuación, se presenta la forma simplificada de $\det(O)$:

$$\begin{aligned} \det(O) = & \frac{\rho_1 \rho_2^3 \rho_3 (\rho_{10} - \rho_7 - (\rho_5 + \rho_8) x - \rho_9 y - \rho_6 z) x^2}{(\rho_2 + y)^4} \\ & - \frac{(\rho_1^2 \rho_2^2 \rho_6 + \rho_1 \rho_2^2 \rho_3 (2\rho_8 x + 2\rho_9 y - 2\rho_{10})) x^2 y}{(\rho_2 + y)^4} \\ & - \frac{\rho_1 \rho_2^2 \rho_3 (2\rho_8 x + 2\rho_9 y - 2\rho_{10}) x^2 y}{(\rho_2 + y)^4} \\ & - \frac{\rho_1 \rho_2 \rho_3 ((\rho_8 - \rho_5) x + \rho_9 y - \rho_6 z - \rho_7 - \rho_{10}) x^2 y^2}{(\rho_2 + y)^4} \\ & - \rho_3^2 \rho_9 x^2 z \end{aligned} \quad (17)$$

La expresión anterior permite establecer condiciones bajo las cuales el Sistema (4)-(6) es localmente observable. En primer lugar, el denominador común $(\rho_2 + y)^4$ no introduce singularidades reales mientras $y > -\rho_2$, lo cual siempre se cumple en un contexto fisicoquímico, dado que y representa la concentración de glucosa, una magnitud no negativa. La nulidad del determinante se produce cuando el numerador total se anula, lo cual puede deberse a cancelaciones específicas entre los distintos términos polinómicos en x , y y z . Algunas condiciones suficientes (aunque no necesarias) para que $\det(O) \neq 0$ incluyen:

- (i) La biomasa debe estar presente en concentración no nula ($x \neq 0$), ya que aparece como factor común en todos los términos dominantes.
- (ii) La suma $\rho_5 + \rho_8$, relacionada con las tasas de consumo de glucosa y producción de etanol asociadas al crecimiento, no debe ser tal que anule el primer término del numerador.
- (iii) El etanol z no debe alcanzar niveles que anulen los efectos diferenciados de toxicidad y mantenimiento representados por $\rho_6 + \rho_9$.
- (iv) Las tasas de descomposición y degradación ρ_7 y ρ_{10} no deben coincidir exactamente, ya que su diferencia aparece explícitamente como factor determinante de la observabilidad.

En términos prácticos, la observabilidad está garantizada en condiciones de fermentación activas, con presencia simultánea de biomasa, glucosa y producción de etanol, y en las que los parámetros cinéticos no presenten simetrías estructurales indeseadas. Basado en el Teorema 1, el Sistema (4)-(6) es observable de manera local, en este sentido, todas las variables de estado se pueden estimar si se considera sólo la medición de la concentración de biomasa $x(t)$.

5. Resultados

La implementación experimental se llevó a cabo utilizando dos microcontroladores que operan de forma independiente pero sincronizada. El primero de ellos, un Arduino Uno R3, ejecuta una virtualización del proceso fermentativo mediante la integración numérica del modelo mecanístico descrito en (4)-(6). El segundo microcontrolador, un Arduino Mega 2560, incorpora el algoritmo de estimación en tiempo real definido en (9), diseñado para estimar las concentraciones internas de biomasa, glucosa y etanol a partir de mediciones parciales del sistema. Ambos dispositivos se comunican mediante el puerto serial, lo que permite el intercambio continuo de datos durante la ejecución del experimento. De esta forma, el primer controlador microcontrolador actúa como un proceso de referencia, sobre el cual se evalúa el desempeño del observador implementado en el segundo dispositivo. La conexión general del esquema propuesto se ilustra en la Figura 2.

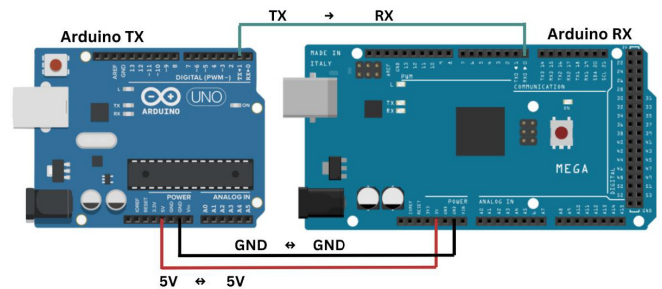


Figura 2: Diagrama general del prototipo físico implementado en microcontroladores.

En ambas implementaciones se empleó el método de integración numérica de Runge-Kutta de cuarto orden, debido a su

equilibrio entre precisión y eficiencia computacional, lo que resulta particularmente adecuado para microcontroladores con recursos limitados y modelos dinámicos no lineales. Se utilizó un paso de integración $h = 1 \times 10^{-3}$, seleccionado con el fin de garantizar la estabilidad numérica y capturar adecuadamente las variaciones en las concentraciones del sistema. Los valores de los parámetros del utilizados se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Valores de parámetros del modelo (4)–(6).

Parámetro	Valor	Unidad
ρ_1	312.378×10^{-3}	h^{-1}
ρ_2	2.281	g/L
ρ_3	1.066×10^{-3}	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_4	7.2751×10^{-3}	h^{-1}
ρ_5	56.8928×10^{-3}	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_6	71.8424×10^{-3}	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_7	824.2332×10^{-7}	h^{-1}
ρ_8	31.563×10^{-3}	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_9	60.706×10^{-3}	$\text{L}/(\text{g} \times \text{h})$
ρ_{10}	149.899×10^{-3}	h^{-1}

Asimismo, las condiciones iniciales se establecieron como

$$\xi(0) = [x(0), y(0), z(0)]^T = [0.5, 21, 0.1]^T, \quad (18)$$

$$\hat{\xi}(0) = [\hat{x}(0), \hat{y}(0), \hat{z}(0)]^T = [1, 21, 0.1]^T, \quad (19)$$

mientras que los valores de las ganancias del observador se establecieron como

$$L = [l_1, l_2, l_3]^T = [2, 1.5, 0.4]^T. \quad (20)$$

Para corroborar la efectividad del estimador implementado, se realizó una comparación cuantitativa entre las trayectorias, así como la evolución y distribución de las señales estimadas asociadas a cada una de las variables del sistema: biomasa, glucosa y etanol. Estas representaciones permiten evaluar tanto la precisión dinámica del estimador como su comportamiento en estado estacionario. Los datos fueron obtenidos directamente del prototipo físico implementado. En este sistema, un microcontrolador ejecuta la virtualización del proceso fermentativo y el otro implementa el observador en tiempo real, de modo que las gráficas corresponden a la interacción entre ambos dispositivos. En la Figura 3, se muestra una comparación entre las señales virtualizadas (referencia) y estimadas para las tres variables del sistema. Se observa una coincidencia visual cercana, lo que indica una correcta estimación de las trayectorias dinámicas del proceso a partir de salidas parciales.

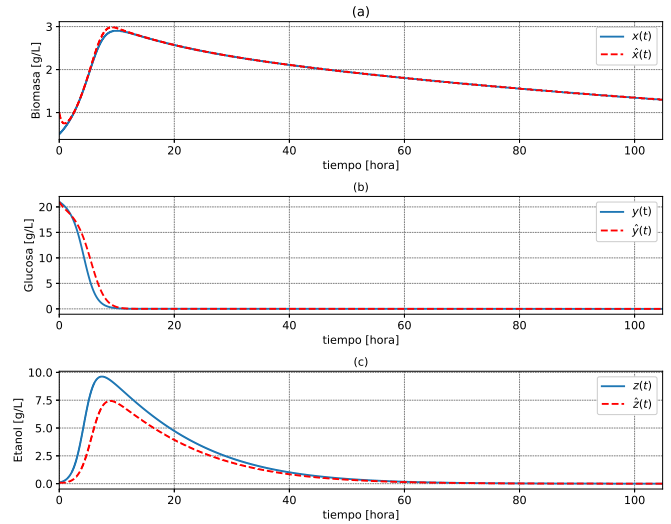


Figura 3: Resultados obtenidos del prototipo físico implementado: comparación entre las trayectorias del sistema de referencia (línea sólida azul) y las estimaciones del observador (línea punteada roja).

La Figura 4 muestra la evolución temporal de los errores de estimación asociados a cada una de las variables del sistema. Se observa una rápida atenuación de los errores a valores próximos a cero. Los errores convergen hacia cero a partir de condiciones iniciales diferentes, estos resultados confirman la viabilidad del enfoque propuesto para ser implementado en plataformas de cómputo embebido.

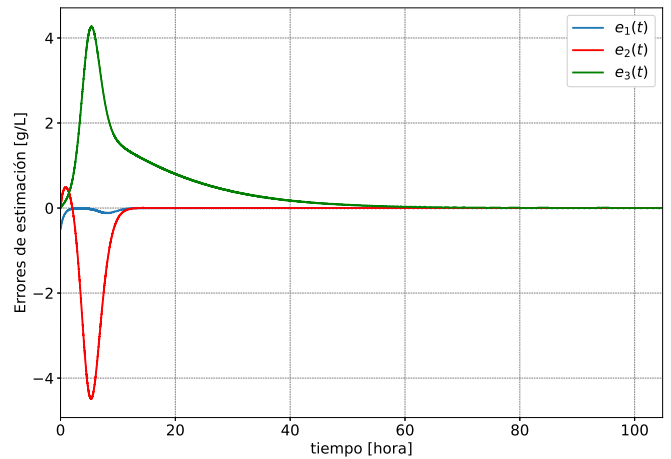


Figura 4: Resultados obtenidos del prototipo físico: errores entre las trayectorias de referencia del microcontrolador y las estimaciones del observador.

Por otro lado, la Figura 5 presenta una gráfica de violín que resume las distribuciones de las señales simuladas y estimadas para biomasa, glucosa y etanol. Las formas similares y la alta superposición entre ambas curvas reflejan que el estimador reproduce adecuadamente la variabilidad del sistema, tanto en media como en dispersión, lo que respalda su precisión y consistencia estadística.

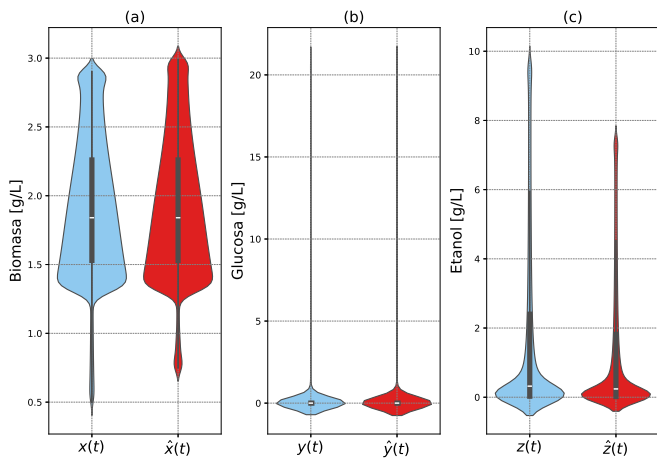


Figura 5: Distribución de las señales del sistema de referencia (distribución azul) y estimadas (distribución roja) a partir de los datos generados por el prototipo embebido.

Los resultados obtenidos muestran concordancia entre las señales estimadas y las verdaderas, evidenciando tanto la capacidad de convergencia. Además, los perfiles de error muestran bajos niveles de oscilación, lo que sugiere robustez frente a condiciones iniciales y ruidos de medición. Estos hallazgos validan la viabilidad de implementar sensores virtuales basados en modelos en plataformas de cómputo embebido, lo que representa un avance significativo hacia sistemas de monitoreo en línea en procesos biotecnológicos y restricciones de cómputo impuestas por plataformas embebidas.

6. Conclusiones

La validación del esquema de estimación propuesto se respalda tanto desde el enfoque experimental, así como desde un análisis estructural de observabilidad. En la implementación, se demostró que es posible estimar en tiempo real las concentraciones de biomasa, glucosa y etanol a partir de mediciones parciales, utilizando microcontroladores de bajo costo y métodos numéricos eficientes. Por otro lado, desde una perspectiva teórica, se construyó la matriz de observabilidad O y se obtuvo su determinante simbólico en forma cerrada, lo que permitió identificar regiones del espacio de estados en las que se garantiza la observabilidad local. La estructura del determinante, dependiente de las variables de estado y parámetros del sistema, proporciona un criterio útil para el diseño robusto de observadores y la delimitación de condiciones operativas confiables. En conjunto, esta propuesta permite una monitorización en tiempo real, mejorando la calidad del producto, reduciendo la variabilidad y optimizando la operación en la producción de vino. Además, estos resultados confirman la viabilidad del enfoque basado en sensores virtuales implementado en plataformas embebidas, y abren la posibilidad de extender este tipo de soluciones a otros procesos biotecnológicos donde el acceso a mediciones directas es limitado.

Agradecimientos

Este manuscrito fue apoyado por el Tecnológico Nacional de México (TecNM) a través de los proyectos con clave 22680.25-P, 22734.25-P y 21861.25-P. Además, la investigación fue desarrollada en el marco de la “Red Internacional de Control y Computo Aplicados” soportada por el TecNM. Los autores expresan su agradecimiento al TecNM por el financiamiento otorgado.

Referencias

- Amin, G., Standaert, P., y Verachtert, H. (1984). Effects of metabolic inhibitors on the alcoholic fermentation by several yeasts in batch or in immobilized cell systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 19:91–99.
- Babary, J.-P. (1993). *On-line estimation and adaptive control of bioreactors, Process measurement and control 1: G. Bastin and D. Dochain*. Pergamon.
- Bilal, M., Ji, L., Xu, Y., Xu, S., Lin, Y., Iqbal, H. M., y Cheng, H. (2022). Bio-prospecting *kluyveromyces marxianus* as a robust host for industrial biotechnology. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10:851768.
- Boutat, D. y Zheng, G. (2021). *Observer design for nonlinear dynamical systems*. Springer.
- Britton, N. F. y Britton, N. (2003). *Essential mathematical biology*, volumen 453. Springer.
- Ding, J., Huang, X., Zhang, L., Zhao, N., Yang, D., y Zhang, K. (2009). Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *saccharomyces cerevisiae*. *Applied microbiology and biotechnology*, 85:253–263.
- Du, Y.-H., Wang, M.-Y., Yang, L.-H., Tong, L.-L., Guo, D.-S., y Ji, X.-J. (2022). Optimization and scale-up of fermentation processes driven by models. *Bio-engineering*, 9(9):473.
- Fonseca, G. G., Gombert, A. K., Heinzle, E., y Wittmann, C. (2007). Physiology of the yeast *kluyveromyces marxianus* during batch and chemostat cultures with glucose as the sole carbon source. *FEMS Yeast Research*, 7(3):422–435.
- Fortuna, L., Graziani, S., Rizzo, A., y Xibilia, M. G. (2007). *Soft sensors for monitoring and control of industrial processes*. Springer.
- Hermann, R. y Krener, A. (2003). Nonlinear controllability and observability. *IEEE Transactions on automatic control*, 22(5):728–740.
- Kadlec, P., Gabrys, B., y Strandt, S. (2009). Data-driven soft sensors in the process industry. *Computers & chemical engineering*, 33(4):795–814.
- Kubota, S., Takeo, I., Kume, K., Kanai, M., Shitamukai, A., Mizunuma, M., Miyakawa, T., Shimoi, H., Iefuji, H., y Hirata, D. (2004). Effect of ethanol on cell growth of budding yeast: genes that are important for cell growth in the presence of ethanol. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68(4):968–972.
- Monod, J. (2012). The growth of bacterial cultures. *Selected Papers in Molecular Biology by Jacques Monod*, 139:606.
- Rodrussamee, N., Lertwattanasakul, N., Hirata, K., Suprayogi, Limtong, S., Kosaka, T., y Yamada, M. (2011). Growth and ethanol fermentation ability on hexose and pentose sugars and glucose effect under various conditions in thermotolerant yeast *kluyveromyces marxianus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 90:1573–1586.
- Salazar, Y., Valle, P. A., Rodríguez, E., Soto-Cruz, N. O., Páez-Lerma, J. B., y Reyes-Sánchez, F. J. (2023). Mechanistic modelling of biomass growth, glucose consumption and ethanol production by *kluyveromyces marxianus* in batch fermentation. *Entropy*, 25(3):497.
- Veloso, A. C., Rocha, I., y Ferreira, E. C. (2009). Monitoring of fed-batch *e. coli* fermentations with software sensors. *Bioprocess and biosystems engineering*, 32(3):381–388.
- Wolfenden, R. y Yuan, Y. (2008). Rates of spontaneous cleavage of glucose, fructose, sucrose, and trehalose in water, and the catalytic proficiencies of invertase and trehalase. *Journal of the American Chemical Society*, 130(24):7548–7549.
- Wu, Z., Song, L., Liu, S. Q., y Huang, D. (2013). Independent and additive effects of glutamic acid and methionine on yeast longevity. *PloS one*, 8(11):e79319.