

## Aplicación de patrones intensidad de luz esparcida en la estimación de biomasa Application of scattered light intensity patterns in biomass estimation

A. Malagón-Mendoza <sup>a</sup>, J. C. Rodríguez-Sierra <sup>a</sup>, A. Rossell-Tapia <sup>a</sup>, J. D. Ortiz-Alvarado <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería campus Guanajuato. Avenida Mineral de Valenciana No. 200 Fraccionamiento Industrial Puerto Interior, C.P. 36275 Silao de la Victoria Guanajuato, México.

### Resumen

Este trabajo describe una propuesta para estimar concentraciones de biomasa en cultivos de interés biotecnológico, por medio de los patrones de intensidad de luz esparcida. Para este estudio se implementó un sistema para realizar la adquisición de estos patrones, y se aplicaron técnicas de regresión polinomial y de vectores de soporte para estimar valores de concentración. Para determinar la efectividad de esta técnica se utilizó como instrumento de referencia un espectrofotómetro comercial. Los resultados obtenidos permiten observar similitudes de comportamiento de los parámetros del patrón de esparcimiento en comparación con la transmitancia y absorbancia medidos con espectrofotómetro. Los modelos de regresión obtenidos permiten solventar las limitantes de precisión del sistema de adquisición de patrones de intensidad de luz esparcida implementado.

*Palabras Clave:* Esparcimiento de Luz, instrumento óptico, estimación de biomasa.

### Abstract

This paper presents a technique for biomass estimation in bacterial culture of biotechnological interest, by means of scattered light intensity patterns. For this work a system was implemented to perform the acquisition of light scattered patterns, and polynomial regression and support vector regression techniques were applied to estimate concentration values. The effectiveness of this technique was evaluated using a spectrophotometer as a reference instrument. The results obtained allow us to observe similarities in the behavior of the parameters of the scattering pattern in comparison with the transmittance and absorbance measured with a spectrophotometer. The regression models derived from regressions analysis allow to compensate the accuracy limitations of the scattered light intensity pattern acquisition system.

*Keywords:* Light scattering, optical instrument, biomass estimation.

### 1. Introducción

En la automatización de procesos es necesario contar con técnicas para el monitoreo que permitan obtener información de la ejecución del mismo, y de esta manera realizar las acciones correctivas correspondientes para mejorar la eficiencia de las operaciones, y mantener la calidad de los productos obtenidos. Para esto es importante que el monitoreo se realice produciendo la mínima perturbación de las condiciones en que se realiza el proceso, así como evitar en lo posible la interrupción de su desarrollo.

Las técnicas ópticas ofrecen una opción para cumplir con estos requerimientos, ya que pueden implementarse sistemas

que permiten obtener información en línea, sin contacto y con mínima perturbación.

Un área de relevante impacto de estas técnicas es en la biotecnología, en donde se requiere realizar el monitoreo minimizando la posibilidad de contaminación (Halvik *et al*, 2022).

Para el escalamiento industrial de un bioproceso es necesario realizar una evaluación del crecimiento del cultivo en pequeña escala en matraces por medio de procesamiento en lote, con el fin de determinar las condiciones óptimas de crecimiento (Takor, 2012).

Uno de los parámetros más importantes a monitorear en esta fase de evaluación del bioproceso es la medición de biomasa,

\*Autor para la correspondencia: [jdortiza@ipn.mx](mailto:jdortiza@ipn.mx)

**Correo electrónico:** [andresmalagonmendoza@hotmail.com](mailto:andresmalagonmendoza@hotmail.com) (Andrés Malagón-Mendoza), [jurodriguez@ipn.mx](mailto:jurodriguez@ipn.mx) (Juan Carlos Rodríguez-Sierra), [atapia1801@ipn.mx](mailto:atapia1801@ipn.mx) (Ariana Rossell-Tapia), [jdortiza@ipn.mx](mailto:jdortiza@ipn.mx) (Juan de Dios Ortiz-Alvarado)

**Historial del manuscrito:** recibido el 15/04/2022, última versión-revisada recibida el 12/06/2022, aceptado el 20/06/2022, publicado el 30/11/2022. **DOI:** <https://doi.org/10.29057/icbi.v10iEspecial6.9011>



Tabla 1.- Glosario de símbolos y acrónimos utilizado.

| Símbolo       | Descripción   |
|---------------|---|
| $Abs$         | Absorbancia óptica medida en espectrofotómetro.   |
| $C$           | Concentración de biomasa obtenida por medición de peso seco.  |
| $C_{est}$     | Porcentaje de concentración de biomasa estimada por modelo de regresión.  |
| $C_{real}$    | Porcentaje de concentración de biomasa obtenida por dilución seriada.   |
| $I_i$         | Intensidad detectada por el $i$ -ésimo elemento del arreglo de fotodiodos.  |
| $I_{TT}$      | Intensidad total transmitida detectada por el sistema de adquisición de patrones.   |
| $PILE$        | Patrón de intensidad de luz esparcida.  |
| $PS$          | Peso seco de la biomasa obtenido de muestra de cultivo.   |
| $R^2$         | Coefficiente de determinación.  |
| $RS$          | Error cuadrático  |
| $S$           | Factor de dispersión obtenida del patrón de luz esparcida.  |
| $SVR$         | Regresión por vectores de soporte   |
| $T$           | Transmitancia óptica medida con espectrofotómetro.  |
| $w$           | Vector que define hiperplano definido a partir de regresión por vectores de soporte.  |
| $x$           | Variable independiente del modelo de regresión.   |
| $y$           | Variable dependiente del modelo de regresión con magnitud a estimar.  |
| $\delta$      | Porcentaje de error existente entre concentración de biomasa estimada por modelo de regresión y concentración de biomasa medida determinada con el. |
| $\varepsilon$ | Tolerancia de la regresión por vectores de soporte.   |
| $\zeta$       | Error de los datos que se encuentran fuera del margen de tolerancia de la regresión por vectores de soporte   |

lo que determina la cantidad de producto resultante que se obtiene del bioproceso. El método convencional para realizar este monitoreo se realiza extrayendo una muestra de forma manual en intervalos de tiempo específicos para cuantificar la biomasa por medio de la medición de peso seco, así como también obteniendo una estimación por medio de lecturas de la absorbancia óptica obtenidas con espectrofotómetro. Este procedimiento requiere de una importante inversión de tiempo e insumos, así como implica la interrupción del proceso (Madrid *et al*, 2005).

Para reducir estos inconvenientes se han propuesto esquemas basados en el monitoreo en línea basados en técnicas ópticas a través de la medición de intensidad de luz transmitida (Myers *et al*, 2013), y por retrodispersión utilizando fotodetectores acoplados al matraz en que se realiza el crecimiento del cultivo (Mao *et al*, 2017), (Schmidt *et al*, 2014). Los principales inconvenientes que presentan es la pérdida de linealidad cuando la concentración de biomasa es alta, y en el caso de los sistemas por retrodispersión no se tiene una relación señal a ruido adecuada con bajos niveles de concentración (Ude *et al*, 2014). Por estas causas es necesario proponer esquemas alternativos para estimar la concentración de biomasa por medio ópticos.

En este trabajo se describe la propuesta de aplicación del patrón de intensidad de luz esparcida para obtener parámetros alternativos que permitan estimar la concentración de biomasa por medio de técnicas de regresión. Para evaluar la efectividad de los resultados estos se compararon con métodos convencionales utilizando un espectrofotómetro comercial.

## 2. Material y Métodos

### 2.1. Nomenclatura utilizada

En la tabla 1 se describe el glosario de símbolos y acrónimos utilizados para representar las variables y magnitudes descritas en este trabajo.

### 2.2. Descripción del Sistema de Adquisición de Patrones de Luz Esparcida

En la figura 1 se muestra el diagrama de bloques del sistema de adquisición de patrones de luz esparcida. La operación del sistema es controlada por un sistema electrónico basado en microcontrolador Arduino®. El software del microcontrolador ejecuta un firmware para generar una señal cuadrada con una frecuencia de 2.5 [KHz], esta señal se envía a la fuente emisora de luz formada por un diodo láser (LP635 Thorlabs Inc.) para generar un haz intermitente con la misma frecuencia. La longitud de onda de este láser es de 635 [nm]. El haz de luz se hace incidir sobre una celda para espectrofotómetro de 10 [mm] que contiene la muestra del cultivo bacteriano. El flujo luminoso de la luz transmitida y esparcida por el cultivo es captado por medio de un arreglo de 16 fotodiodos (PDB-C216 Advanced Photonix Inc.), los elementos del arreglo tienen un rango de detección de 350 [nm] a 1100 [nm]. La corriente generada por cada fotodiodo se envía por medio de un multiplexor analógico (MAX306 Maxim Inc.) a una etapa de acondicionamiento de señal formada por amplificador y un filtro pasabanda sintonizado a la frecuencia de intermitencia, y con ello atenuar los efectos de iluminación ambiental y ruido

inducido al circuito. La señal obtenida se aplica a un rectificador de precisión para obtener un voltaje de corriente directa proporcional a la intensidad de luz captada por cada fotodiodo del arreglo, y se envía al convertidor analógico a digital del microcontrolador. La información es transmitida a una computadora personal en formato de paquetes de datos por medio de un transceptor Bluetooth®.

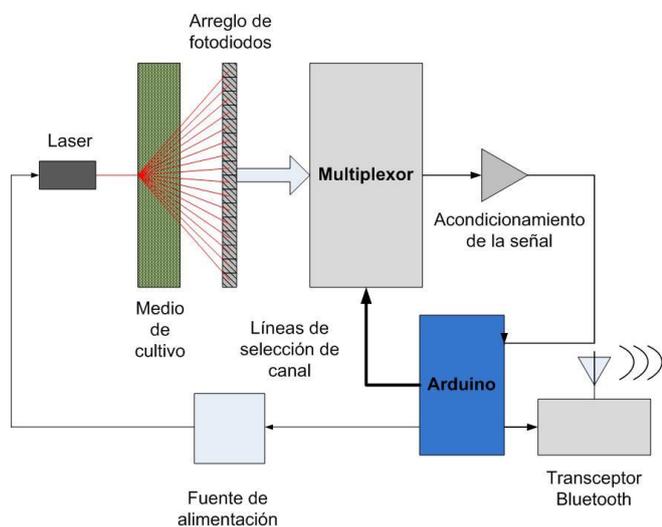


Figura 1.- Esquema del hardware del sistema de adquisición de patrones de intensidad de luz esparcida.

La computadora personal ejecuta un programa implementado con el software LabView™ que permite al usuario visualizar la gráfica del patrón de intensidad de luz y calcular sus parámetros

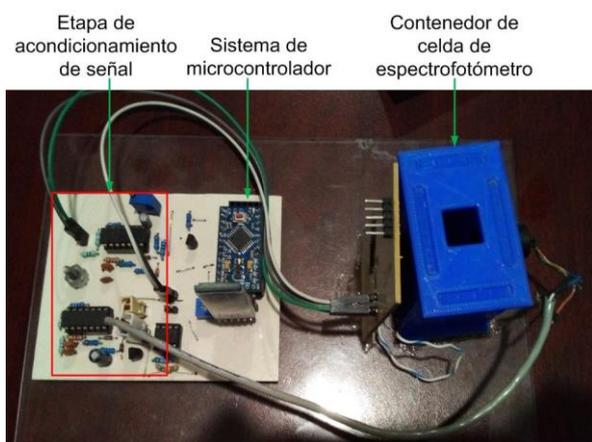


Figura 2: Imagen del hardware del sistema de adquisición de patrones de intensidad de luz esparcida

### 2.3. Parámetros del Patrón de Intensidad de Luz Esparcida

En la figura 2 se muestra el concepto de patrón de intensidad luz esparcida (PILE), en donde se ilustra la distribución de intensidad de luz transmitida y esparcida captada por el arreglo de fotodiodos. Se muestra en la figura una mayor intensidad en los elementos centrales del arreglo de fotodiodos, debido a que se encuentran en la línea de propagación del haz emisor de luz, y en los elementos adyacentes la intensidad disminuye gradualmente. El patrón de intensidad asemeja a una función normal de distribución.

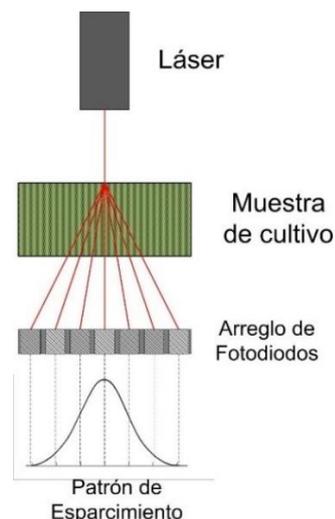


Figura 3: Descripción del concepto de patrón de intensidad de luz esparcida.

Considerando lo anterior se definen los parámetros de intensidad total transmitida ( $I_{TT}$ ) y factor de dispersión ( $S$ ) definidas respectivamente por (1) y (2).

$$I_{TT} = \sum_{i=1}^{16} I_i \quad (1)$$

$$S = \frac{\sum_{i=1}^{16} I_i (8 - i)^2}{\sum_{i=1}^{16} I_i} \quad (2)$$

donde  $i$  es el índice que indica la posición del detector dentro de arreglo de fotodiodos de 16 elementos e  $I_i$  es la intensidad detectada por el  $i$ -ésimo elemento. El valor de  $I_{TT}$  corresponde a una magnitud proporcional a la sumatoria del flujo luminoso captado por cada fotodiodo del arreglo, y con la finalidad de simplificar las operaciones de regresión se cuantifica con el valor numérico obtenido del convertidor analógico a digital del microcontrolador del sistema, por lo que se considera esta variable adimensional.

### 2.4. Software para obtención de modelos de regresión

El problema de regresión consiste en determinar el modelo que permita aproximar la relación existente entre la variable dependiente y con respecto a la variable independiente  $x$ , para el caso de modelo polinomial se define con (3)

$$y = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \dots + a_Nx^p \quad (3)$$

Para determinar los coeficientes  $a_0, a_1, a_2, \dots, a_N$  se considera un conjunto de datos de entrenamiento  $(x_1, y_1), (x_2, y_2) \dots (x_m, y_m)$  y se busca minimizar el error entre la variable dependiente el valor de la misma aproximada por el modelo. El método más común es regresión por mínimos cuadrados en la que busca minimizar el error cuadrático ( $RS$ ) definido en (4) (Peckov, 2012).

$$RS = \sum_i^m \left( y_i - (a_0) + \sum_{j=1}^p a_j x_i^j \right)^2 \quad (4)$$

La regresión por vectores de soporte (SVR) se deriva del proceso de clasificación por máquinas de vectores de soporte (SVM) (Smola and Schölkopf, 2004). Con referencia a la figura

4 el proceso de regresión por vectores de soporte consiste en determinar el hiperplano que permita estimar la tendencia, de los datos de entrenamiento  $(x_1, y_1), (x_2, y_2) \dots (x_m, y_m)$ . Para la regresión se establece un margen de tolerancia  $\varepsilon$

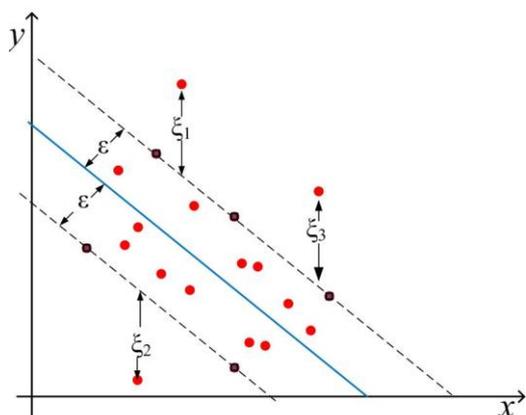


Figura 4: Descripción del hiperplano definido aplicando regresión por vectores de soporte

Se establece una tolerancia  $\varepsilon$  los márgenes definidos por este parámetro son los vectores de soporte, en la figura se marcan los datos que coinciden los vectores de soporte. Los parámetros  $\xi_1, \xi_2$  y  $\xi_3$  representa la magnitud de los errores generados por los datos que quedan fuera del margen de tolerancia. En el caso de una función lineal se busca encontrar la función (5)

$$y(x) = w_1x_1 + w_2x_2 + \dots + w_dx_d + b \quad (5)$$

donde  $(w_1, w_2 \dots w_d)$  son los parámetros del hiperplano buscado y  $b$  el término independiente. La regresión por vectores de soporte se define como un problema de minimización definido con (6) (Smola and Schölkopf, 2004)

$$\text{Min } \frac{1}{2} \|w\| + K \sum_{i=1}^k |\xi_i| \quad (6)$$

donde  $\|w\|$  es la norma del vector  $w$ ,  $K$  es una constante que define la magnitud de los errores  $\xi$  en la definición de los hiperplanos. Para conjuntos de datos que tienen una relación no lineal se utiliza el método del kernel para generar una relación que permita obtener una regresión por medio de hiperplanos linealmente separables. Para la obtención de los modelos de regresión se implementó un software en lenguaje Python utilizando las funciones de la librería *scikit-learn*. (Pedregosa et al, 2011).

#### 2.5. Condiciones del cultivo utilizado y procedimiento para obtención de datos

Como modelo para la evaluación del *PILE* para estimación de concentración de biomasa se utilizó la microalga *Spirulina platensis*. Para la obtención de biomasa se considerando las condiciones indicadas en (Madkour, 2012).

A partir del cultivo obtenido una vez finalizado el periodo de crecimiento se prepararon diluciones seriadas, partiendo del 100% de concentración hasta 10% en intervalos de 10%. Adicional a esto se obtuvieron tres concentraciones designadas como de prueba: con 15%, 35% y 65%. De cada una de estas diluciones se obtuvieron tres muestras, posteriormente de cada una se obtuvo el valor de absorbancia (*Abs*) y transmitancia (*T*)

con espectrofotómetro (VE-5000 VELAB Inc.). También se obtuvieron lecturas de *I<sub>TT</sub>* y *S* utilizando el sistema de adquisición de *PILE*. Los parámetros obtenidos con las muestras de diluciones seriadas con intervalos del 10% se utilizaron como datos de entrenamiento, para los modelos de regresión, y para evaluación de los modelos se utilizan los parámetros medidos con las muestras de las concentraciones de prueba.

De cada dilución se obtuvo el peso seco de un volumen de 50 ml con las concentraciones indicadas. Para este proceso se drenaron las muestras a través de papel filtro y bomba de vacío, y posteriormente se realizó el secado de los filtros con la muestra drenada en estufa eléctrica a una temperatura de 70°C durante cuatro días. Posteriormente se llevó a cabo el pesado de los filtros en balanza analítica.

De este proceso se determinó un peso seco de 0.370 mg/ml a la concentración del 100%. La función de regresión lineal que aproxima el valor del peso seco en mg/ml (*PS*) y el porcentaje de concentración (*C*) se indica en (7). En este caso el coeficiente de determinación  $R^2=0.897$

$$PS = 0.06553 + 0.00295C \quad (7)$$

Con (7) se puede obtener una estimación del *PS* con las concentraciones obtenidas de los modelos de regresión.

### 3. Resultados

#### 3.1. Patrones de esparcimiento de luz obtenidos con el sistema de adquisición y parámetros de correlación

La figura 5 muestra los *PILE* obtenidos con muestras de cultivo con concentraciones de 10%, 40% y 100%. Puede observarse el efecto de reducción del valor de intensidad en los elementos centrales del arreglo conforme se incrementa la concentración de la muestra, y la distribución de intensidad se dispersa entre los demás detectores, comprobando la analogía de la forma del patrón con una distribución normal.

Una vez obtenidos los patrones de esparcimiento para cada concentración se realizó el cálculo de *I<sub>TT</sub>* y *S* acorde a (1) y (2). En la figura 6 se muestran las gráficas de estos parámetros en función de la concentración.

Como se muestra en la figura 6 se tiene una correlación inversa entre la *I<sub>TT</sub>* y la concentración. Por otro lado el factor *S* incrementa su magnitud en función de la concentración.

#### 3.2. Evaluación de los modelos de regresión polinomial

Se aplicaron los métodos de regresión polinomial para los datos de *T* y *Abs* obtenidos con espectrofotómetro y los valores de *I<sub>TT</sub>* y *S* con cada triplicado de muestra de cultivo de cada porcentaje de concentración. Como datos de entrenamiento se utilizaron los promedios de cada triplicado.

En la figura 7 se muestran las gráficas de regresión polinomial de los datos obtenidos con el espectrofotómetro y el sistema de adquisición de *PILE*. En color azul se indican las lecturas obtenidas con diluciones seriadas para generar el modelo de regresión, en naranja se indican las lecturas obtenidas con los valores de concentración de prueba y en rojo la estimación de estas últimas utilizando los modelos generados.

La tabla 2 indica las expresiones matemáticas correspondientes a los modelos de regresión polinomial incluyendo el factor de determinación correspondiente.

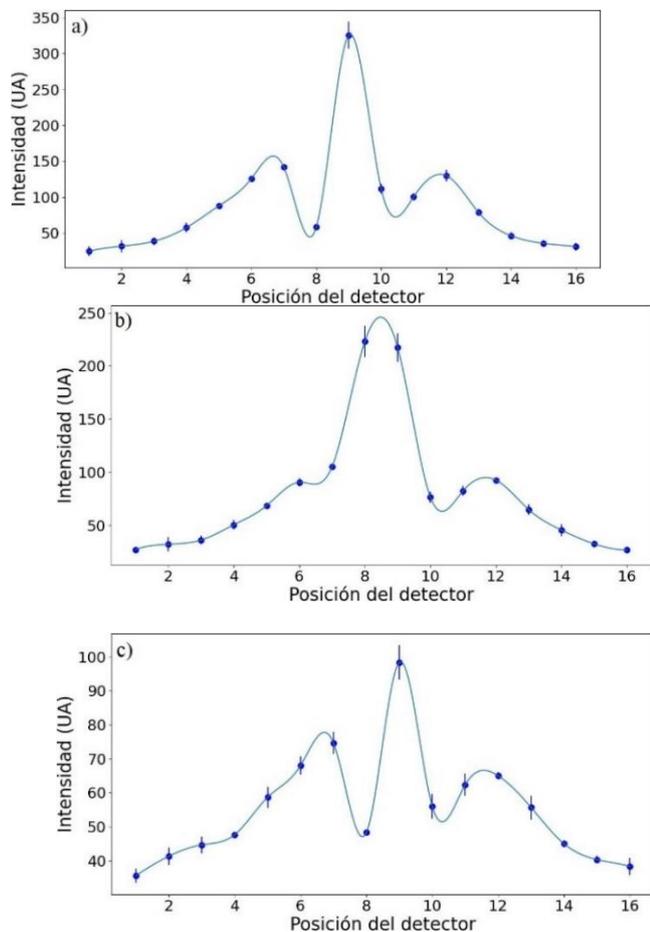


Figura 5: Gráfica de los PILE de los obtenidos con el sistema de adquisición para muestras de cultivo de *Spirulina platensis* con concentraciones de a) 10 % , b) 40% y c) 100%

El grado de la función polinomial se seleccionó considerando aquel que obtenga un mayor coeficiente de determinación y una mayor simplificación de la ecuación. Con los modelos de la tabla 1 se calcularon los porcentajes de error de las estimaciones obtenidas para las tres concentraciones de prueba. El porcentaje de error ( $\delta$ ) se obtiene con (8)

$$\delta = \frac{|C_{real} - C_{est}|}{C_{real}} \times 100\% \quad (8)$$

donde  $C_{real}$  el porcentaje de la concentración obtenida por dilución,  $C_{est}$  el porcentaje de concentración estimada por el modelo. Las tablas 3 y 4 muestran respectivamente los porcentajes de error de las estimaciones de los modelos de regresión para los parámetros  $Abs$  y  $S$ . Como se muestra en la figura 7 estos parámetros se correlacionan de forma positiva con la concentración.

Las tablas 5 y 6 muestran respectivamente los porcentajes de error de las estimaciones de los modelos de regresión para los parámetros de  $T$  y la  $I_{TT}$ . Como se muestra en la figura 7

estos parámetros se correlacionan de forma inversa con la concentración.

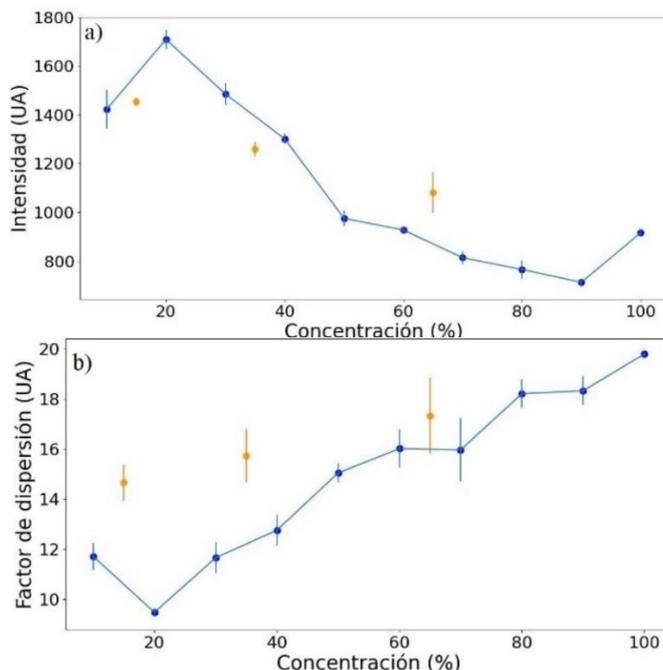


Figura 6: a) intensidad total transmitida ( $I_{TT}$ ) en función de la concentración b) factor de dispersión ( $S$ ) en función de la concentración. Las lecturas en naranja corresponden a los valores obtenidos con las concentraciones de prueba

Tabla 3.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo polinomial obtenido con valores de  $Abs$

| $Abs$ | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|-------|----------------|---------------|--------------|
| 0.147 | 15.00          | 18.395        | 22.633       |
| 0.310 | 35.00          | 36.341        | 3.831        |
| 0.615 | 65.00          | 68.727        | 5.734        |

Tabla 4.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo polinomial obtenido con valores de  $S$

| $S$    | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|--------|----------------|---------------|--------------|
| 14.659 | 15.00          | 49.090        | 227.267      |
| 15.734 | 35.00          | 60.438        | 72.680       |
| 17.326 | 65.00          | 77.289        | 18.906       |

Tabla 5.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo polinomial obtenido con valores de  $T$

| $T$   | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|-------|----------------|---------------|--------------|
| 0.713 | 15.00          | 16.640        | 10.33        |
| 0.489 | 35.00          | 34.890        | 0.314        |
| 0.242 | 65.00          | 71.368        | 9.797        |

Tabla 6.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo polinomial obtenido con valores de  $I_{TT}$

| $I_{TT}$ | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|----------|----------------|---------------|--------------|
| 1453.333 | 13.00          | 22.592        | 50.613       |
| 1259.333 | 35.00          | 36.367        | 3.906        |
| 1082.667 | 65.00          | 53.452        | 17.766       |

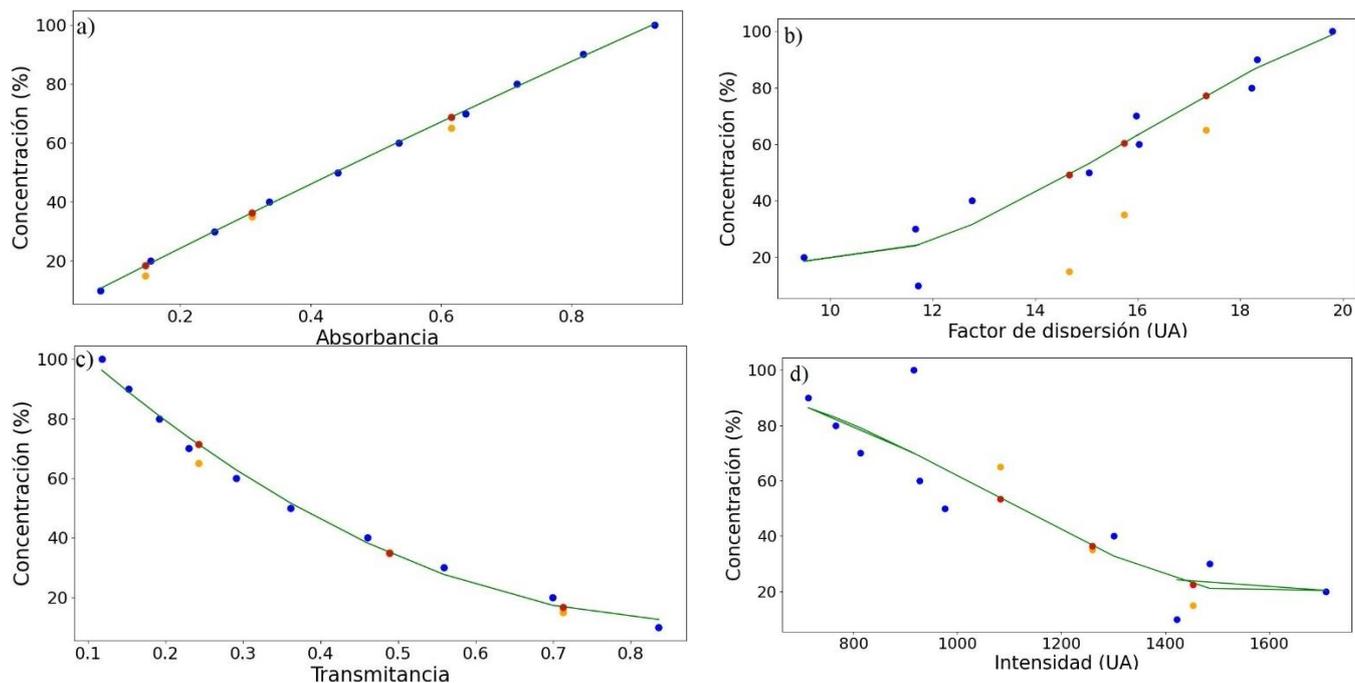


Figura 7: Gráficas de los modelos para estimación de concentración de biomasa obtenidos por regresión polinomial para a) absorbancia (*Abs*), b) factor de dispersión (*S*). c) transmitancia (*T*) d) intensidad total transmitida ( $I_{TT}$ ). Se indican en azul los datos de entrenamiento, en naranja las concentraciones de prueba y en rojo las predicciones de los modelos para estimar las concentraciones de prueba.

Tabla 2.- Funciones polinomiales obtenidas por regresión de las lecturas de *Abs*, *T*,  $I_{TT}$  y *S*

| Parámetro  | Expresión  | $R^2$  |
|------------|--|--------|
| <i>Abs</i> | $C=11.487-7.890Abs^2$  | 0.9995 |
| <i>T</i>   | $C=-250.512T+140.436T^2$                                     | 0.9925 |
| $I_{TT}$   | $C=0.2715I_{TT}-3.526X10^{-4}I_{TT}^2+1.111X10^{-7}I_{TT}^3$ | 0.8039 |
| <i>S</i>   | $C=-60.650S+4.477S^2-0.0936S^3$                              | 0.9475 |

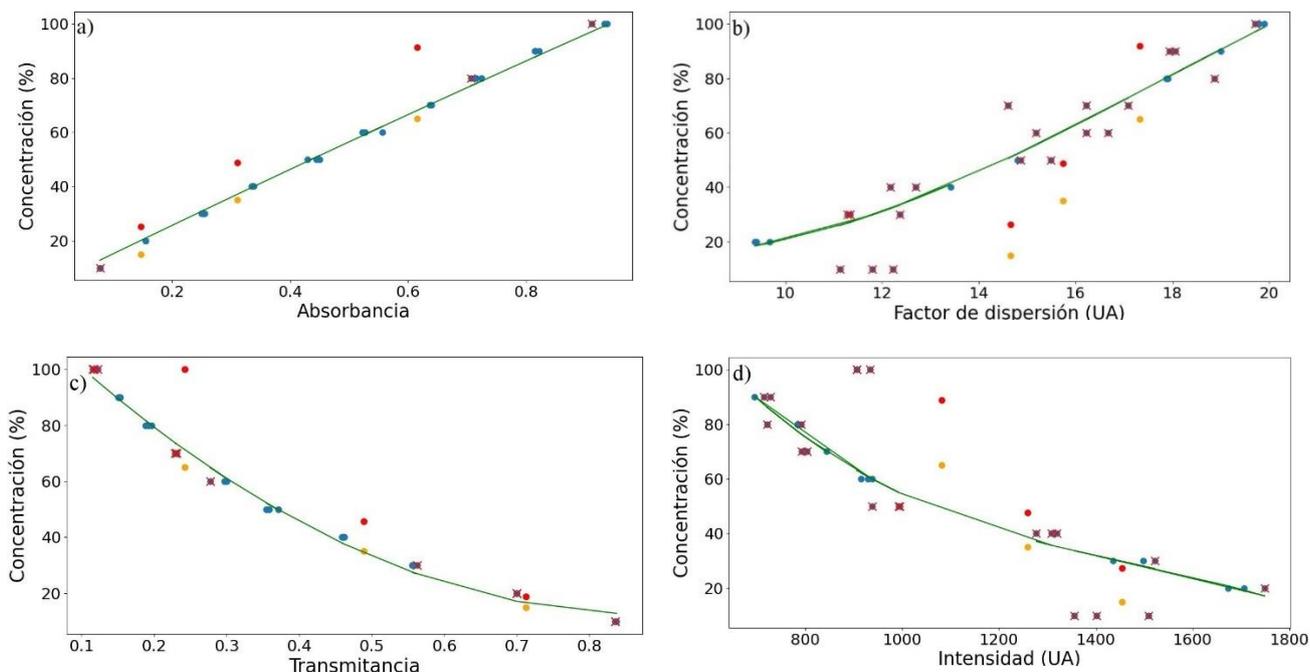


Figura 8: Gráficas de los modelos obtenido por regresión por vectores de soporte para a) absorbancia (*Abs*), b) factor de dispersión (*S*). c) transmitancia (*T*) d) intensidad total transmitida ( $I_{TT}$ ). Se indican en azul los datos de entrenamiento, en naranja las concentraciones de prueba y en rojo las predicciones de los modelos para estimar las concentraciones de prueba. Se indica con X los datos de entrenamiento que coinciden con vectores de soporte.

### 3.3. Evaluación de los modelos de regresión por vectores de soporte

En la figura 7 se muestra las gráficas de los modelos de regresión por vectores de soporte obtenidos con el software implementado en Python, para la estimación de porcentaje de concentración con las lecturas de los parámetros de Abs y T obtenidos con espectrofotómetros, y los parámetros de ITT y S del PILE.

Para el proceso de regresión se consideraron como datos de entrenamiento el total de las lecturas de parámetros obtenidos con espectrofotómetro y del PILE para cada una de las diluciones disponibles por triplicado, de esta manera se permite dar un margen de tolerancia que toma en cuenta la dispersión de las lecturas obtenidas con espectrofotómetro y el sistema de adquisición. La función kernel utilizada fue la polinomial.

Con los modelos de regresión por vectores de soporte se obtuvo la estimación de la concentración para los valores de prueba y se calcularon los porcentajes de error por medio de (7).

En las tablas 7 a la tabla 10 se indican respectivamente los porcentajes de error obtenidos con los modelos derivados de los datos de Abs, S, T e ITT.

Tabla 7.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo de regresión por vectores de soporte obtenido con valores de absorbancia

| Abs   | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|-------|----------------|---------------|--------------|
| 0.147 | 15.00          | 25.142        | 67.613       |
| 0.310 | 35.00          | 48.716        | 39.189       |
| 0.615 | 65.00          | 91.219        | 40.337       |

Tabla 8.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo de regresión por vectores de soporte obtenido con valores de S

| S      | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|--------|----------------|---------------|--------------|
| 14.659 | 15             | 26.288        | 75.20        |
| 15.734 | 35             | 48.818        | 39.50        |
| 17.326 | 65             | 91.833        | 41.30        |

Tabla 9.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo de regresión por vectores de soporte obtenido con valores de T

| T     | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|-------|----------------|---------------|--------------|
| 0.713 | 15             | 18.867        | 25.780       |
| 0.489 | 35             | 45.701        | 30.574       |
| 0.242 | 65             | 100.030       | 53.892       |

Tabla 10.- Estimación del porcentaje de concentración para los tres valores de prueba calculado con el modelo de regresión por vectores de soporte obtenido con valores de ITT

| ITT      | $C_{real}$ (%) | $C_{est}$ (%) | $\delta$ (%) |
|----------|----------------|---------------|--------------|
| 1453.333 | 13             | 27.391        | 82.60        |
| 1259.333 | 35             | 47.666        | 36.20        |
| 1082.667 | 65             | 88.834        | 36.70        |

### 3.4. Discusión de resultados

Las figuras 7 y 8 muestran claramente la correlación que existe entre los parámetros obtenidos del PILE y el espectrofotómetro, puede identificarse comportamientos similares entre Abs y S, así como T con ITT.

Los resultados de la evaluación del modelo de regresión polinomial muestran mejores aproximaciones para los casos en que el modelo se obtuvo con los parámetros de espectrofotómetro, hay que considerar en este caso que un instrumentos de laboratorio presenta menor dispersión en sus lecturas en comparación con los sistemas de monitoreo basados en sistema de microcontrolador de la plataforma Arduino® (Kutschera & Lamb, 2018), en este sentido una de las limitantes en la precisión del sistema de adquisición del PILE es la resolución de 10 bits convertidor analógico a digital.

El modelo de regresión por vectores de soporte muestra un desempeño aceptable cuando se comparan los modelos obtenidos con los factores de Abs y S. Como se muestra en la figura 8 el modelo de regresión por vectores de soporte derivado de los datos de Abs y T toma una menor cantidad de vectores de soporte en comparación con los modelos generados con los parámetros del PILE, en este caso este método de regresión es más adecuado para sistemas de adquisición que presentan dispersión en sus lecturas como en el caso del sistema implementados en este trabajo.

## 4. Conclusiones

Se presentó un esquema alternativo para estimación de biomasa en cultivos biotecnológicos por medio de técnicas ópticas. El sistema desarrollado requiere componentes de bajo costo lo que permite fácilmente replicarse, así como adaptarse en un esquema de monitoreo en línea.

La comparación de las estimaciones de concentración de biomasa por medio de los modelos de regresión de los parámetros del PILE con los obtenidos con espectrofotómetro indican que el modelo de regresión por vectores de soportes más adecuado cuando existe una apreciable dispersión en las lecturas del instrumento utilizado.

Como trabajo futuro se plantea implementar el sistema con dispositivos que permitan mejorar la precisión, así como derivar parámetros adicionales del PILE para estimación de biomasa.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo otorgado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional a través del proyecto con registro 20221067

## Referencias

- Bechiale P., Busse C., Solle D., Schepher T., Reardon K., (2015). Sensor Systems for Bioprocess Monitoring. *Engineering in Life Sciences*, 2015(15), 469–488. DOI: 10.1002/elsc.201500014
- Arnáiz, C., Isac, L., & Lebrato, J. (2000). Determinación de la biomasa en procesos biológicos: Métodos directos e Indirectos. *Tecnología del Agua*, 205, 45–52.
- Halvik I., Beutel S., and *et al.* (2022). On-line Monitoring of Biological Parameters in Microalgal Bioprocesses Using Optical Methods. *Energies*, 15, 875–901 DOI: 10.3390/en15030875
- Kutschera A. & Lamb J. (2018) Cost Effective Density Determination of Liquid Cultured Microorganism *Current Microbiology* 75,231-236 DOI: 10.1007/s00284-017-1370-3
- Madrid, R. & Felice, C. (2005). Microbial biomass estimation. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 25, 97–112.

- Mao J., Yan Y., Eichstädt O., Chen X., Wang Z., Cui J. (2017). A noninvasive online system for biomass monitoring in shaker flasks using backward scattered light. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 22,161-169
- Madkour F. F., et al (2012) Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 38,51-57
- Myers J. A., Curtis B. S., Curtis W. R.,(2013) Improving Accuracy of cell chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophysics*, 6,1-15.
- Pedregosa F., Varoquaux G, Gramfort Alexandre (2011)Scikit-learn: Machine Learning in Python. *Journal of Machine Learning Research*.
- Peckov, A. (2012). A Machine Learning Approach to Polynomial Regression Doctoral Dissertation. Jožef Stefan International Postgraduate School. Ljubljana, Slovenia
- Schmid-Hager J., Ude C., Findeis M., John G. T., Scheper T., Beutel S. (2014) Noninvasive online biomass detector system for cultivation in shake flasks. *Engineering in Life Sciences* (14) 467-476. DOI: 10.1002/elsc.201400026
- Smola A. and Schölkopf B. (2004) A tutorial on support vector regression. *Statistics and Computing* 14: 199-222. DOI: 10.1023/B:STCO.0000035301.49549.88
- Takor R.(2012) Scale-up of microbial processes: Impacts, tools and open questions. *Journal of Biotechnology*. 160. 3-9. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2011.12.010
- Ude C. Schmid-Hager C. Findeis M. John G.T. Scheper T. Beutel S. (2014) Application of an Online-Biomass Sensor in an Optical Multisensory Platform Prototype for Growth Monitoring of Biotechnical Relevant Microorganism and Cell Lines in Single-Use Shake Flasks. *Sensors* 14: 17390-17405. DOI: 10.3390/s140917390