



## **Control de Temperatura de un Bioreactor para Procesos Aeróbicos**

**Juan Ricardo Damián Zamacona, Gabriel Ascanio Gasca, Nadia Launizar, Servando Rafael Cortés González.**

[ricardo.damian@ccadet.unam.mx](mailto:ricardo.damian@ccadet.unam.mx)

Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico, Circuito Exterior S/N, C.P. 04510, A.P.70-186, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.

### **RESUMEN**

En este trabajo se presentan los avances que se han logrado en el diseño y construcción de un control de temperatura para su aplicación en un bioreactor de procesos aeróbicos. El control de temperatura y el monitoreo de esta variable se realiza desde una PC a través de una interfaz gráfica. La comunicación desde la PC con el sistema físico se lleva a cabo mediante el empleo de una tarjeta D/A.

**PALABRAS CLAVE:** bioreactor, temperatura, agitación.

### **1. INTRODUCCIÓN**

Este proyecto nace de la necesidad de diseñar un control de temperatura para un bioreactor, de tal forma que el elemento calefactor no tenga contacto directo con las muestras biológicas contenidas en el interior de la cámara del tanque, dado que por un lado se podrían contaminar las muestras en estudio y por otro lado, como el bioreactor es agitado mecánicamente resulta complicada la ubicación de los elementos de agitación y el calefactor en el interior del recipiente contenedor, además, hay que considerar que se tienen otros elementos que disminuyen el espacio disponible, como son los elementos sensores necesarios para el monitoreo de variables. Otro punto importante a considerar, es que es deseable poder observar a simple vista el interior de la cámara del bioreactor para vigilar el proceso en todo momento.

### **2. DESARROLLO**

#### **2.1 Panorama General**

##### **2.1.1 Bioreactor**

Un bioreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un bioreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas.

Existen diferentes tipos de bioreactores en el mercado, tales como los de acero inoxidable utilizados para procesos alimenticios como el mostrado en la figura 1. Como se puede ver en esta figura, el bioreactor está fabricado completamente de acero inoxidable y solamente cuenta con una mirilla de cristal para poder observar hacia el interior del contenedor.



Figura 1. Bioreactor comercial de acero inoxidable.

Estos bioreactores son construidos de acero inoxidable tipo 304 ó 316 para evitar la corrosión y reacciones con las muestras y así garantizar una esterilización más completa.

Existen en el mercado otro tipo de bioreactores construidos de vidrio borosilicatado para disminuir aun más el riesgo de corrosión y para una mayor asepsia pero son más delicados ya que como se sabe, el vidrio es muy frágil a esfuerzos mecánicos y cualquier descuido puede dañar el contenedor, un ejemplo de este tipo de bioreactores se muestra en la figura 2. Como se puede observar en la figura, este tipo de bioreactores suelen ser más pequeños dada la fragilidad del cristal. Como se puede ver en la misma figura, a diferencia de aquellos de acero inoxidable el proceso se muestra completamente, dado que el contenedor es transparente debido al material de construcción.

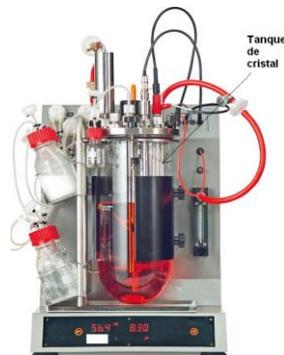


Figura 2. Bioreactor comercial con tanque de vidrio

El vidrio borosilicatado, dada su composición, que es por lo general silicio, óxido bórico, óxido de sodio, óxido de potasio y óxido de calcio lo hace más resistente al calor y a los ataques químicos, dados sus constituyentes, su coeficiente de dilatación es mucho menor que el del vidrio común pero aún así se puede fracturar en condiciones en las que se tienen cambios bruscos de temperatura.

### 2.1.2. Tipos de calefacción

El control de temperatura en un bioreactor es muy importante dados los procesos químicos y biológicos que se llevan a cabo en su interior. Para controlar adecuadamente la temperatura, existen diferentes arreglos de elementos calefactores de tal forma que se tenga una distribución adecuada de la temperatura en el interior del tanque.

### 2.1.3. Serpentín

Uno de los arreglos utilizados para el control de temperatura en el interior de un bioreactor es mediante el uso de un serpentín como el mostrado en la figura 3. La idea de este arreglo es lograr el mayor contacto posible con la mezcla del contenedor, de tal forma que el calor del recipiente sea lo más uniforme posible para que de esta manera el calor no se concentre y así evitar dañar las muestras.



Figura 3. Serpentín para control de temperatura en un bioreactor comercial

El material empleado para la construcción del serpentín es de acero inoxidable, dados los altos grados de asepsia que se requiere en el interior del tanque. Como se puede ver en la misma figura, el serpentín se sostiene de la tapa del tanque, desde donde se conecta hacia el exterior con el sistema electrónico de control.

### 2.1.4. Mantilla de silicón flexible

Algunos sistemas utilizan una mantilla de silicón flexible, que se coloca en el exterior del tanque contenedor, dado que, por sus propiedades, no puede colocarse en la pared interior ya que reaccionaría con los elementos químicos y biológicos que se manejen. En la figura 4, se muestra un bioreactor que usa mantilla de silicón para el control de temperatura.



Figura 4. Tanque con control de temperatura empleando mantilla de silicón

La figura 5 muestra una mantilla de silicón flexible que puede emplearse como elemento calefactor. Una de las desventajas de este tipo de elementos, es que al enrollarse por fuera del tanque, obstruye parcialmente la visibilidad del proceso en desarrollo, por lo que es necesario dejar una ventanilla como en el caso de los tanques de acero inoxidable, de tal forma que se puedan observar los procesos y el estado de la mezcla en el interior del tanque.



Figura 5. Mantilla flexible calefactora de silicón

### 2.1.5. Camisa de agua.

En el mercado existen otro tipo de bioreactores que utilizan una camisa de agua para el control de temperatura. El calentamiento con este método, es similar al proceso de calentamiento de una muestra con el método comúnmente conocido como “Baño María”. En la figura 6, se muestra un tanque de vidrio con camisa de agua para el control de temperatura. Como se puede ver en la misma, al utilizar una camisa de agua se tienen varias ventajas, una de las cuales es que se tiene un mayor espacio en el interior de la cámara para colocar un agitador, también se tiene una mayor visibilidad hacia el interior del contenedor para observar el proceso en estudio.



Figura 6. Bioreactor comercial con camisa de agua para control de temperatura.

A pesar de que comercialmente existen en el mercado sistemas muy variados, el costo es muchas veces muy elevado, por lo que se dificulta su adquisición, además, la mayoría de estos sistemas son de importación, lo cual incrementa aún más su costo, esto debido a que es necesario considerar el mantenimiento que se les tiene que realizar. Es por lo anterior, que se procedió a diseñar y construir un sistema propio que fuera funcional pero con un costo mucho menor, y que además se tuviera toda la información necesaria de su funcionamiento en caso de algún daño.

## 3. DESCRIPCIÓN

### 3.1. Control de temperatura

El sistema de control propuesto puede ser utilizado para el control de temperatura de bioreactores que pueden ser utilizados en el área de investigación en donde es necesario realizar el cultivo de microorganismos o el crecimiento de células o tejidos en condiciones controladas y en presencia de aire.

El control presentado en este trabajo, fue diseñado para controlar la temperatura en tanques con camisa de agua de aproximadamente medio litro de capacidad y construido de vidrio borosilicatado.

### 3.2. Circuito de agua

Para poder controlar la temperatura en el interior del bioreactor, es necesario contar con un circuito de agua que sea capaz de absorber y proporcionar el calor necesario al proceso en estudio. Para esto, es necesario contar con dos recipientes de vidrio concéntricos de tal forma que, el agua pueda envolver completamente el vaso interior, contenida por el exterior. También es necesario que el agua que circula por entre los vasos (interior y exterior) esté siempre a una misma temperatura, y así, poder mantener la temperatura del contenedor principal (vaso interior) dentro de un intervalo adecuado. En la figura 7 se puede ver un esquema del arreglo empleado para pruebas del control de temperatura.

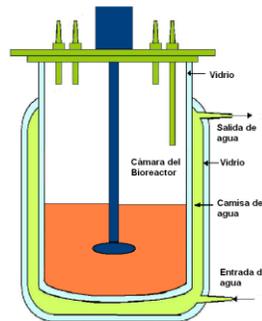


Figura 7. Circuito de agua del bioreactor diseñado

Con la finalidad de poder tener una circulación de agua constante en el sistema, se utilizó el empuje de la misma gravedad y una bomba sumergible para poder cerrar el ciclo. La entrada de agua al bioreactor, se realizó por la parte inferior del bioreactor y la salida por la parte superior, de tal forma que esto garantiza el llenado permanente de la camisa de agua, en la figura 8, se puede ver el circuito completo de circulación de agua empleado en el control de temperatura. Para garantizar que no se tenga desbordamiento de agua en el tanque 1, se colocó un sensor de nivel, el cual envía información para que el agua permanezca en un intervalo adecuado, de esta forma, si está por debajo de éste, la bomba se activa para recuperar el agua perdida y se apaga al sobrepasar el nivel.

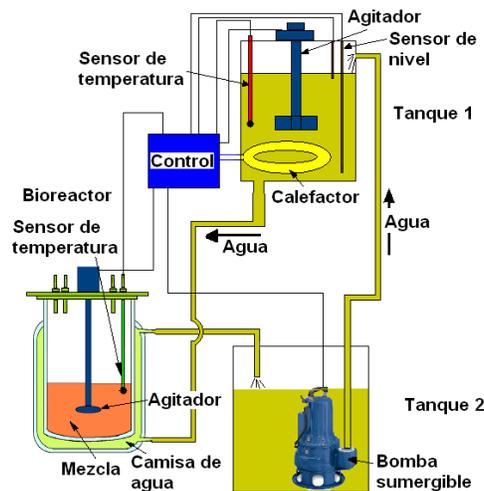


Figura 8. Circuito de agua para el control de temperatura

### 3.3. Sensores de temperatura

Como se puede apreciar en la figura 8, el control de temperatura del sistema se realiza desde una PC, la cual es la encargada de activar y desactivar los actuadores que controlan los dispositivos necesarios para mantener la temperatura del bioreactor en un valor adecuado, también es la encargada de leer las señales proveniente de los sensores de temperatura para cerrar el ciclo de control.

El tipo de sensores que se utilizó son los LM35 de empaquetado T0-92, los cuales nos dan una tensión de salida lineal, directamente proporcional a la temperatura medida en grados centígrados. Estos dispositivos entrega 10 [mV] por grado centígrado. Tiene un intervalo de acción que va desde los  $-55^{\circ}\text{C}$  hasta los  $150^{\circ}\text{C}$ .

Los puntos por los que se seleccionó este dispositivo son su bajo precio, la lectura que nos ofrece, ya que es directamente proporcional a la temperatura censada y basta con polarizarla con una fuente sencilla para su funcionamiento.

El sensor de temperatura principal se encuentra alojado en el tanque 1, este monitorea la temperatura del agua encargada de mantener la temperatura adecuada en el interior del bioreactor, si la temperatura no es la óptima, la PC activa y desactiva una resistencia que se encuentra en el mismo tanque. Posteriormente, el agua que ya se encuentra a la temperatura de control, pasa a través de la camisa de agua proporcionando o retirando el calor necesario del interior del bioreactor, posteriormente, esta agua llega a un tanque 2 donde se almacena y posteriormente es bombeada nuevamente al tanque 1 para cerrar el ciclo. Cabe señalar que el tanque 1 cuenta con aspas de agitación para mezclar el agua caliente con el agua fría que llega del tanque 2. En el interior del bioreactor se encuentra otro sensor de temperatura como centinela para monitorear que la temperatura de la mezcla en estudio sea la adecuada, también es necesario agitar esta mezcla para tener una lectura de temperatura correcta.

### 3.4. Control desde la PC

Para controlar la temperatura desde la PC, fue necesario el uso de una tarjeta D/A, de tal forma que se pudiera comunicar con el sistema físico sin riesgo alguno. La tarjeta a su vez, se conectó con actuadores mediante el uso de dispositivos de potencia de estado sólido para la activación de la resistencia y la bomba sumergible, así como con los sensores utilizados, de esta forma, se puede controlar la temperatura del tanque. En la figura 9 se muestra un diagrama a bloques de la conexión de la PC con el bioreactor.

La tarjeta usada fue la NI USB-6009, la cual cuenta con 8 entradas analógicas de 14 bits a  $48[\text{kS/s}]$ , 2 salidas analógicas de 12 bits a  $150[\text{S/s}]$ , 12 Entradas/Salidas digitales, contador de 32 bits y conexión USB directo a la PC.

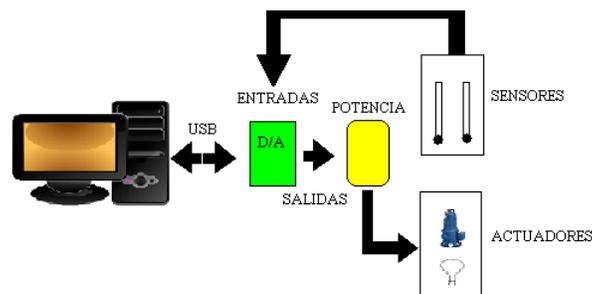


Figura 9. Diagrama a bloques del sistema conectado a la PC

### 4. RESULTADOS

El control que se empleo para regular la temperatura del agua fue del tipo PID (Proporcional, integral y diferencial), basándose principalmente en la lectura registrada por el sensor LM35 inmerso en el recipiente en el que se calienta el agua. La temperatura leída, se envía por medio de la tarjeta de adquisición a la computadora, es capturada por el programa de LabVIEW y mediante un subVI se aplica el control. La señal de control se envía de vuelta a la tarjeta y esta mediante una de las salidas digitales se encarga de proporcionar el PWM que controla la etapa de potencia. Cabe destacar que se empleo el método de sintonización de Ziegler/Nichols. Sin embargo, al probar los valores obtenidos, se modificaron por aproximación y se llegó a los parámetros del control tal como el  $K_p=1$ ,  $T_i=0.6$  y  $T_d=0.01$ .

En la computadora se pudieron obtener diversas gráficas del comportamiento del sistema, en la figura 10, se presentan algunos resultados obtenidos empleando vasos de acrílico como sistema de pruebas, los cuales tienen una conductividad térmica inferior a la del vidrio por lo que la transmisión del calor es más lenta que en vasos de vidrio.

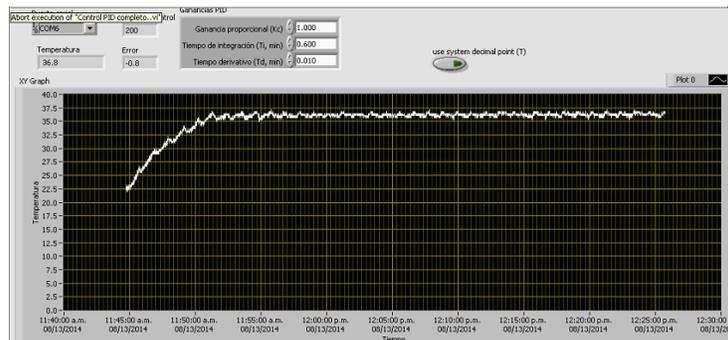


Figura 10. Gráficas de comportamiento de la temperatura del agua.

En la prueba mostrada en la figura 10, la temperatura de control se ajusto a 36 °C. Esta gráfica corresponde a los valores adquiridos en los primeros 80 minutos de ejecución. Se observa que llega por primer vez al valor deseado (*setpoint*) a los 5 minutos teniendo un sobrepaso máximo de aproximadamente 1 °C. En la imagen se observa que la estabilidad del sistema es bastante buena. El error que se tiene cuando el sistema se ha estabilizado es de  $\pm 0.5^\circ\text{C}$  corroborado por un termómetro externo.

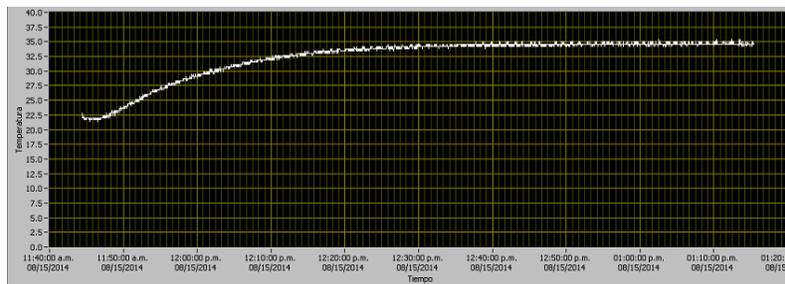


Figura 11. Gráficas de comportamiento de la temperatura en el bioreactor

Por otro lado, la temperatura que hay en el interior del bioreactor y como es de esperar, tarda mucho más en alcanzar la temperatura deseada como se muestra en la figura 11, esto por el

hecho de que se tiene que esperar a que el agua ya caliente fluya por las paredes de los dos recipientes que la conforman y que estos transmitan el calor necesario al fluido de prueba, venciendo toda la inercia térmica del conjunto. El tiempo que se tarda en alcanzar la temperatura deseada es de aproximadamente 45 minutos, se puede ver en la gráfica 11, que la subida es más lenta que en la gráfica 10, dado el tipo de calentamiento del bioreactor que se emplea y que como ya se mencionó es del tipo “Baño María”.

En la figura 12 se presenta una imagen del sistema empleado para la realización de las pruebas, como se puede ver en esta imagen, se tienen los tanques del sistema de agua y el tanque principal que contiene el fluido de prueba, además de un tanque más para dosificación.

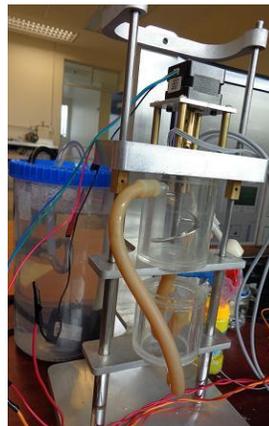


Figura 12. Sistema de pruebas

La figura 13, muestra una imagen de la interfaz hecha en LabVIEW, desde donde se controla todo el sistema, la comunicación se lleva a cabo como ya se mencionó anteriormente, por medio de una tarjeta D/A. El panel frontal presenta una perilla para selección de la temperatura requerida, un termómetro y una gráfica para el monitoreo de la temperatura, además de un botón de arranque y elementos indicadores de encendido y apagado de la resistencia.

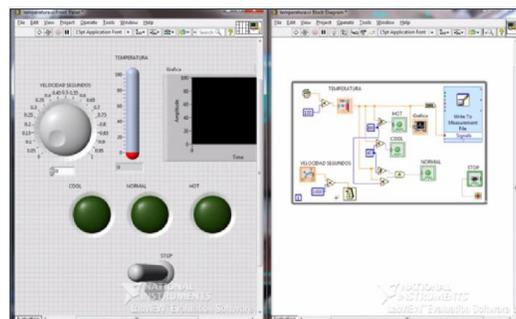


Figura 13. Pantalla de la interfaz en LabVIEW

En la figura 14 se muestra un diagrama a bloques del modelo de control empleado, como se mencionó anteriormente, el controlador formado por la PC utiliza como señal de entrada la señal de error que se calcula de la diferencia que existe entre el valor deseado, el cual es ajustado por el usuario desde la interfaz y el valor actual que se tiene en la planta y que es enviado a la PC por

medio de la tarjeta D/A, por otro lado, el controlador, genera como salida la señal de control que alimenta a la planta a través de la misma la tarjeta D/A.

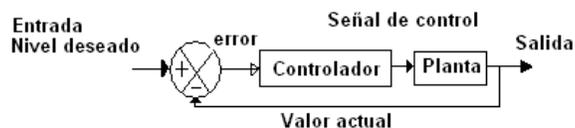


Figura 14. Modelo de control empleado

#### 4. CONCLUSIONES

Comercialmente existen en el mercado bioreactores para aplicaciones diversas pero su adquisición se vuelve difícil dados los altos costos de estos. Por otro lado, al adquirir un equipo de estos en el extranjero, no se deja de depender del fabricante, es por esto, la importancia de tener una tecnología propia.

El programa de control se desarrolló en LabVIEW dado que con este *software* se pueden lograr interfaces muy amigables y en tiempos relativamente cortos.

Las pruebas se realizaron con vasos de acrílico por lo que se espera que al cambiar a vasos de vidrio los tiempos de respuesta se reduzcan considerablemente, aún así, se sabe que en todo equipo de uso biomédico se tiene que realizar un precalentamiento para poder tomar lecturas confiables, es por esto que los resultados obtenidos con este diseño se pueden considerar adecuados.

#### 5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Libro: P. Horowitz, W. Hill, The Art of Electronics., 2nd Edition. Cambridge University Press, 1989.
- [2] Libro: S. Soclof, Design and applications of analog integrated circuits, Prentice-Hall, New Jersey, 1991.
- [3] Sitio Web: Catalogo, <http://www.agelectronica.com/inicio.htm>, (consultado en: Mayo 8, 2014).
- [4] Sitio Web: disponible en: <http://quimicapetroupch.blogspot.mx/2012/05/biorreactor.html> (consultado en: Marzo 26, 2014) .