

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ  
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA  
Sección de Electricidad y Electrónica



PONTIFICIA  
**UNIVERSIDAD**  
**CATÓLICA**  
DEL PERÚ

“Optimización del software del desarrollo de un termociclador para la replicación del ADN.”

Tesis para optar el Título de Ingeniero Electrónico que presenta el bachiller:

**Marco Antonio González Ortiz**

ASESORES:

Ing. Willy Carrera Soria

Dra. Sayda Mujica Bueno

Lima, Marzo del 2011

## RESUMEN

El presente asunto de estudio contempla la optimización de un prototipo de termociclador, equipo empleado para realizar la replicación *in vitro* de muestras biológicas específicas de ADN, utilizando para ello el proceso de Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR (por sus siglas en inglés) cuyo principio de funcionamiento se basa en alcanzar niveles de temperaturas determinados durante intervalos de tiempo. El desarrollo de esta tesis contempla la optimización del sistema de control heredado de trabajos previos así como el diseño de la interfaz con el usuario.

Para la optimización del sistema de control de temperatura, se realiza previamente un modelamiento matemático del actuador y la unidad principal del sistema, siendo estos una celda peltier y una bandeja de plata respectivamente. Para la celda peltier, el modelamiento a realizar requiere emplear equivalencias eléctricas a fenómenos térmicos que suceden en este dispositivo. De igual forma se realiza el modelamiento matemático para la bandeja de plata.

El control del proceso se realiza empleando algoritmos en lenguaje assembler para el microcontrolador de la familia Atmel y lenguaje de alto nivel utilizado en el programa Visual Basic 6.0. La ventaja de emplear lenguaje de alto nivel es la facilidad de trabajar con valores en punto flotante, que mejoran la precisión de la variable de control requerida. Asimismo, el algoritmo implementado en lenguaje assembler permite la adquisición digital de datos por parte de la etapa de sensado de temperatura, la comunicación con la PC para el envío de estos datos, el posterior procesamiento que se realizará en la PC y finalmente la recepción de datos de control para la generación de una onda PWM. El resultado final de estos dos elementos da una señal de control necesaria para la etapa de potencia. Finalmente, se implementa una interfaz de usuario amigable en la PC que permite al operario tener una supervisión del proceso en tiempo real y poder adquirir los datos obtenidos para posteriores análisis.

Como resultado de estos procedimientos, se logra diseñar e implementar el algoritmo de control de temperatura cuyas características se asemejan a equipos comerciales actuales, sea el caso de las rampas de temperatura y el error en estado estable. Asimismo, se verifica la correcta adquisición de datos y la generación de señal de control hacia la etapa de potencia.

## INDICE

Introducción	3
<b>Capítulo 1: Generalidades respecto a la replicación de ADN y el Proceso de PCR</b>	
1.1 Conceptos fundamentales sobre el ADN y su replicación.	4
1.2 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)	5
1.3 Celda Peltier	6
<b>Capítulo 2: Avance tecnológico en el Proceso de control de Temperatura de un termociclador</b>	
2.1 Estado del Arte	
2.1.1 Presentación del asunto de estudio	8
2.1.2 Estado de la Investigación	8
2.1.3 Síntesis de la Investigación	11
2.2 Declaración del Marco Problemático	13
2.2.1 Hardware	14
2.2.2 Software	16
2.3 Objetivos	17
2.3.1 Objetivo General	17
2.3.2 Objetivos Específicos	17
<b>Capítulo 3: Diseño e implementación del Software</b>	
Consideraciones Preliminares	18
3.1 Etapa de rediseño del sistema de control	
3.1.1 Análisis de la etapa de conversión AD.	18
3.1.2 Selección del microcontrolador.	20
3.1.3 Modelamiento matemático del sistema.	21
3.1.4 Análisis del método de control.	26
3.1.5 Cálculo de los parámetros de control.	28

3.2 Rediseño de la interfaz de usuario	
3.2.1 Diseño del hardware para la comunicación con la PC.	34
3.2.2 Diagrama de flujo del proceso implementado en el microcontrolador.	35
3.2.3 Diagrama de flujo del proceso de control implementado en la PC.	36
Capítulo 4: Simulaciones y resultados	
Consideraciones preliminares	38
4.1 Verificación de la obtención de datos de temperatura.	38
4.2 Pruebas del modelo matemático obtenido.	41
4.3 Simulación del control de temperatura Diseñado.	43
4.4 Pruebas de la etapa de control y generación de señal de control (PWM).	50
Conclusiones	55
Recomendaciones	56
Bibliografía	57

## INTRODUCCIÓN:

La tendencia actual por la que se está optando en todas las áreas de la ciencia y la investigación es a utilizar herramientas que ayuden a obtener un resultado final de alta precisión en el menor tiempo posible. Enfocándonos en el área de la biotecnología, concretamente en las técnicas de replicación de ADN *in vitro*, la aparición de equipos como los termocicladores para automatizar el proceso de replicación de ADN, conocido como PCR (Polymerase Chain Reaction, por las siglas en inglés de Reacción en Cadena de la Polimerasa) ha sido una clara respuesta ante esta tendencia. Es por ello que en el Perú se debe orientar por este camino y optar por el uso de este tipo de herramientas, logrando no solo ampliar la gama de aplicaciones para estudios genéticos, sino también para obtener un respaldo tecnológico que nos asegure resultados precisos y rápidos.

Sin embargo, el factor económico es también vital a la hora de tratar de ajustarnos a estos cambios, por ello la idea de elaborar un prototipo en nuestro país aparece como una opción razonable. La iniciativa fue tomada por el Grupo de desarrollo de equipos para laboratorio Equi-LaB en nuestra universidad.

Actualmente se cuenta con diseños y avances de los elementos electrónicos y mecánicos de un prototipo inicial [10] [11] [24]. El presente asunto de estudio aborda la etapa de optimización del diseño del software correspondiente al proceso de PCR (el cual contempla una rampa de subida y bajada de temperatura de 1.3°C/s y temperatura estable con un error menor a 5°C), para poder obtener un prototipo final acorde con las expectativas.

## Capítulo 1

### Generalidades respecto a la replicación de ADN y el proceso de PCR

#### 1.1 Conceptos fundamentales sobre el ADN y su replicación:

La molécula de ADN o ácido desoxirribonucleico, está formada por dos cadenas de ácidos nucleídos helicoidales con giro a la derecha, que componen una doble hélice alrededor de un mismo eje central. Esta representación fue realizada por Wilkins Franklin e 1953 mediante la difracción de rayos X. (ver figura 1.1).

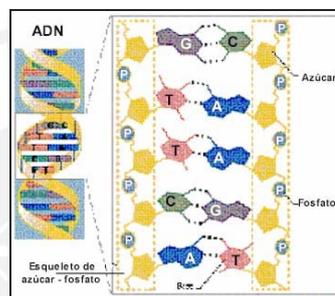


Fig. 1.1 Estructura principal del ADN [1].

Las bases que se encuentran en los ácidos nucleicos son de dos tipos: Pirimidinas y Purinas. La principal característica de las Pirimidinas es que poseen un anillo heterocíclico, mientras que las Purinas, tienen dos anillos fusionados. Las Pirimidinas, dentro del ADN, están conformadas por las bases Adenina y Guanina; mientras que dentro de las Purinas se encuentran la Citosina y la Timina. (Ver figura 1.2)

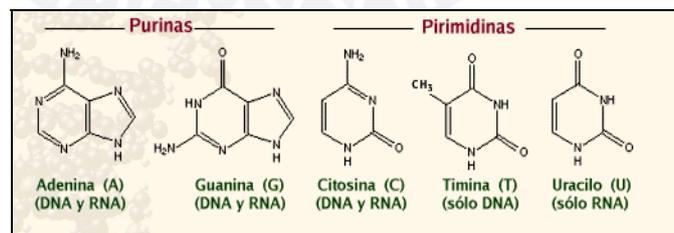


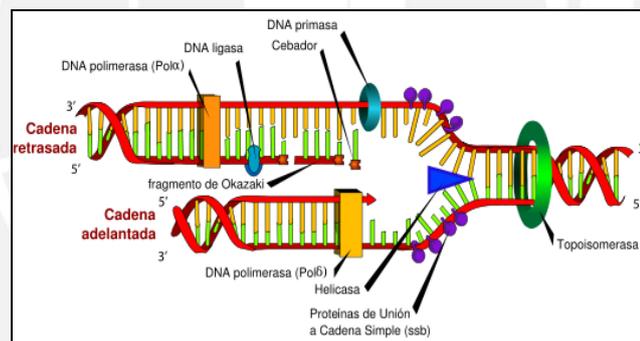
Figura 1.2: Bases nitrogenadas organizadas por tipos: Pirimidinas y Purinas [2].

La replicación de ADN, empieza con la separación de las dos hebras que conforman la cadena de ADN gracias a la intervención de la enzima helicasa. Una vez abierta la cadena de ADN, las proteínas de unión a cadena simple o topoisomerasas se unen a cada una de las cadenas individuales de ADN manteniéndolas separadas, evitando que estas vuelvan a su estado inicial. Luego la

enzima Polimerasa I, en conjunto con la presencia de nucleótidos complementarios a cada una de las cadenas, empieza el proceso de sintetización de la nueva cadena o cadena hija de ADN.

Durante el proceso de replicación se presenta una cadena “adelantada” cuya sintetización se da 5´-3´ sin problemas, mientras que también se tiene una cadena “atrasada” cuya dirección 3´-5´ no permite la sintetización de manera directa como en el caso anterior. En este caso para que la enzima polimerasa III pueda empezar su tarea debe estar presente un cebador, formado por nucleótidos de RNA catalizados por ARN primasas. Posteriormente, las enzimas polimerasa III añaden los nucleótidos faltantes en la hebra que hasta el momento estaba compuesta por nucleótidos de ARN, a los nucleótidos que se unen a la cadena atrasada se les conoce como fragmentos de Okasaki.

Finalmente, la enzima polimerasa I remueve los primers de ARN en dirección 5´-3´ añadiendo los nucleótidos y sintetizando la nueva cadena de ADN, la cual será reforzada por la enzima ligasa (*ver figura 1.3*).



*Figura 1.3: La gráfica muestra la secuencia de replicación de ADN y los elementos involucrados en el proceso [3].*

## 1.2.- Reacción en Cadena de la Polimerasa:

El proceso de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), simula el proceso que se realiza en los seres vivos para la reproducción de ADN. Cada etapa de este proceso *in vitro* se basa en el aumento o en la disminución de la temperatura. La figura 1.4 muestra las subidas y bajadas de temperatura para un ciclo completo y la figura 1.5 ilustra de manera correlativa el comportamiento del ADN. A continuación se explican cada una de las etapas:

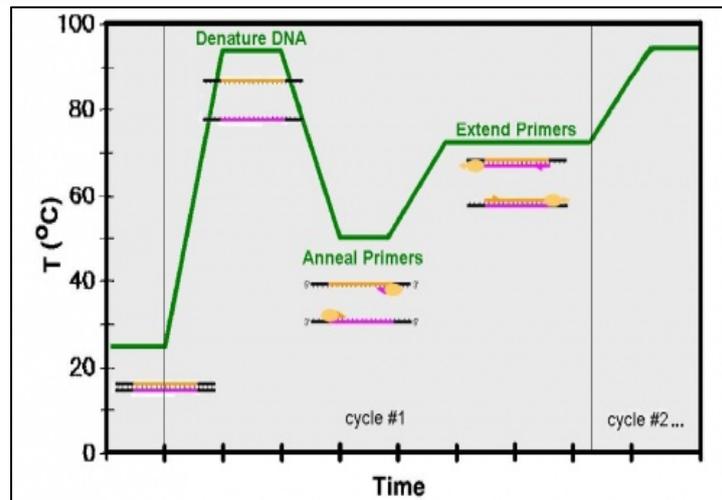


Figura 1.4

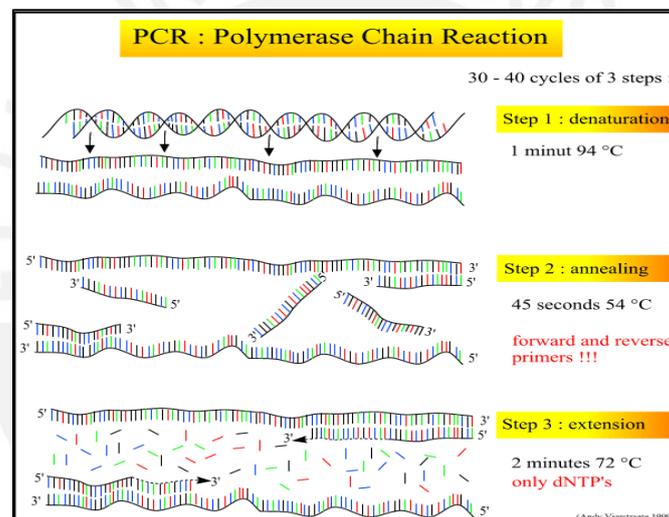


Figura 1.5

La figura 1.4 y 1.5 muestran de diferente manera el ciclo completo del proceso [4] [5].

➤ **Etapa de Desnaturalización:**

Esta etapa se realiza en un rango de temperatura de 92 -98 °C, siendo la elección final de acuerdo al tipo de muestra biológica. La necesidad de tal aumento de temperatura se da para conseguir romper los enlaces de puente de hidrógeno que existen entre las dos hebras de la cadena de ADN.

- Duración:
  - De 2 a 10 minutos a 95°C

➤ **Etapa de Hibridación:**

En la segunda etapa, se disminuye la temperatura hasta los 60 °C para que los oligonucleótidos o primers, se alineen con las bases complementarias de cada una de las hebras de ADN, antes separadas (en direcciones 5'-3' y 3'-5').

- Duración:
  - Anillado (Anneal) : 30 segundos a 60°C

➤ **Etapa de Extensión:**

En la tercera Etapa, y dependiendo del tipo de enzima polimerasa que se esté utilizando en el proceso (La enzima Taq DNA, en nuestro caso), se elevará la temperatura del recipiente hasta unos 72°C aprox., lo cual permitirá sintetizar las nuevas cadenas de ADN.

- Duración:
  - Alargamiento – de 7 a 10 minutos 72°C.
  - Conservación – 4°C (Conservar a esta temperatura.

### 1.3 **Celda Peltier:**

Un elemento importante para alcanzar los niveles de temperatura de cada etapa del proceso de PCR es la celda Peltier, cuya figura se muestra en la figura 1.6:

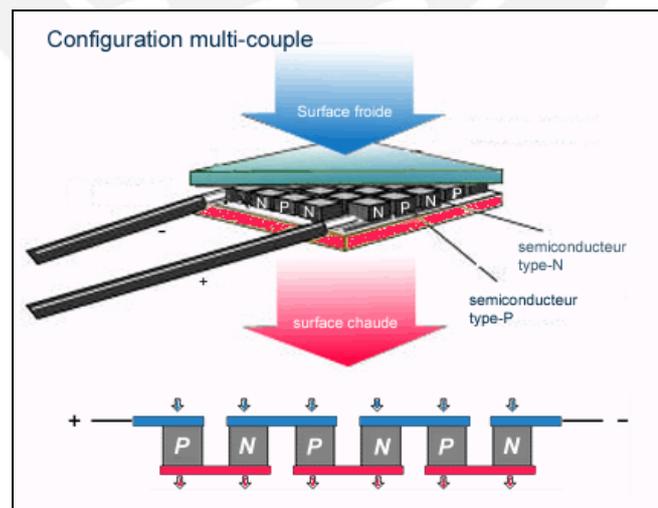


Figura 1.6: Celda peltier [6].

La celda Peltier es un dispositivo termoeléctrico compuesto de semiconductores de bismuto de telurio tipo N (cargas libres) y tipo P (huecos libres) conectados eléctricamente en serie y térmicamente en paralelo, estos se conectan entre sí a través de uniones de cobre. La circulación de una corriente eléctrica a través de estos dos materiales semiconductores con diferente densidad de cargas libres produce una absorción o liberación de energía. La cantidad de pastillas semiconductoras depende del modelo de celda peltier a emplear y de los requerimientos de flujo de calor del sistema. Asimismo, las dimensiones están definidas por la superficie de contacto que debe haber entre el peltier y el objeto a enfriar o calentar.



## Capítulo 2

### Avance tecnológico en el proceso de control de temperatura de un termociclador

#### 2.1 Estado del arte:

##### 2.1.1 Presentación del Asunto de Estudio:

Hoy en día resulta difícil encontrar un área de estudio en el cual la ingeniería no intervenga, ya sea como un complemento en el proceso de investigación, o como una herramienta para la implementación de dispositivos basados en los conocimientos adquiridos. Los avances en biología y genética molecular, de la mano con el desarrollo de técnicas de ingeniería genética, han sido fundamentales para el desarrollo de la biotecnología en estas últimas décadas [6]

Si nos enfocamos en el área de Biología Molecular, específicamente en el estudio de la replicación del ADN (Acido Desoxirribonucleico), encontramos que una de las técnicas que más se emplea es la Reacción en Cadena de la Polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction) [7]. En la actualidad, esta técnica se realiza de manera automatizada, pudiendo además variar valores como temperatura, número de ciclos y tiempo en cada proceso; el dispositivo que hace posible este proceso se conoce como termociclador. [8] [9].

En el Perú, el grupo de Desarrollo de Equipos para Laboratorios Biológicos – Equi-LaB, conjuntamente con el grupo ‘Métodos Computacionales en Ingeniería’ (GMC), de la Sección Ingeniería Mecánica, vienen trabajando en el desarrollo de un prototipo de Termociclador. Los avances de este desarrollo fueron realizados en temas de tesis tanto de electrónica como de mecánica [10] [11]. Las observaciones encontradas y la necesidad de contar con evaluaciones precisas sobre el comportamiento de los elementos mecánicos, llevan a tomar como asunto de estudio la optimización del sistema de control y automatización del equipo, de forma tal que se asegure el correcto funcionamiento.

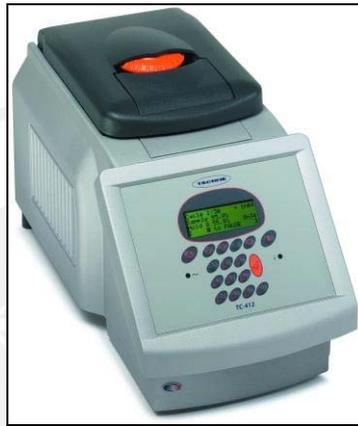
##### 2.1.2.- Estado de la Investigación:

###### **Sensores de temperatura:**

La gama de sensores que se desarrollan actualmente en diferentes campos, principalmente en los procesos automatizados, permiten obtener la gran exactitud y precisión deseada para el desarrollo de innumerables proyectos. Para el diseño de equipos como los termocicladores, se han desarrollado una amplia gama

de sensores de temperatura, puesto que este proceso requiere de un monitoreo constante de este valor que asegure un correcto desempeño del equipo.

Actualmente para el diseño de termocicladores se considera el uso de termistores como principal sensor de temperatura, este es el caso del Termociclador Techne TC-412, el cual utiliza un termistor para el sensado de temperatura. El termistor brinda exactitud y alta precisión (aprox.  $0.1^{\circ}\text{C}$ ) [12] [13]. Si bien la salida de este tipo de sensor no es lineal, los fabricantes de estos sensores brindan el diseño de etapas de linealización, como el diseño de un puente weathstone[14].



*Figura 2.1 Termociclador Techne TC-412 [13].*

Otro tipo de sensor que se ha utilizado para el diseño de un termociclador es el sensor de temperatura tipo diodo Zener, en este caso es el EM135. Esta elección se empleó en el desarrollo de un termociclador para el funcionamiento automatizado de la PCR con control de temperatura, patentada por los inventores Fenton Williams, Marcel Margulies, entre otros [15]. En este caso, el uso de este tipo de sensor requiere una etapa de calibración, así como etapas de conversión análoga digital (ADC), entre otros.

Si bien en el mercado actual se han ido desarrollando nuevos tipos de sensores, la mayoría son sensores integrados para el sensado de temperatura. Estos dan como prioridad una respuesta rápida antes que una gran exactitud y reducción de error de lectura. Ejemplo de ello es TMP 100, TMP 101, entre otros [16].

Actualmente, se han venido desarrollando chips especializados para el sensado de temperatura, los cuales se vienen utilizando para el monitero de la reacción en cadena de la polimerasa. Según los autores, D.S. Lee y C.S. Chen, "... A través del

monitoreo de temperatura y fluorescencia, se puede cuantificar de manera completa la curva de eficiencia de la amplificación del DNA “[17].

### Microcontroladores y Circuitos Integrados:

Los microcontroladores surgieron gracias al desarrollo de la tecnología a nivel mundial, luego que se lograra diseñar un chip que contuviese una gran cantidad de transistores, caso del microcontrolador. A lo largo de los años se han ido desarrollando innumerables microcontroladores, cada uno con características determinadas y en muchos casos, para desarrollar funciones específicas.

En el campo de la biotecnología, el desarrollo de integrados para la amplificación de ADN no es algo exclusivo de la técnica de PCR; a lo largo de los años se han implementado varias técnicas a micro-escala previas a la técnica de PCR, como es el caso de Reacción en Cadena de la Ligasa, entre otras. Sin embargo, y gracias a las únicas características que posee la PCR, se ha buscado la miniaturización de esta técnica para su integración en un chip.

En este contexto, desde el año 1990, se ha venido desarrollando integrados conocidos como los PCR chips. En esencia, estos integrados permiten el menor uso de reagentes, un menor tamaño y un control de la temperatura más sensible. Todos estos factores hacen posible que el proceso en general se realice en intervalos de tiempo más cortos con mejores exactitudes [18].

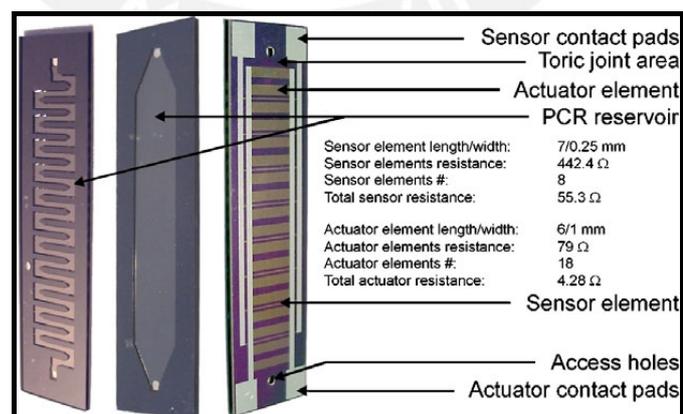


Figura 2.2 Diseño de un PCR chip (activo) [18].

La principal ventaja de los PCR chips frente a otros sistemas, además de las antes mencionadas, es la eficiencia que posee para la transferencia de calor, lo cual nos

asegura una distribución precisa de temperatura en toda la cámara de la PCR. Con esto obtenemos reducir intervalos de tiempo de cada proceso (desnaturalización, hibridación y extensión), y nos permite realizar una serie de ciclos en un intervalo de tiempo menor al que requeriríamos usando otras técnicas.

Otro aspecto importante que se ve dentro de los microcontroladores en el diseño de un termociclador, es el control de temperatura durante el proceso. Si bien el hemos visto que hoy en día existen otras alternativas además de los microcontroladores conocidos (Atmel, Microchip, etc.) para realizar el proceso de variación de temperatura propias de la técnica de PCR, estos también están ligados a una programación que les permita realizar el control de temperatura durante el proceso.

### **2.1.3: Síntesis de la Investigación:**

Se ha hecho una recapitulación del estado del arte de los principales elementos a utilizar para el control del proceso de PCR. Cada uno de estos en cierta proporción forma parte de la etapa de control y automatización en la implementación de un termociclador.

Por una parte, vemos que el desarrollo de los sensores de temperatura se ha dado a grandes pasos, impulsando de este modo el desarrollo de proyectos en diversos campos. Hoy en día el uso de sensores, en general, se utiliza de gran forma en áreas de gran avance tecnológico, como son la robótica y automatización. Por esta razón, a medida que estos instrumentos mejoran, el entorno que los rodea debe mejorar con estos, requiriendo el desarrollo de los instrumentos de acondicionamiento de señal y filtros de ruido, entre otros [21].

## **2.2- Declaración del marco problemático:**

El uso de nuevos métodos de investigación en el área de la biotecnología en nuestro país, se encuentra limitado por la visible carencia de material de última generación. Son pocos los lugares donde se puede apreciar que se hace uso de herramientas tecnológicas para la investigación y tratamiento de pacientes u otras aplicaciones en áreas de biología molecular, genética entre otros. El principal motivo es el económico; el cual, si bien no es el único factor, es muchas veces el más preponderante.

Si analizamos la posibilidad de implementar un prototipo en el país, surgen nuevas interrogantes, una de las cuales es la forma de realizar este proceso de manera automatizada y que cumpla las rigurosas especificaciones propias del proceso al cual está ligado, hablamos del proceso de Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR.

Los antecedentes previos a la realización de este asunto de estudio, realizados en un inicio por el grupo Equi-LaB, sirvieron como inicio para el desarrollo de la investigación de este tipo de equipos. En un principio se realizó un diseño completo de un termociclador, a cargo de los alumnos David Zegarra y José Luis Ponce, que aclaró ciertas pautas como el uso de peltier para el proceso de entrega y absorción de flujo de calor, entre otros conceptos. Sin embargo, las pruebas de funcionamiento realizadas demostraron varias falencias del diseño. Una de estas falencias encontradas fueron los elementos mecánicos que actúan en el equipo, entre la que se puede destacar el diseño y el material de la bandeja portamuestras que se emplea en este equipo. Como una solución a este problema, mediante el trabajo tesis del alumno Omar Piminchumo se logra diseñar una bandeja portamuestras que asegure una correcta distribución de temperatura en toda su área. Luego de resolver este problema, surgieron otros como el control de la temperatura y la correcta entrega de potencia hacia los peltiers.

Para dar al lector una idea más clara de los avances previos correspondientes a la etapa de control del sistema, se procede a detallar estos de forma más detallada:

La figura 2.3 muestra el diagrama de bloques planteado inicialmente para el control de temperatura del sistema.

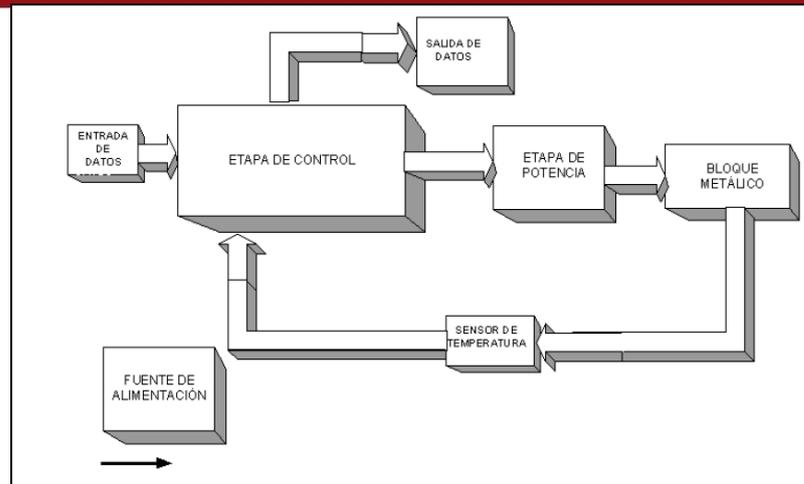


Figura 2.3: Diagrama de bloques del sistema de control inicial [24].

Algunas características del diagrama de bloques mostrado:

- ✓ La entrada de datos se realiza a través de un teclado matricial.
- ✓ La etapa de control solo involucraba el uso de un microcontrolador que cumpliera los requisitos.
- ✓ El bloque metálico mostrado representa la bandeja portamuestras diseñada.

A continuación se realiza una revisión de las partes de Hardware asociados a la programación del software para el control de temperatura.

### 2.2.1 Hardware:

#### Etapa de de sensado de temperatura y acondicionamiento de señal:

En esta etapa se pueden detallar las siguientes características:

- El sensor seleccionado es el YSI14008, cuyas características se detallan en la tabla 2.1:

Tabla 2.1: Tabla de características del sensor YSI14008:

Componente Termilíneal	YSI44018
Precisión e intercambiabilidad	$\pm 0.15^{\circ}\text{C}$
Red termilíneal a utilizarse	44201
Set de resistencias	R1 = 3;2KW, R2 = 6;25KW
Rango de aproximación líneal	0 – 100°C
Voltaje de alimentación máximo	2V
Corriente de entrada máxima	625uA
Desviación líneal	$\pm 0.216^{\circ}\text{C}$

Constante de disipación	1 mW/°C en aire quieto
	8 mW/°C en agua fluyendo

Elaboración: William Ángeles [24].

- La etapa de acondicionamiento consta de 3 etapas: una red termilínea a base de resistencias propuestas por el fabricante de acuerdo a los requisitos de operación. Una etapa de acondicionamiento compuesta por un puente Wheatstone con valores de resistencias obtenidos de acuerdo al rango de operación y finalmente una etapa de amplificación de la señal utilizando el integrado INA101.

$$E_{OUT} = 0,00802245 \cdot T(^{\circ}C) + 1,297605V \quad ; \quad 1,2033675mV$$

Ecuación 2.1: Salida de voltaje en función de la temperatura [24].

#### **Etapas de control de Temperatura:**

- La elaboración de la tarjeta no cuenta con la circuitería necesaria para el uso de un reloj externo, limitando la frecuencia de trabajo al rango de 1Mhz como máximo.
- La tarjeta posee las salidas para comunicación con la PC. (Pines PD0 y PD1 siendo Rx y Tx respectivamente), así como salidas para la conexión TWI (Two wire interface), los cuales incluyen los pines PC4 Y PC5. Sin embargo, no se cuenta con el circuito para la comunicación con la PC.

A continuación se muestra el circuito de las etapas de adquisición y control de temperatura iniciales:

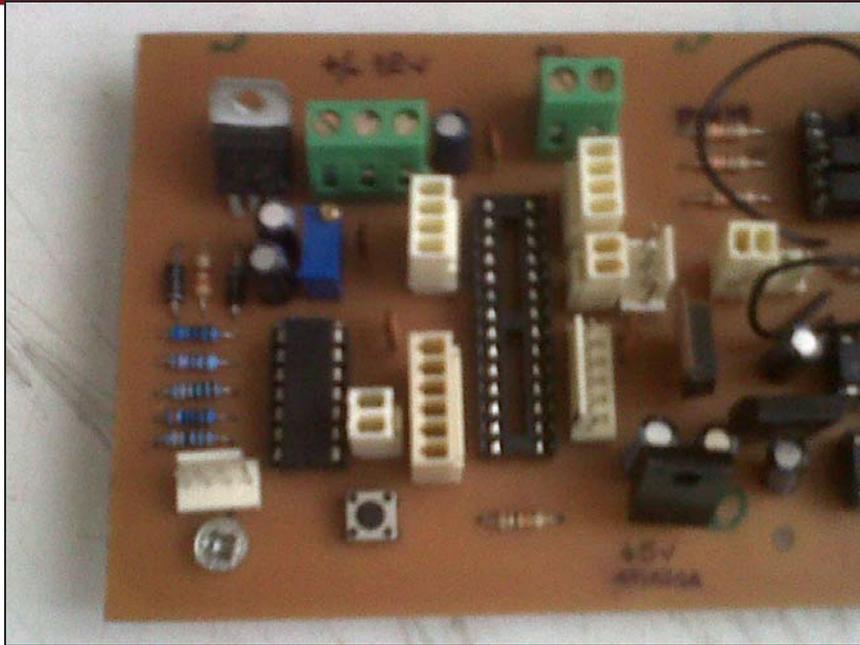


Figura 2.4: Circuito de la etapa de sensado y control de temperatura [24].

### 2.2.2 Software:

El software desarrollado posee 3 etapas importantes, las cuales se mencionarán brevemente para luego analizar el diagrama de flujo completo del sistema previo.

#### **Etapa ADC:**

- La programación de esta etapa se realizó utilizando el ADC que posee el microcontrolador PIC16F877, lo cual limita su resolución a 10 bits como máximo, lo cual se evaluó posteriormente para determinar si es suficiente para los requerimientos del sistema.
- **Etapa generación PWM:**
- La generación de la onda PWM se realiza con una frecuencia de 4Khz y se ha utilizado el TIMER1 para la generación de la misma.

#### **Control:**

- El control implementado inicialmente, considera tres estados de control: 100%, 25% y 50% de ciclo de trabajo, cada uno de estos se emplea de acuerdo al requerimiento del sistema.

Se adjunta en el anexo A, el diagrama de flujo del programa realizado en un principio por los alumnos Zegarra y Ponce como parte previa del proyecto [11].

### **2.3.- Objetivos:**

#### **2.3.1- Objetivo Principal:**

El Objetivo principal del presente asunto de estudio es realizar las mejoras del diseño del sistema de control digital de temperatura del prototipo del termociclador, optimizando de esta forma la etapa de control para que se cumpla los requisitos planteados al inicio de la investigación.

#### **2.3.2- Objetivos Específicos:**

- 1.** Obtener un modelamiento matemático del actuador para poder adaptarlo al comportamiento del sistema actual, lo cual permitirá posteriormente analizar los métodos de control que se pueden aplicar al mismo.
- 2.** Elaborar el algoritmo de control de temperatura, empleando métodos de control digital, tales como controladores PD, PI o PID.
- 3.** Realizar las simulaciones y pruebas de la etapa de control llegando a obtener variaciones de temperatura cercanas a  $1.3^{\circ}\text{C/s}$ , valor que posee

equipos comerciales actuales y sobre el cual se diseñó la bandeja portamuestras.

4. Elaborar la interfaz con el usuario a través de una computadora, empleando para ello el programa de Visual Basic 6.0. Esta herramienta permitirá la configuración de parámetros del proceso y su visualización en tiempo real.

## Capítulo 3

### DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DEL SOTWARE

#### Consideraciones Preliminares:

El desarrollo del presente capítulo, basado en los avances logrados, contiene el diseño o rediseño, según sea el caso, del software y/o hardware correspondiente para el control de temperatura e interfaz con el usuario. Para la realización del diseño de la etapa de control se optó por emplear un lenguaje de alto nivel, utilizando para ello la herramienta de software Visual Basic 6.0. Esta etapa, en conjunto con los algoritmos de adquisición de datos y generación de señal de control implementada en el microcontrolador, forma el bloque de control global del sistema.

#### 3.1.- Etapa de rediseño del sistema de control:

A partir de los datos mencionados anteriormente, se procede a evaluar cada una de las etapas propias del sistema de control que están inmersas en el desarrollo del software propuesto; para ello se muestra en la figura 3.1 el diagrama de bloques del sistema de control propuesto.

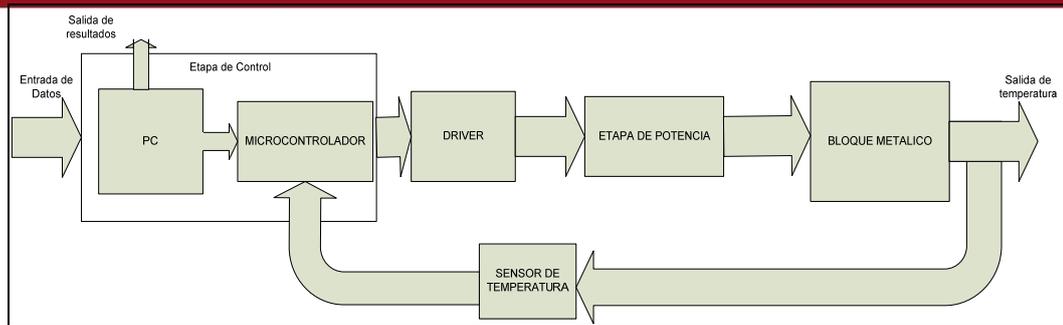


Figura 3.1: Diagrama de bloques del sistema de control propuesto.

### 3.1.1 Análisis de la etapa de conversión análoga digital (A/D) del sistema:

De acuerdo a lo mostrado anteriormente sobre el convertor análogo-digital que se viene utilizando, propio del microcontrolador Atmega8, es necesario analizar si el mismo es suficiente para el proceso a realizar. Para ello, basado en documentos respecto a la selección de convertidores análogo - digital [25], se hace un listado de los principales factores a tomar en cuenta:



#### Factores Primarios:

- Precisión requerida por el sistema.
- Número de bits de resolución.
- Naturaleza de la señal de entrada analógica.
- Velocidad de conversión de datos.
- Condiciones de trabajo (medio ambiente).



#### Factores Secundarios:

- Múltiples canales.
- Uso de voltaje de referencia externo o interno.
- Formato de salida de datos.

En base todos estos factores, podemos verificar si el convertor análogo digital a utilizar cumple con los requisitos para facilitarnos la obtención de datos, así como la posterior programación.

De acuerdo a las especificaciones de los equipos termocicladores de la marca MJ Research, sobre cuales nos estamos basando para el diseño del prototipo, se requiere una resolución de aprox.  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  durante los procesos de variaciones de temperatura propio de la técnica de PCR [26]. Con este dato, procedemos a analizar el número de bits necesarios para la conversión

$$\text{Mínima resolución} \geq \frac{\Delta T_{\text{máximo}}}{2^N}$$

Donde:

$\Delta T_{\text{máximo}} = \text{Diferencia de temperaturas máximas del proceso}$

$N = \text{Número de bits necesarios para alcanzar la precisión deseada}$

Sabiendo que:

$$T_{\text{máximo}} = 95^{\circ}\text{C}$$

$$\Delta T_{\text{máximo}} = 91^{\circ}\text{C}$$

$$T_{\text{mínimo}} = 4^{\circ}\text{C}$$

Obtenemos:

$$0.5 > \frac{91^{\circ}\text{C}}{2^N} \gg N \geq 8$$

De esta forma, obtenemos que el convertor a utilizar debe tener como mínimo una resolución de 8 bits para el proceso. Para el desarrollo del procesamiento se utilizará una resolución de 10 bits, valor máximo entregado por el ADC del atmega8.

Sabiendo que el voltaje de alimentación a trabajar será de 5v, y con el dato antes obtenido de resolución, podemos hallar los valores de LSB del convertor.

$$1\text{LSB} = 5V / 2^{10}$$

$$1\text{LSB} = 4.88\text{mV}.$$

El convertor análogo digital utilizado es el ADC del microcontrolador Atmega8, el cual posee las siguientes características:

Tabla 3.1: Datos de convertor A/D Atmega8:

Numero de bits de resolución (máxima)	10
No linealidad Integral( Integral Non-Linearity)	0.5 LSB
Precisión absoluta (Absolute accuracy)	+2LSB
Tiempo de conversión	13-260 us
Voltaje de referencia	2.56 o Vcc
Muestras por segundo (a máxima resolución)	Hasta 15KSPS

Elaboración propia.

### 3.1.2.-Selección del microcontrolador:

Para esta selección, se enlistó los requerimientos a utilizar en el desarrollo de la presente tesis:

Tabla 3.2: Cuadro comparativo entre microcontrolador Atmel y Motorola:

Características	ATmega8	PIC16F877
Convertor Análogo	10 bits	10 bits
Temporizadores	Cuenta con Timer 0, Timer 1 y Timer 2	Cuenta a su vez con 3 temporizadores
Generación de PWM	2 pines para generación de PWM	2 pines para generación de PWM
Voltaje de alimentación	4.5- 5.5 V	2-5.5V.
Comunicación USART	Si	Si

Elaboración propia.

Vemos que tanto el microcontrolador Atmega8 como el PIC16F877 poseen todas las características necesarias para la programación del control de temperatura planteado. Sin embargo, dado que se cuenta con un mayor conocimiento en lenguaje de programación ASSEMBLER y el algoritmo de control a implementar se realizará también a través del software visual basic 6.0, se elige el microcontrolador Atmega8.

### 3.1.3.- Modelamiento matemático del Sistema:

Al plantearnos la idea de realizar un método de control digital para el control de temperatura, debemos conocer previamente un modelamiento matemático que pueda darnos una idea del comportamiento de las partes del sistema a trabajar.

En este caso, los actuadores son principalmente las celdas peltiers que se encargan de aumentar o disminuir la temperatura de la bandeja portamuestras. Siendo este dispositivo termoeléctrico parte fundamental del sistema, es necesario encontrar un modelo matemático simple que pueda expresar su comportamiento. Previo a este modelamiento matemático, y siendo este un dispositivo termoeléctrico, es necesario encontrar una equivalencia eléctrica que nos permita

entender su comportamiento. Se muestra en la tabla 3.4 las equivalencias térmicas-eléctricas a emplear; las definiciones de cada variable térmica se adjunta en el anexo B:

Tabla 3.3: Analogía entre variables térmicas y eléctricas [22]:

Analogía eléctrica	Variable Térmica
Flujo de carga $I(t) = dq/dt$	Flujo de calor $P(t) = dW/dt$
Diferencia de potencial $\Delta V$	Diferencia de temperatura ( $\Delta T$ )
Resistencia eléctrica	Pérdidas térmicas
Capacitancia eléctrica	Inercia Térmica

Elaboración: J. A. Chávez [22].

### Modelamiento Eléctrico:

Una vez conocidas las equivalencias, se puede proceder a modelar eléctricamente el comportamiento dinámico de la celda Peltier. Para este proceso se tomo como fuente un trabajo realizado en la Universidad Politécnica de Madrid: "Modelamiento de una celda peltier" [20]. Tomando en cuenta este documento, se debe analizar los distintos fenómenos que suceden en este dispositivo termoeléctrico como son: efecto Peltier, el efecto Seebeck, el efecto Joule y el efecto Thomson. En estado estacionario y para un material homogéneo, tenemos que la ecuación diferencial que rige el flujo de la energía será:

$$TJ \frac{\partial \alpha}{\partial x} + \frac{\partial T}{\partial x} - \rho J^2 - \frac{d}{dx} \left( k \frac{dT}{dx} \right) = 0 \quad \dots\dots (3.1.1)$$

Donde:

$\alpha$  = coeficiente de Seebeck

$\tau$  = coeficiente de Thomson

$J$  = Densidad eléctrica

$\rho$  = Resistividad eléctrica

$k$  = conductividad térmica del material

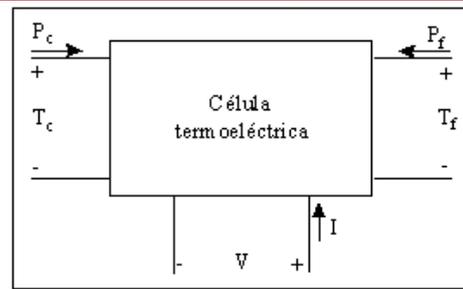


Figura 3.2: Modelamiento inicial de una celda Peltier. [22]

Una vez hecha esta simplificación, se observa que al aplicar una diferencia de potencial sobre la celda, se produce una cesión de calor por unidad de tiempo que se puede expresar:

$$Q_{PC} = \alpha T_C \times I \dots\dots (3.1.2)$$

Donde:

$Q_{PC}$ = Flujo de energía en la cara caliente .

$\alpha$  = coeficiente de seebeck .

$I$  = corriente que atraviesa el circuito.

Vemos que el mismo efecto se producirá si analizamos la cara fría del Peltier:

$$Q_{PF} = \alpha T_F \times I \dots\dots (3.1.3)$$

De otro lado, si ahora analizamos las pérdidas por unidad de tiempo por el efecto Joule, estas se reparten en un porcentaje equivalente en ambas caras, cuya expresión será:

$$Q_J = \frac{1}{2} \times I^2 \times R \dots\dots (3.1.4)$$

Donde:

$R$ = resistencia eléctrica de la celda Peltier.

Asimismo, al haber una diferencia de temperatura entre ambas caras, se producirá un efecto de conducción térmica. En base a las analogías antes presentadas, se puede cuantificar este flujo calorífico como:

$$Q_{CT} = \frac{T_C - T_F}{R_{TH}} \dots (3.1.5)$$

Donde:

$R_{TH}$  = Resistencia térmica equivalente entre las caras.

Una vez evaluados todos estos efectos, procedemos a hallar el flujo neto calorífico absorbido por la cara fría. Haciendo un balance energético tenemos:

$$Q_F = Q_{PF} - Q_J - Q_{CT} = \alpha T_F \times I - \left[ \frac{1}{2} \times I^2 \times R \right] - \frac{T_C - T_F}{R_{TH}} \dots (3.1.6)$$

De la misma forma para la cara caliente:

$$Q_C = Q_{PF} + Q_J - Q_{CT} = \alpha T_F \times I + \left[ \frac{1}{2} \times I^2 \times R \right] - \frac{T_C - T_F}{R_{TH}} \dots (3.1.7)$$

Se aplica el primer principio de La Termodinámica, con lo cual hallamos que la potencia eléctrica suministrada al sistema será la diferencia de los flujos caloríficos, tantos los de disipación como los de absorción, obteniendo:

$$P_e = Q_C - Q_F = \alpha(T_C - T_F) \times I + I^2 R \equiv \alpha \Delta T \times I + I^2 R \dots (3.1.8)$$

Con las ecuaciones obtenidas, se puede realizar un diagrama eléctrico de la celda Peltier, tal y como se aprecia en la figura 3.3:

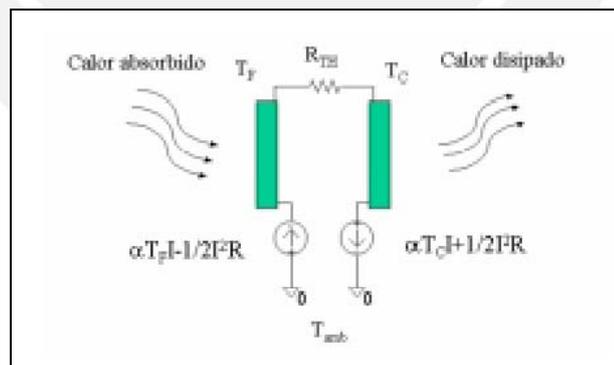


Figura 3.3: Modelo dinámico del Peltier [23.]

Los flujos caloríficos absorbidos por la cara fría del Peltier y los disipados por la cara caliente, hacen noción a la inercia térmica que posee ambas caras. Por lo tanto, se puede utilizar capacidades caloríficas para obtener un modelo matemático de esta propiedad. Finalmente, tenemos el modelo eléctrico general en la figura 3.4:

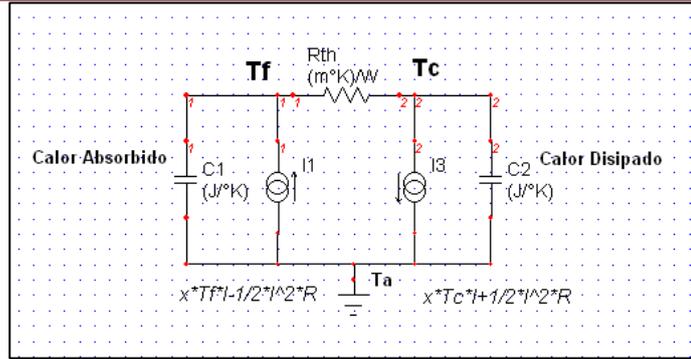
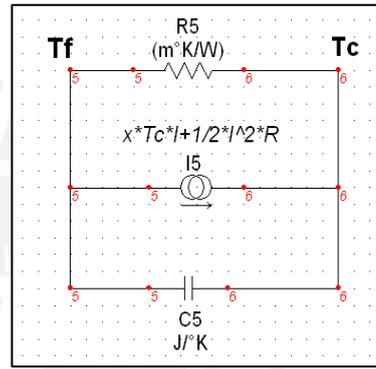
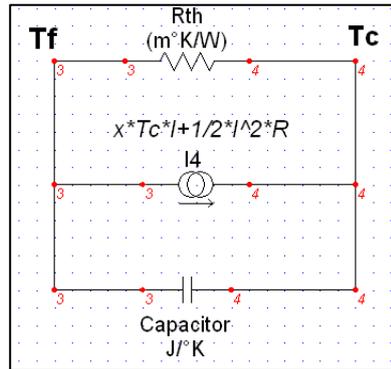


Figura 3.4: Modelamiento eléctrico de la celda Peltier [23]



Figuras 3.5a y 3.5b: Circuitos equivalentes de la figura 3.4 [23].

En base a la figura 3.5a, y usando ley de kirchoff en un nodo del circuito de la izquierda, tenemos la ecuación:

$$\frac{C_F(d\Delta T)}{dt} + \frac{\Delta T}{R_{TH}} \cong \alpha T_c I + \frac{1}{2} I^2 R = P_{e\rightarrow} \alpha T_c I - \frac{1}{2} I^2 R \quad \dots(3.1.9)$$

Una vez obtenido esta ecuación, la cual nos da la relación entre la corriente suministrada y la variación de temperatura entre las caras del Peltier, notamos que la presencia de una expresión cuadrática, hace que el sistema no sea lineal. Por tanto antes de realizar las pruebas de simulación, se procederá a linealizar la ecuación antes hallada.

$$\frac{C_F(d\Delta T)}{dt} + \frac{\Delta T}{R_{TH}} \cong \alpha T_c I + \frac{1}{2} I^2 R \quad \dots(3.1.10)$$

Condiciones iniciales:

$$\Delta T_c = 0^\circ C$$

$$I_c = 0 A$$

Definimos las variables  $\Delta T$  y  $I$  con sus valores iniciales, para comodidad reemplazaremos estos valores por  $X$  e  $Y$  respectivamente:

$$x = x_0 + \Delta x$$

$$y = y_0 + \Delta y$$

Evaluamos para  $\frac{d(\Delta T)}{dt} = 0$  :

$$\frac{\Delta T_0}{R_{TH}} \cong \alpha T_c I_0 + \frac{1}{2} I_0^2 R$$

Volvemos a reescribir la ecuación inicial, reemplazando los valores de  $x$  e  $y$ :

$$\frac{C_F(d(x_0 + \Delta x))}{dt} + \frac{x_0 + \Delta x}{R_{TH}} = \alpha T_c (y_0 + \Delta y) + \frac{1}{2} (y_0 + \Delta y)^2 R \dots\dots(3.1.11)$$

Resolviendo:

$$\frac{C_F(dx_0)}{dt} + \frac{C_F(d(\Delta x))}{dt} + \frac{x_0}{R_{TH}} + \frac{\Delta x}{R_{TH}} = \alpha T_c y_0 + \alpha T_c \Delta y + \frac{1}{2} y_0^2 \left(1 + \frac{\Delta y}{y_0}\right)^2 R \dots(3.2.12).$$

El término  $\left(1 + \frac{\Delta y}{y_0}\right)^2$  es no lineal, por serie de Taylor:

$$F(z) = F(0) + F'(0)z, \quad z = \frac{\Delta y}{y_0}$$

Obtenemos:

$$F(z) = 1 + 2z \Leftrightarrow 1 + 2\frac{\Delta y}{y_0}$$

Reemplazando en la ecuación (β) y reemplazando los valores de  $x_0$  e  $y_0$ :

$$\frac{C_F(d(\Delta x))}{dt} + \frac{\Delta x}{R_{TH}} = \alpha T_c \Delta y + \frac{1}{2} y_0^2 \left( 1 + 2\frac{\Delta y}{y_0} \right) R \quad \dots(3.1.13)$$

Vemos que el nuevo valor lineal se elimina debido a la presencia de  $y_0$ . Finalmente, tenemos en la ecuación 3.4.14 linealizada y en términos de  $\Delta T$  e I:

$$\frac{C_F(d\Delta T)}{dt} + \frac{\Delta T}{R_{TH}} = \alpha T_c I \quad \dots(3.1.14)$$

$$F(s) = \frac{\alpha R_{th} T_c}{C_F R_{th} s + 1} \dots (3.1.15)$$

#### 3.1.4.- Análisis del método de control:

Se analizó el método de control de temperatura empleado en un principio, se pueden dar las siguientes observaciones:

- El sistema de control empleando solo tres valores de duty cycle, solo nos proporciona una rápida respuesta en las etapas de enfriamiento y calentamiento. Sin embargo, la estabilidad del sistema en los lapsos de temperatura constante no es la adecuada.
- El algoritmo de control que se ha empleado no está basado en un análisis previo del sistema controlar, lo cual ocasiona un control netamente experimental y conlleva muchas a veces a valores no deseados.
- Adicionalmente, y dado que este tipo de control se adecua al control ON-OFF, sabemos que se ve afectado por los sobreimpulsos en el estado transitorio. Dichos sobreimpulsos deben ser reducidos al máximo en el sistema a trabajar.

Frente a estas observaciones, y luego de analizar el comportamiento del sistema una vez modelado, se observa que el tipo de control que más se adecua a los

requerimientos es el control PID. Para ello, detallaremos algunas características de este tipo de control [28]:

El control PID, es una herramienta para el control de sistemas y consta de tres acciones de control, el control proporcional, integral y derivativo.

La acción proporcional varía directamente con el error actual del sistema, siguiendo la siguiente ecuación:

$$K_p = K_p * e(t) = K_p * (r(t) - y(t)) \dots (a)$$

La principal ventaja de esta acción frente al control ON-OFF, radica en que el control aumenta o disminuye dependiendo del valor del error. De esta forma se elimina un sobreesfuerzo de control innecesario.

La acción integral es proporcional a la integral del error del sistema :

$$K_i = K_i * \int_0^t e(t) . dt \dots (b)$$

La acción integrativa está relacionada principalmente con los valores pasados del error, teniendo como función de transferencia:

$$G(s) = \frac{K_i}{s} \dots (c)$$

La presencia de un polo en el origen del plano complejo, permite la reducción a cero del error en estado estable ante perturbaciones/ cambios del sistema.

El control PI permite eliminar la presencia de respuestas oscilatorias, que aparecen al usar un control ON-OFF. Asimismo elimina el error en estado estable, superando la acción que pueda realizar un control proporcional puro.

Finalmente la acción derivativa está basada en los valores futuros de error en el sistema, siguiendo la ley de control:

$$u(t) = K_D * (e(t))/dt \dots (d)$$

Esta acción cumple la función de predecir el valor de error en un tiempo  $(t+T_d)$ , lo cual permite conocer el valor futuro del error, y realizar una acción para contrarrestarlo. Además de ello, la acción derivativa nos proporciona una respuesta más rápida de la variable de control. La principal desventaja de esta acción es la tendencia a aumentar el ruido que existe en la variable manipulada, lo cual tiende a afectar al actuador del sistema.

En base a estas características, y tomando en cuenta que al trabajar a altas temperaturas la presencia de ruido puede interferir en el sistema, vemos que el control PI es suficiente para elaborar el algoritmo de control. A esto se suma que los procesos de aumento y disminución de temperatura no requieren de una alta velocidad, lo cual permite dejar de lado el uso de la acción derivativa. Finalmente se enuncia la ley de control digital del controlador PI [29]:

$$u(t) = u(t-1) + K_P (e_t - e_{t-1}) + \frac{K_P * T_s}{T_I} * \sum_{k=0}^n e(t) \dots (6)$$

Una vez definido el tipo de control a emplear, es necesario definir un modelo matemático del sistema para poder implementar el controlador PI establecido.

### 3.1.5.- Cálculo de los parámetros de control del sistema:

Una vez obtenido el modelo matemático del actuador a emplear en nuestro sistema de control, se debe obtener los valores teóricos adecuados para hallar posteriormente los parámetros de control correspondientes. De acuerdo a la ecuación 3.2.14 se requieren los siguientes parámetros:

- Temperatura promedio ( $T$ ).
- Coeficiente de Seebeck ( $\alpha$ ).
- Resistencia Térmica del/ de los dispositivo/s a utilizar ( $R_{TH}$ ).
- Temperatura de la cara caliente ( $T_C$ ).
- Valor de la capacitancia térmica másica ( $C_F$ ).

Para el cálculo teórico de algunos de estos valores, se hace uso de las “Notas de Aplicación para Dispositivos Termoeléctricos” de la empresa MELCOR (ver Anexo B). Esto debido a que este fabricante ofrece dispositivos termoeléctricos de similares características a los dispositivos de la empresa TETECH, y además la información técnica se obtuvo de manera gratuita. A continuación se muestran las

formulas a utilizar y sus valores correspondientes dependiendo del proceso a evaluar:

Temperatura promedio ( $T$ ):

$$T = 1/2 (T_c + T_f)$$

$T_f$  = Temperatura lado frío.

$T_c$  = Temperatura lado caliente.

Coeficiente de Seebeck ( $\frac{\text{Volts}}{^\circ\text{K}}$ ):

$$\alpha = (\alpha_0 + \alpha_1 T + \alpha_2 T^2) * 10^{-9} \frac{\text{volts}}{^\circ\text{K}}$$

$$\alpha_0 = 22224.0$$

$$\alpha_1 = 930.6$$

$$\alpha_2 = -0.9905$$

Conductividad térmica ( $\kappa$ ):

$$\kappa = (\kappa_0 + \kappa_1 T + \kappa_2 T^2) * 10^{-8} \frac{\text{watt}}{\text{cm} \cdot ^\circ\text{K}}$$

$$\kappa_0 = 5112.0$$

$$\kappa_1 = 163.4$$

$$\kappa_2 = 0.6279$$

Conductancia térmica del dispositivo ( $K$ ):

$$K = 2\kappa NG \text{ Watts}/^\circ\text{K}$$

N: Número de pares termoeléctricos

G: Factor geométrico (1/cm.)

Resistencia térmica del dispositivo  $R_{th}$ :

$$R_{th} = 1/K \text{ (}^\circ\text{K/Watts)}$$

Para el sistema de dos celdas peltiers, de acuerdo a la figura 3.7a, la configuración de resistencias se hallaría en paralelo, siendo la resistencia térmica resultante:

$$R_{th} = (R_1/h2 /2) \text{ (}^\circ\text{K/Watts)}$$

Capacitancia térmica másica ( $C_F$ ):

Masa del dispositivo (g)  $\approx$  16g

Capacidad calorífica (J/kgK)  $\approx$  0,123

$$C_F = 1.968 \frac{J}{^\circ K} \text{ (Capacidad de cada dispositivo peltier)}$$

Dado que el actuador a emplear consiste en un arreglo de 2 dispositivos peltier, y de acuerdo a la configuración mostrada en la figura 3.7a vemos que las capacitancias de ambos peltiers se encuentran en paralelo, por tanto:

$$C_F = 3.936 \frac{J}{^\circ K} \text{ (Capacidad de de ambos peltiers)}$$

Una vez obtenido el cálculo de estos parámetros, y en base la ecuación 3.2.15 se procede a hallar la función de transferencia del actuador de cada etapa del proceso de PCR: Etapa de Desnaturalización, Etapa de Hibridación, Etapa de Elongación, así como las etapas correspondientes a repeticiones del ciclo:

Etapa de Desnaturalización:

G=0.040

$T_C = 368^\circ\text{K}$

$T_F = 298^\circ\text{K}$

$\tau = 333 \text{ }^\circ\text{K}$

(3.5.1)

$$\alpha = 0.000222 \frac{\text{volts}}{^\circ\text{K}}$$

$$\kappa = 0.01599 \frac{\text{Watts}}{\text{cms} - ^\circ\text{K}}$$

$R_{th2} = 390.869 \text{ }^\circ\text{K/Watts}$

$$F_{1(s)} = \frac{15.966}{781.385s + 1} \dots$$

3.5.1: Función de Transferencia de etapa 1.

Etapa de Hibridación:

$$T_C = 368^{\circ}K$$

$$T_F = 333^{\circ}K$$

$$\tau = 350.5 \text{ }^{\circ}K$$

$$\alpha = 0.000226 \frac{\text{volts}}{^{\circ}K}$$

$$\kappa = 0.0139 \frac{\text{Watts}}{\text{cms} - ^{\circ}K}$$

$$R_{cha} = 390.625 \text{ }^{\circ}K/\text{Watts}$$

$$F_{2(s)} = \frac{16.243}{781.385S + 1}$$

3.5.2: Función de Transferencia de etapa 2.

Etapa de Elongación:

$$T_C = 345^{\circ}K$$

$$T_F = 333^{\circ}K$$

$$\tau = 339 \text{ }^{\circ}K$$

$$\alpha = 0.000223 \frac{\text{volts}}{^{\circ}K}$$

$$\kappa = 0.0130 \frac{\text{Watts}}{\text{cms} - ^{\circ}K}$$

$$R_{cha} = 390.869 \text{ }^{\circ}K/\text{Watts}$$

$$F_{3(s)} = \frac{15.03}{781.385S + 1}$$

3.5.3: Función de Transferencia de etapa 3.

Etapa de Elongación Ciclo>2 (72° a 95°C):

$$T_C = 368^{\circ}K$$

$$T_F = 345^{\circ}K$$

$$\tau = 356.5 \text{ }^{\circ}K$$

$$\alpha = 0.00022809 \frac{\text{volts}}{^{\circ}K}$$

$$F_{4(s)} = \frac{16.286}{763.690S + 1}$$

3.5.4: Función de Transferencia de una etapa posterior.

$$\kappa = 0.016106 \frac{\text{Watts}}{\text{cms} - ^\circ K}$$

$$R_{\text{cha}} = 388.054 \text{ } ^\circ K/\text{Watts}$$

Etapas de Conservación (72°C a 4°C):

$$T_C = 345^\circ K$$

$$T_F = 277^\circ K$$

$$\tau = 311 \text{ } ^\circ K$$

$$F_{s(s)} = \frac{14.370}{759.726s + 1}$$

$$\alpha = 0.0002158 \frac{\text{volts}}{^\circ K}$$

3.5.5: Función de Transferencia de una etapa posterior.

$$\kappa = 0.01619 \frac{\text{Watts}}{\text{cms} - ^\circ K}$$

$$R_{\text{cha}} = 386.040 \text{ } ^\circ K/\text{Watts}$$

Adicionalmente a la función de transferencia del actuador, se debe este mismo bloque para la bandeja de plata. En este caso consideraremos un retraso de conducción de calor de aproximadamente 800ms, este valor se obtuvo en base a las distintas pruebas realizadas a la celda peltier a emplear junto con la bandeja de plata que se viene utilizando para el proyecto. Finalmente, la figura 3.6 muestra el lazo de control del sistema completo:

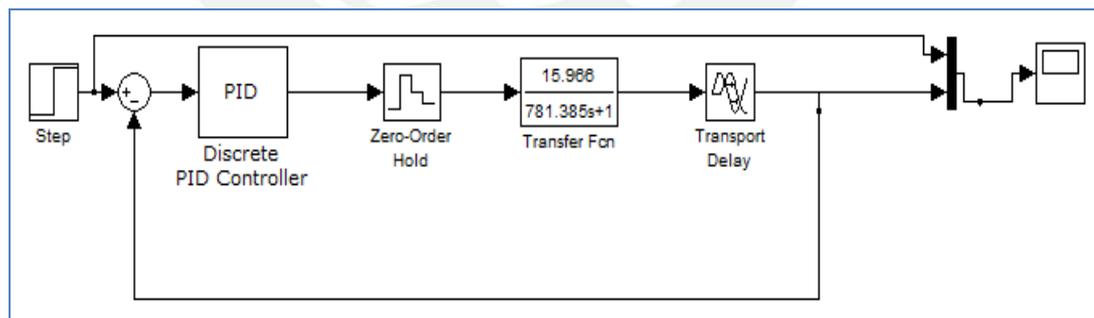


Figura 3.6: Lazo de control general del sistema dado una función de transferencia.

### 3.2 Rediseño de la interfaz de usuario:

En esta etapa, se hará una revisión de la interfaz de usuario implementado en un inicio, para luego realizar las mejoras correspondientes.

La interfaz de usuario implementada para la programación del proceso, constituye en una pantalla LCD y un teclado matricial, como se aprecia en la figura 3.7 y 3.8 correspondientemente.



Figura 3.7: Teclado matricial [11].

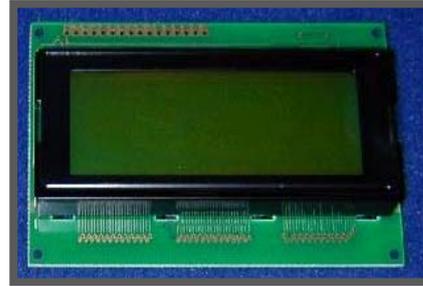


Figura 3.8: Pantalla de cristal líquido de 4 x 20

A continuación se detallan algunas características de esta etapa, así como las observaciones encontradas:

- La pantalla LCD de 4 x 20 caracteres permite solo el ingreso de los datos de configuración: temperaturas de trabajo y tiempos. Asimismo, la única forma de verificación del proceso es observando el valor de temperatura que se aprecia en la pantalla durante el proceso.
- Si bien la pantalla permite una configuración y supervisión sencilla del proceso, si la comparamos con equipos comerciales de termociclador, resulta una interfaz desactualizada, pues limita en varios aspectos el control del usuario sobre el sistema.

Ante estas observaciones realizadas de la interfaz, se proponen dos formas de optimizar la interfaz actual, una pantalla LCD Gráfica y una computadora personal:

Tabla 3.4: Tabla comparativa entre tipos de interfaces con el usuario

Interfaz	PANTALLA LCD GRAFICA	COMPUTADOR PERSONAL
	ATM12864D	SOFTWARE VISUAL BASIC
Consumo de energía	Bajo	Depende tipo de PC
Programación	Compleja	Fácil aprendizaje
Costo	Alto	Software gratuito. costo de PC depende del tipo
Protocolo de Comunicación	IC	RS232

Elaboración propia.

Para el desarrollo de la interfaz de usuario del prototipo del termociclador, vemos que aparte de la ventaja que nos ofrece la PC en facilidad de programación, el uso de un software en la PC nos brinda la posibilidad de añadir más características al producto final, entre los que destacan:

- Interfaz más amigable con el operario, pudiéndose ver en tiempo real y a través de un gráfico, el desarrollo del proceso de PCR.
- Mayor capacidad de procesamiento de datos, pudiendo realizar operaciones en punto flotante para la etapa de control.
- Posibilidad de almacenar los datos obtenidos para exportarlos posteriormente a gráficas u cuadros de Excel para análisis futuros.

Adicionalmente a las ventajas antes detalladas, el empleo de un software en la PC sirve como base para el desarrollo de nuevas técnicas para la realización del proceso de PCR, PCR en tiempo real. Los equipos comerciales que emplean esta técnica poseen un software dedicado para PC, que les permite al final obtener muestras replicadas de mejor calidad en intervalos de tiempo menores [12]. En base a estas razones, y dado que se ha realizado proyectos previos empleando el lenguaje de programación de alto nivel Visual Basic 6.0, se opta finalmente por diseñar el hardware de comunicación según protocolo RS232, así como el software de control de temperatura e interfaz con el usuario en la PC utilizando lenguaje de programación de alto nivel Visual Basic 6.0.

### 3.2.1.- Diseño de hardware para la comunicación con la PC:

A continuación se muestra el diagrama esquemático de la etapa de comunicación con la PC implementada en la figura 3.9:

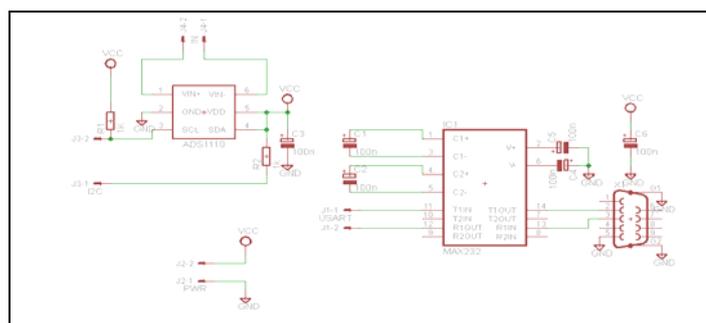


Figura 3.9: Diagrama esquemático de la comunicación serial.

Como principal elemento para la comunicación, se utilizó el integrado MAX232 para la salida de la data a través de conector DB9 por su facilidad de adquisición. La figura 3.10 muestra una imagen tomada del hardware implementado:

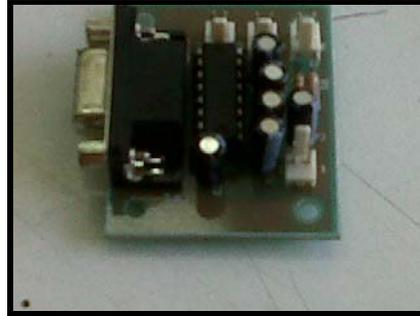


Figura 3.10: Circuito de comunicación con la PC.

Finalmente, se muestra en las figuras 3.11 y 3.12, los diagramas de flujos de los procesos implementados en el microcontrolador y en la PC, utilizando el lenguaje Assembler y el lenguaje de alto nivel de Visual Basic 6.0, respectivamente.

### **3.2.2.- Diagrama de flujo del proceso implementado en el microcontrolador:**

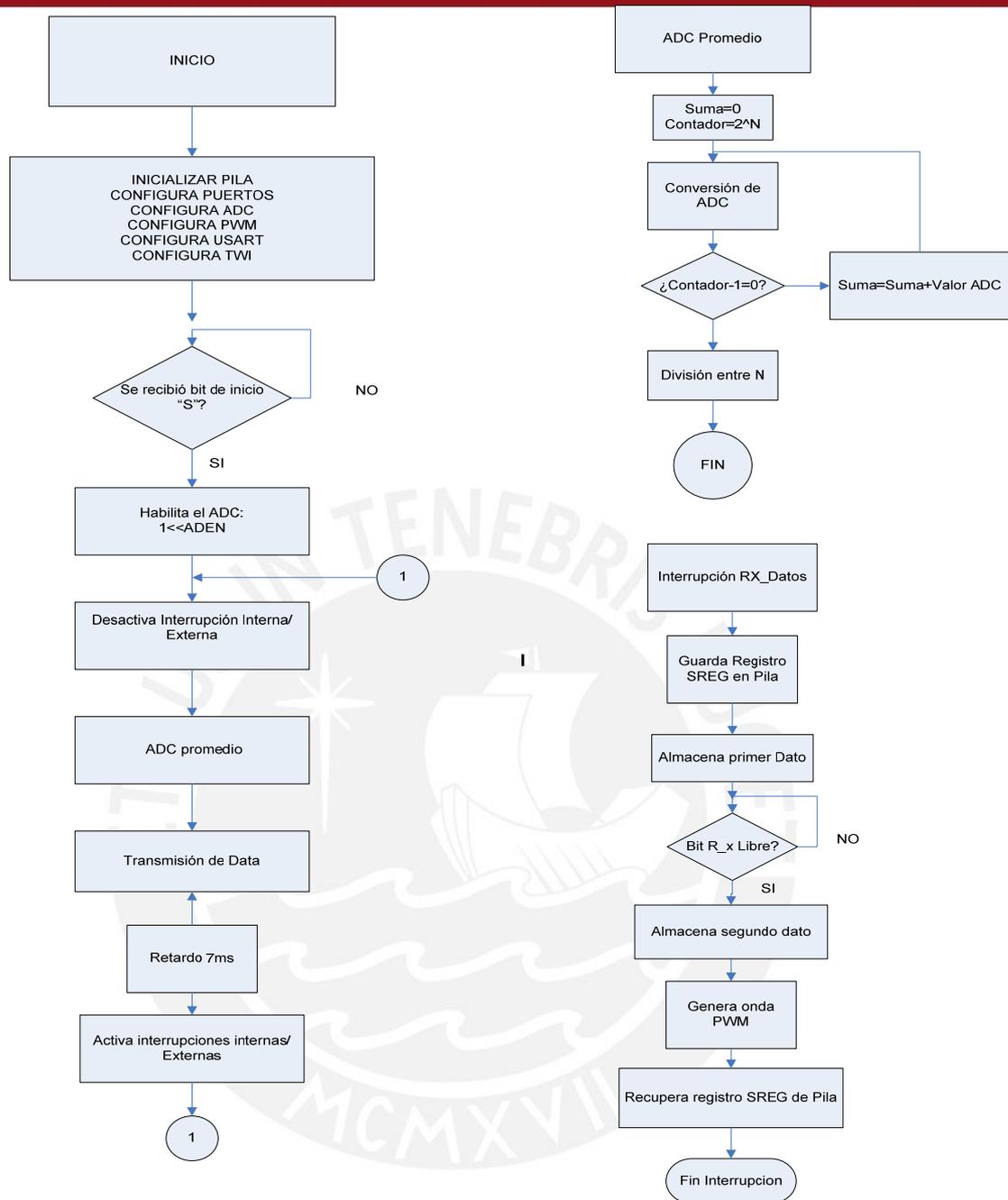
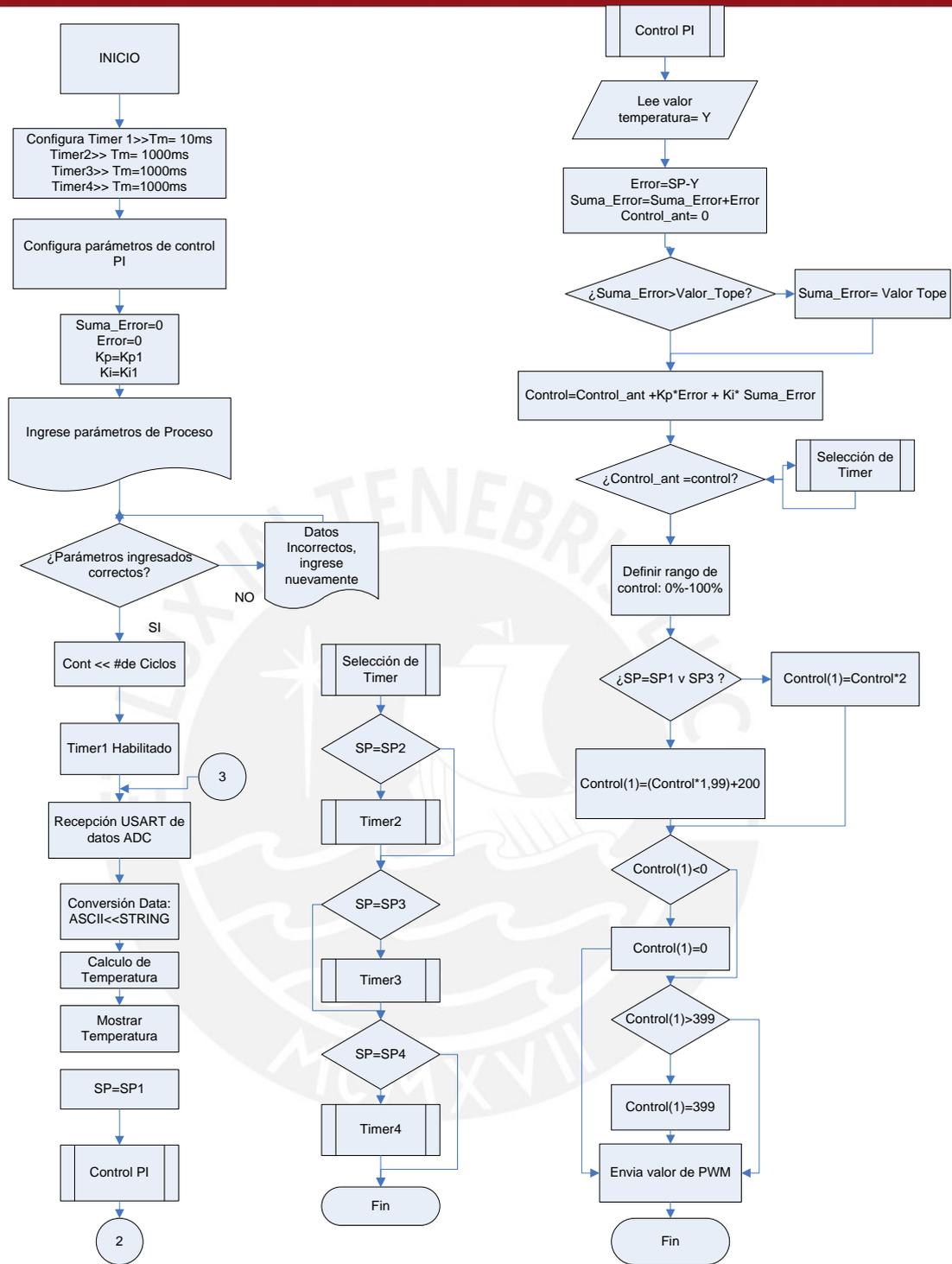


Figura 3.11: Diagrama de flujo de las etapas de conversión análoga digital del microcontrolador, el promedio de una toma de valores y su posterior comunicación con la PC para el procesamiento. Además el proceso incluye la interrupción por recepción de datos de control para la posterior generación de onda PWM.

**3.2.3.- Diagrama de Flujo del proceso de control implementado en la PC:**



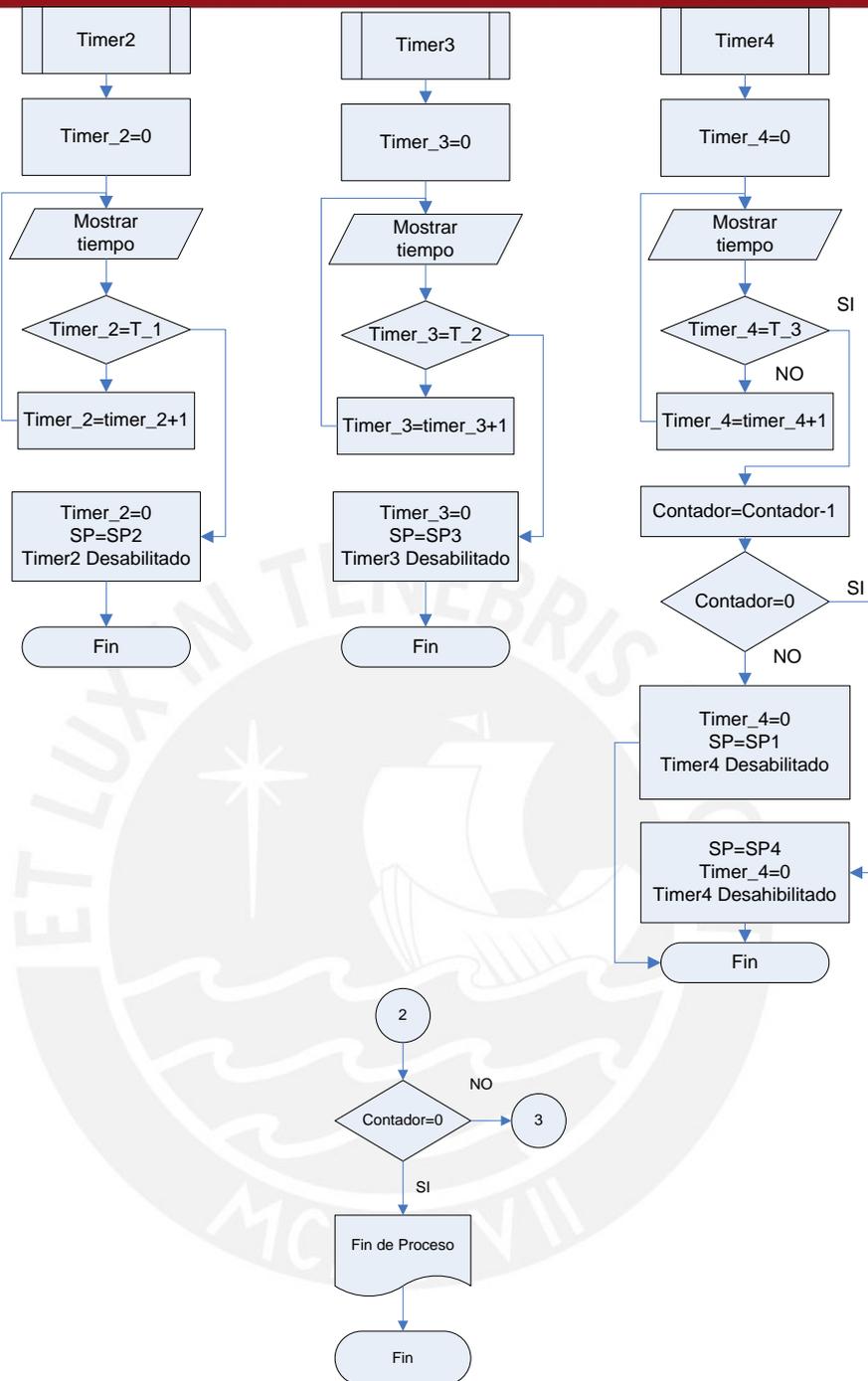


Figura 3.12: Diagrama de flujo del proceso de control PI implementado en el programa Visual Basic 6.0. Posee como entrada la señal del ADC enviado por el microcontrolador, cuyo valor ingresa al lazo de control PI. La salida generada es enviada por USART hacia el Atmega8 para finalmente general la señal de control.

## Capítulo 4

### Simulaciones y resultados

En este capítulo, se muestran las pruebas de funcionamiento realizadas del sistema de control diseñado, en conjunto con la interfaz de usuario implementada en la PC. En un principio se realizó la verificación de la obtención de datos de temperatura en el peltier. A continuación, se hicieron las pruebas del modelo matemático obtenido en el punto 3.2.5 del capítulo 3. Posteriormente, se realizó la simulación del control de temperatura diseñado. Finalmente se realizaron las pruebas de la generación de la señal de control hacia el bloque de potencia (onda PWM). Todas estas pruebas se hicieron empleando el hardware de sensado de temperatura implementado en etapas anteriores del proyecto y sin contar con un circuito de potencia dedicado.

#### 4.1.- Verificación de la obtención de datos de temperatura:

Para el desarrollo de estas pruebas, se empleó como termómetro de referencia el termómetro digital de precisión TECHNE modelo 4440 (calibrado), cuya imagen se aprecia en la figura 4.1; la tabla 4.1 muestra las principales características del equipo.



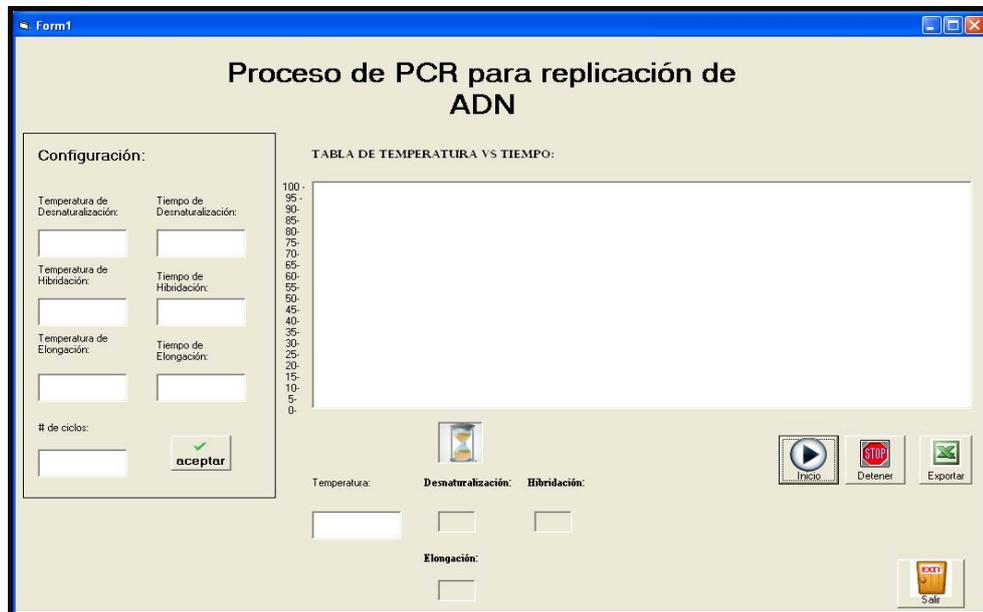
Figura 4.1: Imagen del termómetro digital TECHNE 4400.

Tabla 4.1: Características del termómetro digital TECHNE modelo 4400

Característica	Valor
Rango de medición	4°C a 100°C
Precisión	0.015 °C
Tiempo de muestreo	500ms

Elaboración: William Angeles [24].

Para realizar las pruebas de adquisición de valores de temperatura, se utilizó la interfaz de usuario elaborada en la PC a través del programa Visual Basic 6.0 cuya ventana principal se muestra en la figura 4.2:



*Figura 4.2: Ventana de trabajo elaborado en Visual Basic 6.0*

Esta ventana de trabajo facilitó, además de la configuración de parámetros del proceso y visualización en tiempo real del mismo, la posibilidad de almacenar en memoria los valores de temperatura sensados para luego poder exportarlos a un archivo de Excel para los análisis correspondientes.

Empleando estas herramientas se realizó una serie de tomas de temperatura de la celda peltier desde en conjunto con el hardware de control y comunicación con la PC implementado en un rango de 21°C a 72°C. Para la elaboración de la gráfica comparativa se utilizó la herramienta cftool del programa MATLAB 2010. Se muestra en la figura 4.4 una gráfica de los valores ideales y reales sensados respectivamente:

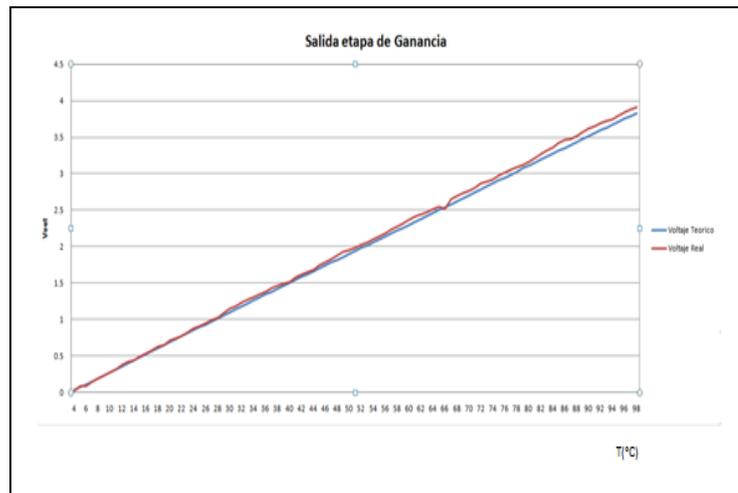


Figura 4.3: Gráfica de T vs Voltaje del diseño inicial. [24]

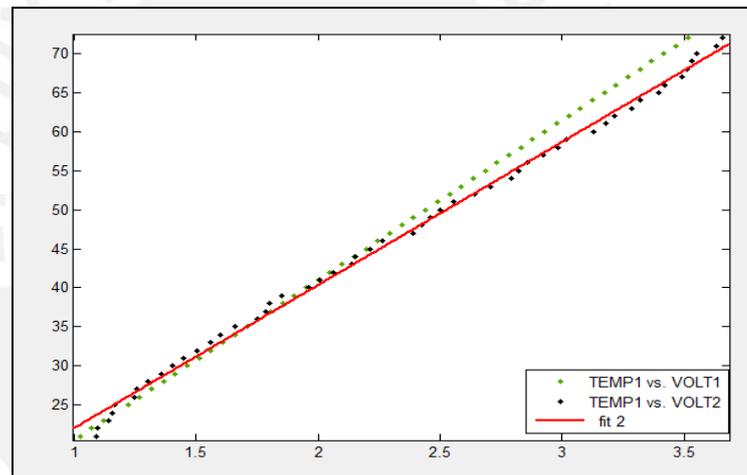


Figura 4.4: Gráfica de T vs voltaje. Se muestran los valores de temperatura Real (color morado) [11], los valores ideales (color verde) y una recta ideal de los valores sensados (color rojo).

La figura 4.4 comprueba que los valores reales obtenidos para el proceso de control, luego del proceso de digitalización y transmisión hacia la PC, son similares a los ideales calculados mediante la fórmula perteneciente a la etapa de sensado obtenidos por Zegarra y Ponce [11], siendo en promedio el error aproximadamente de  $\pm 0.0546^{\circ}\text{C}$ . Se puede apreciar que a medida que la temperatura aumenta, la diferencia entre la temperatura ideal y la real se hace más apreciable. Esto se debe a una serie de factores, como las distintas perturbaciones externas que existentes en el ambiente, algún posible error durante la transmisión de datos o mala disposición del sensor de temperatura en la bandeja de plata. Pese a estos errores,

vemos que la respuesta es similar e incluso más precisa (aprox. 4%) que los valores reales hallados en etapas previas de la investigación [24] (figura 4.3).

#### 4.2 .- Pruebas del modelo matemático obtenido:

Previo a realizar las simulaciones del sistema, se buscó la forma de comprobar de manera experimental la validez del modelamiento matemático teórico obtenido. Se realizó una prueba del sistema en lazo cerrado, y dado que aún no se cuenta con la etapa de potencia implementada, se buscó la forma de generar un aumento progresivo de voltaje hacia la celda peltier que significase una rampa de temperatura positiva. Para ello se utilizó una fuente de poder de la sección de Ingeniería Electrónica cuya imagen se aprecia en la figura 4.5:



Figura 4.5: Fuente de Poder con voltaje regulable.

La fuente empleada posee una salida de voltaje regulable con valores máximos de 15v y 8 A. Tomando en cuenta esta información, se utilizó las curvas del modelo de celda peltier proporcionado por el fabricante TeTech [30], para conocer la diferencia de temperatura a presentarse entre ambas caras del dispositivo termoeléctrico ante un voltaje y corriente suministrado. Dicha curva se muestra en la figura 4.6:

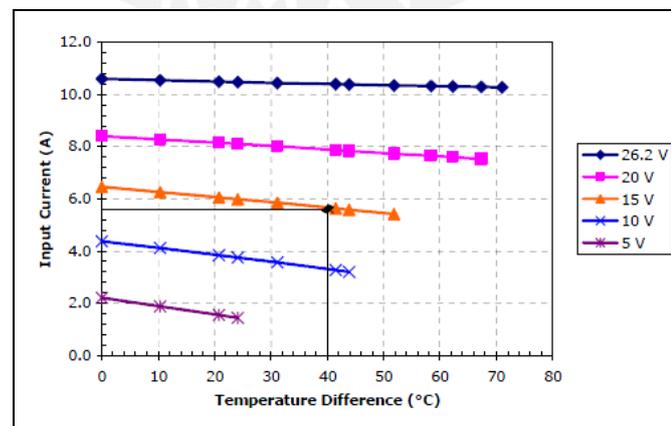


Figura 4.6 Curva  $I$  vs  $\Delta T(^{\circ}C)$  [30] tomando como temperatura en lado caliente de  $50^{\circ}C$ .

En base a esta gráfica, se eligió trabajar a 15V y 5.6 A aprox. alcanzando una temperatura en lado caliente de 50 ° C y en el lado frío de 10 ° C. Una vez conocido los valores de temperatura a obtener, se obtuvo a través de la herramienta Simulink la respuesta a la salida del sistema, empleando una ganancia proporcional como bloque de control  $k_c=3$  para obtener una respuesta más rápida del sistema (ver figura 4.7). Empleando la interfaz mostrada en la figura 4.2, la señal de control a la salida del pin OC1A del Atmega8 para aumentar o disminuir el voltaje y corriente entregado hacia el peltier, se logra obtener de la respuesta del sistema en lazo cerrado de manera experimental. Las figuras 4.8 y 4.9 muestran las respuestas ideales y reales, respectivamente.

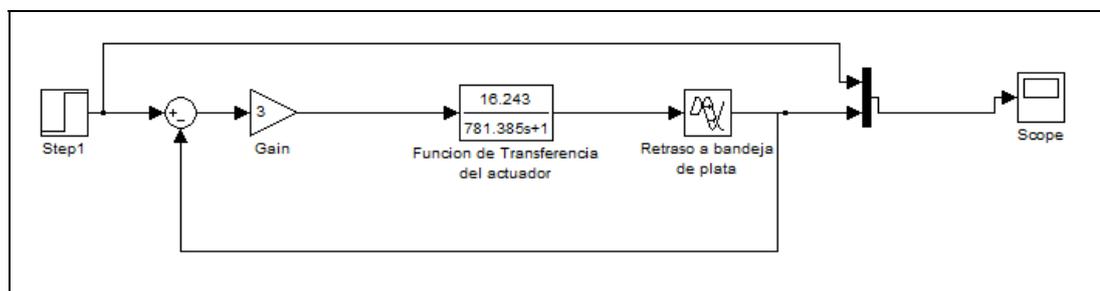


Figura 4.7: Lazo cerrado de control

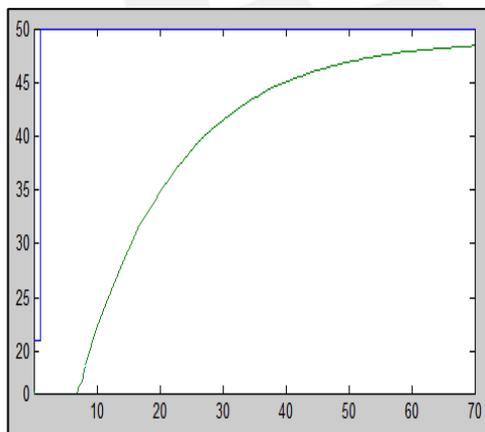


Figura 4.8: Curva T vs tiempo.

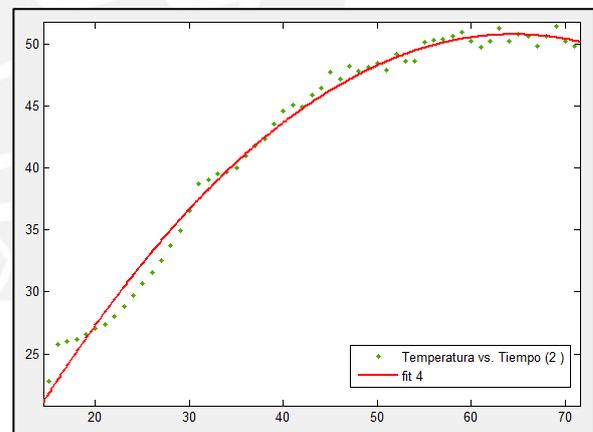


Figura 4.9: Curva T vs tiempo.

En la figura 4.9 se aprecia la respuesta ideal ante un escalón de 21 a 50°C empleando el modelo matemático obtenido, mientras que en la figura 4.8 empleado el hardware con el que se contó para las pruebas se aprecia la respuesta ante el mismo escalón. Se puede observar un sobreimpulso en la gráfica real, así como valores de temperatura oscilantes, esto puede deberse a factores como una lectura incorrecta por parte del sensor, y principalmente que las pruebas se hicieron

variando el nivel de voltaje y corriente de la fuente basada en el duty cycle de la señal de salida. Si bien una prueba más exacta se hubiese obtenido empleando el hardware de potencia, ante el incorrecto funcionamiento del mismo se tuvo que buscar otra forma para la experimentación, la cual consistió en emplear una fuente de voltaje regulable que cumpla los voltajes y corrientes necesarios (15 V- 6A). Pese a las diferencias antes expuestas, el sistema responde de manera similar a la simulación empleando el modelo matemático hallado, por tanto es factible el uso de este para el diseño del controlador.

#### 4.3.- Simulación del control de temperatura diseñado:

Para la simulación de la respuesta de la señal de control frente a los valores de temperaturas deseados en cada etapa, se utilizó la herramienta el software MATLAB 2010, siendo Simulink la principal herramienta que se utilizó de este programa. Simulink nos permite simular distintos procesos de control, obtener los parámetros de control y visualizar la respuesta del sistema a través de un entorno gráfico. Dado que se obtuvieron una serie de funciones de transferencia para el actuador del sistema en cada etapa, se evaluará cada uno de estas en sistemas de control individuales.

##### Etapa de Desnaturalización ( $T < 95^{\circ}\text{C}$ ):

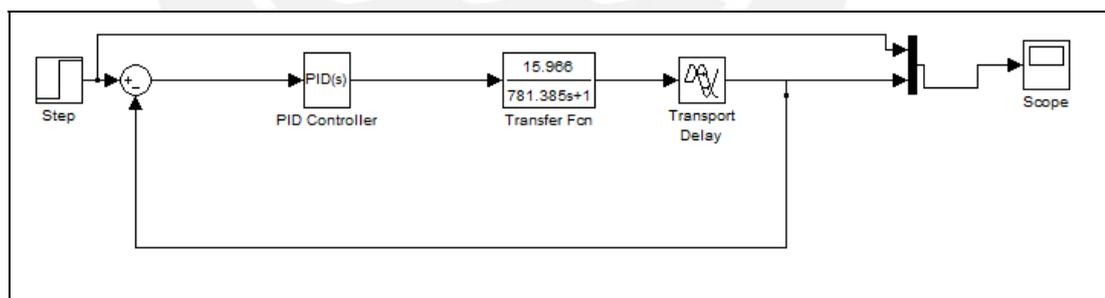


Figura 4.10 Lazo de control de la etapa de Desnaturalización.

En la figura 4.10 se muestra el lazo de control incluyendo la función de transferencia obtenida para el actuador (celdas peltiers) en la etapa de Desnaturalización. Para observar la respuesta de control se utilizó como entrada un escalón teniendo como valor tope el valor de SP propio de esta etapa, siendo el valor de  $95^{\circ}\text{C}$  el valor a utilizarse. Dado que el controlador empleado fue un controlador PI, se realizó un método de sintonización, siendo el método de Ziegler-

Nichols en lazo cerrado el más apropiado en este caso, dado que tenemos la respuesta deseada [30].

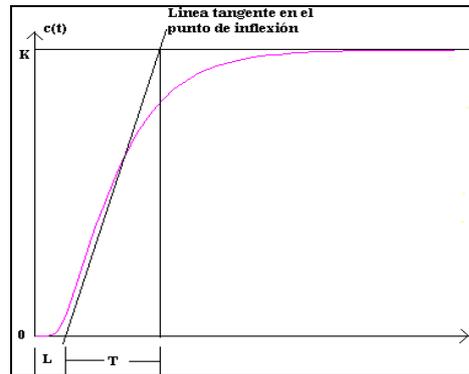


Figura 4.11: Método de sintonización Ziegler-Nichols en lazo cerrado [31].

Tabla 4.2: Tabla para el cálculo de variable del controlador

Tipo de controlador	$K_p$	$T_i$	$T_d$
P	$\frac{T}{L}$	$\infty$	0
PI	$0.9 \frac{T}{L}$	$\frac{L}{0.3}$	0
PID	$1.2 \frac{T}{L}$	$2L$	$0.5L$

Elaboración: Katsuhiko, Ogata [31].

Una vez realizado el método antes mostrado, se realizó una serie de cambios para obtener finalmente una respuesta de la salida acorde a los parámetros deseados. Finalmente se obtuvieron los valores teóricos de  $K_p$  y  $K_i$  de 4.70 y 0.0045, respectivamente.

Para asegurarnos de un correcto funcionamiento del lazo de control, se debe exponer al mismo a posibles perturbaciones. La figura 4.12 muestra el sistema incluyendo posibles perturbaciones externas.

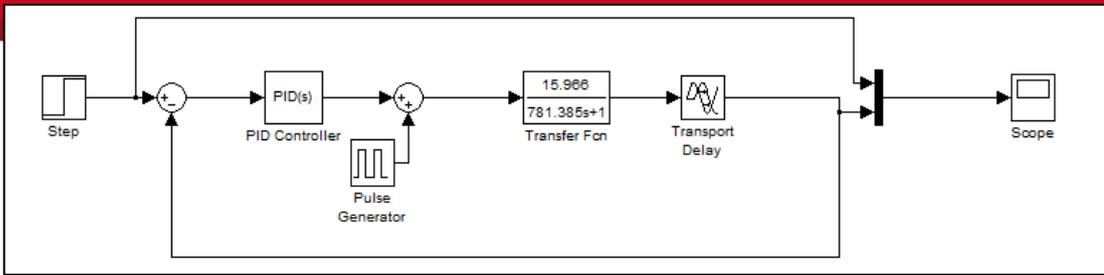


Figura 4.12 Lazo de control del sistema que incluye perturbación externa.

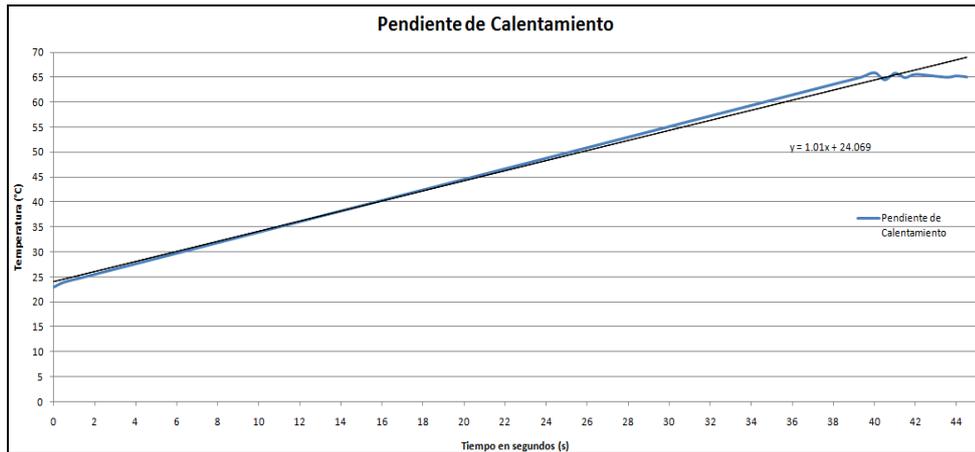
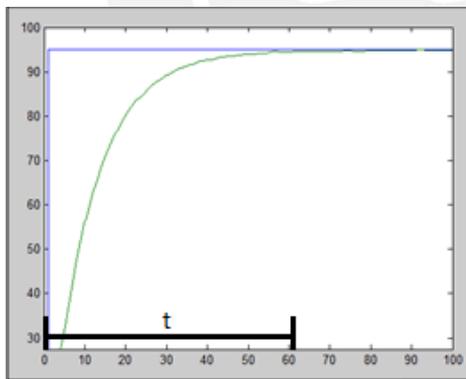


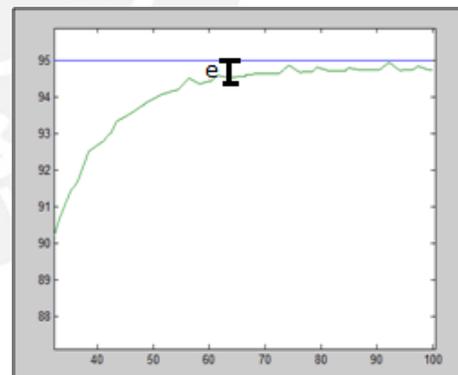
Figura 4.13: Etapa inicial del ciclo de PCR [24].

T (°C)



t (s)

T (°C)



t (s)

Figura 4.14.1: T vs t

Figura 4.14.2 (vista ampliada de la figura 4.12.1).

Las gráficas 4.14.1 y 4.14.2 muestran las respuestas del sistema ante perturbaciones externas, principalmente el ruido que se pueda acoplar a la salida de la señal de control. Vemos que el tiempo de establecimiento no ha variado, lo cual permite obtener una rampa de aumento de temperatura de aprox. 1.25°C/s. El

valor en estado estable se ve afectado ante la perturbación, pero valor final se encuentra todavía dentro de los parámetros admitidos ( $\pm 0.5 \frac{C}{s}$ ).

En esta etapa, se aprecia de forma clara la mejora frente a los resultados obtenidos con el hardware de control implementado inicialmente, el cual empleó un Atmega 8 como unidad central [24]. De forma cuantitativa, la figura 4.13 muestran una variación de temperatura de 1°C/s, mientras que el sistema de control implementado nos da 1.25°C/s. Asimismo, el sistema implementado inicialmente no responde ante sobreimpulsos, obteniéndose valores oscilantes. Estos errores se ven reducidos con el nuevo lazo de control rediseñado ( $e < 4.9\%$ ).

Etapa de Hibridación ( $T < 60^{\circ}C$ ):

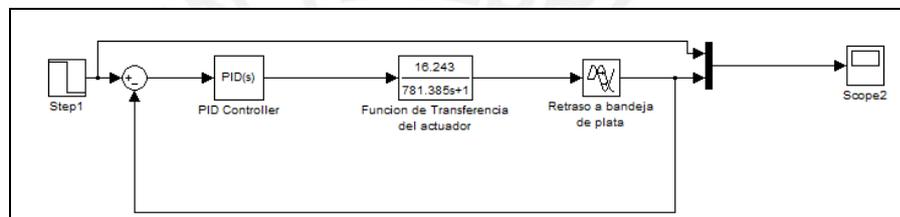


Figura 4.15: Lazo de control de la etapa de Hibridación.

La figura 4.16 muestra la etapa de hibridación del sistema; esta se caracteriza por un enfriamiento de la bandeja de plata hasta alcanzar la temperatura configurada para el inicio de la etapa de Annealing o Hibridación Siguiendo el mismo método para la obtención de los parámetros del controlador y la sintonización empleados en la etapa de desnaturalización, se obtiene un  $K_p$  de 4.90 y un  $K_i$  de 0.00443. Para la simulación de esta etapa se empleó como entrada un escalón negativo de 95 a 60. El lazo de control a simular se muestra en la figura 4.15:

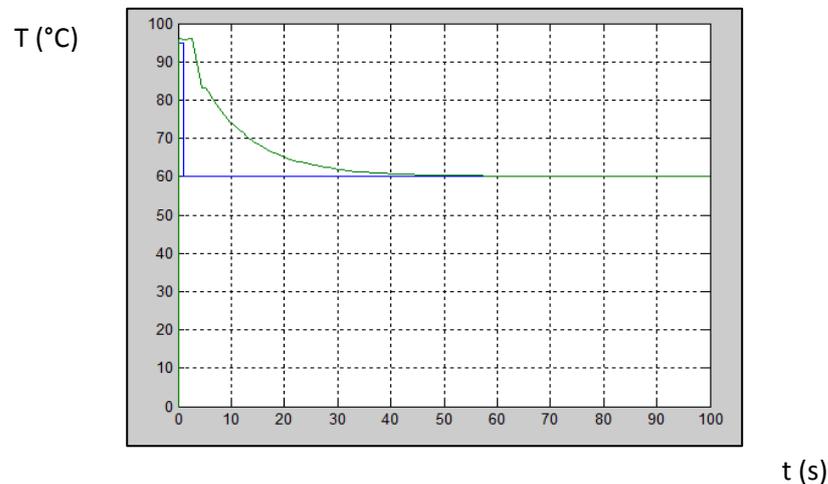


Figura 4.16: Respuesta a un escalón negativo.

Se observa en la figura 4.16 el cambio de la variable manipulada ante un valor de bajada de temperatura programado. Al igual que la etapa anterior, esta posee un tiempo de respuesta cercano a 32 segundos, lo cual asegura una rampa de temperatura negativa de valor cercano al parámetro establecido (aprox.  $-1.2^{\circ}\text{C/s}$ ) (figura 4.15.1) y una temperatura en tiempo estable con un error menor a  $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  . (Figura 4.15.2).

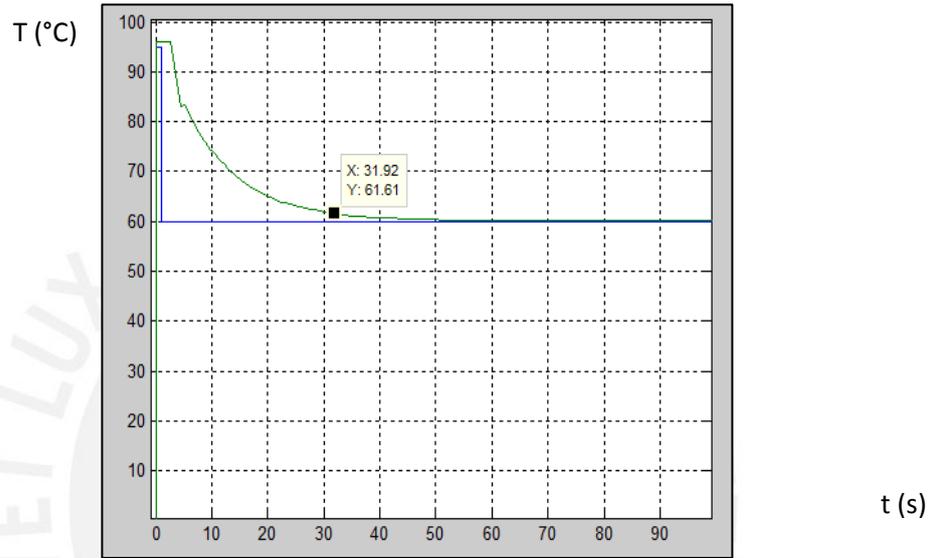


Figura 4.15.1: Tiempo de establecimiento para la etapa de Hibridación (t).

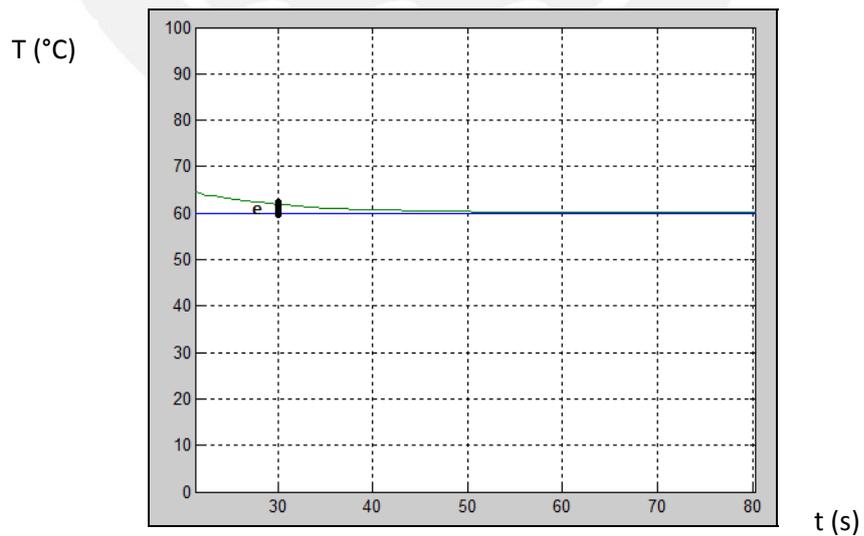


Figura 4.15.2: Error en estado estable de la variable manipulada (e).

Etapa de Elongación ( $T \ll 72^{\circ}\text{C}$ ):

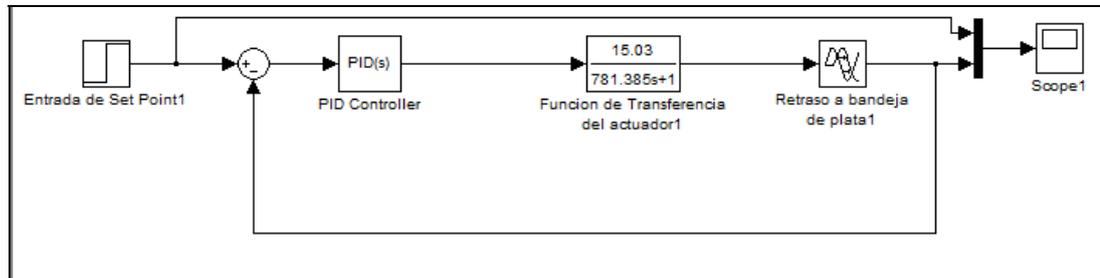


Figura 4.16: Lazo de control de la etapa de Elongación.

Finalmente, la última etapa del proceso de PCR corresponde a la etapa de elongación. La figura 4.16 muestra el lazo de control empleado para simular la respuesta ante un escalón positivo. Previo a esta simulación se obtuvo, de forma similar a las etapas de Desnaturalización e Hibridación, los coeficientes del controlador PI. Los valores finales fueron  $K_p$  de 8.15 y  $K_i$  de 0.0042. La respuesta final se observa en la figura 4.17, y en las figuras 4.18.1 y 4.18.2 se muestran los resultados obtenidos con respecto a los requerimientos.

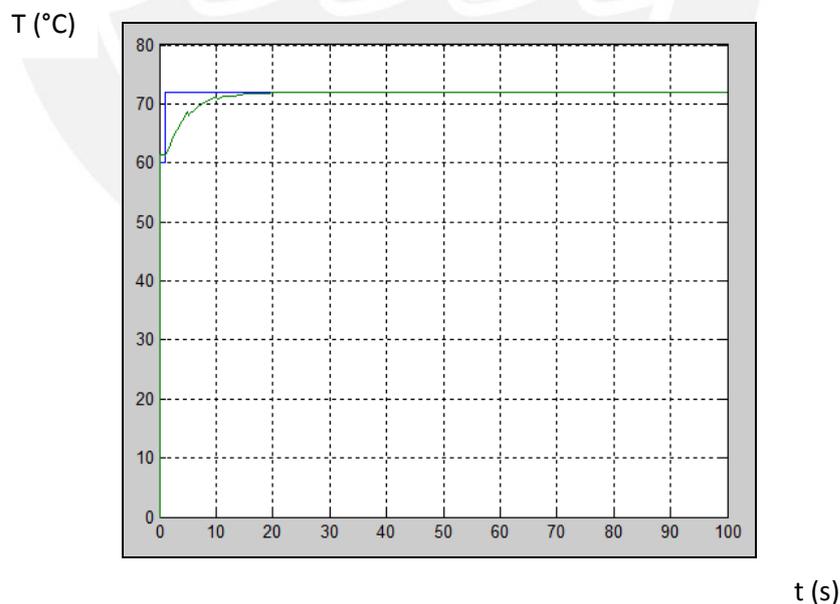
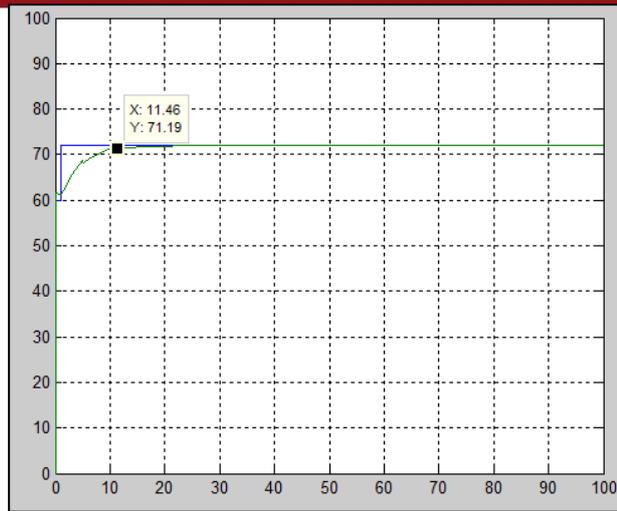


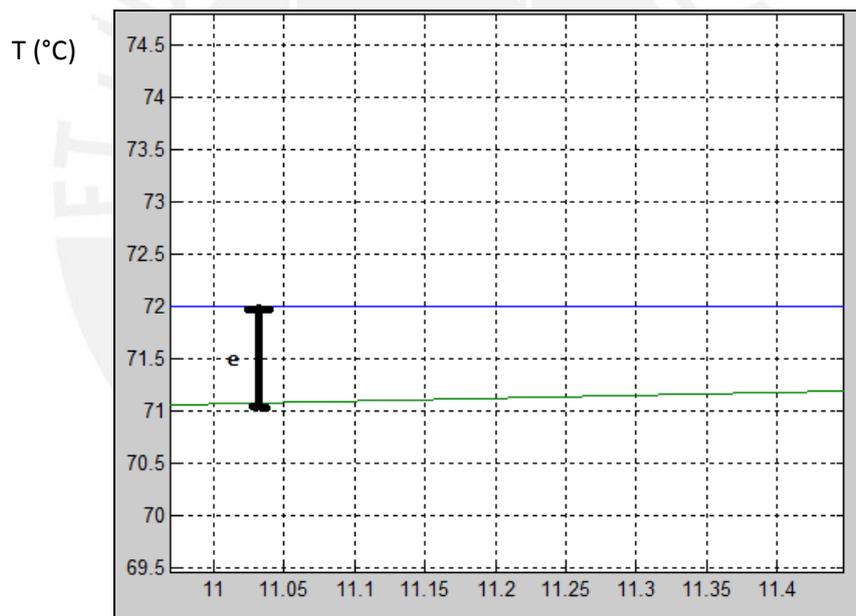
Figura 4.17: Respuesta a escalón del lazo de control para la etapa de Elongación.

T (°C)



t (s)

Figura 4.18.1: Tiempo de establecimiento hasta alcanzar el valor deseado (t).



t (s)

Figura 4.18.2: Error en estado estable de la variable manipulada e (Vista ampliada de figura 4.17).

En base a la figura 4.18.1 y 4.18.2 vemos que el control nos permite alcanzar un valor aproximado al deseado, siendo la variación en estado estable de -0.8%. Sin embargo el tiempo de estado transitorio no permite obtener una rampa de temperatura de 1.3°C/s, siendo el valor obtenido el de aprox. 1.09°C/s. Este control se podrá mejorar a la hora de la implementación, mediante ensayos de prueba y error.

#### 4.4.- Pruebas de la generación de señal de control (PWM):

Para las pruebas de la etapa de control, se emplearán los coeficientes del controlador PID obtenidos a través de las simulaciones antes mostradas. La ecuación discreta a emplear para el control PID es la ecuación 4.4.1:

$$u(k) = u(k-1) + K_p * (e(k) - e(k-1)) + K_I * e(k)T \quad \text{.. Ec. 4.4.1}$$

Para esta ecuación, el período de muestreo a emplear será de 50 ms, cuyo valor se obtuvo basado a la respuesta del sistema deseado y en los intervalos de tiempo necesarios para realizar el procesamiento y obtener la señal de control. Asimismo, para la generación de la onda PWM que representa la señal de control hacia el actuador, se debe definir previamente la frecuencia de trabajo.

Según el fabricante del dispositivo peltier Totech, la frecuencia de trabajo debe encontrarse entre 300 y 3000 Hz, esto principalmente para evitar la fatiga mecánica del componente debido a la inercia térmica que pudiese producirse, lo cual causaría una caída de la fiabilidad del componente a corto plazo. Asimismo, dado que el método de control a realizarse será el control PI, los fabricantes de dispositivos peltier de otras marcas recomiendan trabajar con frecuencias mayores a 2Khz [32]. En base a estas observaciones obtenidas, se eligió trabajar con una frecuencia de 2.5Khz, valor que se encuentra dentro de los parámetros permitidos por parte de ambos fabricantes. Es necesario señalar que la onda PWM a generar debe atravesar por una etapa de filtro LC para eliminar los armónicos de la señal [11].

Para las pruebas a realizar se contó con la celda peltier elegida en una etapa previa de la investigación, HP-199-1.4-0.8 cuyo diseño se muestra en la figura 4.19:

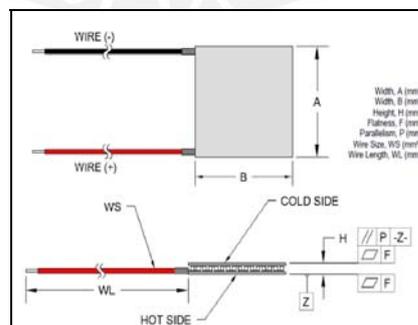


Figura 4.19: Celda peltier de alta temperatura [30].

Las características de la celda peltier se muestran en la tabla 4.3:

Tabla 4.3: Características de la celda peltier:

<b>I<sub>max</sub></b> (amps) -SORT- 5	<b>Q<sub>max</sub></b> (watts) -SORT-	<b>V<sub>max</sub></b> (volts) -SORT-	<b>DT<sub>max</sub></b> (Th=300K) -SORT-	<b>DT<sub>max</sub></b> (Potted) -SORT-	<b>A</b> (mm) -SORT-	<b>B</b> (mm) -SORT-	<b>H</b> (mm) -SORT-
11.3	172	24.6	67	66	40	40	3.2

Adicionalmente para la realización de las pruebas de simulación, se utilizó un ventilador elaborado en etapas previas de la investigación [11] para la disipación de calor durante el proceso. Se muestra el disipador –ventilador en la figura 4.20:

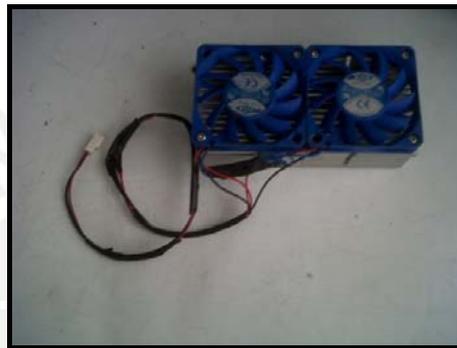


Figura 4.20 Disipador-ventilador.

Finalmente, se muestra en la figuras 4.21.1 y 4.21.2 el sistema completo para realizar las simulaciones de la etapa de control:

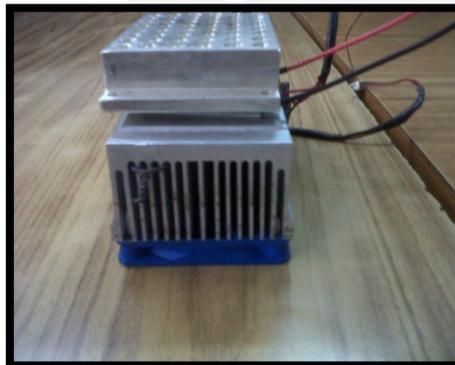


Figura 4.21.1



Figura 4.21.2

Figura 4.21: Las figuras 4.21.1 y 4.21.2 muestran el sistema de celda peltier, bandeja de plata y disipador desde una vista lateral y superior respectivamente.

Adicionalmente para las simulaciones, se empleó el osciloscopio de la marca TEKTRONIX, para la poder observar la variación de la señal de control (onda PWM) durante cada etapa del proceso.

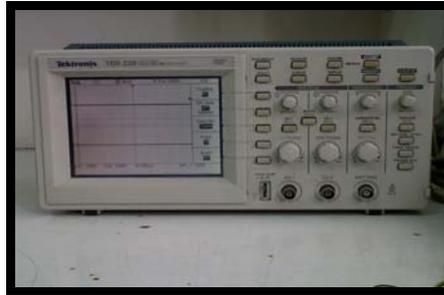


Figura 4.22 Osciloscopio de la marca Tektronix modelo TDS 220.

Para las simulaciones se configuró un Set Point de  $95^{\circ}\text{C}$ , siendo la temperatura de ambiente aproximadamente  $21^{\circ}\text{C}$ . Se dispuso de una celda peltier para la prueba y como fuente de alimentación se utilizó una fuente de poder de voltaje regulable de 15V y 8 A.

La figura 4.23 muestra la señal de control generada en un inicio ante esta configuración, siendo el valor de duty cycle del 98%:

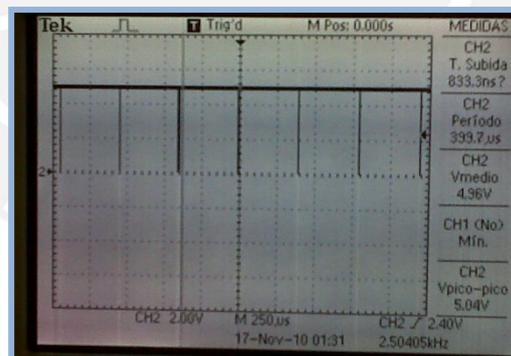


Figura 4.23: Variable de control al inicio del proceso.

La figura anterior muestra la señal de control luego de las etapas de digitalización de la señal de temperatura de la bandeja de plata y la etapa de control PI implementado en la PC. El valor de duty cycle mostrado indica un período de calentamiento prolongado, el cual luego de la etapa de potencia, equivale en un voltaje DC elevado que producirá un incremento de delta de temperatura entre las caras de la celda peltier. Esto se comprueba según las curvas de Corriente-Voltaje vs diferencia de temperatura entre caras ofrecidas por el fabricante [30].

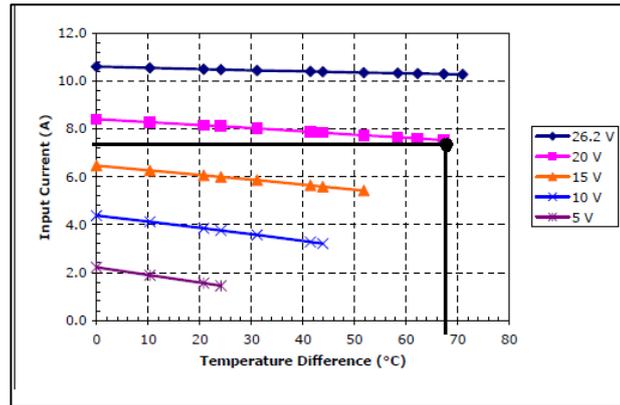


Figura 4.24: Curvas de Corriente-Voltaje de entrada vs  $\Delta T$ .

La curva anterior permite comprobar que al trabajar la celda peltier a 15V. y 6 A., se logra obtener una variación de temperatura de aprox. 70°C, diferencia que existe previo al inicio de la etapa de desnaturalización. Sin embargo si la señal de control no variase habría un sobrecalentamiento producto de la inercia térmica, es por ello que la señal de control disminuye a medida que el valor de temperatura sensado se acerca al Set Point configurado, lo cual indica un menor ciclo de calentamiento y el aumento del ciclo de enfriamiento. De esta forma se evita los sobreimpulsos de temperatura durante el estado transitorio.

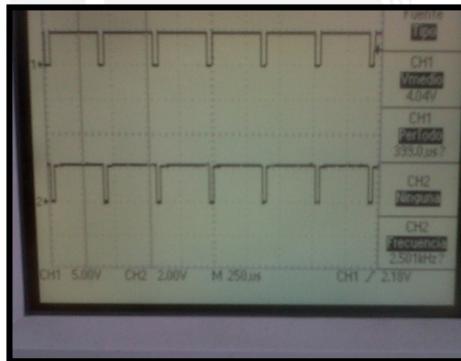


Figura 4.25.1

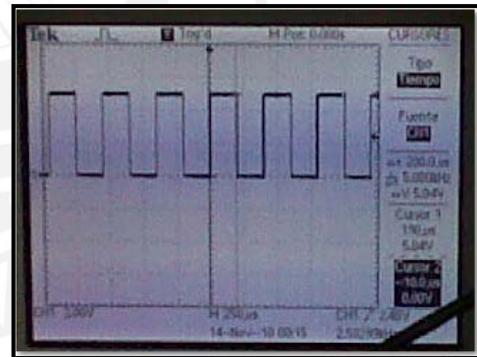


Figura 4.25.2

Figura 4.25.1 y 4.25.2: Señales de control como respuesta al incremento de temperatura. 4.25.1 muestra en un t y 4.25.2 muestra en un t+n.

Finalmente para la etapa de Hibridación, la cual supone una disminución acelerada de temperatura, se realizaron las pruebas invirtiendo la polaridad del peltier y conectándolo a la fuente de poder, dado que no se cuenta con el circuito de potencia adecuado para la realización de las pruebas. Siendo el Set Point de esta etapa 60°C y el valor previo de temperatura aprox. 95°C, la señal de control generada luego del proceso de control PI se muestra en la figura 4.26:

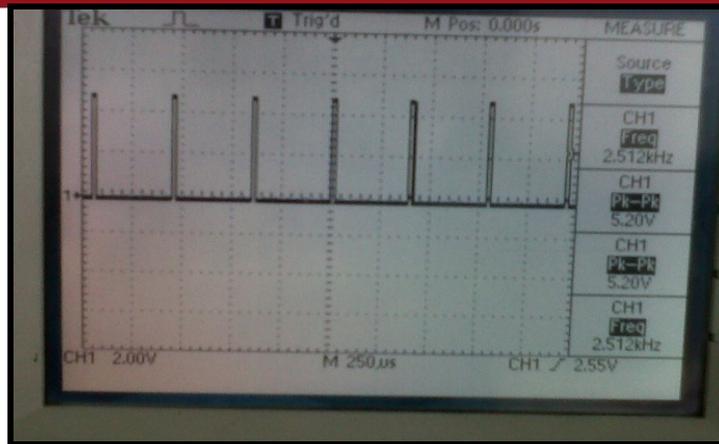
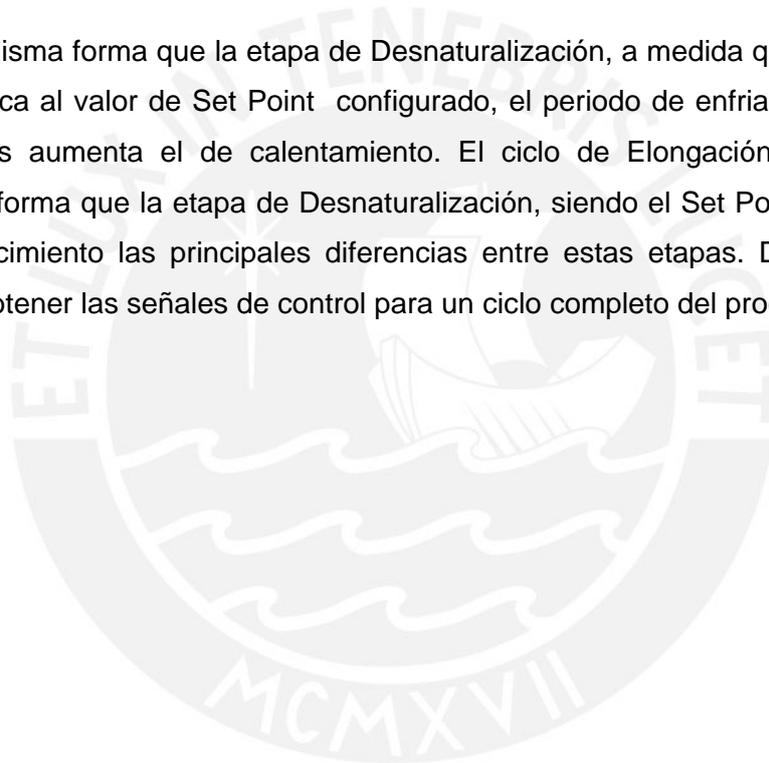


Figura 4.26: Señal de control inicial de la etapa de Hibridación.

De la misma forma que la etapa de Desnaturalización, a medida que la temperatura se acerca al valor de Set Point configurado, el periodo de enfriamiento disminuye mientras aumenta el de calentamiento. El ciclo de Elongación responde de la misma forma que la etapa de Desnaturalización, siendo el Set Point y el tiempo de establecimiento las principales diferencias entre estas etapas. De esta forma se logró obtener las señales de control para un ciclo completo del proceso de PCR.



## Conclusiones:

- Se logró obtener, a partir de un modelo matemático existente, una función de transferencia para caracterizar el comportamiento de la celda peltier a emplear. Esto se pudo realizar, basándose en los fenómenos térmicos que suceden en este dispositivo y en el sistema. Estos fueron relacionados a fenómenos eléctricos equivalentes para finalmente obtener un modelo matemático final apto para la aplicación de cualquier técnica de control clásica o moderna.
- Basado en los requerimientos del sistema, se logró seleccionar el tipo de control más apropiado, en este caso un controlador PI, para realizar el control de temperatura del sistema. Así también, se llegó a diseñar el algoritmo de control e implementarlo en el prototipo de termociclador utilizando lenguaje ensamblador y lenguaje de alto nivel como principales herramientas.
- En base al modelamiento matemático obtenido y al diseño del controlador, se logró realizar simulaciones del sistema en conjunto, comprobando que las rampas de temperaturas ascendentes y descendentes se aproximan al valor deseado de  $1.3^{\circ}\text{C/s}$ , con un error de  $\pm 0.045^{\circ}\text{C}$  respecto al valor ideal. Asimismo, y en base a las comparaciones mostradas en el capítulo 4, se aprecia una mejora respecto a los avances anteriores en el control de temperatura (rampa de temperatura mayor y menor error en estado estable). Las pruebas de funcionamiento del sistema físico en conjunto, para corroborar los valores obtenidos, no pudieron ser realizadas al no contar con el bloque de potencia dedicado para las pruebas de funcionamiento del sistema total.
- Como uno de los objetivos para la optimización del prototipo, se logró implementar una interfaz de usuario en la PC que permita al operario realizar diversos tipos de procesos de PCR y poder monitorear en tiempo real la evolución de los mismos. Como una herramienta adicional, el usuario tiene la capacidad de guardar los datos de temperatura obtenidos durante el proceso y exportarlos a Excel para realizar posteriores análisis.

## Recomendaciones:

- Si bien los valores de temperatura obtenidos en las pruebas del sistema se hallaban cercanas a los valores ideales, una de las principales fuente de error fue el contacto no óptimo entre el sensor térmico y la bandeja de plata que se empleó para las pruebas. Debido a la forma ovalada del sensor termilineal, es necesario que se introduzca dentro del bloque para poder registrar la temperatura de forma más precisa. Para las pruebas se empleó una pasta térmica para mejorar la conducción de calor, pero no se logró una mejor significativa.
- Si bien se cuenta con el hardware correspondiente al bloque de control y comunicación con la PC del prototipo, y dado que el objetivo final del proyecto es obtener un prototipo de termociclador comparable con equipos comerciales, se ve necesario el apoyo de especialistas en diseño industrial para el desarrollo del prototipo final. Esto permitirá un mejor ingreso del equipo al mercado actual, pues el aspecto estético de un producto muchas veces influye en la demanda del mismo.

## Bibliografía:

- [1] Zamudio, Teodora  
2005 “ADN Nuclear”, Equipo de docencia e investigación UBA-Derecho  
Enlace: <http://www.biotech.bioetica.org/clase1-12.htm>  
Fecha de consulta: 31-10-2010
- [2] Departamento de bioquímica y biofísica molecular  
2003 “Identificación de una unidad monomérica de una macromolécula biológica”  
Universidad de Arizona.  
Enlace: [http://www.biologia.arizona.edu/biochemistry/problem\\_sets/large\\_molecules/06t.html](http://www.biologia.arizona.edu/biochemistry/problem_sets/large_molecules/06t.html)  
Fecha de consulta: 31-10-2010
- [3] Educomputación Chile  
“Replicación de ADN”, Chile  
Enlace: <http://www.educomputacion.cl/content/view/319/135/>  
Fecha de consulta: 31-10-2010
- [4] Couce, Alejandro  
“Reacción en cadena de la polimerasa”  
Enlace: <http://portales.educared.net/>  
Fecha de consulta: 31-10-2010
- [5] Mas, Eva; Posa, Julio; Zaragoza, Pilar  
2001 “Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa”  
Enlace: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/html/art1501/basespcr.htm>  
Fecha de consulta: 31-10-2010
- [6] Patentes Oepm  
“Novedades en ingeniería genética / biología molecular”  
Enlace: <http://www.invenia.es/invenia:cip:genetica>  
Fecha de Consulta: 03-04-2010
- [7] LOGAN, Julie  
2009 “PCR: The polymerase chain reaction”  
Enlace: <http://www.horizonpress.com/pcr/>  
Fecha de Consulta: 03-04-2010
- [8] ÁLVAREZ ORTIZ, Marina  
2003 “Premian a los pediatras del Hospital de Jerez”  
Enlace: <http://www.andaluciainformacion.es/portada/?a=115392&i=34&f=0>  
Fecha de consulta: 03-04-2010

- [9] “Features of Real-time PCR Platforms and qPCR Machines”  
Enlace: <http://www.horizonpress.com/pcr/qPCR-machines.html>  
Fecha de consulta: 03-04-2010
- [10] Piminchumo, Omar  
2009. “Diseño de los componentes mecánicos de un termociclador utilizando el método de los elementos finitos “.Documento de tesis para optar el título de ingeniero mecánico de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
- [11] Zegarra, David; Ponce, José Luis  
2009 “Modulo programable de control cíclico de temperatura para procesos de reacción en cadena de la polimerasa. Diseño e implementación”. Documento de tesis en elaboración para optar el título de ingeniero electrónico de la Pontificia Universidad Católica del Perú (Comunicación personal).
- [12] “Temperature Specifications of Real-time PCR instruments and qPCR machines”.  
Enlace: <http://www.horizonpress.com/pcr/qPCR-temperature-specifications.html>  
Fecha de consulta: 03-04-2010
- [13] “Thermocycler Techne TC-412”  
Enlace: [http://www.keison.co.uk/techne\\_tc412thermalcyler.shtml](http://www.keison.co.uk/techne_tc412thermalcyler.shtml)  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [14] Electrónica Unicrom  
“El puente Wheatstone, Historia y funcionamiento”  
Enlace: [http://www.unicrom.com/Tut\\_puente\\_wheatstone.asp](http://www.unicrom.com/Tut_puente_wheatstone.asp)  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [15] “Patent application title: Thermal Cyler for Automatic Performance of the Polymerase Chain Reaction with Close Temperature Control”  
Enlace: <http://www.faqs.org/patents/app/20100112683>  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [16] Datasheet of TMP100, TMP101  
Enlace: <http://focus.ti.com/lit/ds/symlink/tmp100.pdf>  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [17] “Development of a temperature sensor array chip and a chip-based real-time PCR machine for DNA amplification efficiency-based quantification”  
Enlace: <http://www.sciencedirect.com/science>

Fecha de consulta: 19-05-2010

- [18] Microeng, J. Micromech.  
“Development of a CMOS-compatible PCR chip: comparison of design and strategies system”. Journal of micromechanics and Microengineering.  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [19] “Control PID”  
Enlace:[http://www.uam.es/personal\\_pas/patricio/trabajo/segainvex/electronica/proyectos/curso\\_instrumentacion/instrumentacion1.pdf](http://www.uam.es/personal_pas/patricio/trabajo/segainvex/electronica/proyectos/curso_instrumentacion/instrumentacion1.pdf)  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [20] Kuo, Benjamin.  
1996 Sistemas de Control Automático 7th edición. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A.
- [21] Basso, Juan; Franco, Oscar Mauricio  
2005 “Termociclador para Biología Molecular usando un microcontrolador.”  
Enlace: [http://www.sabi.org.ar/anales/cd\\_2005/pdf/124EI.PDF](http://www.sabi.org.ar/anales/cd_2005/pdf/124EI.PDF)  
Fecha de consulta: 19-05-2010
- [22] Chávez, J. A; Salazar J.  
2000 “Modelado de elementos Peltier mediante analogía de parámetros eléctricos”. Departamento de Ingeniería Electrónica. Universidad Politécnica de Cataluña.  
Enlace: <http://www.alipso.com/monografias/peltier/>  
Fecha de consulta: 03-04-2010
- [23] Universidad Politécnica de Madrid  
Departamento de Electrónica, Automática e Informática Industrial.  
2008 “Modelamiento matemático de una Célula Peltier”. Práctica 6. Practica de servosistemas.  
Enlace:<http://www.elai.upm.es/spain/Asignaturas/Servos/practicas/prac6%20mol%20peltier.pdf>  
Fecha de consulta: 14-04-2010
- [24] Angeles, William  
2010 “Diseño de la etapa de sensado de temperatura y actuador en un prototipo de termociclador para la replicación de ADN”. Documento de tesis en elaboración para optar el título de ingeniero electrónico de la Pontificia Universidad Católica del Perú (Comunicación personal).
- [25] Gaddy, Larry  
1995. “Selecting an A/D converter”. *Burr Brown Corporation Application Bulletin. United States.* < Burr Brown Corporation Application Bulletin >.

- [26] MJ-Resarch, PTC-100  
“PTC-100”, PCR thermal cyclers.  
Enlace: <http://www.gmi-inc.com/MJ-Research-PTC-100-Thermal-Cycler.html>  
Fecha de consulta: 31-10-10
- [27] Park, Sangil  
2008 “Principios de la modulación Sigma delta para convertidores analógico-digitales”  
Enlace: <http://www.ece.rutgers.edu/~orfanidi/ece346/sigma-delta.pdf>  
Fecha de consulta: 31-10-10
- [28] Visioli, Antoni  
2006 “Practical PID control”, Departamento de electrónica para la automatización. Universidad de estudios de Brescia. Italia.
- [29] ATmel  
“Discrete PID Controller”  
Enlace: [http://www.atmel.com/dyn/resources/prod\\_documents/doc2558.pdf](http://www.atmel.com/dyn/resources/prod_documents/doc2558.pdf)  
Fecha de consulta: 01-11-10
- [30] Tetech.  
2008 Thermoelectric cooler modules. Estados Unidos. [Online]. Available.  
Enlace: <http://www.tetech.com>
- [31] Ogata, Katsuhiko  
1998 “Ingeniería de Control Moderna”. 3ª Edición. Prentice Hall Hispanoamericana, S.A.
- [31] Melcor  
“Bomba de calor, CP2-31-10L 18.8W”  
Enlace: <http://es.rsonline.com/web/search/>  
Fecha de consulta: 02-11-10

