

Proyecto Fin de Carrera

SISTEMAS DE CONTROL AUTORREGULADOS PARA SETUPS MICROFLUÍDICOS DEDICADOS AL CULTIVO CELULAR

Alberto Héctor Torrejón García

Directora: Rosa María Monge Prieto
Ponente: Luis José Fernández Ledesma

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Septiembre 2012

RESUMEN

Este proyecto fin de carrera forma parte de un proyecto más amplio cuyo objetivo es el desarrollo de nuevas herramientas dedicadas al cultivo celular. Los métodos tradicionales para el cultivo celular son los llamados “in vitro”, que proporcionan un entorno estático y a macroescala muy diferente al de los organismos vivos, que poseen un sistema a microescala más complejo.

Mediante la inclusión de sistemas microfluídicos se quiere proporcionar un entorno parecido al “in vivo” para el cultivo celular. Se pretende conseguir la formación de un ambiente en el que se recreen las condiciones que se dan en un ser vivo y sobre el que se tenga control químico y mecánico. Para ello se fabrican chips de microfluídica, que tienen microcámaras donde quedarán adheridas las células y microcanales a través de los cuales se les hará llegar a las células el medio con los nutrientes necesarios para que puedan sobrevivir. Por tanto, será necesario el montaje de un *setup* microfluídico que permita hacer llegar el medio al chip en las condiciones adecuadas. Conseguir que esas condiciones sean las deseadas será el objetivo fundamental del presente proyecto.

La principal variable a controlar será el flujo de medio que llega al chip. Para el control de esa variable será necesario un circuito electrónico comandado por un microcontrolador con el que controlaremos el funcionamiento de la microbomba que bombea el medio a través del *setup*. Será también necesaria la colocación de un sensor de flujo para poder hacer un control en lazo cerrado y que, de esta manera, el flujo permanezca siempre en los niveles deseados con total independencia de las condiciones que rodean al *setup*.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
Índice de figuras	4
MEMORIA	6
CAPÍTULO 1. Introducción.....	7
CAPÍTULO 2. Setup microfluídico.....	8
2.1 Objetivo del <i>setup</i>	8
2.2 Descripción del <i>setup</i>	8
2.1.1 Chip microfluídico	9
2.1.2 Encapsulado.....	10
2.1.3 Reservorio	10
2.1.4 Bomba.....	11
2.1.5 Válvula antirretorno	11
2.1.4 Amortiguador	12
2.1.6 Sensor de flujo	13
CAPÍTULO 3. Elección de la bomba	14
3.1 Bomba peristáltica.....	14
3.2 Bomba de membrana	16
CAPÍTULO 4. Microcontrolador	21
4.1 Características generales del microcontrolador	21
4.2 Aplicación particular del microcontrolador en el proyecto	23
CAPÍTULO 5. Protocolo de comunicación i2c	25
5.1 Descripción general.....	25
5.2 Ventajas de la comunicación i2c en el proyecto	26
CAPÍTULO 6. Sensor de flujo	28
6.1 Descripción del dispositivo	28
6.2 Aplicación particular en el proyecto	29
6.2.1 Proceso de toma de medida.....	30
6.2.2 Lectura del factor de escala y de la unidad de medida	30

6.3 Caracterización	32
CAPÍTULO 7. Control en lazo cerrado	34
7.1 Imposibilidad de control en lazo abierto.....	34
7.2 Utilización del parámetro “ciclo de trabajo”	34
7.2.1 El amortiguador y la válvula antirretorno.....	35
7.2.2 Caracterización con variación del ciclo de trabajo	37
7.3 Control en lazo cerrado	37
7.4 PCB de control	40
CAPÍTULO 8. Conclusiones y trabajo futuro	41
8.1 Conclusión general.....	41
8.2 Trabajo futuro	41
ANEXOS	42
ANEXO A. Bomba peristáltica.....	43
1. Introducción.....	43
2. Descripción de la bomba	43
3. Caracterización	44
Tubo 1,34 mm diámetro interno.....	45
Tubo 0,88 mm diámetro interno.....	46
Tubo 3 mm diámetro interno.....	47
Tubo 0,13 mm diámetro interno.....	48
4. Hoja de características	49
ANEXO B. Bomba de membrana.....	59
1. Introducción.....	59
2. Principio de funcionamiento	59
3. Caracterización	61
Gráfico caudal-amplitud a frecuencias de 25, 125 y 225 hz.....	63
Gráfico caudal-frecuencia a amplitud 80 vpp.....	64
Barrido amplitudes a 25 hz 1	66
Barrido de frecuencias bomba 1 a 80 vpp	67
Barrido de amplitudes bomba 2.....	68
4. Hoja de características	69
ANEXO C. Sensor de flujo.....	78

ANEXO D. Hardware	98
1. Plano esquemático	98
2. Lista de componentes (BOM)	100
3. PCB.....	100
ANEXO E. Software.....	101
1. Introducción.....	101
2. Estructura principal.....	101
3. Rutina de reset.....	102
4. Programa principal	104
5. Subrutina regulación automática	105
6. Subrutina visualización en lcd	106
7. Subrutina para exportar datos en excel	107
8. Subrutina de emergencia	108
9. Subrutina para tomar una medida	109
10. Subrutinas para el cálculo del factor de escala y la unidad de medida	111
11. Programa completo	113
BIBLIOGRAFÍA.....	116

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Setup</i> de microfluídica	9
Figura 2: Chip de microfluídica, (a) tamaño natural, (b) zoom con microscopio	9
Figura 3: Encapsulado de microfluídica	10
Figura 4: Reservorio	11
Figura 5: Bomba de membrana, (a) imagen real, (b) principio de funcionamiento.....	11
Figura 6: Válvula antirretorno.....	12
Figura 7: Amortiguador	12
Figura 8: (a) Sensor de flujo, (b) <i>software</i> proporcionado por el fabricante	13
Figura 9: Bomba peristáltica con pcb de control.....	14
Figura 10: Caracterización de flujo de la bomba peristáltica	15
Figura 11: Despiece de la bomba mp6	16
Figura 12: Esquema de conexión para mp6-oem.....	17
Figura 13: (a) <i>Setup</i> microfluídico con <i>by-pass</i> , (b) caracterización de la bomba de membrana para el <i>setup</i> montado	18
Figura 14: (a) <i>Setup</i> microfluídico sin <i>by-pass</i> , (b) caracterización de la bomba de membrana para el <i>setup</i> montado	19
Figura 15: Placa de desarrollo arduino nano.....	22
Figura 16: Esquema típico de comunicación i2c	25
Figura 17: Sucesión de bits al comienzo de la comunicación.....	26
Figura 18: Imagen del sensor lg16-0430.....	28
Figura 19: Principio de funcionamiento del sensor de flujo	29
Figura 20: Tablas para decodificar el dato unidad de medida	32
Figura 21: Gráfico comparativo de medidas manuales y medidas tomadas con sensor	33
Figura 22: Diagrama de bloques del control en lazo abierto	34
Figura 23: Caracterización de la variación de flujo con el tiempo de una bomba peristáltica, (a) sin amortiguador, (b) con amortiguador	36
Figura 24: Gráfico de variación de flujo con ciclo de trabajo	37
Figura 25: <i>Setup</i> microfluídico con control en lazo cerrado	38
Figura 26: Diagrama de bloques del control en lazo cerrado	39
Figura 27: Imagen de la aplicación PLX-DAQ.....	39
Figura 28: PCB de control del <i>setup</i>	40
Figura 29: PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DE UNA BOMBA PERISTÁLTICA	43
Figura 30: Bomba peristáltica y pcb de control.....	44

Figura 31: Caracterización de la bomba peristáltica para tubo de 1,34 mm, (a) tabla de valores, (b) gráfico	45
Figura 32: Caracterización de la bomba peristáltica para tubo de 0,88 mm, (a) tabla de valores, (b) gráfico	46
Figura 33: Caracterización de la bomba peristáltica para tubo de 3 mm, (a) tabla de valores, (b) gráfico	47
Figura 34: Caracterización de la bomba peristáltica para tubo de 0,13 mm, (a) tabla de valores, (b) gráfico	48
Figura 35: Descripción gráfica del ciclo de una membrana	60
Figura 36: Descripción gráfica del ciclo de una bomba de dos membranas	60
Figura 37: Gráficas de la microbomba aportadas por el fabricante	61
Figura 38: <i>Setup</i> microfluídico con <i>by-pass</i>	62
Figura 39: Caracterización de la bomba de membrana para <i>setup</i> con <i>by-pass</i> , (a) tabla de valores, (b) gráfico comparativo	63
Figura 40: Caracterización de la bomba de membrana para <i>setup</i> con <i>by-pass</i> , (a) tabla de valores, (b) gráfico.....	64
Figura 41: <i>Setup</i> microfluídico sin <i>by-pass</i>	65
Figura 42: Caracterización de una bomba de membrana para <i>setup</i> sin <i>by-pass</i> , (a) tabla de valores, (b) gráfico.....	66
Figura 43: Caracterización de la bomba de membrana para <i>setup</i> sin <i>by-pass</i> , (a) tabla de valores, (b) gráfico	67
Figura 44: Caracterización de una segunda bomba de membrana para <i>setup</i> sin <i>by-pass</i> , (a) tabla de valores, (b) gráfico.....	68
Figura 45: Listado de componentes para la pcb.....	100
Figura 46: PCB de control del <i>setup</i>	100
Figura 47: Diagrama de flujo de la estructura principal de un programa.....	101
Figura 48: Diagrama de flujo de la rutina de reset.....	102
Figura 49: Diagrama de flujo del programa principal.....	104
Figura 50: Diagrama de flujo de la subrutina de regulación.....	105
Figura 51: Diagrama de bloques de la subrutina de visualización	106
Figura 52: Diagrama de flujo de la subrutina de envío de datos excel	107
Figura 53: Diagrama de flujo de la subrutina de emergencia	108
Figura 54: Diagrama de flujo de la subrutina que toma una medida.....	109
Figura 55: Diagramas de flujo de las subrutinas, (a) cálculo de dirección eeprom y (b) cálculo factor de escala y unidad de medida.....	111

MEMORIA

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Este proyecto fin de carrera forma parte de un proyecto más amplio cuyo objetivo es el desarrollo de nuevas herramientas dedicadas al cultivo celular. Se pretende conseguir la formación de un ambiente biomimético en el que, en un ambiente “in vitro”, se recreen unas condiciones “in vivo”. Para conseguir esto utilizamos la microfluídica.

El objetivo principal de este proyecto fin de carrera será el desarrollo de un *setup* de microfluídica con el que podamos controlar el flujo que circula por el mismo mediante un circuito electrónico basado en un microcontrolador. Este circuito deberá estar protegido contra la humedad ya que los experimentos se desarrollan en un ambiente de 37 °C y 100% de humedad.

Además de todo esto, el sistema a desarrollar no debe tener unas dimensiones muy grandes, ya que debe ser un sistema que cumpla unos requisitos de portabilidad. Esto es debido a que no todas las fases de los experimentos de cultivo celular se realizan en el mismo sitio. En una primera fase, realizada en una campana de flujo laminar, se siembran las células y, después, el sistema se introduce en un incubador, donde las condiciones serán de 37 °C de temperatura, 100% de humedad y 5% de CO₂.

En el **capítulo 2** se hace una descripción general del *setup* de microfluídica y de los principales elementos que lo componen. En el **capítulo 3** se exponen dos alternativas para el elemento del *setup* dedicado a bombear el fluido y se justifica la elección de una de estas opciones. Esta bomba será controlada por un circuito electrónico basado en un microcontrolador que se describe en el **capítulo 4**. En el **capítulo 5** se explican los aspectos generales del protocolo de comunicación I2C, cuya presencia en el proyecto es muy importante, ya que será la forma con la que el microcontrolador se comunique con el sensor de flujo, descrito en el **capítulo 6**. Con todo esto se llega a construir un sistema de control en bucle cerrado, el cual se explica en el **capítulo 7**. Finalmente, en el **capítulo 8** se dan las conclusiones finales y se proponen nuevos caminos para el trabajo futuro.

CAPÍTULO 2

SETUP MICROFLUÍDICO

2.1 OBJETIVO DEL *SETUP*

El *setup* descrito servirá para poder llevar a cabo experimentos basados en el cultivo celular. El sistema deberá permitir al usuario controlar de manera sencilla el flujo en todo momento o programar una serie de acciones que serán llevados a cabo en tiempos determinados.

Para poder controlar estos parámetros el circuito fluídico estará regulado por un circuito electrónico comandado por un microcontrolador. El circuito electrónico actuará sobre la bomba en función de los requerimientos del experimento.

El sistema además deberá ser portable, ya que el *setup* se debe introducir en un incubador que permita unas condiciones de temperatura, humedad y nivel de CO₂ determinadas.

2.2 DESCRIPCIÓN DEL *SETUP*

El *setup* es el circuito fluídico con el que conseguimos hacer que el fluido llegue al chip en el que se encuentran las células.

El *setup* completo está compuesto por 6 elementos: reservorio, bomba, válvula antirretorno, amortiguador, encapsulado y sensor de flujo. Todos estos elementos de comunican mediante tubos de silicona de 0,5 mm de diámetro interno. En la figura 1 se puede ver un *setup* que integra estos elementos.

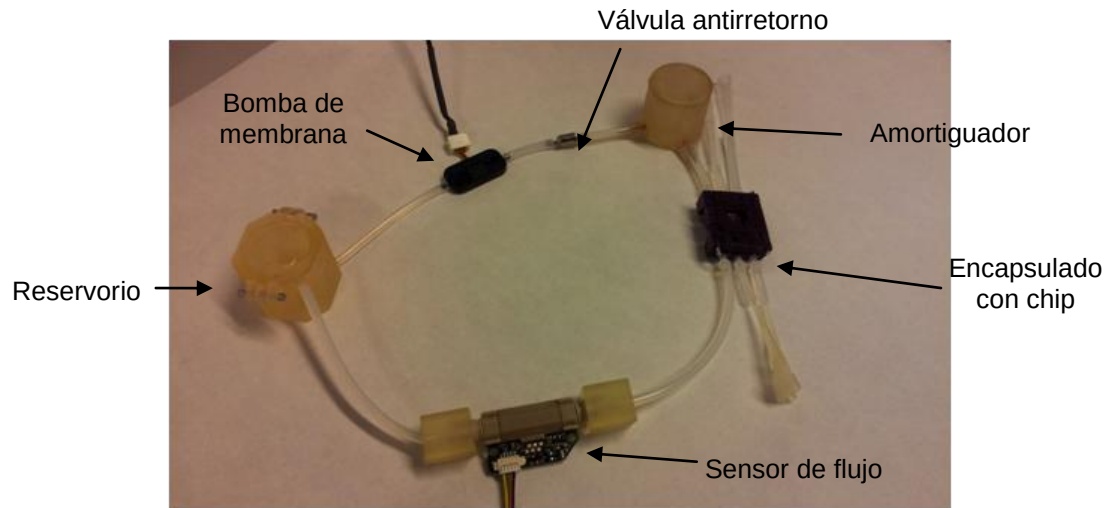


FIGURA 1: SETUP DE MICROFLUÍDICA

Cada elemento del *setup* se describe brevemente en este capítulo.

2.1.1 CHIP MICROFLUÍDICO

La fabricación de los chips es llevada a cabo mediante tecnología SU-8 en un proceso de fotolitografía. Los chips tienen una cámara central en la que se quedan adheridas las células y unos canales a través de los cuales se les hace llegar el medio con los nutrientes necesarios para que sobrevivan, creando así un ambiente similar al que se da en un ser vivo.

El chip tiene forma cuadrada, con unas dimensiones de 1 x 1 cm. Sus elementos internos presentan unas dimensiones mucho más reducidas, del orden de 300 micras aproximadamente. En la figura 2 se pueden ver dos imágenes del chip, la primera a tamaño natural y la segunda tomada con microscopio.

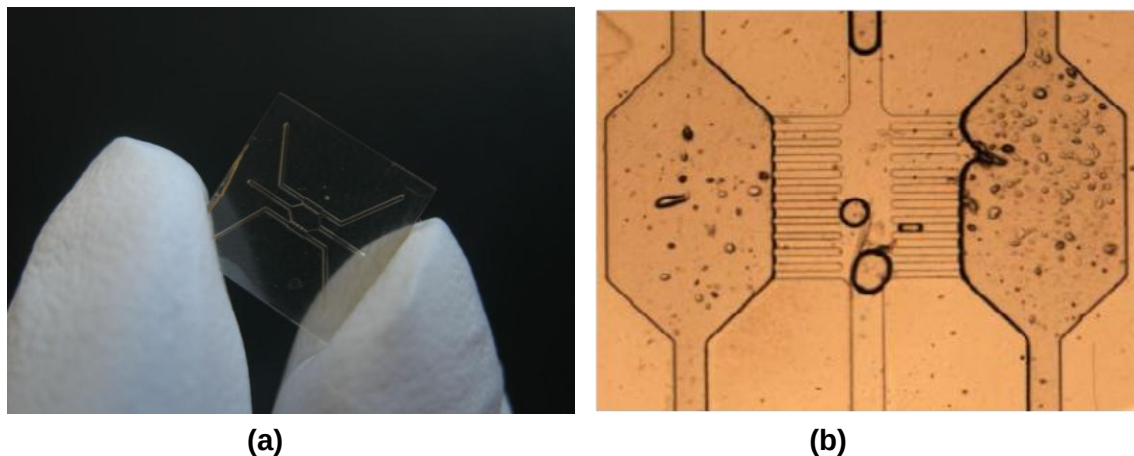


FIGURA 2: CHIP DE MICROFLUÍDICA, (A) TAMAÑO NATURAL, (B) ZOOM CON MICROSCOPIO

El medio debe llegar a las células en unas condiciones determinadas, ya que, para que los experimentos puedan ser exitosos, los niveles de flujo deberán ser del orden de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Si los niveles de flujo no son los adecuados, las células pueden, o bien ser arrastradas por el medio, o bien sentir un *shear stress* muy alto y morir. Además estos niveles deberán ser independientes de cualquier cambio que se pueda producir en el entorno.

2.1.2 ENCAPSULADO

Se trata del componente del *setup* donde se encuentra alojado el chip descrito anteriormente. Su función básica es la conexión fluídica entre el chip y el resto del circuito. Su presencia es imprescindible debido a que las dimensiones del chip son demasiado pequeñas como para poder acceder a él directamente. El fluido se mueve por el encapsulado a través de microcanales que conectan las 3 entradas y salidas que posee el chip. La conexión entre los canales y el chip es llevada a cabo mediante pequeñas juntas tóricas (*o-ring*) de silicona, cuya función es asegurar la estanqueidad del sistema. El encapsulado se cierra mediante un pasador de acero que garantiza que el apriete sea máximo. En la figura 3 se puede ver la imagen de un modelo de encapsulado fabricado por el grupo Gemm.

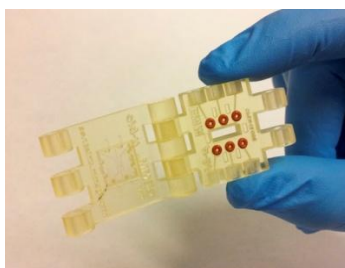


FIGURA 3: ENCAPSULADO DE MICROFLUÍDICA

2.1.3 RESERVORIO

El reservorio es un pequeño depósito cuya función es almacenar el medio que contiene los nutrientes para que las células sobrevivan y que circulará por el resto del *setup*. Dispone de una entrada y una salida para el fluido, así como de un agujero en su parte superior donde se coloca un filtro de aire para que haya intercambio gaseoso con el exterior evitando a la vez posibles contaminaciones biológicas. En la figura 4 se puede ver este elemento.



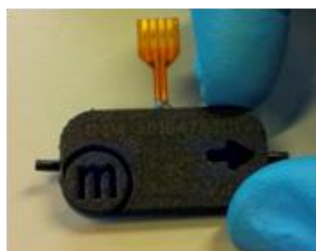
FIGURA 4: RESERVORIO

2.1.4 BOMBA

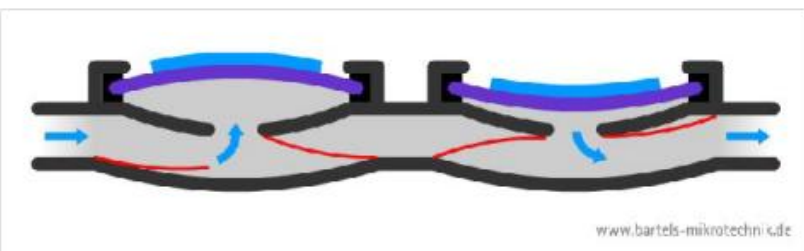
La bomba es el elemento encargado de impulsar el fluido hacia el resto del circuito microfluídico. Para el montaje del setup se ha utilizado una bomba de membrana, que será descrita en el capítulo 3.

La bomba de membrana es un tipo de bomba de desplazamiento positivo en la que el aumento de presión se realiza por el empuje de unas paredes elásticas (membranas) que varían el volumen de la cámara aumentándolo y disminuyéndolo alternativamente. El empuje de estas paredes se consigue aplicando una tensión sobre unos piezoeléctricos para que se deformen. Esta bomba incluye dos piezoeléctricos dentro de una carcasa que actúan alternativamente, es decir, cuando uno esté llenando su cámara, el otro la estará vaciando.

En la figura 5 se puede observar una imagen real de la bomba y un esquema de su principio de funcionamiento.



(a)



(b)

FIGURA 5: BOMBA DE MEMBRANA, (a) IMAGEN REAL, (b) PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO

Para variar el flujo de salida de la bomba habrá que variar dos parámetros diferentes de entrada: la amplitud de una señal de tensión continua y la frecuencia de una onda cuadrada. En el capítulo 3 se explica con más detalle el método utilizado para la variación del flujo.

2.1.5 VÁLVULA ANTIRRETORNO

Esta válvula solo permite el paso de líquido en un sentido. Su función dentro del *setup* es evitar posibles flujos de retorno que puedan darse cuando la bomba se encuentra en estado de reposo. La figura 6 muestra el elemento descrito.



FIGURA 6: VÁLVULA ANTIRRETORNO

2.1.4 AMORTIGUADOR

El amortiguador consiste básicamente en un depósito lleno casi en su totalidad del medio que circula por el *setup*. Tiene una entrada y una salida para la circulación de fluido a través de él. Su cometido es evitar cambios bruscos en el flujo que puede provocar la bomba.

Para que el amortiguador funcione correctamente, no se debe llenar del todo, sino que se debe dejar una pequeña burbuja de aire que quedará en su parte superior. De esta manera, cuando se produzca un cambio brusco de presión, ésta será absorbida por la burbuja de aire que verá disminuido su volumen.

En el capítulo 7 se justifica la necesidad de incluir este elemento, ya que se verá que la bomba no estará siempre encendida, sino que estará continuamente encendiéndose y apagándose. En la figura 7 se puede observar este elemento.



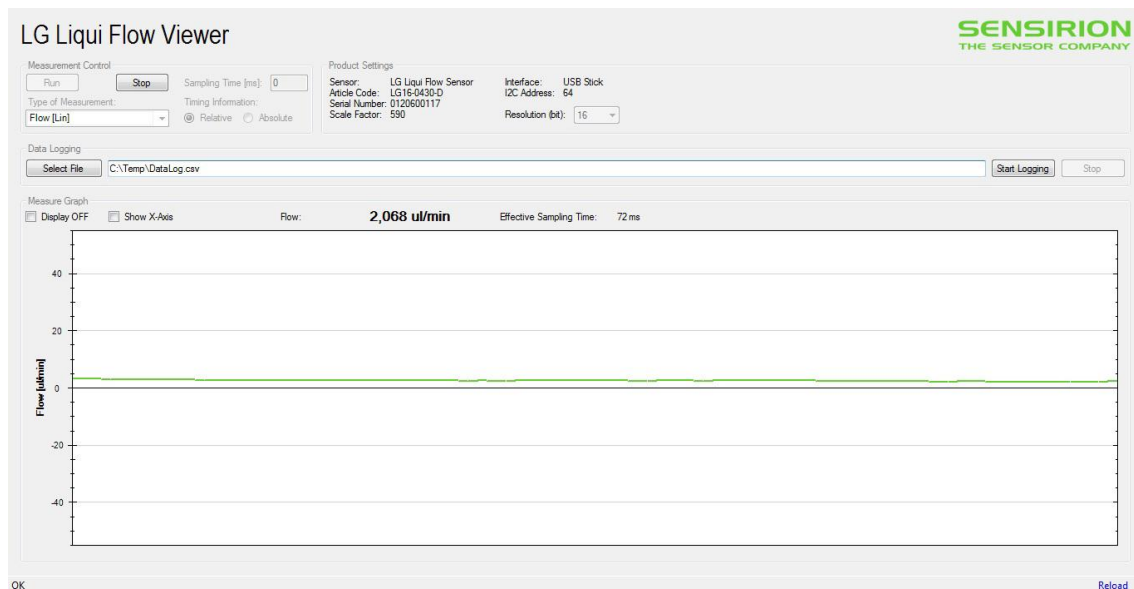
FIGURA 7: AMORTIGUADOR

2.1.6 SENSOR DE FLUJO

Este dispositivo tiene como función tomar el dato correspondiente al flujo que hay en el *setup* en todo momento. Su presencia en el circuito permite un control preciso del flujo que atraviesa el circuito consiguiendo que el *setup* se autorregule con total independencia de las perturbaciones que puedan afectar a las variables a controlar. En la figura 8 hay una imagen del sensor utilizado y otra del *Software* proporcionado por el fabricante para la toma de medidas.



(a)



(b)

FIGURA 8: (A) SENSOR DE FLUJO, (B) SOFTWARE PROPORCIONADO POR EL FABRICANTE

En el capítulo 6 se proporciona una descripción más detallada de las características y el funcionamiento de este dispositivo.

CAPÍTULO 3

ELECCIÓN DE LA BOMBA

La bomba es el elemento que impulsa el fluido al resto del circuito fluídico. Para la elección de este elemento, se ha barajado el uso dos tipos de bomba: una bomba peristáltica y una bomba de membrana.

En este capítulo se hace una descripción general de ambas bombas, las ventajas e inconvenientes que presentan y finalmente se explica la opción elegida.

En los anexos A y B hay una descripción más detallada de ambas, una caracterización completa y el manual de instrucciones para su utilización.

3.1 BOMBA PERISTÁLTICA

La bomba peristáltica es un tipo de bomba de desplazamiento positivo, es decir, tiene una parte de succión y otra de expulsión. Su movimiento está basado en el movimiento de un motor paso a paso que va aplastando un tubo haciendo que el fluido avance a través de éste. En el anexo A se puede encontrar una descripción más detallada de este tipo de bomba.

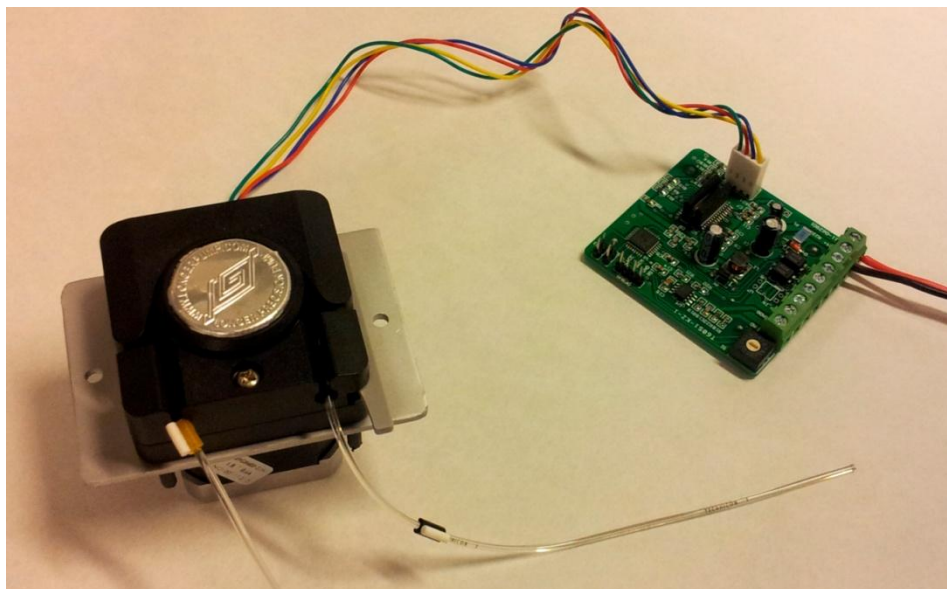


FIGURA 9: BOMBA PERISTÁLTICA CON PCB DE CONTROL

El modelo comercial utilizado es el T60-S4/WX10-14, cuya hoja de características puede encontrarse también en el anexo A.

Para comprobar si la bomba aporta el flujo deseado, se ha realizado una caracterización en la que se ha medido el flujo en función de la velocidad del motor en revoluciones por minuto para distintos diámetros de tubo. La caracterización completa se encuentra en el anexo A.

Para la realización de la caracterización se ha utilizado agua desionizada. El agua se hace circular por el tubo de la bomba y se va dejando caer en un vaso durante un tiempo determinado (varía según el diámetro del tubo, pero suele ser en torno a 3 minutos por medida). Una vez finalizado ese tiempo se pesa el vaso con el agua desionizada en una báscula con resolución de 1 mg. A este peso se le resta el tamaño del recipiente, y el resultado se divide por el tiempo en que se ha estado bombeando.

De esta caracterización podemos extraer la principal ventaja del uso de esta bomba para este proyecto, que es la posibilidad de conseguir niveles de flujo del orden de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$, que es el que nos interesa para los ensayos de cultivo celular en chip. Utilizando un tubo de diámetro interno de 0,13 mm, se han extraído las medidas que pueden observarse en la gráfica de la figura 10.

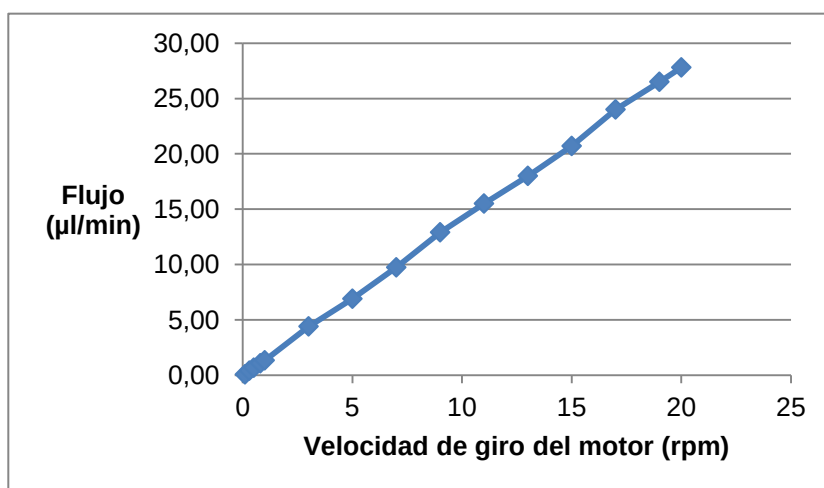


FIGURA 10: CARACTERIZACIÓN DE FLUJO DE LA BOMBA PERISTÁLTICA

Como se puede observar en la figura 10, es posible obtener los flujos requeridos por el experimento que deben ser del orden de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Además, tiene la ventaja añadida de

que ningún elemento mecánico está en contacto directo con el fluido en ningún momento, con lo que evitamos que el medio pueda contaminarse.

Sin embargo, existen algunos inconvenientes en el uso de esta bomba. En primer lugar, el flujo depende del movimiento del motor, que, por tratarse de un motor paso a paso, no es continuo, provocando cambios bruscos en el flujo. Además el volumen físico ocupado por el aparato es demasiado grande, haciendo más difícil cumplir con el requisito de portabilidad que el sistema requiere. Finalmente, el aplastamiento que los rodillos producen sobre el tubo hace que haya que cambiar este elemento muy a menudo, debido a que con el tiempo se acaba deformando.

En conclusión, aunque se consigan los niveles de flujo deseados, los inconvenientes explicados hacen que resulte poco adecuado para el proyecto el uso de esta bomba.

3.2 BOMBA DE MEMBRANA

La bomba de membrana es un tipo de bomba de desplazamiento positivo en la que el aumento de presión se realiza por el empuje de unas paredes elásticas (membranas) que varían el volumen de la cámara aumentándolo y disminuyéndolo sucesivamente. En el anexo B se puede encontrar una descripción más detallada de las características de la bomba y de su principio de funcionamiento.

El modelo comercial utilizado es el “mp6 micropump” del fabricante “Bartels mikrotechnik” [1]. Este modelo incluye dos membranas que actúan simultáneamente de manera alternativa. En la figura 11 podemos ver en más detalle una imagen del despiece de la bomba.

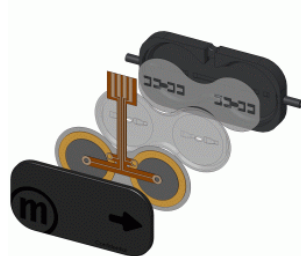


FIGURA 11: DESPIECE DE LA BOMBA MP6

Para el control de la bomba se ha utilizado el circuito integrado mp6-OEM, del mismo fabricante de la bomba. Este circuito proporciona la señal eléctrica que la bomba necesita para funcionar. El control se basa en la variación de la amplitud y la

frecuencia con un microcontrolador. En la figura 12 podemos encontrar el esquema de conexión recomendado del circuito integrado mp6-OEM, extraído de la hoja de características.

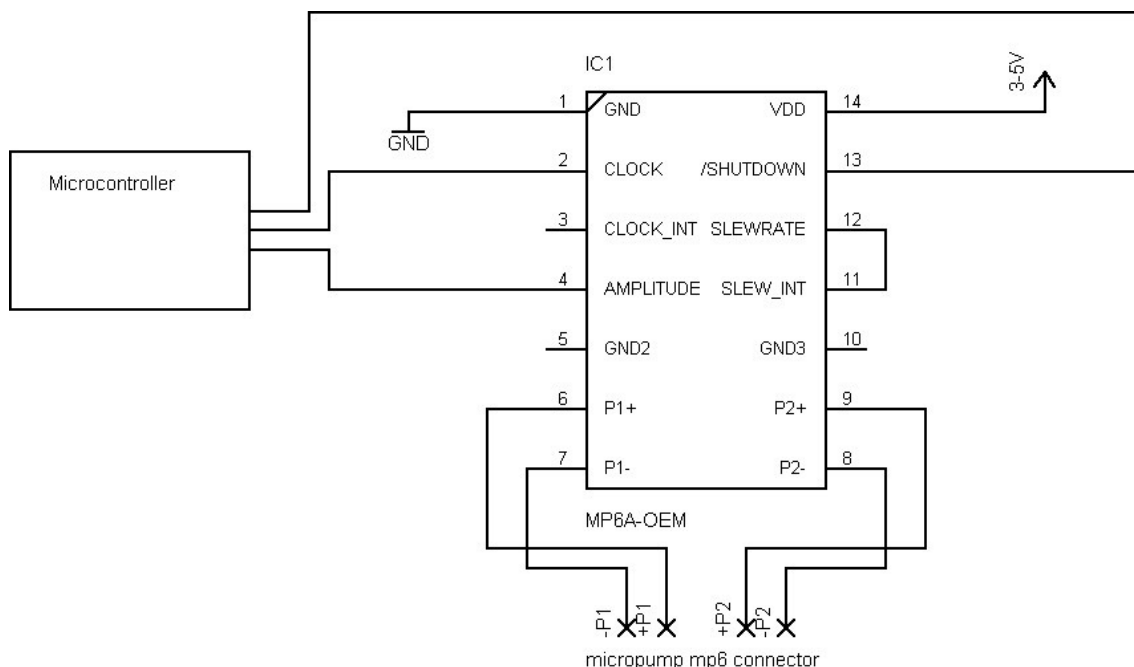


FIGURA 12: ESQUEMA DE CONEXIÓN PARA MP6-OEM

Para variar la salida, lo que se debe hacer es introducir una onda cuadrada de frecuencia por el pin 2 (CLOCK) y un nivel de continua por el pin 4 (AMPLITUDE). El resto de pines se conectan como indica la figura 12, excepto el pin 13 (/SHUTDOWN) que será conectado permanentemente a un nivel lógico alto (+5V).

Según la hoja de características, la señal de frecuencia deberá ser 4 veces superior a la que se desea en la salida del integrado. Así pues, para que la señal de salida varíe entre 25 y 120 Hz, deberemos suministrar una onda cuadrada de entre 100 y 480 Hz.

La señal de amplitud deberá ser un nivel de tensión continua que varíe entre 0,35 y 1,3 V. Con estos niveles se conseguirá que la señal de salida del integrado varíe entre 80 y 250 Voltios pico a pico.

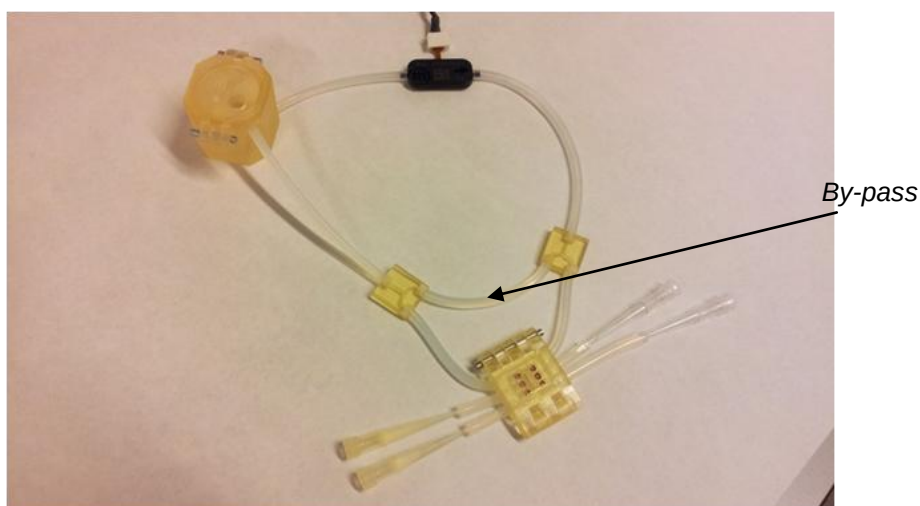
En el segundo punto del capítulo 4 se explica la electrónica necesaria para transmitir las señales al mp6-OEM.

Para conocer si los niveles de flujo se adaptan a los requeridos, se ha realizado una caracterización completa de la bomba, en la que se observa el comportamiento de

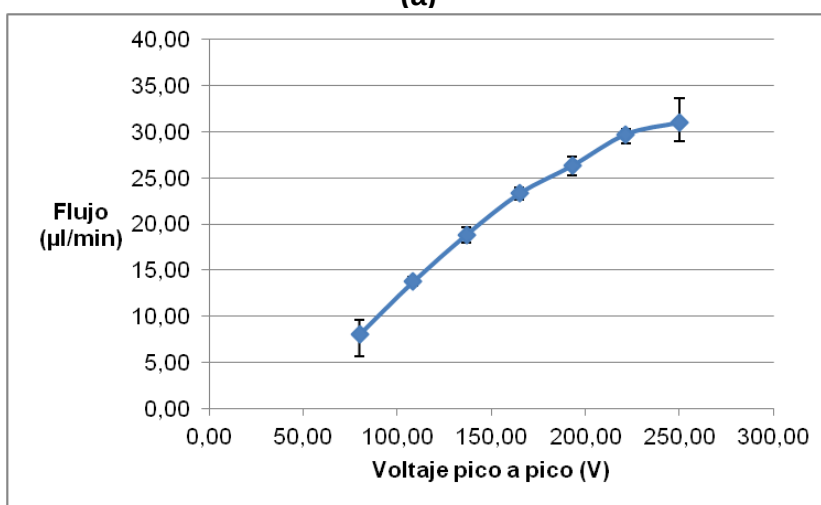
ésta ante cambios en la amplitud y la frecuencia. Dicha caracterización se puede encontrar en el anexo B.

Para el estudio de la bomba, se han montado diferentes *setups*. Para justificar las conclusiones del experimento, se muestran en esta memoria dos gráficos correspondientes a dos *setups* diferentes. En la figura 13 se observa un el primer *setup* montado junto con su correspondiente caracterización y en la figura 14 aparece el segundo *setup* montado y su caracterización.

El primer *setup* (figura 13) se monta utilizando un *by-pass* que consiste en hacer que parte del flujo aportado por la bomba circule por un camino alternativo y no por el encapsulado. De esta forma se reduce el flujo que circula por el chip, consiguiendo así unos niveles de flujo más cercanos a 1 $\mu\text{l}/\text{min}$.



(a)

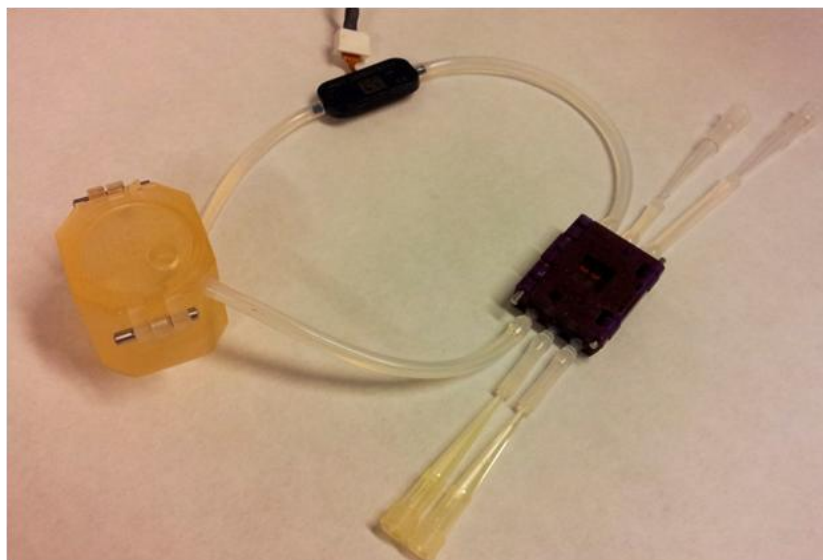


(b)

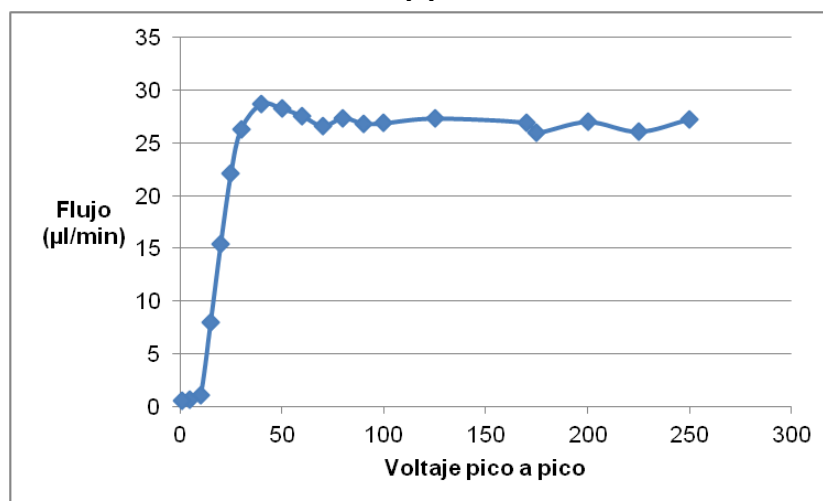
FIGURA 13: (a) *SETUP* MICROFLUÍDICO CON *BY-PASS*, (b) CARACTERIZACIÓN DE LA BOMBA DE MEMBRANA PARA EL *SETUP* MONTADO

En el gráfico de la figura 13 (b), la amplitud pico a pico varía manteniendo la frecuencia a un nivel fijo de 25 Hz. Se ha elegido este nivel de frecuencia dado que es el mínimo que permite el fabricante y, se supone, que cuanto más pequeña sea la frecuencia, menor será el flujo (en el anexo B se comprueba que esto no ocurre siempre). Como se puede observar, el flujo asciende a medida que lo hace la amplitud. Sin embargo, los niveles son demasiado altos. Además, como problema añadido, la aparición de burbujas en la zona del encapsulado hace que la totalidad del fluido circule por el *by-pass* haciendo que el flujo neto por el encapsulado sea nulo. Esto obliga a eliminar el *by-pass* del *setup*.

El segundo *setup* (figura 14) se monta habiendo eliminado el *by-pass* y utilizando un encapsulado que ofrece una mayor resistencia fluídica.



(a)



(b)

FIGURA 14: (a) *SETUP* MICROFLUÍDICO SIN *BY-PASS*, (b) CARACTERIZACIÓN DE LA BOMBA DE MEMBRANA PARA EL *SETUP* MONTADO

Análogamente al experimento anterior, se observa la variación de flujo al variar la amplitud, manteniendo un nivel de frecuencia fijo de 25 Hz. El hecho de que la resistencia fluídica del circuito sea mucho mayor hace que la bomba alcance rápido su límite de funcionamiento.

La conclusión a extraer de estos resultados es clara: el comportamiento de la bomba es fuertemente dependiente del resto del circuito fluídico y es imposible un control en lazo abierto. Dado que el objetivo del proyecto es que el flujo sea constante e independiente del resto de elementos del *setup*, es necesario conocer en todo momento los niveles de flujo por el encapsulado. Para ello, se requerirá un control en lazo cerrado, en el que la electrónica adquirirá gran importancia.

CAPÍTULO 4

MICROCONTROLADOR

En este capítulo se describe el microcontrolador utilizado en el proyecto, se justifica su elección y, finalmente, se explica el modo en que ha sido utilizado dentro del proyecto.

4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL MICROCONTROLADOR

Para que el *setup* funcione del modo exigido por las especificaciones del experimento a realizar es necesario un circuito electrónico que lleve a cabo el control de la bomba. El elemento principal del mencionado circuito es el microcontrolador, cuya principal función será la de regular el flujo del *setup*.

Para el desarrollo de la electrónica se ha elegido la placa de desarrollo “Arduino Nano 3.0” [2]. Esta placa está basada en el microcontrolador Atmel ATmega328 y ha sido diseñada y producida por Gravitech.

Sus características más importantes son: tensión de alimentación entre 7 y 12 Voltios, 14 pines de E/S digitales (de los cuales 6 proveen de salida PWM) que operan a 5V, corriente máxima de salida de 40 mA por cada pin de E/S, 8 pines de entradas analógicas, memoria Flash de 32 KB, memoria RAM de 2 KB, memoria EEPROM de 1 KB y una frecuencia de reloj de 16 MHz.

En la figura 15 se puede observar una vista en planta de la placa Arduino Nano, donde se indican sus principales componentes y los pines junto con su correspondiente funcionalidad.

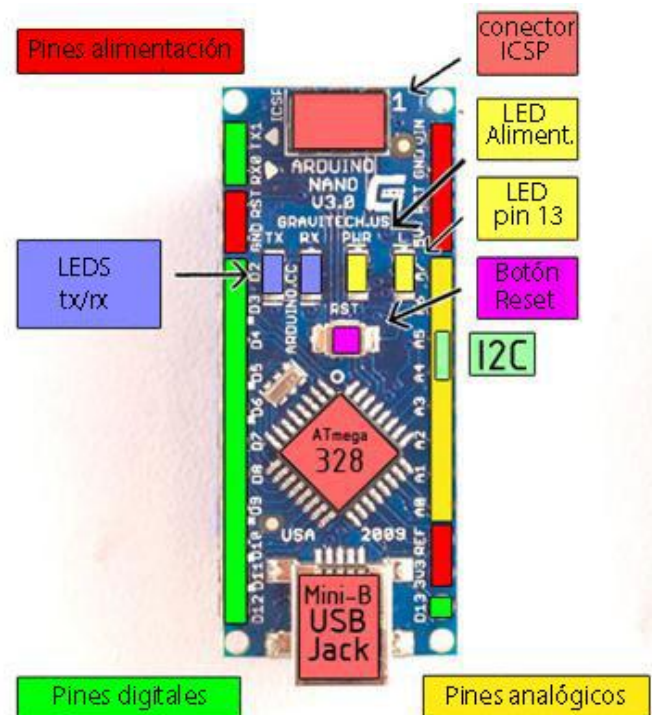


FIGURA 15: PLACA DE DESARROLLO ARDUINO NANO

Los anteriormente mencionados pines digitales tienen además otras posibles funciones especializadas.

Serial: 0 (RX) y 1 (TX). Usados para recibir y transmitir, respectivamente, datos TTL vía serie. Cada pin tiene un LED correspondiente integrado en la placa.

Interrupciones Externas: pines 2 y 3. Estos pines pueden ser configurados para activar una interrupción por paso a nivel bajo, por flanco de bajada o flanco de subida, o por un cambio de valor.

PWM: pines 3, 5, 6, 9, 10, y 11. Proveen de una salida PWM de 8-bits.

SPI: pines 10 (SS), 11 (MOSI), 12 (MISO), 13 (SCK). Estos pines soportan la comunicación SPI.

LED: pin 13. Existe un LED conectado al pin digital 13. Cuando el pin se encuentra en nivel alto, el LED estará encendido, cuando el pin está a nivel bajo, el LED estará apagado.

Cada una de las entradas analógicas tiene 10 bits de resolución (1024 valores diferentes). Además, algunos de estos pines poseen funciones especiales:

I2C: pines 4 (SDA) y 5 (SCL). Soporta comunicación I2C. Estos pines son de vital importancia para este proyecto. La comunicación I2C es explicada en el capítulo 5.

En la figura 15 podemos ver además otros elementos característicos de la placa:

Conector USB Mini-b: puede ser utilizado para programar el microcontrolador mediante el *software* Arduino. También permite recibir y transmitir datos vía serie con un PC.

Conector ICSP: permite programar el microcontrolador usando un programador ICSP.

Botón de reset: posibilita volver al inicio del programa al presionarlo.

El microcontrolador en la placa Arduino se programa mediante el lenguaje de programación Arduino (basado en Wiring e implementado en C/C++) y el entorno de desarrollo Arduino (basado en Processing) [3].

La programación se realiza mediante el *software* Arduino. Se trata de una plataforma de *software* libre que permite programar de una manera sencilla y flexible. Este *software*, además, incorpora librerías que permiten un lenguaje de programación más intuitivo.

Las placas Arduino se caracterizan también por ser una plataforma de *hardware* libre. Las placas pueden ser hechas a mano y los ficheros de diseño de referencia (CAD) están disponibles bajo una licencia abierta, por lo que pueden ser modificados.

4.2 APLICACIÓN PARTICULAR DEL MICROCONTROLADOR EN EL PROYECTO

La elección de este microcontrolador se debe a que sus principales características se adecúan al objetivo del proyecto.

Las dos características tenidas en cuenta para su elección han sido:

■ **Sencillez y rapidez de programación:** el lenguaje Arduino resulta muy fácil de programar. En un entorno interdisciplinar susceptible a continuos cambios, como el de este proyecto, es necesario que, si un cambio en la programación es requerido, éste pueda realizarse con la mayor rapidez posible.

■ **Dimensiones de la placa:** el tamaño de la placa es reducido (18,5mm x 43.2mm), con lo que se consigue reducir el tamaño del sistema y que sea más portable. Además puede permitir colocar la placa directamente en un PCB, pudiendo seguir siendo reprogramado el microcontrolador después de haber montado la placa.

Se han utilizado 5 pines de E/S digitales y dos pines analógicos:

■ El pin 8, utilizado como salida digital suministra al integrado de control de la bomba la señal de frecuencia necesaria según lo explicado en el capítulo 3. Para la programación se utiliza una función específica del lenguaje Arduino en la que indicamos la frecuencia en hercios que deseamos.

■ En el pin 9 se hace uso de la función de salida PWM. La Modulación por Ancho de Pulso (PWM = Pulse Width Modulation) es una técnica para simular una salida analógica con una salida digital. El control digital se usa para crear una onda rectangular. Este patrón de encendido-apagado puede simular voltajes entre 0 (siempre apagado) y 5 voltios (siempre encendido) simplemente variando la proporción de tiempo entre encendido y apagado. Por tanto la anchura del pulso se variará entre los valores necesarios para simular una salida analógica variable entre los valores 0,35 y 1,3 Voltios, tal y como se ha indicado en el capítulo 3. En la salida de este pin se coloca un circuito “detector de valor medio” con una resistencia de 10 K Ω y un condensador de 100 μ F.

■ El pin 10 se utiliza para controlar la patilla de alimentación del integrado de control, permitiendo así decidir si se desea que la bomba esté encendida o no.

■ Para poder cambiar externamente la principal variable a controlar, se ha hecho uso de los pines 2 y 3 en su función de interrupciones externas. Se han colocado dos pulsadores, para que cuando se presionen el microcontrolador modifique automáticamente la variable a controlar.

■ Los pines analógicos 4 y 5 han sido utilizados para hacer uso del bloque de comunicación I2C del microcontrolador. El uso de este bloque es explicado detalladamente en el capítulo 6.

El esquema en el que se puede ver cómo el microcontrolador ha sido conectado con el resto de elementos del circuito electrónico puede consultarse en el anexo D.

El código utilizado para programar el microcontrolador puede consultarse en el anexo E.

CAPÍTULO 5

PROTOCOLO DE COMUNICACIÓN I2C

En este capítulo se describe de una manera genérica el protocolo de comunicación I2C [4] y se explican las principales ventajas que va a aportar el uso de este protocolo en el proyecto.

5.1 DESCRIPCIÓN GENERAL

El **bus I2C**, un estándar que facilita la comunicación entre microcontroladores, memorias y otros dispositivos con cierto nivel de "inteligencia", sólo requiere de dos líneas de señal y un común o masa. Fue diseñado a este efecto por Philips y permite el intercambio de información entre muchos dispositivos a una velocidad aceptable.

La metodología de comunicación de datos del bus I2C es en serie y sincrónica. La señal SCL del bus marca el tiempo (pulsos de reloj) y la señal SDA se utiliza para intercambiar datos. En la figura 16 se muestra un esquema de conexión típico entre varios dispositivos que se comunican por medio del protocolo de comunicación I2C.

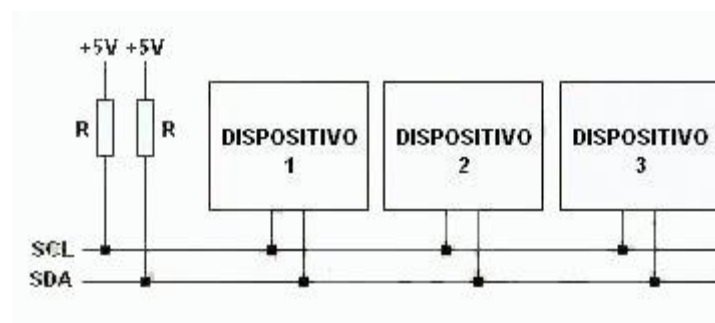


FIGURA 16: ESQUEMA TÍPICO DE COMUNICACIÓN I2C

Existen dispositivos maestros y dispositivos esclavos. Sólo los dispositivos maestros pueden iniciar una comunicación.

En la condición inicial, de bus libre, ambas señales están en estado lógico alto. Se permanecerá en ese estado hasta que el dispositivo maestro establezca la condición de inicio (*start*). Esta condición se presenta cuando un dispositivo maestro pone en estado bajo la línea de datos (SDA), pero dejando en alto la línea de reloj (SCL).

El primer *byte* que se transmite después de la condición de inicio contiene siete bits que componen la dirección del dispositivo que se desea seleccionar, y un octavo bit que corresponde a la operación que se quiere realizar con él (lectura o escritura). Si el dispositivo cuya dirección corresponde a la que se indica en los siete bits (A0-A6) está presente en el bus, éste contesta con un bit en bajo. Este bit de ACK le indica al dispositivo maestro que el esclavo reconoce la solicitud y está en condiciones de comunicarse. Aquí la comunicación se establece y comienza el intercambio de información entre los dispositivos.

En la figura 17 aparece la sucesión de bits en las líneas SDA y SCL en el comienzo del protocolo de comunicación.

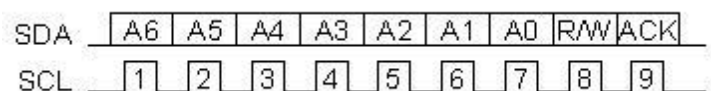


FIGURA 17: SUCESIÓN DE BITS AL COMIENZO DE LA COMUNICACIÓN

Si el bit de lectura/escritura (R/W) se pone en esta comunicación a nivel lógico bajo (escritura), el dispositivo maestro envía datos al dispositivo esclavo. Esto se mantiene mientras continúe recibiendo señales de reconocimiento, y el contacto concluye cuando se hayan transmitido todos los datos. En el caso contrario, cuando el bit de lectura/escritura está a nivel lógico alto (lectura), el dispositivo maestro genera pulsos de reloj para que el dispositivo esclavo pueda enviar los datos. El dispositivo maestro puede dejar libre el bus generando una condición de parada.

5.2 VENTAJAS DE LA COMUNICACIÓN I2C EN EL PROYECTO

Las ventajas que proporciona el utilizar el protocolo de comunicación I2C para este proyecto son básicamente dos:

- 1.- Este tipo de comunicación permite colocar multitud de dispositivos utilizando únicamente dos pines del microcontrolador.
- 2.- Flexibilidad frente a futuras modificaciones en el sistema, ya que es sencillo añadir nuevos dispositivos que trabajen utilizando el protocolo de comunicación I2C sin que haya que hacer modificaciones en el *hardware* ya construido.

La programación del microcontrolador resulta sencilla puesto que el *software* Arduino incorpora una librería dedicada a la comunicación I2C (librería "WIRE"). Con el uso de

esta librería solo tenemos que iniciar el protocolo, indicar la dirección del dispositivo I2C, especificar si queremos realizar una operación de lectura o de escritura y decir los *bytes* que queremos escribir o cuántos queremos leer. Para terminar, se finaliza la transmisión.

CAPÍTULO 6

SENSOR DE FLUJO

En este capítulo se realiza una breve descripción de las características del sensor y de su principio de funcionamiento. Se indica cómo ha sido utilizado y, finalmente, se muestra una gráfica en la que se ve una comparación entre medidas tomadas “manualmente” y medidas tomadas con el sensor.

6.1 DESCRIPCIÓN DEL DISPOSITIVO

El sensor de flujo va a ser el elemento que permita el control del flujo en el *setup* ya que va a permitir que el microcontrolador tenga en todo momento el dato del flujo que circula por el encapsulado.

El modelo comercial utilizado es el **LG16-0430**, del fabricante Sensirion [5]. En la figura 18 se puede observar el sensor utilizado en este proyecto.



FIGURA 18: IMAGEN DEL SENSOR LG16-0430

Estos sensores están basados en tecnología CMOSens[®], patentada por Sensirion. Un elemento calentador suministra una pequeña cantidad de calor al medio para la medición del flujo térmico. Dos sensores de temperatura, simétricamente situados antes y después de la fuente de calor, detectan pequeñas diferencias de temperatura que se producen, proporcionando así la información básica sobre la propagación del calor, que a su vez está directamente relacionada con el flujo. Este principio de funcionamiento se representa gráficamente en la figura 19.

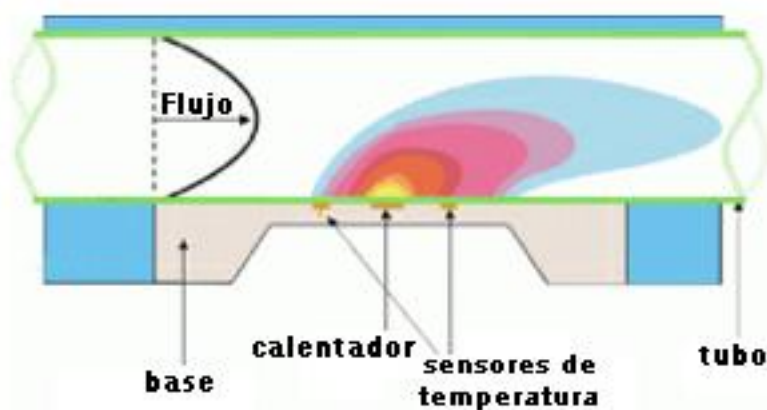


FIGURA 19: PRINCIPIO DE FUNCIONAMIENTO DEL SENSOR DE FLUJO

Las hojas de características relativas a este sensor se encuentran en el anexo C. De ellas se puede saber que los sensores permiten medida de flujos de hasta 50 $\mu\text{l}/\text{min}$, con una resolución de hasta 0,6 nl/min , rango entre el que se encuentra el flujo deseado para este proyecto.

Otra ventaja importante es que el sensor en ningún momento tiene contacto con el fluido, lo que asegura que la inclusión del dispositivo de medida no va a contaminar el medio que circula por él.

Para cada modelo de sensor existen dos tipos, el analógico y el digital. El modelo analógico proporciona una señal de tensión continua entre 0 y 5 Voltios directamente proporcional al flujo que circula. El modelo digital nos da una señal digital con una resolución de 16 bits. Además, el sensor incluye una memoria EEPROM interna en la que se encuentran diversos datos característicos del sensor como, por ejemplo, el número de serie.

6.2 APLICACIÓN PARTICULAR EN EL PROYECTO

El modelo elegido para el proyecto ha sido el digital (**LG16-0430-D**), que utiliza el protocolo de comunicación I2C para transmitir las medidas. El proceso completo de toma de medida se detalla más adelante.

Para el uso de este sensor digital, existen dos opciones. La primera de ellas es utilizar el *software* que el fabricante proporciona con el sensor. Este programa (USB Sensor Viewer), nos permite ver el flujo en $\mu\text{l}/\text{min}$ y guardar los datos en un archivo Excel. La segunda opción consiste en crear un protocolo de comunicación con el microcontrolador que nos proporcione el dato de la medida. La opción escogida ha

sido la segunda, ya que no nos vale solo con saber el dato, sino que el microcontrolador debe conocerlo para actuar de un modo o de otro.

El proceso de toma de medida consta de dos fases claramente diferenciadas. Primero, habrá que tomar el dato correspondiente al flujo y luego, habrá que dividirlo por el factor de escala, que se encuentra almacenado en la EEPROM interna del sensor. Además del factor de escala, la EEPROM también indica la unidad de medida en la que están siendo tomados los datos.

A continuación se explica detalladamente el proceso de toma de medida por parte del microcontrolador.

6.2.1 PROCESO DE TOMA DE MEDIDA

Para tomar el dato correspondiente al flujo que en cada momento está circulando, habrá que seguir los siguientes pasos:

- 1.- Comienzo del protocolo de comunicación I2C con la dirección 0x40.
- 2.- Operación de escritura del comando 0xF1.
- 3.- Operación de lectura de 3 *bytes* de la dirección 0x40. Los tres *bytes* recibidos serán, en este orden, *byte* con los 8 bits más significativos de la medida, *byte* con los 8 bits menos significativos de la medida, y *byte* de crc para detección de errores.
- 4.- Final de la comunicación.

Los dos primeros *bytes* recibidos deberán juntarse para hacer una palabra que se transformará en un entero.

6.2.2 LECTURA DEL FACTOR DE ESCALA Y DE LA UNIDAD DE MEDIDA

Tanto el factor de escala como la unidad de medida se encuentran en una dirección de la EEPROM interna. Para conocerlos primero habrá que saber cuál es esa dirección. El proceso se resume en los siguientes pasos:

- 1.- Lectura del "User Register". Este proceso se realiza de forma análoga al proceso de toma de medida anteriormente descrito, con el único cambio de que el comando a escribir será 0xE3 en lugar de 0xF1.

- 2.- Se toman los bits <6:4> y se hace un entero con ellos.
- 3.- Se multiplica el entero obtenido por 0x300 para conocer la dirección base.
- 4.- Se suma un offset de 0x2B6 para conocer la dirección EEPROM. Esta dirección tendrá un tamaño de 12 bits, por lo que habrá que añadirle 4 bits más (de valor 0) para tener una palabra de 16 bits. Esta palabra será dividida en dos *bytes*, que serán los que haya que escribir posteriormente.
- 5.- Se comienza otra comunicación con la dirección 0x40.
- 6.- Se escribe el comando 0xFA.
- 7.- Se escriben los dos *bytes* correspondientes a la dirección EEPROM. Primero se escribirá el *byte* más significativo y después el menos significativo.
- 8.- Se realiza una operación de lectura de 6 *bytes* de la dirección 0x40. En esta operación se obtendrán los datos correspondientes al factor de escala (*bytes* primero y segundo, seguido de uno de *crc*) y a la unidad de medida (*bytes* cuarto y quinto, seguido de uno de *crc*).
- 9.- Se finaliza la comunicación.

Se juntarán los *bytes* del factor de escala para formar una palabra de 16 bits que será transformada en un número entero. El número entero correspondiente a la toma de medida realizada anteriormente será dividido por el entero del factor de escala, obteniendo así un número decimal codificado en coma flotante (tipo de dato *float*) que será el valor real del flujo que circula en cada momento.

Respecto a la unidad de medida, habrá que tomar los dos *bytes* correspondientes y hacer una palabra de 16 bits. Estos bits nos darán la información para que, utilizando las tablas de la figura 20, podamos conocer la unidad de medida.

Bit <3:0> (x*1)	Dimension	Prefix
0 – 3	t.b.d.	
3	1e-9	n
4	1e-6	μ
5	0.001	m
6	0.01	c
7	0.1	d
8	1	1
9	10	-
10	100	h
11	1000	k
12	1e6	M
13	1e9	G
15 – 15	t.b.d.	

Bit <12:8> (x*256)	Volume / Pressure	Comment
0	norm liter (0°C, 1013 hPa)	typically for gas flow
1	standard Liter (20°C, 1013 hPa)	typ. gas flow
2 – 7	t.b.d.	
8	liter (liquid)	typ. liquid flow
9	gram	typ. liquid flow
10 – 15	t.b.d.	
16	pascal	pressure
17	bar	pressure
18	meter H2O	pressure
19	inch H2O	pressure
20 – 23	t.b.d.	

Bit <7:4> (x*16)	Time Base	Comment
0	no time base	e.g. pressure / totalized flow
1	per microsecond	
2	per millisecond	
3	per second	
4	per minute	
5	per hour	
6	per day	
7 – 15	t.b.d.	

Bit <15:13> (x*8192) are not defined

Examples:

Unit	Code
nl/s	$8*256 + 3*16 + 3 = 2099$
m3/s	$8*256 + 3*16 + 11 = 2107$
mln/min	$0*256 + 4*16 + 5 = 69$
sccm	$1*256 + 4*16 + 6 = 326$
hPa	$16*256 + 0*16 + 10 = 4106$

FIGURA 20: TABLAS PARA DESCODIFICAR EL DATO UNIDAD DE MEDIDA

Por ejemplo, si el dato obtenido correspondiente a la unidad de medida es 0b000_01000_0100_0100, las tablas nos indican que la unidad de medida es μl/min.

El código del programa que realiza la tarea descrita y los diagramas de flujo correspondientes pueden consultarse en el anexo E.

6.3 CARACTERIZACIÓN

Para comprobar que los sensores funcionan correctamente se ha tomado un gráfico (figura 21) en el que se comparan unas medidas tomadas manualmente (del modo explicado en el capítulo 3) con la bomba peristáltica con otras medidas tomadas con el sensor en las mismas condiciones.

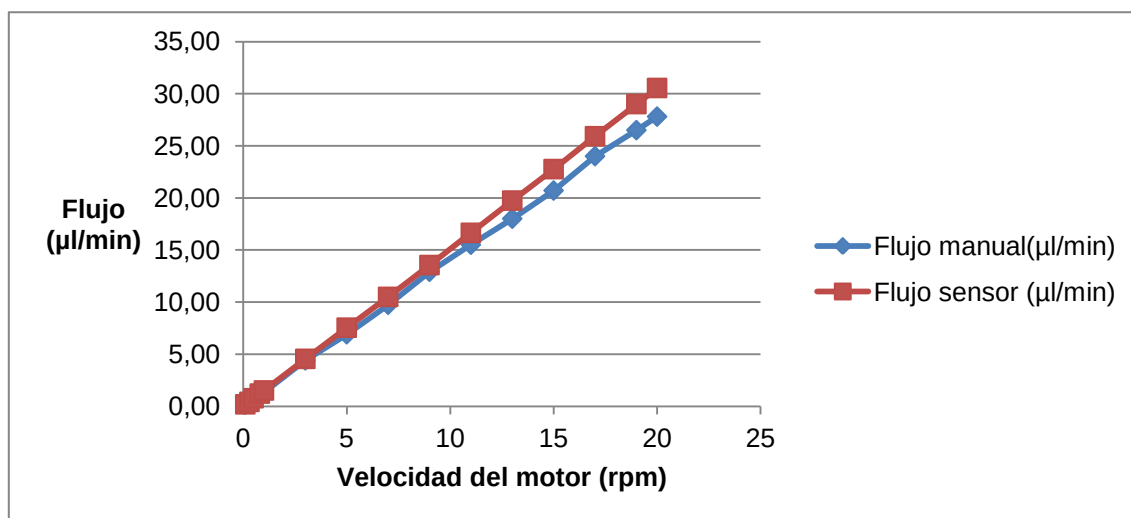


FIGURA 21: GRÁFICO COMPARATIVO DE MEDIDAS MANUALES Y MEDIDAS TOMADAS CON SENSOR

Se puede observar que los resultados son similares. El hecho de que las medidas manuales presenten flujos más bajos que las tomadas con el sensor puede deberse a que durante la duración del proceso de toma de medida manual, una pequeña cantidad de agua se evapora, produciéndose un error experimental. Este error en ningún punto supera el 10%, por lo que es asumible.

Con este sensor funcionando correctamente, ya se puede volver al estudio para conseguir controlar el flujo y hacer que tenga los niveles deseados.

CAPÍTULO 7

CONTROL EN LAZO CERRADO

En este capítulo se describe la estrategia a seguir para lograr el control del flujo manteniéndolo en niveles del orden de $1\mu\text{l}/\text{min}$. Se presenta el nuevo parámetro de entrada (ciclo de trabajo) que se utilizará para la variación del flujo en la salida, se justifica la inclusión en el *setup* del amortiguador y de la válvula antirretorno y, para finalizar, se describe el *setup* completo con el que se logra tener un control total y preciso del flujo.

7.1 IMPOSIBILIDAD DE CONTROL EN LAZO ABIERTO

Tras el estudio realizado acerca del comportamiento de la bomba en el capítulo 3, se había llegado a la conclusión de que era imposible controlarla mediante la variación de amplitud y/o frecuencia ya que el comportamiento de la bomba cambiaba mucho dependiendo de la resistencia fluídica del circuito. Además, existen múltiples perturbaciones que afectan a la variable a controlar, como pueden ser la temperatura, la altura a la que se colocan los diferentes elementos, etc. Por ello, el control en lazo abierto que se representa en la figura 22 resulta imposible.



FIGURA 22: DIAGRAMA DE BLOQUES DEL CONTROL EN LAZO ABIERTO

7.2 UTILIZACIÓN DEL PARÁMETRO “CICLO DE TRABAJO”

Dado que se ha desechado la posibilidad de controlar el flujo mediante la variación de frecuencia y amplitud, habrá que buscar una nueva variable de entrada que nos permita cambiar la variable de salida.

La decisión tomada consiste en mantener fijos los niveles de frecuencia y amplitud (solo variarán en casos puntuales) y encender y apagar la bomba según el *setup* lo

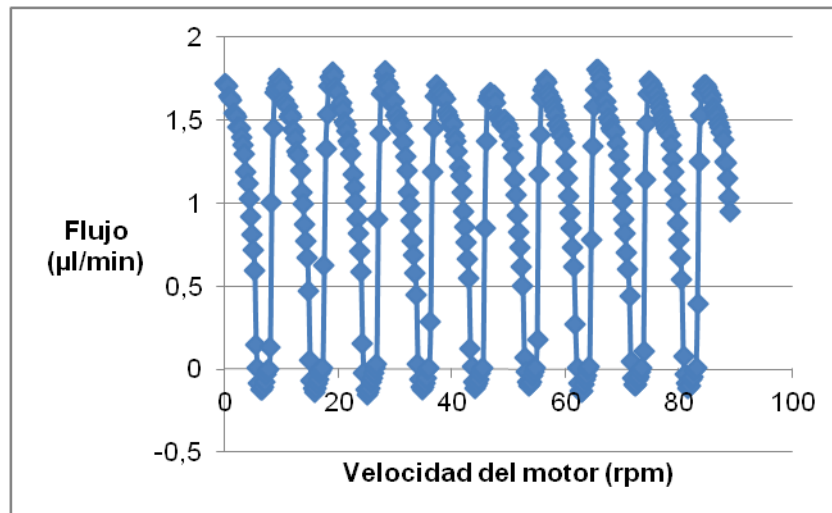
requiera para satisfacer la demanda de flujo. Para esto, se conectará el pin de alimentación del integrado de control mp6-OEM a una salida digital del microcontrolador y se aplicará una señal PWM. La frecuencia de esta señal se ha fijado a 31 Hz, que es la mínima posible que el microcontrolador permite para señales PWM. Así pues, variando el tiempo que la bomba está en funcionamiento, se variará el flujo que ésta suministra.

7.2.1 EL AMORTIGUADOR Y LA VÁLVULA ANTIRRETORNO

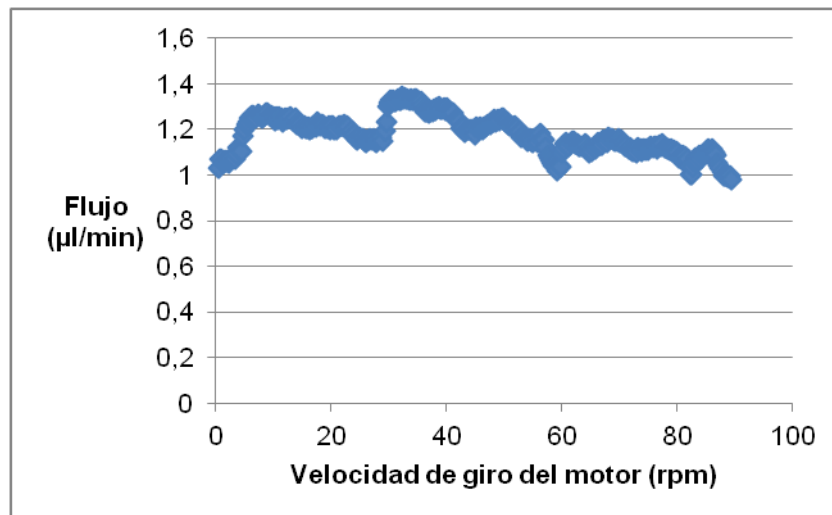
El control ON-OFF de la bomba explicado en el punto anterior trae un importante inconveniente. El continuo encendido y apagado de la bomba produce cambios bruscos en el flujo, lo que resulta inaceptable para experimentos de cultivo celular. Aparece aquí la necesidad de colocar un elemento que atenúe esos cambios bruscos, por lo que se toma la decisión de colocar un amortiguador a la salida de la bomba.

Para ver el efecto que el amortiguador tiene sobre los cambios bruscos se han realizado unas mediciones de flujo utilizando la bomba peristáltica, que resulta muy útil en este caso debido a los “golpes” que provoca el motor paso a paso que la controla. En las gráficas de la figura 23 se pueden ver la variación del flujo en el tiempo (4 medidas por segundo durante un minuto y medio) sin amortiguador (a) y con él (b).

La diferencia entre el valor máximo y el mínimo en el primer caso es de 1,963 $\mu\text{l}/\text{min}$, mientras que con la inclusión del amortiguador esta diferencia se reduce hasta los 0,366 $\mu\text{l}/\text{min}$. Tanto las gráficas como los resultados numéricos verifican que la inclusión del amortiguador mejora la continuidad del flujo.



(a)



(b)

FIGURA 23: CARACTERIZACIÓN DE LA VARIACIÓN DE FLUJO CON EL TIEMPO DE UNA BOMBA PERISTÁLTICA, (a) SIN AMORTIGUADOR, (b) CON AMORTIGUADOR

El control mediante la variación del ciclo de trabajo trae, además, otro problema. Durante los intervalos de tiempo en los que la bomba se encuentra apagada, pueden aparecer flujos negativos. Esto es debido a que la bomba no provoca presión alguna, por lo que una mínima presión producida por inercia en el circuito hará que aparezca un flujo en el sentido contrario al deseado. Para evitar esto se incluye en el *setup* una válvula antirretorno justo después de la bomba,

7.2.2 CARACTERIZACIÓN CON VARIACIÓN DEL CICLO DE TRABAJO

Con todo lo explicado, se procede a hacer una caracterización del *setup* variando el ciclo de trabajo. El resultado puede verse en la figura 24. El *setup* montado contiene ya todos los elementos descritos en el capítulo 2.

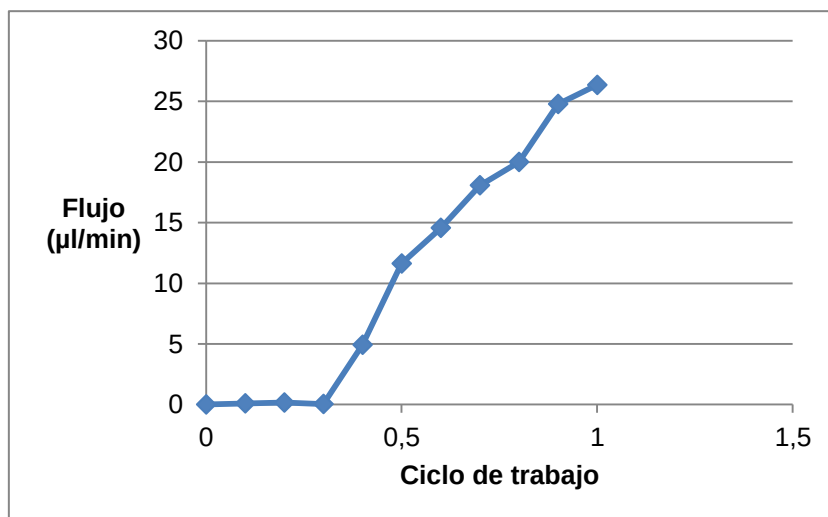


FIGURA 24: GRÁFICO DE VARIACIÓN DE FLUJO CON CICLO DE TRABAJO

Como se puede ver, el flujo varía linealmente en casi todo el rango de valores del ciclo de trabajo, que se sitúa siempre entre 0 y 1. Entre 0 y 0,3 el flujo es casi nulo debido a que la bomba no es capaz con esos valores de ejercer la presión necesaria para que aparezca flujo en el circuito.

7.3 CONTROL EN LAZO CERRADO

En la figura 25 se puede contemplar una imagen en la que se observa un *setup* en el que se ha aplicado un control en lazo cerrado.

Se trata de un circuito fluídico similar al descrito el capítulo 2, pero con el control electrónico añadido. Con este *setup* conseguimos que los valores de flujo sean los deseados en todo momento.

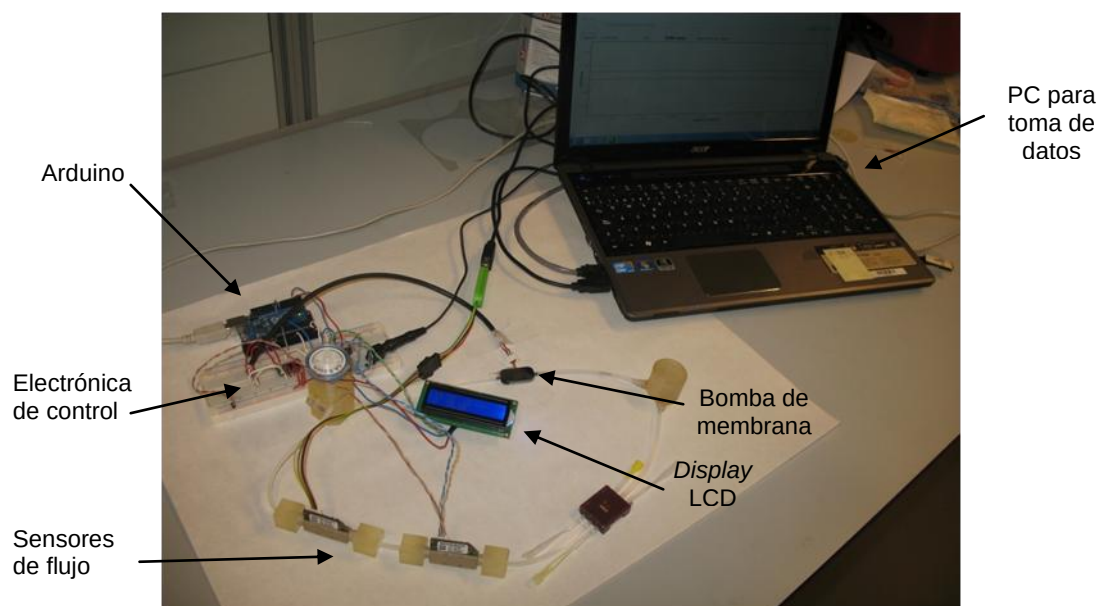


FIGURA 25: SETUP MICROFLUÍDICO CON CONTROL EN LAZO CERRADO

Como ya se explicó anteriormente, la bomba suministra el fluido que sale del reservorio y va a parar al encapsulado, donde se encuentra el chip en el que se encuentra el cultivo celular. El líquido, tras pasar por el encapsulado circula a través del sensor para volver al reservorio. Mediante el sensor de flujo tomamos los datos correspondientes al flujo que serán procesados por el microcontrolador. Dependiendo de estos datos el microcontrolador ordenará a la bomba actuar con un ciclo de trabajo determinado, volviendo a empezar aquí el proceso. Los cambios bruscos de presión son atenuados por el amortiguador y la válvula antirretorno evita que en los intervalos de tiempo en que la bomba está apagada se produzcan flujos negativos.

Para controlar el flujo se ha implementado en el programa del microcontrolador un regulador *PID* [6]. De esta manera, el usuario introducirá una consigna que se compara con el valor real de flujo. El regulador recibe el resultado de esta comparación y da un valor de ciclo de trabajo para que la bomba suministre un flujo. A medida que el proceso se repite el flujo a controlar se va acercando más a la consigna. El diagrama de bloques resultante está representado en la figura 26.

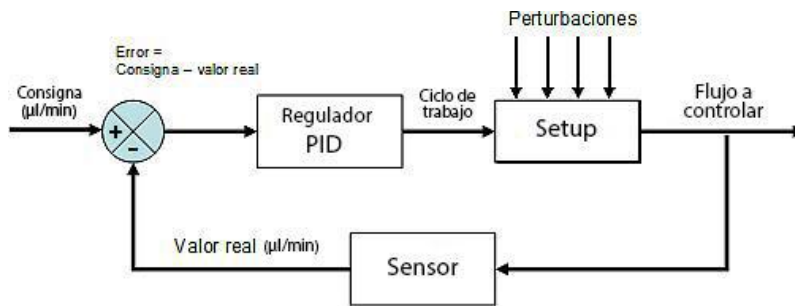


FIGURA 26: DIAGRAMA DE BLOQUES DEL CONTROL EN LAZO CERRADO

El programa del microcontrolador además incluye una función para eliminar burbujas. Éste detecta cuando el flujo cae sin justificación y pone la bomba a funcionar al máximo, con ciclo de trabajo del 100 %, amplitud de 250 Vpp y frecuencia de 120 Hz.

Además de los elementos ya mencionados hay que mencionar la presencia de otros. En un *display LCD* se puede observar en todo momento la consigna y el valor real del flujo. Este *display* trabaja con un protocolo de comunicación I2C, al igual que los sensores. Esto supone una ventaja adicional ya que se utilizan los mismos pines del microcontrolador que para los sensores. Para su programación dispone de una librería propia que hace muy sencilla su utilización.

Los datos que el sensor proporciona, además de ser procesados por el microcontrolador, son llevados a un PC. Estos datos se exportan a una hoja de Excel mediante la aplicación “**PLX-DAQ**”, que puede verse en la figura 27. Se trata de *software* de libre distribución.

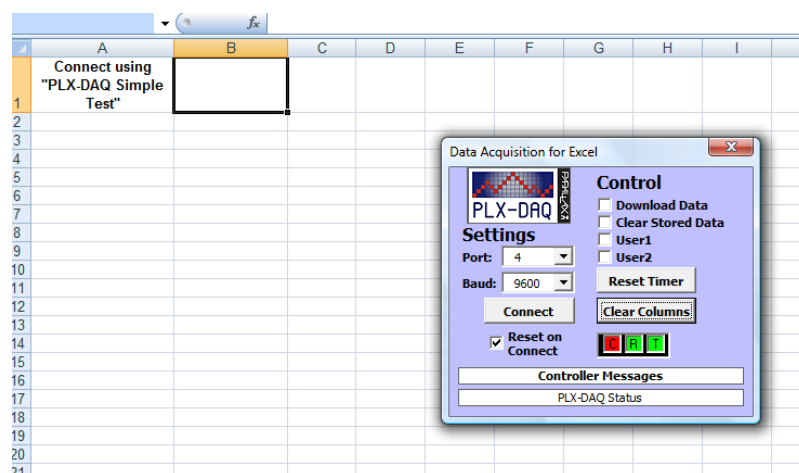


FIGURA 27: IMAGEN DE LA APLICACIÓN PLX-DAQ

El tiempo de muestreo se fija con el microcontrolador. Además del flujo en $\mu\text{l}/\text{min}$, también se extrae la hora a la que el dato ha sido transmitido al PC.

7.4 PCB DE CONTROL

Finalmente, toda la electrónica que nos permite este control de la bomba se ha colocado en una placa de circuito impreso cuyo diseño podemos ver en la figura 28.

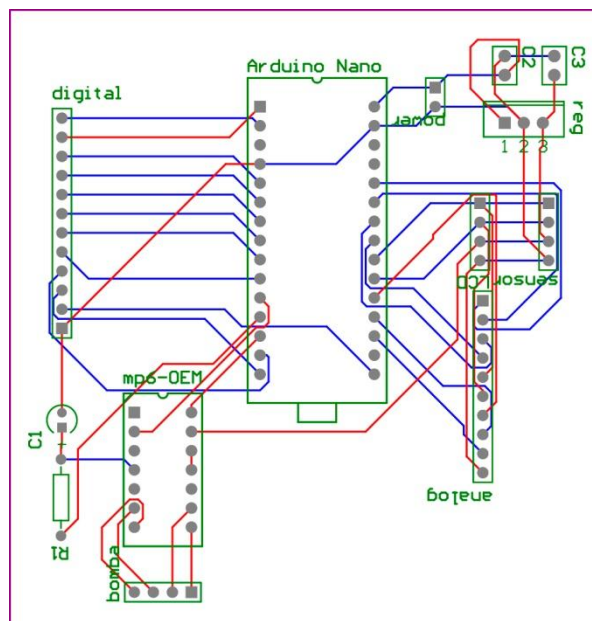


FIGURA 28: PCB DE CONTROL DEL SETUP

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO

8.1 CONCLUSIÓN GENERAL

Con este proyecto se ha avanzado en el desarrollo de una nueva herramienta para experimentos de cultivo celular. Concretamente, la contribución ha sido en el control del flujo de medio que les llegará a las células sembradas en el chip de microfluídica.

La inclusión de la electrónica en el *setup* microfluídico ha posibilitado la inclusión de un control en lazo cerrado. Este tipo de control permite al usuario ajustar la variable a controlar de una manera sencilla y eficaz, ya que solo deberá ajustar manualmente la consigna que indique qué valor desea que tome esa variable y el sistema se autorregulará para mantener ese nivel de flujo sin que ningún tipo de perturbación pueda afectarle.

El avance conseguido ha sido importante ya que en la realización de experimentos el usuario no tendrá que estar pendiente del estado del sistema porque tendrá la absoluta certeza de que los niveles de flujo son en todo momento los deseados.

Como valor añadido, el sistema puede tomar los datos y guardarlos en un archivo Excel durante todo el tiempo que dura el experimento, por lo que en caso de que éste no salga bien pueda comprobarse en qué momento se ha producido un fallo.

8.2 TRABAJO FUTURO

Para concluir, se proponen nuevas vías para continuar mejorando el sistema.

Una posibilidad es la inclusión de un sistema de válvulas que controlen las entradas y salidas del encapsulado, haciendo posible la perfusión de medio en tiempos controlados por los diferentes canales del chip.

Finalmente también sería conveniente incluir un menú con el que poder programar el experimento completo, con variaciones controladas en el flujo según los tiempos, y con la posibilidad de cambiar otras variables como el tiempo de toma de datos en el archivo Excel.