

Prototipo de un sistema de control de temperatura y humedad para una incubadora de cultivos celulares.

GUEVARA G. VICTORIA, HERNANDEZ M. RIVALDO, HERNÁNDEZ R. PAULA I.

Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, Coyoacán.

Sábado, 08 de junio de 2024

Resumen

En este proyecto se realizó un prototipo de incubadora para cultivos celulares con un sistema de control de temperatura y humedad con autogestión. El sistema se diseñó con una caja hecha de placas de aluminio dentro de una más grande de acrílico, equipado con compuertas y agujeros estratégicos para la manipulación del cableado y acceso al cultivo el cual se planteó colocar en una charola dentro de la caja metálica, intentando lograr un espacio hermético para éste.

Para el control de humedad, se diseñó un cajón con agua en la parte acrílica con una resistencia calefactora, colocada debajo de la caja metálica hacia la que, a través de huecos, sube el vapor. Por otro lado, para el control de temperatura se utilizó un ventilador y un elemento calefactor diferente.

Para controlar el sistema se hizo la configuración electrónica gracias a el microcontrolador ESP32 WROOM 32, aunado a componentes adicionales que funcionan como "interruptor" para cada etapa. El prototipo aquí logrado se hizo para obtener una incubadora con las características ya mencionadas, pero con un costo más accesible para el ámbito educativo gracias a su diseño austero.

Abstract

In this project, a prototype incubator for cell cultures was made with a temperature and humidity control system with self-management. The system was designed with a box made of aluminium plates inside a larger acrylic one, equipped with strategic doors and holes for the manipulation of the wiring and access to the crop, which was proposed to be placed in a tray inside the metal box, trying to achieve an airtight space for it.

To control humidity, a box with water was designed in the acrylic part with a heating resistance, placed under the metal box into which, through gaps, the steam rises. On the other hand, a fan and a different heating element are used for temperature control.

To control the system, the electronic configuration was made thanks to the ESP32 WROOM 32 microcontroller, together with additional components that function as a "switch" for each stage. The prototype achieved here was made to obtain an incubator with the characteristics already mentioned, but with a more accessible cost for the educational field thanks to its austere design.

I. Introducción

El estudio de tejidos a través de cultivos celulares es una de las principales aplicaciones de las incubadoras de cultivos celulares, pero en general, hay interés en estos equipos para hacer estudios *in vitro* para aplicaciones medico-biológicas o industriales.

Entonces podemos decir que las incubadoras son dispositivos que nos pueden ayudar a controlar las condiciones de temperatura, humedad y pH para mantener la subsistencia de los cultivos celulares. Con esta motivación, se procedió a realizar una incubadora con los materiales que se tenían al alcance y las herramientas aprendidas durante el curso de Elaboración y Desarrollo de Proyectos Experimentales.

En particular, para su desarrollo y automatización, es necesario hacer uso de la electrónica digital, donde todo el tiempo se usan operadores lógicos que se programan en la tarjeta, a través de 0 y 1 se le indica a los actuadores cuándo y de qué manera estar activos automáticamente, con un ciclo que sigue las lecturas del sensor para mantener las condiciones requeridas sin muchas fluctuaciones.

Podemos clasificar a la incubadora como un sistema de control y por ello es natural el deseo de usar un microcontrolador para su diseño, en este caso se eligió la tarjeta ESP32 WROOM 32 por su versatilidad, su capacidad de conexión vía Bluetooth o WiFi y sus múltiples pines que pueden ser usados como convertidores analógico-digitales o digital-analógicos (ADC o DAC) de acuerdo a lo que el usuario requiera, además estos últimos tienen capacidad de 2x12 bit para el ADC y de 2x8 bit para el DAC.

Como sensor se utilizó un AHT10 porque nos ayuda a medir temperatura y humedad al mismo tiempo y tiene un error de 2 para la humedad relativa y de 0.3 para la temperatura.

Por último, el sistema se debe probar con cultivos reales para mostrar que los resultados de este sistema de control sean satisfactorios.

II. Objetivos

- 1) **Objetivo General:** Diseñar y construir un prototipo de incubadora para cultivos celulares que permita mantener condiciones ambientales específicas y controladas, esenciales para el crecimiento y desarrollo adecuado de los cultivos.
- 2) **Objetivos Específicos:**
 - 1) Desarrollar un sistema de monitoreo y alarma para humedad y temperatura dentro de la incubadora, previendo que no se superen los umbrales establecidos para mantener las condiciones ambientales para el cultivo celular y avisar de temperaturas peligrosas fuera de este umbral.
 - 2) Añadir al sistema la regulación de temperatura y humedad en función de las necesidades del cultivo específico, garantizando una estabilidad en el rango requerido.
 - 3) Diseñar una interfaz de usuario que permita la configuración y monitoreo de los parámetros ambientales, así como el registro de datos.

III. Marco teórico

A. Cultivos celulares

Hablando sobre lo que son los cultivos celulares, de acuerdo con Monsalve, M. E. C. (2008) “Las células de animales o de plantas, después de ser removidas del tejido de origen, continúan viviendo si son cultivadas con los nutrientes y condiciones apropiadas. Al ser llevadas al laboratorio, el proceso es denominado cultivo celular.” (Pág. 29). De la cita anterior, podemos notar que se menciona la necesidad para mantener con vida a los cultivos cumplir con ciertas condiciones adecuadas. Pero ¿de qué condiciones estamos hablando? Bueno, pues Monsalve, M. E. C. (2008) nos dice que “Para su crecimiento, los cultivos celulares usualmente requieren de un ambiente óptimo que les brinde humedad, temperatura específica y una atmósfera con un porcentaje de CO₂ de 5-10, dado que el medio usado es estabilizado con el sistema tampón bicarbonato de sodio/ácido carbónico.” (Pág. 34).

A sabiendas de lo fundamental que resultan las condiciones de temperatura, humedad e incluso pH para mantener con vida los cultivos celulares, podemos hablar de las incubadoras que según Córdoba Baule, D. E., Flores Noriega, M. D. C. (2019) “Para lograr un adecuado estudio del crecimiento bacteriano y de muestras biológicas, es necesario crear ambientes idóneos para el control de las variables que modulan esta reproducción, siendo las incubadoras uno de los dispositivos más empleados para este fin.” (Pág. 11).

Córdoba Baule, D. E., Flores Noriega, M. D. C. (2019) consideran que la actualidad, algunos ejemplos importantes a mencionar de incubadoras son: las incubadoras secas, las incubadoras de humedad, las incubadoras de CO₂, las incubadoras roller y las incubadoras CelSafe® CO. De los ejemplos anteriores se rescata que las primeras 3 incubadoras tienen como destino común un control de temperatura (su nombre nos deja intuir su objetivo principal, pero para cumplir dicho objetivo hay que tener un control de temperatura haciendo un objetivo común) y la última es un modelo moderno de Esco el cual posee una interfaz de usuario con pantalla táctil. (Pág. 13-14).

En los ejemplos anteriormente mencionados se suelen tener implementados sistemas de automatización digital de algún tipo. Este tipo de sistemas se pueden lograr por medio de software tales como arduino, que de acuerdo con Arduino - home. (s. f.). “Arduino diseña, fabrica y brinda soporte a dispositivos y software electrónicos, lo que permite a personas de todo el mundo acceder fácilmente a tecnologías avanzadas que interactúan con el mundo físico.”³. Es decir, arduino es un software que nos puede ayudar con la programación de elementos electrónicos, así pasando de información digital a fenómenos físicos pragmáticos (se pueden aplicar de forma práctica). Para llevar a

cabo este proceso de programación digital de sistemas electrónicos son necesarios los llamados “microcontroladores” o los “microprocesadores”, que de acuerdo con AWS. (s. f.). Amazon Web Services, Inc “Los microprocesadores y microcontroladores son chips de computadora centralizados que proporcionan inteligencia a computadoras personales y dispositivos electrónicos. Están construidos con circuitos integrados de semiconductores y comparten ciertas partes internas.”⁴.

B. ESP32

Como ya se mencionó en la introducción, la tarjeta ESP32 es un microcontroladore el cual se define como “un dispositivo electrónico capaz de llevar a cabo procesos lógicos para desempeñar una tarea específica. Dicha tarea debe ser programada por el usuario a través de un lenguaje de programación”. Además, de acuerdo con Carranza, S. (2022, 17 septiembre) “ESP32 es la denominación de una familia de chips SoC (System on a chip / Sistema en un Chip) de bajo costo y consumo de energía, con tecnología WiFi y Bluetooth. El ESP32 fue creado y desarrollado por Espressif Systems.”⁵.

Además, está diseñado para aplicaciones del internet de las cosas (IoT) lo cual permitiría más adelante crear una interfaz aprovechando todas sus bondades incluyendo las anteriores y que posee una velocidad de hasta 150 Mbps, potencia de salida 20dBm, reloj de 80-240 MHz y los ADC y DAC mencionados en la introducción.

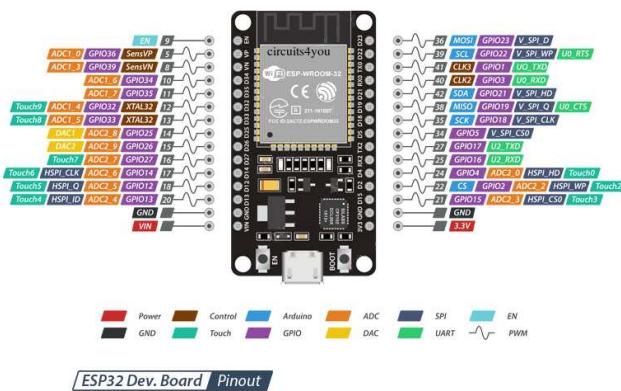


Fig. 1 Esquema de los pines de la tarjeta ESP32 WROOM

C. ADC y DAC

De acuerdo con Vega, K. D., López, A., Pedroza, J. E., De Santos, L. G., & Saucedo, R. R. Los dispositivos ADC digitalizan tensiones analógicas recibidas (es decir, pasan de lo analógico a lo digital). Además, el número de bits obtenidos digitalmente definirá el nivel de tensión analógica recibida. Se pretende que la digitalización por medio de bits sea lo más congruente posible con la tensión analógica recibida. Los métodos más usados para pasar de tensiones analógicas a codificaciones digitales son: Rampa de escalera, aproximaciones sucesivas, paralelo (flash), doble rampa, voltaje a frecuencia, tipo serie. En cuanto a lo que a la conversión respecta, consiste en la mera transcripción de señales analógicas a digitales con el objeto de facilitar el procesamiento para finalmente obtener una señal digital resultante con mayor resistencia a interferencias a las cuales las señales analógicas son más susceptibles. En cambio, los convertidores DAC pasan de señales digitales a señales eléctricas derivadas de una relación con la codificación digital antes obtenida. Estos actúan con información en forma serial o paralela dependiendo de la finalidad. (pág. 2-3)

D. PWM

Se trata de la regulación por ancho de pulso que suele ser utilizada para controlar los actuadores de un sistema que puedan adquirir diferentes valores de acuerdo a la medición y a qué tan lejos se está del umbral.

Ecarletti. (2019, 23 junio) menciona que dicho control de un actuador de CC consiste en que al recortar la CC de alimentación en forma de ondas cuadradas, la energía que recibe el motor variará de acuerdo con la parte alta para habilitar la corriente y la baja para tener cero corriente del ciclo de la onda cuadrada. De la anterior manera se regula el voltaje.⁷

E. MQTT

AWS. (s. f.). Amazon Web Services, Inc dice sobre el MQTT que "Se trata de un protocolo de mensajería basado en estándares, o un conjunto de reglas, que se utiliza para la comunicación de un equipo a otro."⁸

F. I2C

según HeTPro-Tutoriales. (2019, 31 mayo) "es un puerto y protocolo de comunicación serial, define la trama de datos y las conexiones físicas para transferir bits entre 2 dispositivos digitales. El puerto incluye dos cables de comunicación, SDA y SCL."⁹

IV. Desarrollo

A. Materiales del dispositivo

A continuación se enlistan los principales materiales y herramientas que fueron utilizados al desarrollo de este proyecto:

1. Herramientas de prototipado

- ESP32-WROOM-32
- Sensor de temperatura y humedad AHT10 I2C.
- Hojas de acrílico de 6 mm de ancho.
- Máquina de corte y grabado láser.
- Cajas de Petri de 10 cm de diámetro.
- Componentes electrónicos (resistencias, LEDs, transistores, diodos, relevador) y conectores.
- Ventilador de PC o *cooler* Intel Laminar RS1 LGA1700 M23905-001 12V, 0.35 Amp. AC DC ,(220 °C 5-28 W)
- Resistencia para cafetera.
- Elemento calefactor de

2. Herramientas de diseño

- Arduino IDE 2.2.1.
- Interfaz de pruebas del sistema de control implementadas en Node Red.

B. Diseño del dispositivo.

1. Estructura.

La incubadora está conformada por dos partes fundamentales: Una estructura cúbica principal de acrílico (Figura 2), la cual tiene dos puertas, una da acceso al interior de la incubadora y la otra da acceso a los circuitos que componen el dispositivo. Además, tiene un compartimiento en la parte inferior de la misma, la cual sirve para el almacenamiento de agua que permitirá generar el vapor de agua para la humedad que se necesita.

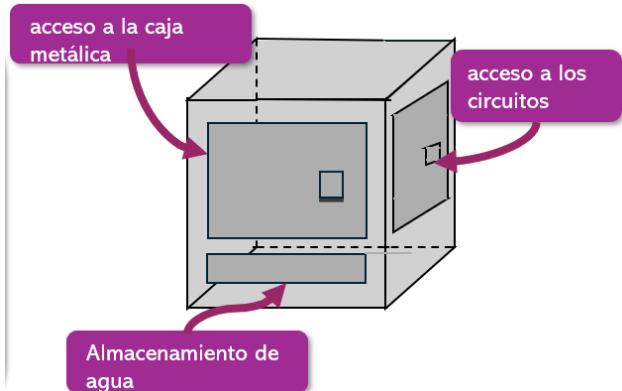


Fig. 2 Caja de acrílico

Además, dentro de la de acrílico, se dispuso una cavidad metálica compuesta de aluminio, en la cual se coloca una pequeña parrilla donde se posicionará el cultivo (Figura 3). Esta estructura tiene la función de mantener una distribución de temperatura uniforme dentro.

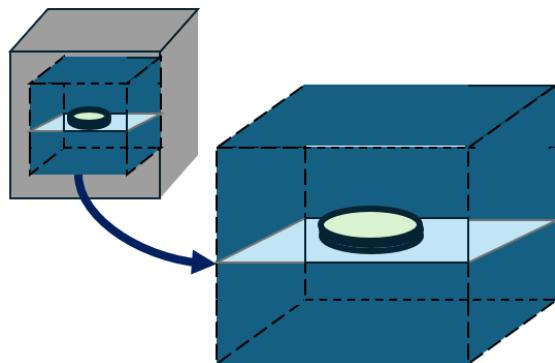


Fig. 3 Caja de aluminio

V. Sistema de control

1. Medición de temperatura y humedad

Dentro de la caja metálica se colocó un sensor AHT10 el cual da información sobre la temperatura y humedad interna. La comunicación se realiza a través del protocolo I2C, que permite la conexión de múltiples dispositivos utilizando solo dos líneas de datos (SDA y SCL) y líneas de alimentación.

2. Sistema de alarma

Etapa de monitoreo y alerta (Figura 4): Las mediciones de temperatura y humedad capturadas por el sensor AHT10 fueron transmitidas a una placa ESP32 mediante comunicación I2C. En la ESP32, los datos fueron procesados y registrados utilizando el entorno de programación Arduino IDE.

Además, se desarrolló un código que implementaba un sistema de alertas mediante LEDs y un buzzer que encendían con base en los valores de temperatura y humedad obtenidos:

- Se supera el umbral máximo de temperatura o humedad: LED rojo y zumbido.
- Se está por debajo del umbral mínimo de temperatura o humedad: LED azul y zumbido.



Fig. 4 Sistema de alerta y control a partir de las lecturas del sensor.

3. Sistema de control de temperatura:

El sistema de control de temperatura consta de dos partes: un ventilador y un elemento calefactor, que se rigen por la secuencia de la Figura 5, en donde se puede observar que, como se puede esperar, funcionan de forma contraria ya que el ventilador es la fuente de frío y el elemento calefactor la fuente de calor.

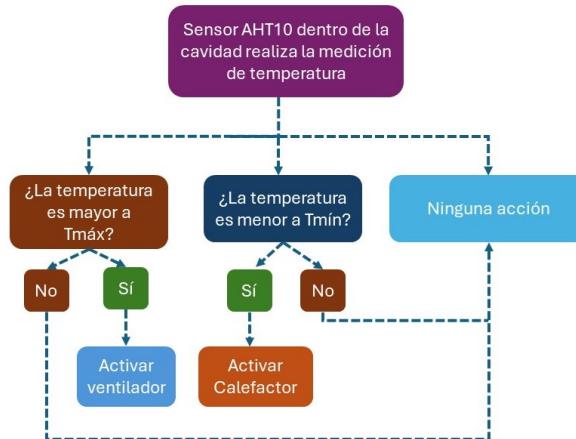


Fig. 5 Diagrama de flujo del funcionamiento de los actuadores de temperatura

Ventilador: Se colocó el ventilador Intel Laminar RS1 LGA1700 M23905-00 en la parte trasera de la caja metálica, se colocó en esta posición para permitir el flujo de aire dentro de la cavidad. Se controla el voltaje que llega al ventilador por señales PWM moduladas por un circuito (Figura 6) con un transistor que funciona como interruptor, esto funciona porque el transistor funciona para corrientes de 800 mA y el ventilador solo requiere 400mA.

Control del ventilador para disminución de temperatura

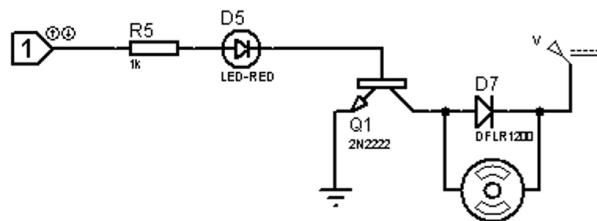


Fig. 6 Circuito para controlar ventilador (fuente de frío)

La velocidad va a depender de en qué parte del umbral se encuentre: si se supera el umbral máximo de temperatura, se alcanzará su velocidad máxima; si se está por debajo del umbral mínimo el ventilador estará en su velocidad mínima.

Elemento calefactor: Esta fuente de calor se colocó en la cara superior de la caja metálica, ya que se busca que el calor llegue al cultivo y este se pondrá en una parrilla en la parte central superior de la cavidad. También es controlado con señales PWM pero esta vez con un circuito que incluye un MOSFET que funciona como interruptor, se optó por esta opción debido a que el elemento calefactor trabaja con más corriente de la que nos podría dar el transistor usado para el ventilador ya que requiere 2.3A y el mosfet funciona bien porque trabaja con hasta 49A (Figura 7). Como ya se mencionó, trabaja en sentido contrario al ventilador, llegando a su máximo en el umbral mínimo de temperatura, y esta vez no se modula velocidad, sino la temperatura que alcanza, ya que puede llegar hasta a 220°C.

Elemento calefactor para aumento de temperatura

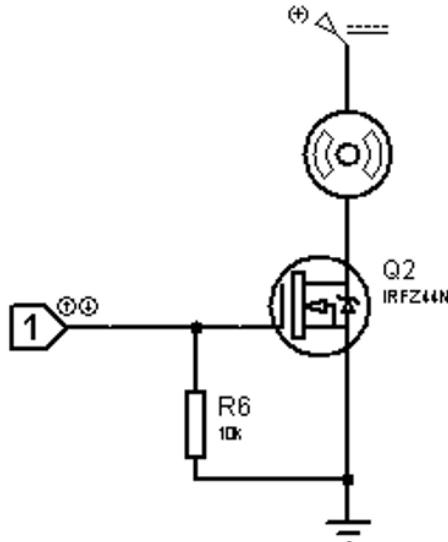


Fig. 7 Circuito para controlar elemento calefactor (fuente de calor)

4. Sistema de control de humedad:

En este caso también se tiene un sistema de alerta muy similar al de temperatura con LED's y buzzer pero esta vez para los umbrales de humedad. Pero para aumentar la humedad, se usó una resistencia para cafetera como actuador, que está dentro del cajón con agua, al calentarse hará ebullir el agua y generará vapor de agua que fluye hacia la cavidad donde se encuentra el cultivo a través de huecos que se hicieron en la cara inferior de la cavidad. Esta vez se controla la llegada del 1 o 0 con un relevador (Figura 8), ya que esta resistencia se conecta directamente al tomacorriente y requiere esta etapa además de aislar sus terminales del agua para evitar cortocircuito.

Control de resistencia de cafetera para generar vapor de agua

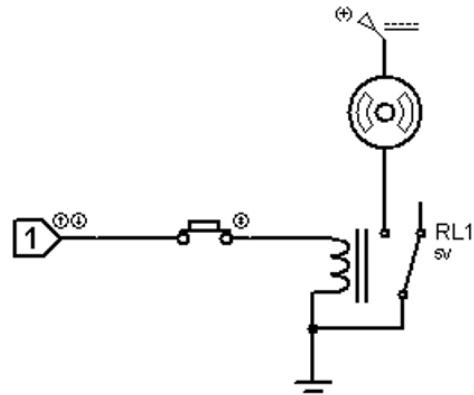


Fig. 8 Circuito para controlar resistencia para cafetera

5. Interfaz:

Se implementó Node-RED, una herramienta de programación visual basada en flujos, para visualizar los datos a partir del protocolo MQTT (Message Queuing Telemetry Transport) de la ESP32. MQTT es ideal para aplicaciones como la necesaria para nuestra incubadora gracias a sus características mencionadas en el marco teórico.

La ESP32 publica los datos de temperatura y humedad a un broker MQTT, que actúa como un intermediario distribuyendo los mensajes a los clientes suscritos. En nuestro caso, Node-RED se suscribe a estos temas y recibe los datos en tiempo real. La ventaja de este enfoque es que se pueden visualizar los datos sin necesidad de tener conectado el dispositivo directamente al microcontrolador, lo que permite un monitoreo remoto y en tiempo real.

En Node-RED, se diseñaron flujos que reciben estos datos, los procesan (por ejemplo, convirtiendo los valores a las unidades deseadas o calculando promedios) y los visualizan en gráficos y tablas.

VI. Resultados.

Se logró un Sistema de alerta y control efectivo ya que se logró implementar la alerta de LED's y buzzer tanto para temperatura como para humedad.

Además, para el control, se reguló el voltaje de los componentes de temperatura mediante un control de pulsos PWM (Modulación por Ancho de Pulsos). Esta técnica permite variar el ciclo de trabajo de una señal periódica, en este caso, la tensión aplicada al ventilador y al elemento calefactor. Al variar el ciclo de trabajo, se varía la potencia entregada a estos componentes, permitiendo un control eficiente de la temperatura. De modo que se realizó un mapeo entre valores del umbral de temperatura y sus respectivos valores de voltaje. Este mapeo permite una respuesta proporcional a los cambios de temperatura. Por ejemplo, si la temperatura está justo por debajo del umbral mínimo, el elemento calefactor opera a baja potencia. Pero si está muy por debajo, opera a máxima potencia. Esto evita fluctuaciones bruscas que podrían estresar los cultivos.

Para la parte de humedad, se obtuvo un buen funcionamiento del relevador para que el agua se calentara y subiera el vapor sin contratiempos. Dos puntos clave fueron logrados: evitar cortocircuitos aislando adecuadamente los terminales eléctricos del agua, y lograr que el vapor se distribuya uniformemente en la cámara de cultivo sin condensarse prematuramente o acumularse en zonas específicas. Este control de humedad es vital porque las células, al igual que cualquier otro organismo vivo, necesitan un ambiente húmedo para mantener su integridad y funciones.

Por último, la interfaz de Node-RED permitió la visualización de datos en tiempo real. A partir de lo obtenido en esta interfaz, se pudo observar que después de abrir la puerta de la incubadora para manipular los cultivos, la temperatura y la humedad tardaban en estabilizarse. Esta información permitió ajustar los protocolos de manipulación para minimizar el estrés en los cultivos.

VII. Conclusión

Se logró diseñar y construir el prototipo de una incubadora que ayuda a regular las condiciones para la subsistencia y crecimiento de cultivos celulares, en este caso se ha avanzado con el monitoreo y control de temperatura y humedad pero es solo el principio.

Este logro es significativo porque demuestra que es posible crear equipamiento de laboratorio avanzado con recursos limitados. La combinación de materiales de bajo costo (como acrílico y aluminio) con componentes electrónicos asequibles (ESP32, sensor AHT10) resultó en un dispositivo funcional que podría mejorar la investigación en cultivos celulares.

Además, es muy valioso tener una interfaz que permita al usuario modificar sus umbrales (proximamente) y monitorear sus datos con un sistema de alerta ya que esto le permite mejorar la calidad de sus cultivos sin preocuparse por estar siempre pendiente del mismo.

VIII. Propuestas a futuro.

Para mejorar este dispositivo se propone:

- Implementar el uso de luz ultravioleta para desinfección dentro de la cavidad.
- Hacer otro protocolo de detección y alarma para el nivel de agua en el cajón de humedad para evitar un corto circuito debido a que la resistencia para cafetera no tenga contacto con el agua.
- Realizar pruebas biológicas con cultivos celulares en la incubadora para comprobar la efectividad del sistema de regulación de temperatura, humedad y proximamente pH.
- Implementar un sistema de control de pH a partir de CO₂ o un buffer de bicarbonato.
- Distribuir mejor los elementos como la fuente de voltaje para el ventilador y el elemnto calefactor para que quede todo dentro de la incubadora y propiciar el hermetismo de la misma.
- Mejorar la interfaz para que el usuario pueda modificar los umbrales a distancia y/o con un panel físico, además de agregarle imágenes y gráficas útiles para el análisis de datos.

References

- 1) Monsalve, M. E. C. (2008). Cultivos celulares. *Fondo Editorial Biogénesis*, 29-46.
- 2) Córdoba Baule, D. E., & Flores Noriega, M. D. C. (2019). Diseño y construcción de un prototipo de incubadora microbiológica multiuso.
- 3) Arduino - home. (s. f.). <https://www.arduino.cc/>
- 4) Comparación entre un microcontrolador y un microprocesador. *Diferencia entre chips de computadora centralizados: AWS*. (s. f.). Amazon Web Services, Inc. <https://aws.amazon.com/es/compare/the-difference-between-microprocessors-microcontrollers/>
- 5) Carranza, S. (2022, 17 septiembre). *CONOCIENDO AL ESP32*. TodoMaker. <https://todomaker.com/blog/conociendo-al-esp32/>
- 6) Vega, K. D., López, A., Pedroza, J. E., De Santos, L. G., & Saucedo, R. R. ADC y DAC.
- 7) Ecarletti. (2019, 23 junio). *Control de motores de CC por Ancho de Pulso (PWM) | Robots Didácticos*. <https://robots-argentina.com.ar/didactica/control-de-motores-de-cc-por-ancho-de-pulso-pwm/>
- 8) ¿Qué es el MQTT? - Explicación del protocolo MQTT - AWS. (s. f.). Amazon Web Services, Inc. <https://aws.amazon.com/es/what-is/mqtt/>
- 9) HeTPro-Tutoriales. (2019, 31 mayo). I2C - Puerto, Introducción, trama y protocolo. <https://hetpro-store.com/TUTORIALES/i2c/>