

# Monitorización y control básico de biorreactores

Jesús Serrano Carballido

**Resumen**— El proyecto se basa en desarrollar un nuevo programa para monitorizar y controlar un equipo Biostat®, biorreactor y fermentador de alto rendimiento. Éste se utiliza en la investigación biotecnológica industrial y el desarrollo de procesos del departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental de la UAB, en un entorno de programación LabView®. La finalidad es poder aplicar mediante el programa desarrollado nuevos algoritmos de crecimiento de cultivos celulares de una forma más ágil, robusta y eficiente. Este proyecto surge de la necesidad del grupo de investigación de Ingeniería de Bioprocesos de realizar una renovación del software del biorreactor debido a los múltiples errores y fallas que estaba presentando éste últimamente. Por ello, el grupo de investigación ha creído conveniente poner en marcha el desarrollo de un nuevo programa de control.

**Palabras claves**— Ingeniería bioquímica, Biostat®, Fermentación, Cultivo, Biorreactores, Requisitos del software, Desarrollo ágil, LabView®, Señales erróneas, Base de datos, csv

**Abstract**—The project is based on developing a new program to control a Biostat®, a bioreactor and high-performance fermenter, which is used in industrial research and process development. It has been developed in the UAB Chemical, biological and Environmental Engineering Department with a LabView® programming environment. The aim is to be able to apply new cell culture algorithms in a more agile, robust and efficient way. This project leaves from the need of the Bioprocess Engineering group to carry out a program renovation due to the lack of robustness that the previous software has been presenting lately. For these reasons, the research group has considered the need to develop of the new control program.

**Index Terms**— Chemical Engineering, Biostat®, Fermentation, Cultivation, Bioreactors, Software Requirements, Agile Development, LabView®, Erroneous Signals, Database, csv

## 1. INTRODUCCIÓN

Un biorreactor <sup>[1]</sup> es un equipo (azul en la figura 1) que mantiene un ambiente biológicamente activo es utilizado para hacer crecer células o tejidos en operaciones de cultivo general con el objetivo de obtener biomasa o diferentes productos de interés, como insulina, biodiesel, hidrogeno, penicilina...

Actualmente los fabricantes industriales usan sensores y controladores, (elemento color naranja en la figura1), en el biorreactor para poder controlar y monitorizar el cultivo.

Todos los datos que se generan son recogidos y almacenados por computadora que gestiona la información capturada y a continuación, da las órdenes necesarias a los controladores para de este modo cultivar las células o tejidos que hay en el reactor, según el algoritmo definido para cada parámetro. Los biorreactores pueden tener una capacidad desde algunos mililitros hasta me-

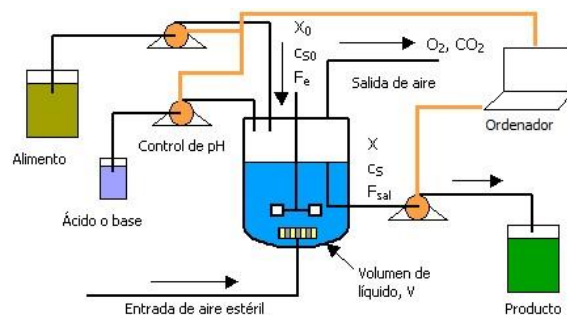


Figura 1.- Esquemática de las partes de un biorreactor

tros cúbicos, usualmente fabricados con acero inoxidable o algunos modelos más pequeños son de vidrio.

Básicamente un biorreactor busca mantener condiciones ambientales que permitan el crecimiento de células o tejidos, controlando pH, temperatura, concentración de oxígeno, etc.

Una función importante en un biorreactor es poder monitorizar el proceso. Para ello se utilizan los sensores del biorreactor que envían la información a un ordenador, que por ejemplo puede realizar los cálculos para predecir la densidad celular que hay en el biorreactor y enviar a los controladores las nuevas órdenes. Una vez la información

- E-mail: [jesus.Serranoca@e-campus.uab.cat](mailto:jesus.Serranoca@e-campus.uab.cat)
- Menció realizada: Ingeniería del Software.
- Trabajo tutorizado por: Enric Martí Godia
- Curso 2016/17

es recogida por el ordenador esta es presentada por indicadores, (gràficos, key paramater of interest (KPI), etc.). Una de las problemàticas que pueden darse es la recogida correcta de datos de los sensores, puesto que pueden dar errores por no estar los cables bien apantallados. Tambi3n a la hora de comunicarse con cada sensor se tiene que realizar de forma diferente, mediante protocolos COM, OPC, Ethernet, etc., y 3ste a su vez tiene sus propios paràmetros de env3o de informaci3n de parada, inicializaci3n y env3o de informaci3n.

El departamento de Ingenier3a Qu3mica, Biol3gica y Ambiental ha decidido realizar una renovaci3n del programa debido a la dificultad en actualizar el software utilizado hasta ahora. El programa ha ido evolucionando desde el 2010 por diferentes investigadores del grupo de investigaci3n de Ingenier3a de Bioprocesos y lo que empez3 siendo un peque1o programa para realizar un proceso sencillo ha evolucionado hasta lo que hoy d3a es. Durante toda esta evoluci3n no se ha realizado una documentaci3n adecuada ni se ha planificado ni planteado de forma satisfactoria, haciendo que cada persona realizara cambios puntuales y concretos en base de sus conocimientos. Por ejemplo, para parar el programa se tengan que presionar 3 botones de parada en diferentes pantallas pudiendo hacerlo con uno s3lo.

El presente proyecto se va a basar en uno de sus biorreactores, el BIOSTAT® modelo B de la marca Sartorius®, a petici3n de los investigadores.

## 2. OBJETIVO

Es monitorizar y controlar el Biostat® modelo B de la marca Sartorius®. 3ste, desarrolla normalmente cultivos de la levadura *Pichia pastoris*, “una levadura ampliamente utilizado para producci3n de prote3nas recombinantes, utilizando la tecnolog3a de ADN recombinantes” [1] El biorreactor es una herramienta importante en la investigaci3n del departamento. Ademàs, otro objetivo es que los usuarios del Biostat® conozcan exactamente el proceso que se efectúa, en cada momento para que puedan optimizar el bioproceso llevado a cabo en el biorreactor.

Se pretende con ello generar un nuevo aplicativo màs fiable y eficaz, que facilite la escalabilidad del programa en a1adir nuevas funcionalidades necesarias para el uso habitual de los investigadores.

Se plantea realizar un proyecto desde sus inicios, en la que se tendrà que recoger los requisitos que tiene el software actual y las nuevas funcionalidades necesarias que se piden, así como realizar los correspondientes casos de testeo e implementaci3n.

Se prevé encontrar dos dificultades a superar en este proyecto, que ya se han identificado. La primera es proveer las necesidades actuales y futuras de los usuarios, mediante

un enfoque de b3squeda de informaci3n, procesos hist3ricos y generando un sistema abierto a nuevas mejoras. Y la segunda es de nivel t3cnico, porque la falta de informaci3n de protocolos de los diferentes equipos (microburetas, biorreactores, etc.), de los cuales no hay informaci3n detallada por ser sistemas cerrados o descatalogados, dificulta el proyecto.

## 3. ESTADO DEL ARTE

Los biorreactores que se pueden encontrar en el mercado constan siempre de un sistema hardware, en donde se realiza el proceso bioqu3mico y todos los subsistemas para controlar el proceso, así como un software que realiza toda la gesti3n de monitorizaci3n y control del hardware.

Hay marcas comerciales que venden directamente la soluci3n, como pueden ser Laval Lab®[4], BIOCL®[3], Sartorius®[2] que tienen como punto fuerte la monitorizaci3n, calibraci3n y la modificaci3n de inputs de forma àgil y amigable, así como la selecci3n de algoritmos para la creaci3n de células. Uno de los inconvenientes màs importantes consiste en que los accesorios que se pueden agregar tienen que ser de la misma marca, incrementando el coste de las mejoras considerablemente y, cerrando las implementaciones de nuevas mejoras que aparecen realizadas por otras marcas.

Tambi3n se pueden encontrar soluciones no comerciales, basadas en la compra de diferentes componentes a diferentes empresas y construir un sistema adaptado a las necesidades espec3ficas. En estos sistemas el software necesario tiene que realizarse a medida. Al conectar los diferentes elementos elegidos, se puede implementar y crear diferentes algoritmos con un coste menor, pero teniendo como inconveniente la dificultad de generar la calibraci3n y la modificaci3n de los inputs de forma àgil y en algunos casos poco robusta.

Uno de los dispositivos màs utilizados en el biorreactor para aplicaciones de alimentaci3n en continuo o semicontinuo es la microbureta, un sistema de alimentaci3n dotado de una jeringa graduada, calibrada y motorizada, que permite dispensar cantidades de l3quido variables con exactitud y precisi3n.

En el mercado, este tipo de componentes ya no se pueden encontrar por estar descatalogados y progresivamente se van substituyendo por bombas peristàlticas con adecuados lazos de control en retroalimentaci3n.

En la tabla 1, se presenta una tabla comparativa entre la funcionalidad de comerciales y los no comerciales. En esta tabla se pretende mostrar la dificultad que tiene agregar una nueva funcionalidad en los sistemas comerciales y los sistemas no comerciales, con una breve explicaci3n del porqu3.

Funcionalidad	Sistema comercial	Sistema no comercial
Agregar nuevos accesorios (de misma marca)	Fácil	-no computa-
Agregar nuevos accesorios (de marca diferente)	Imposible, el software no reconoce diferentes marcas	Media, la complicación está en la generación de software para gestionarlo
Monitorización de diferentes outputs	Fácil, viene de fabrica	Media, la complicación está en la generación de software para gestionarlo
Monitorización de diferentes inputs	Fácil, viene de fabrica	Media, la complicación está en la generación de software para gestionarlo
Calibración	Fácil, viene de fabrica	Difícil, tienes que revisar estándar y generar el software
Agregar nuevos algoritmos	Imposible, el software no permite la creación de nuevos algoritmos	Media, la complicación está en la generación de software
Reporting	Te saca un listado con toda la información necesaria.	Media, el reporting lo tiene que realizar con herramientas de tercero lo más utilizado normalmente es el Excel
Reporting a tiempo real	Fácil, el sistema te permite presentar por pantallas diferentes reporting y personalizarlo	Media, se tiene que programar la funcionalidad
Tratamiento de datos	Difícil, el sistema no te da la información para después tratarla y lo tienes que sacar mediante herramientas de tercero	Fácil, siempre que ya guardes la información correctamente

Tabla 1.- Comparativa sistema comercial vs. no comercial

composiciones de oxígeno y dióxido de carbono en la fase gas, temperatura, revoluciones del agitador, presión, pH... es totalmente necesaria.

Así que la mayoría de las veces los investigadores deciden realizar una combinación de ambas opciones, creando su propio software específico, por la necesidad que tiene por la creación / investigación del crecimiento de los cultivos. Se utilizan softwares no especializados, que facilitan la creación de estos algoritmos y añaden una capa de abstracción, como puede ser LabView<sup>®</sup>[5] o MyOpenLab<sup>[3]</sup>. Utilizando los sistemas que incorporan los componentes independientemente para la monitorización y calibración de los elementos con el software propio del biorreactor.

Al utilizar, LabView<sup>®</sup> o MyOpenLab, pueden tener total control de los inputs y pueden utilizar accesorios de diferentes marcas, según sus necesidades. Por el contrario, el software generado muchas veces presenta problemas de escalabilidad y gestión de errores.

Investigaciones de Biológica y Ambiental realizados con el antiguo software [7] y [8].

#### 4. METODOLOGÍA Y PLANIFICACIÓN

Para este proyecto se ha optado por un desarrollo iterativo y creciente. Al principio del proyecto se realizó un análisis de requerimientos y se recopiló la mayor parte de información necesaria. Después cada una o dos semanas se ha ido realizando una reunión con el personal del grupo de investigación y se exponían todas las funcionalidades nuevas implementadas, definidas en la etapa anterior. Llegado a este punto, se revisaba todo lo realizado y se indicaban las mejoras o errores a revisar en la siguiente etapa. Además, para la nueva etapa, se definían los nuevos requerimientos a incluir y si existía alguna observación o requerimiento no mencionado hasta el momento, como se muestra en la figura 2.

A la hora de realizar la planificación, se ha tenido en cuenta la metodología a utilizar, para que el diagrama de Gantt se adapte lo más fehacientemente a los posibles cambios, haciendo que las secciones en el análisis de requerimientos que se obtuvieran pasarán a ser etapas del proyecto.

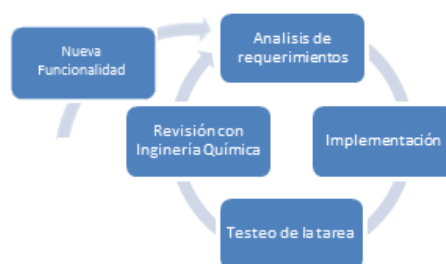


Figura 2.- Esquema de la metodología usada

En todos los casos, tanto comerciales como no, la monitorización del sistema caudales de gas, oxígeno disuelto,

## 5. REQUISITOS

El análisis de requerimientos ha sido un punto básico en el proyecto para poder llegar a los objetivos marcados de forma precisa y rápida. A continuación, se presenta una lista del personal, restricciones, suposiciones, requisitos funcionales y no funciones más representativos.

### 5.1 Personal involucrado

En esta sección, presentamos una lista de todo el personal involucrado en el proyecto y su rol, dentro del proceso

Rol	Personal clave	Departamento
Responsables proyecto	Xavier Garcia	DEQBA
	José Luis Montesinos	
	Francisco Valero	
Validadores	Xavier Ponte	DEQBA
	Xavier Garcia	
	José Luis Montesinos	
Desarrollador	Jesus Serrano	Informática

Tabla 2.- Rol del personal involucrado

Los responsables del proyecto me han introducido en el ámbito de la Ingeniería Bio/Química, dando soporte de conocimientos bio/químicos necesarios para realizar el proyecto y realizando el seguimiento del trabajo.

Los validadores han comprobado que los requisitos propuestos sean aplicados correctamente y han añadido comentarios para poder mejorar las aplicaciones que muchas veces han supuesto, a su vez, nuevos requerimientos.

### 5.2 Restricciones

Para realizar este proyecto se han tenido en cuenta las siguientes restricciones, software o por el hardware instalado:

- La plataforma y lenguaje que se utilizará en la aplicación debe ser National Instrument, Lab-View versión 8.6.
- El acceso restringido al biorreactor, microburetas y otros componentes, se deberá pedir acceso por que los investigadores lo estarán utilizando para realizar sus cultivos.

### 5.3 Suposiciones

En el inicio del proyecto se ha partido de una serie de suposiciones:

- Utilización del biorreactor de marca Biostat®, modelo B.
- Para el conocimiento de las necesidades actuales y futuras, se han tomado como base varios programas que se han realizado por el grupo de investigación y que realizan sus funciones de forma correcta.
- Para superar la problemática de las conexiones y protocolos, se han analizado las conexiones existentes con los diferentes actuadores.

### 5.4 Requisitos

Antes de entrar en los requisitos funcionales y no funcionales, se presenta una breve descripción de cada requerimiento, que viene referenciado por:

- Identificador [Id]:** Identifica de manera unívoca el requisito. El valor será una letra y un valor numérico e incremental será de 4 cifras. La letra será la R y el primer valor será el 0001, en caso de que sea una modificación la letra empezará por RM.
- Título [T]:** Da al requisito un nombre simbólico, para facilitar el entendimiento del requisito a la hora de hablar sobre él.
- Descripción [D]:** Se realiza una descripción detallada del requisito.
- Prioridad [P]:** Establece la prioridad del requisito del proyecto. Tomará valores entre 1 y 5, siendo la más alta el 1 y la más baja el 5.
- Riesgo [Ri]:** Indica el riesgo de la no implementación del requerimiento. Se puede ver como de particular es el requerimiento y si es crítico para el sistema, definiremos 4 niveles de impacto respecto al proyecto:
  - Crítico [C]:* Parte principal del sistema. El sistema no se puede utilizar si este requisito no se aplica.
  - Alto [A]:* Afecta a la funcionalidad principal del sistema. Alguna función del sistema podría ser inestable, pero el sistema funciona generalmente.
  - Medio [M]:* Tiene un impacto en las características del sistema, pero no a la funcionalidad principal. El sistema funciona con ciertas limitaciones
  - Bajo [B]:* El sistema se puede utilizar con algunas limitaciones de menor importancia.
- Referencia [Ref]:** Da la referencia de los casos de uso o los requisitos relacionados. Aparecerá la cláusula [ANTE], de antecedente, para indicar que el requisito que se muestra a continuación tiene que estar realizado, antes de poder implementar el requisito actual

#### 5.4.1 Requerimientos Funcionales

Id	R0001
T	Interfaz en ingles
D	Todos los textos que se presenten al usuario, dentro de la interfaz gráfica tienen que estar en inglés
P	3
Ri	M

Id	R0002
T	Microburetas: Conexión
D	Poder cambiar en tiempo de ejecución, la conexión de las microburetas, entre los diferentes puertos COM, que se hayan definido.
P	2
Ri	C

Id	R0003
T	Microburetas: volumen
D	Poder modificar en tiempo de ejecución el volumen de la microbureta, entre las medidas predefinidas de 500, 1000, 2500, 5000, 10000 $\mu$ l
P	2
Ri	A

Id	R0004
T	Doble indicador interfaz grafica
D	Cada elemento (agitación, O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , aire...) a controlar y/o monitorizar del biorreactor, constará de dos indicadores, uno de salida y otro de entrada. El de salida será para poder actuar sobre el elemento del biorreactor. El indicador de entrada será para poder monitorizar qué valor este teniendo el elemento. Hay casos que el valor no se puede alcanzar.
P	1
Ri	C
Ref	[ANTE]: R0005, R0006

Id	R0005
T	Cambio de valores Biorreactor
D	Los valores que se introduzcan al biorreactor tienen que ser aplicados lo más rápido posible, sin tener que esperar a la siguiente etapa o que pase más de 1 minutos. El alcanzar dichos valores no es la acción que estamos teniendo en cuenta en este requerimiento.
P	1
Ri	C

Id	R0007
T	Configuración de otros biorreactores
D	Se podrán realizar configuraciones para otros modelos de biorreactores, desde el panel de configuración.
P	5
Ri	B

Id	R0008
T	Desactivar microburetas
D	Desactivar/ deshabilitar las microburetas, con la selección de tipo de conexión como "NONE"
P	3
Ri	A
Ref	[ANTE]: R0002

Id	R0009
T	Metanol: Sensor
D	Configuración inicial del sensor de metanol y la desactivación del control, poniéndolo como Conexión "NONE"
P	2
Ri	C

Id	R0010
T	Ciclo de vida del proceso
D	Introducir el ciclo de vida que tiene cada etapa y la frecuencia que se ejecuta los correspondientes algoritmos.
P	1
Ri	C

Id	R0011
T	Guardado de Base de datos
D	Guardar toda la información que hay en cada ciclo, incorporando el estado del Biorreactor y las Microburetas.
P	2
Ri	A
Ref	[ANTE] R0010

Id	R0012
T	Backup de la Base de datos
D	En caso de desastre poder obtener un respaldo de la base de datos correspondiente.
P	2
Ri	A
Ref	[ANTE] R0011

Id	R0013
T	Cambio de configuración Microburetas
D	Se puede cambiar el tipo de proceso ( <i>Constant addition, Exponential addition, Complementary addition, stop</i> ) de forma manual. El tiempo para actualizarse a la nueva configuración tiene que realizarse como máximo antes de finalización del ciclo siguiente.
P	5
Ri	B

Id	R0014
T	Cambio de configuración Microburetas
D	Se puede cambiar el tipo de proceso ( <i>Constant addition, Exponential addition, Complementary addition, stop</i> ) de forma manual. El tiempo de actualización a la nueva configuración tiene que realizarse como máximo antes de la finalización del ciclo siguiente.
P	2
Ri	A

Id	RM0001
T	Analizador de oxígeno
D	Agregar un nuevo equipo, que es configurable y que sirve para monitorizar la composici3n de O <sub>2</sub> en la fase gas.
P	3
Ri	B

Id	RM0002
T	Agregar límite de error
D	Agregar un sistema que en caso de que los valores de las variables de operaci3n obtenidas pasen de unos márgenes, el valor no se registre en la base de datos ni se muestre por pantalla y presente el valor anterior
P	1
Ri	C
Ref	[ANTE] R0006

Id	RM0003
T	Agregar segundo sistema de Backup
D	Agregar un segundo sistema de copia de seguridad en formato csv, guardando la misma informaci3n que se realiza en los ficheros BD
P	1
Ri	A
Ref	[ANTE] R0011

Id	RM0004
T	Estandarizar configuraci3n abierta
D	Estandarizar el sistema para que no utilice el metanol como base de configuraci3n para la alimentaci3n al biorreactor y poder utilizar cualquier otro sustrato para realizar experimentos similares.
P	1
Ri	A

#### 5.4.2 Requerimientos no funcionales

Id	R0006
T	Visualizaci3n valores del biorreactor
D	Los valores que se visualizan en el biorreactor tienen que actualizarse en menos de 30 segundos.
P	1
Ri	C

## 6 IMPLEMENTACI3N

El diagrama de bloques (figura 3), est1 definido por una interfaz gr1fica que permite modificar la configuraci3n realizada y ver el estado de los elementos a controlar. Esta informaci3n pasa al 1rea principal, que se est1 ejecutando constantemente y que controla los componentes primordiales: Biorreactor, microburetas, etc1tera.

En cada finalizaci3n de proceso, toda informaci3n gene-

rada se vuelca a la base de datos. A partir de este almacenamiento, se extrae la informaci3n para la representaci3n gr1fica.

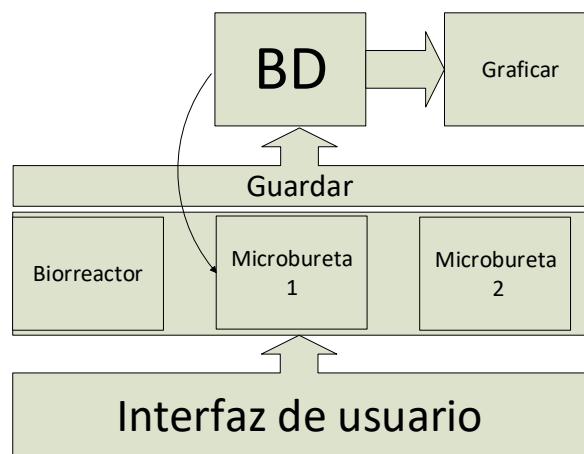


Figura 3.- Diagrama de bloques de la aplicaci3n

Se ha decidido que la informaci3n presentada en los gr1ficos sea extra1da directamente la informaci3n de la base de datos para asegurar en todo momento, que la informaci3n que se est1 representando es realmente la informaci3n guardada.

### 6.1 Arquitectura y dise1o

A un nivel de arquitectura, la aplicaci3n est1 dirigida mediante eventos (*patr3n event-driven architecture*). En la aplicaci3n podemos ver dos tipos de eventos:

- Generado por el usuario al cambiar el valor de configuraci3n, iniciar/parar el proceso, cambios de valores del biorreactor, etc.
- Generado por el programa, mediante timers, en que env1a la informaci3n a las microburetas o actualiza los indicadores del biorreactor.

Se ha decidido aplicar esta arquitectura por los siguientes motivos:

- Para poder realizar cambios de estado a tiempo real.
- Para simplificar en el desarrollo: podemos resolver de forma r1pida diferentes valores al ser un sistema dinámico, al no depender del tiempo y la sincronizaci3n de los estados.
- Para eliminar la sobre-escritura de c3digos, para realizar las mismas acciones en diferentes etapas del c3digo.
- Para facilitar la escalabilidad del c3digo ya que en caso contrario se puede llegar un punto que sea imposible comprender el c3digo.

Por el contrario, los problemas que tendremos en adoptar esta arquitectura ser1n:

- Dificultad de recuperación en caso de fallo parcial.
- Dificultad al proveer que pasará en respuestas no controladas.
- Dificulta las interacciones con otros eventos, aunque facilite la escalabilidad.

Además del event-driven architecture se ha seguido el diseño de asignación de responsabilidades, GRASP (*object-oriented design General Responsibility Assignment Software Patterns*), que intenta aumentar la cohesión y bajar el acoplamiento de la aplicación.

## 6.2 Etapas

Si analizamos en profundidad la figura 3, la aplicación consta de 4 etapas que se muestran en la figura 4.



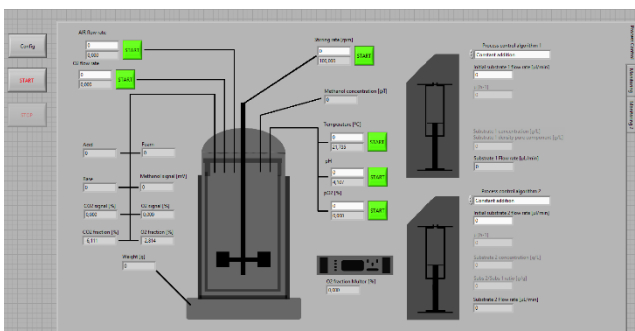
*Figura 4.- Etapas de la aplicación*

La primera etapa es configuración. Como se puede ver en la figura 5, el usuario tiene que configurar la localización de la base de datos, qué Bios-tat® y microburetas se utilizarán y el volumen máximo de la microbureta. Esta información se utilizará en futuras etapas.

La parte de configuración se presenta, en una etapa inicial. Pero puede ser modificada en cualquier etapa, debido al patrón *event driver-architecture*.

Además, también se tiene la posibilidad de inicializar el biorreactor con unos valores, antes de inicializar la activa-

ción, ver figura 6.



*Figura 6.- Pantalla principal*

Una vez, presionado botón start, se pasará a la segunda etapa (inicialización), y se inicializará el sistema pasando a la siguiente etapa (proceso) y se enviará toda la información a los controladores.

Esta etapa, proceso, es la más larga de todas y consta de un sistema cíclico de 5 subprocesos, que se inicializa en “Selección algoritmo” como se puede ver en la figura 7, se ejecuta cada  $(ciclo\ de\ vida)/4$  que se configura como se puede ver en la figura 5.

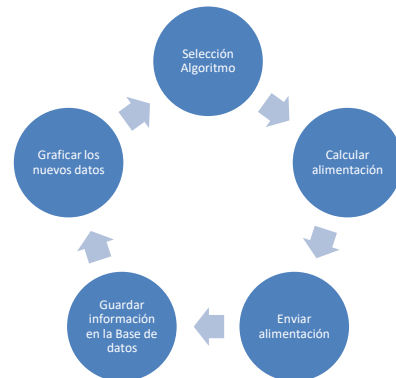


Figura 7.- Ciclo de vida de la etapa de proceso

En el primer subproceso, figura 7, se selecciona el algoritmo que se va a utilizar en todo este ciclo. Una vez seleccionado en función de este se define la alimentación, que puede ser:

- Constante: Se inyecta al medio un valor único.
- Exponencial: en cada etapa se va agregando un poco más, generando una curva que se adecua a un exponencial, según la ecuación:

$$Caudal = Caudal\ inicial^{\mu * tiempo}$$

Siendo *Caudal* la cantidad de fluido que circula a través de una sección de tubo y *mu*, la velocidad de crecimiento deseada en el cultivo.

- Complementaria: valor proporcional que inyecta la microbureta 2 respecto a la microbureta 1.

El segundo subproceso es calcular alimentación. Según el algoritmo seleccionado, calcula la alimentación de las microburetas y en la siguiente etapa se introduce al medio a controlar, en el biorreactor.

En el tercer subproceso, enviar alimentación, se envía la señal a las microburetas para que inyecten o no el alimento al cultivo, mediante un ciclo de 4 etapas, siguiendo la figura 8 y empezando por “cargar  $t=0$ ”.

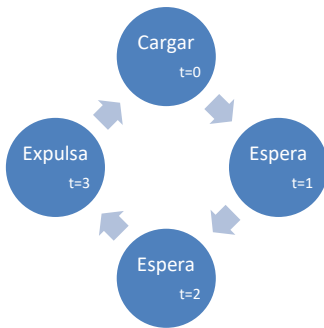


Figura 9.- Ciclo de las microburetas

Siendo una representación del siguiente algoritmo:

$IF(t \equiv 0 \bmod 4) THEN$ : cargar microbureta

$IF(t + 2 \equiv 0 \bmod 4) THEN$ : expulsar microbureta

Siendo  $t$  la cantidad de veces se ejecuta el timer.

En el cuarto subproceso se guarda el estado actual del biorreactor, la alimentación y el algoritmo utilizado en la microbureta. A la hora de guardar la información, se realiza en 3 pasos, figura 9, para poder asegurar que los datos son accesibles en caso de fallo.

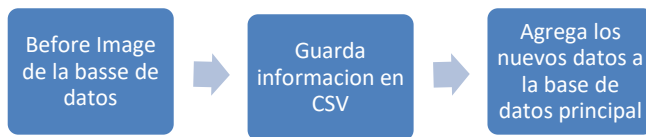


Figura 8.- Pasos a seguir en el guardado de información

Estos pasos son necesarios para cumplir el requerimiento R0012 y RM0003, asegurando que, en caso de desastre (ejemplo: corte de energía eléctrica), se tenga la información necesaria para que los investigadores puedan reactivar los estudios que estaban realizando. Dado que muchas veces el cultivo puede durar días o incluso semanas, es importante asegurar el respaldo de la información porque empezar el cultivo de nuevo es largo y costoso. De esta forma, con todos los datos procesados hasta el momento del desastre y toda la información guardada, los investigadores tienen medios suficientes para poder continuar sus estudios desde ese punto sin tener que empezar otra vez.

Finalmente se pasa al último subproceso y se grafica los datos a partir del argumento: tiempo. De esta forma se puede ver la evolución que está teniendo el sistema tal y como se muestra en la figura 10. Con objetivo de poder presentar al usuario la evolución que está tomando los diferentes actuadores del biorreactor los actuadores presentados en la Figura 10 de izquierda a derecha y de arriba a bajo son:

- Agitador
- $O_2$  y  $CO_2$

- Flujo de  $O_2$  y flujo de aire
- Base, Acid y Foam
- Temperatura
- pH

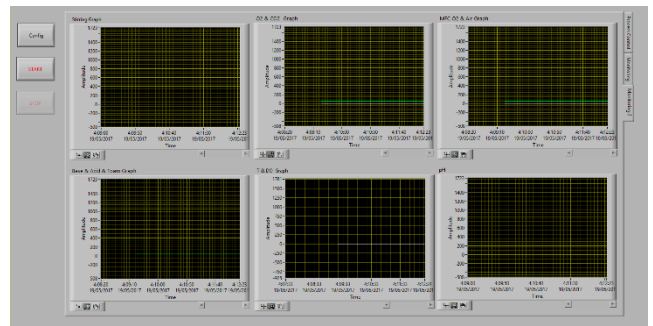


Figura 10.- Monitorización del biorreactor

Tras finalizar la etapa de *procesos*, cambiamos a la etapa de *Finalización* que pausa todo el sistema y para la aplicación.

### 6.3 Test

Para validar la aplicación se ha utilizado el sistema de “caja negra” [7].

Se ha optado por este sistema, debido a que el fabricante del LabView® no tiene un producto específico o un conjunto de herramientas encargadas del test.

Para solucionar este problema se ha realizado un pequeño programa en el que se introducen los valores y para cada valor se verifica si es correcto realizando los cálculos de forma manual y/o mediante un dispositivo del antiguo proceso, que los calculaba de forma correcta.

Además, hay componentes, como puede ser el biorreactor, que aparte de recibir o enviar la información correctamente no se ha podido realizar ninguna prueba más por ser un sistema no controlado por nosotros y no tenemos acceso a él.

En la parte visual o de representación de la información, no se ha utilizado ningún programa de test y ha sido el usuario y el desarrollador quienes han realizado esas pruebas ejecutando diferentes configuraciones de forma aleatoria.

## 7 RESULTADOS

Los resultados han sido satisfactorios, pero no completos.

- ✓ Se han realizado pruebas del biorreactor, dejándolo funcionando un día y no se han detectado problemas a la hora de recoger los datos, cumpliendo así uno de los requerimientos RM0002.
- ✓ Se han emulado varios cortes de luz, en medio del proceso, para de esta forma ver qué pasaba a la hora de recoger los datos.

- ✓ Se ha comprobado que en ningún momento se pierde información de los valores obtenidos, haciendo que al menos uno de los tres niveles de bases de datos siga operativa.
- ✓ Se ha realizado pruebas de estrés, encendiendo todos los mecanismos del biorreactor (Biostat®), microburetas y detectores de metanol y modificando los valores en tiempo de ejecución, sin subir el uso de memoria RAM más de 350MB la aplicación y sin obtener retraso de ejecución.

Nos hemos encontrado con la situación de que no se ha podido probar en un contexto real de cultivo, porque el biorreactor está siendo utilizado intensivamente por los estudiantes e investigadores del grupo de Ingeniería de Bioprocesos.

## 8 CONCLUSIÓN

Durante el proyecto se ha creado una nueva aplicación en lenguaje Lab View y se ha llegado a realizar una renovación profunda del programario del grupo de investigación de Ingeniería de Bioprocesos del departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, siguiendo sus requerimientos.

El proyecto que se ha realizado se encuadra en un marco de “proyecto continuado” porque es necesario que en el futuro evolucione y siga ampliándose, debido a los requerimientos del día a día por parte de los bioprocesos a realizar por el personal del grupo de investigación.

El desarrollo del proyecto ha sido muy orientado desde el principio a la “escalabilidad” para que nuevos desarrolladores (incluyendo a las personas del departamento) puedan ir incorporando nuevos módulos con base realizada en este trabajo.

Pensamos que deberán incorporarse en un corto espacio de tiempo, nuevos algoritmos de alimentación, como puede ser el control de tipo “closed loop”, que no entraba definido en el presente proyecto.

También se deberá permitir el cambio de las microburetas por bombas peristálticas, por dos razones:

1. Una salida de alimentación constante (con las microburetas el sistema de alimentación es intermitente, pero alargándolo en el tiempo, se puede llegar a considerar, una aproximación de alimentación constante)
2. Las microburetas ya no se fabrican, lo que impide la realización de nuevos ensayos o remplazar las que se hayan roto.

También, a más largo plazo, se necesitará implementar un sistema de visualización de la información en una web privada para facilitar la monitorización del biorreactor y conocer el estado del cultivo de forma remota a través de internet, además existe la posibilidad de incorporar sensores y controladores de terceros.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al personal del grupo de investigación de Ingeniería de Bioprocesos, del Departamento de Ingeniería Química, Biológica y Ambiental, sobre todo a Xavier Ponte y Xavier Garcia, que han estado en todo momento en el proyecto, explicándome detalles sobre el proceso de cultivo de *Pichia pastoris*. A los profesores, José Luis Montesinos y Francisco Valero por permitirme realizar este proyecto. En general, por introducirme en el área de la Ingeniería Bioquímica y en particular ayudarme en la revisión de la documentación para no incorporar ningún “barbarismo” bio/químico.

También agradecer al profesor de Ingeniería electrónica Carles Pedret del departamento TES, sin el cual no podría haber realizado este proyecto, por la confianza puesta en mí al ser un neófito en bio/química y permitirme realizar el proyecto. Y finalmente al profesor Enric Martí, profesor de Ingeniería Informática departamento de visión por computación, por aceptar este proyecto estando fuera de sus atribuciones y aun así apostar por el proyecto y ayudar en todo aquello que he necesitado.

## BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- [1] Doran, P.M. Bioprocess engineering Principles, 2nd ed. Academic Press. (2012).
- Gòdia, F. López, J. Ingeniería Bioquímica. Síntesis (1998)
- [2] www.sartorius.es empresa venta farmacéutica y laboratorio equipamiento, uno de sus productos es el Biostat. (fecha ultimo acceso: 01/03/2017)
- [3] myopenlab.de programa para el desarrollo de aplicaciones de forma descriptiva de licenciamiento LGPL. (fecha ultimo acceso: 01/03/2017)
- [4] lavallab.com Empresa de material y equipo de laboratorio. (fecha ultimo acceso: 01/03/2017)
- [5] www.ni.com programa para el desarrollo de aplicaciones de forma descriptiva de licenciamiento propietario. (fecha ultimo acceso: 04/06/2017)
- [6] www.biocl.cl empresa de diseño y construcción de Biorreactores a medida. (fecha ultimo acceso: 01/03/2017)
- [7] en.wikipedia.org/wiki/Black-box\_testing enciclopedia libre, edición colaborativamente, explicación de test de caja negra.
- [8] Xavier Ponte, José Luis Montesinos-Serguí, Francisco Valero. - Bioprocess efficiency in *Rhizopus oryzae* lipase production by *Pichia pastoris* under the control of *PAOX1* is oxygen tension dependent. -Biochemical engineering Journal, (2016), 51(12), 1954-1963.
- [9] José Manuel Barrigon, Francisco Valero, José Luis Montesinos. - A Microkinetic Model-Based Comparative Meta-Analysis of Recombinant Protein Production by *Pichia pastoris* Under *AOX1* Promoter, -Biotechnology and Bioengineering, (2015), 112(6), 1132-1145.