

Implementación del prototipo controlador PID para la técnica LAMP en regulación de temperatura en experimentos de biología molecular

Jorge Ochoa Somuano^{1*}, Alfredo Olivera-Gutiérrez¹, Julieta Cruz Vázquez², Francisco Ruíz Ruíz² & Verónica Ortega Baranda³

Resumen

La técnica de amplificación isotérmica mediada por bucle o LAMP ha sido utilizada como una alternativa más económica que la reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Como su nombre lo indica es isotérmica, esto es, reacciona a una sola temperatura. Para apoyar a los investigadores que no tienen los recursos en laboratorio para la adquisición de equipos costosos como los termocicladores para realizar la prueba tipo LAMP, se inició la presente investigación, con el objetivo de diseñar una solución que permita estabilizar la temperatura de un medio líquido entre los 60 y los 65 grados centígrados para que las muestras reaccionen. Como un primer acercamiento a la solución del problema se ha desarrollado un sistema de control de temperatura utilizando una placa Arduino UNO con un sensor de temperatura y un relé para controlar la fuente de calor, para transmitir el calor al medio líquido se utilizó una resistencia eléctrica. Se han realizado las pruebas pertinentes para comprobar que el sensor mandé de forma correcta los datos al sistema de control y se ha comprobado que el sistema logra alcanzar la temperatura deseada a los pocos minutos.

Palabras clave: Arduino, control automático, PID, LAMP.

Recibido: 30 de mayo de 2019

Abstract

The loop-mediated isothermal amplification technique or LAMP has been used as a cheaper alternative to the polymerase chain reaction or PCR. As its name implies is isothermal, that is, it reacts to a single temperature. To support researchers who do not have the resources in the laboratory for the acquisition of expensive equipment such as thermocyclers to carry out the LAMP test, we started the present investigation, with the objective of designing a solution that allows to stabilize the temperature of a liquid medium between 60 and 65 degrees Celsius for the samples to react. As a first approach to the solution of the problem a temperature control system has been developed using an Arduino UNO board with a temperature sensor and a relay to control the heat source, to transmit the heat to the liquid medium an electrical resistance was used. The relevant tests have been carried out to verify that the sensor correctly sent the data to the control system and it has been verified that the system manages to reach the desired temperature within a few minutes.

Key words: Arduino, automatic control, PID, LAMP.

Aceptado: 27 de noviembre de 2019

¹ Instituto de Industrias, Universidad del Mar campus Puerto Escondido. Km. 2.5 Carretera Federal Puerto Escondido-Sola de Vega, Puerto Escondido 71980, Oaxaca, México.

² Instituto de Genética, Universidad del Mar campus Puerto Escondido. Km. 2.5 Carretera Federal Puerto Escondido-Sola de Vega, Puerto Escondido 71980, Oaxaca, México.

³ Instituto de Ecología, Universidad del Mar campus Puerto Escondido. Km. 2.5 Carretera Federal Puerto Escondido-Sola de Vega, Puerto Escondido 71980, Oaxaca, México.

* **Autor de correspondencia:** ochoa@zicatelamar.mx (JOS)

Introducción

La investigación genética dedica algunas de sus prácticas a la implementación de técnicas minuciosas con reacciones químicas para observar y manipular el ácido desoxirribonucleico (ADN), donde las características revelan la estructura que el organismo presenta y por lo cual el investigador puede generar deducciones aplicables a decisiones de procesos externos. Para el estudio y análisis genético de microorganismos, se necesitan implementar técnicas que permitan la amplificación de fragmentos específicos de ADN, teniendo como resultado la réplica a gran escala de la secuencia requerida.

La Amplificación Isotérmica Mediada por Bucle (LAMP) de Ácidos Nucleicos, es un método reciente que tiene la característica de brindar resultados en menor tiempo con alta sensibilidad y especificidad (Eiken Chemical Co. 2005), parte de la implementación consiste en utilizar la técnica “Baño María” para transmitir calor a las muestras de laboratorio en un rango de 60 a 65 grados centígrados y de esta manera inducir a una reacción química, siendo así LAMP una buena opción para implementar en pruebas de laboratorio debido a la simplicidad en cuanto a equipamiento.

Para automatiza el proceso de control de temperatura se utiliza una tarjeta Arduino. Esta tarjeta es un componente de Hardware libre que facilita el desarrollo de proyectos electrónicos, tiene la capacidad de ser reprogramable y cuenta con su propio lenguaje de programación, la simplicidad de su funcionamiento y aplicación, radica en la comunicación entre la placa misma y los dispositivos que puedan generar señales de entrada o recibir señales que la plataforma emite (Arduino 2019); es la que permitirá obtener y controlar la temperatura del líquido utilizado para el “Baño María”. El control se realiza por medio de un Controlador Proporcional, Integral y Derivativo (PID), el cual se encarga de regular la temperatura para que se mantenga en una temperatura constante.

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa de amplificación de ADN, mejor

conocida en biología molecular como PCR. Requiere para su desarrollo de un termociclador para hacer el calentamiento de las muestras a una cierta temperatura. Sin embargo el costo de un equipo para tal fin oscila entre los \$95,000 y los \$165,000 pesos. También se cuenta en el mercado con equipos de “Baño María” con costos que oscilan entre los \$3,500 y los \$14,500 pesos que pueden ser utilizados para la técnica LAMP

Ruiz-Ruiz *et al.* (2016) muestran la implementación de la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para la amplificación de fragmentos de ADN, con un funcionamiento similar en comparación con la técnica LAMP.

Por otra parte, también se han realizado trabajos de investigación en automatización de procesos, tal es el caso de Tzuc *et al.* (2015) quienes describen el desarrollo de un sistema embebido mediante una arquitectura cliente-servidor para el control de la iluminación de una casa habitación vía web, empleando una aplicación para dispositivos móviles con sistema operativo Android y una tarjeta de desarrollo Raspberry-Pi. Los algoritmos diseñados para el sistema domótico de control de luces permiten la comunicación entre el usuario remoto y la Raspberry-Pi, la cual interactúa con una tarjeta de potencia para el control de las luminarias. Según lo reportado por los autores, la aplicación móvil fue instalada en diversas versiones de Android obteniendo resultados exitosos aún en modo de transferencia de datos. La implementación de una dirección IP fija y direccionamiento DNS (Sistema de Nombres de Dominio, por sus siglas en inglés) les permitió establecer comunicación entre la Raspberry-Pi y el dispositivo móvil, dentro y fuera de la Red de Área Local donde esté ubicado el dispositivo.

En Gutte & Vadali (2018) se describe el interés por la salud y atención médica para los seres humanos, principalmente se considera que estos servicios necesitan conseguir un soporte tecnológico que los haga más fáciles y rápidos. Los diagnósticos suelen ser un proceso que requiere de una gran cantidad de tiempo para llegar a la detección de síntomas

y no específicamente por el ritmo de atención, generalmente la manera de transportar al paciente y los imprevistos que pueden suceder impiden que el caso se atienda de manera inmediata. Por este motivo, la propuesta de los autores consiste en desarrollar un sistema de monitoreo de salud basado en el internet de las cosas (IoT, por sus siglas en inglés), implementando la tecnología de una placa Raspberry Pi para llevar a cabo los procesos correspondientes a la adquisición de datos, transferencia vía internet para el procesamiento y almacenamiento de datos, finalmente se encarga de transmitir la información de respuesta a un dispositivo de salida en el cual se podrá observar el veredicto final de un especialista así como sus instrucciones de cuidado y atención.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un sistema prototipo de controlador PID para regular la temperatura en líquidos (Baño María) con la implementación de la tecnología de hardware libre (Arduino) y tener la posibilidad de ahorrar tiempo en la obtención de resultados en procesos realizados en investigaciones de laboratorio.

Materiales y métodos

Área de estudio - El trabajo se realizó con una temporalidad de aproximadamente 6 meses, iniciando en octubre de 2018, en la Universidad del Mar campus Puerto Escondido, ubicada en Puerto Escondido, Oaxaca, México. Es un subproducto de un proyecto de investigación titulado "Desarrollo integral de una herramienta molecular y computacional para la identificación de plántulas de Carica Papaya variedad maradol de la Costa de Oaxaca, mediante análisis tipo Lamp".

El "Baño María" es un equipo que se utiliza en el laboratorio para realizar pruebas serológicas y procedimientos de incubación, aglutinación, inactivación, biomédicos, farmacéuticos y hasta industriales. Por lo general, se utilizan con agua, pero también permiten trabajar con aceite. Los rangos de temperatura en los cuales normalmente son utilizados están entre la temperatura ambiente y los

60 °C, aunque también es posible seleccionar temperaturas de 100 °C, utilizando una tapa de características especiales (Gutiérrez 2015).

El prototipo del sistema "Baño María" producto de la presente investigación está conformado por una serie de elementos que en conjunto permiten realizar el control de temperatura, los componentes utilizados son:

Arduino UNO: hardware programado que controla la comunicación y activación de todos los dispositivos (Fig. 1)

Calentador de inmersión CAGU-6: utilizado para calentar el líquido que transmite calor (Fig. 2).

Sensor de temperatura DS18B20: dispositivo empleado para obtener el valor de la temperatura interna del líquido (Fig. 3).

Relé de estado sólido SSR-40DA: dispositivo que funciona como interruptor, se utiliza para controlar la funcionalidad del calentador de inmersión (Fig. 4).

Recipiente que funciona como contenedor del líquido que se va a calentar para ser usado en el procedimiento "Baño María" (Fig. 5).

Para el funcionamiento del prototipo de control de temperatura se construyó un sistema con el Arduino UNO, el sensor de temperatura y el relé, para ello se diseñó la conexión electrónica mostrada en la figura 6.



Figura 1. Imagen representativa de un Arduino UNO.

Calentadores de inmersión

ESPECIFICACIONES

Tensión: 127 V

Frecuencia: 60 Hz



CAGU-6



CAGU-10

NC2

Cumplen la norma: NOM-003-SCFI

CÓDIGO	CLAVE	No.	POTENCIA	CAPACIDAD	LARGO TUBO	LARGO CABLE	CAJA*	MASTER	PALLET	MAYOREO
46303	CAGU-1	1	400 W	8 L	10 cm	75 cm	6	36	-	\$ 32
46304	CAGU-2	2	500 W	10 L	13 cm	75 cm	6	36	-	\$ 34
46305	CAGU-3	3	600 W	12 L	15 cm	75 cm	6	36	-	\$ 35
46306	CAGU-4	4	750 W	15 L	17 cm	75 cm	4	24	-	\$ 36
46307	CAGU-5	5	900 W	18 L	22 cm	75 cm	4	24	1,440	\$ 38
46308	CAGU-6	6	1,100 W	23 L	26 cm	75 cm	4	24	1,440	\$ 40
49980	CAGU-8	8	1,500 W	30 L	29 cm	80 cm	4	24	-	\$ 42
49981	CAGU-10	10	1,900 W	38 L	33 cm	80 cm	4	24	-	\$ 44

*CAJA Y MASTER CONSULTE TABLA

Figura 2. Imagen representativa de un calentador de inmersión.



Figura 3. Imagen representativa de un sensor de temperatura.

En la figura 7 se puede observar una imagen de la conexión física de los componentes que conforman el control de temperatura, a su vez el sistema está conectado a una laptop debido a que el sensor de temperatura manda los datos recolectados a ésta para un posterior uso o procesamiento de los datos.

El funcionamiento del sistema consiste en emplear la metodología de un controlador PID



Figura 4. Imagen representativa de un relé de estado sólido.

(Fig. 8) para determinar la cantidad de que calor que el líquido necesitará para llegar a la temperatura requerida.

“Un controlador PID calcula inicialmente el “error”, entre su variable controlada (medida) y su valor deseado (setpoint) y en función de este error genera una señal de control para eliminar el desvío probable. El algoritmo PID usa el “error” en tres módulos distintos para producir su salida o variable manipulada” (Fuentes *et al.* 2018).



Figura 5. Imagen representativa del contenedor para líquido.

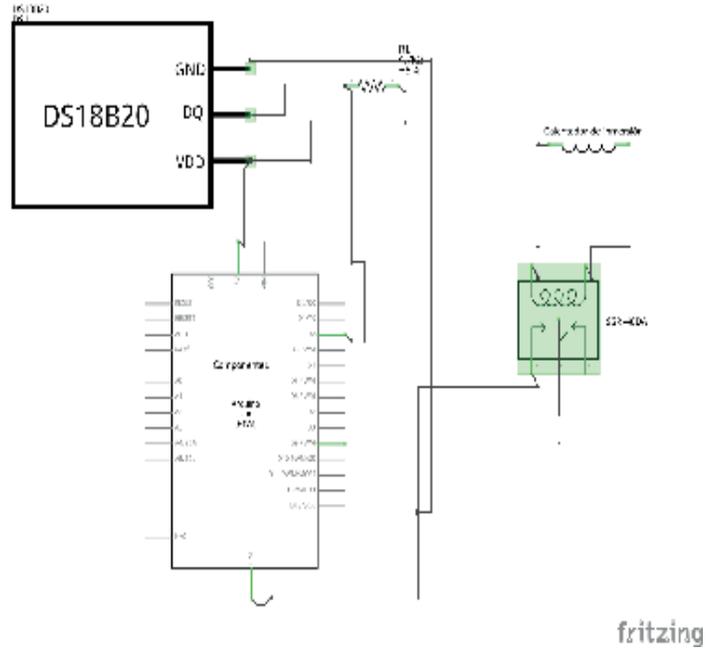


Figura 6. Diseño de la conexión electrónica para el sistema de control automático de temperatura.



Figura 7. Conexión física de los componentes que conforman el control de temperatura.

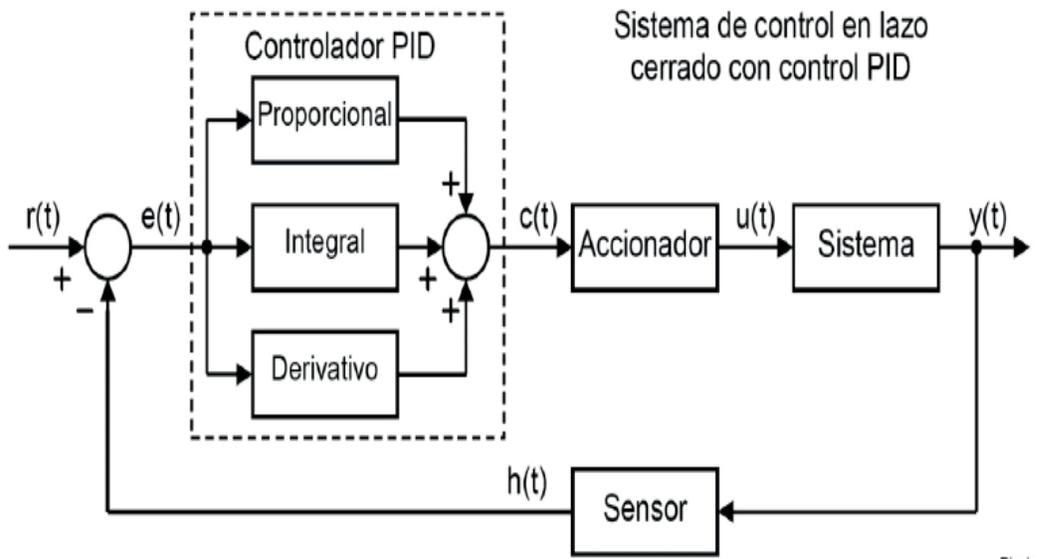


Figura 8. Ejemplo de un sistema de control de lazo cerrado con control PID (Fuentes *et al.* 2018).

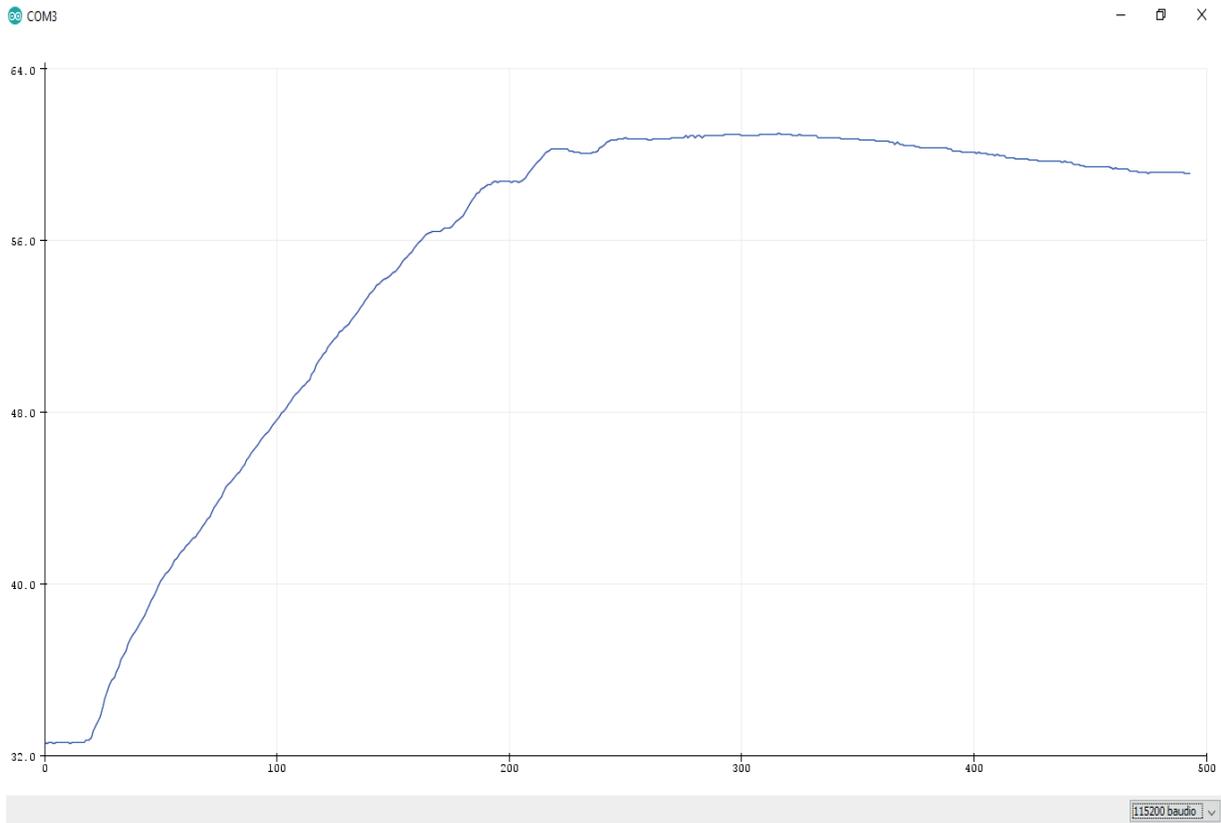


Figura 9. Gráfico de los datos de temperatura recolectados por el sensor.

- Controlador proporcional (P)
- Controlador proporcional integral (PI)
- Controlador proporcional integral derivativo (PID)

Donde:

$r(t)$: Temperatura solicitada por el usuario.

$h(t)$: Valor de la temperatura real (DS18B20).

$e(t)$: Cálculo del error entre la temperatura real y la temperatura deseada.

$c(t)$: Estimación de control obtenida.

$u(t)$: Aplicación de calor (CAGU-6 y SSR-40DA).

$y(t)$: Recipiente.

Resultados

El sistema se empleó utilizando como referencia el valor de 60° , el proceso duró aproximadamente 15 minutos, iniciando con un valor en la temperatura de 33° y obteniendo la estabilidad de $60^\circ \pm 1^\circ$. La prueba se realizó en repetidas ocasiones para determinar si la estabilización de la temperatura era consistente, los resultados que se obtuvieron fueron positivos. En la figura 9 se puede apreciar un gráfico que representa los valores de temperatura que fueron tomados por medio del sensor de temperatura.

Discusión

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa de amplificación de ADN, mejor conocida en biología molecular como PCR. Requiere para su desarrollo de un termociclador para hacer el calentamiento de las muestras a una cierta temperatura. Sin embargo el costo de un equipo para tal fin oscila entre los \$95,000 y los \$165,000 pesos. También se cuenta en el mercado con equipos de Baño de María con costos que oscilan entre los \$3,500 y los \$14,500 pesos que pueden ser utilizados para la técnica LAMP. Por el momento no se puede hacer una comparación de eficiencia dado que es sólo un prototipo, el cual tuvo un costo aproximado de \$600 pesos. Sin embargo

se calcula que de realizarse la siguiente etapa que consiste en el desarrollo de un equipo portátil para realizar el control de calentamiento adecuado al realizar pruebas de laboratorio con la técnica LAMP, el equipo podría tener un costo inferior a los \$2,000 pesos. Cabe señalar que al ser una propuesta de solución para un tipo de prueba en específico no podrá competir con las soluciones comerciales, sin embargo, se podrían hacer algunos experimentos con éxito sin la necesidad de adquirir equipos tan costosos.

Conclusiones

Si bien es cierto que ya existen equipos de laboratorio que permiten hacer el control de temperatura para realizar experimentos con la técnica LAMP como los termocicladores, también es cierto, que los equipos de laboratorio especializados como los mencionados tienen costos muy elevados. Por otro lado se podría obtener un equipo portátil de menos costo con base en el prototipo que se logró desarrollar en la presente investigación. Por lo tanto, los beneficios que se pueden obtener son buenos y a un precio muy accesible.

Agradecimientos

Agradezco las observaciones y recomendaciones realizadas por los revisores para mejorar el contenido del presente documento.

Referencias

- Arduino. 2019. ¿Qué es Arduino? Consultado el 5 de abril de 2019. Disponible en: <https://www.arduino.cc/en/Guide/Introduction>.
- Eiken. 2019. Eiken Chemical Co. Consultado el 10 de mayo de 2019. Disponible en: <http://loopamp.eiken.co.jp/e/lamp/index.html>.
- Fuentes, J., S. Castro, B. Medina, F. Moreno & S. Sepúlveda. 2018. Experimentación de controladores digitales clásicos en un sistema embebido aplicado en un proceso térmico. *Revista UIS Ingenierías* 17(1): 81-92.
- Gutte, A. & R. Vadali. 2018. Health monitoring system based on concept of internet of things using Raspberry Pi. *International Journal of Computer Engineering and Applications*. Consultado el 8 de

abril de 2019. Disponible en: <https://www.ijcea.com/health-monitoring-system-based-concept-internet-things-using-raspberry-pi/>

Gutiérrez, V. & J. Enrique. 2015. Manual de mantenimiento para equipos de laboratorio. Washington D. C. Pan American Health.

Ruiz-Ruiz, G.F., J.K. Cruz-Vázquez, J.L. Anaya-López & A.P. Rodríguez. 2016. Evaluación de marcadores moleculares en la predicción temprana de plantas de papaya (*Carica papaya* L.) de tipo hermafrodita var. maradol en la zona Costa de Oaxaca. Temas de Ciencia y Tecnología 21(63): 22-32.

Tzuc O.M., F. Fernández & R.Q. Cetina. 2015. Sistema domótico de control de luces mediante una aplicación Android basado en una tarjeta Raspberry-Pi. Consultado el 4 de abril de 2019. doi:10.13140/RG.2.1.1315.2087