

Desarrollo e integración de biorreactor para laboratorio biotecnológico

Martín Jamilis*, M. Teresita Castañeda, Sebastián Nuñez,
Grupo de Control aplicado, Instituto LEICI, Facultad de Ingeniería, UNLP-CONICET.
martin.jamilis@ing.unlp.edu.ar, <http://gca.ing.unlp.edu.ar>

1. Introducción

La factibilidad económica de muchos bioprocesos depende de su productividad, que es afectada por factores como la concentración de nutrientes en el medio de cultivo, el sistema de cultivo (batch, fed-batch o continuo) o condiciones ambientales como la temperatura, pH, oxígeno disuelto (DO) y acidez/alcalinidad.

Para lograr un correcto desarrollo del proceso, buena parte de ellos se realiza en (bio)reactores que permiten una mejor monitorización y control de las condiciones físico-químicas, homogeneidad, y esterilidad si se requiere.

Internacionalmente, pocas compañías comercializan sistemas de biorreactores con niveles altos de instrumentación y control (temperatura, pH, DO, nivel y espuma como mínimo) y software desde el que se pueda controlar dosificación de medios

de cultivo, monitorizar y almacenar datos de las variables medidas.

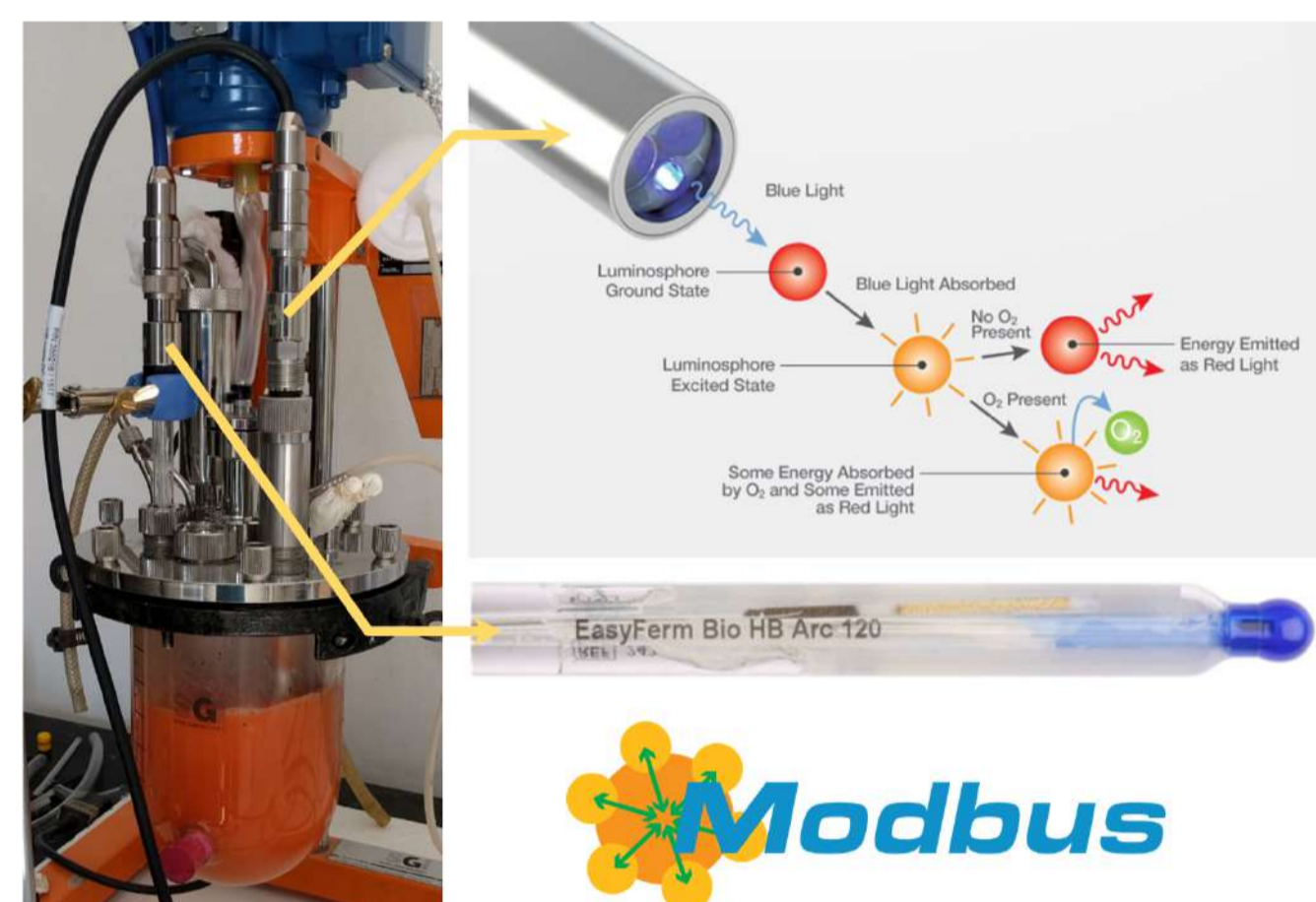
Además del elevado costo de un sistema completo (aprox. US\$40.000 sin contar gastos de importación), es frecuente la falta de flexibilidad para configurar parámetros de adquisición y control, como tasas de muestreo o la arquitectura de los controladores, o bien, para la creación de nuevos lazos de control no contemplados por el fabricante.

Este trabajo describe los avances de un proyecto para desarrollar prototipos de biorreactores altamente instrumentados y controlados, priorizando la integración de hardware industrial estándar con costos razonables, desarrollo de dispositivos electrónicos y software flexible en su configuración y modificación.

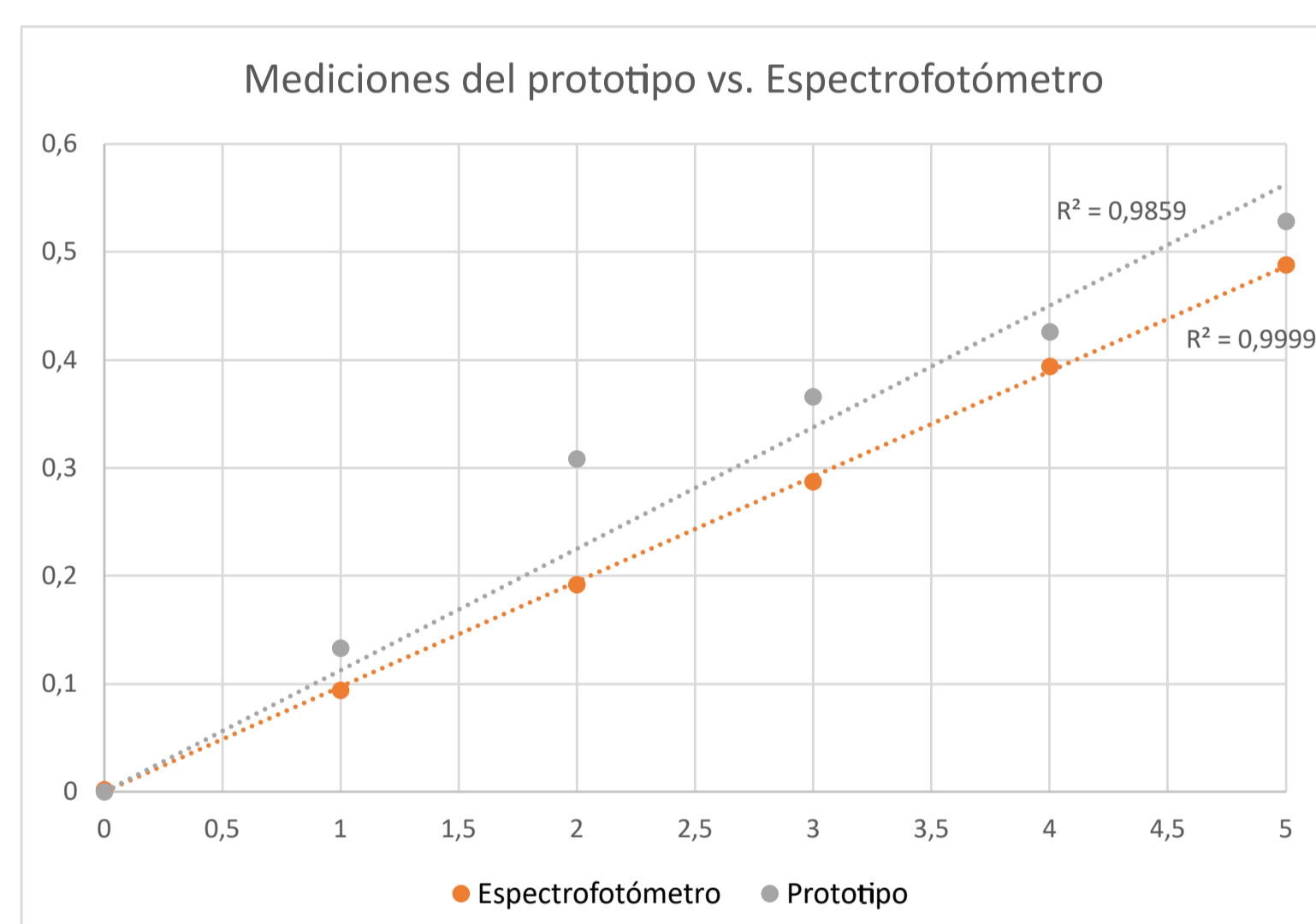
2. Sensores

Oxígeno disuelto (DO): Hamilton VisiFerm DO Arc, óptico, con exactitud de $\pm 0.5\%$ – vol y rango de 0% – sat– 300% – sat. Comunicación digital Modbus RTU.

pH: Hamilton EasyFerm Bio Arc, potenciométrico, rango de $0\text{ pH}–14\text{ pH}$, sensibilidad de 57 mV/pH a 25°C y exactitud de $\pm 0.02\text{ pH}$. Salida digital por Modbus RTU.



Caudal de aire: Honeywell Zephyr HAF BLF0750CAAX5, transferencia de calor en micropunte, rango de $0\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}–750\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$, exactitud de $\pm 10\%$. Salida analógica.



Concentración microbiana: prototipo de desarrollo propio para medición de densidad óptica (OD) a 625 nm . Validado empleando una suspensión madre de *S. cerevisiae* con una OD a 625 nm de $4,315 \pm 0,086$ equivalente a $2,234\text{ g L}^{-1}$, para elaborar una curva de calibración en un rango de OD_{625} de 0 a 1. Las determinaciones del prototipo se contrastaron con las de un espectrofotómetro Beckman modelo DU.

3. Actuadores

Agitación: motor de inducción trifásico Kaifa de 4 polos, $0,25\text{ HP}$ y velocidad nominal 1500 rpm y variador de frecuencia WEG CFW-10, comandado analógicamente por una tensión de 0 a 10 V . El variador tiene una resolución de $0,1\text{ Hz}$, equivalente a 3 rpm con el motor utilizado.

Inyección de aire: bomba de acuario Atman At-704, rango de 5 a 300 L h^{-1} . Se desarrolló un circuito electrónico para controlar el caudal mediante PWM o con una tensión entre 0 y 5 V .

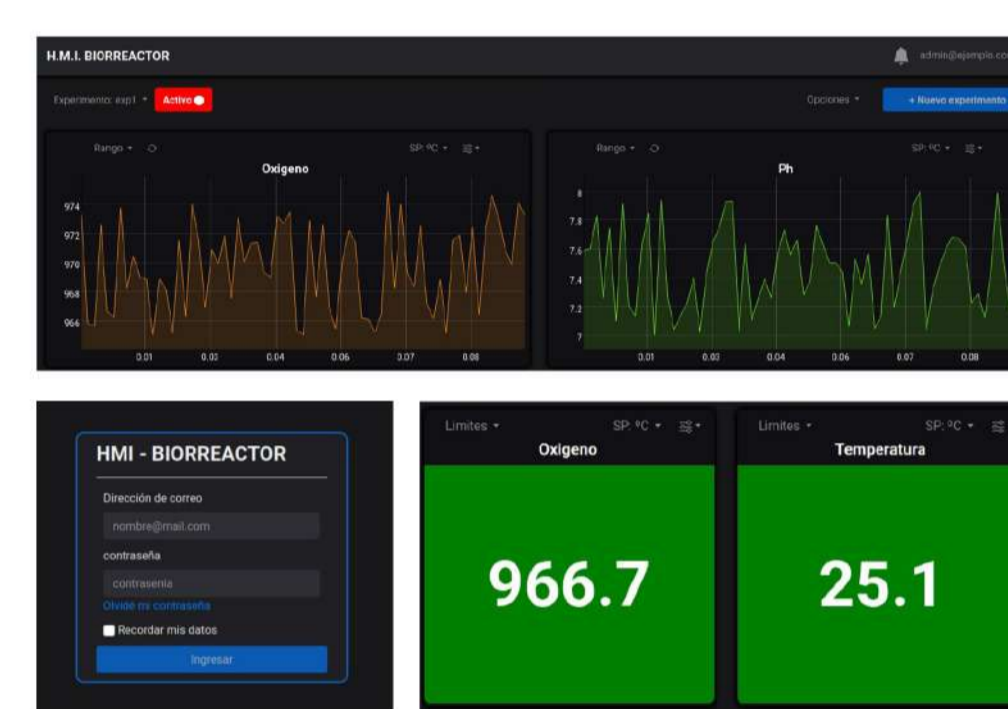
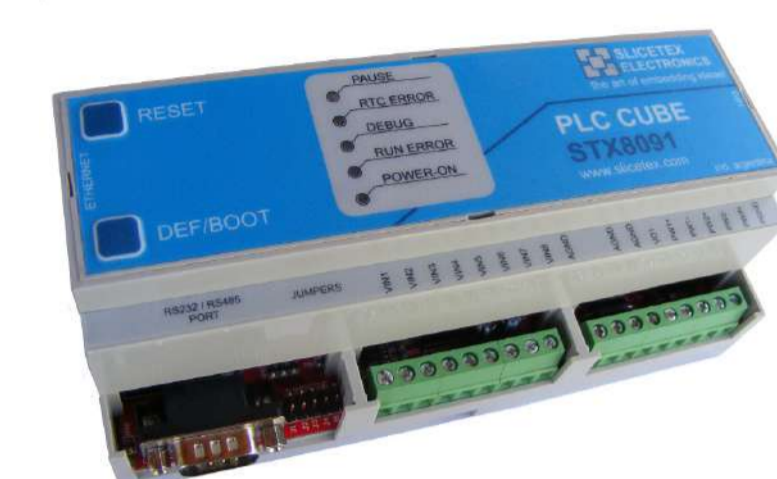
Dosificación de medios de cultivo: bomba peristáltica Prefluid BL-100, rango de caudal de $0,021\text{ mL min}^{-1}–843\text{ mL min}^{-1}$. Comandable remotamente por $4–20\text{ mA}$ o RS485 utilizando un protocolo compatible con Modbus RTU.

Dosificación de otros fluidos: para dosificación de soluciones ácida, base y, antiespumante, se desarrollaron bombas peristálticas de menor porte. Su caudal o el volumen desplazado se puede comandar por RS485 mediante Modbus RTU.



4. Dispositivos de control y visualización

Control: PLC Slicetex Electronics STX-8091-A2, con múltiples entradas y salidas analógicas y digitales, puertos Ethernet y RS232/RS485. Se comunica con sensores y actuadores por Modbus RTU y con el software de adquisición y monitoreo por UDP o Modbus TCP. Ejecuta todas las tareas de adquisición y control.

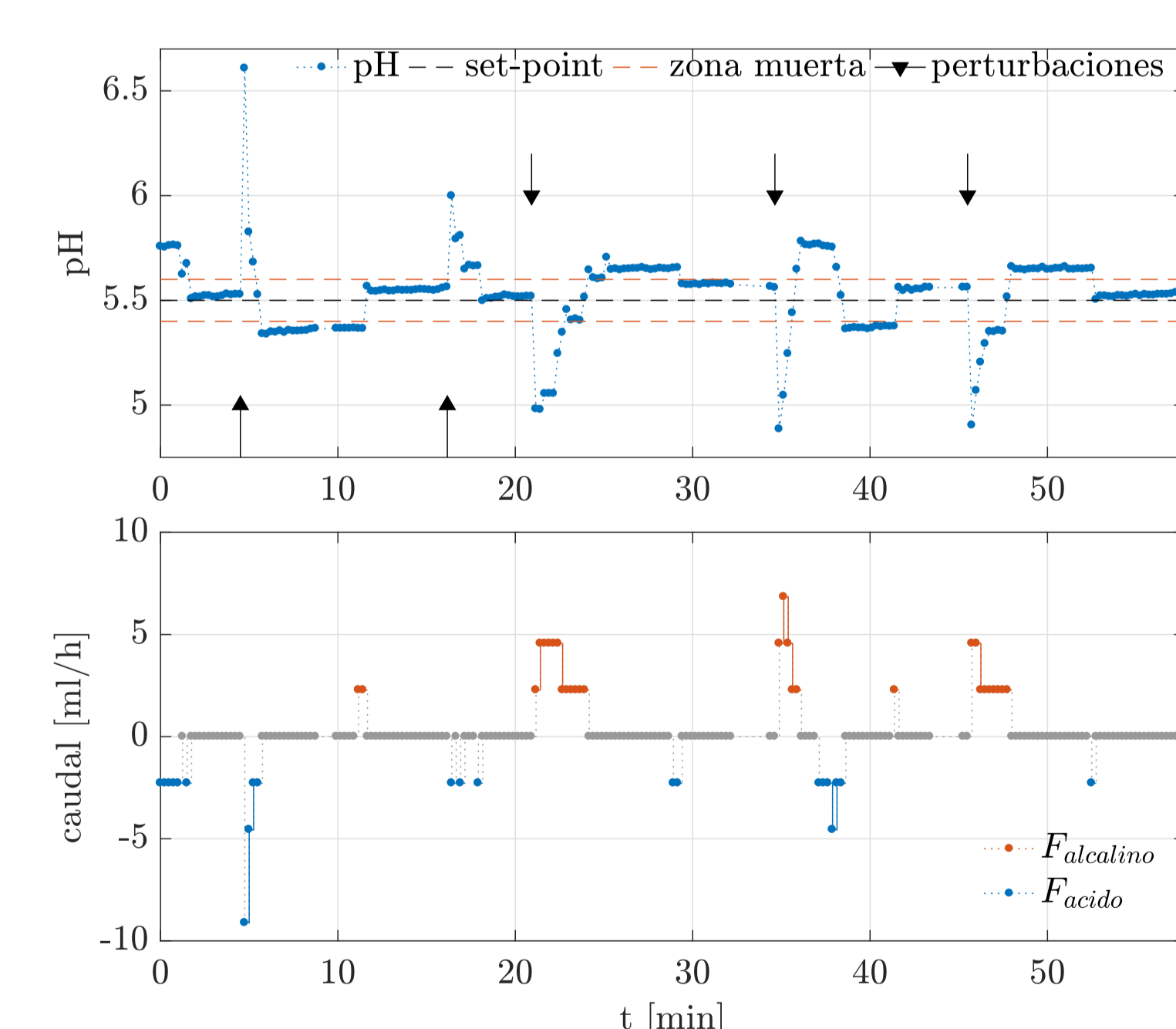
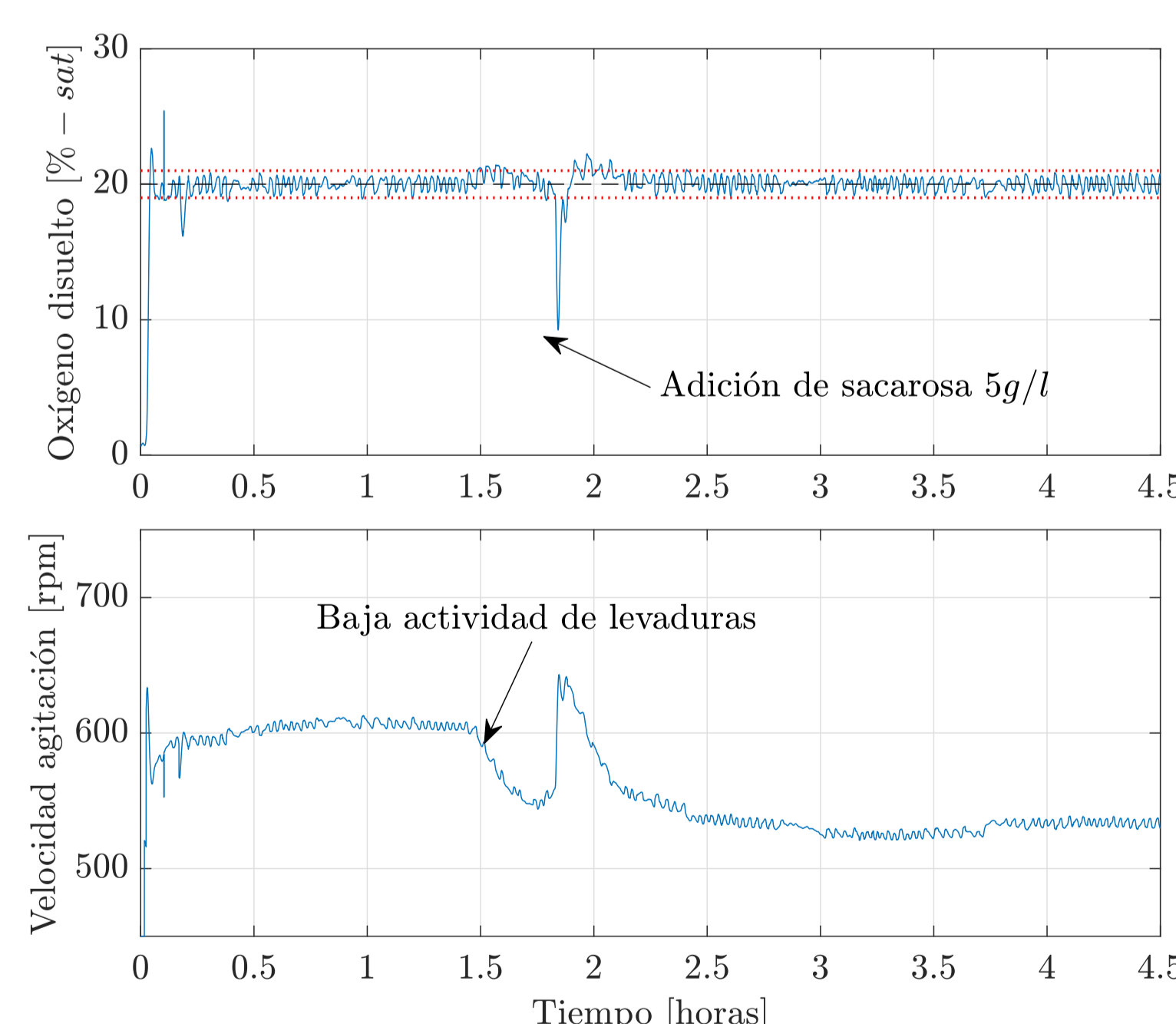


Adquisición y visualización de datos: en los ensayos se usó una Raspberry Pi 3 B+ con un panel táctil y software ad-hoc (Python + Matplotlib). Adicionalmente, se está desarrollando una aplicación web (node.js + PostgreSQL + Dygraphs) que agrega configuración del proceso y lazos, gestión de usuarios y permisos, y exportación de datos.

5. Lazos implementados

Control de oxígeno disuelto: mediante manipulación del caudal de aire inyectado y velocidad de agitación. Se ensayaron estrategias SISO mediante controladores PID sintonizados mediante reglas de Ziegler y Nichols. Se validó experimentalmente en un cultivo batch con pulsos de alimentación de FCE de *R. toruloides* en un biorreactor de 2 L .

Control de pH: mediante la adición de solución ácida o alcalina por dos bombas peristálticas. El comando lo realiza un controlador PID, sintonizado en base al modelo de la planta, que incluye una zona muerta para evitar la dosificación continua de soluciones. Se ensayó experimentalmente en condiciones no amortiguadas sin inocular al biorreactor, produciendo perturbaciones de pH artificialmente mediante la adición de pequeños volúmenes de solución ácida o alcalina.



5. Conclusiones

Si bien aún resta completar muchas tareas para completar el equipo y realizar mejoras a los sensores, actuadores y lazos de control desarrollados, el avance del proyecto muestra la capacidad de desarrollo de un sistema de monitoreo y control con similares prestaciones a los de marcas internacionales.

A partir de la implementación de los lazos de control de pH y oxígeno disuelto, ya es posible realizar cultivos de varios días en el biorreactor y almacenar la información de sensores y actuadores. Esto resulta un avance muy importante para el desarrollo de la línea de control y monitoreo de bioprocesos del grupo de

trabajo.

Adicionalmente, el conocimiento y los resultados obtenidos del desarrollo se pueden extender a plantas piloto industriales o pymes familiares. Por ejemplo, el sistema de adquisición y control puede ser usado en biodigestores o *raceways* con microalgas, donde los sensores y actuadores son similares.

Finalmente, cabe destacar que en el proyecto han participado varios alumnos de las carreras de Ingeniería en Electrónica y Computación en el marco de trabajos finales y prácticas profesionales supervisadas.