UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES

CARRERA DE INFORMÁTICA

TESIS DE GRADO

"PROTOTIPO TERMOELECTRICO TIPO TERMOCICLDOR, PARA CONTROL CICLICO DE TEMPERATURA USANDO CONTROL PID"

PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIATURA EN INFORMATICA MENCION : INGENIERÍA EN SISTÉMAS INFORMATICOS

POSTULANTE: Univ. Falco Rodrigo Romero Peña

TUTOR: Lic. Freddy Miguel Toledo

REVISOR: Lic. Franz Cuevas Quiroz

LA PAZ – BOLIVIA

2009

Dedicatoria

A Dios, por darme la oportunidad de vivir, la salud, el amor y la energía para vivir cada día de la mejor manera posible, porque siempre ha estado conmigo, por iluminar mi camino con su sabiduría.

A mis padres, mis hermanos por brindarme su amor, su comprensión y confianza.

“Al vencer sin obstáculos se triunfa sin gloria”.

Mail: rodri_rpf@hotmail.com

Agradecimientos

Al Lic. Franz Cuevas Quiroz, por su paciencia, guía constante, por compartir sus conocimientos, por su confianza, apoyo y la motivación para lograr concluir el presente trabajo satisfactoriamente.

Al Lic. Miguel Toledo, por su paciencia, sus sugerencias, por sus correcciones y oportunas.

RESUMEN

El objetivo del trabajo desarrollado consistió en construir un termociclador, el cual es un Prototipo termoeléctrico tipo termociclador usando un control PID, que realiza el control de perfiles de temperatura sobre un bloque portatubos que contienen muestras, con el fin de ejecutar un protocolo de Reacción en Cadena de la Polimerasa, para lograr la amplificación de segmentos específicos de la molécula de ácido desoxirribonucleico. Dicho equipo usado en laboratorios de Biología Molecular, que provocan el enfriamiento y calentamiento de las muestras. Para esto se utiliza una computadora personal como termociclador aplicando interfases hardware y software. La interfase hardware consta de un circuito electrónico que se encarga de controlar la resistencia y ventilador. La interfase software es una aplicación desarrollada, que establece el puerto serie, que permite la comunicación con el microcontrolador que se encuentra en el circuito que envía- recibe datos del termómetro a la computadora para poder monitorear la temperatura con diferentes protocolos (temperaturas y tiempos) y un ventilador que permite la evacuación de aire caliente.

Para realizar muestreos de señales de temperatura en tiempo real la aplicación es desplegada en el monitor de la computadora, mediante proceso traslación, forma la onda de la señal de temperatura según el tiempo transcurrido. La investigación concluye con la prueba y evaluación del prototipo que resulta como una alternativa para estudiantes de biología molecular.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCION……1

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA……..…2

1.3 HIPOTESIS……..3

1.4 OBJETIVO GENERA……..…4

1.5 OBJETIVOS ESPECIFICOS……4

1.6 LIMITES Y ALCANCES……4

1.7 JUSTIFICACIÓN……5

CAPITULO 2

MARCO TEORICO……6

2.1. EL PRINCIPIO DE REALIMENTACION……6

2.2 SISTEMAS DE CONTROL……8

2.2.1 DE DOS POSICIONES (TODO O NADA) (ON/OFF)……8

2.2.2 PWM (MODULASION DE ANCHO DE PULSO)Y TIEMPO DE CICLO.9

2.2.3 PROPORCIONAL (P)……11

2.2.4 PROPORCIONAL DERIVATIVO(PD)……12

2.2.5 PROPORCIONAL INTEGRAL (PI)……14

2.2.6 PROPORCIONAL INTEGRAL DERIVATIVO (PID)……..15

2.3 SET POINT……16

2.4 AVR STUDIO……17

2.5 COMPONENTES ELECTRÓNICOS……18

2.5.1 RESISTENCIA……18

2.5.2 CAPACITOR……..18

2.5.3 DIODO ZENER……19

2.6 PUERTO SERIE……20

2.6.1PUERTO SERIE TRADICIONAL……21

2.6.2 PUERTOS SERIE MODERNOS……21

2.6.3 TIPOS DE COMUNICACIONES SERIALES ……..22

2.7 REACCION EN CADENA DE LA POLIMERAZA……23

2.7.1 EL PCR (REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERAZA) Y EL ADN……..23

CAPITULO 3

3.1 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL PROTOTIPO……28

3.2 DESARROLLO……29

3.3 DIAGRAMA EN BLOQUES GENERAL ……..32

3.4 DISEÑO DE HARDWARE……36

3.4.1 DISEÑO DEL SISTEMA ELECTRÓNICO (PARTE ANALÓGICA)…..36

3.4.2 SELECCIÓN DEL TIPO DE TERMOMETRO……36

3.4.3 DISEÑO DEL CIRCUITO PARA CALEFACCIÓN Y VENTILACIÓN..37

3.4.4 DISEÑO DEL SISTEMA ELECTRÓNICO (PARTE DIGITAL)……..42

3.5 DISEÑO DE SOFTWARE……...43

CAPÍTULO 4

4.1 PRUEBA DEL PROTOTIPO……..50

4.2 ANÁLISIS DE DATOS Y RESULTADOS……51

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN……53

5.1 CONCLUSIONES……53

5.2 RECOMENDACIÓN……54

INDICE DE FIGURAS

Figura Pág.

Figura. 2.1: Diagrama de bloques del sistema de control de un Proceso.....7

Figura. 2.2 Característica de un controlador on-ff.....9

Figura 2.3: Modulasion de ancho de pulso.....10

Figura. 2.4: comportamiento de control proporcional 12

Figura. 2.5: Simulación de un sistema en lazo cerrado con control PID.....16

Figura 2.6: Pantalla del programa AVR Studio 17

Figura 2.7 : Símbolo esquemático de la resistencia 18

Figura2.8 Símbolo esquemático del capacitor.....19

Figura 2.9: Símbolo esquemático del diodo zener 19

Figura 2.10 : Pasos básicos de la PCR 26

Figura 2.11: Termociclador para reacciones de PCR 27

Figura 3.1: Adquisición de datos mediante computadora.....28

Figura 3.2. Ejemplo de un segmento ……30

Figura 3.3: Curvas de temperaturas ……..32

Figura 23.4 diagrama de bloque general ……33

Figura 3. 5 : Diagrama del circuito del prototipo termoelectriico……..35

Figura. 3.6 diagrama de bloque Diseño del sistema electrónico (Parte análoga)……36

Figura 3.7: Sistema de Calentamiento y refrigeración……..38

Figura 3.8 : modulo de Peltier……..39

Figura 3.9: sistema de Calentamiento/Refrigeración y el bloque portatubos……40

Figura 3.10: Tubo eppendorf……40

Figura 3.11: Termometro LM35……40

Figura 3.12 : Circuito de medida de termperatura……...41

Figura 3.13 : Diagrama del circuito de medida de termperatura……...42

Figura 3.14 diagrama de bloque Diseño del sistema electrónico (Parte digital)……42

Figura 3.15: Microcontrolador Atmega8……42

Figura 3.16 : Captura de pantalla de programa realizado para monitorear y controlar la temperatura mediante un PID……44

Figura 3.17: segmento de código de la detección del puerto serie.,…….45

Figura 3.18: segmento de código para cerrar el puerto serie……46

Figura 3.19: segmento de código para para transmicion y recepción de datos por el puerto serie……47

Figura .20 : Segmento de código de control PID……48

Figura .21: segmento de código de el control PID……..49

Figura 3.16: segmento de código de el control PID……51

Figura 3.16: segmento de código de el control PID……52

Figura 5.1: Curvas de temperaturas……53

INDICE DE TABLAS

Tabla Pág.

Tabla 1.1: Relación causa efecto……..3

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

Biología Molecular, es una ciencia cuyo objetivo fundamental es la comprensión de todos aquellos procesos celulares que contribuyen a que la información genética se transmita eficientemente de uno seres a otros y se exprese en los nuevos individuos, este conocimiento nos permite cruzar las barreras naturales que existen entre las especies y "colocar" genes de un organismo otro llamado hospedero, empleando técnicas de ingeniería genética. Gracias a este avance, se pueden producir fragmentos de ácidos nucleicos a gran escala, abriendo así las puertas a la secuenciación de los ácidos nucleicos y por ende a nuevas disciplinas como el diagnóstico molecular, la terapia génica o la obtención de organismos superiores recombinantes.

En las tres etapas fundamentales, son definidas rigurosamente por los tiempos y las temperaturas correspondientes.

• Etapa inicial – de 2 a 10 minutos a 95°C

• Etapa intermedia – Alrededor de 30 ciclos con la siguiente secuencia:

- Separación del ADN (Melt) – 60 segundos a 94°C

- Anillado (Anneal) – 45 segundos a 54°C

- Alargamiento (Extend) – 120 segundos a 72°C

• Etapa Final

- Alargamiento – de 7 a 10 minutos 72°C

- Conservación – 4°C (Conservar a esta temperatura)

Para la técnica de PCR utilizamos un termociclador que es un dispositivo Electro-mecánico constituido por materiales y componentes con propiedades termoeléctricas y termodinámicas, que permite el control preciso y eficiente de temperatura sobre un bloque porta tubos que contiene muestras, con el fin de utilizarlo en el proceso de replicación de DNA conocido como reacción en cadena de la polimerasa PCR por lo cual se puede multiplicar el segmento de ADN, para lograr la amplificación de segmentos específicos de la molécula de ácido desoxirribonucleico. Podemos observar un Termociclador para reacciones de PCR.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- Mas de un estudiante, profesional que estudia Biología Molecular desea contar con un termociclador ya que este equipo es imprescindible para reacciones de PCR.

- En la mayoría de los casos los estudiantes solo ven la teoría para reacciones de PCR y no así llevan la practica los conocimientos adquiridos, ya que el costo tanto del equipo como de mantenimiento es elevado, generalmente pueden realizar practicas en el laboratorio de Biología Molecular solo cuando hacen su pasantía o realizan su trabajo tesis.

La relación causa efecto de los problemas se plantea en la Tabla 1.1

Tabla 1.1: Relación causa efecto

Causa	**Efecto**
Los temocicladores tienen un costo elevado	Pocos pueden adquirir un termociclador
Un termociclador carece de una interfaz con otros periféricos	No es posible desplegar la temperatura en un Data Show para fines de enseñanza
Disponibilidad de temocicladores generalmente en laboratorios de Biología Molecular	Poco tiempo para realizar practicas e investigaciones con el termociclador
La insuficiencia de temocicladores en instituciones de enseñanza	Estudiantes con carencia de practicas y experimentos que requieren un termociclador

Fuente: elaboración propia

1.3 HIPOTESIS

Se plantea la siguiente hipótesis

El diseño e implementación de una interface electrónica e informática permite que la computadora pueda utilizarse como termociclador con las funciones principales de este.

1.4 OBJETIVO GENERAL

- El diseñar e implementar una interface electrónica e informática permita que una computadora pueda utilizarse como un Prototipo termoeléctrico tipo Termociclador, para Control cíclico de Temperatura usando Control PID.

1.5 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Construir un circuito de sensores de temperatura y desarrollar la interface de monitoreo por PC.
- Construir un circuito de programación, control y prendido de las celdas, ventilación y desarrollar la interface de actuación por PC.
- Diseñas e implementar el software de aplicación de despliegue las formas de onda de la temperatura en tiempo real.
- Probar el funcionamiento del prototipo termoeléctrico tipo termociclador en conjunto (hardware y software del temociclador)

1.6 LIMITES Y ALCANCES.-

Las limitaciones se deben:

- La obtención de los datos se realizará mediante un microcontrolador ATMEGA8 con interfaz I2C para los sensores.
- La cantidad e sensores a utilizar serán 1 que estará dentro del portatubo.
- La interfaz de transferencia de datos será mediante puerto serial RS232 para la comunicación con la PC.
- Los programas de cambio de temperatura no se almacenaran en una base de datos solo se correrán datos introducidos en los campos de texto.

- Se utilizara el modelo PID y se verificaran los valores con instrumentos externos como ser cronometro y termómetro.
- Los alcances de este prototipo se aplican al manejo y funcionamiento del prototipo Termociclador.

1.7 JUSTIFICACIÓN

El adaptar la tecnología a las necesidades de demanda de un termociclador a bajo costo. La conjunción de la tecnología que implica en este caso un circuito electrónico y un programa de control que permite realizar la interfaz entre el hardware y software para lograr un termociclador digital con un costo mínimo y una prestación de servicio aceptable. Se busca una solución que combina la informática y la electrónica que implica una parte de software y otra de hardware, que podrá dar utilidad a computadoras de poca configuración en su hardware y software

Un termociclador normalmente no esta al alcance de las personas que los necesitan, incluso puede ser que no desarrollen sus habilidades por falta de apoyo con material didáctico en su aprendizaje. Es por eso que el prototipo termo eléctrico tipo termociclador pueden beneficiar los alumnos o personas particulares brindándoles material didáctico de bajo costo o sea un producto que ofrezca resultados validos cualquier investigación o trabajo en aulas.

Al finalizar, con la comprobación de la hipótesis se logra hacer que una computadora común pueda utilizarse como un termociclador a un bajo costo que cumpla con las funciones principales que un termociclador, con el control de las variaciones exactas o con el mínimo de error de temperatura.

CAPITULO 2

MARCO TEORICO

2.1. EL PRINCIPIO DE REALIMENTACION

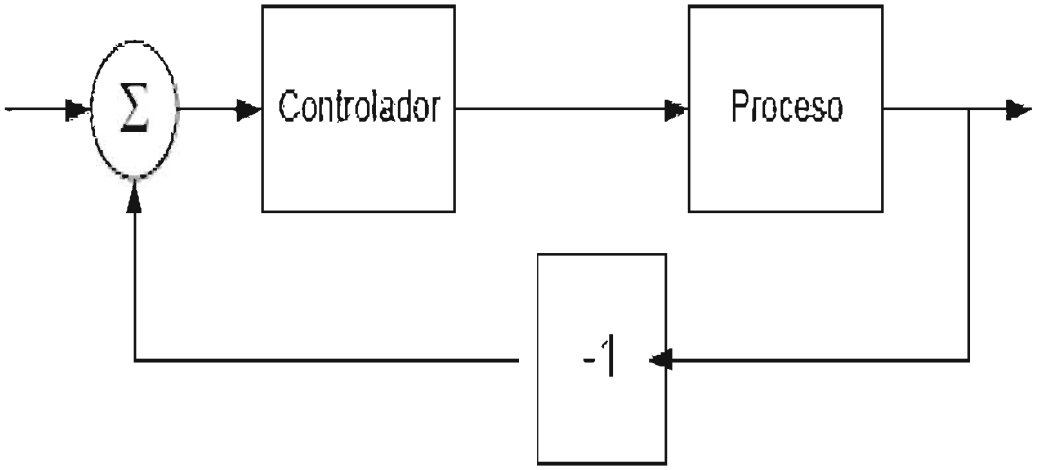
La idea de la realimentación es bastante simple y muy poderosa. A lo largo de su historia, ha tenido una fuerte influencia en la evolución de la tecnología. Las aplicaciones del principio de realimentación tuvieron éxito en los campos del control, comunicaciones e instrumentación. Para entender el concepto, asumiremos que el proceso es tal que cuando el valor de la variable manipulada se incrementa, entonces se incrementan los valores de las variables del proceso. Bajo este concepto simple, el principio de realimentación puede ser expresado como sigue:

Incrementar la variable manipulada cuando la variable del proceso sea más pequeña que la referencia y disminuirla cuando ésta sea más grande.

Este tipo de realimentación se llama "realimentación negativa" debido a que la variable manipulada se mueve en la dirección opuesta a la variable del proceso. El principio puede ser ilustrado por el diagrama de bloques que se muestra en la Fig.2.1. En este diagrama el proceso y el controlador están representados por cajas negras y las flechas denotan las entradas y salidas a cada bloque. Note que existe un símbolo especial que denota una suma de señales. El diagrama de bloques muestra que el proceso y el controlador

están conectados en un lazo realimentado. La presencia del signo en el bloque de retorno indica que la realimentación es negativa.

Fig. 2.1: Diagrama de bloques del sistema de control de un proceso.



FUENTE: Ing. Mauricio Améstegui Moreno "Apuntes controlador PID"

EXPLICACION DEL PROCESO.- El bucle de control típico está formado por el proceso, el transmisor, el controlador.

El controlador permite al proceso cumplir su objetivo de transformación del material y realiza dos funciones esenciales:

a) Comparar la variable medida con la de referencia o deseada (punto de consigna) para determinar el error.

b) Regula el funcionamiento dinámico del bucle de control mediante circuitos especiales para estabilizar el sistema.

2.2 Sistemas de control.

En los sistemas industriales automatizados y controlados por computadoras se emplea unos o una combinación de los siguientes sistemas de control:

2.2.1 De dos posiciones (TODO O NADA) (ON/OFF)
2.2.2 PWM (Modulasion de ancho de pulso)y tiempo de ciclo
2.2.3 Proporcional (P)
2.2.4 Proporcional + Integral (PI)
2.2.5 Proporcional + Derivada (PD)
2.2.6 Proporcional + Integral + Derivada (PID)

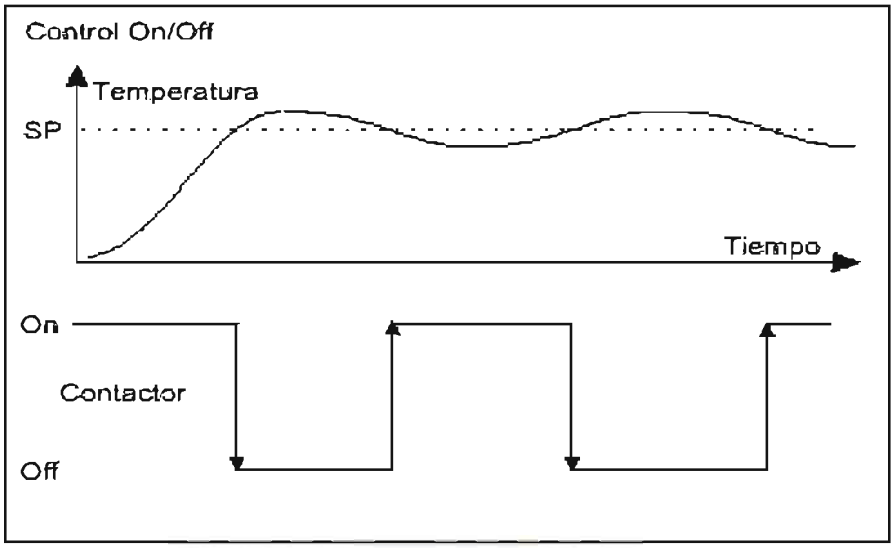
2.2.1 CONTROL TODO NADA.-

En la regulación todo-nada el elemento final de control se mueve rápidamente entre una de las posiciones fijas a la otra, para un valor único de la variable controlada.

Un control de este tipo, que se caracteriza por un ciclo continuo de variación de la variable controlada.

El control todo-nada funciona satisfactoriamente si el proceso tiene una velocidad de reacción lenta y posee un tiempo de retardo mínimo, en la fig2.2 se muestra la grafica del comportamiento del control todo o nada.

Figura 2.2: Grafica del comportamiento del control todo o nada.



Fuente: Elaboración propia

Antes de entrar a los controles P, PI, PID previamente se deberá conocer acerca de la modulación de ancho de pulso (PWM).

2.2.2 PWM y tiempo de ciclo.

Para poder controlar la temperatura con menos fluctuaciones, se debe poder entregar al termociclador una potencia gradual, en la medida requerida para mantenerlo a la temperatura deseada.

En la parte anterior del control On/Off, el relé del mando de calentamiento estará activado 100%, entregando el máximo de potencia al termociclador o bien desactivado sin entregar potencia.
El controlador proporcional entrega una potencia que varía en forma gradual entre 0 y 100% según se requiera y en forma proporcional al error (SP-PV).

2.2.3 Control proporcional

En el sistema de posición proporcional, existe una relación lineal continua entre el valor de la variable controlada y la posición del elemento final de control (dentro de la banda proporcional).

Para poner en marcha un controlador proporcional se deben fijar los siguientes parámetros:

- la temperatura deseada SP, por ej. SP = 200 °C
- la banda proporcional Pb, por ej. Pb = 10 %.
- el tiempo de ciclo tc, por ej. tc = 4 seg.

La banda proporcional Pb se programa en el controlador como un porcentaje de la señal de referencia.

Corresponde a una banda de temperatura situada por debajo del SP a lo largo de la cual, la potencia de salida variará proporcionalmente al error (referencia-sensor).

Internamente el controlador realizará el cálculo del porcentaje de salida "Out" mediante la siguiente fórmula:

Out = [100% * Error / banda]

banda = Pb*SP/100%

Error= (señal de referencia - señal del sensor)

El paréntesis [ ] se usa para indicar saturación, es decir que si al evaluar el interior, resulta mayor de 100%, se deja en 100% y si resulta 0 o negativo, se deja en 0%.

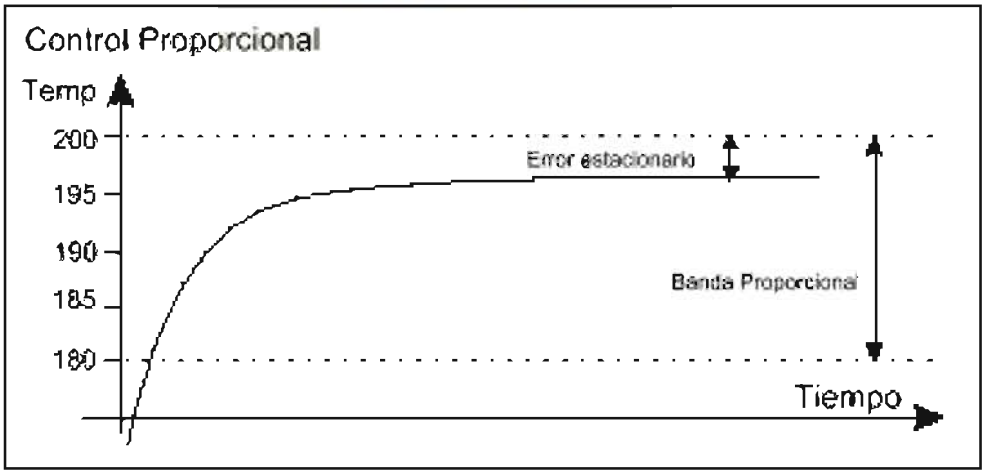
La misma fórmula se puede reescribir también en términos de la ganancia proporcional como:

$$Out = [\, Kp * E \,]$$

$$Kp = 100\% \,/\, (Pb*SP/100\%)$$

Donde la constante Kp se conoce como ganancia proporcional del control.
En la fig 2.3 se observa el comportamiento típico de un control proporcional de la temperatura vs. tiempo.

Figura 2.4: comportamiento de control proporcional



Fuente: Elaboración propia

No es difícil imaginar un control On/Off como uno proporcional con Pb=0%, pues cuando la temperatura esta arriba del SP (E < 0) la salida es 0% y cuando la temperatura esta abajo del SP (E > 0) es 100%. Por lo tanto es importante tener presente que mientras menor sea la banda proporcional, el control proporcional se comportará más parecido al On/Off, es decir tenderá a presentar oscilaciones alrededor de la señal de referencia.

El control proporcional presenta el problema que la temperatura jamás se estabilizará justo en el valor de la referencia. En la práctica se estaciona siempre en un punto dentro de la banda proporcional, produciendo así el "error estacionario".

2.2.4 Control Proporcional derivativo (PD)

Un control PD es uno proporcional al que se le agrega la capacidad de considerar también la velocidad de la temperatura en el tiempo. De esta forma se puede "adelantar" la acción de control del mando de salida para obtener así una temperatura más estable.

Si la temperatura está por debajo de la señal de referencia, pero subiendo muy rápidamente esta se pasara de largo respecto a la referencia, entonces el control se adelanta y disminuye la potencia del calefactor o resistencia.

Al contrario si la temperatura es mayor que la referencia, la salida debería ser 0% pero si el control estima que la temperatura baja muy rápido ésta cruzara a la referencia, entonces le coloca algo de potencia a la salida para ir frenando el descenso brusco.

La acción derivativa es llamada a veces "rate action" por algunos fabricantes de controladores porque consideran la "razón de cambio" de la temperatura.

Internamente el controlador realizará ahora el cálculo:

$$Out = [\ 100\% * (E - D * Vel) / (banda)\ ]$$

$$banda = Pb*SP/100\%$$

Donde "Vel" es la velocidad de la temperatura medida por el controlador, en °C/seg.

2.2.5 Control Proporcional Integral PI.

La forma efectiva de solucionar el problema del error estacionario es agregando al control proporcional el término "Integral" llamado también a veces "automatic reset" o "reset action", que será denominado como "acción integral".

El control será el mismo proporcional, pero a la salida se le suma la acción integral, que la corrige tomando en cuenta la magnitud del error y el tiempo que este ha permanecido. Para ello se programa al controlador una constante I, que es formalmente "la cantidad de veces que aumenta la acción proporcional por segundo".

La salida se corrige en una cantidad equivalente a la integral del error multiplicada por I. Si parece complicado, es porque en realidad lo es un poco.

La idea es que la salida del control será la misma que en un control proporcional más la magnitud de S multiplicada por la constante I Internamente el control PI realiza el cálculo con la siguiente fórmula:

Out = [100% * (E + I*S) / banda]

Out= [(100%*E/banda) + (100%*I*S/banda)]

banda = (Pb*SP/100%)

Por muy pequeño que sea el valor programado de I, siempre corregirá el error estacionario, pero tardará más tiempo en hacerlo.

Al revés si se programa un valor excesivo de I, entonces la acción integral tendrá mucha fuerza en la salida y el sistema alcanzará rápidamente el SP, pero lo más probable es que siga de largo por efectos de la inercia térmica.

Entonces la acción integral (con error negativo) será en sentido contrario, S irá disminuyendo rápidamente con la magnitud del error. Como consecuencia habrá una excesiva disminución de la potencia de salida y la temperatura probablemente baje de la referencia.

En la práctica normalmente I deberá ser grande solo en sistemas que reaccionan rápidamente, (por ejemplo controles de velocidad de motores) y pequeño para sistemas lentos con mucha inercia. (Por ejemplo hornos, termocicladores, controles térmicos de motores).

En general los valores de la constante I son relativamente pequeños, para la mayoría de los sistemas el valor adecuado de I varia entre 0 y 0.08 1/seg.

La constante Ki es la ganancia integral o la salida "Out" en el sistema que será la que ira disminuyendo la potencia con el error.

2.2.6 Control Proporcional Integral Derivativo PID.

Ahora un control PID es un controlador proporcional con acción derivativa y acción integral simultáneamente superpuestas.

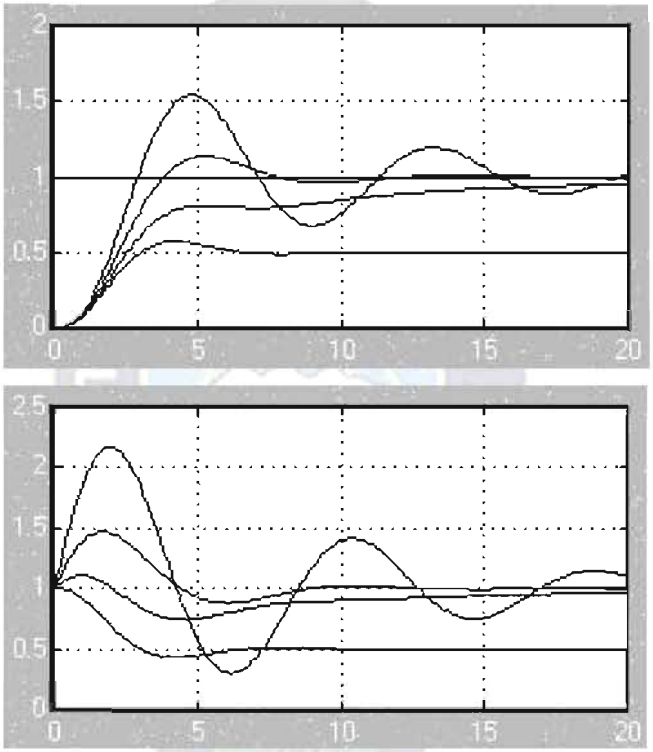
Out = [P + I + D]

En términos de ganancias:

Out = Kp + Kd + Ki

En la figura 2.5 se observa distintas señales de control que van desde señales con control P, PI, PID y sin PID que es la que tiene mas ocilascion en la señal de salida.

Fig. 2.5: Simulación de un sistema en lazo cerrado con control PID



FUENTE: Ing. Mauricio Améstegui Moreno "Apuntes controlador PID"2007

2.3 Set Point

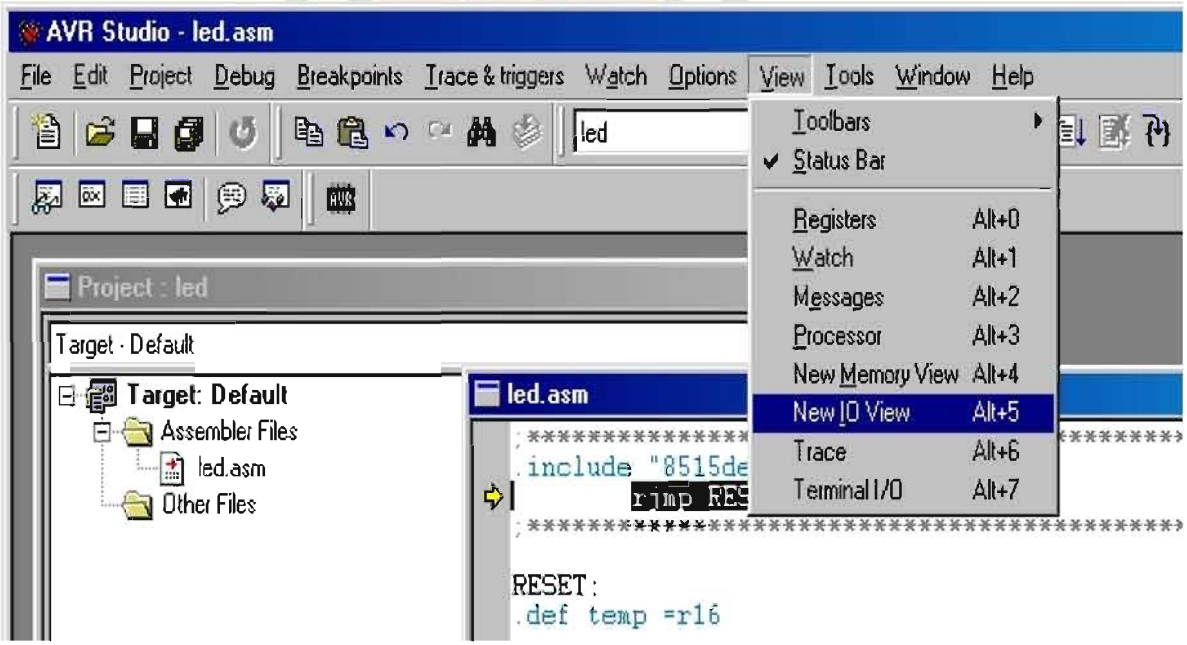
Set Point es cualquier punto de ajuste de alguna variable de un sistema de control automático. Puede ser: Nivel; presión, temperatura; desplazamiento, rotación,etc.....

El lazo de control es el conjunto de dispositivos capaces de realizar un sistema de control automático. Se compone de: un elemento sensor, un elemento de control (donde se configura set point), dependiendo de lo que se quiere controlar, y un elemento de salida que es el controlado.

2.4 Avr Studio

En la figura 2.6 se muestra el programa AVR Studio 4 que es una herramienta integrada, el entorno de desarrollo para la depuración permite la simulación y emulación del chip AVR. Cuenta con una gama amplia de la familia of microcontroladores, la interfaz de usuario esta especialmente diseñado para ser fácil de usar y proporciona una rápida curva de aprendizaje.

Figura 2.6 Pantalla del programa AVR Studio



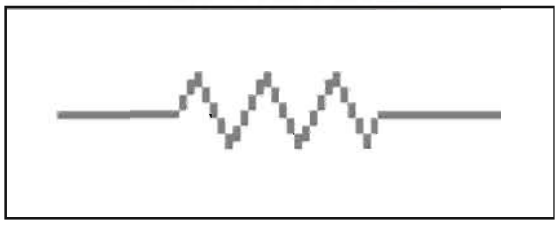
Fuente: Manual de AVR Studio

2.5 Componentes Electrónicos

2.5.1 Resistencia

Una resistencia es un elemento pasivo que disipa energía en forma de calor. La resistencia es un conductor encargado de unir eléctricamente cada uno de los componentes de un circuito eléctrico. La unidad de medida de la resistencia es el ohmio (_). En la Figura 2.7 se observa el símbolo esquemático de la resistencia.

Fig 2.7: Símbolo esquemático de la resistencia



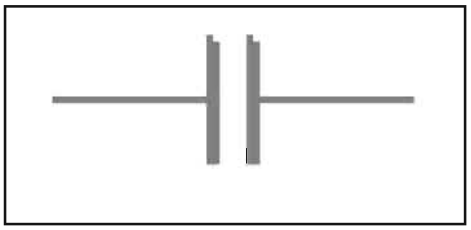
Fuente: Pérez F [2003]

2.5.2 Capacitor

En electricidad y electrónica, un condensador o capacitor es un dispositivo que esta formado por un par de conductores, generalmente en forma de tablas, esferas o láminas, separados por un material dieléctrico (siendo este utilizado en un condensador para disminuir el campo eléctrico, ya que actúa como aislante) o por el vacío, que, sometidos a una diferencia de potencial (d.d.p.) adquieren una determinada carga eléctrica. A esta propiedad de

almacenamiento de carga se le denomina capacidad o capacitancia. En el Sistema internacional de unidades se mide en Faradios (F) y se muestra en la figura 2.8..

Fig 2.8: Símbolo esquemático del capacitor

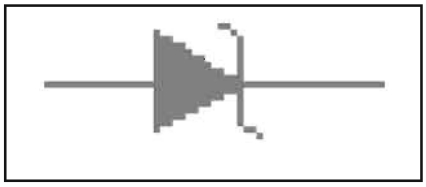


Fuente: Pérez F [2003]

2.5.3 Diodo zener

Un diodo Zener, es un diodo de silicio que se ha construido para que funcione en las zonas de rupturas. Llamados a veces diodos de avalancha o de ruptura, el diodo zener es la parte esencial de los reguladores de tensión casi constantes con independencia de que se presenten grandes variaciones de la tensión de red, de la resistencia de carga y temperatura. En la Figura 2.9 se observa el símbolo esquemático del diodo zener.

Fig 2.9: Símbolo esquemático del diodo zener



Fuente: Pérez F [2003]

2.6 Puerto Serie

Un puerto de serie es una interfaz de comunicaciones de datos digitales, frecuentemente utilizado por computadoras y periféricos, en donde la información es transmitida bit a bit enviando un solo bit a la vez, en contraste con el puerto paralelo que envía varios bits simultaneamente. La comparación entre la transmisión en serie y en paralelo se puede explicar con analogía con la carreteras. Una carretera tradicional de un sólo carril por sentido sería como la transmisión en serie y una autovía con varios carriles por sentido sería la transmisión en paralelo, siendo los coches los bits.

MICROCOMPUTADOR: Este bloque comprende un circuito completamente digital que está compuesto principalmente de un mirocontrolador que maneja los tiempos de funcionamiento de cada bloque que se encuentra dentro de la cámara térmica

ACTUADORES: Este bloque es el circuito analógico de conversión y adaptación de las señales digitales entregadas por el microcomputador para ser utilizadas por las compuertas, ventilador y calefactor internos de la cámara térmica.

VENTILADOR: Es básicamente un motor de AC el cual se encarga de extraer aire caliente de la cámara térmica.

SENSOR DE TEMPERATURA: Es el encargados de percibir la variación de temperatura y así ofrecer datos del comportamiento de la temperatura al usuario para su posterior análisis.

CALEFACTOR. Es la fuente de calor del sistema

TRANSDUCTOR: Es un subsistema electrónico analógico encargado de amplificar y eliminar el mayor ruido posible de los datos entregados por el sensor de temperatura.

ADC: Este bloque se encarga digitalizar la señal analógica para ser manejada por el microcomputador.

PC CONTROL Y MONITOREO: Este bloque comprende un programa desarrollado para controlar y monitorear del sistema.

2.6.1 Puerto serie tradicional

El puerto serie RS-232 por excelencia es el que utiliza cableado simple desde 3 hilos hasta 25 y que conecta ordenadores o microcontroladores a todo tipo de periféricos, desde terminales a impresoras y módems pasando por ratones.

2.6.2 Puertos serie modernos

Comunicaciones serie

Se transmiten datos, señales de control e información de sincronización sobre un mismo canal. Es necesaria la transformación de los datos a un formato serie.

En la comunicación serial se distinguen la comunicación síncrona y asíncrona

a) Comunicación Síncrona

No necesita emplear bits de comienzo y fin para delimitar la trama (carácter).

b) Comunicación Asíncrona

Para sincronizar la información necesita bits de transmisión, de arranque y parada

para la transmisión y recepción de datos. La información de sincronización forma
parte de la trama (carácter).
En una primera aproximación, los puertos y las interfaces del computador se pueden
clasificar en función del tipo de transmisión de información que permitan:
a) Serie
- Puerto serie: Interfaz RS-232.
- Puerto/interfaz USB.
- Puerto FireWire: Interfaz IEEE 1394.

b) Paralela
- Puerto paralelo: Interfaz Centronics.

Las limitaciones impuestas por los puertos serie y paralelo tradicionales afectan a los siguientes factores:
- Velocidad de transmisión.
- Número de dispositivos que pueden conectarse al computador.
- Flexibilidad.
- Simplicidad de configuración.

2.6.3 Tipos de comunicaciones seriales

Simplex

En este caso el transmisor y el receptor están perfectamente definidos y la comunicación es unidireccional. Este tipo de comunicaciones se emplean usualmente en redes de radiodifusión, donde los receptores no necesitan enviar ningún tipo de dato al transmisor.

Duplex, half duplex o semi-duplex

En este caso ambos extremos del sistema de comunicación cumplen funciones de transmisor y receptor y los datos se desplazan en ambos sentidos pero no simultáneamente. Este tipo de comunicación se utiliza habitualmente en la interacción entre terminales y un computador central.

Full Duplex

El sistema es similar al duplex, pero los datos se desplazan en ambos sentidos simultáneamente. Para ello ambos transmisores poseen diferentes frecuencias de transmisión o dos caminos de comunicación separados, mientras que la comunicación semi-duplex necesita normalmente uno solo. Para el intercambio de datos entre computadores este tipo de comunicaciones son más eficientes que las transmisiones semi-duplex.

2.7 REAACION EN CADENA DE LA POLIMERAZA

2.7.1 EL PCR (REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERAZA) Y EL ADN

En 1953 Watson y Crick deducen la estructura del DNA, dio la pauta para nuevos descubrimientos que conducirían a lo que se llama tecnología del DNA Recombinante

Hablando específicamente de DNA según el modelo de Watson y Crick, la molécula está constituida por dos largas cadenas de nucleótidos con polaridad opuesta, unidas entre sí formando una doble hélice. Cada nucleótido está formado por :

1.- Molécula de azúcar (desoxirribosa).

2.- Base orgánica nitrogenada: bases pirimídicas (Citosina, timina), bases púricas (Adenina, Guanina).

3.- Grupos fosfato.

En muchas de las aplicaciones de la Biología Molecular es necesario disponer de una gran cantidad de material genético, pero no siempre es posible obtenerlo en tal cantidad, por lo que es fundamental contar con un método capaz de realizar copias del material genético existente.

El ADN es el soporte físico que contiene toda la información genética de un organismo, en donde un gen es un segmento de ADN que tiene una determinada función y está constituido por una secuencia específica de bases.

La replicación puede ser natural o artificial "in Vitro".La replicación natural del ADN es el proceso mediante el cuál se sintetizan dos moléculas hijas de ADN a partir de un ADN progenitor, que actúa como molde.

En Abril de 1983, Kary Mullis dio a conocer la Técnica de reacción en cadena de la Polimerasa o PCR que es una técnica para la síntesis "in Vitro" de secuencias específicas de DNA con la cual la insuficiente cantidad de ADN ya no es un problema en los procedimientos de Biología Molecular ni en los procedimientos de diagnóstico basados en el estudio de DNA, ya que se puede replicar artificialmente mediante un proceso de síntesis que permite la obtención de un gran número de copias de una secuencia específica de bases.

La técnica se basa en la replicación del ADN usando un molde de cadena sencilla, pero a partir de una región de doble cadena. Para crear esta región doble cadena se usan los denominados iniciadores (primers). Son una pareja de oligonucleótidos sintetizados de manera que sean complementarios a cada uno de los extremos del fragmento de DNA que se desea amplificar.

Partiendo de este principio, la reacción en Cadena de la Polimerasa se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas como se ve en la fig 2.10:

1ª Desnaturalización del ADN doble cadena.

2ª Hibridación de los iniciadores a la zona 3´ específica de cada una de las hebras.

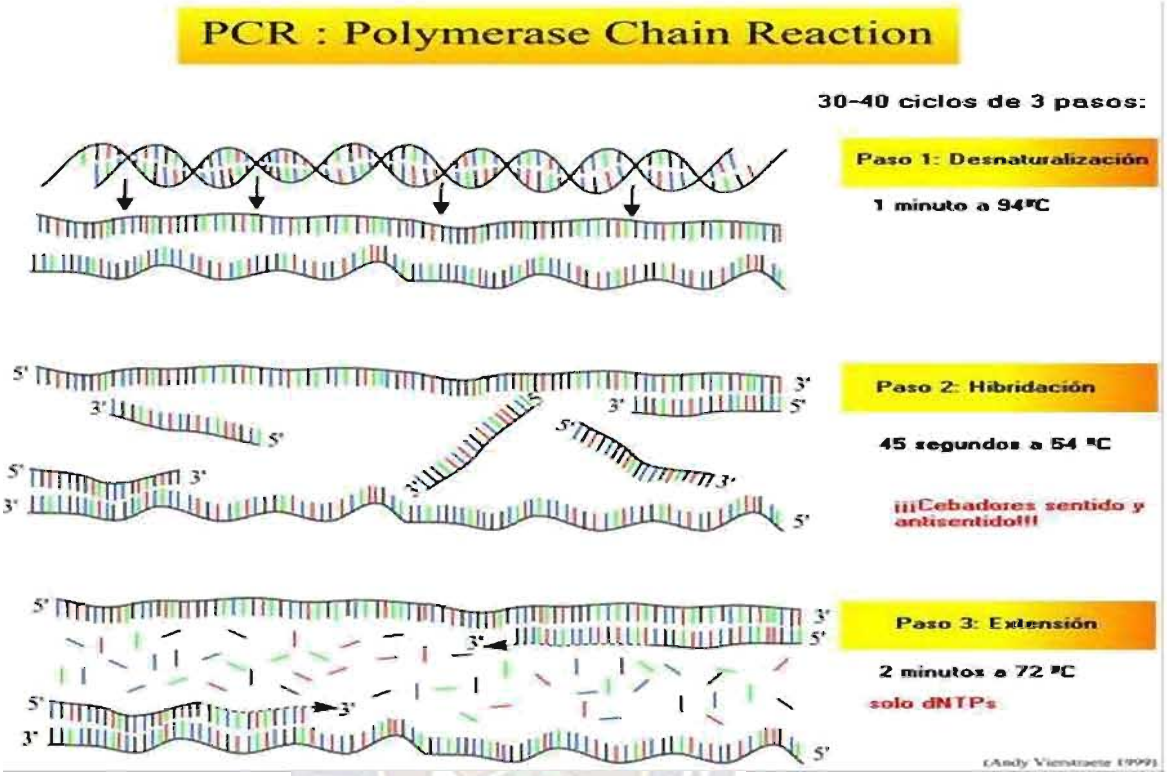
3ª Extensión del cebador por actuación de la DNA polimerasa.

En la primera etapa (desnaturalización) la doble hélice de ADN se separa en dos hebras. Para ello se realiza una incubación de la muestra a altas temperaturas (93-97ºC). La re naturalización se producirá cuando la temperatura disminuya.

En el segundo paso (hibridación) los cebadores se unen a las zonas 3´ complementarias que flanquean el fragmento que queremos amplificar. Se realiza gracias a la bajada de la temperatura (50-65º C)

En la tercera etapa (elongación) se produce la síntesis de una cadena sencilla (produciéndose un fragmento de doble cadena por la complementariedad) en la dirección 5´-> 3´ mediante la enzima DNA polimerasa, la cual incorpora los desoxinucleótidos fosfato presentes en el medio siguiendo la cadena molde.

Fig 2.10: Pasos básicos de la PCR



Fuente: Andy Vierstracte 1999

En las tres etapas fundamentales, son definidas rigurosamente por los tiempos y las temperaturas correspondientes [1, 2, 3]:

• Etapa inicial – de 2 a 10 minutos a 95°C

• Etapa intermedia – Alrededor de 30 ciclos con la siguiente secuencia:

- Separación del ADN (Melt) – 60 segundos a 94°C

- Anillado (Anneal) – 45 segundos a 54°C

- Alargamiento (Extend) – 120 segundos a 72°C

• Etapa Final

- Alargamiento – de 7 a 10 minutos 72°C

- Conservación – 4°C (Conservar a esta temperatura)

Para la técnica de PCR utilizamos un termociclador que es un dispositivo Electro-mecánico constituido por materiales con propiedades termoeléctricas y termodinámicas, que permite el control preciso y eficiente de temperatura sobre un bloque porta tubos que contiene muestras, con el fin de utilizarlo en el proceso de replicación de DNA conocido como reacción en cadena de la polimerasa PCR por lo cual se puede multiplicar el segmento de ADN, para lograr la amplificación de segmentos específicos de la molécula de ácido desoxirribonucleico. Podemos observar un Termociclador para reacciones de PCR en la figura 2.11

Fig 2.11: Termociclador para reacciones de PCR

Fuente: TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice

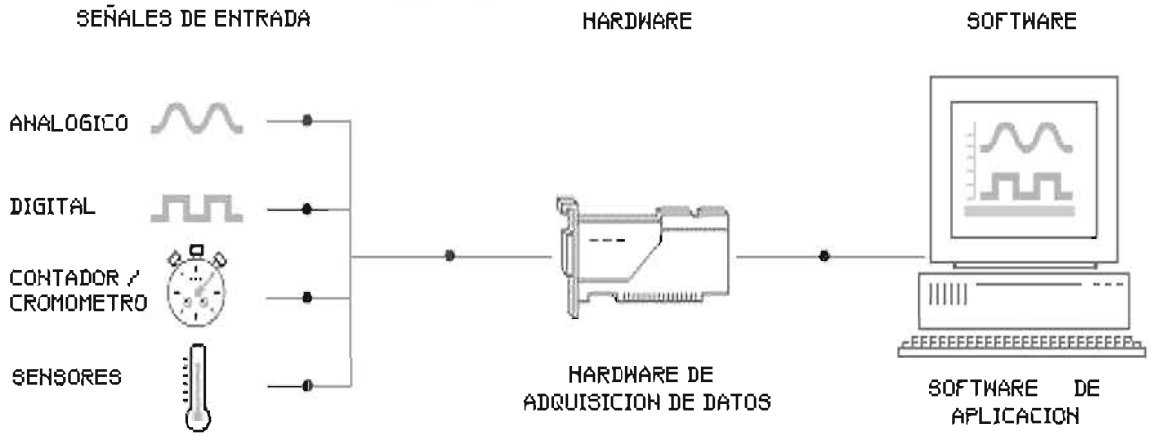
CAPÍTULO 3

3.1 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL PROTOTIPO

La adquisición de datos mediante la computadora , es el proceso de obtener información de manera automatizada, mediante sensores y dispositivos bajo prueba.

Aplica una combinación de hardware y software basados en computadora para brindar un sistema de medida flexible (Figura 3.1). A menudo, se debe acondicionar sensores y señales antes que un dispositivo de adquisición de datos los adquiera. Este proceso necesita de una "Interfase" entre el mundo físico y el computador que se suele denominar como tarjeta de adquisición de datos.

Figura 3.1: Adquisición de datos mediante computadora



Fuente : Juan Luis Ticona

3.2 Desarrollo

La adquisición de muestras se hace en forma manual para luego tratarlas y colocarla al bloque porta tubos que serán los que contengan el material genético, donde se ejecuta en forma automática los eventos de la reacción PCR (Reaccion en Cadena de la Polimerasa).
En el bloque térmico se produce el calentamiento y enfriamiento a una velocidad determinada dependiendo de los distintos protocolos, una vez corrida la muestra se coloca en la cámara de electro foresis con un protocolo para poder obtener las bandas para luego revelarlas.

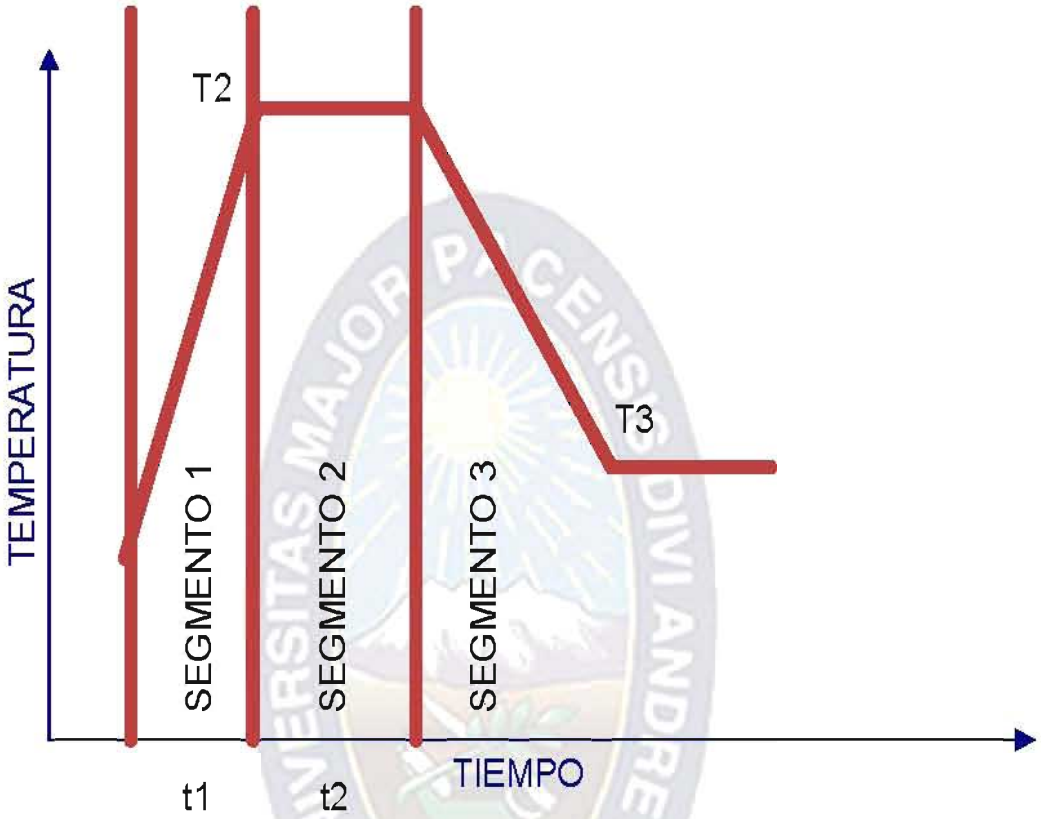
El rango de temperaturas va desde los 4 ºC a 95ºC, cada protocolo PCR tiene su propio perfil de temperatura, el cual queda definido por un conjunto de programas, donde cada programa se define por una sucesión de segmentos.

A continuación se define un segmento de un programa determinado, la temperatura a especificar es T2, la cual debe ser alcanzada durante el tiempo t1, definiendo de esa forma la pendiente “RAMP”.

El tiempo de mantenimiento en la temperatura lograda es t2, el paso de T2 a T3 se define por otro segmento y corresponde a la programación del segmento 3 en un tiempo dado.

Dentro de cada programa se detalla la temperatura, tiempo y el número de ciclos de repetición del mismo, se muestra en la Figura 3.2.

Figura 3.2. Ejemplo de un segmento



Fuente: elaboración propia

La importancia de la temperatura respecto al tiempo a 32 ciclos (repeticiones).

- Etapa inicial existe la desnaturalización a 95ºC durante 3-7 minutos (1 ciclo).

- Etapa Intermedia Hibridación 36 ciclos
  - Separación del ADN 35 segundos a 94ºC
  - anillado 30 segundos a 52ºC

- Alargamiento 25 segundos a 72ºC

- Etapa final Extencion 15 minutos a 72ºC

Estos pasos son importantes ya q este protocolo (pasos a seguir en temperatura y tiempo) es fundamental para que la reacción de la polimerasa tenga éxito.

Aplicando una combinación de hardware y software controlado y configurado en una computadora para brindar un sistema de medida flexible.

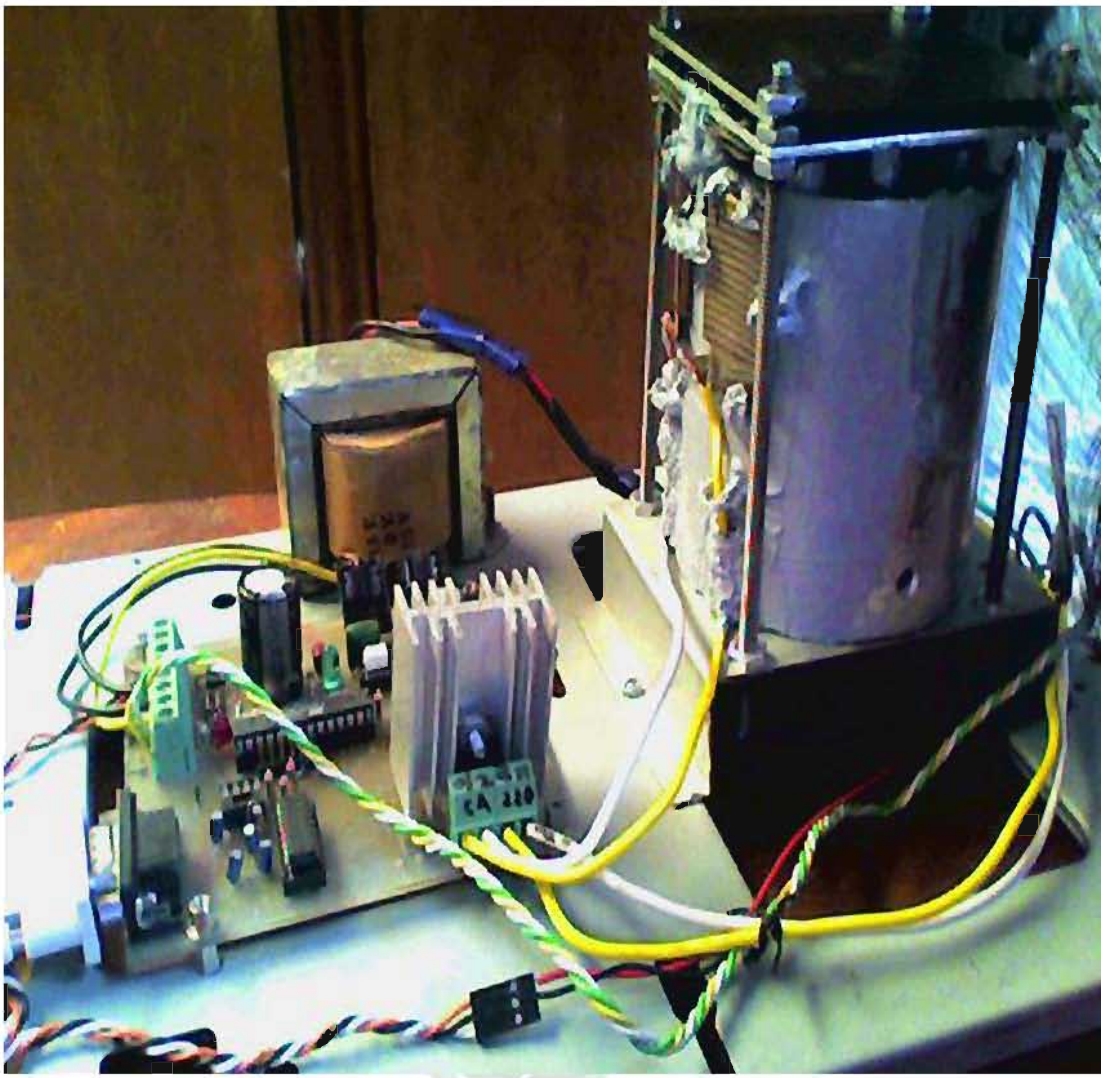
La adquisición de los datos se realiza mediante un microcontrolador avr ATmega8 y es enviado a la PC para realizar el control y seguimiento de los segmentos de tiempo para cada muestra.

El sistema cuenta con una parte física (donde van las muestras) sistema que esta conectado a una tarjeta de adquisición de datos mediante un sensor de temperatura, que obtiene los parámetros de temperatura y los envía a un microcontrolador quien a su vez retransmite los datos a la PC donde se realiza el control(Control PID).

Como respuesta la PC retorna los valores que serán interpretados por el microcontrolador para que este de señales a los actuadores de continuar, parar, o cambiar el control de los distintos actuadores según corresponda a los segmentos de tiempo pre programados en la PC.

En la figura 3.3 se muestra el prototipo termoeléctrico tipo termociclador, la parte del circuito, calefacción y refrigeración sujetada a un chasis de fierro.

Figura 3.3: Curvas de temperaturas

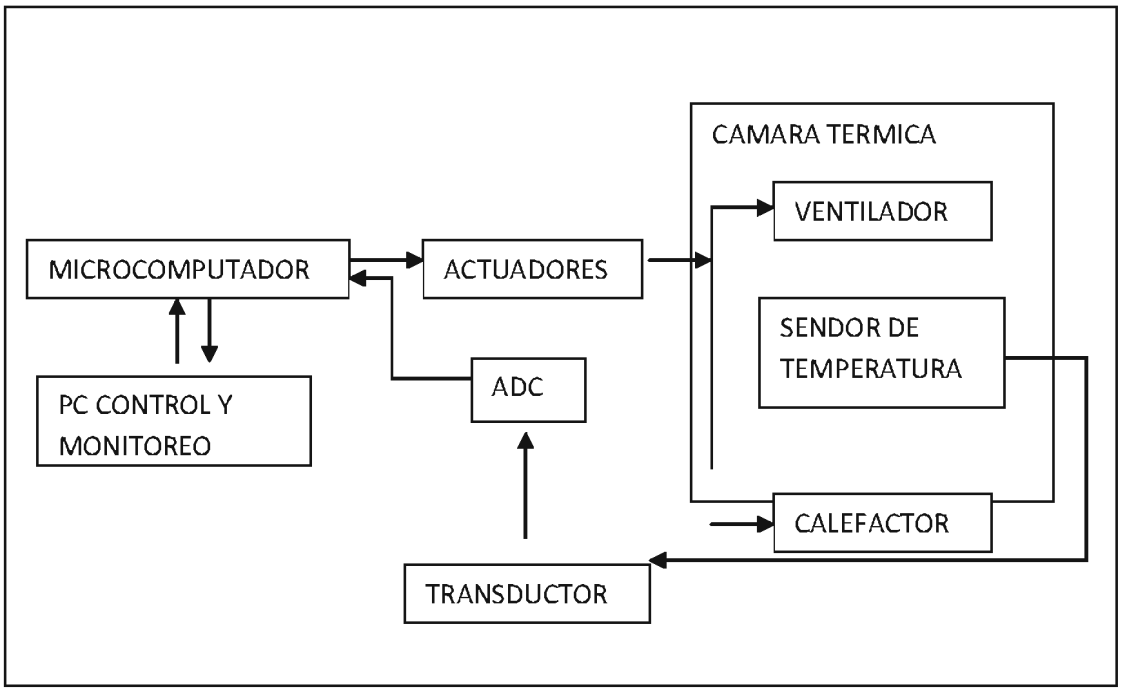


Fuente: Elaboración propia

3.3 Diagrama en bloques general

La cámara térmica para control de temperatura presenta las siguientes características mostradas en el diagrama de bloques de la fig. 3.4.

Fig. 3.4 diagrama de bloque general



Fuente: Elaboración Propia

MICROCOMPUTADOR:

Este bloque comprende un circuito completamente digital que está compuesto principalmente de un mirocontrolador que maneja los tiempos de funcionamiento de cada bloque que se encuentra dentro de la cámara térmica

ACTUADORES:

Este bloque es el circuito analógico de conversión y adaptación de las señales digitales entregadas por el microcomputador para ser utilizadas por las compuertas, ventilador y calefactor internos de la cámara térmica.

VENTILADOR:

Es básicamente un motor de AC el cual se encarga de extraer aire caliente de la cámara térmica.

SENSOR DE TEMPERATURA:

Es el encargados de percibir la variación de temperatura y así ofrecer datos del comportamiento de la temperatura al usuario para su posterior análisis.

CALEFACTOR.

Es la fuente de calor del sistema

TRANSDUCTOR:

Es un subsistema electrónico analógico encargado de amplificar y eliminar el mayor ruido posible de los datos entregados por el sensor de temperatura.

ADC:

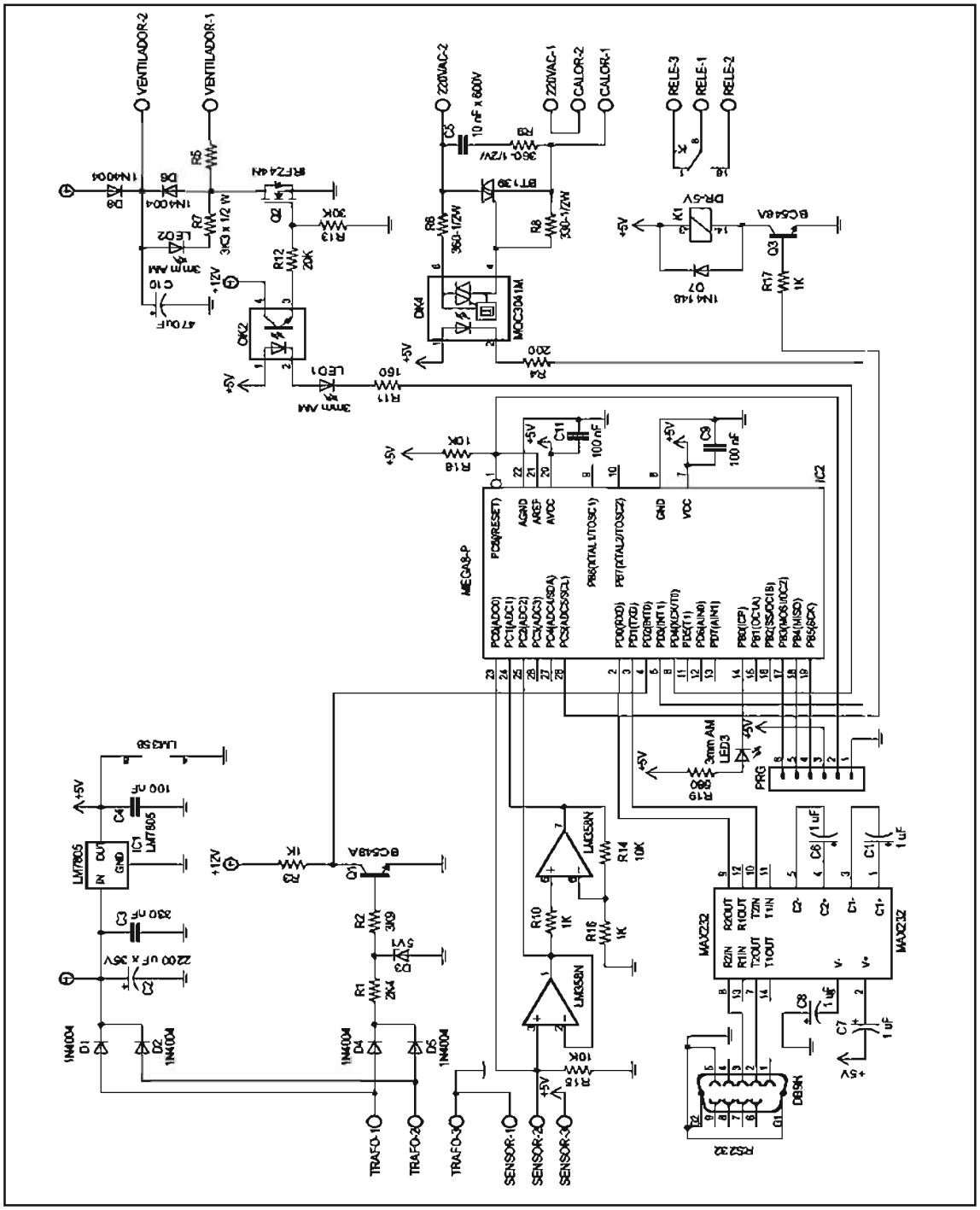
Este bloque se encarga digitalizar la señal analógica para ser manejada por el microcomputador.

PC CONTROL Y MONITOREO:

Este bloque comprende un programa desarrollado para controlar y monitorear del sistema

En la figura se muestra el diagrama general del circuito del prototipo termoeléctrico, con sus componentes, valores, conecciones.

Figura 3. 5 : Diagrama del circuito del prototipo termoelectriico.



Fuente: elaboración Propia

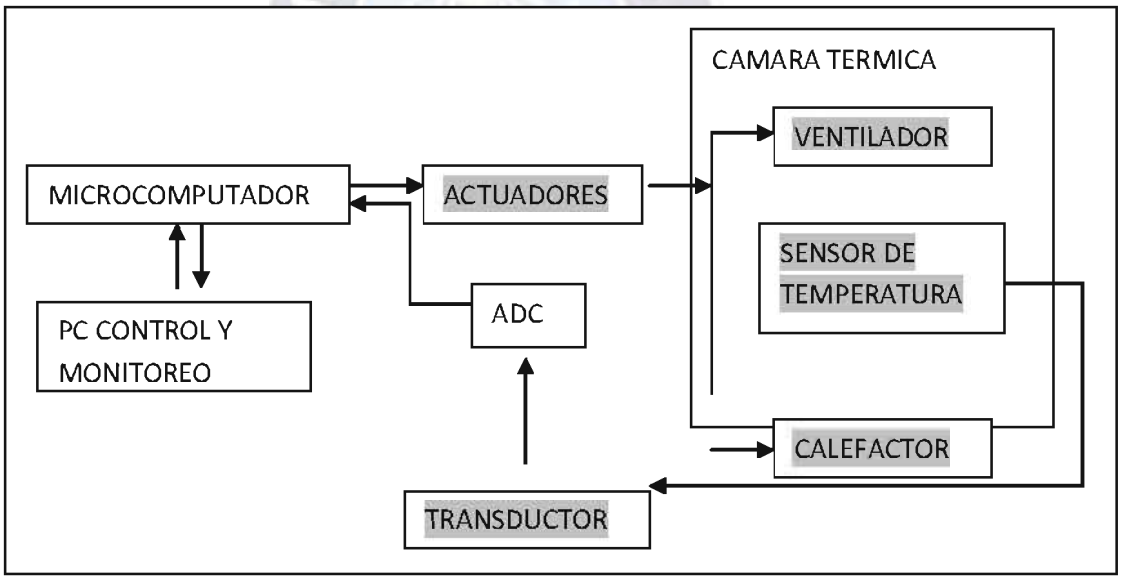
3.4 DISEÑO DE HARDWARE

El termociclador realizado se puede sintetizar en cuatro Bloques principales: Calentamiento/Refrigeración, microcontrolador, sensor, actuadores e interfaz de usuario equipo.

3.4.1 Diseño del sistema electrónico (parte analógica)

En esta etapa se considerara la parte remarcada de la fig 3.6.

Fig. 3.6 diagrama de bloque Diseño del sistema electrónico (Parte analoga).



Fuente: Elaboración Propia

3.4.2 Selección del tipo de termometro

La cámara térmica lleva en su interior un sensor de temperatura que fue seleccionado por su linealidad y rango de temperatura, como el sistema se trabaja con un rango de temperatura de 20^0C a 100^0C correspondiente.

3.4.3 Diseño del circuito para calefacción y ventilación

Debido a que la etapa de calefacción y ventilación utilizan una circuitería similar, se realizara un mismo análisis para ambos.

Debido a que es posible la interferencia de fenómenos no deseados como voltajes de pico generados al encender o apagar resistencias calefactoras se tuvo cuidado en la conexión de los circuitos digitales con los de potencia y ruido del ventilador ya que se utiliza la tensión de línea 220 v como fuente de energía de los circuitos de potencia.

Para evitar que los fenómenos indeseados ya mencionados perturben el proceso de control es necesario aislar eléctricamente el circuito de control (digital) del circuito de potencia mediante optotriacs MOC3041M.

El optotriac debe activar circuitos de potencia para controlar la energía suministrada a las resistencias calefactoras y al ventilador, por esta razón debe estar aislado eléctricamente .

El sistema presenta un mecanismo de ventilación mediante el cual se puede bajar la temperatura de una forma rápida y efectiva para lo cual se realizó el siguiente circuito de potencia que funciona a la entrada con una señal digital y que produce el evento de apertura o cierre del optotriac MOC3041M.

La figura 3.7 muestra un bloque de calentamiento y Refrigeración está conformado por diferentes partes, en la fase de calentamiento esta una niquelina “resistencia”, en la fase de refrigeración esta un ventilador, cuya

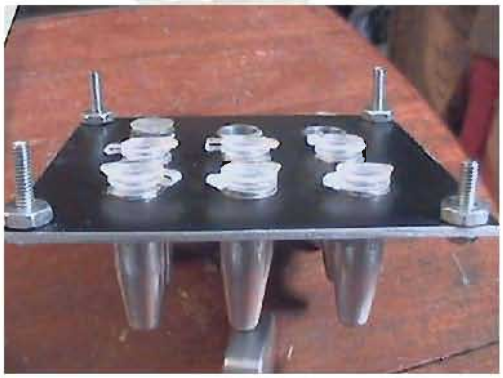
misión es la de evacuar, por convección forzada, la mayor cantidad de calor posible cuando el proceso requiere enfriar las muestras.

Figura 3.7: Sistema de Calentamiento y refrigeración

Fuente: Elaboración Propia

En la figura 3.8 el grupo de nueve celdas conforman un modulo de Peltier (porta tubos), conectadas en serie y actúan a modo de una bomba de calor, posee 1 perforación en la que colocamos los tubos eppendorf

FIGURA 3.8 : modulo de Peltier



Fuente: Elaboración Propia

En la figura 3.9 se observa el sistema de Calentamiento/Refrigeración y el bloque portatubos. El sistema de disipación compuesto por un disipador de aluminio en conjunto con las celdas (módulo de peltier o porta tubos), en su conjunto forman el Prototipo termoeléctrico tipo termociclador.

El encendido y apagado del ventilador se maneja por una señal generada por microcontrolador. Además sobre el portatubos hay una tapa calefactora que tiene como objetivo evitar la condensación de la muestra en la parte superior de los tubos y así evitar las pérdidas de muestras.

Figura. 3.9: sistema de Calentamiento/Refrigeración y el bloque portatubos

Fuente: Elaboración Propia

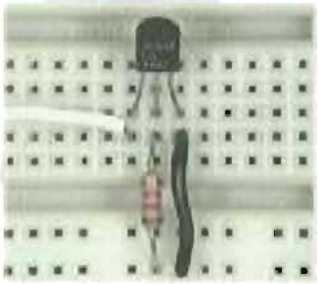
La Figura 3.10 muestra un tubo eppendorf, que es donde van las muestras tratadas, que son de un material especial que tiene la propiedad de soportar grandes cambios de temperatura.

Figura 3.10: Tubo eppendorf

Fuente: Elaboración Propia

En la figura 3.11 se muestra el termometro que es el que toma la temperatura ambiente por medio de un sensor, cuyo numero es LM35, el cual es un sensor de tres terminales, Vcc, Vout y Gnd, este sensor provee en su salida 10mV por 1 grado Celsius.

Figura 3.11: Termometro LM35



Fuente: Elaboración propia.

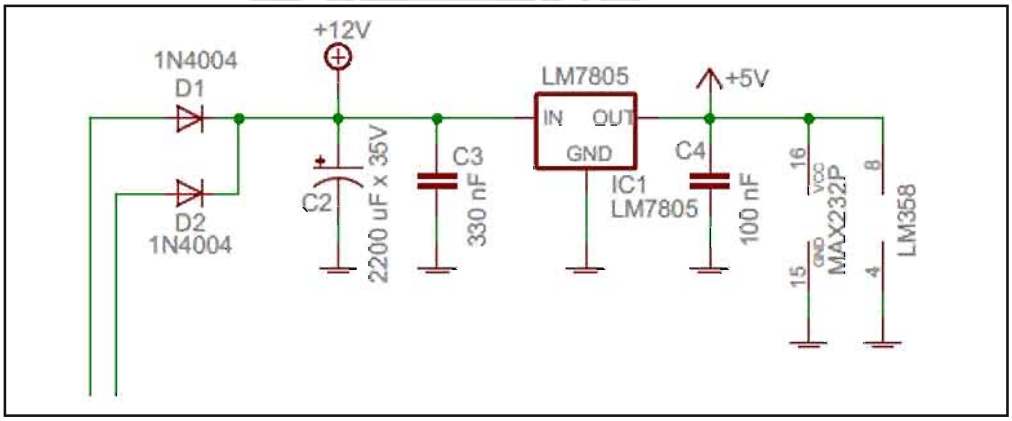
La figura 3.12 muestra el enlace entre la computadora y el prototipo será por puerto serie DB9 RX232, la adquisición de los datos se realiza mediante un microcontrolador avr ATmega8 que será el que envié datos a la PC para realizar el control de dispositivos de refrigeración y calentamientos según los tiempos y temperaturas ingresadas al programa para cada muestra.

Figura 3. 12 : Circuito de medida de termperatura.

Fuente: elaboración Propia

La figura 3.13 Muestra el diagrama de el Circuito de medida de temperatura.

Figura 3. 13 : Diagrama del circuito de medida de termperatura.

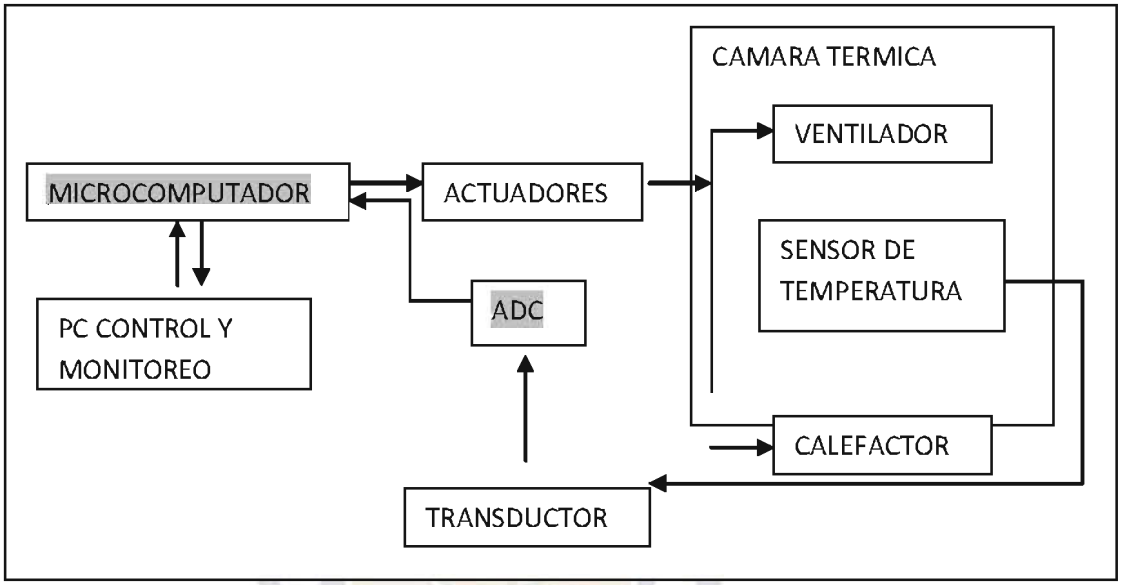


Fuente: elaboración Propia

3.4.4 Diseño del sistema electrónico (parte digital)

En esta etapa se considerara la parte remarcada de la fig. 3.14a.

Fig. 3.14 diagrama de bloque Diseño del sistema electrónico (Parte digital).



Fuente: Elaboración Propia

En la figura se muestra el Microcontrolador Atmega8 que es que que maneja los tiempos de funcionamiento de cada bloque que se encuentra dentro de la cámara térmica.

Figura 3.15: Microcontrolador Atmega8

Fuente: Elaboración propia

3.5 DISEÑO DE SOFTWARE

El prototipo realizado en Visual Basic se muestra en la FIG 3.16.

El mismo tiene botones para adicionar, eliminar, modificar registros en usuarios, muestra la pantalla del programa realizado para monitorear y controlar la temperatura mediante un control PID desarrollado en Visual Basic 6.0 presenta las siguientes opciones de configuración:

- Un botón PID que sirve para introducir parámetros del control.
- Una barra de desplazamiento para fijar el tiempo de muestreo de la señal de temperatura.
- Un botón INICIAR que sirve para arrancar y poner en funcionamiento todas las opciones anteriores.
- Un botón SALIR que sirve para abandonar el sistema cerrado el puerto y archivos utilizados.

Los pasos para adicionar datos son:

1.- Adicionamos el nombre de usuario, ci, alguna observación, número total de ciclos.

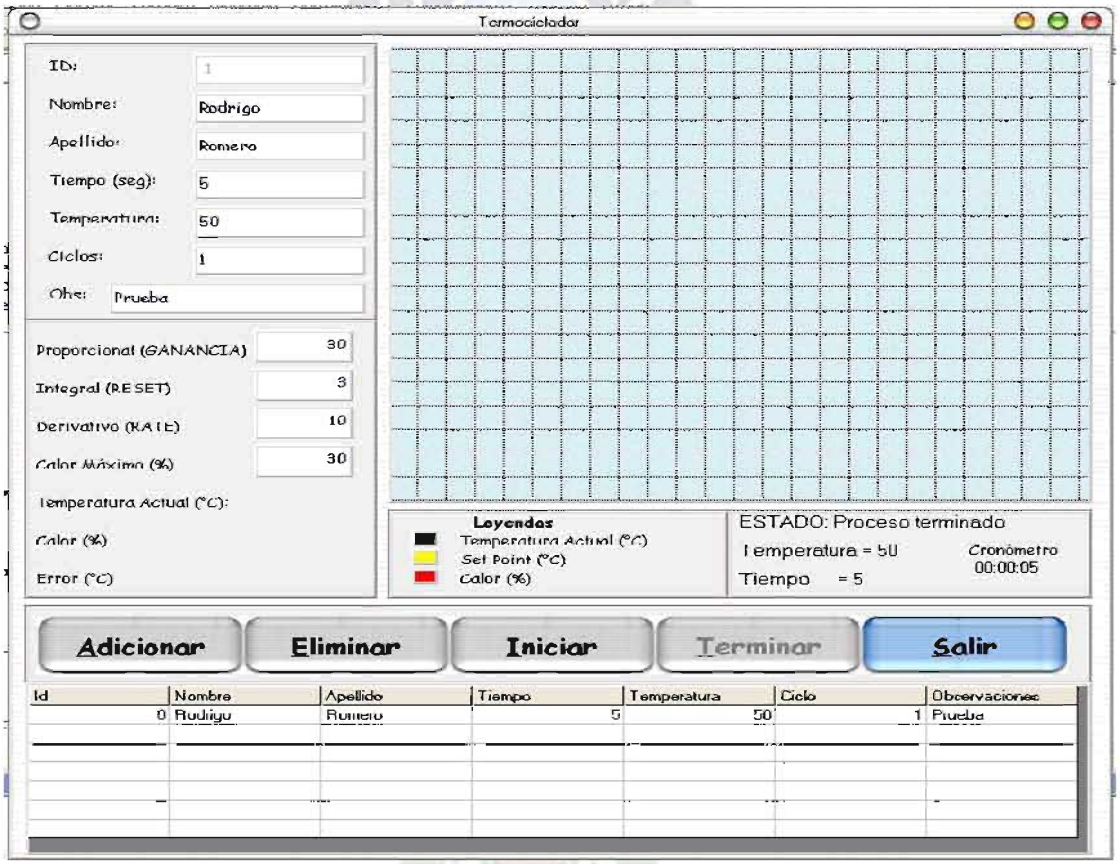
2.- Adicionamos el tiempo del primer ciclo y la temperatura.

3.- Ejecutamos el programa. (INICIAR), boton que inicia el programa con los parámetros introducidos y el botón terminar interrumpe la corrida del programa terminando inmediatamente el programa.

Las temperaturas y los tiempos reales serán graficados de acuerdo al tiempo transcurrido en la PC en tiempo real con los tiempos y temperaturas pasados.

Las temperaturas, tiempos y los Ciclos que son el conjunto de tiempos y temperaturas, serán introducidas al programa según protocolo para que PCR (Reaccion en cadena de la polimerasa) tenga exito.

Figura 3.16 : Captura de pantalla de programa realizado para monitorear y controlar la temperatura mediante un PID.



Fuente: Elaboración Propia

La figura 3.17. muestra el conjunto de instrucciones para la detección del puerto serie.

Figura 3.17: segmento de código de la detección del puerto serie.

```
Private Sub Boton_Abrir_Click()
'Al pulsar aquí abre un puerto serial
On Error GoTo manejar_errores
MSComm1.CommPort = nro_puerto 'Paso 1: elijo el puerto
MSComm1.Settings = Str$(velocidad) + ",N,8,1" 'Paso 2:
' preparo parámetros de comunicación
MSComm1.PortOpen = True ' Paso 3: Intento abrir el
'puerto. Puedo no lograrlo: si no existe, o si otro
'programa lo está usando. Aquí puede ocurrir un error
'y saltaría a la etiqueta " manejar_errores "
MsgBox ("Puerto COM" + Str$(nro_puerto) + ": abierto OK")
Etiq_Puerto.Caption = "COM" + Str$(nro_puerto) + ":"
Etiq_Velocidad.Caption = Str$(velocidad) + " bauds"
Etiq_Estado.ForeColor = &HFF00&   'Color verde
Etiq_Estado.Caption = "Abierto"
GoTo Salir 'Todo Ok, continuar.
manejar_errores:
MsgBox ("Error al intentar abrir COM" + Str$(nro_puerto))
MsgBox ("Error detectado por Visual Basic: " + Err.Description)
Resume Salir ' Resume me permite continuar con el programa.
Salir:
End Sub
```

Fuente : Elaboración Propia

La figura 3.18. muestra el conjunto de instrucciones para cerrar el el puerto serie.

Figura 3.18: segmento de código para cerrar el puerto serie.

```
Private Sub Boton_Cerrar_Click()
'Al pulsar aquí cierra un puerto serial
On Error GoTo manejar_errores 'Protejo frente al error.
 MSComm1.PortOpen = False 'Puede haber error si
   'intento cerrar un puerto que está en uso por otro
   'programa, entre otras causas.
 MsgBox ("Puerto COM" + Str$(nro_puerto) + ": cerrado OK")
 Etiq_Estado.ForeColor = &HFF&     'Rojo
 Etiq_Estado = "CERRADO"
 GoTo Salir

manejar_errores:
 MsgBox ("Error al intentar cerrar COM" + Str$(nro_puerto))
 MsgBox ("Visual basic detectó: " + Err.Description)
 Resume Salir

Salir:

End Sub
```

Fuente : Elaboración Propia

La figura 3.19. muestra el conjunto de instrucciones para transmicion y recepción de datos por el puerto serie.

Figura 3.19: segmento de código para para transmicion y recepción de datos por el puerto serie.

```
'*** Preparación del objeto MSCOMM1 para recibir *******
'*** y transmitir                                *******
MSComm1.InputLen = 0 ' El valor 0 hace que se lea todo
   ' el contenido del buffer de recepcion que posee
   ' el control MSComm.
   ' Si InputLen valiera 6, se recibirian los primeros 6
   'caracteres de ese buffer, ignorando el resto.
MSComm1.RThreshold = 1 ' al recibir uno o mas caracteres
   'se generará el evento OnComm y la propiedad
   'CommEvent contendrá el valor comEvReceive.
   'La constante comEvReceive vale 2 .

MSComm1.SThreshold = 1 ' al enviar uno o mas caracteres
  'se generará el evento OnComm y la propiedad
  'ComEvent contendrá el valor comEvSend'
```

Fuente : Elaboración Propia

La figura 3.20. muestra el conjunto de instrucciones para el control PID, que se realizó en Visual Basic 6.0 que muestra el comportamiento de la temperatura generada en el interior de la cámara térmica y un modulador de

ancho de pulso, también la programación del algoritmo de un PID como se muestra en el siguiente código para un controlador PID.

Figura 3.20 : Segmento de código de control PID

```
Dfilter = 10 ' Valor de filtro para efecto derivativo
Inputd = Pv + (Inputlast - Pv) * (Rate / 60)
Inputlast = Pv
Inputdf = Inputdf + (Inputd - Inputdf) * Dfilter / 60
Output = (Sp - Inputdf) * (Ganancia / 100) + Feedback
' Salida de Calor
If Output > Val(Txb_Calor_Max.Text) Then  ' se recomienda no se trabajar a
más del 50% del Calor proporcionado por la resistencia
   Output = Val(Txb_Calor_Max.Text)
End If
If Output < 0 Then
   Output = 0
End If
Feedback = Feedback - (Feedback - Output) * Reset / 60
   Calor = Output
   Slb_Calor.Caption = Calor
   Num = Output * 2 ' la escala en el circuito de control es de 0 a 200
   Cad = ">SC" & Chr((Num \ 100) + 48)
   Num = Num Mod 100
   Cad = Cad & Chr((Num \ 10) + 48) & Chr((Num Mod 10) + 48) & "<"
   MSComm1.Output = Cad & vbCrLf ' valor de Calor del circuito
End Sub
```

Fuente: Elaboración Propia

La figura 3.21. muestra el conjunto de instrucciones para configurar el microcontrolador donde el lenguaje usado es assembler .

Figura 3.21: segmento de código de el control PID.

```
.include "avr 2313def.inc" ;Incluir la Libreria de equivalencias
.device ATtiny2313  ; Especifica el Dispositivo
.deftemp =r16       ;Asignacion de variable
.org 0                  ; se empieza en la pos 0
    Ldi             temp,low(RAMEND)                ;valor bajo de la ram q ya
tenia
    out             SPL,temp                        ; Set stack pointer to last
internal RAM location
    ldi             temp,$ff                        ; Configuramos
PORTB como Salida..........$ff
    out  DDRB,temp  : ldi temp,$00                  ; cargar 00 a
temp...........$00
    out PORTB,temp
```

Fuente : Elaboración Propia

CAPÍTULO 4

4.1 PRUEBA DEL PROTOTIPO

Todo instrumento de medida al final de su construcción requiere de una calibración para que las medidas realizadas con el instrumento sean fiables dentro de un margen de porcentaje mínimo de error.

Para las pruebas del prototipo es preciso contar con un termómetro digital, cronometro, los dos que cuenten con cierta frecuencia tanto en el rango de temperatura, tiempo estándar, medido en grados centígrados y segundos.
El termómetro nos permitirá comparar las mediciones de temperatura realizadas con el prototipo y el cronometro para comparar las mediciones de tiempo realizadas con el prototipo de forma externa y aislada de las mediciones del prototipo.

Una vez que todas las partes que constituyen el sistema estuvieron desarrolladas e implementadas se procedió a ejecutar diferentes protocolos de una reacción PCR con muestras biológicas. Se dispuso al ajuste del equipo, tarea que involucró buscar los valores de parámetros que permitirán ejecutar un perfil de temperaturas correspondiente a un protocolo PCR en tiempo y forma.

La prueba del prototipo tiene varios pasos anteriores a correr la muestra en el termociclador.

1. muestreo de sangre.
2. conservación de las muestras según protocolo en grados centígrados.
3. Tratar la muestra según métodos CTAB o chelex.

4. Colocar la muestra en el termociclador según protocolo.
5. Llevar a la cámara de electroforesis según protocolo de tiempo.
6. Revelado de análisis según protocolo como se muestra en la fig.

Figura 3.16: segmento de código de el control PID.

Fuente: Fuente: Fernando Romero (Tesista en Instituto de Biologia molecular).

Figura 3.16: segmento de código de el control PID.

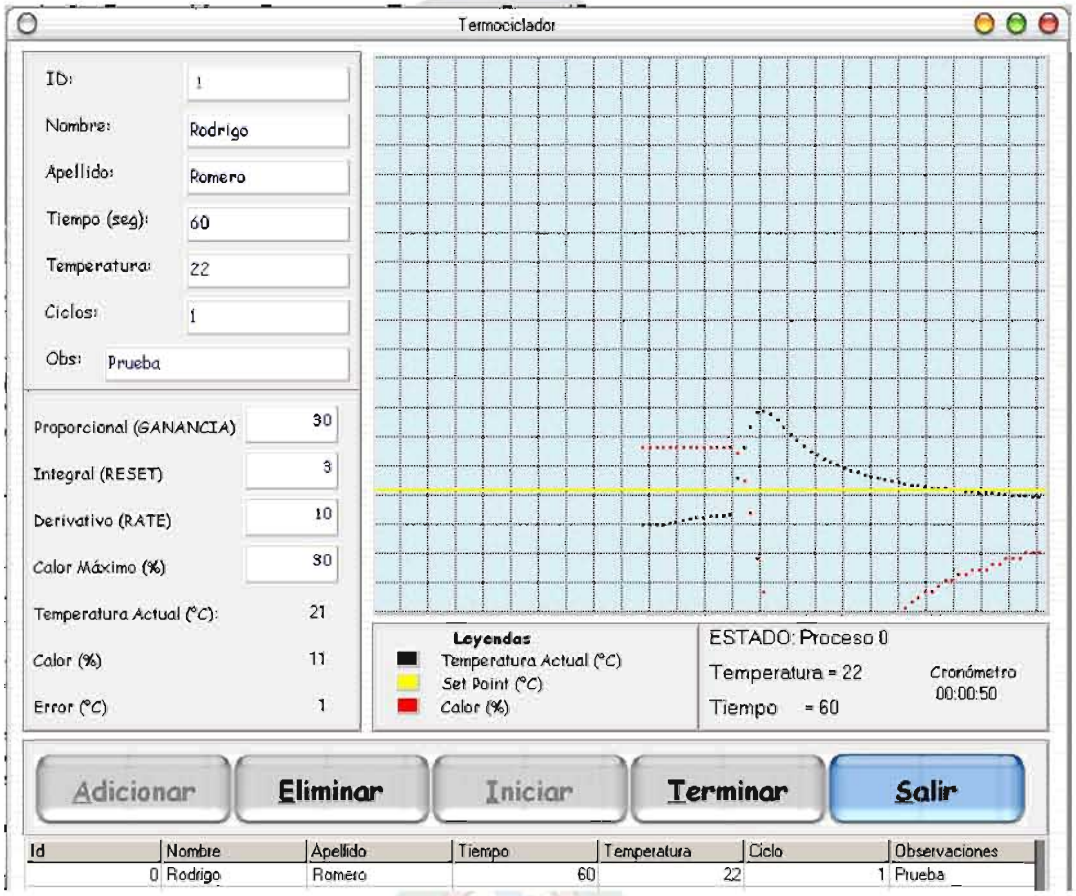
Fuente: Fernando Romero (Tesista en Instituto de Biologia molecular).

4.2 ANÁLISIS DE DATOS Y RESULTADOS

Una vez leído el dato para la representación del mismo en el monitor de la computadora se le aplica el proceso de escalación y traslación acorde a los límites del área que corresponde a la pantalla del termociclador. La variable leída en el proceso es colocada como resultado final en un pixel que es perceptible a la vista.

Las temperaturas utilizadas según protocolo concuerdan con los datos obtenidos con el termómetro digital externo, los tiempos concuerdan con el cronometro digital externo, el cambio de temperatura según el tiempo es comprobado según protocolo PCR.

Figura 5.1: Curvas de temperaturas



Fuente: Elaboración Propia

En la figura se puede observar que para una temperatura de 20 °C coloca el máximo de potencia con una banda proporcional de 30 y el momento que empieza a subir la temperatura va modulando el ancho de pulso para que

vaya frenando la temperatura por la acción derivativa y luego baje hasta estabilizarse y compensar el error con la acción integral, puesto que este es un ejemplo con valores extremos para poder apreciar como estabiliza mediante el ancho de pulso, error, banda proporcional.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN

El desarrollo e implementación de un prototipo que utiliza la computadora personal como temociclador podría ser una alternativa para estudiantes y profesionales de biología molecular. En la mayoría de los casos, estudiantes que no pueden acceder a la adquisición de un termociclador y que sólo tienen acceso al mismo en laboratorios de enseñanza quedando impedidos de realizar prácticas con más tiempo y en la comodidad de su hogar. También hacer notar que el material necesario para la construcción del prototipo es accesible en el mercado local, por tal razón es factible realizarlo.

5.1 CONCLUSIONES

La aplicación del protocolo para PCR (reacción en cadena de la polimeraza) controlada por el prototipo termoeléctrico de comunicación bidireccional de transmisión y recepción en tiempo real, se realiza mediante el puerto serie de la computadora es una alternativa para la implementación de interfaces de software y hardware. El control que se tiene mediante el software sobre el puerto serie permite la operación del mismo en los distintos modos en los que puede operar, también la sincronización de la lectura de datos.

Utilizando el prototipo termoeléctrico en conjunto, el hardware y el software de aplicación, y según los resultados obtenidos en las pruebas de funcionamiento, la computadora a través de una interface electrónica es un medio que se puede utilizar como un termociclador que permite observar diversas temperaturas, la forma de onda de la temperatura que es utilizada para monitorear la temperatura en tiempo real.

La interface usuario-equipo desarrollada resulta ser más amigable en relación a los equipos comerciales que usan un display incorporado, permitiendo observar una grafica del proceso en tiempo real y disponer de la opción de almacenar los protocolos PCR predeterminados por el usuario.

Por los costos se considera al prototipo factible en el desarrollo nacional de estos equipos a un costo menor que el ofrecido en el mercado actual.

Se obtuvo una amplificación de los segmentos específicos de segmentos específicos de una cadena de ADN para un determinado protocolo PCR.

Los resultados de las pruebas permiten concluir que el equipo opera de manera satisfactoria, en cuanto a que trabaja a temperaturas correctas y respeta los tiempos de las pendientes, tanto de ascenso como de descenso, brindando precisión, estabilidad y confiabilidad durante los ciclos de temperatura.

5.2 RECOMENDACIÓN

Tener precaución en el manejo del puerto serie. Iniciar primero el software de aplicación del prototipo antes de energizar la interface del hardware del prototipo. Al finalizar el trabajo des energizar primero el hardware y luego cerrar la aplicación. No introducir directamente tensiones que estén fuera del límite permitido con el propósito de preservar la circuitería del puerto serie.

Para obtener resultados óptimos en la medición de temperaturas y tiempos se recomienda iniciar el programa de aplicación en modo Windows y cerrar otras aplicaciones que estén corriendo, para que el microprocesador este procesando exclusivamente los procesos del software de aplicación del osciloscopio.

Una sugerencia es, utilizar como base el presente trabajo para realizar un prototipo que transforme las formas de investigación en casos delictivos implementando una base de datos policial de antisociales.

APÉNDICES

BIBLIOGRAFIA

[1] Texas Instrument. This datasheet has been download from : www.datasheetcatalog.com . OCTOBER 2002 [Consulta: 20- noviembre 2008]

[2] Manual AT90S2313. DATASHEET. www.atmel.com [consulta : 15- octubre 2008]

[3] "http://es.wikipedia.org/wiki/RS-232" [Consulta: 20- noviembre 2008]

[4] Pérez F. clara, iranzo. Electronica básica: Cuaderno de laboratorio. Ed Universidad Politecnica Valencia , 2003. 309 p. ISBM: 8497054407.

[5] http://es.wikipedia.org/wiki/Puerto_serie [consulta : 10 - octubre 2008]