

03-043

TEMPERATURE-HUMIDITY-CO2 PID CONTROLLER IN A CAMERA FOR BIOPRINTING TECHNIQUES

Matamoros Pacheco, Manuel ⁽¹⁾; Gómez Blanco, Juan Carlos ⁽²⁾; Marcos Romero, Alfonso Carlos ⁽¹⁾; Carrasco Amador, Juan Pablo ⁽¹⁾; Pagador Carrasco, José Blas ⁽²⁾

⁽¹⁾ Universidad de Extremadura, ⁽²⁾ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón

The evolution of additive manufacturing techniques applied to medicine, in particular to tissue engineering, is known as bio-printing. In this new field of research, three-dimensional structures are recreated using hydrogels and cells. The bioprinting process is complex and highly dependent on both, internal factors (materials or cells) and external process conditions (temperature, humidity, etc...). It is necessary to control these factors to obtain a specific geometry with good cell survival. Therefore, the machinery used in bioprinting is complex and not very affordable. However, many working groups are developing low-cost, open-source bioprinters with specific functionalities for subsequent processes or cell lines. In this sense, our research group is developing a low-cost bioprinter with a temperature, humidity and CO2 PID controlled atmosphere system. Therefore, the objective of this work is the design and control of this bioprinting chamber. The control has been carried out with simulation tests using Simulink in order to ensure the proper operation of all its components.

Keywords: 3D bioprinting; prototype; climatic chamber; PID controller; temperature; humidity

CONTROL PID DE TEMPERATURA-HUMEDAD-CO2 EN UNA CÁMARA PARA TÉCNICAS DE BIOIMPRESIÓN

La evolución de las técnicas de fabricación aditiva aplicadas al campo de la medicina, en concreto a la ingeniería de tejidos, es lo que se conoce como bioimpresión. En este nuevo campo de investigación se recrean estructuras tridimensionales mediante hidrogeles y células. El proceso de bioimpresión es complejo y muy dependiente tanto de factores propios (materiales o células) como de las condiciones externas del proceso (temperatura, humedad, etc...). Es necesario controlar estos factores para obtener una geometría concreta con buena supervivencia celular. Por tanto, la maquinaria utilizada en bioimpresión es compleja y, en general, poco asequible. No obstante, muchos grupos de trabajo están desarrollando bioimpresoras de bajo coste y código abierto con funcionalidades específicas para procesos posteriores o líneas celulares. En este sentido nuestro grupo de investigación está desarrollando una bioimpresora de bajo coste que cuenta con un sistema de atmósfera controlada de temperatura, humedad y CO2 mediante un PID. Por ello, el objetivo del presente trabajo es el diseño y el control de dicha cámara de bioimpresión. El control se ha realizado mediante pruebas de simulación con Simulink para asegurar el correcto funcionamiento de todos sus componentes.

Palabras clave: bioimpresión 3D; prototipo; cámara climática; control pid; temperatura; humedad

Correspondencia: Manuel Matamoros Pacheco manuelmp@unex.es



©2020 by the authors. Licensee AEIPRO, Spain. This article is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

Uno de los campos de investigación más estudiados en la actualidad es la ingeniería regenerativa. En este sentido, los órganos y tejidos artificiales previamente desarrollados con ingeniería de tejidos y medicina regenerativa (Mao y Mooney, 2015) están evolucionando hacia un nuevo campo denominado ingeniería regenerativa (Tang et al., 2019). En este campo se intenta crear dar solución a un problema clínico a nivel mundial, la alta demanda de órganos y tejidos para trasplante. Incluso países líderes en trasplantes, como España (112 pacientes por millón -ppm-), Canadá (76,4 ppm) o Australia (71,8 ppm), tienen problemas para atender el total de la demanda de pacientes (Et & Martín, 2018). Una de las tecnologías utilizadas en la ingeniería regenerativa es la bioimpresión. Esta tecnología nace como una aplicación específica de la tecnología de fabricación aditiva en medicina y funciona de manera similar a la impresión 3D convencional. Al tratarse de una adaptación de tecnología el principio de funcionamiento es el mismo, la creación de una estructura 3D mediante la superposición de capas de material. La particularidad de la bioimpresión es que el material tiene que ser biocompatible y la fabricación hacerse en condiciones de esterilidad. Lo que es diferente es el objetivo final, de crear piezas personalizadas o prototipos a órganos y tejidos artificiales (Y. S. Zhang et al., 2016). Es posible que en un futuro, la bioimpresión pueda crear estructuras 3D complejas que reemplacen y/o reparen en ciertos tejidos u órganos (Murphy & Atala, 2014; B. Zhang et al., 2019). Además, la utilización de células autólogas puede minimizar el riesgo de rechazo del trasplante (órgano o tejido) (Vermeulen et al., 2017). Por lo tanto, mediante bioimpresión se podrían mejorar en parte ciertas limitaciones en los procedimientos quirúrgicos de trasplante, como la calidad de vida del paciente al minimizar el rechazo, que en dicho futuro ayude a resolver la alta demanda de órganos artificiales (Matai et al., 2020).

En función de la tecnología de bioimpresión utilizada la calidad de los resultados y las posibilidades de esta tecnología cambian. Se pueden tener resultados rápidos con alta viabilidad celular utilizando inyección de tinta, además de utilizar materiales de alta viscosidad con alta densidad celular con microextrusión u obtener una alta precisión y resolución mediante láser (Leberfinger et al., 2019). Independientemente de la tecnología utilizada hay desventajas que son comunes a todas las técnicas, entre las que cabrían destacar: la contracción de la estructura bioimpresa, la dificultad para seleccionar un biomaterial adecuado, la muerte de gran número de células durante la bioimpresión, la obtención de un tamaño de poros adecuado, el elevado tiempo necesario para la bioimpresión en la actualidad o la insuficiente microvascularización actual que imposibilita escalar los modelos (Eswaramoorthy, Ramakrishna, & Rath, 2019). A pesar de todo esto, muchas investigaciones están obteniendo resultados prometedores como las realizadas con piel artificial (Admane et al., 2019; Baltazar et al., 2019), con vascularización funcional (Baltazar et al., 2019; Richards et al., 2017) o para el desarrollo de “*scaffolds*” (Aljohani et al., 2018; Choi et al., 2018).

En general, se considera que un tejido está bioimpreso de forma correcta cuando éste cumple la función para la que fue diseñado (Leberfinger et al., 2019), convirtiéndose en un tejido vivo completamente funcional con propiedades mecánicas adecuadas (Ashammakhi et al., 2019). La tecnología de impresión utilizada no es el único factor que puede variar los resultados. De hecho, los resultados de cada bioimpresión también dependen en gran medida de una serie de parámetros como la temperatura, el material utilizado, la presión o la humedad entre otros. En concreto, la biocompatibilidad del material es uno de los factores más importantes, siendo necesaria una correcta selección para cada aplicación. Los materiales más utilizados en bioimpresión son los hidrogeles, ya sean sintéticos o naturales, debido a su buena biocompatibilidad, la posibilidad de intercambio de oxígeno y nutrientes entre las células y a que generan una red 3D altamente hidratada (similar a una matriz extracelular) (Jiang et al., 2019). Como los hidrogeles están compuestos básicamente por agua (80-90% w/v) son muy sensibles a los cambios externos durante y después del proceso de impresión. Cuando los hidrogeles comienzan a secarse, se produce un aumento en la concentración de macromoléculas debido al hacinamiento macromolecular (Jiang et al., 2019). Además, las variaciones de temperatura cambian las propiedades reológicas (principalmente la viscosidad) y dimensionales del hidrogel. En hidrogeles de reticulación térmica, como por ejemplo la gelatina, un cambio de temperatura puede llegar a provocar un cambio de estado (de líquido

a sólido). Por estas razones, es crucial controlar los parámetros atmosféricos como temperatura, flujos de aire y humedad para mitigar la deshidratación del hidrogel y el cambio en sus propiedades reológicas. De esta forma, se puede preservar el comportamiento biológico nativo de las células y las propiedades reológicas del hidrogel (Jiang et al., 2019).

Algunas de las principales recomendaciones para controlar estos parámetros atmosféricos son la reducción de los tiempos de impresión, la utilización de un baño a base de agua o la reducción del flujo de aire (Jiang et al. 2019). Existen bioimpresoras comerciales como Cellink BIO X[®], Poioetis[®] o 3D-Discovery BioFactory[®] que cuentan con control de flujo de aire para minimizar la contaminación biológica con filtros de aire HEPA. Estas bioimpresoras tienen recintos con un doble propósito, control del flujo de aire y un ligero mantenimiento no controlado de los parámetros atmosféricos. Sin embargo, el control de estos parámetros atmosféricos en las bioimpresoras actuales es mínimo y sería necesario mejorarlo hasta conseguir características similares a incubadoras que permitan tener un control total de dichos parámetros atmosféricos.

En ese sentido, existen diferentes estudios relacionados con el control de parámetros atmosféricos, que generalmente utilizan un controlador proporcional, integral y derivativo (control PID) para diferentes aplicaciones, como incubadoras neonatales (Feki, A., & Mami, 2017; Pinto, Cordova, & Lévano, 2015; Widhiada et al., 2019) o incubadoras de aves (Okpagu & Nwosu, 2016; Rahman & Hussain, 2017). En estos estudios, se realizan cálculos teóricos y experimentales para obtener unas condiciones objetivo del sistema por debajo de un error aceptable. Según la bibliografía consultada, hasta la presentación de este trabajo no se han realizado estudios específicos para el control atmosférico en sistemas de bioimpresión, aunque algunas bioimpresoras ya dispongan de sistemas para su control. En este sentido, nuestro grupo de trabajo está desarrollando una bioimpresora con un sistema de atmósfera controlada para garantizar las condiciones celulares adecuadas y el comportamiento esperado del material.

Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo es diseñar un controlador PID para un sistema atmosférico cerrado aplicable en entornos de bioimpresión. Además de realizar una evaluación preliminar del comportamiento de dicho diseño con simulaciones teóricas del sistema y una validación experimental posterior que verifique un funcionamiento aceptable del sistema diseñado.

2. Materiales y métodos

2.2 Diseño de la cabina atmosférica

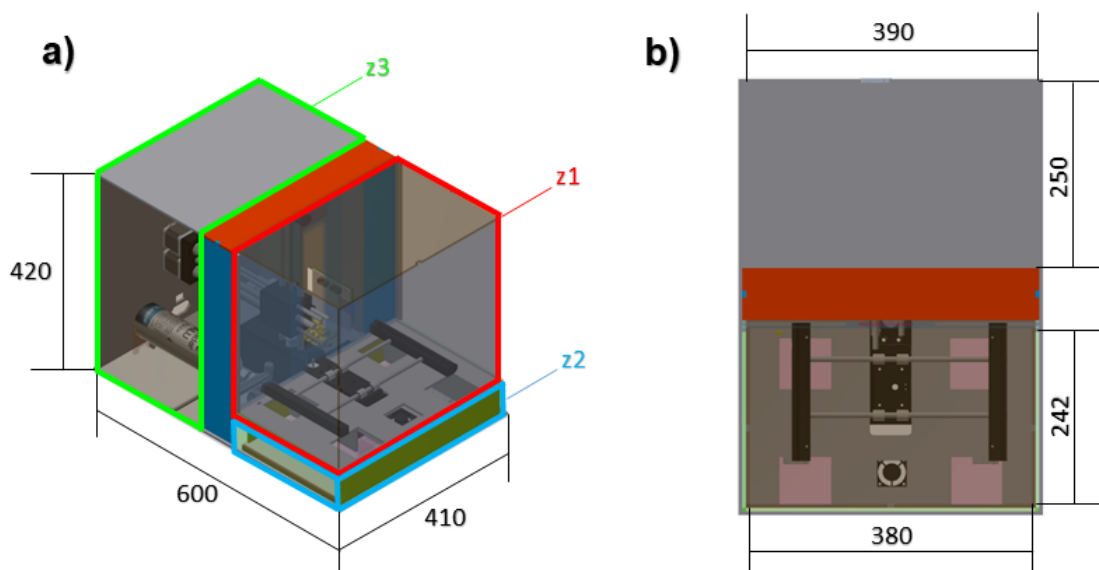
El diseño completo de este primer prototipo de recinto atmosférico para bioimpresión 3D se realizó utilizando Autodesk Inventor[®], incluyendo su estructura principal, el robot cartesiano de 3 ejes que manipulará el cabezal de microextrusión y el resto componentes electrónicos que controlan tanto el robot cartesiano como el propio sistema de control atmosférico. El primer paso fue realizar el diseño de toda la estructura principal que alberga el conjunto de los componentes que forman la bioimpresora, optando por una geometría rectangular, subdividiendo su interior en tres partes diferenciadas: una zona de bioimpresión, una zona de generación de las condiciones climáticas y una zona para albergar todos los componentes electrónicos y mecánicos, cuyas dimensiones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Dimensiones de la bioimpresora

Zonas	Medida (mm)
Zona de bioimpresión (z1)	380 x 242 x 340
Zona de generación de condiciones climáticas (z2)	380 x 242 x 75
Zona de componentes electrónicos y mecánicos (z3)	390 x 250 x 410
Volumen total de la bioimpresora	600 x 410 x 420

El diseño final de la bioimpresora se muestra en la Figura 1.

Figura 1: Diseño tridimensional de la bioimpresora: a) alzado y b) planta, donde además se marcan las tres áreas del sistema: z1) bioimpresión, z2) generación de condiciones climáticas y z3) componentes electrónicos y mecánicos.

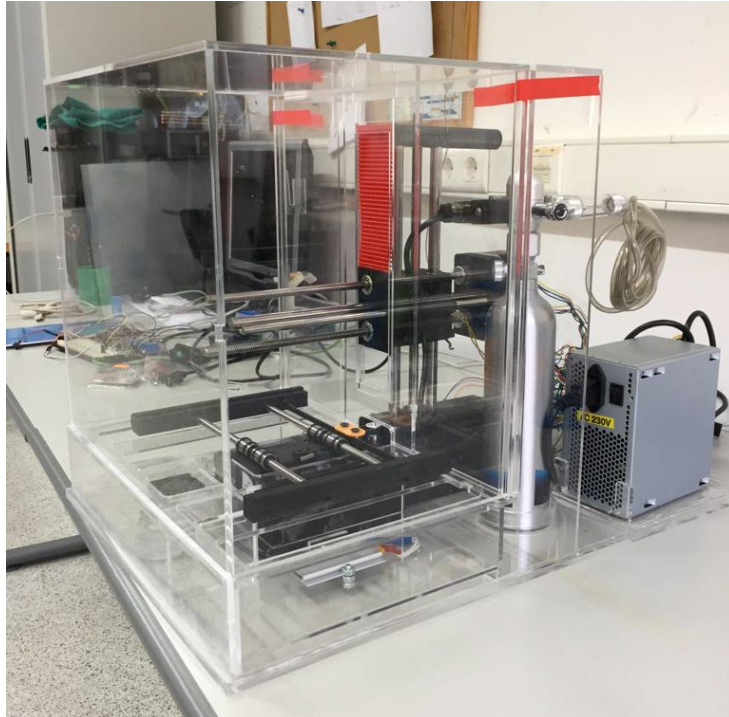


2.3 Fabricación

Para la fabricación de la estructura principal de la bioimpresora se utilizaron planchas de metacrilato transparente de diferentes espesores para ajustar la rigidez del prototipo según la zona. Partiendo del diseño 3D, las planchas se cortaron y troquelaron en las medidas correctas utilizando una cortadora CNC láser para obtener una gran precisión en el corte.

Una vez realizado todos los cortes, se procedió al ensamblaje de la estructura encajando las planchas de metacrilato y sellándolas con un adhesivo especial para este material. Más tarde, se realizó el montaje de todos los componentes, cuyo resultado se ilustra en la Figura 2.

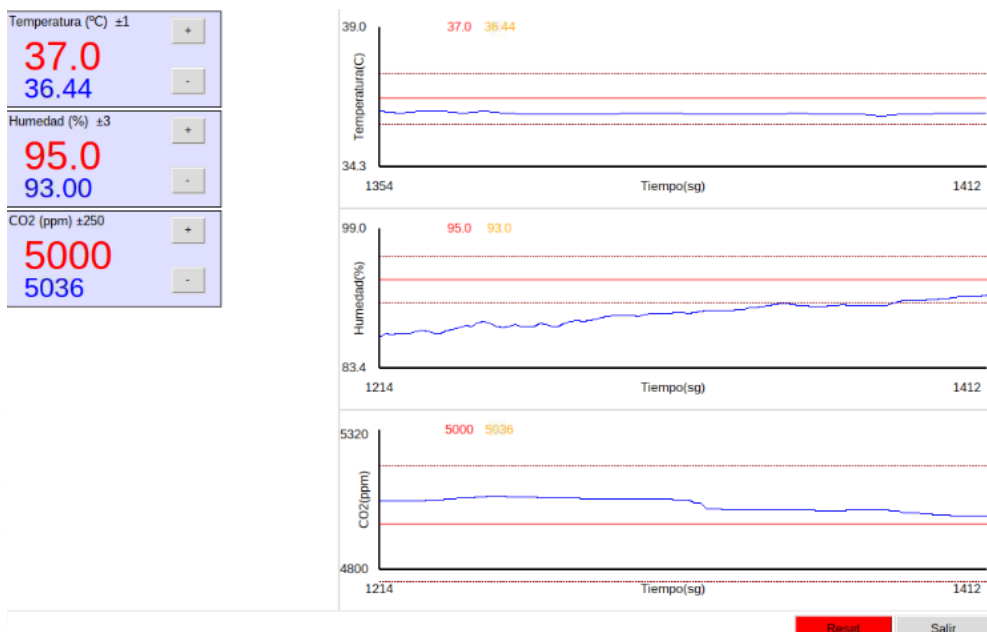
Figura 2: Imagen de la bioimpresora fabricada con su cabina atmosférica.



2.4 Componentes y funcionamiento

El control general de todo el dispositivo se realiza a través de un ordenador de placa única tipo Raspberry® Pi 3, en el cual se instaló una aplicación desarrollada en Python® totalmente personalizada para permitir el control del dispositivo. En concreto, la placa se utiliza para controlar tanto el robot cartesiano como el sistema de control de las condiciones climáticas. Dicha aplicación cuenta con una interfaz gráfica mostrada en la Figura 3, donde se visualizan de una manera sencilla los diferentes parámetros de la cámara climática de la bioimpresora en tiempo real.

Figura 3: Interfaz gráfica de control de la cámara climática. En rojo el valor consigna del parámetro, en azul el valor dentro de la cámara y en rojo discontinuo las tolerancias permitidas del sistema.



Como robot cartesiano para manejo del cabezal de microextrusión de la bioimpresora se ha utilizado el modelo de código abierto Proton (ver Figura 4), cuyos componentes poliméricos pueden ser descargados en la web e impresos con una impresora 3D standard. El motivo principal de dicha elección fue su diseño característico, que se adapta de una forma cómoda al uso como bioimpresora 3D, pudiendo adaptar el diseño del recinto atmosférico al de su estructura, para que éste quede de la forma menos intrusiva posible dentro de la zona de bioimpresión y eliminando además así todo tipo de contaminantes que pudieran afectar a la supervivencia celular.

Para el control del robot cartesiano se utilizó un Arduino® Mega y una RAMPS 1.4, utilizando como firmware código abierto Marlin 2.0.5.3.

Figura 4: Impresora 3D Proton utilizada como robot cartesiano para el manejo del cabezal de bioimpresión por microextrusión.



Los requisitos a alcanzar que se fijaron para la funcionalidad del recinto atmosférico que albergará las técnicas de bioimpresión son los siguientes: temperatura de 37°C, humedad relativa del 95% y 5.000 ppm de CO₂.

Para conseguir dichos requisitos se instalaron los siguientes componentes:

Para generar la temperatura adecuada de una forma rápida y con una inercia que posibilitara el mantenimiento de dicha temperatura se emplearon dos resistencias eléctricas de aletas de 200 W de potencia cada una, especiales para el calentamiento de aire.

Para producir la humedad se diseñó un recipiente en el interior de la cámara donde se colocó un transductor piezoeléctrico. En dicho recipiente se deposita agua tratada y la membrana del transductor piezoeléctrico vibra a una frecuencia dada para producir la vaporización en frío del agua.

Mediante una botella de CO₂ AquaMedic® de 500 gr conectada a una electroválvula Blau® (3VA, 14mA, IP 85), se permitió la introducción de CO₂ de forma controlada por un conducto al interior de la zona de generación de condiciones climáticas.

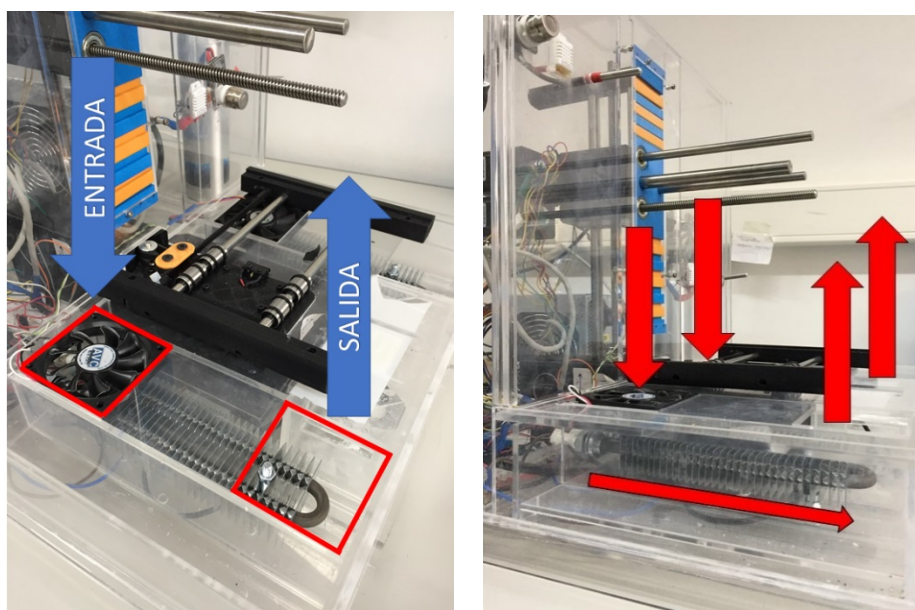
Para realizar el control de todos los dispositivos de generación de las condiciones climáticas se utilizó una placa Arduino® UNO que gobierna un módulo de relés TONGLING JQC-3FF-S-Z para activar/desactivar la alimentación de las resistencias eléctricas, del transductor piezoeléctrico del humidificador y de la electroválvula de la botella de CO₂. Dicha placa también es la encargada de recopilar los datos climáticos del interior de la cámara medidos mediante la utilización de los sensores de la Tabla 2.

Tabla 2. Sensores utilizados

Sensor	Designación
2 x Sensor de temperatura	PT 100 PRO
2 x Sensor de humedad	DHT22
2 x Sensor de CO ₂	MG811

El principio de funcionamiento del dispositivo completo reside en una subcámara que se encuentra en la parte inferior de la zona de generación de condiciones climáticas, como se observa en la Figura 5. La subcámara dispone de cuatro orificios: dos de entrada y dos de salida. En los dos de entrada se dispone un ventilador que impulsa el aire de la zona de generación de condiciones climáticas hasta el interior de la subcámara. En los dos orificios de salida, el aire ya ha pasado por las resistencias eléctricas, el humidificador y la inyección de CO₂ para salir a la zona de generación realizando una recirculación continua que permita alcanzar los parámetros de referencia y mantenerlos en el tiempo. Una vez los parámetros ambientales se mantengan constantes en sus valores objetivo, el proceso de bioimpresión puede comenzar.

Figura 5: Sistema de generación de las condiciones climáticas



2.5 Modelado del sistema

El modelado de un sistema con tres variables trabajando conjuntamente en un mismo espacio resulta una labor compleja debido a la interacción de dichas variables entre sí. El CO₂ es una variable compleja de modelar por la fluctuación y la interrelación que presenta al actuar con otras variables, como por ejemplo la humedad relativa (Casanova & Rico, 2008).

Por ello, en este trabajo nos centraremos en controlar la temperatura y humedad que se generan en el interior del recinto atmosférico utilizando un control PID para dotar al sistema de estabilidad. Una vez alcanzada la estabilidad de estas variables actuando de forma conjunta, se procederá a estudiar el comportamiento de la variable CO₂ de forma aislada para conseguir unos primeros resultados de su comportamiento. Para obtener el comportamiento experimental del sistema se realizaron distintos ensayos a las variables involucradas, con el objetivo de obtener las funciones de transferencia.

Para obtener datos para la función de transferencia experimental, las pruebas SISO (*Single*

input, Single output) y MIMO (*Multiple inputs, Multiple outputs*) se realizaron de la siguiente manera:

- Prueba SISO para estudiar el comportamiento de la temperatura interna cuando se accionan las resistencias calentadoras (resistencias eléctricas).
- Prueba SISO para estudiar el comportamiento de la humedad interna cuando se acciona el humidificador (humidificador de niebla fría).
- Prueba SISO para estudiar el comportamiento del CO₂ interno cuando se acciona la entrada del gas al recinto (equipo de CO₂ con regulación por electroválvula).
- Prueba MIMO para estudiar el acoplamiento (Abdelaziz, 2017; Wang & Zhu, 2020) de temperatura y humedad interna.

Los valores iniciales y consignas establecidos para todos los ensayos se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores utilizados para los ensayos

Variable	Valor inicial	Consigna
Temperatura	25°C	37°C
Humedad	50%	90%
CO ₂	700 ppm	5.000 ppm

Las funciones de transferencia experimentales se obtuvieron de los datos de los ensayos usando Matlab® System Identification Toolbox™. Esta herramienta se usa generalmente para obtener modelos matemáticos de sistemas dinámicos a partir de datos experimentales de entrada y salida. Matlab Simulink™ fue el software utilizado para simular y comparar todas las funciones de transferencia teórica y experimental obtenidas.

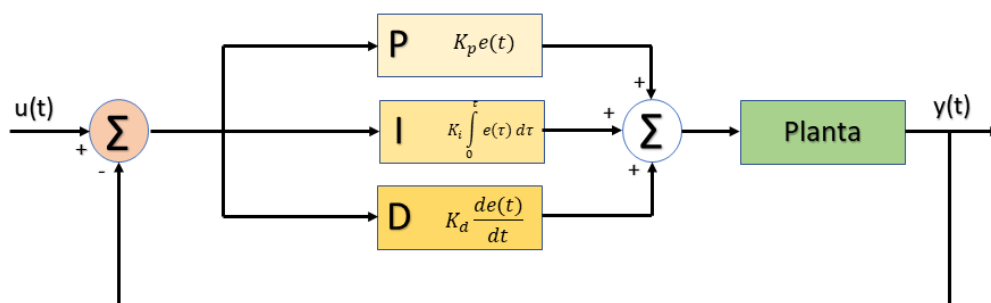
2.6 Control PID

Las variaciones de temperatura y/o humedad pueden cambiar las propiedades del material de bioimpresión y afectar a la viabilidad celular de las estructuras bioimpresas. Para minimizar estas variaciones, se plantea utilizar un controlador PID al sistema. Los algoritmos de control PID se usan ampliamente en los sistemas de control de retroalimentación y se expresan matemáticamente como (Astrom & Hagglund, 2009):

$$u(t) = K \left(e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(\tau) d\tau + T_d \frac{de(t)}{dt} \right) \quad (1)$$

Dado el comportamiento oscilatorio natural del sistema provocado por la naturaleza de sus componentes (grandes inercias en las resistencias calentadoras e inestabilidad de la humedad) se empleó para la obtención de los valores de PID el segundo método de Ziegler-Nichols y la herramienta *Pidtool* de Matlab®. Este cálculo se realizó mediante un diagrama de bloques de simulación implementado en Matlab Simulink™ que sigue la estructura estándar que se muestra en la Figura 6.

Figura 6: Diagrama de bloques del sistema con control PID



3. Resultados

3.1 Prueba SISO para estudiar el comportamiento de la temperatura interna cuando se accionan las resistencias calentadoras (resistencias eléctricas)

La función de transferencia experimental de temperatura se obtiene de la prueba SISO con parámetros atmosféricos de laboratorio establecidos a 22°C y 50% de humedad relativa. En las pruebas, los actuadores (resistencia eléctrica) se activaron o desactivaron cuando la temperatura interna registrada por los sensores estaba por debajo o por encima de la temperatura objetivo (37°C) respectivamente. La adquisición de datos de los sensores dura 3.08 segundos (tiempo de prueba) para asegurar un estudio competitivo con suficientes datos.

Se obtuvieron varios comportamientos del sistema utilizando el método de mínimos cuadrados en Matlab® System Identification Toolbox™. Además, se utilizaron todos los modelos posibles de esta *toolbox*: un polo (P1), dos polos (P2), tres polos (P3), un polo y un cero (P1Z), dos polos y un cero (P2Z), tres polos y un cero (P3Z), dos polos subamortiguados (P2U), tres polos subamortiguados (P3U), dos polos y un cero subamortiguado (P2ZU), tres polos y un cero menos amortiguado (P3ZU), un polo y uno integrador (P1I), dos polos y un integrador (P2I), tres polos y un integrador (P3I), un polo y un retardo (P1D) y dos polos y una función de transferencia de retardo (P2D). Se analizaron un total de 15 funciones de transferencia y se seleccionó la que mejor se ajustaba a la respuesta del sistema.

La función de transferencia experimental de la temperatura interna (2) se calculó con Matlab en función de la mejor gráfica de ajuste obtenida, con una coincidencia del 89,05% (Figura 7a), siendo una función de transferencia de un polo (P1).

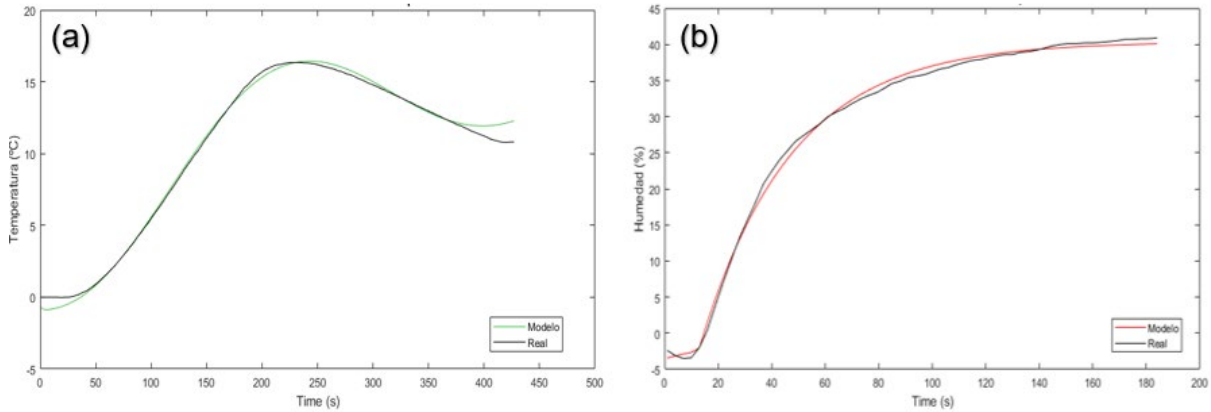
$$G_{t,exp}(s) = \frac{Kp}{1 + Tp1 * s} = \frac{1,77}{1 + 387,20 s} \quad (2)$$

3.2 Prueba SISO para estudiar el comportamiento de la humedad interna cuando se acciona el humidificador (humidificador de niebla fría)

Usando la misma metodología que para la temperatura, se obtuvo la función de transferencia de la humedad (3) interna con Matlab® a partir de la gráfica (Figura 7b) que mejor se ajustaba al comportamiento real del sistema, con una coincidencia del 95,11%, siendo una función del tipo P1D (un polo con *delay*).

$$G_{h,exp}(s) = \frac{Kp * e^{-Td*s}}{1 + Tp1 * s} = \frac{1 * e^{-8,70*s}}{1 + 34,26 s} \quad (3)$$

Figura 7: (a) Ensayo de temperatura SISO - (b) Ensayo de humedad SISO

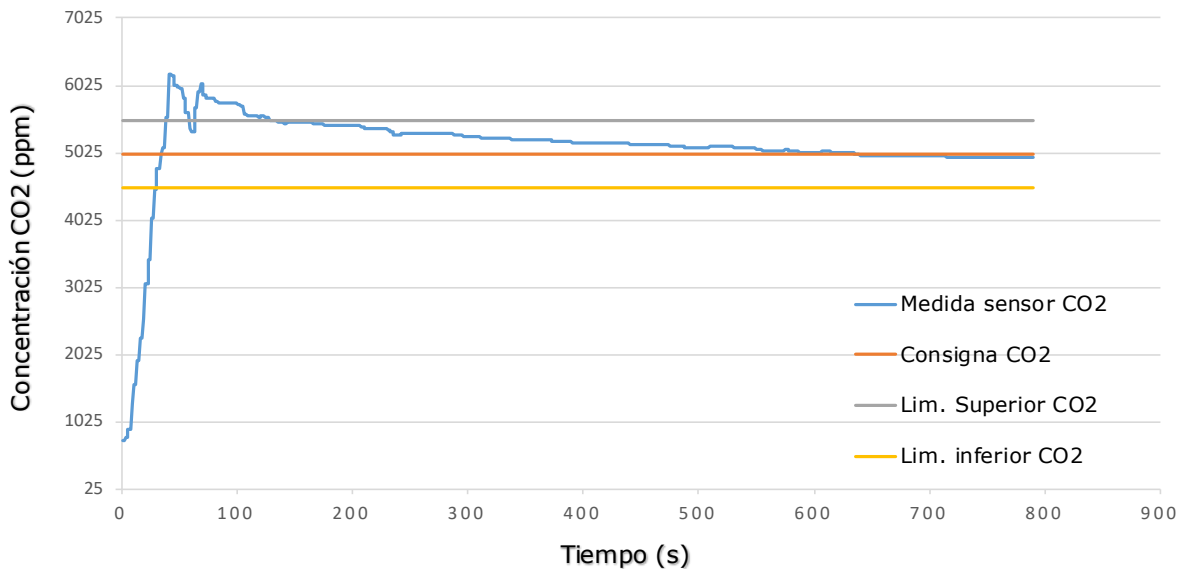


Como se puede ver en la Figura 7 fue necesario forzar los valores obtenidos a comenzar en cero para asegurar un correcto funcionamiento de la herramienta “system identification toolbox” de Matlab®. Esta herramienta se utilizó para obtener las funciones de transferencia a partir de las gráficas generadas utilizando los valores de la Tabla 3.

3.3 Prueba SISO para estudiar el comportamiento del CO₂ interno cuando se acciona la entrada del gas al recinto (equipo de CO₂ con regulación por electroválvula)

Dada la complejidad del modelado de esta variable por su fluctuación cuando trabaja con temperatura y humedad, se realizaron varios ensayos en el recinto atmosférico únicamente con el CO₂ actuando para poder obtener datos del comportamiento de la variable para poder realizar un ajuste manual de PID basado en ensayo-error. Tras varias pruebas, se consiguió que la variable quedara ajustada en la zona de tolerancia (± 500 ppm) de la consigna establecida, tal y como se observa en la Figura 8.

Figura 8: Comportamiento del CO₂ en el recinto atmosférico



3.4 Obtención de los valores PID y modelado del sistema en Simulink™.

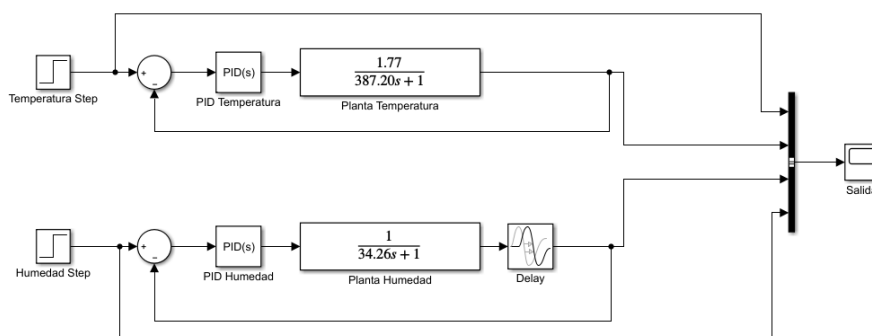
Una vez obtenidas las funciones de transferencia se calcularon los valores de PID utilizando la herramienta de Matlab® “Pidtool”. Dicha herramienta permite dos tipos de ajuste del comportamiento del PID: velocidad de respuesta y estabilización a lo largo del tiempo. Los valores de PID (Tabla 4) se obtuvieron al ajustar una respuesta rápida y robusta al sistema.

Tabla 4. Valores de PID obtenidos.

Valor	Temperatura	Humedad
Proporcional (Kp)	200,00	53,86
Integral (Ki)	1,82	3,88
Derivativo (Kd)	5.550,00	22,64

Se realizó el modelado del sistema utilizando Matlab®/Simulink™ (Figura 8) con el objetivo de poder realizar una comparativa entre el comportamiento del sistema modelado y el comportamiento del sistema real tras aplicar los valores de PID obtenidos.

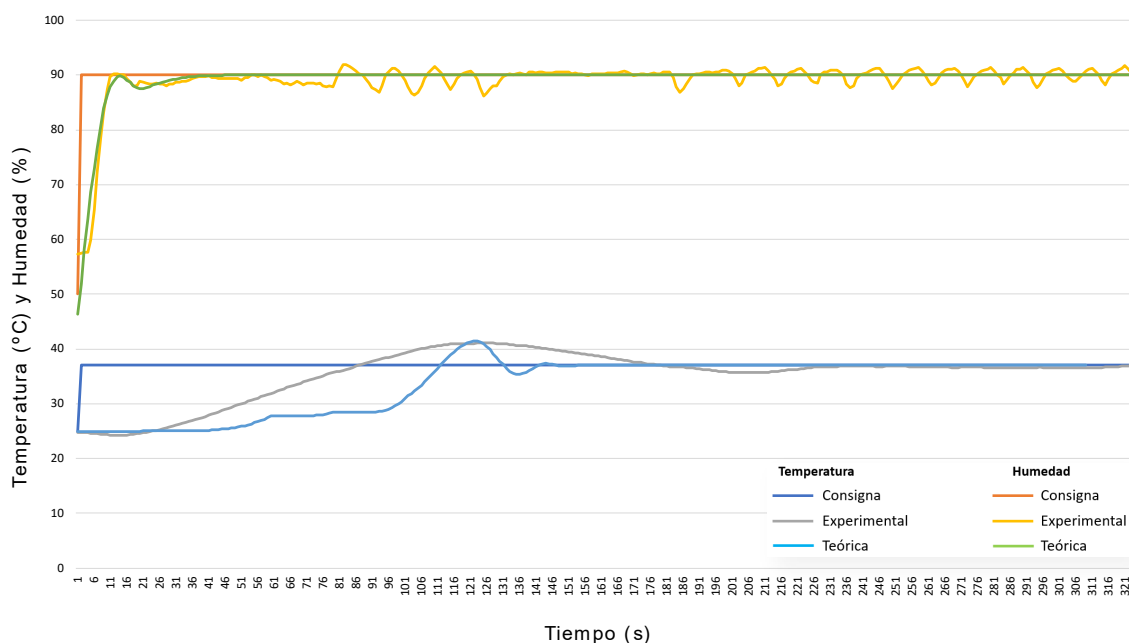
Figura 9: Diagrama de bloques del sistema.



3.5 Prueba MIMO para estudiar el acoplamiento de temperatura y humedad interna.

Se implementaron los valores de PID calculados en el control del recinto atmosférico y se procedió a realizar el ensayo para obtener el comportamiento de las variables trabajando conjuntamente. Los resultados obtenidos de dicho ensayo junto con los resultados obtenidos en la simulación del sistema en Simulink™ se representan en la Figura 9.

Figura 10. Evolución de las variables del sistema controladas por PID mediante simulación y pruebas experimentales.



Se realizaron experimentos con el sistema real y el modelo teórico obteniendo los resultados mostrados en la Figura 9. Dichos resultados muestran que el comportamiento real de la humedad frente al comportamiento teórico es muy similar. Sin embargo, existe una diferencia apreciable en el comportamiento de la temperatura, pudiendo deberse a la gran inercia que presentaron las resistencias eléctricas en su funcionamiento, haciendo que el sistema real se comporte con más retardo que el teórico. Los tiempos de estabilización conseguidos con los valores de PID propuestos en el sistema real fueron 231 segundos para la temperatura y 133 segundos para la humedad, siendo esta última, la variable que más rápido consigue estabilizarse. En el modelo teórico la temperatura logró estabilizarse a los 148 segundos y la humedad a los 38 segundos.

4. Discusión

El objetivo principal de este trabajo es determinar los valores óptimos de PID para conseguir la estabilización de las variables temperatura y humedad interna del sistema atmosférico para albergar técnicas de bioimpresión 3D. Para ello, se realizaron distintos ensayos experimentales para obtener el comportamiento de las variables de temperatura y humedad interna aisladas (sin interacción entre ellas). Debido a la complejidad de resolución de un sistema con tres variables y la dependencia en el comportamiento de las tres variables a estudiar (Casanova & Rico, 2008), la inclusión del dióxido de carbono en el PID se plantea como trabajo futuro. Los resultados se procesaron utilizando la herramienta “System Identification Toolbox” de Matlab® y se obtuvieron las funciones de transferencia para poder obtener la planta del sistema. Las funciones de transferencia obtenidas son similares a las utilizadas por los autores Albright et al. (2001) en el control de temperatura y humedad de invernaderos.

Posteriormente se desarrolló la planta completa del sistema en Matlab/Simulink™ para estudiar el comportamiento conjunto de las dos variables y realizar comparaciones con el comportamiento real, siguiendo una metodología similar a la de (Pinto et al., 2015) en la implementación de un control PID en una incubadora neonatal, con la diferencia de que en dicho trabajo solo se estudia la variable temperatura.

Con respecto al tiempo de estabilización de las variables, otros autores consiguieron estabilizar la temperatura en 2.760 segundos para un incremento de 4°C (Pinto et al., 2015), 1.500 segundos para un incremento de 7,5°C (Neto et al. 2010) o 246 segundos para un incremento de 5°C (Widhiada et al., 2019) mientras nuestro control PID estabiliza la temperatura en 231 segundos para un incremento de temperatura de 12°C. Con respecto a la estabilización de la humedad, otros autores consiguen estabilizarla en 600 segundos (Neto et al. 2010) o en 420 segundos (Widhiada et al., 2019) mientras nuestro control PID la estabiliza en 231 segundos.

5. Conclusiones

Se implementó un control PID en un recinto atmosférico para albergar técnicas de bioimpresión 3D. Además, se obtuvo un modelo completo de la planta en Matlab/Simulink™ con las funciones de transferencia de las variables temperatura y humedad y se obtuvieron unos valores PID capaz de controlar el sistema de forma rápida, robusta y estable en el tiempo. El sistema completo logró estabilizarse en 231 segundos (231 segundos la temperatura y 133 segundos la humedad).

Como futuros trabajos se plantea el modelado matemático del sistema, así como el estudio aislado del CO₂ y la inclusión y control de la temperatura, humedad y CO₂ cuando actúan en conjunto.

4. Bibliografía

- Abdelaziz, Y. A. (2017). Low Cost Humidity / Temperature Calibration System. *Journal of Scientific and Engineering Research*, 4(10), 305–311. Retrieved from <http://oaji.net/articles/2017/4834-1525935341.pdf>
- Admane, P., Gupta, A. C., Jois, P., Roy, S., Chandrasekharan Lakshmanan, C., Kalsi, G., ... Ghosh, S. (2019). Direct 3D bioprinted full-thickness skin constructs recapitulate regulatory signaling pathways and physiology of human skin. *Bioprinting*, 15(March), e00051. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2019.e00051>
- Albright, L. D., Gates, R. S., Arvanitis, K. G., & Drysdale, A. E. (2001). Environmental Control for Plants on Earth and in Space. *IEEE Control Systems Magazine*, 20. [https://doi.org/0272-1708/01/\\$10.00©2001IEEE](https://doi.org/0272-1708/01/$10.00©2001IEEE)
- Aljohani, W., Ullah, M. W., Li, W., Shi, L., Zhang, X., & Yang, G. (2018). Three-dimensional printing of alginate-gelatin-agar scaffolds using free-form motor assisted microsyringe extrusion system. *Journal of Polymer Research*, 25(3). <https://doi.org/10.1007/s10965-018-1455-0>
- Ashammakhi, N., Ahadian, S., Xu, C., Montazerian, H., Ko, H., Nasiri, R., ... Khademhosseini, A. (2019). Bioinks and bioprinting technologies to make heterogeneous and biomimetic tissue constructs. *Materials Today Bio*, 1, 23. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2019.100008>
- Astrom, K. J., & Hagglund, T. (2009). *Control PID avanzado*. (S. A. PEARSON EDUCACIÓN, Ed.) (First). Madrid.
- Baltazar, T., Merola, J., Catarino, C., Xie, C. B., Kirkiles-Smith, N. C., Lee, V., ... Ghosh, S. (2019). Three Dimensional Bioprinting of a Vascularized and Perfusable Skin Graft Using Human Keratinocytes, Fibroblasts, Pericytes, and Endothelial Cells. *Tissue Engineering Part A*, 15(March), 1–29. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2019.0201>
- Casanova, V. E., & Rico, E. (2008). *Modelación del dióxido de carbono (CO₂) en invernaderos ventilados naturalmente*. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ingeniería.
- Choi, D. J., Park, S. J., Gu, B. K., Kim, Y. J., Chung, S., & Kim, C. H. (2018). Effect of the pore size in a 3D bioprinted gelatin scaffold on fibroblast proliferation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 67, 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2018.07.013>
- De, J., Barçante, G. M., Cavalcante, M. U., Da, O., & Torrico, B. C. (2010). PI multivariable control applied to temperature and humidity neonate incubators. *2010 9th IEEE/IAS International Conference on Industry Applications, INDUSCON 2010*, (1). <https://doi.org/10.1109/INDUSCON.2010.5739866>
- Eswaramoorthy, S. D., Ramakrishna, S., & Rath, S. N. (2019). Recent advances in three-dimensional bioprinting of stem cells. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, term.2839. <https://doi.org/10.1002/term.2839>
- Et, D. G., & Martín, C. (2018). *NEWSLETTER TRANSPLANT International figures on*

donation and transplantation 2018 (Vol. 23). Retrieved from [http://www.ont.es/publicaciones/Documents/NEWSLETTER_2019_completo integrada cubierta.pdf](http://www.ont.es/publicaciones/Documents/NEWSLETTER_2019_completo_integrada_cubierta.pdf)

- Feki, E., A., M., & Mami, A. (2017). GPC Temperature Control of A Simulation Model Infant-Incubator and Practice with Arduino Board. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications*, 8(6), 46–59. <https://doi.org/10.14569/ijacsa.2017.080607>
- Jiang, T., Munguia-Lopez, J. G., Flores-Torres, S., Kort-Mascort, J., & Kinsella, J. M. (2019). Extrusion bioprinting of soft materials: An emerging technique for biological model fabrication. *Applied Physics Reviews*, 6(1). <https://doi.org/10.1063/1.5059393>
- Leberfingher, A. N., Dinda, S., Wu, Y., Koduru, S. V., Ozbolat, V., Ravnic, D. J., & Ozbolat, I. T. (2019). Bioprinting functional tissues. *Acta Biomaterialia*, 95, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.009>
- Mao, A. S., & Mooney, D. J. (2015). Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(47), 14452–14459. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508520112>
- Matai, I., Kaur, G., Seyedsalehi, A., McClinton, A., & Laurencin, C. T. (2020). Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*, 226, 119536. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119536>
- Murphy, S. V., & Atala, A. (2014). 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, 32(8), 773–785. <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>
- Okpagu, P. E., & Nwosu, A. W. (2016). Development and Temperature Control of Smart Egg. *European Journal of Engineering and Technology*, 4(2), 13–21.
- Pinto, J. A. D., Cordova, E. A., & Lévano, C. B. C. (2015). Design and Implementation of a Digital PID Temperature Controller for Neonatal Incubator ESVIN. *Journal of Mechanics Engineering and Automation*, 5(3), 167–172. <https://doi.org/10.17265/2159-5275/2015.03.005>
- Rahman, Z. S. A., & Hussain, F. S. A. (2017). Smart Incubator Based on PID Controller. *International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)*, 4(3), 2501–2509. Retrieved from <https://irjet.net/archives/V4/i3/IRJET-V4I3649.pdf>
- Richards, D., Jia, J., Yost, M., Markwald, R., & Mei, Y. (2017). 3D Bioprinting for Vascularized Tissue Fabrication. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(1), 132–147. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1653-z>
- Tang, X., Daneshmandi, L., Awale, G., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2019). Skeletal Muscle Regenerative Engineering. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 5(3), 233–251. <https://doi.org/10.1007/s40883-019-00102-9>
- Vermeulen, N., Haddow, G., Seymour, T., Faulkner-Jones, A., & Shu, W. (2017). 3D bioprint me: A socioethical view of bioprinting human organs and tissues. *Journal of Medical Ethics*, 43(9), 618–624. <https://doi.org/10.1136/medethics-2015-103347>
- Wang, L., & Zhu, Z. (2020). Research on Temperature and Humidity Decoupling Control of

Constant Temperature and Humidity Test Chamber. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 711, p. 012104). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/711/1/012104>

Widhiada, W., Antara, I. N. G., Budiarsa, I. N., & Karohika, I. M. G. (2019). The Robust PID Control System of Temperature Stability and Humidity on Infant Incubator Based on Arduino at Mega 2560. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 248(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/248/1/012046>

Zhang, B., Gao, L., Ma, L., Luo, Y., Yang, H., & Cui, Z. (2019). 3D Bioprinting: A Novel Avenue for Manufacturing Tissues and Organs. *Engineering*, 5(4), 777–794. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.03.009>

Zhang, Y. S., Yue, K., Aleman, J., Mollazadeh-Moghaddam, K., Bakht, S. M., Yang, J., ... Khademhosseini, A. (2016). 3D Bioprinting for Tissue and Organ Fabrication. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(1), 148–163. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1612-8>

Comunicación alineada con los Objetivos de Desarrollo Sostenible

