

Trabajo Fin de Grado
Ingeniería de Organización Industrial.

Seguimiento del Desarrollo y Documentación de
Automatismo Safematic de Criopreservación de
Gametos

Autor: Carlos Manuel De Lossada

Tutor: Ramón Risco Delgado

Dep. Física Aplicada III
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2020



Trabajo Fin de Grado
Ingeniería de Organización Industrial.

Seguimiento del Desarrollo y Documentación de Automatismo Safematic de Criopreservación de Gametos

Autor:

Carlos Manuel De Lossada Escabias

Tutor:

Ramón Risco Delgado

Profesor Asociado

Dep. Física Aplicada III
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla
Sevilla, 2020

Trabajo Fin de Grado: Seguimiento del Desarrollo y Documentación de Automatismo Safematic
de Criopreservación de Gametos

Autor: Carlos Manuel De Lossada
Escabias

Tutor: Ramón Risco Delgado

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2020

El Secretario del Tribunal

Agradecimientos

A mi familia

A mis maestros

Resumen

Los avances en el campo de estudio de la criopreservación han permitido el desarrollo de nuevas técnicas y tecnologías en la vitrificación de gametos. La mayoría de las técnicas más novedosas se realizan de forma manual siguiendo unos protocolos de actuación muy rigurosos. Tras el éxito de la técnica Safespeed desarrollado por la Universidad de Sevilla junto con la empresa Safepreservation, la universidad se embarca en un proyecto ambicioso que da un paso más en el mundo de la criopreservación, creando un prototipo de automatismo llamado Safematic. Este dispositivo lo lleva a cabo el departamento de Física Aplicada III de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería con la colaboración de la empresa Ningenia.

En el presente trabajo se realiza una documentación del prototipo realizado, incluyendo una descripción del automatismo desglosando cada uno de sus componentes tanto mecánicos como electrónicos, un manual de uso para el personal técnico y un breve seguimiento del desarrollo del proyecto en su fase final

Abstract

Following advances in the field of cryopreservation new gamete vitrification techniques and equipment have been developed. Most of the newest techniques are performed manually following very rigorous action protocols. After the success of Safespeed developed by the University of Seville in conjunction with the company Safepreservation, the university embarks on an ambitious project that goes one step further in the world of cryopreservation, it is a prototype of automation called Safematic. The device is carried out by the company Ningenia in collaboration with the Applied Physics III department of the Higher Technical School of Engineering.

In this thesis, a documentation of the prototype developed is carried out, including a description of the automation, breaking down each of its mechanical and electronic components, a user manual for technical personnel and a brief follow-up of the development of the project in its final phase.

Índice

Agradecimientos	i
Resumen	iii
Abstract	iv
Índice	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Tablas	viii
1 Prefacio	9
1.1. <i>Introducción</i>	9
1.2. <i>Objetivo del Trabajo Fin de Grado.</i>	9
1.3. <i>Alcance del Trabajo Fin de Grado.</i>	10
2 Metodología	11
3 Introducción a la Criopreservación	12
3.1. <i>Fundamentos de la Criopreservación</i>	12
3.2. <i>Los agentes crioprotectores.</i>	13
3.3. <i>Métodos de criopreservación.</i>	14
3.3.1. <i>Congelación lenta o “slow freezing”.</i>	14
3.3.2. <i>Vitrificación.</i>	14
3.4. <i>Safespeed.</i>	16
4 Máquina de Criopreservación de Óvulos	17
4.1. <i>Componentes de la máquina</i>	17
4.2. <i>Componentes del sistema de control</i>	17
4.2.1. <i>Controladores:</i>	17
4.2.2. <i>Fuente de alimentación e interruptor magnetotérmico.</i>	19
4.2.3. <i>PLC</i>	20
4.2.4. <i>Panel Táctil.</i>	22
4.2.5. <i>Sensor final de carrera.</i>	22
4.2.6. <i>Motores paso a paso.</i>	23
4.2.7. <i>Microcontrolador Arduino.</i>	24
4.3. <i>Componentes del sistema mecánico.</i>	25
4.3.1. <i>Matriz portapajuelas.</i>	25
4.3.2. <i>Sistema de agarre de la pajuela.</i>	25
4.3.3. <i>Bomba de succión.</i>	28
4.3.4. <i>Microscopio endoscopio digital</i>	29
4.3.5. <i>Cinta transportadora de micropocillos.</i>	29
4.3.6. <i>Bloque de Sellado de la pajuela</i>	30
5 Funcionamiento e instrucciones de uso	33

5.1.	<i>Funcionamiento Secuencial de la Máquina</i>	33
5.2.	<i>Manual de Uso</i>	35
5.2.1.	Modo Automático	35
5.2.2.	Modo manual.	40
6	Seguimiento del Desarrollo	44
6.1.	<i>Cargos y responsabilidades.</i>	44
6.2.	<i>Tareas por realizar.</i>	45
6.3.	<i>Diagrama de Gantt.</i>	47
6.4.	<i>Estado actual del proyecto y futuras mejoras.</i>	49
7	Conclusiones.	50
	Bibliografía	51

Índice de Figuras

Figura 1 Caja de maniobra.	18
Figura 2 Fuente de alimentación SITOP PSU200M e Interruptor Magnetotérmico 5SL6216-7.	19
Figura 3 Switch SCALANCE XB008, PLC SIMATIC S7-1200, módulo SM1223.	21
Figura 4 Panel Táctil SIMATIC HMI KTP700 BASIC.	22
Figura 5 Arduino Nano.	24
Figura 6 Matriz Portapajuelas.	25
Figura 7 Mesa Rotativa LERH50K.	26
Figura 8 Pinza principal de carrera larga LEHF40K 2-80.	27
Figura 9 Pinza LEHZ10LK2-4.	27
Figura 10 Bomba LPDA2720150L.	28
Figura 11 Microscopio Digital PCE-MM 800..	29
Figura 12 Cinta transportadora de micropocillos.	30
Figura 13 Electroimán modelo 350 de Jové.	31
Figura 14 Cabezal y ventilador.	32
Figura 15 Pantalla de modo automático.	36
Figura 16 Pantalla de modo automático Haciendo Home Actuadores.	37
Figura 17 Pantalla de modo manual. Reposo.	40
Figura 18 Diagrama de Gantt de la tareas por realizar.	47
Figura 19 Diagrama de Gantt modificado.	48
Figura 20 Diagrama de Gantt tras retraso del proveedor.	48

Índice de Tablas

Tabla 1 Especificaciones de la fuente de alimentación.....	19
Tabla 2 Especificaciones del Interruptor Magnetotérmico.....	20
Tabla 3 Especificaciones PLC.....	21
Tabla 4 Especificaciones Switch.....	21
Tabla 5 Especificaciones módulo SM1223.....	22
Tabla 6 Especificaciones de Finales de carrera.....	23
Tabla 7 Especificaciones de los motores paso a paso.....	23
Tabla 8 Especificaciones Arduino nano v3.0.....	24
Tabla 9 Especificaciones de la Mesa Rotativa LERH50K.....	26
Tabla 10 Especificaciones Técnicas de la pinza principal.....	27
Tabla 11 Especificaciones técnicas de la pinza LEHZ10LK2-4.....	28
Tabla 12 Especificaciones de la bomba LPDA 2720150L.....	29
Tabla 13 Especificaciones del electroimán.....	31
Tabla 14 Roles y responsabilidades.....	45
Tabla 15 Lista de tareas a realizar.....	46

1 Prefacio

1.1. Introducción

La criopreservación es el proceso en el cual las células o tejidos son congelados a muy bajas temperaturas, generalmente entre -80 y -195 grados Celsius, este frío hace que disminuyan las funciones vitales de una célula o un organismo permitiendo mantener en condiciones de vida suspendida a dicha célula por mucho tiempo. Hasta ahora se realizan estas técnicas de forma manual, la Universidad de Sevilla ha desarrollado un prototipo que automatiza la técnica de vitrificación de gametos. En el presente trabajo se documentará este automatismo, la lista de materiales que lo componen, las funciones que realiza, la redacción de un manual de uso y se realizará el seguimiento de la etapa final del proyecto.

1.2. Objetivo del Trabajo Fin de Grado.

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Grado es realizar la documentación del prototipo del automatismo Safematic de criopreservación de ovocitos.

Los objetivos de este trabajo son:

1. Definir la criopreservación e introducir al lector en el campo de la criopreservación explicando los fundamentos de la criopreservación, la metodología usada y los elementos que se usan en la misma.
2. La realización de una lista de materiales del automatismo Safematic para la criopreservación de ovocitos.
3. Redacción de un manual de uso del automatismo que sirva de apoyo a personal técnico.
4. La creación de un diagrama de Gantt para poder realizar un seguimiento del desarrollo de la fase final del proyecto mediante información recabada en reuniones con los responsables del proyecto.

1.3. Alcance del Trabajo Fin de Grado.

Este trabajo trata de realizar una documentación del prototipo de un automatismo desarrollado por la Universidad de Sevilla con la colaboración de Ningenia, así como un seguimiento del desarrollo de la etapa final de dicho proyecto.

Se realizará un breve estudio del campo de la criopreservación, para conocer las técnicas existentes en la actualidad, una lista de los materiales que conforman la máquina desglosando parte mecánica y electrónica, así como la redacción del manual de uso del automatismo. Por último, se realizará un seguimiento de la etapa final del proyecto, usando el diagrama de Gantt y reuniones de control para el controlar el desarrollo.

2 Metodología

La metodología seguida para la realización del Trabajo de Fin de Grado, cuyo objetivo cabe recordar que es la documentación del automatismo Safematic de criopreservación de gametos, así como el seguimiento del desarrollo de la fase final del proyecto ha sido:

1. Estudio del campo donde se desarrolla el automatismo, mediante la investigación y lectura comprensiva de información sobre la criopreservación de gametos para realizar una contextualización de la misma. Conocer los requisitos físicos del proceso, así como sus condiciones ambientales.
2. Recolección y redacción de información específica sobre los elementos que componen el automatismo, así como el estudio de todos los procesos que lleva a cabo para poder realizar la lista de materiales y el manual de eso.
3. Diseño de un diagrama de Gantt para realizar el seguimiento del desarrollo de la etapa final del automatismo Safematic.

3 Introducción a la Criopreservación

La criopreservación es una rama de la ciencia que investiga el uso de bajas temperaturas en el rango de -80°C y -196°C con el fin de conservar células, tejidos, órganos y organismos vivos. Al usar estas temperaturas tan bajas se consigue detener la actividad metabólica, consiguiendo así una preservación efectiva.

Una vez definido el concepto de criopreservación, repasemos uno de los elementos que consigue que sea posible esta técnica, el frío. El frío tiene un poder dual, tiene la tanto la capacidad de destruir, como la de preservar. Un hecho importante en este campo fue, debido a los avances científicos, el conseguir extraer de mamuts datados del pleistoceno, proteínas y su ADN. Debido a la exposición de las muestras a muy bajas temperaturas se pudieron conservar, aunque probablemente esas bajas temperaturas fueran la causa de muerte de los individuos. Estos descubrimientos ofrecen un amplio abanico de aplicaciones científicas, como puede ser la clonación de distintas especies extintas o en peligro de serlo, así como la criopreservación de células, tejidos, órganos y organismos vivos, aunque aún quedan algunos problemas que resolver.

En la actualidad hay un cuantioso número de empresas, y universidades que se dedican a la investigación, puesta en marcha de esta técnica y de descubrir sus posibles aplicaciones. El sector de la reproducción asistida es uno de los grandes interesados en el desarrollo de la criopreservación, debido a que se utiliza este método para poder conservar, almacenar y preservar, los óvulos y espermatozoides de sus clientes. Para poder llevar a cabo la fecundación de una manera eficaz, y en el momento oportuno consiguiendo el óptimo resultado.

Conseguir que el proceso de criopreservación sea exitoso, depende del control de diversos factores y elementos que interfieren en la técnica. Existen métodos que, en la actualidad, se usan para evitar formaciones de hielo que destruyen las muestras y la intoxicación de las muestras por exceso de crioprotector. Las técnicas que usan para evitar estos problemas serán descritas a lo largo de este apartado.

3.1. Fundamentos de la Criopreservación

En el enfriamiento de una célula actúan dos principios físicos el principio de descenso crioscópico y el principio de osmosis.

El descenso crioscópico es una propiedad coligativa que depende de la concentración de soluto que existe en una disolución. Esta propiedad consiste en disminuir el punto de fusión, respecto al mismo punto para el disolvente puro. Esta propiedad nos permite discernir la razón por la que el agua en estado líquido con presencia de sales disueltas sigue siendo líquida a temperaturas inferiores a 0 grados centígrados.

La osmosis es una difusión pasiva a través de una membrana semipermeable, donde las partículas de soluto se dirigen desde la solución más concentrada, hasta la solución menos concentrada hasta que se alcanza el equilibrio entre ambas. La presión osmótica se entiende como la presión necesaria para detener el flujo de disolvente a través de la membrana semipermeable.

Las células de los organismos pluricelulares presentan una membrana semipermeable llamada membrana plasmática, y estas células deben permanecer en equilibrio osmótico con los líquidos en los que se bañan.

Según este principio, al introducir una célula en un medio donde la concentración de sales es superior a la concentración del interior de la célula, la misma expulsará agua reduciendo su volumen y aumentando la concentración de sales conllevando una bajada del punto de fusión.

[1]

3.2. Los agentes crioprotectores.

Se tratan de sustancias hidrosolubles con capacidades para modificar las propiedades fisicoquímicas de las soluciones acuosas presentes en la materia viva. Hay varios tipos de crioprotectores cuyas funciones varían entre ellos. Aunque tengan funciones diferentes, todos los crioprotectores suscitan el aumento de la velocidad de la deshidratación celular y amortiguan el efecto de la alta concentración de solutos.

Al agregar estos agentes crioprotectores en las muestras ya sean células, tejidos u órganos que se pretenden criopreservar, se produce una diferencia de concentraciones que, debido al principio de ósmosis descrito en el apartado anterior, el agua atraviesa la membrana plasmática hacia el exterior de la célula, al haber menos disolvente y más soluto dentro de la célula aumentando la concentración de sales. Este aumento de la concentración produce a su vez un descenso del punto de fusión, es decir, la temperatura a la que hielo aparece o se forma es más baja, hay que recordar que si se forma hielo dentro de la célula existe un gran riesgo de que el mismo dañe las estructuras de la célula.

Con el uso de estos crioprotectores se erradica el problema de la formación de hielo intracelular, aunque estos agentes son un arma de doble filo ya que en altas concentraciones resultan ser tóxicos para la propia célula.

Los agentes crioprotectores se van a agrupar en dos grupos según la permeabilidad celular.

- **Crioprotectores penetrantes:** se tratan de sustancias que penetran dentro de la célula y la deshidratan sustituyendo el agua que presenta en ese interior. Al introducirse dentro de la célula, este tipo de crioprotector mitiga el incremento de soluto que provoca la salida del agua de dentro de la célula y a su vez previene la formación de dendritas de hielo en el interior de la célula impidiendo el estrés osmótico. Los más usados de este tipo son el glicerol, etilenglicol, dimetilsulfoxido(DMSO) y 1-2 propanodiol.

- **Crioprotectores no penetrantes:** este tipo de crioprotectores debido a su alto peso molecular actúan sobre el exterior de la célula deshidratándola rápidamente. Los que se usan más comúnmente son la sacarosa, la dextrosa, la glucosas, el dextrano y el polietilenglicol(PEG). [1]

3.3. Métodos de criopreservación.

Para realizar la criopreservación se pueden usar varios métodos o protocolos para realizarla de la manera más efectiva posible. En este apartado se nombran los dos métodos que más se usan en este campo de la criopreservación, que varían en función de la velocidad de congelación.

3.3.1. Congelación lenta o “slow freezing”.

Para este método se le agrega al organismo una cierta concentración de un agente crioprotector, impidiendo la formación de cristales de hielo dentro de la célula, aunque sí que se forma hielo extracelular.

En este método el descenso de temperatura es programado, se controlan las velocidades de enfriamiento en un rango de entre $-50^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y $-2^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Con este control sobre la velocidad de enfriamiento se consigue que se forme el hielo extracelular y se evita la formación del intracelular.

Además de la formación del hielo extracelular, se produce un aumento de la concentración de soluto que resulta tóxico. Para hacer que esta concentración disminuya se disuelven crioprotectores en el interior de la célula protegiendo a la misma o el organismo a criopreservar de la toxicidad que producen estas altas concentraciones de soluto.

3.3.2. Vitrificación.

La vitrificación es un método de criopreservación en el que se pretende evitar que se forme hielo extracelular e intracelular. La técnica se basa en un enfriamiento ultrarrápido de las células al solidificar, dan lugar a estructuras no cristalinas parecidas a las observadas en el vidrio, es decir, amorfas. La alta velocidad a la que se enfría usando esta técnica hace que el ovocito alcance un estado vítreo antes de que se formen dendritas de hielo y lo atraviese.

Aunque no se forme hielo hay otros factores que dañan gravemente a la célula, uno de ellos como en otros métodos es que la concentración de sales que se encuentra dentro de la célula alcanza unos niveles tóxicos. Por otro lado, se produce una disminución del volumen de la célula, al salir el agua de la misma, este descenso tan acusado del volumen produce deformaciones estructurales irreversibles.

Para lograr que esta técnica de vitrificación resulte efectiva y segura se han desarrollado una serie de estrategias basadas todas ellas en el uso de altas concentraciones de agentes crioprotectores. Al introducirse estos agentes en la célula, aumentan la viscosidad de la solución, favoreciendo la aparición del estado vítreo y reduciendo la velocidad de crecimiento de las dendritas de hielo.

El dimetilsulfóxido(DMSO), es un crioprotector que debido a sus propiedades es detectable por el uso de TAC (Tomografía Axial Computarizada) a temperaturas criogénicas y ambientales. Gracias a estas propiedades se puede controlar la concentración de crioprotector con mayor exactitud.

En este método o protocolo de criopreservación la solución criogénica normalmente usada es el nitrógeno líquido, aunque hay investigaciones que muestran que al modificar algunos aspectos de la solución acrecientan la tasa de enfriamiento. También se pueden usar mezclas criogénicas como slush, que es nitrógeno líquido subenfriado que procede del cambio de fase de nitrógeno líquido, o el slurry que es una mezcla de nitrógeno líquido con diferentes partículas como cobre en polvo o cloruro de sodio, uno u otra dependiendo de las características de la muestra a criopreservar.

Otro elemento fundamental para alcanzar las velocidades de enfriamiento necesarias para la vitrificación son los contenedores de las muestras destinados a sumergirse en el nitrógeno líquido. Estos contenedores se diseñan orientados a que la transferencia de calor sea óptima.

- **“Open Pulled Straws (OPS)” y “Closed Pulled Straws”**, estos contenedores son los más usados en el campo, se tratan de unas pajuelas de PVC abiertas y cerradas de unos 0.25 ml de volumen. Estas pajuelas se usan cargándolas con la muestra mediante la aspiración hacia el interior de la misma, y se sumergen directamente en nitrógeno líquido. Usando estas pajuelas no existe contacto directo de la muestra con el nitrógeno líquido, evitando que esta se contamine. Aunque debido al gran volumen de estas pajuelas, la tasa de enfriamiento es menor y la concentración de crioprotector necesario para ese volumen puede resultar tóxica. [2]
- **Crioloops**, son contenedores con forma de espiral fabricados en nylon, son un sistema cerrado es decir que la muestra no entra en contacto directo con el nitrógeno líquido, al introducir el anillo en la solución criogénica. [3]
- **Solid-Surface Vitrification (SSV)**, trata de lanzar sobre una superficie metálica previamente enfriada con nitrógeno líquido microgotas con células en suspensión. [4]
- **Cryotop**, este contenedor es un capilar de plástico con un volumen menor de 0.1 μ l donde se cargan las muestras, tras cargarse se introduce en nitrógeno líquido. Usando estos contenedores se minimiza el volumen de la muestra y aumenta la velocidad de enfriamiento, debido al menor volumen que tienen estos contenedores las concentraciones de crioprotector se pueden disminuir. [5]
- **Cryotip**, se trata de una variante del Cryotop, en este caso el capilar está sellado por ambos extremos con el fin de no producirse contacto de la muestra con el nitrógeno

líquido. Aunque la eficiencia que se ha obtenido es prácticamente la misma tanto para el Cryotop como para el Cryotip. [6].

- **Capilares de Policarbonato**, contenedores tipo capilar con un diámetro exterior de 0.200mm y espesor de 0.016mm. que comparado con los demás contenedores tipo capilar es mucho menor tanto en diámetro como en espesor. Al ser tan bajo su volumen comparado con los demás hace que estos capilares sean unas 20 veces más eficiente en cuanto a transferencia de calor. [7]

3.4. Safespeed.

Safespeed es una técnica novedosa desarrollada por la Universidad de Sevilla, se basa en un sistema cerrado de vitrificación ultrarrápida de gametos humanos, el desarrollo del proyecto Safematic se basa en la automatización de esta técnica.

Para el desarrollo de la técnica se usan 3 soluciones la primera de lavado la segunda de equilibrio y la tercera de vitrificación. Las dos primeras es donde el gameto se depositará para que se equilibre. Mientras el gameto se equilibra se conecta la pajuela Safespeed al sistema de aspiración y se desenfunda el capilar de la pajuela, para proceder a aspirar la solución de vitrificación hasta la tercera marca de seguridad de la pajuela. En esa posición se enfunda la pajuela para poder transferir los gametos a la solución de vitrificación e inmediatamente sean aspirados de nuevo hasta quedar entre la segunda y tercera marca de seguridad de la pajuela.

Una vez aspirado el gameto se realiza el sellado, posicionando la pajuela hasta antes de la primera marca de seguridad en la selladora, y se sellará durante 3 segundos. Una vez sellado se introduce en el tanque de nitrógeno, se enfundan la pajuela dentro del tanque y por último, se introducen en los viso tubos para su almacenaje por largos periodos de tiempo.

Esta técnica debe de seguir el protocolo descrito de manera estricta por el técnico encargado, para realizar la vitrificación de una pajuela. Debido a esto surgió la idea de realizar un automatismo capaz de realizar el mismo procedimiento, de forma automática y en serie ahorrando tiempo y perfeccionando la técnica.

4 Máquina de Criopreservación de Óvulos

Los avances teóricos en el campo de la criopreservación han generado la necesidad de nuevas máquinas para poder llevar a cabo la experimentación en base a estas nuevas teorías. De la misma forma la precisión es esencial en las acciones que requieren las técnicas de esta naturaleza, que hasta ahora son realizadas en su mayoría por técnicos especializados, al introducir máquinas en estos procesos la precisión será mayor, realizando en primer lugar las tareas más sencillas con el fin de liberar el tiempo a los técnicos para que puedan invertirlo en tareas menos triviales, y en segundo lugar para realizar las prácticas donde la precisión sea crucial para la supervivencia de las muestras que se quieren criopreservar.

Actualmente se está desarrollando un automatismo basado en la técnica Safespeed, para así poder reducir tiempos en la criopreservación de gametos, realizarlas de forma eficiente y con la menor presencia de técnicos. Este automatismo se está desarrollando por la Universidad de Sevilla en colaboración con la empresa Ningenia.

4.1. Componentes de la máquina

A continuación, se describe el conjunto de elementos que componen la máquina de criopreservación de óvulos, la podemos dividir en dos bloques.

El primer bloque se puede definir como el sistema de control de la máquina, compuesto por los controladores, el PLC, una fuente de alimentación y una pantalla táctil.

El segundo bloque se definirá como el sistema mecánico compuesto por los actuadores del sistema de agarre, los actuadores del sistema de succión y los del bloque de sellado que se describirán en los siguientes apartados.

4.2. Componentes del sistema de control

4.2.1. Controladores:

La máquina consta en total de cuatro controladores destinados a gobernar distintos actuadores que conforman el automatismo. Todos son de la serie JXCP18, que disponen de las mismas especificaciones técnicas. Estos controladores contienen 6 puertos destinados a conectarse con distintos elementos, entre ellos el actuador al que gobiernan. En orden descendente explicaremos, para lo que están destinados dichos puertos. El primero se conecta al PLC, a través de un cable Ethernet, el segundo puede conectarse a otro PLC, pero en nuestra máquina no lo usaremos. Los dos puertos siguientes están pensados para conectarse a los actuadores, para los que coinciden las referencias de controlador y actuador, como

describiremos a continuación y el puerto situado en la parte inferior está destinado para conectarse con la fuente de alimentación.

El controlador JXCP18-LEHZ10LK2-4, conectado con el actuador pinza de SMC, de la serie LEHZ. Al contar con dos pinzas, también contamos con dos controladores, conectados uno a uno, controlador con actuador.

El controlador JXCP18-LERH50K, se encuentra conectado a la mesa rotativa eléctrica, de la marca japonesa, de la serie LERH.

El ultimo controlador JXCP18-LEHF40K2-80, conectada a una pinza con carrera larga que cuenta con dos soportes con objetivo de ser usados para conectar las pinzas de la serie LEHZ, anteriormente nombradas, creando así un soporte para la pajuela con dos agarres de pinza para conseguir una mayor precisión en los movimientos que se realizan con la pajuela.

Estos son los cuatro controladores de los principales actuadores del automatismo, que se encuentran localizados en una caja de mandos próxima a los actuadores. Fuera de esta caja se pueden observar tres controladores más destinados a gobernar los motores paso a paso, que están instalados en el automatismo, que se describirán más adelante.

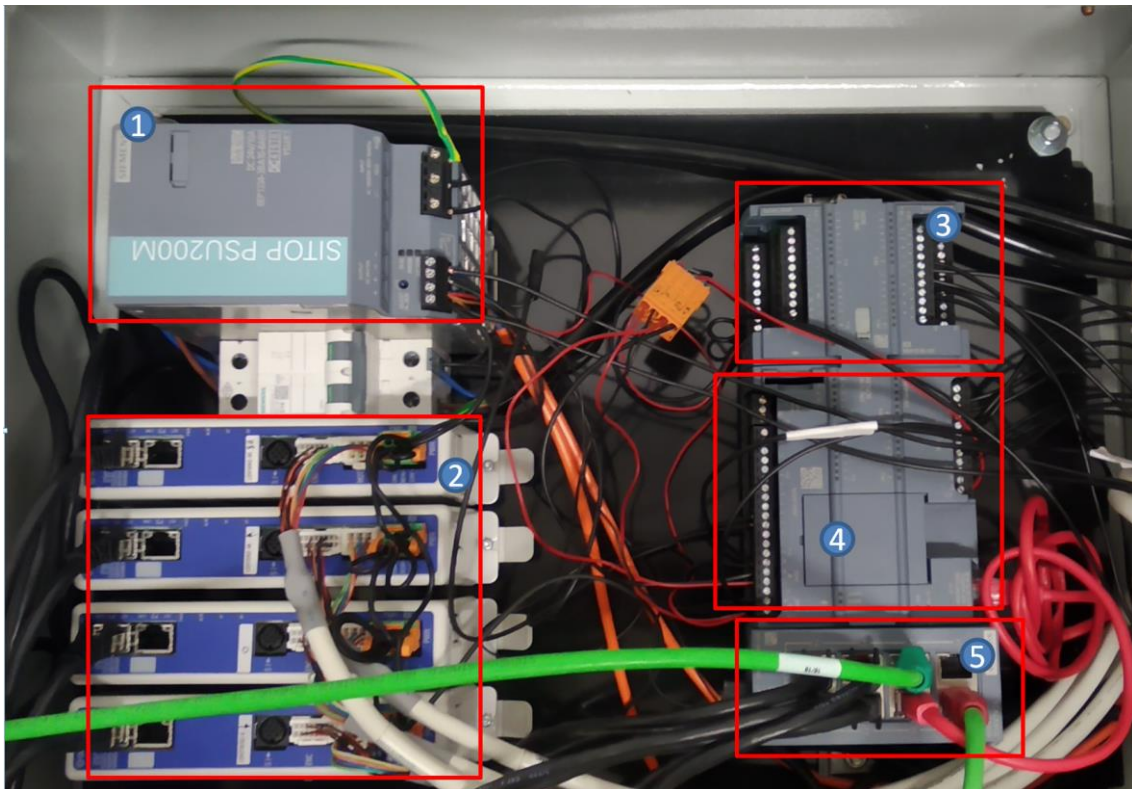


Figura 1 Caja de maniobra.

La figura 1 muestra la caja de maniobra compuesta por 1 la fuente de alimentación y el interruptor magnetotérmico, 2 los drivers descritos anteriormente, 3 el módulo de extensión del PLC, 4 el PLC y 5 el Switch, que se describirán en los capítulos posteriores.

4.2.2. Fuente de alimentación e interruptor magnetotérmico.

Para alimentar el automatismo se ha utilizado una fuente de alimentación Siemens del modelo SITOP ya que se trata de una fuente con tecnología modular aptas para máquinas complejas, y debido a su rango ultra amplio que permite conexiones a casi cualquier sistema de suministro. A parte esta fuente asegura un alto grado de seguridad, aunque se produzcan grandes fluctuaciones de voltaje. El consumo de energía se mantiene en bajos niveles gracias a su gran eficiencia.



Figura 2 Fuente de alimentación SITOP PSU200M e Interruptor Magnetotérmico 5SL6216-7. [8]
[9]

Varias de las especificaciones que se han tenido en cuenta, aparte de las características descritas con anterioridad, se pueden observar en la siguiente tabla.

Marca / Modelo	Siemens / SITOP PSU200M
Voltaje (V)	24
Resistencia a la sobretensión	1300 Vpico, 1.3ms
Rango de intensidad (A)	0...10
Eficiencia de tensión de salida	91%

Tabla 1 Especificaciones de la fuente de alimentación. [8]

Para proteger el automatismo ante sobre intensidades y cortocircuitos eléctricos, se ha elegido el interruptor de Siemens del modelo 5SL6216-7, por motivos de compatibilidad, por la fiabilidad de la marca. En la siguiente tabla se observan algunas de las especificaciones de este dispositivo.

Marca/Modelo	SIEMENS/5SL6216-7
Número de Polos	2
Tensión de servicio (VCA/CC)	24 - 440
Intensidad nominal (A)	16
Poder de corte (A)	6000
Curva de disparo	C
Dimensiones	90mm x 36mm x 76mm
Peso (g)	240

Tabla 2 Especificaciones del Interruptor Magnetotérmico. [9]

4.2.3. PLC

Para realizar todas las operaciones lógicas, y controlar y las entradas y salidas de datos de los actuadores y los respectivos controladores se ha instalado un PLC. El modelo por el que se ha decantado el equipo ha sido el SIMATIC S7-1200, en primer lugar por la marca Siemens una de las líderes en el sector de la electrónica, la cual inspira confianza y fiabilidad en sus productos. A este PLC se le han instalado accesorios de la misma marca para aumentar el número de conexiones, un switch encargado de las interconexiones entre el PLC y los demás dispositivos del automatismo como son los drivers de los actuadores, la pantalla, creando una red de conexionado entorno al PLC. Este switch es el modelo SCALANCE XB008, dispone de 8 puertos RJ45 hembras, de los cuales 4 se conectan a los controladores respectivamente, otro se conecta al PLC, otro para conectar con el ordenador portátil y el último se conecta al panel táctil.



Figura 3 Switch SCALANCE XB008, PLC SIMATIC S7-1200, módulo SM1223. [10] [11] [12]

Marca/Modelo	Siemens/ SIMATIC S7-1200
Tensión Nominal de alimentación	24V DC
Rango de Tensión de alimentación (Límite inferior/Límite superior)	20.4 V / 28.8 V (DC)
Memoria	75 kbyte

Tabla 3 Especificaciones PLC [10]

Marca/Modelo	Siemens /SCALANCE XB008
Tensión de alimentación	24V
Tasa de transferencia	10 Mbit/s, 100Mbit/s
Dimensiones	45 mm x 100mm x 87mm

Tabla 4 Especificaciones Switch [12]

Marca/Modelo	Siemens/ SM1223
Tensión de alimentación	24V
Entradas digitales	16 (2 grupos de 8)

Salidas digitales	16
Dimensiones	70mm x 100mm x 75mm

Tabla 5 Especificaciones módulo SM1223. [11]

4.2.4. Panel Táctil.

Para que el técnico encargado pueda controlar los procesos que se llevan a cabo por el automatismo, se ha instalado un panel táctil, SIMATIC HMI de la marca Siemens. Se ha instalado dicho panel, ya que cuenta con una innovadora interfaz de usuario, a la facilidad de su uso, y sobre todo con su absoluta compatibilidad con el PLC instalado. Este panel además de la pantalla táctil está equipado de teclas configurables. El montaje del panel es muy sencillo, permitiendo tanto el montaje vertical como el horizontal.



Figura 4 Panel Táctil SIMATIC HMI KTP700 BASIC. [13]

4.2.5. Sensor final de carrera.

Se han instalado dos sensores finales de carrera modelo O8H208 del fabricante ifm. Estos sensores usan tecnología de reflexión directa con supresión de fondo, capaces de realizar mediciones de distancia independiente del color del objeto, ya sean estos reflectantes o muy plano, a su vez son capaces de mantener una alta precisión incluso en largas distancias y están diseñados para espacios reducidos lo que facilita su instalación. Todas estas características junto a las especificaciones técnicas de funcionamiento son las que han conllevado que se haya elegido este modelo.

Estos sensores se han instalado en el automatismo cada uno conectado al PLC al que le manda una señal en función de su estado. El primer sensor se encuentra situado en la parte posterior de la matriz porta pajuelas, a una altura suficiente a la que solo detecte el postizo de la pajuela cuando pase por delante del sensor, cuando esta es detectada la fotocélula manda una señal al controlador y este a su vez manda una señal de parada al motor destinado a mover la matriz.

El segundo sensor se ha instalado en una escuadra metálica con altura suficiente para que no interfiera en la ruta de los pozos y la necesaria para detectarlos.

Las características técnicas de los interruptores se reflejan en la siguiente tabla:

Dimensiones (mm)	28.1x8.1x14.4
Tensión de alimentación (V)	10...30 DC
Consumo de corriente (mA)	20; ((24V))
Alcance (mm)	1...30; (papel blanco 200x200)

Tabla 6 Especificaciones de Finales de carrera.

4.2.6. Motores paso a paso.

En el automatismo se encuentran instalados 2 motores paso a paso, con el fin de transmitir el movimiento a dos mecanismos, el primero se ha instalado en la parte trasera del engranaje que forma parte del mecanismo de la matriz porta-pajuelas. El segundo motor se ha instalado para poder mover el carrete de los pocillos está enganchado al engranaje matriz del carrete.

El modelo comercial seleccionado es el que se muestra en la siguiente tabla donde se describen las especificaciones del mismo:

Modelo	17HS4401
Tipo	Bipolar
Voltaje (V)	12
Amperio / fase (A)	1.7
Longitud (mm)	40
Angulo por paso	1.8
Resistencia (mH)	1.5
Peso (g)	280
Par máximo (g/cm)	4000 g/cm

Tabla 7 Especificaciones de los motores paso a paso.

4.2.7. Microcontrolador Arduino.

Para el control del bloque de sellado de las pajuelas en este automatismo se ha usado un microcontrolador Arduino nano, se ha elegido este controlador debido a su reducido tamaño es idóneo para su instalación en el bloque de sellado, ya que lo que se trata de buscar en este automatismo es que sea lo más compacto posible. Aunque este reducido tamaño tiene la desventaja, de poseer un número inferior de entradas y de salidas, pero para este proyecto no ha resultado ser una desventaja.

Se ha instalado con el fin de controlar el bloque de sellado de la pajuela, utilizado para el control de la temperatura de los extrusores, ya que se necesita una temperatura lo suficientemente alta para poder sellar el capilar y postizo de la pajuela. El Arduino también gobierna al solenoide instalado en el bloque, para que este actúe en el momento preciso, y con la fuerza necesaria para que el sellado sea fructífero.

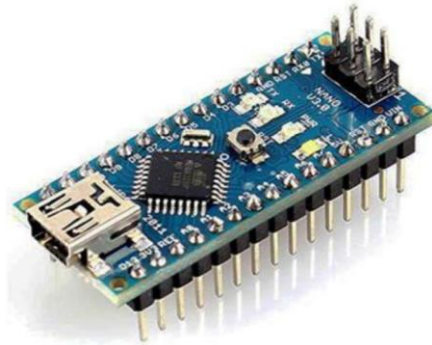


Figura 5 Arduino Nano. [14]

El microprocesador elegido está basado en el microcontrolador ATmega328. Las especificaciones técnicas de este modelo se pueden observar en la siguiente tabla.

Tensión de operación (V)	5
Tensión de entrada recomendada (V)	7-12
Pines E/S digitales	14 (6 proveen de salida PWN)
Entradas Analógicas	8
Corriente máxima por cada pin E/S (mA)	40
Memoria Flash (KB)	32
SRAM (KB)	2
Dimensiones (mm x mm)	18.5 x 43.2

Tabla 8 Especificaciones Arduino nano v3.0. [14]

4.3. Componentes del sistema mecánico.

En este subcapítulo se describirán los distintos elementos mecánicos, que componen los distintos bloques del automatismo. Muchos de los actuadores se han adquirido de distintos proveedores, tanto nacionales como internacionales. Aunque algunos de elementos mecánicos, al tener unas características muy específicas se han diseñado por el equipo, para posteriormente ser mandados e impresos por la propia Universidad de Sevilla.

4.3.1. Matriz portapajuelas.

Esta matriz ha sido diseñada por el equipo técnico de Ningenia, es un elemento clave en el automatismo, debido a que este elemento es el que encarga de sostener las pajuelas y aproximarlas para que sean atrapadas por las pinzas. La matriz consta de cuatro partes impresas en plástico PLA, debido a su ínfimo coste comparado con el mismo elemento mecanizado, ya que este automatismo no es más que un prototipo. Las cuatro partes de las que consta la matriz son: un soporte vertical que tiene el cometido de elevar las pajuelas para facilitar el proceso de agarre de la pajueta, en este soporte se encuentra una correa con 10 orificios, donde se colocarán las pajuelas, la correa está dentada para que un engranaje de 20 dientes pueda transmitir y convertir la rotación del motor paso a paso colocado en la parte posterior. La detección de la posición de la pajueta la controla una fotocélula, cuando una pajueta pasa por delante de ella la fotocélula la detecta y manda una señal deteniendo el motor y posicionando la pajueta para ser agarrada por las pinzas.

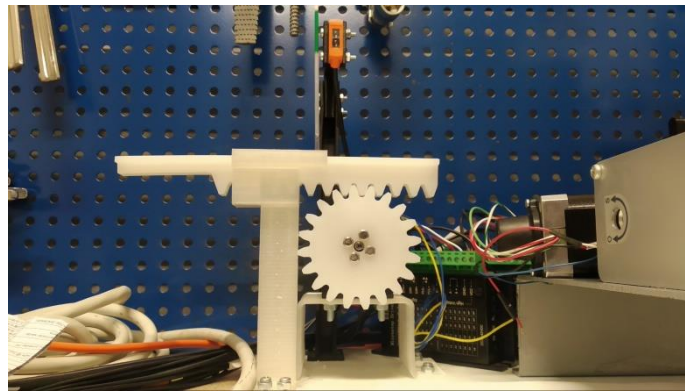


Figura 6 Matriz Portapajuelas.

4.3.2. Sistema de agarre de la pajueta.

Para el proceso de agarre de la pajueta, se ha instalado una pinza formada por cuatro actuadores independientes, una base rotatoria y tres actuadores de tipo pinza, una de mayor tamaño usada como soporte de otras dos pinzas iguales entre si y de menor tamaño que la principal.

La mesa rotatoria actúa como base del mecanismo permitiendo realizar rotaciones alrededor del eje vertical desplazando la pajueta hacia las distintas estaciones del automatismo. Sobre

esta base se instala la pinza principal, a la que a su vez se le instalan las otras dos pinzas menores, una en cada uno de sus dedos. Este ensamblaje de los actuadores permite el agarre de la pajueta en dos puntos, uno por cada pinza instalada, permitiendo el enfundado y desenfundado del capilar de la pajueta.

4.3.2.1. Mesa Rotatoria.

La mesa rotatoria es de la serie LERH50K del fabricante japonés SMC, este es el modelo de más alta precisión de la serie por lo que el error en el posicionamiento de las pinzas es el ínfimo que se puede obtener. El ángulo de rotación de esta mesa es de 320 grados, lo que permite que se puedan alcanzar todas las estaciones del automatismo.



Figura 7 Mesa Rotativa LERH50K. [15]

Modelo	LERH50K
Máximo torque de rotación (N*m)	10
Ángulo de rotación (°)	320
Peso (Kg)	2.4
Tensión nominal	24 VDC \pm 10%.

Tabla 9 Especificaciones de la Mesa Rotativa LERH50K. [15]

4.3.2.2. Pinza principal.

La pinza principal es un elemento fundamental de este automatismo, se trata de una pinza de carrera larga con dos dedos a los que se le ensamblan una pinza más pequeña. Esta pinza se conecta al cilindro de la mesa rotatoria, se instala verticalmente para que sus dedos se muevan sobre el eje y. Con esta pinza de 80 mm de recorrido se puede conseguir realizar los movimientos de desenfundado, enfundado, así como los movimientos verticales pertinentes que necesite el automatismo en cada uno de los procesos que realiza.



Figura 8 Pinza principal de carrera larga LEHF40K 2-80. [16]

La pinza que se ha elegido está fabricada por la empresa japonesa SMC, el modelo elegido es el LEHF40K 2-80, algunas de las especificaciones técnicas de la pinza se muestran en la siguiente tabla.

Modelo	LEHF40.
Fuerza de agarre (N)	72 -180.
Peso (g)	2500.
Repetibilidad (*)	± 0.05 .
Tensión Nominal	24 VDC $\pm 10\%$.

Tabla 10 Especificaciones Técnicas de la pinza principal. [16]

(*) Se llama repetibilidad a la variación de la posición de agarre de la pieza de trabajo, cuando la operación de agarre se realiza repetidamente para la misma secuencia y para la misma pieza de trabajo.

4.3.2.3. Pinzas de agarre.

El automatismo consta de dos pinzas de agarre instaladas una a una en los dedos de la pinza guía o pinza principal. Al instalar estos dos actuadores, se consigue el agarre deseado sobre la pajueta. Estas pinzas son gobernadas por unos drivers de forma independiente, se pueden abrir y cerrar a placer, para realizar los procesos deseados.



Figura 9 Pinza LEHZ10LK2-4. [16]

Algunas de las especificaciones técnicas de estos actuadores son las que se muestran en la siguiente tabla.

Modelo	LEHZ10LK2-4
Fuerza de agarre (N)	2-6
Velocidad de apertura y cerrado (mm/s)	5-80
Peso (g)	135
Tensión Nominal	24 VDC \pm 10%

Tabla 11 Especificaciones técnicas de la pinza LEHZ10LK2-4. [16]

4.3.3. Bomba de succión.

La succión de los ovocitos se controla mediante una bomba colocada en la parte trasera del automatismo, y se conecta mediante un tubo de aspiración a un soporte ubicado en la parte superior de la pinza superior del sistema de agarre de la pajuela. El soporte consta de un embudo invertido que guía el postizo de la pajuela hacia el tubo de aspiración.



Figura 10 Bomba LPDA2720150L.

La bomba elegida ha sido de la serie LPD es un dispositivo compacto, de tamaño reducido idóneo para el automatismo. Algunas de las especificaciones de este dispositivo se reflejan en la siguiente tabla.

Modelo	LPDA 2720150L
Volumen (μL)	50
Material	PMMA
Presión de descarga máxima (psig)	60
Resolución a paso completo (μL)	0.04

Tabla 12 Especificaciones de la bomba LPDA 2720150L. [17]

4.3.4. Microscopio endoscopio digital

Se ha instalado un microscopio digital a modo de cámara para que el técnico pueda controlar el proceso de succión de los ovocitos y los crioprotectores de una manera eficiente y precisa. Con este microscopio se consigue un aumento de 800X, pudiendo tomar imágenes de alta definición de los ovocitos y del proceso de succión en general. Usando este tipo de microscopio las imágenes que toma se ven directamente desde un ordenador o incluso un teléfono móvil.



Figura 11 Microscopio Digital PCE-MM 800..

4.3.5. Cinta transportadora de micropocillos.

El movimiento de los micropocillos para que estos sean succionados por la pajuela está controlado por una cinta transportadora movida por un motor paso a paso. Esta cinta transportadora ha sido fabricada mediante impresión 3D. Se le han instalado tres soportes para colocar los micropocillos de los ovocitos y los crioprotectores, tal como se puede observar en la siguiente figura.

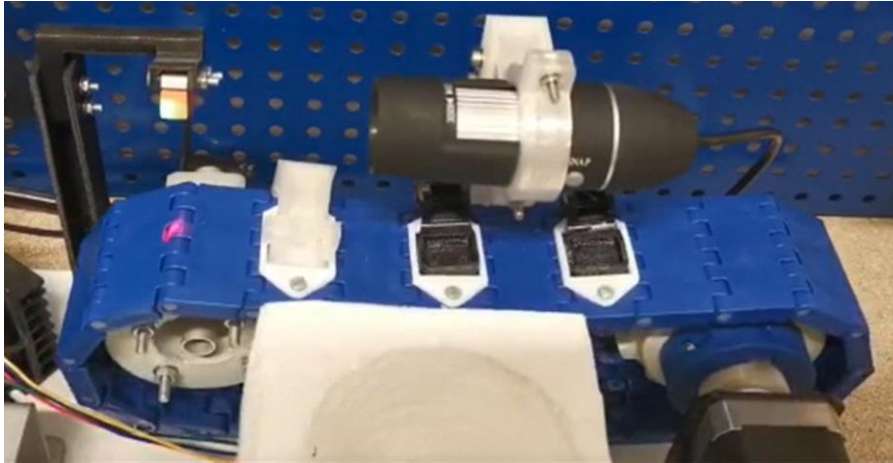


Figura 12 Cinta transportadora de micropocillos.

En la figura se puede observar cómo se han instalado los tres micropocillos en la cinta transportadora con una distancia equidistante entre ellos. El primer receptáculo es en el que se encuentra el ovocito y posee una geometría Rankine la cual permite optimizar el proceso de recogida, ya que esta geometría va guiando el capilar de la pajuela por el interior del micropocillo al punto exacto donde se encuentra el ovocito.

4.3.6. Bloque de Sellado de la pajuela

Este bloque cumple una función fundamental en el proceso de la criopreservación, se encarga del sellado de la pajuela para que el ovocito y los crioprotectores succionados no se viertan ni por el capilar, ni por el postizo de la pajuela, para ello se ha diseñado un sistema de sellado basado dos principios la temperatura y la presión. El control de la temperatura se consigue a través de unos extrusores para calentar y de unos ventiladores para enfriar. La presión necesaria se consigue mediante un solenoide. Todos elementos son gobernados por un Arduino, encargado de la regulación de tiempos, temperaturas y fuerza necesaria para que el sellado se haga de la manera más eficiente posible.

4.3.6.1. Solenoide.

La pajuela se sellará por dos partes, por el capilar y por el postizo. Por la zona del capilar la pajuela es relativamente blanda, pero en el caso del postizo, es necesario aplicar una fuerza mayor ya que ofrece mayor resistencia a la presión. Para ello se ha instalado En el bloque de sellado del automatismo un solenoide.

El solenoide es un electroimán de accionamiento lineal en el que el núcleo se desliza sobre soportes autolubricados. Se ha montado en posición horizontal, acoplado a la estructura donde se aloja el hardware del bloque, mediante dos soportes impresos en 3D.

Para poder transmitir la fuerza de tracción del electroimán a los extrusores para sellar en primer lugar el capilar y en segundo lugar el postizo, se ha implementado un sistema de transmisión compuesto por tubos de PVC dispuestos en forma de U perpendicular al eje del

electroimán, consiguiendo que al retraerse el solenoide arrastra consigo la estructura consiguiendo que los extrusores ejerza presión primero sobre el capilar y luego sobre el postizo.

El solenoide que se ha elegido para este cometido es el electroimán de maniobra para corriente continua, de los fabricantes españoles Jové.



Figura 13 Electroimán modelo 350 de Jové. [17]

En la siguiente tabla se expondrán algunas de las especificaciones técnicas de este electroimán.

Marca/Modelo	Jové /modelo 350.
Peso total (Kg)	0.85
Consumo (W)	16
Potencia (Kcm)	1
Carrera (mm)	0-10

Tabla 13 Especificaciones del electroimán. [17]

4.3.6.2. Cabezal caliente y Ventiladores.

Otra de las partes fundamentales del bloque de sellado es el control de la temperatura, para ello se ha instalado un cabezal caliente y un ventilador en cada una de las estaciones de sellado. Los cabezales calientes son extrusores de impresora 3D adaptados a la necesidad, ya que cuentan con sensores de temperatura lo que permite su control mediante el microprocesador permitiendo así alcanzar la temperatura deseada para lograr un sellado óptimo y efectivo. Estos cabezales se han ubicado en los extremos de los tubos de PVC del sistema de transmisión del solenoide, de esta forma se consigue que el golpe deforme y selle el postizo y el capilar. Cuando se realiza el sellado se activa el ventilador enfriando y solidificando el punto sellado para poder ser retirado sin peligro de que se corrompa la muestra. Para poder enfriar el punto sellado tanto el postizo como el capilar, los ventiladores se han instalado en soportes impresos en 3D orientados hacia los cabezales.



Figura 14 Cabezal y ventilador.

5 Funcionamiento e instrucciones de uso

5.1. Funcionamiento Secuencial de la Máquina

Paso 0: Posición inicial

Paso 0.1: Inicialización brazo robótico. (Home). Termina con pinzas abiertas, superior en su posición más baja e inferior en la más alta.

Paso 0.2: Movimiento de la matriz de las pajuelas hacia la posición de inicio.

Paso 0.3: Movimiento de la correa de los pocillos hasta posición de inicio.

Paso 1: Agarre de la pajueta:

Paso 1.1: Separación de las pinzas, ascenso de la superior y descenso de la inferior.

Paso 1.2: Aproximación del brazo hacia la matriz de las pajuelas.

Paso 1.3: Movimiento de la matriz de la pajueta hacia el brazo.

Paso 1.4: Cierre de la pinza inferior.

Paso 1.5: Ascenso de la pinza inferior y descenso de la superior, encaje de la pajueta en la boca de la bomba insertada encima de la pinza superior.

Paso 1.6: Cierre pinza superior.

Paso 1.7: Retroceso de la matriz porta-pajuelas.

Paso 2: Desenfundado de la pajueta.

Paso 2.1: Ascenso pinza inferior y descenso pinza superior. (ascensos y descensos hacia posiciones intermedias.)

Paso 2.2: Apertura pinza inferior.

Paso 3: Succión del óvulo.

Paso 3.1: Giro del brazo hacia la estación de succión.

Paso 3.2: Descenso de pinza superior hacia pocillo con geometría Rankine.

Paso 3.3: Succión del óvulo mediante bomba.

Paso 3.4: Ascenso de pinza superior.

Paso 3.5: Movimiento de la correa hasta siguiente pocillo.

- Paso 3.6: Descenso de pinza superior hacia pocillo 2.
- Paso 3.7: Succión de solución con 15% de crioprotector.
- Paso 3.8: Ascenso de pinza superior.
- Paso 3.9: Movimiento de la correa hasta siguiente pocillo.
- Paso 3.10: Descenso de pinza superior hacia pocillo 3.
- Paso 3.11: Succión de solución final de crioprotector.
- Paso 3.12: Ascenso de pinza superior.

Paso 4: Sellado de la pajuela.

- Paso 4.1: Giro del brazo hasta primer sellado.
- Paso 4.2: Descenso de pinza superior.
- Paso 4.2: Sellado del capilar.
- Paso 4.3: Cierre de pinza inferior.
- Paso 4.3: Giro del brazo hasta segundo sellado.
- Paso 4.4: Descenso pinza inferior.
- Paso 4.4: Sellado del postizo.
- Paso 4.5: Ascenso de la pinza inferior y descenso de la superior.
- Paso 4.6: Cierre de la pinza superior.
- Paso 4.7: Giro intermedio encarando depósito de nitrógeno.
- Paso 4.8: Apertura pinza inferior.
- Paso 4.9: Ascenso pinza superior.
- Paso 4.10: Giro hacia depósito de nitrógeno.

Paso 5: Baño de nitrógeno.

- Paso 5.1: Descenso de la pinza inferior aproximando capilar hasta el baño de nitrógeno.
- Paso 5.2: Cierre pinza inferior.
- Paso 5.3: Ascenso y descenso intermedio de las pinzas, enfundando capilar.
- Paso 5.4: Apertura de las pinzas.

5.2. Manual de Uso

Con la finalidad de dotar al personal técnico de los conocimientos necesarios para poder manipular la máquina, se realiza un documento que recoge las instrucciones de uso del automatismo.

El control se realiza mediante un panel táctil desde el cual se puede manejar de una manera sencilla e intuitiva, todo el proceso de criopreservación. Puesto que la pantalla está basada en tecnología resistiva, se recomienda el uso de un lápiz táctil para ajustar la precisión de pulsado.

Se proveen dos tipos de controles, uno manual y otro automático, para seleccionar uno de estos modos, se deberá presionar uno de los dos pulsadores grises, que aparecen en la parte inferior de la pantalla. El modo elegido se muestra en la parte superior de la pantalla, como se puede observar, en la

Figura 15 Pantalla de modo automático.

Para comenzar el criopreservado en cualquiera de los modos, el personal técnico encargado del proceso deberá colocar 10 pajuelas, en los orificios destinados para ellas, dispuestos en el soporte porta-pajuelas.

Una vez cargadas las pajuelas, se deberán cargar los tres pocillos. El primero, que posee una geometría Rankine, diseñada para que al cargarse la pajueta sea guiada a través del micropocillo hasta la posición exacta del óvulo cargado previamente por el personal técnico. El segundo pocillo se deberá cargar con un contenedor relleno de crioprotector, de una concentración del 15%, por último se cargará el último pocillo, con un contenedor de una solución con la concentración final de crioprotector.

5.2.1. Modo Automático

El modo automático, se provee con el fin de que el proceso de criopreservación, se realice con la menor intervención del personal técnico encargado del proceso.

En primer lugar, se describirán los distintos pulsadores que aparecen en este modo de control del automatismo. La pantalla la componen doce pulsadores, un cuadro de texto y cuatro marcadores de funcionamiento. Los pulsadores, constan de distintos colores para evitar confusiones. A continuación se muestra una imagen de la pantalla de inicio del sistema, el cual arranca en modo automático por defecto.

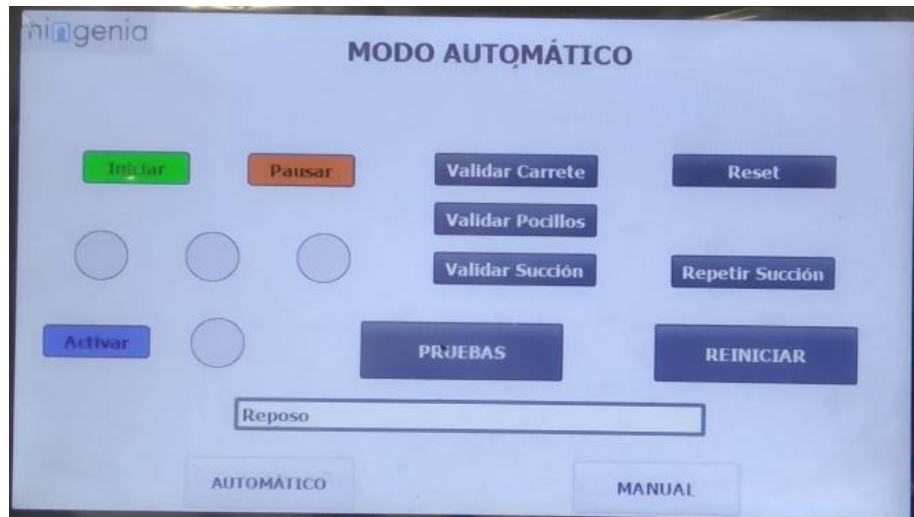


Figura 15 Pantalla de modo automático.

Se describirán los pulsadores de izquierda a derecha, la pantalla posee un pulsador de color verde nombrado como “Iniciar”, al presionarlo se iniciará el proceso en el que se encuentre el automatismo. A su lado se encuentra un pulsador de color naranja, denotado como “Pausar”, se usa para detener el proceso, en el instante en el que se pulse.

Debajo de estos pulsadores, se encuentran los tres marcadores de funcionamiento, que marcan el estado del proceso que está realizando el primero marca que se encuentra en proceso, el segundo terminado y el tercero se enciende si existe algún problema.

Bajo estos marcadores, se encuentra un pulsador de color azul claro, en el que se puede leer “Activar”, al pulsarse el automatismo comienza con el proceso de “homing”, con el cual todos los actuadores de la máquina se mueven hacia la posición marcada como cero o origen.

En la parte superior derecha, se observan cinco pulsadores de color azul oscuro, de las mismas dimensiones, dispuestos en dos líneas. La función de estos pulsadores, no es otra que la de controlar los procesos críticos del automatismo. Estos pulsadores son “Validar Carrete”, el cual se usa para posicionar el carrete o correa, en la posición previa a la validación de los pocillos. Debajo de éste se encuentra el pulsador “Validar Pocillos”, al presionarlo el carrete gira posicionando los pocillos con el objeto de realizar las succiones de forma correcta. En la parte inferior de éste encontramos el pulsador “Validar Succión”, se pulsará en el instante en el que el personal técnico haya supervisado y comprobado la correcta succión del óvulo mediante la visión proporcionada por una cámara instalada en el interior.

Los pulsadores que componen la segunda línea descrita con anterioridad, son en primer lugar el botón de “Reset”, destinado para que al pulsarse el proceso de la máquina vuelva al instante de inicio del proceso en el que se encuentre. Bajo este encontramos el pulsador de “Repetir Succión” su finalidad es, como indica su nombre, la de repetir la succión del óvulo en el que caso de que el proceso de succión, que se encuentre, no se haya realizado de manera correcta.

Bajo estos pulsadores, nos encontramos otros dos de un tamaño superior en los que se puede leer “PRUEBAS” botón destinado únicamente para el proceso de validación de la máquina para

así poder controlar los procesos que componen el automatismo de forma aislada, con el fin de ahorrar tiempo y “REINICIAR” este pulsador nos permite volver al inicio, y la máquina vuelve a la posición inicial, este pulsador se usa en el momento que el proceso de criopreservación ha finalizado, para así poder realizar el criopreservado de otro óvulo si así se requiere.

En la parte inferior de la pantalla, bajo los pulsadores y por encima de los modos, se encuentra el cuadro de texto, este cuadro servirá de guía durante toda la secuencia de procesos que realiza la máquina, mostrará en que proceso se encuentra el automatismo en cada momento.

Tras haber realizado las cargas de las pajuelas y de los pocillos, podemos comenzar a explicar los pasos que se deben seguir para realizar un criopreservado automatizado eficaz.

1. Puesta en marcha de la máquina con interruptor localizado en el cuadro de control.
2. Encendido del bloque de sellado mediante la conexión del sistema a la red eléctrica.

En este instante, el cuadro de texto mostrará, el mensaje de “Reposo” como se puede observar en la Figura 1.

3. Presionar el pulsador, “Activar”, que hemos descrito previamente, se mostrará por el cuadro de texto el mensaje “Haciendo Home Actuadores” como se puede observar en la figura 2.
 - a. La máquina hará los finales de carrera de las pinzas.
 - b. Se colocarán los elementos en la posición cero de la máquina.

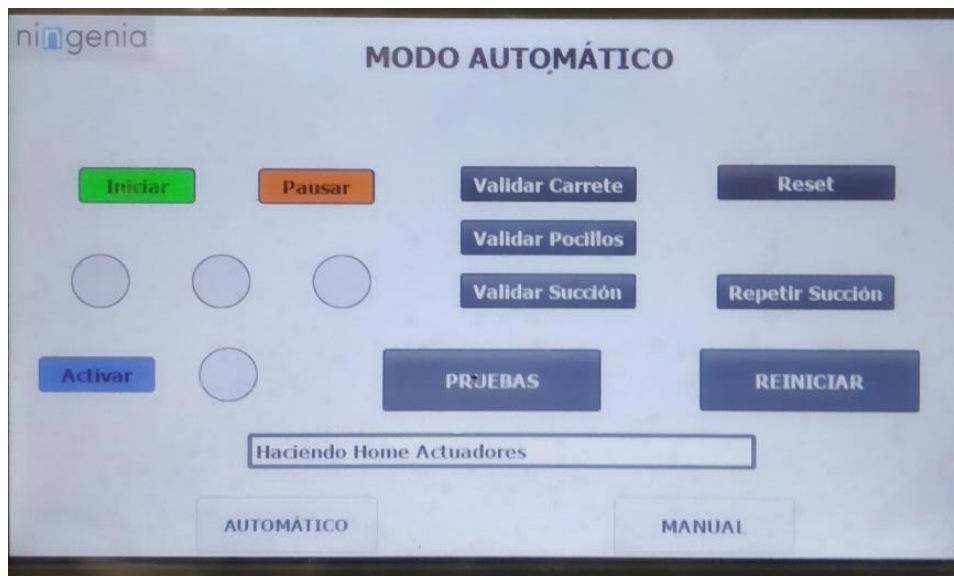


Figura 16 Pantalla de modo automático Haciendo Home Actuadores.

Tras realizar estos movimientos, la máquina volverá al estado de reposo, volviendo a mostrar el mensaje de “Reposo”, mediante el cuadro de texto, como observamos en la Figura 1.

4. Presionar el pulsador “Iniciar”, la máquina comienza a mover la matriz porta-pajuelas, hasta que la primera pajueta sea detectada por la fotocélula, para que sea recogida por las pinzas.

Cuando la maquina termine este proceso, el cuadro de texto nos mostrará el mensaje “Colocar Carrete”. Al observar este mensaje el técnico debe pulsar, el botón “Validar Carrete”, el primer botón de color azul oscuro.

5. El carrete de los pocillos se posicionará en la zona cero para pasar a validar los pocillos. Se sabrá que se ha llegado a este punto cuando el cuadro texto nos muestre “Cargar pocillo 1”. En este instante de la secuencia se debe presionar en el pulsador “Validar Pocillos”.
 - a. Tras pulsarse, el carrete gira posicionando el primer pocillo.
6. Posicionado el primer pocillo la maquina necesita que se le cargue el segundo y de igual que en el anterior paso la pantalla mostrará el mensaje de “Cargar pocillo 2”, tal como se observa en la siguiente figura. Al detectar el mensaje, se deberá pulsar de nuevo “Validar pocillo”.
 - a. Al igual que para el anterior pocillo el carrete girará hasta posicionar el pocillo número 2.
7. Una vez se detenga el carrete y se haya colocado el segundo pocillo en su posición inicial, la máquina indica, a través del cuadro de texto que se debe de cargar el tercer y último pocillo, con el mensaje “Cargar pocillo 3”. Tras recibir este mensaje, se pulsará “Validar pocillo”.
 - a. Tras pulsar “Validar pocillo”, el carrete girará y posicionará el tercer pocillo.

Una vez finalizado el posicionamiento de los tres pocillos, el proceso de inicialización de la máquina, estará completado y se podrá comenzar con la secuencia de los procesos que componen el criopreservado. En este punto, la máquina lo indicará a través del cuadro de texto, con el mensaje de “Listo para iniciar secuencia”.

8. Se pulsará “Iniciar”, en el instante que se pulse se iniciará la siguiente secuencia de procesos.

El brazo realiza el proceso de agarre de la pajuela, se podrá observar como el brazo gira hacia la matriz porta-pajuela, entonces las pinzas que lo componen atraparán la pajuela, una vez atrapada, se procederá al desenfundado de la misma. Cuando se haya desenfundado la pajuela se introducirá en la bomba, el postizo, el mensaje que nos muestra el sistema se. Todos estos procesos se harán de forma automática por lo que no se deberá presionar ninguno de los pulsadores de la pantalla.

Tras haber introducido el postizo en la bomba, la máquina se desplaza hacia el primer pocillo, cargado con el óvulo, y realiza la succión. En este instante, el técnico encargado de la succión deberá cerciorarse de que la succión se haya realizado de forma correcta. Esto lo hará con la ayuda del monitor, que muestra la imagen a tiempo real de la succión. Tras la valoración del técnico encargado, deberá realizar el paso 9 o el paso 10.

9. Si el óvulo se introduce correctamente en el capilar, se pulsará “Validar succión”. Se realizará, cuando el mensaje del cuadro de texto marque “Succionando 1”.

10. Si el óvulo no se ha succionado de forma correcta en el capilar, se pulsará “Repetir succión”, e inmediatamente el automatismo repetirá la succión. Y el técnico tendrá que volver a cerciorar si se ha realizado la succión correctamente, pulsando “Validar succión”.

Una vez realizada la primera succión, de forma correcta la máquina entra en el proceso de succión del segundo pocillo, contenedor de líquido de criopreservación. En esta segunda succión, el técnico nuevamente debe de comprobar, si la succión se realiza de forma correcta.

11. Si la succión ha sido correcta se pulsará “Validar succión”.
12. En caso contrario, de no ser correcta, se pulsa “Repetir succión”, y la máquina volverá de inmediato a realizar la succión. Cuando se haga de forma correcta se debe pulsar “Validar succión”.

En estos pasos 12 y 13, se mostrará un mensaje de “Succionando 2”, se recuerda que no se debe presionar ninguno de los pulsadores, hasta que el proceso en el que se encuentre haya concluido.

Una vez que el succionado del líquido del segundo pocillo, haya concluido se deberá pulsar “Validar succión”, al igual que en el proceso anterior. Se pulsará siempre y cuando se haya realizado de forma correcta, en caso contrario, se pulsará “Repetir succión”. Al pulsarse se volverá a succionar el segundo pocillo.

13. Tras pulsar “validar succión”. La máquina comienza el proceso de succión del tercer y último pocillo. Y al igual que en la succión de los dos pocillos anteriores, se presentan dos opciones.
 - a. Si la succión es correcta se pulsará “Validar succión” cuando el cuadro muestre “succionando 3”.
 - b. De no ser correcta la succión se pulsará “Repetir succión”, y el proceso realizará el paso 14

Una vez realizadas las succiones de manera correcta, y habiendo pulsado “Validar Succión”, la máquina se desplazará hacia a la zona de sellado, las pinzas se moverán hacia arriba, con el fin de esquivar el tanque de nitrógeno líquido. Tras esquivarlo, las pinzas se desplazarán hacia abajo para encarar el sellado inferior, el sellado del capilar de la pajueta. Y se mostrará de nuevo el cuadro de texto el mensaje “Sellado Inferior”.

Cuando el sellado se haya realizado de forma correcta, mediante el golpe de los extrusores, conectados a un solenoide y tras 6 segundos. La pajueta estará lista para poder ser extraída de la bomba, y así realizar el sellado superior, es decir el sellado del postizo. Se sabrá que se ha llegado a este paso, cuando se indique en el cuadro de texto el mensaje de “Extracción de bomba”.

La pinza superior se abrirá, una vez abierta la inferior descenderá y la pajueta encarará el sellado del postizo, se mostrará en el cuadro el mensaje “Sellado superior”, que se realizará de manera automática.

Cuando se hayan sellado las dos partes de la pajueta, la misma será desplazada hacia el tanque de nitrógeno. Y en este momento la pantalla cambiará el texto del cuadro y comunicará el mensaje “Congelar capilar”.

Las pinzas bajarán la pajueta a la máxima velocidad y cuando se haya congelado mostrará el mensaje “Depositando pajueta en depósito”. Una vez congelado el capilar las pinzas se juntarán, para enfundar al capilar y así protegerlo. La realización de este proceso se notificará con el mensaje en el cuadro de “Enfundando”.

El capilar se encuentra enfundado y congelado, solo queda que la pajueta sea depositada en el tanque de nitrógeno, y el sistema lo notificará con el mensaje de “Depositando pajueta en depósito”. Las pinzas se abrirán depositando la pajueta en el depósito de nitrógeno.

Con este paso el criopreservado, ha terminado si se necesita realizar otro, solo se tendrá que pulsar el botón azul “Reiniciar”, y la máquina volverá a su posición inicial.

5.2.2. Modo manual.

El modo manual, está diseñado para situaciones en las que el técnico encargado del uso, desee realizar el proceso criopreservación, de una manera menos automatizada. En este modo el técnico tendrá mayor control del proceso, en especial de los procesos que están automatizados en el otro modo.

La pantalla de este modo difiere del anterior modo en varios aspectos, aunque comparten varios pulsadores.

Como en el anterior modo, se describirán los pulsadores que componen esta pantalla, obsérvese la siguiente figura, para ubicar lo que se describe a continuación.



Figura 17 Pantalla de modo manual. Reposo.

En este modo el único pulsador que difiere de la pantalla del modo automático, es el pulsador de “Avanzar”, pulsador de color amarillo situado a la derecha del de Iniciar. La función de éste, es la de proseguir con la secuencia, en los instantes que se verán a lo largo del manual.

El proceso no cambia en este modo, antes de comenzar el técnico debe de haber realizado las cargas de las pajuelas y de los pocillos, como se ha indicado previamente. Una se hayan realizado dichas cargas, se puede comenzar con el proceso.

En primer lugar se debe poner en marcha la máquina, con el interruptor localizado en el cuadro de mandos. Y conectar el bloque de sellado conectándolo a la corriente.

Cuando se hayan realizado las anteriores acciones, la máquina mostrará el estado de reposo como se observa en la figura anterior. En estos instantes el técnico pulsará "Activar", pulsador azul claro, lo que comenzará, los movimientos de "homing" de la máquina, es decir, realizará los finales de carrera de los actuadores, y colocando el automatismo en su posición cero.

En estos instantes la máquina situada en su posición cero, mandará el mensaje de reposo, a través del cuadro de texto.

1. En estos instantes se debe pulsar "Iniciar", la matriz porta-pajuelas comenzará a desplazarse para que la fotocélula detecte la primera pajueta y la posición, con la finalidad de que las pinzas puedan atraparla.

Finalizado este proceso se notificará que se debe de posicionar el carrete al igual que en el modo automático, se mostrará el mensaje "Colocar carrete".

2. Tras detectar el mensaje de colocar carrete, se pulsa "Validar Carrete", el primer pulsador azul oscuro. Esta pulsación conllevará que la correa de los pocillos o carrete, se desplace a su posición inicial.

Colocado el carrete, se pasará a posicionar los pocillos. Este proceso se iniciará cuando se comunique el mensaje, mediante el mensaje en el cuadro de texto de "Cargar pocillo 1".

3. Se pulsará "Validar pocillos", y el carrete girará para posicionarlo en la zona inicial.

Ahora saltará el mensaje de "Cargar pocillo 2", para posicionar el segundo pocillo.

4. Tras recibir el mensaje de cargar el segundo pocillo, se pulsará "Validar pocillos", y el carrete al igual que con el primer pocillo, tornará hasta posicionar el segundo pocillo, en la posición inicial destinada.
5. Cuando el carrete terminé de girar, se mostrará el mensaje de "Cargar pocillo 3", y de la misma forma que en los anteriores, se pulsa "Validar pocillos". Y el carrete girará y el último pocillo se posicionará.

Terminado el posicionamiento del último pocillo, se puede dar por finalizado el proceso de inicialización de la máquina. Y se puede comenzar con la secuencia, la pantalla nos lanzará el mensaje de "Iniciar secuencia".

6. Se deberá pulsar "Iniciar", lo activará el proceso de agarre de la pajueta, esto conlleva el movimiento del brazo, girando hacia la matriz porta-pajuelas. Entonces la pajueta será cogida por las pinzas.
7. Tras ser la pajueta cogida, la máquina mostrará mediante el cuadro de texto que se debe de desenfundar, con el mensaje "desenfundado". En este instante se debe pulsar

“Avanzar” y se realizará este proceso, exponiendo el capilar, para poder atrapar el óvulo a la hora de la succión.

Cuando se haya desenfundado la pajuela, se debe de introducir el postizo en la bomba para poder realizar la succión.

8. Para realizar la introducción en bomba se debe de pulsar de nuevo “Avanzar”, esto conlleva la introducción del postizo en la boca de la bomba. La máquina se aproximará al primer pocillo y realizará la succión del mismo. La pantalla para este proceso mostrará el mensaje de “Succionando 1”.
9. Tras haber realizado la succión, al igual que en el modo automático el técnico determinará a través del monitor de la cámara dispuesta, de la correcta succión del primer pocillo. Si la succión se ha realizado de forma correcta, el técnico deberá pulsar validar succión, en caso contrario se pulsará repetir succión y el proceso se repetirá nuevamente.
10. En el instante en el que el primer pocillo contenedor del óvulo, haya sido succionado la máquina pasará a la succión del siguiente pocillo, se mostrará en la pantalla el mensaje de “Succionando 2”, el técnico deberá de determinar si la succión ha sido correcta pulsando validar succión. Si no considera correcta la succión pulsará repetir succión, y se volverá al instante de inicio de la segunda succión y se repetirán los pasos que se acaban de describir hasta la que se considere correcta la succión.
11. Una vez validada la segunda succión, la máquina pasará a la succión del tercer y último pocillo se procederá de manera idéntica a los demás pocillos. La pajuela succionará el contenido del pocillo, mientras se muestra en la pantalla el mensaje “Succionando 3” y el técnico será el responsable de determinar si la succión ha sido fructífera, pulsando validar succión. En el caso contrario, el técnico pulsará repetir succión hasta que la misma, se realice de forma correcta.
12. Cuando la última succión se haya realizado de forma correcta y se haya pulsado validar succión, la máquina se desplazará hacia el bloque de sellado, realizando el sellado inferior, o sellado del capilar, en la pantalla se muestra el mensaje “Sellado inferior”.
13. Cuando se haya realizado el sellado inferior correctamente, la pantalla mostrará el mensaje “Extracción bomba”, en este instante el técnico deberá de pulsar avanzar para que el automatismo haga la extracción de la bomba de la pajuela, y exponga el postizo para que posteriormente se desplace y realice el sellado superior, mostrando a su vez por pantalla “Sellado superior”.
14. Una vez realizado el sellado superior, la maquina se desplazará hacia el tanque de nitrógeno a su vez se mostrará en la pantalla el mensaje “Congelar capilar”, instante en el que el técnico deberá de pulsar avanzar para realizar dicha acción. En este proceso la pajuela será introducida en el tanque de nitrógeno, y se enfundará para proteger el capilar.
15. Tras haber congelado y enfundado el capilar, se mostrará el mensaje por la pantalla de “Depositando pajuela”, tras recibir el mensaje el técnico deberá de pulsar avanzar, y

las pinzas depositarán la pajuela en el tanque, concluyendo el proceso de criopreservación.

16. Si se desea realizar el criopreservado de otro óvulo solo se debe de pulsar Reiniciar el proceso, regresará al punto de inicio del proceso.

6 Seguimiento del Desarrollo

Se ha realizado un seguimiento de la recta final del desarrollo del automatismo, se concertaron algunas reuniones con las personas interesadas en la finalización del proyecto. Durante estas entrevistas se definieron las tareas a realizar, los equipos encargados en realizarlas. Con toda esta información se desarrolla un plan estratégico para secuenciar las actividades y poder realizar un seguimiento y control de las tareas.

6.1. Cargos y responsabilidades.

En este apartado se definen los roles de los participantes del proyecto y las responsabilidades que tienen sobre el desarrollo del proyecto. En el proyecto existen dos figuras muy relevantes encargados en definir el alcance del proyecto y los requisitos que debe cumplir. Estas dos figuras son el director técnico que también cumple la función de director de proyecto y el sponsor, estos roles recaen respectivamente sobre el responsable de la empresa Ningenia, empresa asociada y encargada del desarrollo del automatismo y del encargado del departamento de la escuela técnica superior de ingeniería. También existen otras dos figuras en este proyecto, el equipo técnico compuesto por 3 integrantes encargados del desarrollo del automatismo bajo el mando del director técnico y la del secretario figura de interlocutor entre el director técnico y el sponsor del proyecto.

En la siguiente tabla se exponen las figuras descritas y los roles que llevan a cabo en el presente proyecto.

Rol	Responsabilidades
Director técnico y director del proyecto.	Aceptar o denegar las proposiciones de cambios en la definición del alcance del proyecto antes de comunicárselas al inversor.
	Evaluar y proponer cambios en la definición del alcance del proyecto.
	Organizar al equipo técnico.
	Participar en la definición de cambios en el alcance del proyecto.
	Asignar las tareas al equipo técnico.
	Controlar el cumplimiento del cronograma.
Sponsor	Definir los requisitos que debe cumplir el automatismo.
	Comunicar los cambios propuestos por los demás integrantes

	del proyecto.
	Supervisar y aceptar o denegar los cambios en el alcance del proyecto.
	Evaluar y proponer cambios en la definición del alcance del proyecto.
Secretario	Tomar notas de los puntos clave abordados en la reunión.
	Participar en la definición de cambios en el alcance del proyecto.
	Interlocutor entre director técnico y sponsor.
Equipo Técnico	Desarrollar las tareas encargadas por el director técnico.
	Notificar al director de problemas o posibles cambios durante el desarrollo del proyecto.

Tabla 14 Roles y responsabilidades.

6.2. Tareas por realizar.

Tras la reunión de control del proyecto, entre los responsables del mismo es decir director de proyecto y sponsor, donde se comentó el estado del proyecto hasta la fecha. Se redactó una lista de las tareas a realizar hasta la conclusión del proyecto.

Para organizar las tareas se han agrupado según su naturaleza en 3 bloques, el primero se le ha denotado como bloque de ejecución en el que se agrupan las tareas de instalación de los elementos del automatismo que faltaban y la redacción del manual. En el segundo bloque nombrado como acciones correctivas, se han agrupado las tareas de ajuste de posicionamientos y tiempos así como tareas de rediseño y ensamblaje de nuevas piezas debido al mal funcionamiento de las anteriores. Por último el tercer bloque donde se encuentran las tareas de validación, o comprobación del buen funcionamiento tanto de los últimos dispositivos instalados como del automatismo en su conjunto.

Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4		
0. Finalización del automatismo Safematic de criopreservación de ovocitos	1. Ejecución	1.1 Instalación	1.1.1 Instalación de cámara.		
			1.1.2 Instalación de bomba.		
		1.2 Redacción del manual de funcionamiento			
	2. Acciones correctivas	2.1 Ajustes	2.1.1 Ajuste de posiciones.		
			2.1.2 Ajuste de tiempos de sellado.		
		2.2 Rediseño de piezas de mejora	2.2.1 Diseño de embudos.		
			2.2.2 Diseño de guiado del bloque sellado.		
			2.2.3 Diseño soporte cámara.		
		2.3 Fabricación de piezas de mejora			
		2.4 Ensamblaje de piezas de mejora.	2.4.1 Instalación de embudos		
			2.4.2 Instalación de guiado.		
	2.4.3 Instalación de soporte cámara.				
	3. Validación.	3.1 Validaciones	3.1.1 Validación bomba.		
			3.1.2 Validación cámara.		
			3.1.3 Validación sellado.		
			3.1.4 Validación del prototipo.		

Tabla 15 Lista de tareas a realizar.

6.3. Diagrama de Gantt.

Con la lista de tareas por realizar se ha creado un diagrama de Gantt a través de la herramienta Microsoft Project con el fin de representar las actividades gráficamente facilitando la estimación de la duración de esta última etapa del proyecto y permitiendo realizar el seguimiento y control de cada una de las tareas que quedan por realizar.

El diagrama representa en el eje horizontal el tiempo expresado en días y en el eje vertical las actividades, cada rectángulo representa la ejecución prevista de la actividad.

Se observa en el diagrama que hay vínculos entre las actividades es decir que existen precedencias entre ellas debido a dos razones, la primera es que el equipo técnico está formado por tres personas especializadas en campos distintos, por lo que hasta que no terminen la actividad que estén realizando no podrán liberarse para hacer la siguiente. La segunda razón es que hay actividades que son precursoras de otras, por lo que hasta que estas no se hayan finalizado no se podrán comenzar.

La duración de las actividades se ha realizado por analogía al tiempo requerido en actividades realizadas anteriormente en este mismo proyecto y por otras realizadas en otros proyectos.

En la siguiente figura se puede observar dicho diagrama.

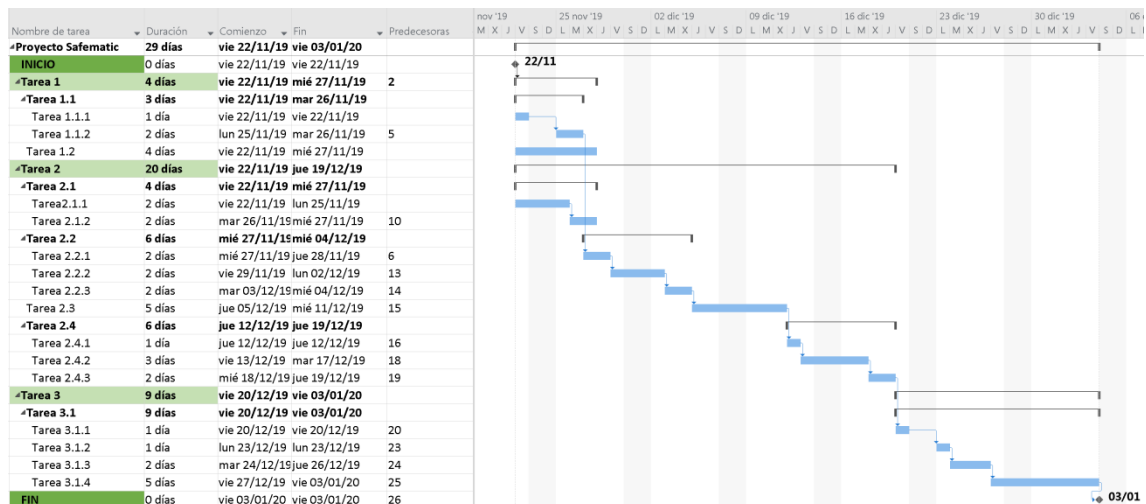


Figura 18 Diagrama de Gantt de la tareas por realizar.

Otra de las utilidades de este diagrama es la de poder identificar la ruta crítica, el conjunto de tareas que si sufren algún retraso condiciona la fecha de finalización del proyecto. El conocimiento de esta ruta nos permite focalizar la atención en esas actividades.

Observando la figura se ve que el proyecto tiene una duración de 29 días, esta estimación fue desechada en la primera reunión de control del desarrollo ya que se detectó un error en las estimaciones de tiempo de las actividades debido a que el equipo técnico tenía una mayor carga de trabajo de la habitual, consecuencia de estar desarrollando otros proyectos en paralelo. Esto conllevó que el tiempo que le dedicaban a este proyecto era menor del estimado. Como solución a este problema se volvió a realizar otra estimación de tiempo para las actividades teniendo en cuenta el factor que se acaba de describir.

En el siguiente diagrama de se ha aplicado el cambio en las estimaciones de tiempo de las tareas y el comienzo de este ya que a esa fecha aún no se había comenzado con la tarea 2 ya que se había terminado con la primera.

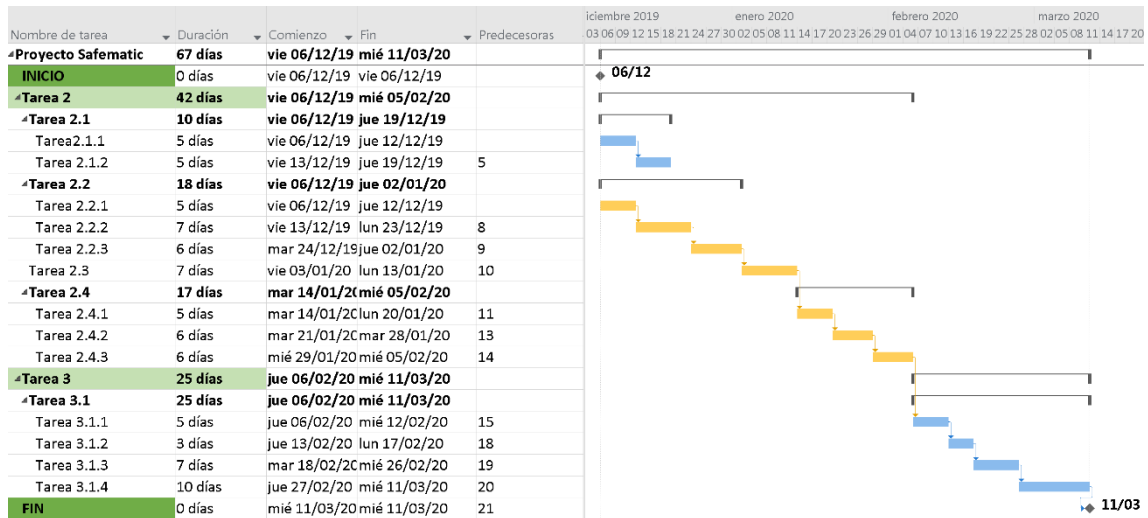


Figura 19 Diagrama de Gantt modificado.

Una vez desarrollado este segundo diagrama se concertaron nuevas reuniones de control cada dos semanas donde se reunía al director de proyecto y director técnico con el sponsor en presencia del secretario, a fin de controlar el desarrollo del automatismo.

Las tareas 2.1 y 2.2, las de diseño y ajuste se desarrollaron con normalidad, es decir se cumplieron los plazos establecidos en el diagrama, aunque en el transcurso de la tarea 2.3 se produjeron problemas con el proveedor de las piezas diseñadas, ya que no cumplieron con los especificaciones del diseño, debido a esto se tomó la decisión de cambiar de proveedor y esto supuso un nuevo retraso en el proyecto de 30 días.

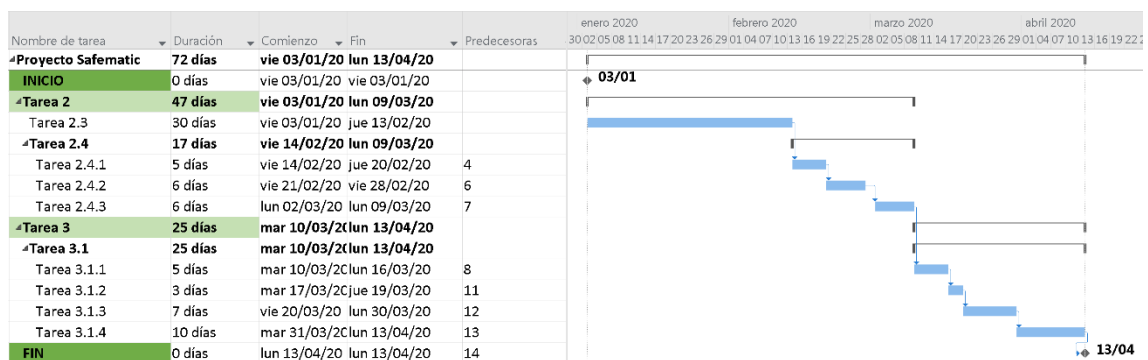


Figura 20 Diagrama de Gantt tras retraso del proveedor.

Se puede observar en esta figura como la estimación de la duración del proyecto ha aumentado a 72 días, debido a que el retraso de la actividad 2.3 ha causado que todas las actividades posteriores sean retrasadas, ya que esta actividad en esta fase del proyecto es la primera de la cadena crítica.

6.4. Estado actual del proyecto y futuras mejoras.

Tras las vicisitudes encontradas durante el desarrollo del proyecto, el prototipo se encuentra totalmente montado, aunque se han encontrado problemas sustanciales con algunos elementos que impiden realizar las validaciones oportunas. Los principales problemas son los siguientes:

La succión del gameto se realiza a través del capilar de la pajuela. Un requisito fundamental es que la succión se realice de una forma fluida y controlada, ya que de lo contrario el gameto podría golpearse con las paredes de la pajuela y dañarse. La bomba instalada cumple con los requisitos de presiones para absorber a través del capilar, pero la absorción no se realiza de forma controlada, ésta provocando saltos bruscos de presiones, incrementando el riesgo de daño al gameto.

La pajuela contiene dos marcas que indican las dos posiciones entre las cuales debe quedar posicionado el gameto. La validación de este proceso se realiza por parte del técnico responsable a través del sistema óptico instalado. El sistema óptico actual no tiene la calidad de imagen suficiente lo que dificulta al operario corroborar con facilidad este proceso.

Para la aproximación del capilar hacia la muestra para su posterior succión actualmente se ha optado por un sistema de agarre compuesto por dos pinzas. Una de ellas sostiene la pajuela por la parte superior llamada postizo y tiene como función el movimiento vertical de aproximación del capilar a la muestra. La segunda pinza se sitúa en la parte inferior de la pajuela y su función es la de enfundar y desenfundar el capilar. Ambas pinzas se mueven solidariamente en sentido opuesto, provocando que la carrera máxima sea la mitad de la longitud de la guía en la que se ensamblan. Esto conlleva que la carrera disponible no sea suficiente para que el capilar alcance la muestra imposibilitando así la succión.

Por un lado, la existencia de los problemas anteriormente descritos imposibilita la realización de las pruebas de validación por parte del equipo técnico. Por otro lado el proyecto requeriría una ampliación del presupuesto así como una prórroga de la fecha límite de entrega para solventar estos problemas. Llegados a este punto, el equipo directivo, decidido dar por finalizado el proyecto actual a expensas de comenzar un nuevo proyecto basado en este incluyendo las mejoras oportunas.

Para llevar a cabo un rediseño completo de la máquina, se han realizado algunas propuestas de mejoras que se muestran a continuación:

- Mejorar el sistema de succión sustituyendo la bomba instalada ya que con el sistema actual es muy difícil realizar la succión de forma controlada. Se propone sustituirla por un sistema de vacío.
- Mejorar el sistema óptico, aumentando el presupuesto destinado para este sistema y adquirir un dispositivo de mayor calidad y complejidad para mejorar la visualización del gameto al ser introducido en la pajuela.
- Mejorar el sistema de agarre de la pajuela. Para aumentar dicha carrera se propone independizar los movimientos de cada una de las pinzas logrando así un aumento de la carrera y mayor libertad de movimiento.

7 Conclusiones.

En este trabajo se ha realizado la documentación y seguimiento del automatismo Safematic para la criopreservación de gametos desarrollado conjuntamente por el departamento de Física Aplicada III de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de la Universidad de Sevilla y la empresa Ningenia.

La documentación generada consta por un lado de un manual de uso de la máquina, en la que se describe tanto las instrucciones, como las operaciones de validación. Con ello se desea que en un futuro cualquier equipo técnico disponga de la información necesaria para utilizar la máquina de una forma óptima y correcta.

Por otro lado se han documentado todas las partes de las que se compone el automatismo, tanto la parte mecánica como la parte electrónica, condensando así toda la información de la máquina en un solo documento que servirá como soporte de información para futuros rediseños, modificaciones o ajustes.

Con la llegada del automatismo Safematic de criopreservación de ovocitos, se demuestra que en este campo aún queda mucho que explorar, abre la ventana de la automatización en la criopreservación, donde hasta ahora se realizaban los procesos de forma manual. Este automatismo de criopreservación tarda en criopreservar un ovocito aproximadamente de 3 minutos

Con este proyecto se observa claramente como la impresión 3D es una realidad en el prototipado de máquinas, ya que de esa forma se obtienen piezas totalmente funcionales a un coste muy reducido en comparación con piezas mecanizadas.

Bibliografía

- [1] M. d. S. Romero, «Criopreservación de blastocitos de ratón mediante el empleo de microcapilares de policarbonato y velocidades de enfriamiento ultrarrápidas usando bajas concentraciones de crioprotector,» TFG, Sevilla, 2009.
- [2] V. G. K. O. a. L. S. Kuwayama M, «Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes,» *Reprod. Biomed. Online*, 2005.
- [3] B. B. L. E. a. F. K. Lane M, «Containerless vitrification of mammalian oocytes and embryos,» *NAt. Biorechnol*, 1997.
- [4] D. Y. J. S. a. Y. X. Dinnyes A, «High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer.,» *Biol.Reprod*, 2000.
- [5] T. T. K. M. K. M. H. M. a. H. M. Hoshi S, «Successful vitrification of pronuclear-stage rabbit zygotes by minimum volume cooling procedure,» *Theriogenology*, 2004.
- [6] V. G. L. S. a. K. O. X. R. B. O. (. 1. 6.-1. Kuwayama M, «Vitrification of human embryos using the CryotipTM method.,» *Reprod. Biomed.Online*, pp. 608-14, (2005b).
- [7] E. H. D. M. H. X. a. T. M. Risco R, «Thermal performance of quartz capillaries for vitrification.,» *Cryobiology*, 2007.
- [8] SIEMENS, «Datasheet Fuente de alimentación,» [En línea]. Available: <https://mall.industry.siemens.com/mall/es/WW/Catalog/Product/6EP1334-3BA10>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [9] SIEMENS, «Datasheet interruptor magnetotérmico,» [En línea]. Available: <https://mall.industry.siemens.com/mall/es/WW/Catalog/Product/5SL6216-7>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [10] SIEMENS, «Datasheet PLC,» [En línea]. Available: https://media.automation24.com/datasheet/es/6ES72141BG400XB0_es.pdf. [Último acceso: Mayo 2020].
- [11] SIEMENS, «Datasheet módulo,» [En línea]. Available: <https://media.automation24.com/datasheet/es/6ES72231BL320XB0.pdf>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [12] Siemens, «Datasheet Siemens Switch,» [En línea]. Available:

-] https://cache.industry.siemens.com/dl/files/806/32983806/att_969427/v1/BA_SCALANC-E-XB-000_76.pdf . [Último acceso: Mayo 2020].
- [13 SIEMENS, «Datasheet Panel Táctil,» [En línea]. Available:
] <https://media.automation24.com/datasheet/es/6AV21232GB030AX0.pdf>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [14 Arduino, «Datasheet Arduino,» [En línea]. Available: <https://store.arduino.cc/arduino-nano>. [Último acceso: Junio 2020].
- [15 SMC, «Datasheet LER,» [En línea]. Available:
] <https://www.smc-pneumatics.com/pdfs/LER.pdf>. [Último acceso: 05 2020].
- [16 SMC, «Datasheet SMC LEH,» [En línea]. Available:
] <https://www.smc-pneumatics.com/pdfs/LEH.pdf>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [17 The Lee Company, «Standard performance model,» [En línea]. Available:
] <https://www.theleeco.com/products/electro-fluidic-systems/dispense-pumps/variable-volume-dispense-pumps/lpd-series-pumps/standard-performance-model/>. [Último acceso: Mayo 2020].
- [18 JOVÉ , «Datasheet Solenoide,» [En línea]. Available:
] <http://www.electroimanesjove.com/es/electroimanes-jove-catalogos.html>. [Último acceso: Junio 2020].
- [19 SMC, «Datasheet SMC JXCx,» [En línea]. [Último acceso: Mayo 2020].
]
- [20 S. N. a. L. S. Martino A, «Development into blastocysts of bovine oocytes cryopreserved by ultra-rapid cooling,» *Biol.Reprod*, 1996.
- [21 B. P. H. P. G. T. a. C. H. Vajta G, «Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the open pulled straw (OPS) method,» *Cryo-Letters*, 1997.

