

AUTOMATED SYSTEM FOR THE FREEZING OF BOVINE SEMEN
SISTEMA AUTOMATIZADO PARA EL CONGELAMIENTO DE SEMEN
BOVINO

**Ing. Jhon Elier Arango Trillos^{1*}, PhD. Cristhian Manuel Durán Acevedo¹,
MSc. Jhon Edward Lizarazo Parada², MVZ. Jorge Antonio Duarte Noriega³**

¹*Grupo de Investigación GISM, Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Universidad de Pamplona*

²*SENA Tecnoparque Nodo Ocaña-Electrónico y telecomunicaciones*

³*SENA Centro Agroempresarial Aguachica Regional Cesar-Reproducción Bovina*

E-mail: {elier_arango, jduarten}@misena.edu.co, cmduran@unipamplona.edu.co,
jlizarazop@sena.edu.co

Abstract: The freezing of bovine semen (cryopreservation) consists in reducing the temperature of the sample until the point of biological stability. This freezing process is carried out by immersing the semen samples into liquid nitrogen (LN2). When a sample is submerged, it enters into a boiling regime due to the large difference in temperatures between the sample and the liquid nitrogen (LN2), causing evaporation and crystallization. Freezing curves for biological samples of bovine semen are rarely found in scientific literature; however, there are several rhythms of freezing that have been manually carried out and have achieved acceptable results. The main objective of this study is to design and implement an automated control system of freezing bovine semen that can follow or simulate the ideal freezing curves for optimal freezing after stabilization.

Keywords: Cryopreservation, liquid nitrogen (LN2), freezing curves.

Resumen: El congelamiento de semen bovino (criopreservación) consiste en reducir la temperatura de las muestras seminales hasta el punto de estabilidad biológica. Este proceso de congelamiento se lleva a cabo sumergiendo las muestras de semen en nitrógeno líquido (LN2). Cuando la muestra es sumergida, entra en un régimen de ebullición debido a la gran diferencia de temperatura entre la muestra y el nitrógeno líquido (LN2), causando evaporización y cristalización. Las curvas de congelamiento de muestras biológicas de semen bovino no son comunes en la literatura; sin embargo existen referencias que describen varios ritmos de congelamiento que se han realizado experimentalmente y han alcanzado resultados aceptables. El objetivo de este estudio es desarrollar un sistema automatizado de control para el congelamiento de semen bovino que pueda seguir o simular las curvas de congelamiento para una congelación óptima después de la estabilización.

Palabras clave: Criopreservación, nitrógeno líquido (LN2), Curvas de congelamiento

1. INTRODUCCION

El sector del ganado bovino en Colombia, ocupa un lugar de gran importancia en relación al desarrollo económico de algunas regiones del país, por esto, una atención especial es requerida para mantener y aumentar la población de bovinos con la tecnología apropiada que pueda ser implementada de manera accesible y eficiente en el campo de la reproducción (Hastuti H., 2016).

La presente investigación da un importante aporte en la automatización y control de procesos para el congelamiento de semen de bovino; lo anterior con el objetivo de usar la tecnología disponible, basada en investigaciones donde se han determinado tasas óptimas de congelamiento y adaptaciones de curvas de enfriamiento para semen bovino.

El semen de bovinos, puede ser preservado usando sistemas de congelamiento experimentales de exposición a gases de nitrógeno líquido o a través de los sistemas de congelamiento automatizados programables que puedan seguir un determinado ritmo de congelamiento. La mayor parte de los trabajos publicados en relación a la crio-preservación (Ahmed M., 2016), (Cancino Aguirre, 2011), (Muiño R., 2009), (Santos M. V., 2013), (Hernandez A. F., 2011) emplean sistemas de congelamiento automatizados programables a diferentes tasas de congelamiento (velocidad de descenso térmico) como se describe a continuación:

Velocidad de descenso de 5°C/min dentro de los parámetros de temperatura de los 5°C hasta los -10°C, de 40°C/min dentro de los parámetros de temperatura de los -10°C hasta los -100°C y de 20°C/min dentro de los -100°C hasta los -140°C, tal y como se ilustra en la Figura 1.

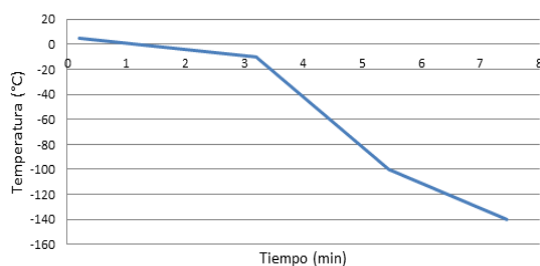


Figura 1. Ritmo de congelamiento 1

Adicionalmente al ritmo de congelamiento supracitado en la Figura 1, otros ritmos de congelamiento pueden ser encontrados en diferentes estudios realizados por otros autores (Ahmed M., 2016), (Cancino Aguirre, 2011), (Muiño R., 2009), (Santos M. V., 2013), (Hernandez A. F., 2011). Entre estos ritmos alternativos se encuentra por ejemplo un ritmo de 5°C/min entre los +5°C y los -10°C, y -40°C/min entre los -10°C y los -150°C, como mostrado en la Figura 2, y un ritmo de congelamiento más rápido,

de 60°C/min entre los +5°C y los -120°C como mostrado en la Figura 3 (Hernandez A. F., 2011).

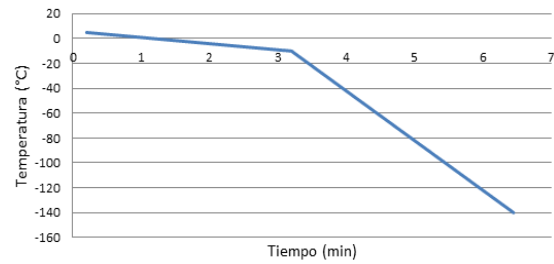


Figura 2. Ritmo de congelamiento 2

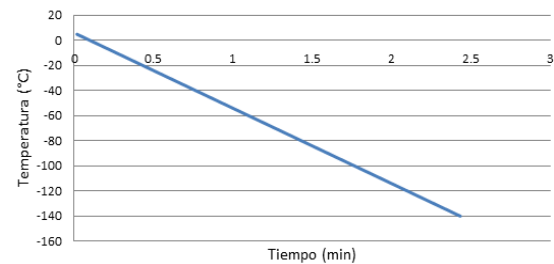


Figura 3. Ritmo de congelamiento 3

En relación al congelamiento en vapores estáticos de nitrógeno, muchas instituciones y particulares todavía utilizan este método aun cuando este proceso presenta considerables desventajas, puesto que las muestras que contienen semen están expuestas a situaciones no controlables de congelamiento.

Si se lleva a cabo el congelamiento sobre exposición a gases de nitrógeno líquido, la temperatura de congelamiento depende de la distancia vertical (altura) del nivel de líquido refrigerante (nitrógeno líquido) a la que se ubiquen las pajillas (donde se depositan las muestras seminales). Para este proceso experimental de congelamiento, la temperatura desciende a una velocidad que oscila entre los 150°C/min y 300°C/min. Asimismo se recomienda un ritmo de congelamiento de exposición de pajillas a -150°C en un tiempo máximo de 7 min. Estos parámetros seminales representan un buen comportamiento de pos-descongelado (Hernandez A. F., 2011).

Congelar en exposición a gases de nitrógeno líquido presenta la ventaja de permitir que las muestras seminales, en todo momento del proceso de congelamiento, estén sometidas a la misma velocidad de descenso térmico (enfriamiento), ya que las muestras se sitúan a una misma altura. Por otra parte, en los sistemas de congelamiento automatizados programables las muestras están situadas en diferentes niveles, contribuyendo a importantes variaciones en la tasa de congelamiento (Hernandez A. F., 2011), (Vishwanath R., 2000).

Cuando se congela con el método de exposición a gases de nitrógeno líquido, se hace en la mayoría de los casos en cavas de poliespan (poliestireno expandido (EPS)).

En este procedimiento de congelamiento las pajuelas son expuestas por un tiempo no mayor de 15 min (donde es recomendado 10 min) (Amirat L., 2005), situadas generalmente a 4 cm de altura por encima del nivel del líquido refrigerante (nitrógeno líquido) (Ahmed M., 2016). La velocidad de congelamiento por lo general es de 60°C/min, dependiendo exclusivamente de la altura que exista entre las pajuelas y el nivel de nitrógeno líquido. Investigaciones realizadas por otros autores (Hernandez A. F., 2011), no encontraron grandes diferencias en el proceso de pos-descongelado en la motilidad de las muestras seminales usando distintas alturas sobre la superficie del nitrógeno líquido.

En relación a la distancia de separación entre las pajuelas, la superficie del nitrógeno líquido y al tiempo de exposición, existen algunas diferencias entre autores que son encontradas en la bibliografía. De esta forma, los autores (Tuli y Holtz en 1992), citado por Hidalgo en el 2004 (Hernandez A. F., 2011), observan mejores resultados en la calidad de los espermatozoides cuando las muestras seminales se sitúan a una altura de 2 cm de la superficie del nitrógeno líquido por un tiempo que oscila entre los 8 y 9 min. Para el autor Vázquez en 1998, el congelamiento sobre exposición a gases de nitrógeno líquido, las muestras seminales deben permanecer expuestas por un tiempo de 10 min (Hernandez A. F., 2011), (Amirat L., 2005).

Los métodos actuales de congelamiento de semen bovino en la región (departamentos del Cesar, Norte de Santander y Bolívar) son invasivos, lo que puede traer como consecuencia que muchas de las muestras resulten defectuosas y que el índice de pérdida de las mismas sea muy grande, por lo cual se pretende reemplazar este método por un sistema automatizado no invasivo en el que el proceso de congelamiento sea realizado completamente en una cámara sin necesidad de intervención humana que pueda contaminar las muestras.

Con esta investigación se busca aprovechar los sistemas electrónicos, la automatización y el control para mejorar el proceso de congelamiento de semen bovino. Dicha mejora dará como resultado una mejor calidad al semen, repercutiendo en una mayor tasa de preñeces y permitiendo así congelar un mayor número de pajillas mientras que se aprovecha al máximo el nitrógeno líquido, que es el agente congelante y conservante.

La implementación de los métodos de automatización y control ofrecen al sector

industrial la alternativa de ofrecer productos de mejor calidad optimizando los recursos utilizados en los procesos (Galabay C., 2000), (Ogata, 2004) y (Molina V, 2015) reduciendo los riesgos ocupacionales y ambientales, alcanzando mayor armonía entre los productos, medio ambiente y personal que labora; aspectos importantes que se desean alcanzar con esta propuesta.

El diagrama mostrado en la Figura 4 describe el proceso que se pretende automatizar, se puede apreciar en un diagrama de flujo el procedimiento de congelamiento de semen bovino que se lleva a cabo actualmente.

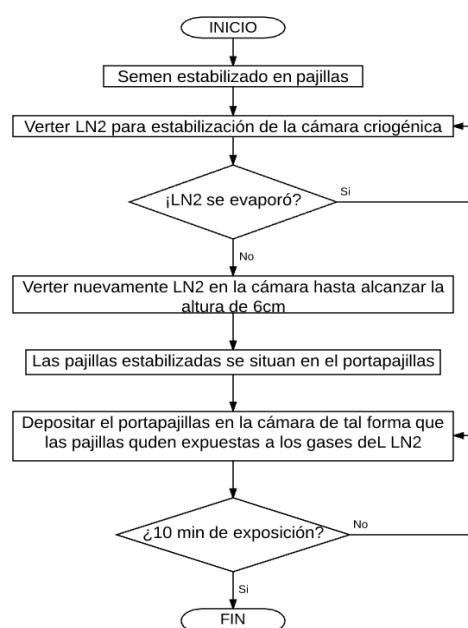


Figura 4. Procedimiento actual para el congelamiento de semen bovino.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MATERIALES

La Figura 5 muestra un diagrama P&ID (Piping and Instrumentation Diagram/Drawing) el cual es un diagrama de tuberías e instrumentación que describe el hardware del sistema implementado. Este sistema está constituido por un compresor que proporciona un máximo de 100 psi, una unidad de tratamiento de aire compuesta por una válvula de vías 3/2, un filtro, un regulador y un manómetro, un presóstato digital programable con salida digital y analógica que mide la presión que está circulando, una electroválvula neumática con acción proporcional controlada por medio de un controlador proporcional integral (PI) y que regula el flujo de aire desde el compresor, un tanque para almacenamiento de nitrógeno líquido (LN₂) con capacidad para 20 litros al cual se le fabricó un tapón con tres orificios, uno para la entrada de aire proveniente de la electroválvula, otro para la salida de gas de nitrógeno y finalmente otro para

la válvula de escape como se describe en la Figura 6 (Trillos, J. E. A., Acevedo, C. M. D., Parada, J. E. L., & Noriega, J. A. D. 2017).

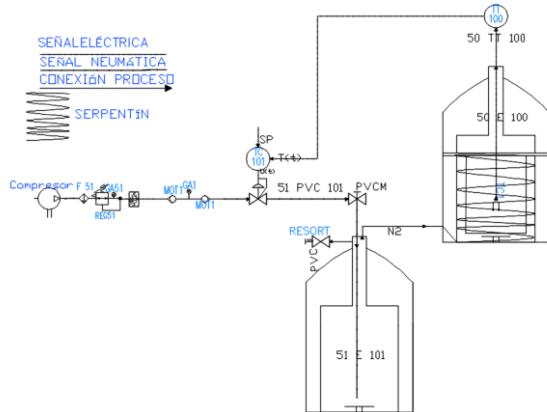


Figura 5. Diagrama P&DI del sistema



Figura 6. Tanque de almacenamiento de LN₂ y su respectivo tapon 1) Entrada de aire, 2) Salida gas nitrógeno, 3) Válvula de escape.

Dicho tanque fue adaptado al proceso y contiene internamente un serpentín para la distribución uniforme de la temperatura (Ver Figura 7).

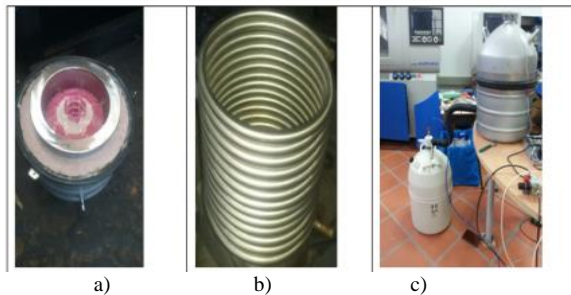


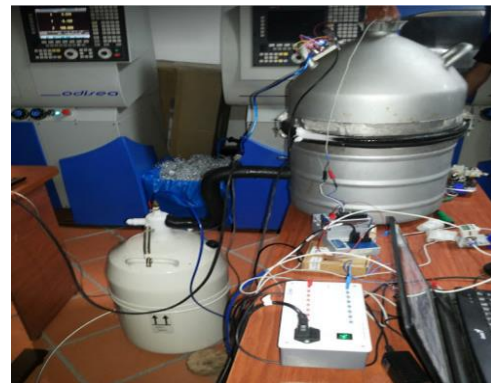
Figura 7. a) Tanque adecuado cámara criogénica, b) Serpentín para la distribución uniforme del frío, c) Tanques acoplados listos para pruebas.

Para la adquisición de datos de temperatura y presión se utilizaron tarjetas de adquisición de datos de la empresa National Instruments NI la cual fue acoplada al software labView. Esta tarjeta es de alta resolución y fue también usada para realizar el control. Los datos adquiridos fueron almacenados para su posterior análisis y diseño

del controlador PI que controla la electroválvula. En la Figura 8 podemos apreciar el sistema hardware de adquisición de datos y salida de control y el ensamblado funcional del sistema de congelamiento.



a)



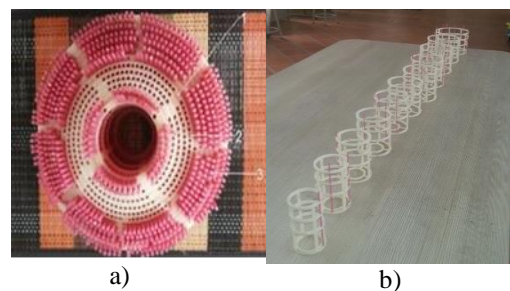
b)

Figura 8. a) Sistema hardware de adquisición y salida de control b) Sistema de congelamiento

Una de las principales contribuciones a la investigación fue el desarrollo de un innovador porta pajillas circular de diámetro de 2cm modular que se adecúa a la cámara criogénica y que abarca un máximo de pajillas de 0.5 ml (ver Figura 9). Este portapajillas tiene una capacidad máxima de 1028 pajillas distribuidas en 13 anillos independientes y modulares distribuidos de afuera hacia adentro (ver Tabla 1).

Tabla 1. Distribución del Portapajillas

Diámetro (cm)	Nº de pajillas
20, 19, 18	116 cada modulo
16.5, 16, 14, 13	96, 96, 88 y 80
12, 11, 10, 9.5, 8.5, 7.3	76, 72, 56, 44, 40, 36



a)

b)

Figura 9. a) Vista área del portapajillas, b) Módulos

2.2 METODOLOGÍA

Un proceso de identificación experimental (método gráfico) Figura 10 (López, 2002), muestra un diagrama de flujo que describe el procedimiento a seguir. El proceso consiste en llevar al sistema a un punto de operación para luego aplicar una entrada diferente y adquirir los datos tabulados. Esta adquisición de datos se hizo en lazo abierto (Molina V, 2015), (López, 2002), (Pinto S. S., 2015), (Hernández, E. 2010). La variable de entrada o variable manipulada es el flujo de aire proveniente del compresor hacia el tanque con nitrógeno líquido LN₂ y la variable de salida o variable controlada es la temperatura.

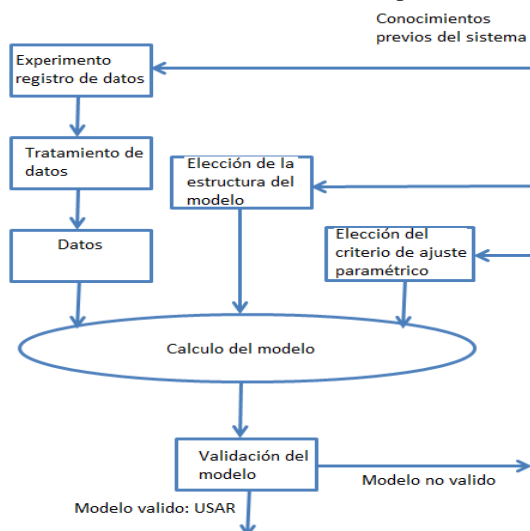


Figura 10. Diagrama de flujo proceso de identificación experimental

Para el experimento se tuvo en cuenta la presión máxima que puede soportar el tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido que es, según las pruebas experimentales de 75 psi y que fue la presión máxima con la que se experimentó, esta información sirvió para definir que cuando la electroválvula estuviese 100% abierta el sistema estuviese sometido a una presión de 66 psi de presión y así evitar accidentes.

Considerando que la presión de 66 psi representa el valor máximo aceptado por el tanque (100%), el siguiente ritmo de escalonamiento de presión de entrada fue aplicado inicialmente con una presión de 33 psi, que representa el 50% de apertura de la electroválvula por un tiempo de 20 min, después de este tiempo la presión se incrementó a 45 psi que equivale al 70% de la apertura de la electroválvula por 10 min. Después de este tiempo la presión de entrada fue regulada nuevamente a 33 psi por un tiempo de 10 min, reduciéndola hasta llegar a 20 psi equivalente al 30% de la apertura de la electroválvula por un tiempo de 10

min, donde finalmente se estableció una presión de entrada de 45 psi por un tiempo de 10 min (Ver Figura 11).

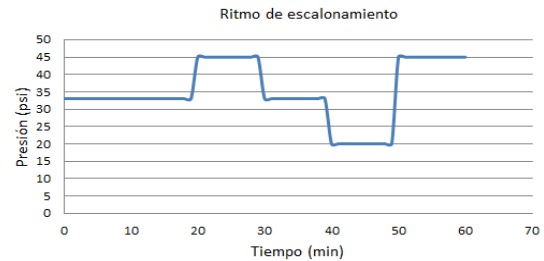


Figura 11. Ritmos de escalonamiento de presión de entrada

Se adquirieron los datos (presión psi vs. Temperatura °C) por medio de la tarjeta de adquisición de datos y el comportamiento del sistema fue monitoreado por el software labView (Hamed B, 2012), (Monsalve, P. A. G., & Acevedo, C. M. D D., 2015), (Mojica A. V. M., 2016), (Vizcaíno J. R. L., 2011). Los datos obtenidos fueron almacenados para posteriormente ser analizados, aplicando estos ritmos de escalonamiento dando como resultado una curva descendente de la temperatura que llegó hasta los -100°C (Rodríguez, J. L. D., Fernández, L. D. P., & Chávez, I. T. 2013) Figura 12.

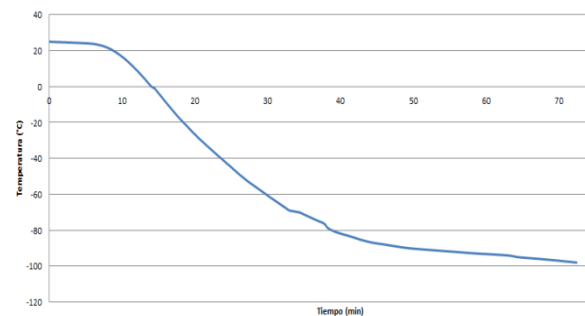


Figura 12. Respuesta a los ritmos de escalonamiento de presión de entrada

La data recolectada se analizó en la herramienta ident de MATLAB donde se pudo identificar la función de transferencia de la planta en términos de la frecuencia de primer orden, dando como resultado (1) (Carreón A. E. Q, Fernández J. A. G, Ortega O. N, Venzor J. A. P, Holguín H. B 2010):

$$G(s) = \frac{E(s)}{I(s)} = \frac{-0.02732}{s + 0.0002303} \quad (1)$$

Por medio de (1) se calcularon los parámetros del controlador usando la herramienta PID Turing de Matlab.

Primero se simuló la respuesta del sistema ante una señal escalón (step) para un controlador tipo P dando un tiempo de respuesta T_r de 3140 s equivalentes a 52 min, un tiempo de estabilidad T_s de 5580 s equivalentes a 93 min visto en la

Figura 13 y la constante de proporcionalidad $K_p = -0.017216$.

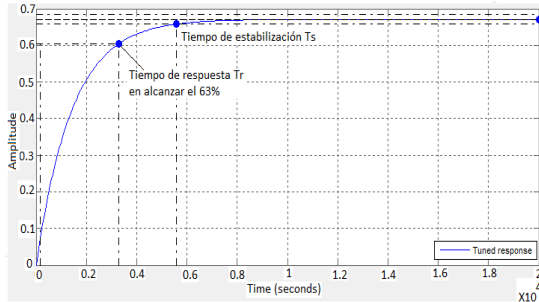


Figura 13. Respuesta al step controlador tipo P

La Figura 13 muestra que la señal nunca llega a 1 que sería el valor deseado.

La simulación de la respuesta del sistema al escalón (step) para el controlador PI que cuyos valores de constantes calculados son $K_p = -0.0087863$ y $K_i = -6.0718e-06$ se obtuvo un tiempo de respuesta T_r de 3510s equivalentes a 58.5min Figura 14.

Los valores K_p y K_i para el controlador PI fueron implementados en el bloque PID del software LabView y se obtuvo un tiempo de respuesta de 4880 s (81 min) en recorrer desde la temperatura ambiente hasta -120°C temperatura final del proceso de congelamiento, tiempos que se pueden mejorar variando los valores de las constantes del controlador PI (Ogata, 2004), (Ang K. H., 2005), (Jiménez L. M., 2005), (Orozco O. A., 2011), (Chaustre, Y. R., Vargas, J. B., & García, A. P., 2015) y (Wang L, 2009).

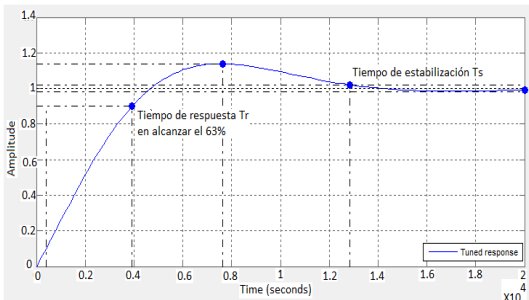


Figura 14. Respuesta al step controlador tipo PI

3. RESULTADOS

Se observó la relación directamente proporcional entre la variable manipulada (presión flujo de aire) y la variable controlada (temperatura) como se aprecia en la Tabla 2 que se expone a continuación, donde el sistema se sometió al 50% de apertura de la electroválvula (a 33 psi).

Tabla 2. Data de salida a 33 psi

PSI	°C	Segundos	Min	Diferencia de tiempo (min)
33	25	0	0	0
33	24	334.565	5.57608333	5.57608333
33	14	646.646	10.7774333	0.27976667
33	4	790.174	13.1695667	0.21945

PSI	°C	Segundos	Min	Diferencia de tiempo (min)
33	-6	928.62	15.477	0.20276667
33	-18	1077.538	17.9589667	0.22843333
33	-19	1092.014	18.2002333	0.24126667
33	-20	1106.028	18.4338	0.23356667
33	-21	1120.273	18.6712167	0.23741667
33	-22	1134.672	18.9112	0.23998333
33	-23	1148.147	19.1357833	0.22458333
33	-24	1162.469	19.3744833	0.2387
33	-25	1176.56	19.6093333	0.23485
33	-26	1191.19	19.8531667	0.24383333
33	-27	1205.743	20.0957167	0.24255

Como se ve en la Tabla 2 y representado en la Figura 15 los tiempos entre grado y grado se van acortando a medida que el tiempo de ejecución transcurre, obteniendo un promedio de 0.38645609 min. La duración para recorrer desde 25°C a -120°C fue cercana a los 60 min.

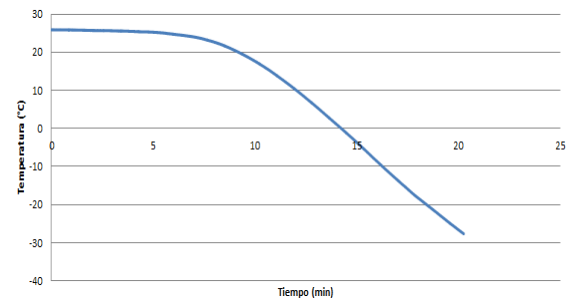


Figura 15. Ritmo de congelamiento a 33 psi

Por último, con una apertura de la electroválvula al 100% (a 66 psi) fueron obtenidos los datos que se muestran en la Tabla 3 y Figura 16.

Tabla 3. Data de salida a 66 psi

Diferencia	Temperatura °C	PSI
0.11036667	5	66
0.09564465	-6	66
0.11264815	-17	66
0.10952007	-38	66
0.10459167	-49	66
0.09988208	-60	66
0.102025	-71	66
0.10351415	-82	66
0.12262963	-93	66
0.09564465	-104	66
0.11336111	-115	66
0.09322327	-116	66
0.1078	-117	66
0.22441536	-118	66
0.11478704	-119	66
0.09867138	-120	66

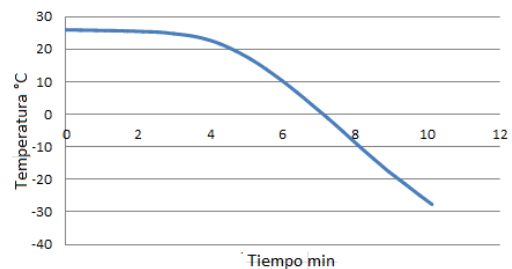


Figura 16. Ritmo de congelamiento a 66 psi

La Tabla 3 y Figura 16 revelan que los tiempos se reducen a la mitad de los de la Tabla 2 y Figura 16.

Lo anterior demuestra que la curva de congelamiento de la Figura 16 es más suave que las actualmente usadas (ver Figuras 1, 2, 3 y 4) y que, a partir de los 5°C la velocidad de descenso de la temperatura es de 1°C/0.1 min, logrando un tiempo de 12.5min para obtener los -120°C.

Con este proceso de congelamiento se garantiza un cambio de temperatura descendente más suave cumpliendo con los tiempos estipulados en los estudios previamente realizados (DALAL J., 2016), (Stornelli, 2005) donde se recomiendan tiempos entre 10 y 15 min lo que hace que el choque térmico (estrés osmótico) tenga un menor impacto en cada uno de los espermatozoides produciendo así un semen de mejor calidad.

En el sistema de congelamiento desarrollado se mejoró considerablemente en el aprovechamiento del nitrógeno líquido, pues el proceso se pudo llevar a cabo con una cantidad que oscila entre los 5 a 6 litros para el proceso de congelamiento que involucra la estabilización térmica de la cámara criogénica (desde la temperatura ambiente hasta los 4 o 5 °C) (Muñoz R. F. M., 2007), (Tvrda E., 2016) y el proceso de congelamiento propiamente dicho (desde los 5°C hasta -120°C), mientras con el método tradicional en la región (Figura 4) se necesitan 6 litros para atemperar la cava donde se llevaba a cabo el proceso.

Se comparó el sistema con otras metodologías eficientes y de bajo costo teniendo resultados igualmente buenos y adaptables a otras curvas de frío para diferentes especies de ganado.

4. DISCUSIÓN

En la actualidad existen congeladoras de semen bovino fabricadas en países europeos líderes a nivel mundial como Francia (Congeladora Computarizada Automática Digicool IMV), su accesibilidad es muy baja, pues solo tiene presencia en países como Francia, USA, China, Países bajos, India e Italia (The imv technologies, 2011) Figura 17. En Alemania la empresa de tecnologías en reproducción animal (minitube), ofrece en el mercado la congeladora TurboFreezer Figura 18 (versión más pequeña) donde el precio es muy alto, alrededor de los 100.000 dólares y son voluminosas. Minitube es una empresa que tiene representación en países como Alemania, USA, España, Chile, Brasil, Austria, China, India y centro de Europa según se reporta en (Minitube, 2017).



Figura 17. Congeladora Computarizada Automática Digicool IMV



Figura 18. Congeladora TurboFreezer de Minitube

En Estados Unidos y Australia se produce la congeladora portable Freeze control, modelo CL-2200, CL-3300, CL-5500, CL8800 del labBiogenics, Napa, California, USA y Cryologic, Mulgrave, Australia, a la cual hay que adicionarle el nitrógeno líquido de forma manual y solo congela un máximo de 23 pajillas de 0.5ml teniendo en cuenta que los modelos que controlan temperaturas de 40°C hasta -120°C son la CL-3300 y CL-8800 Figura 19 (Biogenics, 2006).



Figura 19. Freeze control CL8800 System

En Suramérica Brasil se lanza como una de las potencias en investigación aplicada con respecto al desarrollo de congeladoras de semen bovino. En este país se desarrolló la congeladora automática de semen y embriones Cryogen HSE Portátil de la empresa NEOVET con capacidad para 300 pajillas de 0.5ml y 600 de 0.25ml y tiene distribuidores de sus productos en Colombia (Figura 20).

La Tabla 4 muestra las características más importantes de cada una de las congeladoras comunes que hay en el mercado.



Figura 20. Congeladora Automática De Semen Y Embriones CRYOGEN HSE Portátil

Tabla 4. Características congeladoras

Congeladora	Nº de pajillas 0.5ml	Cantidad LN2 (L)	Tamaño	Consumo energético
TurboFreezer de Minitube	1500	8,5	153 x 132 x 86 cm (anx alx pro)	220 V/50 Hz
MT Freezer 2.0 de Minitube	1200	8,5	112 x 88 x 105 cm	110 V/60 Hz or 230 V/50 Hz
Micro-Digicool IMV	240	8	600 x 380 x 520 mm	220V/50Hz/6A
Freeze control, modelo CL-8800	23	1.5	195 x 225 x 90mm (WxDxH) del controlador	110-220V/50-60Hz
Congeladora Automática CRYOGEN HSE Portátil	300	6	C45,0 x L35,0 cm x A25,0	127 y 220 Vac (50 y 60 Hz)
Sistema desarrollado en la presente investigación	1028	6	Tanque de LN2 de 20 L	110-220V/50-60Hz

Las congeladoras TurboFreezer de Minitube y Micro-Digicool IMV no tendrían accesibilidad en Colombia por que la frecuencia de red a la que trabaja es de 50Hz y en Colombia se trabaja a 60Hz (The imv technologies, 2011), (Minitube, 2017) respectivamente y aunque existen convertidores comerciales que transforman frecuencias 50Hz a 60Hz y viceversa son costosos y la instalación final se vería afectada desde el punto de vista financiero. Las congeladoras MT Freezer 2.0 de Minitube no tienen problema con la energía pero es voluminosa y no se puede considerar su portabilidad.

Las congeladoras Freeze control, modelo CL-8800 es accesible, portátil pero se observó en la Tabla 4 que la capacidad en pajillas es muy pequeña en comparación con las demás congeladoras.

La Tabla 4 muestra que la congeladora comercial que se adapta a las necesidades de la región sería la CRYOGEN HSE Portátil, ya que no tiene inconvenientes por el suministro de energía, con una capacidad para congelar 300 pajillas.

Por las razones anteriormente expuestas, podríamos afirmar que en nuestra región continuará la aplicación manual de los procesos

de congelamiento de semen bovino cuyos resultados no son los deseados. Por ello, es necesario desarrollar sistemas automáticos de congelamiento de semen bovino para que se dé un desarrollo autóctono con recursos propios aprovechando cada uno de los equipos y elementos disponibles. Es esta razón que impulsó el desarrollo del sistema de automatización y control para el congelamiento de semen bovino donde se congelan un número de 1028 pajillas de 0.5ml, con un consumo de LN₂ de 6 litros por ciclo a partir de 5°C en 13 min aproximadamente.

Algunas modificaciones pueden ser realizadas sobre el sistema desarrollado como mostrado en la Figura 21 a fin de eliminar el problema de la portabilidad ya que con la utilización del compresor esta cualidad es limitada.

El sistema modificado ya no contará con el compresor de 120 libras, este será sustituido por una estación de calor a la cual se le controlara la temperatura a la que se calentará el aire que entra al tanque que contiene el nitrógeno líquido LN₂, este choque térmico generará mayor cantidad de gas nitrógeno y con menor presión de entrada.

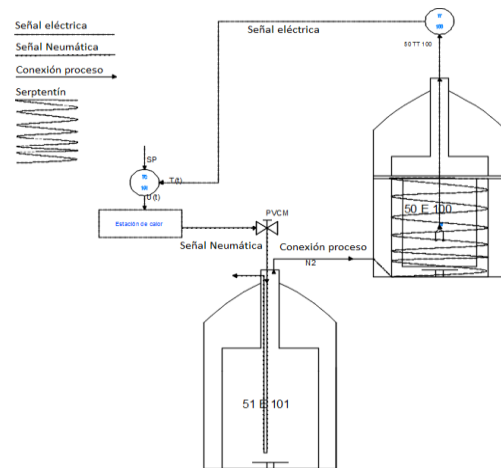


Figura 21. Sistema modificado para su portabilidad

5. CONCLUSIONES

En este proyecto de investigación aplicada se encontró una mejor alternativa para llevar a cabo el proceso de congelamiento de semen bovino, mejorando la curva de frío para tener un semen congelado de mejor calidad, teniendo en cuenta los tiempos estipulados para que los espermatozoides no entren en estrés por causa de la velocidad de enfriamiento con respecto al proceso manual que se hace en la región y los procesos que llevan a cabo las congeladoras analizadas previamente. Se mejoró en el uso del nitrógeno líquido pues el proceso se pudo llevar a cabo de 5 a 6 litros para congelar 1028 pajillas, mientras que anteriormente se usaban 6 litros para atemperar la cava donde se llevaba a cabo el proceso manual y considerando el rendimiento de

las congeladoras comerciales, en cantidad de nitrógeno versus cantidad de pajillas, el prototipo desarrollado es mejor.

En este proyecto se utilizaron materiales y equipos que existen en el centro Agroempresarial SENA Aguachica y tecnoparque nodo Ocaña los cuales hicieron parte del diseño y desarrollo del sistema haciendo de este proyecto accesible y eficiente.

Es ineludible reconocer que el sistema está sujeto a mejoras tanto de diseño como de tecnología así como se mencionó en la discusión, se puede adecuar para otras curvas de congelamiento para semen de diferentes especies de ganado e investigar con otros tipos de diluyentes y generar tiempos más largos o cortos que puedan disminuir el estrés de los espermatozoides expuestos amplia y claramente en (Stornelli, 2005).

REFERENCIAS

- Hastuti H., & Suparman S. (2016). *The role of diluents in maintaining quality of bull sperm during freezing*, Chalaza Journal of Animal Husbandry, (2 December), 58-64.
- Ahmed M., Sinha S., Deka, B. C., Biswas R. K., & Burhagohain R. (2016). *Effect of Rates of Freezing on Quality of Swamp Buffalo Semen Cryopreserved Using Programmable Freezer*. Indian Vet. J, 93(08), 22-24.
- Cancino Aguirre, S.A. (2011). *Comparación de la motilidad posdescongelado del semen de bovino criopreservado mediante la utilización de la técnica manual y automática con el diluyente comercial One Step* (Doctoral dissertation): Universidad veracruzana. Veracruz México.
- Chaustre, Y. R., Vargas, J. B., & García, A. P. (2015). *Metodología de detección de fallas de un motor síncrono*. Revista colombiana de tecnologías de avanzada (RCTA), Volumen 2 (26).
- Muñoz R., Peña A. I., Rodríguez, A., Tamargo C., & Hidalgo, C. O. (2009). *Effects of cryopreservation on the motile sperm subpopulations in semen from Asturiana de los Valles bulls*. Theriogenology, 72(6), 860-868.
- Santos M. V., Sansinena M. Zaritzky N., & Chirife J. (2013). *How important are internal temperatura gradients in french straws during freezing of bovine sperm in nitrogen vapor?* *CryoLetters*, 34(2), 158-165. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CONICET-UNLP) Buenos Aires, Argentina.
- Hernandez A. F. V. (2011). *Caracterización reproductiva de toros de la raza marismeña como base a su conservación*, (Doctoral dissertation, Universidad de Córdoba). España.
- Vishwanath R., & Shannon, P. (2000). *Storage of bovine semen in liquid and frozen state*. *Animal Reproduction Science*, 62(1), 23-53.
- Trillos, J. E. A., Acevedo, C. M. D., Parada, J. E. L., & Noriega, J. A. D. (2017). *Development of automation and control system for the freezing of bovine semen*. *TECCIENCIA*, 12(23), 69-74.
- Carreón A. E. Q, Fernández J. A. G, Ortega O. N, Venzor J. A. P, Holguín H. B (2010). *Análisis de estabilidad en sistemas de potencia utilizando funciones s (matlab/simulink)*. *Revista de Tecnologías de Avanzada*, 1(15), 1-6.
- Amirat L., Anton M., Tainturier D., Chatagnon G., Battut I., & Courtens J. L. (2005). *Modifications of bull spermatozoa induced by three extenders: Biociphos, low density lipoprotein and Triladyl, before, during and after freezing and thawing*. *Reproduction*, 129(4), 535-543.
- Galabay C., & Efraín, J. (2000). *Modernización a nivel de automatización del control de proceso en el área de dosificación y molienda de cemento, utilizando un PLC* (Doctoral dissertation, Quito: EPN).
- Hernández, E. (2010). *Construcción y análisis de una válvula de control en lazo abierto en un sistema de refrigeración*. *Revista de Tecnologías de Avanzada*, 1(15), 25-29.
- Ogata K. (2004). *Ingeniería de control* (Hastuti H., 2016) *ol moderna*. Pearson Educación, Prentice Hall, Cuarta edición, Madrid.
- Molina V, Molina P. A., Robles H. V., Hermann D., Martínez L., J. (2015). *Baseline correction in electrocardiographic signals using dynamic temporal sequence alignment*, IFMBE Proceedings Volume 49, pp 528-531.
- Monsalve, P. A. G., & Acevedo, C. M. D. D. (2015) *Adquisición de datos de una matriz de sensores de gases (e-nose), mediante módulos de comunicación XBEE*, *Revista colombiana de tecnologías de avanzada (RCTA)*, Volumen 2 (26).
- López M.E. (2002). *Identificación de Sistemas. Aplicación al modelado de un motor de continua*. UTPL, Loja, Ecuador.
- Pinto S. S., Mendoza L. E., Velandia H. J., Molina V., & Cervelon L. J. (2015). *Compressive Sensing Hardware in 1-D Signals*. *Tecciencia*, 10(19), 5-10.
- Hamed B. (2012). *Design & implementation of smart house control using LabVIEW*. *International Journal of Soft Computing and Engineering (IJSCE)*, 1(6), 2231-2307.
- Mojica A. V. M., Sanz M. B. C., Guerrero L. J. M., & Robles H. (2016). *Analysis through dynamic temporal sequence alignment in SpO2 signals*. *Tecciencia*, 11(21), 39-43.

- Vizcaíno J. R. L., & Sebastián J. P. (2011). *LabView: entorno gráfico de programación*. Marcombo.
- Ang K. H., Chong G., & Li Y. (2005). *PID control system analysis, design, and technology*. IEEE transactions on control system technology, 13(4), 559-576.
- Jiménez L. M., Puerto R., Reinoso O., Fernández C., & Neco R. (2005). *RECOLAB: Laboratorio remoto de control utilizando Matlab y Simulink*. Revista Iberoamericana de automática e informática industrial, 2(2), 64-72.
- Orozco O. A., & Ruiz V. M. A. (2011). *Sintonización de controladores PI y PID utilizando los criterios integrales IAE e ITAE*. Journal of Tropical Engineering, 13(1-2).
- Rodríguez, J. L. D., Fernández, L. D. P., & Chávez, I. T. (2013). *Análisis comparativo de la distorsión armónica en inversores de potencia (RCTA)*, Volumen 2 (26).
- Wang L. (2009). *Model predictive control system design and implementation using MATLAB®*. Springer Science & Business Media, Melbourne, Australia
- DALAL J., KUMAR A., HONPARKHE M., SINGHAL S., & SINGH N (2016). *Comparison of three programmable freezing protocols for the cryopreservation of buffalo bull semen*. The Indian Journal of Animal Reproduction, 37(2).
- Stornelli M. C., Tittarelli C. M., Savignone C. A., & Stornelli M. A. (2005). *Efecto de los procesos de criopreservación sobre la fertilidad seminal*. Analecta veterinaria, 25.
- Muñoz R., Fernandez M., & Peña A. I. (2007). *Post-thaw Survival and Longevity of Bull Spermatozoa Frozen with an Egg Yolk-based or Two Egg Yolk-free Extenders after an Equilibration Period of 18 h*. Reproduction in domestic animals, 42(3), 305-311.
- Tvrda E., Halenár M., Greifová H., Mackovich A., Hashim F., & Lukáč N. (2016). *The Effect of Curcumin on Cryopreserved Bovine Semen*, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 10 (11), 663-667.
- The imv technologies. Catalog Digitcool (2011). *Programmable automatic freezers*. France.
- Mínitube. Catálogo Bovino Reproducción Animal (2017). *Tecnología de Reproducción Animal Bovina*.
- The Biogenics. catalog 2006. *Cryopreservation and life science instrument specialist*. Napa California USA.