

SISTEMA CRIOGÉNICO AJUSTABLE PARA PRESERVACIÓN DE PAJILLAS CON SEMEN BOVINO

Hernández Salazar César O., Godínez García Francisco J. Martínez Rivera José A., Guerrero Rivera Rubén, Gamero Inda Eduardo.

Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Durango.
Maestría en ingeniería.
Felipe Pescador #1083 Ote. C.P. 34080 Durango, Dgo., México
Tel. 618 829 0900. fgodinez@itdurango.edu.mx, frangoga44@hotmail.com

Resumen

Este trabajo consiste en el diseño de un congelador criogénico ajustable utilizado para la crio preservación de pajillas con semen de ganado bovino. Para lograrlo fueron realizados cambios en el interior de un tanque cilíndrico de acero inoxidable sin alterar las condiciones de crioenfriamiento necesarias en sistemas criogénicos. A diferencia de los sistemas criogénicos utilizados en la actualidad, el diseño propuesto permite ajustar en dimensiones el espacio interior del contenedor de pajillas, mediante un diafragma tipo pistón usando un tornillo sinfín sujetado entre el eje de un motor reductor y el tope del cabezal de desplazamiento de la rampa de congelamiento. Modulando la masa de flujo de gas de nitrógeno en su fase gaseosa, el sistema ajustable permitió optimizar la cantidad de nitrógeno requerido durante la imitación de curva de congelación para una cantidad específica de pajillas con semen bovino alojada en su interior ya que la producción diaria extraída de los toros ingresados a los centros de mejoramiento genético del sector ganadero es variable y los costos de operación de los sistemas criogénicos fijos demandan un alto consumo de nitrógeno líquido, por lo que el utilizar este tipo de sistema criogénico ajustable favorece las condiciones de operación para pequeños productores

Palabras clave—Congelador, criogenia, semen bovino, volumen ajustable

Abstract

This work consists of the design of an adjustable cryogenic freezer used for the cryopreservation of straws with bovine semen. To achieve this, changes were made inside a cylindrical stainless steel tank without altering the cryocooling conditions necessary in cryogenic systems. Unlike the cryogenic systems used today, the proposed design allows the dimensions of the interior space of the straw container to be adjusted by means of a piston-type diaphragm using a worm screw held between the shaft of a geared motor and the top of the displacement head. of the freezing ramp. By modulating the mass of nitrogen gas flow in its gaseous phase, the adjustable system made it possible to optimize the amount of nitrogen required during the freezing curve imitation for a specific amount of straws with bovine semen lodged inside, since the daily production extracted of the bulls admitted to the breeding centers of the

livestock sector is variable and the operating costs of the fixed cryogenic systems demand a high consumption of liquid nitrogen, so using this type of adjustable cryogenic system favors the operating conditions for small producers

Keywords— Adjustable volume, bovine semen, cryogenics, Freezer.

1. INTRODUCCIÓN

En México la ganadería es una actividad del sector primario que consiste en la cría, tratamiento y reproducción de animales domésticos con fines de reproducción para el consumo humano y es una práctica importante dentro de la economía mexicana en donde se desarrollan principalmente las ganaderías bovina, porcina, caprina y aviar. La crio preservación de semen es una importante biotecnología reproductiva, que busca promover la conservación del germoplasma masculino por tiempo indeterminado. Esta biotecnología cuando se asocia a la inseminación artificial, representa un mecanismo eficiente para la promoción y difusión de material genético de excelente calidad [1]. La crio preservación de semen proporciona una economía para el productor, al reducir los costos de alimentación y transporte de los reproductores, así como los riesgos de transmisión de enfermedades sexualmente transmisibles [2]. Los sistemas utilizados para el congelamiento del semen de ganado bovino controlan una curva de temperatura descendente que va desde 5 °C a -150 °C para un gran número de células y tejidos [10][11][12]sin embargo, la cantidad de pajillas depositadas en el interior es variable y no es posible evitar consumo de nitrógeno elevado para mantener la uniformidad en la curva de congelamiento en sistemas crio-congeladores fijos. Tomando en cuenta el beneficio que aporta esta biotecnología para aplicaciones en criogenia, no se encuentra algún crio congelador con la posibilidad de ajustar su espacio o cámara interna, por lo que el diseño del sistema criogénico ajustable propuesto consiste en la elaboración de una máquina de conservación de semen bovino que conlleva a un proceso de enfriamiento a partir del cambio de estado líquido a gas del nitrógeno dentro de un volumen acorde a la cantidad de pajillas depositadas y así aprovechar la cualidad que tiene el nitrógeno de bajas temperaturas para la crio preservación del material biológico permitiendo dar valor agregado a la técnica utilizada para congelación en procesos de la industria ganadera para pequeños productores.

2. SISTEMA CRIOGÉNICO CONTROLADO

2.1 Crio congeladores

Los crio congeladores o crio enfriadores son dispositivos utilizados para alcanzar temperaturas criogénicas que operan aproximadamente por debajo de los 123 K (-153°C) [3]. La utilización de estas temperaturas tan bajas les permite tener ciertas aplicaciones tales como, licuefacción y separación de gases, refrigeración de dispositivos superconductores, crio-bombas para vacío limpio, ablación de tejidos (criocirugía),

conservación de material biológico, alimentos y refrigeración de dispositivos electrónicos con bajo ruido térmico. La refrigeración criogénica puede ser llevada a cabo utilizando este tipo de dispositivos de enfriamiento, con la intención de mantener bajas temperaturas. Existen diferentes técnicas de enfriamiento criogénico, razón por la que también se han diseñado diferentes tipos de crio enfriadores, siendo clasificados como enfriadores de ciclo abierto o ciclo cerrado [4].

2.2 Sistemas de ciclo abierto y cerrado

Los sistemas criogénicos de ciclo abierto son aquellos donde la refrigeración se obtiene mediante el uso de un enfriador Joule- Thompson (J-T), el cual utiliza gas almacenado a alta presión y es mantenido a temperatura ambiente. El gas almacenado se libera a la atmósfera después de la expansión. Sin embargo, la mayoría de las aplicaciones utilizan criogénicos almacenados como nitrógeno líquido (LN₂) y helio líquido (LHe) para asegurar la generación de una temperatura baja con fines criogénicos. Al ser almacenados estos materiales para enfriamiento deben ser mantenidos en intervalos regulares, ya sea en estado líquido, sólido o supercrítico dependiendo de la aplicación. Para almacenar los criógenos, se pueden utilizar plantas de refrigeración a gran escala mediante diferentes tipos de sistemas generadores de los ciclos de licuefacción [5]. Por otra parte, los sistemas de ciclo cerrado ya sean dinámicos o estáticos pueden ser utilizados para alcanzar las temperaturas criogénicas requeridas. Los dispositivos dinámicos pueden incluir la disposición del pistón del compresor con o sin un expansor móvil. Este tipo de enfriadores criogénicos se puede clasificar adicionalmente según el tipo de intercambiador de calor usado en el sistema, pudiendo ser de tipo regenerativo o de tipo recuperativo [4] ya que las técnicas utilizadas para producir este rango de temperaturas difieren totalmente de los métodos convencionales de refrigeración, por lo que es necesario proveer un pre enfriamiento previo del gas comprimido antes de ser expandido para alcanzar las temperaturas criogénicas deseadas a partir de los 0 °C [6].

2.3 Criogenia.

La criogenia es la parte de la ciencia y tecnología que trata los procesos a temperaturas inferiores de los 120 - 123 °K [4]. El uso de técnicas especiales es utilizado para obtener este grado de temperaturas y difieren completamente de los métodos convencionales de refrigeración, ya que es necesario enfriar un material por lo menos a la temperatura de ebullición del nitrógeno [6] lo que genera la necesidad de utilizar sensores especiales para la medición de los efectos basados en las propiedades dependientes de la temperatura.

2.4 Aislantes térmicos.

Los aislantes térmicos son aquellos materiales que tienen la capacidad de aislar el paso del calor del exterior por conducción, convección o radiación y son evaluados por su capacidad de aislamiento térmico [7]. Los aislantes están compuestos por sustancias que dificultan el paso de calor ya que poseen baja conductividad térmica. Por lo general se

suelen utilizar sólidos que, junto a la baja conductividad térmica, tengan buenas propiedades mecánicas [8].

2.5 Moto-reductor

Los motores reductores son mecanismos que regulan la velocidad de motores eléctricos, haciéndoles funcionar con alto torque. Están formados por una serie de engranajes que conforman la cadena cinemática, ejerciendo una fuerza rotacional sobre las piezas giratorias. Su principal función es permitir la regulación de la velocidad del rotor desde una velocidad elevada a otra menor, sin que el mecanismo se resienta. Además de la regulación de velocidad, el elemento reductor del motor está conformado por un sistema que permite el ajuste de la potencia mecánica del mismo.

2.6 Desarrollo

Durante la fase de desarrollo, fue diseñado un tanque contenedor para modular el gasto másico de nitrógeno en fase gaseosa hacia el tanque de almacenamiento que contiene las pajillas con semen bovino. La modulación regulada del flujo de nitrógeno fue llevada a cabo, utilizando un dispositivo resistivo calefactor colocado en la parte inferior del tanque como se muestra en la figura 3. El dispositivo resistivo permite regular la temperatura radiada al tanque modulador mediante un sistema controlador tipo PID retroalimentado con un elemento de medición PT100 colocado en la salida del tanque. El controlador fue sintonizado para manipular la energía de suministro eléctrica hacia el dispositivo resistivo conforme la curva de enfriamiento tomada como referencia.

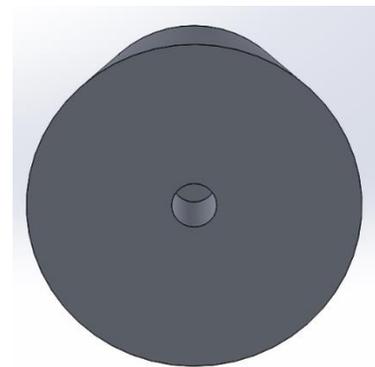
2.7 Tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido

El tanque de almacenamiento consistió en el acondicionamiento de un contenedor de pajillas de semen utilizado para transporte del semen producido durante la ordeña. Este tanque fue cortado para extraer su tanque interno y colocar un cono de aluminio perforado en el interior de este, de tal manera que permita el alojamiento del dispositivo calefactor actuado por resistencia eléctrica y evitara el contacto directo con el nitrógeno líquido. La pieza cónica de aluminio mostrada en la figura 1 y 2, fue soldada herméticamente para evitar fugas de nitrógeno hacia el exterior y concentrar la mayor cantidad de energía calorífica dentro del tanque para la producción de nitrógeno líquido a fase gaseosa, haciéndole una perforación de ¼ de pulgada de largo con ½ de pulgada de ancho, para aumentar la ebullición del nitrógeno líquido y aumentar la velocidad de transporte por el cambio de densidad transportado al tanque criogénico de almacenamiento de las pajillas con semen bovino.

Figura 1. Vista frontal de cono de aluminio hecho mediante software SolidWorks®



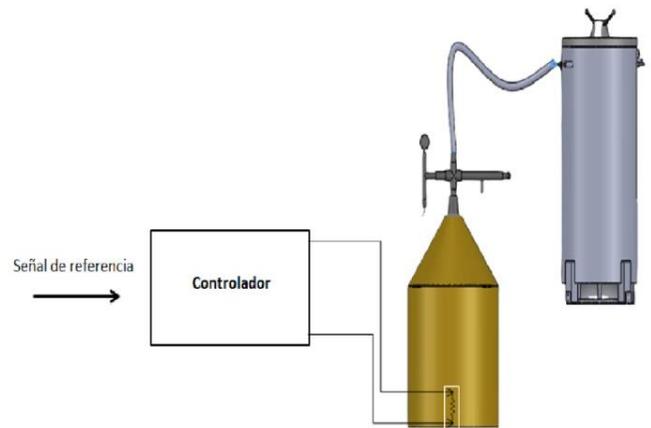
Figura 2. Vista de la ranura inferior de cono de aluminio realizado mediante software SolidWorks®



2.8 Sistema de control de temperatura

Para el sistema de control de temperatura del actuador resistivo incrustado dentro del cono de aluminio, fue considerado un control de temperatura mediante la variación de la corriente eléctrica circulante en la resistencia (figura 3). Para este propósito, inicialmente fue probado un controlador tipo RST, de manera tal que fuera posible seguir la trayectoria de la curva de temperatura sugerida para sistemas crio enfriadores. Sin embargo, los polos de la función analítica generados por este tipo de control no permitieron un seguimiento adecuado de la curva de temperatura en descenso, por lo que fue implementado un sistema de control del tipo PID, colocando un elemento de medición de la variable de temperatura en el interior del tanque modulador del flujo de nitrógeno inyectado hacia el contenedor principal. Una vez calibrado el controlador, fue posible observar que su respuesta es más apegada a las necesidades de variación no lineal de la curva descendente de temperatura llevada a cabo durante un tiempo de 7 minutos necesarios para la preservación del material biológico. El flujo de corriente eléctrica suministrado al elemento resistivo actuador transmite la energía calorífica por conducción a través del cono de aluminio para modular el flujo de nitrógeno en fase gaseosa desde el tanque de almacenamiento hacia el contenedor ajustable de pajillas con semen bovino depositadas.

Figura 3. Sistema de control del tanque de almacenamiento



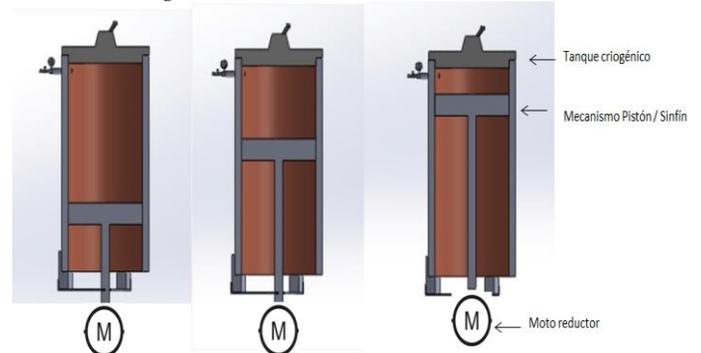
2.9 Tanque criogénico desplazable

El contenedor criogénico, consiste de un tanque cilíndrico modificado de manera tal que pueda ser ajustado el volumen de su cámara interna, Las dimensiones máximas del contenedor son de 70 cm de altura y 40 cm de diámetro. En la cámara interna es colocado un mecanismo de pistón/sinfin. El material del tanque es de acero inoxidable 304, ya que es necesario conservar sus propiedades mecánicas al momento de aplicar temperaturas criogénicas sin que este pueda tener daños en su estructura.

2.10 Mecanismo pistón/sinfin

Un mecanismo tipo pistón/sinfin fue diseñado para lograr el desplazamiento vertical lineal del diafragma que reduce las dimensiones de la cámara interna de congelamiento del tanque criogénico. Su accionamiento es logrado mediante un tornillo sinfin sujetado con rodamientos entre el eje del motor reductor y la parte posterior del diafragma dentro de la cámara. El motor reductor es de tipo cónico-helicoidal de ejes perpendiculares y posee suficiente par con gran capacidad de carga radial y axial para lograr el desplazamiento de la carga del diseño propuesto como se muestra en la figura 4. El moto-reductor tiene características para una gran vida útil y un tamaño reducido, además posee una eficiencia superior al 95%, con potencia superior a los 35 KW y un torque entre 189 y 50,000 Nm.

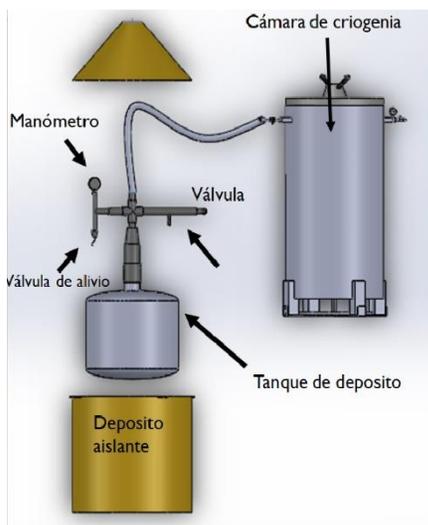
Figura 4. Reducción de volumen interno



2.11 Preparación para pruebas

Para esta etapa de preparación de los tanques utilizados para el almacenamiento de nitrógeno líquido, fue acoplada una llave de forma tipo "T" colocando una válvula de alivio de seguridad calibrada para una presión máxima de alivio de 23 psi (figura 5). Cuando la presión acumulada dentro del tanque excede el rango máximo de operación, la válvula de alivio desfogó automáticamente el exceso de la presión interior, asegurando no sea rebasado su límite de operación, este valor puede ser observado visualmente mediante un manómetro para poder verificar la presión alcanzada. Cabe mencionar que, por seguridad del personal, fue colocada una válvula de emergencia con accionamiento manual para liberar totalmente cualquier presión no deseada. Adicionalmente en la conexión tipo "T", es acoplada la línea de manguera especial aislada con un tubo de poliuretano hacia el tanque criogénico, para evitar al mínimo el intercambio de calor con la temperatura ambiente del exterior y pueda ser afectado el flujo de nitrógeno en fase gas hacia el tanque.

Figura 5. Diagrama de conexión de tanques



Una vez revisados todos los acoplamientos entre tanques modulador y de almacenamiento, fue posible realizar una prueba sin poner en marcha el actuador resistivo y otra con el elemento térmico activado con la finalidad de lograr el calentamiento del nitrógeno.

2.12 Prueba con nitrógeno líquido sin sistema actuador

Para llevar a cabo esta prueba se depositaron 8 litros de nitrógeno líquido dentro del tanque de almacenamiento colocándolo dentro de su caparazón original pero con una capa de aislante térmico de poliuretano para evitar la transferencia de calor del exterior hacia el interior del tanque en el lugar donde fue realizada la prueba.

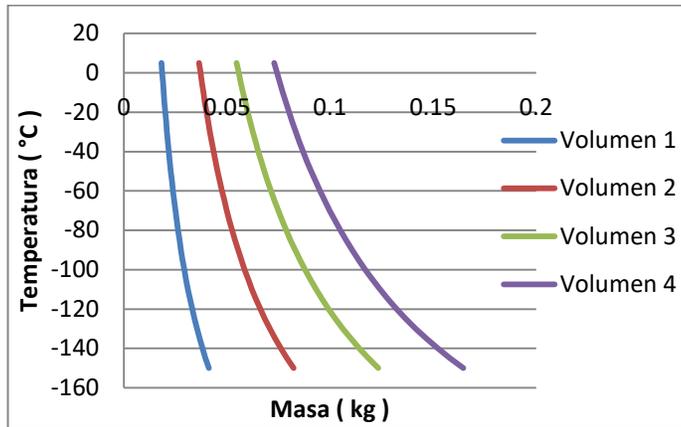
2.13 Prueba con nitrógeno líquido y sistema de calefacción

De manera similar a la prueba anterior, pero poniendo en marcha el actuador de calefacción, fue realizada una dinámica de regulación gradual de la corriente eléctrica en el elemento resistivo para estimular el efecto calefactor del cono de aluminio, con el propósito de aumentar la cantidad de vapor generado por el nitrógeno líquido dirigiéndolo al tanque criogénico utilizando 8 litros que en la prueba sin actuador.

2.14 Resultados

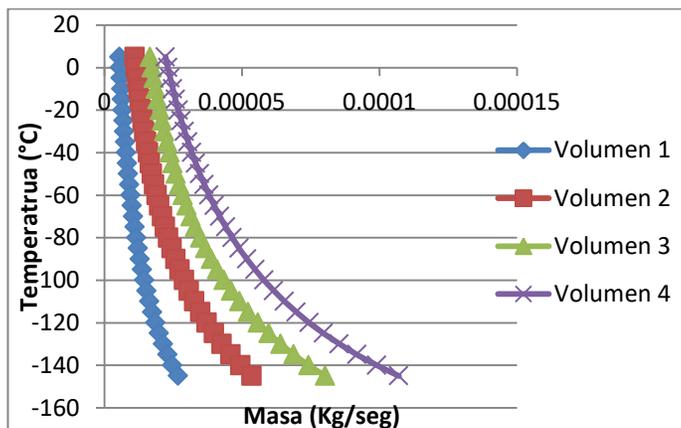
Una vez realizadas las pruebas de funcionamiento del sistema, basándose en las pruebas preliminares mencionadas con anterioridad, fueron obtenidos dos notables resultados. El primero de ellos es, que si no es puesto en marcha el sistema de calefacción que provee la resistencia colocada dentro del cono de aluminio, el nitrógeno en fase gas no tiene un desplazamiento uniforme y suficiente para desplazarse a través de la manguera de abastecimiento de nitrógeno fase gas del tanque criogénico. En el tanque de almacenamiento se genera una presión alrededor de 18 a 20 psi sin el actuador de calentamiento, con esta presión el gas del nitrógeno no llega lo suficientemente frío para empezar a enfriar el tanque criogénico pero empieza a aumentar la presión dentro de la cámara ajustable. Por el contrario, al poner en marcha el actuador regulado por el controlador PID, la presión aumenta alrededor de 23 a 25 psi activando inmediatamente la válvula de alivio, pero manteniendo constante el flujo másico de nitrógeno fase gas. Por seguridad del equipo y del personal se desfogó un poco de presión con la válvula manual auxiliar para evitar accidentes. Desplazando el flujo másico del nitrógeno con una velocidad más elevada hacia la cámara ajustable, se presenta un efecto de calentamiento dentro de la misma, ya que con el incremento de presión aumenta la temperatura teniendo una pérdida considerable dentro de las conexiones y en el tránsito del flujo a través de la manguera. Con el uso de la fórmula de gases ideales $PV = NRT$ [13] la cual implica la relación entre las variables de presión (P), volumen (V), cantidad de sustancia (N) y temperatura (T), es posible considerar que un gas ideal presenta un comportamiento hipotético ante la variable de presión, volumen y temperatura y este puede ser descrito concisamente mediante la expresión ya mencionada. De esta manera, es posible calcular de manera aproximada el consumo o inyección de nitrógeno líquido que se requiere en el tanque criogénico al cambiar su volumen para mantener estable la curva de congelamiento conforme a los 4 niveles de capacidad establecidos del tanque criogénico ajustable, considerando el volumen 1 como lo más reducible posible y el volumen 4 como su capacidad interna máxima (figura 6).

Figura 6. Efecto del cambio de temperatura vs masa



Mediante el software SolidWorks® se realizó una simulación del fluido transmitido al contenedor de congelamiento (tanque criogénico ajustable). Este tipo de análisis ofrece una opción entre flujos internos y externos, el flujo interno describe el flujo en el volumen cerrado, y el flujo externo describe el flujo sobre objetos en un espacio abierto. En el cual se escoge como fluido el nitrógeno líquido que contiene las características de un fluido laminar y turbulento para este caso. Tomando como referencia los protocolos de congelamiento para crio preservación de semen bovino [9], fueron considerados para su implementación, una vez realizada la simulación y habiendo observado los efectos para su aplicación en el tanque criogénico físicamente. Obteniendo de esta manera que los ritmos de congelación son de 5° C/min entre los +5 °C a -10 °C; de 40 °C/min entre los -10 °C a -100 °C; de -20 °C/min entre los -100 °C a -140 °C, mostrados en la figura 7, con una relación temperatura y de masa/tiempo necesario para lograr la curva de temperatura descendente para los 4 volúmenes diferentes del tanque criogénico ajustable.

Figura 7. Respuesta al cambio del flujo másico de nitrógeno



3. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con la implementación del instrumento calefactor se demostró que aumenta la velocidad con la cual se gasifica el nitrógeno líquido, de tal manera que también aumenta la velocidad de transporte a través de las tuberías instaladas del tanque de almacenamiento hacia el tanque ajustable. La velocidad aumenta debido a que conforme genera un aumento de presión y por consiguiente eleva la temperatura dentro del tanque de almacenamiento, el gas tiende a expandirse con el fin de comenzar el proceso de enfriamiento mediante el gas del nitrógeno. Los resultados obtenidos en las gráficas muestran, que al aplicar la fórmula general para gases ideales aplicadas para 4 niveles de volumen establecidos en el tanque, permiten optimizar las condiciones de operación por gasto de nitrógeno y la respuesta del dispositivo controlador son adecuadas para el congelamiento de las pajillas con semen bovino en el tiempo sugerido por los autores de sistemas criogénicos fijos. Para validar los resultados, el proceso de simulación en el software SolidWorks® y los cálculos analíticos apegados a la gráfica de respuesta, demuestran la factibilidad en la reducción de consumo del nitrógeno líquido al identificar que el flujo másico se ajusta conforme el nivel volumétrico deseado para congelación en el contenedor ajustable es acorde con el tiempo de enfriamiento requerido en función de la curva de temperatura descendente establecida para semen bovino.

Mediante la reducción de volumen de la cámara interna del tanque para el congelamiento de esperma mediante el mecanismo pistón/sinfin es posible optimizar gastos de operación y podría tener un impacto favorable como trabajo a futuro en el diseño científico tecnológico para este tipo de sistemas criogénicos.

El desarrollo de este proyecto promueve el desarrollo tecnológico a la comunidad científica para la búsqueda de mejoras del diseño estructural e implementación de un sistema de control más adecuado para manipulación de la cantidad de nitrógeno líquido suministrado. Así mismo, se recomienda mejorar el método de enfriamiento ya que el utilizado no fue lo suficientemente eficaz para generar dentro del tanque, la temperatura idónea para la conservación del esperma.

4. Referencias

- [1] A.R Peres, L.M. Barbosa, M.Y. Kanazawa, M.I. Martins, F.F. De Souza, Cryopreservation of bovine spermatozoa from the epididymal tail using conventional and automated methods, *Arch med vet*, 2014, vol.46 no.1, p.31-38.
- [2] T.S Castelo, T.R. Frota, A.R Silva, Considerações sobre a criopreservação do sêmen de caprinos, *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 2008, p.67-75
- [3] G. Walker, Cryocoolers part 1 & 2, *Plenum Press*, 1983, New York.
- [4] M.D. Atrey, Cryogenic engineering, NPTEL.2012, Online Lectures.

- [5] M.D. Atrey, Cryocoolers Theory and Applications, Chapter I Cryocoolers technology: The path to invisible and reliable cryogenics, 2020, p.1.
- [6] R. Radebaugh, Cry coolers: The state of the art and recent developments, *J Phys Condes Matter* 21(16):164219
- [7] V.J. Garza Alejandre, Análisis del ciclo de vida de aislantes térmicos para la aplicación de edificaciones, 2016, UANL.
- [8] J.C. López, S.C. March, F.C. García, S.E. Vidal, C.M. Teixido, J.M. Álvarez, Curso de ingeniera química. Introducción a los procesos, las operaciones unitarias y los fenómenos de transporte, 1991, Reverté.
- [9] J. Dalal, A. Kumar, M. Honparkhe, S. Singhal, N. Singh, Comparison of three programmable freezing protocols for the cryopreservation of buffalo bull semen, *Indian journal of animal reproduction* 37 (2), 2016, p.54-55
- [10] Bwanga C. O., D. E. Braganea M. M., Einarson S., Rogriguez - Martinez H. 1990. Cryopreservation of Boar semen in mini and maxi -straws. *J Vet Med.* 37: 651- 58.
- [11] Robbins R. K., Saacke R. G., Chandler P. T. 1997. Influence of freeze rate, thaw rate and glycerol level on acrosomal retention and survival of bovine spermatozoa frozen in french straws. *J Dairy Sci.* 42: 145-54.
- [12] Thurston L. M., Holt W. V, Watson P. F. 2003. Postthaw Fuctional status of boar spermatozoa cryopreserved using three controller rate freezers: a comparison. *Theriogenology.* 60: 101-13.