



# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO

## INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL VALLE DEL GUADIANA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN





# Automatización de un Sistema Criogénico de Preservación de Semen Bovino por medio de un control RST

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Ingeniería

Presenta:

Esteban Betancourt Mendoza

Director de tesis:

M.C. Eduardo Gamero Inda

Durango, Dgo. México, Noviembre, 2022.





## Automatización de un Sistema Criogénico de Preservación de Semen Bovino por medio de un control RST

## TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

## Maestría en Ingeniería

Presenta:

Esteban Betancourt Mendoza

Dirigido Por

M.C. Eduardo Gamero Inda

## COMITÉ TUTORIAL



M.C. Norma A. García Vidaña Coordinador de la Maestría en Ingeniería

WWWWWWWWWW

Johnan B. Ulen

M.C. Adriana Eréndira Murillo Jefa de la División de Estudios de Posgrado e Investigación

Durango, Dgo. México, Noviembre, 2022





## Autorización de tema de tesis





Instituto Tecnológico de Durango División de Estudios de Posgrado e Investigad

Victoria de Durango, Dgo., a 14 / Noviembre / 2022.

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN DEPI/C/472/22. ASUNTO: Autorización de Tema de Tesis de Maestría.

### C. ESTEBÁN BETANCOURT MENDOZA No. DE CONTROL G13041000 PRESENTE.

Con base en el Reglamento en vigor y teniendo en cuenta el dictamen emitido por el Jurado que le fue asignado, se le autoriza a desarrollar el tema de tesis para obtener el Grado de Maestro en Ingeniería cuyo título es:

### "AUTOMATIZACIÓN DE UN SISTEMA CRIOGÉNICO DE PRESERVACIÓN DE SEMEN BOVINO POR MEDIO DE UN CONTROL RST"

#### CONTENIDO:

CAPÍTULO I CAPÍTULO II CAPÍTULO III CAPÍTULO IV

RESUMEN INTRODUCCIÓN MARCO TEÓRICO DESARROLLO Y RESULTADOS CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO REFERENCIAS ANEXOS

#### ATENTAMENTE.

Excelencia en Educación Tecnológica. "La Técnica al Servicio de la Patria"

Idraw 8.20 arello

C. ADRIANA ERÉNDIRA MURILLO JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

EDUCACIÓN E

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

AEM'ammc









farte de Dires Gans Britit

Felipe Pescador #1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya C.P.34080 Durango, Durango. (618) 8290900 e-mail: dir\_itdurango@tecnm.mx\_ tecnm.mx | itdurango.edu.mx

-lighteres Edely

2022 Flores

Magon



# Autorización impresión de tesis





Instituto Tecnológico de Durango División de Estudios de Posgrado e Investigación

Victoria de Durango, Dgo., a 14 / Noviembre / 2022

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN DEPI / C / 473 / 22. ASUNTO: Autorización de Impresión de Tesis de Maestría.

### C. ESTEBÁN BETANCOURT MENDOZA No. DE CONTROL G13041000 P R E S E N T E .

De acuerdo al reglamento en vigor y tomando en cuenta el dictamen emitido por el jurado que le fue asignado para la revisión de su trabajo de tesis para obtener el **Grado de Maestro en Ingeniería**, esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le autoriza la impresión del mismo, cuyo título es:

"AUTOMATIZACIÓN DE UN SISTEMA CRIOGÉNICO DE PRESERVACIÓN DE SEMEN BOVINO POR MEDIO DE UN CONTROL RST"

Sin otro particular de momento, quedo de Usted.

### ATENTAMENTE.

Excelencia en Educación Tecnológica» \*La Técnica al Servicio de la Patria\*

ello

C. ADRIANA ERÉNDIRA MURILLO JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

EDUCACIÓN

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE DURANGO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

AEM'ammc



Av. Felipe Pescador \$1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya C.F.34080 Durango, Durango. Tel. (612) 8290900 e-mail: dir\_itdurango@techm.mx<u>tecnm.mx]itdurango.edu.mx</u>





# Agradecimientos

En este segundo de alegría le quiero dar las gracias a mi mamá y a mi papá (hasta el cielo) por su apoyo incondicional, por su entrega constante, por su amor.

En este otro segundo a mis amigos y compañeros de la maestría por todos los momentos vividos durante el desarrollo del proyecto.

Respeto, respeto y gracias a mis maestros, los maestros, nuestros cimientos.

También me gustaría agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico que me brindó para realizar mis estudios de posgrado.

A Dios le agradezco el resto, porque siempre caminó junto a mí. La fe no se acaba, todo lo demás tiene fin. Gracias a la vida porque a vivir se aprende viviendo.



1235 S

3023



# Índice de Contenido

Conter	nido	
Autoriz	zación de tema de tesis	111
Autoriz	zación impresión de tesis	IV
Cesión	n de derechos	V
Agrade	ecimientos	VI
Índice	de Contenido	VII
Índice	de Figuras	X
Índice	de Tablas	XIII
Resum	nen	XIV
CAPITI	ULO 1. Introducción	1
1.1	Introducción	1
1.2	Antecedentes	3
1.3	Definición del problema	17
1.4	Justificación	18
1.5	Hipótesis	20
1.6	Objetivos	21
1.6.	6.1 Objetivo General	21
1.6.	0.2 Objetivos específicos	21
1.7	Metodología	22
CAPITI	ULO 2. Marco Teórico	23
2.1	Criogenia	23
2.1.	.1 Sistemas de refrigeración para alcanzar temperaturas criogé	nicas 25
2.1.	.2 Propiedades de los líquidos criogénicos	26
2.1.	.3 Riesgos criogénicos	28
2.2	Crio preservación y crio conservación	30
2.2 pre	2.1 Tasas de congelación, curvas de enfriamiento y protocolo eservación	s de crio 32
2.2	2.2 Métodos de crio preservación	
2.2	2.3 Congelamiento y métodos de congelamiento	
2.2	2.4 Etapas principales de congelación	
2.2	2.5 Agentes crio protectores (ACP)	





3028



2.3	Ca	racterización de materiales a baja temperatura	42
2.	2.3.1 Propiedades de los materiales		42
2.	3.2	Conductividad térmica	42
2.	3.3	Resistencia térmica	43
2.	3.4	Conductancia térmica	43
2.	3.5	Aislantes térmicos	44
2.4	Мс	delo matemático de sistemas de control	45
2.	4.1	Sistemas con tiempo muerto	45
2.	4.2	Respuesta temporal de un sistema de primer orden	46
2.	4.3	Sistemas de segundo orden	47
2.5	Со	ntrolador PID	50
2.	5.1	Estructura de un PID	52
2.	5.2	Controlador PID por asignación de polos	53
2.6	Со	ntrolador digital RST	57
2.	6.1	Estructura de un RST	59
2.	6.2	Sintonización del controlador RST	61
CAPIT	FULC	3. Desarrollo y resultados	64
3.1	Int	roducción	64
3.2	Dis	eño del sistema de control	64
3.	2.1	Modelo de la planta de sistema térmico: Primera opción	64
3.	2.2	Determinación de la función de transferencia	69
3.	2.3	Diseño del controlador por asignación de polos	69
3.	2.4	Simulación y resultados	72
3.	2.5	Modelo de la planta Sistema térmico: Segunda opción	76
3.	2.6	Diseño del controlador por asignación de polos: Segunda opción	80
3.	2.7	Simulación y resultados: Segunda opción	82
3.3	De	sarrollo práctico del sistema de control	85
3.	3.1	Diseño de PWM	85
3.	3.2	Curva de calibración	88
3.	3.3	Actuador	92
3.	3.4	Planta	94
3.	3.5	Máquina de criogenia	.100



1223



3.3.6 Control de calidad y puesta en marcha para verificar el c funcionamiento del sistema de control	orrecto:101
Capítulo 4. Conclusiones	109
Trabajo Futuro	111
Referencias	112
Anexos	116
Anexo 1. Señales fundamentales	116
Anexo 2. Driver Arduino IBT2 – PWM Puente H	118
Anexo 3. Masa molar, constante de gas y calores específicos de gas i algunas sustancias	deal de 120
Anexo 4. Propiedades de puntos de ebullición y de congelación	121
Anexo 5. Propiedades térmicas Acrilonitrilo-Butadieno-Estireno (ABS)	122
Anexo 6. Propiedades del vidrio	123

3.5

3223



Figura 1.1. Perfil de temperatura 1	3
Figura 1.2. Perfil de temperatura 2	3
Figura 1.3. Perfil de temperatura 3	4
<b>Figura 1.4.</b> Evolución prevista de la temperatura en diferentes lugares de la paja durante el enfriamiento en vapor de nitrógeno	7
<b>Figura 1.5.</b> Motilidad y viabilidad de la masa espermática durante las etapas de crio preservación en el cultivar Sanmartinero	14
Figura 2.1. Respuesta escalón de un sistema con tiempo muerto	45
Figura 2.2. Respuesta escalón	46
<b>Figura 2.3.</b> Las raíces del sistema de segundo orden en función de $\zeta$ (para $ \zeta  \leq 1$ ) <sup>2</sup>	<del>4</del> 8
<b>Figura 2.4.</b> Respuestas en frecuencia normalizadas de un sistema de segundo orden a una entrada escalón	а 49
Figura 2.5. Diagrama de bloques del sistema de control con controlador convenciona	l 51
Figura 2.6. Diagrama a bloques del controlador PID convencional	52
Figura 2.7. Diagrama a bloques con la implementación del filtro pasa bajas	53
Figura 2.8. Estructura del controlador RST	58
<b>Figura 2.9.</b> Diagrama de bloques del sistema de control con controlador PID de tiemp discreto clásico	)0 59
Figura 2.10. Estructura de un controlador RST	50
Figura 2.11. Controlador RST con arquitectura de tres ramas	61
Figura 3.1. Planta térmica	54
Figura 3.2. Diagrama de bloques del sistema térmico primera opción	67
Figura 3.3. Planta térmica uno para ser controlada digitalmente	67
Figura 3.4. Planta uno controlada mediante PID con inclusión de señal de referencia '	72

MASS N

152 Dily



11223



<b>Figura 3.6.</b> Diseño y asignación de valores de la primera señal de referencia del sistema mediante Scenarios del bloque Signal Editor74
Figura 3.7. Seguimiento del perfil de temperatura 1
Figura 3.8. Diagrama de bloques del sistema térmico segunda opción78
Figura 3.9. Planta térmica dos para ser controlada digitalmente78
Figura 3.10. Planta dos controlada mediante PID con inclusión de señal de referencia82
Figura 3.11. Seguimiento del perfil de temperatura 2
Figura 3.12. Circuito de potencia para el actuador final
Figura 3.13. Circuito de potencia implementado para el actuador final
Figura 3.14. Señal obtenida del primer amplificador operacional del circuito87
Figura 3.15. Señal obtenida de segundo amplificador operacional del circuito87
Figura 3.16. Señal PWM obtenida del tercer amplificador operacional del circuito88
Figura 3.17. RTD marca Omega® de tres terminales
<b>Figura 3.18.</b> Medición de resistencia del nitrógeno líquido por medio de sensor RTD Omega® de tres terminales90
Figura 3.19. Curva característica obtenida experimentalmente con RTD PT100
Figura 3.20. Cartucho calefactor
Figura 3.21. Cartucho calefactor y cono de aluminio
Figura 3.22. Curva de respuesta del cono de aluminio con el cartucho calefactor94
Figura 3.23. Tanque modulador
Figura 3.24. Cono de aluminio en tanque modulador real
Figura 3.25. Diseño del cono de aluminio en el tanque modulador96
Figura 3.26. Otras vistas y planos del tanque modulador
Figura 3.27. Tanque criogénico98
Figura 3.28. Tanque criogénico visto desde el interior99



C SURVEY

1223



Figura 3.29. Planta a controlar
Figura 3.30. Prototipo crio congelador10
Figura 3.31. Tanque modulador con nitrógeno líquido102
<b>Figura 3.32.</b> Lecturas de temperatura realizadas durante las pruebas de funcionamiento del sistema103
Figura 3.33. Manómetros durante las pruebas de funcionamiento
<b>Figura 3.34.</b> Tanque modulador después de realizar las pruebas de funcionamiento del sistema
<b>Figura 3.35.</b> Temperatura y presión alcanzadas en la planta del sistema durante pruebas de funcionamiento105
Figura 3.36. Diseño nuevo de planta a controlar106
Figura 3.37. Prototipo nuevo crio congelador107
<b>Figura 3.38.</b> Temperatura alcanzada en el nuevo prototipo de la planta del sistema durante pruebas de funcionamiento108
Figura A.1. Señales pulso de Dirac, Escalón y Rampa117

3223



# Índice de Tablas

Tabla 1. Resumen del rango de temperatura crítica informado por varios autores	10
Tabla 2. Parámetros de la calidad de semen (media ± SD) de once bovinos	12
Tabla 3. Puntos de ebullición de varios gases	24
Tabla 4. Propiedades del líquido criogénico en comparación con el agua	27
Tabla 5. Conductividad térmica en recipientes sin vacío	43
Tabla 6. Clasificación de los materiales de aislamiento según su estructura	44
Tabla 7. Medición de resistencia con RTD Pt100	91

1233





## Resumen

El proyecto presentado consiste en un sistema de control de temperatura, basado en un controlador PID (Proporcional, Integral, Derivativo) en un esquema RST (Seguimiento de Señal de Referencia), para un congelador criogénico que permite un control de seguimiento de la trayectoria para llevar a cabo la congelación de muestras de semen bovino de acuerdo a perfiles de temperatura internacionalmente aceptados y así tratar de aumentar la tasa de supervivencia de los espermatozoides bovinos, que actualmente sólo se considera del 50% por los medios tradicionales de congelación de este tipo de muestras. El sistema está basado en componentes discretos de muy fácil adquisición y manejo para ofrecer una alternativa en el control de los sistemas y procesos criogénicos, buscando una relación costo-beneficio satisfactoria.



# **CAPITULO 1. Introducción**

## 1.1 Introducción

La presente investigación ofrece una descripción para desarrollar un algoritmo de control por seguimiento de señal de referencia para un sistema de congelación de muestras de semen de bovino, para el control de un congelador criogénico.

La congelación de semen bovino, también conocida como crio conservación o crio preservación, implica bajar la temperatura de muestras de semen a un nivel biológicamente estable.

El semen bovino se puede conservar mediante un sistema de congelación experimental expuesto a nitrógeno líquido o usando un sistema de congelación automatizado programable que pueda seguir un perfil de temperatura o cierta velocidad de congelación.

Mediante este proyecto se pretende contribuir a la automatización y el control de los procesos de crio preservación, buscando una relación costo-beneficio satisfactoria.

Es generalmente aceptado que al menos el 50% de los espermatozoides mueren durante el proceso de congelación y descongelación.

Es por ello que este proyecto pretende desarrollar un congelador criogénico que cuente con sistema de control de temperatura por medio RST automatizado para la congelación de semen bovino que permita seguir los perfiles de temperatura o tasas de enfriamiento para garantizar la conservación y estabilización óptimas de las muestras de semen bovino, limitando la tecnología a componentes comerciales de fácil adquisición.

Es absolutamente necesario controlar y mantener constante la temperatura de descenso térmico de acuerdo al perfil necesario para evitar que los espermatozoides se dañen si el semen no se enfría con velocidades de enfriamiento óptimas.

Los dispositivos de medición y control permiten mantener y ajustar la temperatura en condiciones más adecuadas que las que puede hacer el propio operador.





Se espera tener resultados viables que propicien dar valor agregado a la crio preservación, concretando las bases para escalar el proyecto.

Dicho proyecto corresponde al sector pecuario del Estado de Durango, motivo por el cual este proyecto forma parte del sector de interés para el desarrollo económico del Estado.





## 1.2 Antecedentes

Según (Arango et al, 2017), las curvas de congelación de muestras biológicas de semen bovino son poco comunes en la literatura; sin embargo, existen algunas referencias que describen diferentes velocidades de congelación que se han logrado experimentalmente con resultados aceptables. La mayoría de los trabajos que han sido publicados relacionados con crio preservación utilizan sistemas automatizados de congelación que se pueden programar a diferentes velocidades de congelación (tasas de enfriamiento) como se describe a continuación:

Tasa de enfriamiento de 5 °C/min en el rango de temperatura de 5 °C a -10 °C, 40 °C/min en el rango de temperatura de -10 °C a -100 °C y 20 °C/min en la temperatura de -100 °C a -140 °C, como es mostrado en la Figura 1.1.



Fuente: (Arango et al, 2017)

La tasa es de 5°C/min en el rango de temperatura entre 5°C y -10°C y de -40°C/min en el rango de temperatura de -10°C y -150°C, como se muestra en la Figura 1.2.







Como se muestra en la Figura 1.3, entre +5 °C y -120 °C, la congelación fue más rápida a 60 °C/min.

TECNOLÓGICO



Si la congelación se realiza mientras se expone al gas nitrógeno líquido, la temperatura de congelación depende de la distancia vertical (altura) desde el nivel del refrigerante (nitrógeno líquido) en el que se encuentran las pajuelas (donde se almacena la muestra de semen de prueba). Para esta congelación experimental, la temperatura descendió a un ritmo de 150°C/min a 300°C/min. Del mismo modo, es recomendable un perfil para congelar las pajillas a -150 °C durante un máximo de 7 minutos. Estos parámetros presentan un buen comportamiento después de la descongelación.

La congelación por exposición al gas nitrógeno líquido tiene la ventaja de permitir que muestras de semen, en cualquier punto del proceso de congelación, experimenten la misma tasa de disminución térmica (enfriamiento), debido a que las muestras están a la misma altura. Por otro lado, en los sistemas de congelación programables automatizados, las muestras se colocan en diferentes niveles, lo que contribuye a cambios importantes en la velocidad de congelación.

Durante este proceso de congelación, las pajillas se exponen durante un máximo de 15 minutos (se recomiendan 10 minutos), normalmente a una altura de 4cm por encima del nivel del refrigerante (nitrógeno líquido). La velocidad de congelación suele ser de 60°C/min, y depende completamente de la altura entre las pajillas y el nivel de nitrógeno líquido.

En cuanto a la distancia de separación entre las pajillas, la superficie del nitrógeno líquido y el tiempo de contacto o exposición, hubo algunas diferencias entre los autores. Como resultado, algunos autores observaron





mejores resultados en la calidad del semen cuando las muestras de esperma se colocaron 2 cm por encima de la superficie del nitrógeno líquido por un período de 8 a 9 minutos. Para otro autor, la congelación durante la exposición al gas nitrógeno líquido, las muestras de semen deben exponerse durante 10 minutos. (Arango et al, 2017)

El objetivo del estudio realizado (Santos et al, 2013), fue predecir los gradientes de temperatura interna desarrollados durante congelación de esperma bovino diluido en diluyente, envasado en pajillas de plástico francés de 0.5 ml y suspendido en vapor de nitrógeno líquido estático a -100 °C. Para este propósito, se realizó un modelo matemático de calor de transferencia previamente desarrollado para predecir los tiempos de congelación (se consideró el cambio de fase) de semen/extensor empaquetado en paja se extendió para predecir los gradientes de temperatura interna durante el proceso de enfriamiento/congelación. Los resultados muestran que para el coeficiente de transferencia de calor externo h = 15 W/( $m^2 \cdot K$ ), la máxima diferencia de temperatura entre el centro y la periferia de la columna de semen/diluyente "líquido" es de 1.5 °C, mientras que para el coeficiente de transferencia de calor externo h = 5 W/( $m^2 \cdot K$ ), sólo es de 0.5 °C. Es decir, concluyó que, si un cable de termopar se insertaba en una pajita de plástico de 0.5 ml para controlar el proceso de congelación en el vapor de nitrógeno, su posición radial tendría poca importancia ya que los gradientes internos esperados pueden ser descuidados con seguridad. Este hallazgo facilita la interpretación de tasas de congelación en pajitas de plástico de 0.5 ml sumergidas en vapor de nitrógeno sobre nitrógeno líquido, un método ampliamente utilizado para la crio preservación de espermatozoides bovinos.

Como se mencionó antes, la crio preservación de esperma se basa en la congelación de semen en plástico pajillas (es decir, pajillas francesas de 0.5 ml) sumergidas en N<sub>2</sub>V estático y a una distancia específica por encima de LN<sub>2</sub>. Los valores de la literatura para el coeficiente de transferencia de calor (convección libre) en aire (78% nitrógeno) utilizados para el cálculo; y se utilizan dos valores de coeficiente de transferencia de calor, h = 5 y h = 15 W/m<sup>2</sup>K, para la estimación de los perfiles de temperatura interna.

Como resultados se obtuvo que el calor específico del semen bovino+extensor (entre -150 a 20 °C). El calor latente de fusión era  $\Delta$ Hm =264.95 KJ/Kg y el agua descongelada resultó en un 4,88% (base húmeda). La temperatura de





congelación inicial determinada experimentalmente fue Tf = - 2.8°C. Para aplicar las ecuaciones predictivas (Choi & Okos, 1986), de las propiedades termofísicas de la muestra de semen se adoptó la siguiente composición de la materia seca (fracciones de masa, base húmeda): hidratos de carbono = 0.098, grasa = 0.031, y proteína = 0.027. El contenido de humedad del semen+extensor fue medido experimentalmente y se encontró que era el 84.4 %. El calor específico aparente, la conductividad térmica, la densidad y la fracción de hielo frente a la temperatura se obtuvieron de (Santos et al, 2013).

Estos datos fueron incorporados en el programa numérico de elementos finitos para simular el calor de transferencia con transición de cambio de fase.

Pocos autores han medido la temperatura interna de la pajita de 0.5 ml durante la congelación de semen / diluyente en vapor de nitrógeno, y las determinaciones de gradientes internos casi no han sido reportados en la literatura.

Considerando las limitaciones de las mediciones de temperaturas internas para pajuelas de 0.5 ml, el programa numérico desarrollado por (Santos et al, 2013), se aplicó para obtener curvas tiempo-temperatura en varios puntos interiores de la paja. El programa permite la predicción de las curvas tiempo-temperatura en todos los nodos que constituyen la malla, así como cualquier punto específico mediante el uso de funciones de interpolación. En particular, se seleccionaron tres puntos para comparar los gradientes de temperatura internos: posición axial z =  $65x10^{-3}$  m (media altura de la pajilla) en tres posiciones radiales r = 0 (Pa), r =  $95x10^{-4}$  m (Pb = interfaz semen-soporte plástico), y r =  $1.3x10^{-3}$  m (Pc = interfaz soporte plástico-vapor de N<sub>2</sub>).

La figura 1.4 (a, b) presenta la evolución prevista de la temperatura en diferentes lugares de la paja durante el enfriamiento en vapor de nitrógeno a -100 °C y un  $h = 5 \text{ W} / (m^2 \text{ K})$ , y  $h = 15 \text{ W} / (m^2 \text{ K})$ .



**Figura 1.4.** Evolución prevista de la temperatura en diferentes lugares de la paja durante el enfriamiento en vapor de nitrógeno **Fuente:** (Santos et al, 2013)

Se puede observar que por debajo de aproximadamente -15 °C, los gradientes de temperatura en el semen / diluyente son casi nulo; a esta temperatura (-15 °C) alrededor del 85% del agua se ha congelado. El valor del coeficiente de transferencia de calor externo (h) afecta la magnitud del gradiente de temperatura previsto; cuando h aumenta de 5 a 15 W / (m<sup>2</sup> K) los gradientes térmicos son más importantes. Esto se explica porque a un valor bajo de h, la transferencia de calor es impulsada por la transferencia de calor externa, mientras que a mayor h la conducción del calor interno juega un papel más importante y los gradientes son más relevantes.

De este estudio se concluye que el programa numérico de elementos finitos permitió la predicción de temperaturas internas de semen / diluyente bovino colocado en una pajita de plástico de 0.5 ml y congelado en vapor de nitrógeno a - 100°C y las diferencias de temperatura entre el centro y la periferia de la columna de semen / diluyente envasada en pajita de 1.9 mm de diámetro interno. Los resultados indican estos los gradientes de temperatura a valores bajos de h son mínimos, alcanzando un máximo de 1.5 °C, y por tanto, puede descuidarse a efectos prácticos. Este hallazgo, confirmado además por el cálculo de los números de Biot que demostraron una resistencia controladora







externa, facilita la interpretación de las velocidades de congelación en pajitas de plástico de 0.5 ml sumergidas en vapor de nitrógeno sobre líquido nitrógeno, un método ampliamente utilizado para la crio preservación de esperma bovino. (Santos et al, 2013)

(Dalal et al, 2018), dicen que para una crio preservación satisfactoria del semen, la composición de un diluyente y la velocidad de congelación óptima juegan un papel importante para minimizar las tensiones extra e intracelulares. Durante el enfriamiento, el cambio de temperatura induce estrés en las membranas de los espermatozoides, lo que provoca cambios de fase en los lípidos y un estado funcional alterado de las membranas de los espermatozoides. Tales tensiones en las membranas pueden continuar por debajo de 0 ° C ya que los cambios de fase no se completan a 0 ° C. Es bien sabido que se produce un cambio de fase importante cerca de los 5 ° C a -15 ° C y este puede ser el rango de temperatura principal para las lesiones dependientes de la temperatura. (Polge, 1957), informó por primera vez que una zona de temperatura crítica entre -15 y -30 ° C es responsable de ejercer la mayor parte del daño a los espermatozoides y si las velocidades de enfriamiento no fueran óptimas, todas las células podrían dañarse por -80 ° C.

Hay dos rangos de temperatura principales en los que los espermatozoides se dañan durante la congelación: la fase de sobre enfriamiento (0 °C a -5 °C) y el período cuando se forman cristales de hielo (-6 °C a -15 °C). Además, (Mazur, 1965), ha opinado que el daño a las membranas de los espermatozoides ocurre durante el rango de temperatura de -15 °C a -60 °C durante la congelación y descongelación, lo que se denomina rango de temperatura crítica. Varios científicos han trabajado en el rango crítico para mejorar la motilidad y viabilidad después de la descongelación con resultados contradictorios.

(Kumar et al, 2003), han definido el rango de temperatura crítica entre -5 y -50 ° C, cuando se forman cristales de hielo y, en consecuencia, la deshidratación celular resulta en daño de los espermatozoides en situaciones extremas.

(Januskauskas et al, 1999), estudiaron los efectos de dos velocidades de enfriamiento diferentes sobre la motilidad posterior a la descongelación del semen de toros lecheros suecos. El semen se enfrió dentro de 20 min a 19 ° C a 21 ° C y luego se enfrió a 4 ° C a 4.2 ° C / min (rápido) y a 0.1 ° C / min (lento) velocidades de enfriamiento y se equilibró a 4 ° C durante 4 horas. Adicionalmente, el enfriamiento se realizó a una velocidad de 4°C/min a -10°C y







de -10°C a -150°C a una velocidad de 40°C/min. No se observaron diferencias en la motilidad posterior a la descongelación usando velocidades de enfriamiento rápidas y lentas.

(Woelders, 1997) estudió el efecto de las velocidades de enfriamiento entre -10 y -700°C en los cuatro protocolos de congelación -40, -76, -140 y -3000°C / min sobre la viabilidad de los espermatozoides de toro y encontró que la velocidad de enfriamiento se encontraba entre 76 y 1400°C / min como óptimo.

(Anzar et al, 2011), estudiaron los efectos de tres velocidades de enfriamiento entre -10 y -80 ° C (-10 ° C, -25 ° C y -40 ° C / min) en la motilidad posterior a la descongelación de los espermatozoides de toro y encontraron motilidad post descongelación similar.

(Rodriguez et al, 1975), estudiaron los efectos de las tasas de enfriamiento sobre la supervivencia de los espermatozoides de toro bovino. Las pajitas se enfriaron de 50°C a -1300°C en 3,5 min (enfriamiento rápido), en 20 min (enfriamiento moderado) y en 40 min (enfriamiento lento). Se encontró que el enfriamiento rápido dio como resultado una mejor motilidad posterior a la descongelación en comparación con otros.

(Kumar et al, 2003), estudiaron los efectos de la tasa de enfriamiento en la criosupervivencia del semen de toro y carnero utilizando un bio congelador. El semen se extendió a 22 ° C y se enfrió a 5 ° C durante 90 min (0.2 ° C / min) y de 5 ° C a -5 ° C a 5 ° C / min. De -5 ° C a -50 ° C, el esperma se enfrió usando tres velocidades de enfriamiento (1, 30 y 50 ° C / min) y luego se mantuvo durante 5 min antes de sumergirlo en nitrógeno líquido. La motilidad posterior a la descongelación en el semen de toros se observó como 27.5, 38.3 y 38.3% y la viabilidad como 49.6, 50.2 y 50.3%, respectivamente. A 1 ° C / min, 30 ° C / min y 50 ° c / min. La motilidad posterior a la descongelación en el semen de carnero se observó como 15.8, 15.8 y 25.8% y la viabilidad como 31.2, 45.7 y 34.8%, dentro de los mismos parámetros de temperatura respectivamente. Indica que la motilidad posterior a la descongelación es máxima a 50 ° C / min y la viabilidad es máxima a 30 ° C / min. Cabe mencionar que para el semen de bovinos toros actualmente se practica una tasa de congelación de ≥40 ° C en general para la crio preservación durante la zona de temperatura crítica. (Dalal et al, 2018)





Tabla 1. Resumen del rango de temperatura crítica informado por varios autores

No.	Autores	Rango de temperatura crítica
1	Drobnis et al. (1993)	5°C a -15°C
2	Woelders et al. (1997)	0°C a -15°C
3	Mazur (1965)	-15°C a -60°C
4	Kumar et al. (2003)	-5°C a -50°C
5	Mazur (1970)	-10°C a -50°C
6	Marshall (1984)	-5°C a -50°C
7	Polge (1957)	-15°C a -30°C

(Vishwanath & Shannon, 2000), en su revisión dicen que la técnica de congelar el semen en pajuelas de 0.25 o 0.5 ml en N<sub>2</sub> líquido es ahora universal. Esta tecnología está bien establecida y todos los equipos necesarios para llenar el semen en pajillas y acumularlas para congelarlas están disponible. (Vishwanath & Shannon, 2000)

(Ribeiro-Peres et al, 2014), comparan los métodos de crio conservación convencionales y automatizados para esperma obtenido del epidídimos, que se cola de toros después del sacrificio. Se utilizaron veintidós epidídimos, que se recolectaron de un matadero. Los espermatozoides se recolectaron mediante la técnica de flujo inverso utilizando una dilución sin crio protectores y se analizaron en cuanto a motilidad, vitalidad, integridad estructural y función de membrana, citoplasma, viabilidad, actividad mitocondrial e integridad del ADN. Los espermatozoides se dividieron en dos muestras y se diluyeron en un medio que contenía crio protector, se envasaron en pajuelas francesas, cada una con un contenido de 50x106 espermatozoides móviles. Las pajuelas se congelaron por métodos convencionales (4°C, 4 horas, en un refrigerador doméstico y 20 min sobre una superficie de líquidos que contienen nitrógeno líquido) y métodos automatizados.





En comparación con los métodos de congelación convencionales y automatizados, las muestras de semen fresco mostraron excelentes resultados en todos los parámetros realizados, excepto de los parámetros de pérdida de humedad (parámetro hipotónico o hipo osmótico), donde las muestras de semen fresco no presentaron un cambio significativo en comparación con las muestras de semen crio conservado por los métodos convencionales. La motilidad promedio de los espermatozoides frescos fue del 74% y del 29 y 25%, respectivamente con métodos convencionales y automatizados. Entonces, aunque la crio conservación reduce los parámetros de calidad del esperma, la motilidad del esperma se mantiene y puede usarse para la conservación del esperma.

Mientras que ciertos autores mencionan que no se observó una diferencia significativa en las pruebas de motilidad, viabilidad e integridad del acrosoma y de la membrana plasmática mitocondrial entre las técnicas convencionales y automatizadas de congelación de semen. Por otra parte, algunos otros dicen que se obtuvo mejor movimiento y vitalidad después de la crio preservación utilizando la técnica de congelación automática. Teniendo en cuenta la importancia de la crio preservación de semen para la reproducción y la escasez de estudios que comparen técnicas convencionales y automatizadas de crio preservación de semen para la reproducción y la escasez de estudios que comparen técnicas convencionales y automatizadas de crio preservación de semen bovino, se recomienda evaluar el impacto los métodos de crio preservación (convencionales versus automatizados) para la viabilidad del semen obtenido del epidídimo de toros después de la matanza.

En el estudio, el componente seminal se dividió en dos muestras, es decir, se congelaron mediante el método convencional, así como el también por el automatizado. Se calcula la cantidad de diluyente en mililitros, en función de esperma de la muestra obtenida. El componente seminal se diluyó en un medio que contenía aproximadamente un 4% de glicerol en la solución final. Después de la dilución, las muestras se envasaron en pajuelas francesas de 0.5ml, cada una de las cuales contenía 50x106 espermatozoides móviles, a una temperatura ambiente de 25 °C. Las pajuelas se congelan por métodos tanto convencionales como automatizados. De acuerdo con el método convencional, la paja se coloca en una canasta de acero y se enfría a 4°C durante 4 horas en un refrigerador doméstico. Pasado este tiempo, la canasta de metal, con las pajitas, se transfirió a un recipiente de poliestireno que contenía nitrógeno líquido y se colocó a 6 cm sobre la superficie del líquido durante 20 min. Finalmente, las pajuelas se





sumergen en nitrógeno líquido y luego se almacenan en un termo de nitrógeno líquido.

Después del empaque o acondicionamiento, las pajuelas se refrigeraron utilizando un dispositivo automático de congelación de semen y un procedimiento estándar para semen bovino, de acuerdo con lo recomendado por el fabricante. El procedimiento para este método utiliza una velocidad de enfriamiento lento de -0.25 °C/min, una temperatura de equilibrio de 5 °C, un tiempo de equilibrio de 180 min, una velocidad de congelación lenta de -5 °C/min y una temperatura de congelación final de -100° C. Después de la congelación, las pajuelas se almacenan en un termo de nitrógeno líquido.

En todos los parámetros realizados, las muestras de semen congeladas tanto por métodos convencionales y automatizados no difirieron significativamente cuando se compararon entre sí, tal y como lo muestra la tabla 2.

Parámetro	Espermatozoides frescos	Congelación convencional	Congelación automatizada
Motilidad (%)	74,5 ± 5,2	29,5 ± 14,9	25,5 ± 12,1
Vigor (0 a 5)	3,5 ± 0,5	2,1 ± 0,8	2,0 ± 0,6
Concentración total (x10 <sup>9</sup> )	2,1 ± 1,7	*	*
Integridad del DNA (%)	99,2 ± 0,9	93,1 ± 6,1	92,4 ± 13,1
Integridad estructural de la membrana (%)	77,7 ± 10,7	63,1 ± 13,6	69,2 ± 16,4
Integridad funcional de la membrana (%)	69,7 ± 9,2	60,2 ± 10,0	59,6 ± 11,4
Viabilidad espermática (%)	69,4 ± 10,7	53,9 ± 11,8	52,7 ± 9,0
Actividad mitocondrial			
Categoría 1	97,6 ± 36,9	24,7 ± 23,7	32,7 ± 32,1
Categoría 2	60,5 ± 32,6	139,6 ± 21,5	117,8 ± 24,9
Categoría 3	24,9 ± 16,5	30,2 ± 19,0	44,7 ± 19,7
Categoría 4	16,9 ± 9,4	5,5 ± 6,5	4,7 ± 7,1
Índice actividad mitocondrial	67,1 ± 9,3	51,0 ± 7,9	51,4 ± 10,5

Tabla 2. Parámetros de la calidad de semen (media ± SD) de once bovinos





En comparación a los métodos de congelación tradicionales y automatizados, las muestras de semen fresco mostraron excelentes resultados en todos los parámetros realizados, excepto para los parámetros hiposmóticos. Para el medio hiposmótico, las muestras de semen obtenidas del epidídimo, congeladas por métodos convencionales, se comportan de manera similar a las muestras de semen fresco. Sin embargo, la Tabla 2 muestra que los valores del parámetro de integridad funcional de la membrana fueron más altos para el semen fresco, valores medios para semen congelado de forma convencional y valores más bajos para el esperma congelado usando métodos automatizados. En cuanto al resto de parámetros, las muestras de semen congeladas por métodos convencionales y automatizados no difirieron significativamente cuando se compararon entre sí.

En base a los resultados, se concluye que, si bien la crio preservación automatizada y convencional para el semen obtenido del epidídimo caudal redujeron significativamente todos los parámetros de calidad de esperma evaluados, lograron mantener la viabilidad de los espermatozoides y pueden utilizarse con un gran potencial de aplicación para el almacenamiento y conservación de espermatozoides obtenidos del epidídimo en programas de reproducción asistida. Además, la crio preservación automatizada puede reemplazar a la crio preservación convencional sin dañar los espermatozoides que se obtuvieron del epidídimo, aunque se deben considerar mayores costos de equipo y consumo de nitrógeno líquido al usar esta técnica. (Ribeiro-Peres et al, 2014)

En el artículo que presentan (Medina-Robles et al, 2007), para la revista Orinoquia mencionan que considerando los factores que se deben tener en cuenta durante la congelación, este estudio evaluó la crio preservación de semen bovino usando un congelador programable para y determinó su calidad después de la descongelación utilizando el sistema de análisis de semen asistido por computadora CASA. Lo anterior, es para optimizar el proceso de crio preservación de la especie y contribuir a la formación de un banco de germoplasma de calidad.

Para este estudio, las pajuelas se colocaron en la cámara criogénica de un congelador programable CL-8800, pre llenado de nitrógeno líquido y ajustado a 20 °C (temperatura inicial) para posteriormente, bajar la temperatura e iniciar el proceso de congelación durante un tiempo con una media de 18 minutos.





La congelación se controló midiendo la temperatura cada 15 segundos durante el enfriamiento desde 20 °C hasta -70 °C (temperatura de congelación final en CL-8800). Al final del procedimiento de congelación, las pajas se colocaron en un termo de almacenamiento y se sumergieron en nitrógeno líquido a -196 °C hasta que se evaluó durante al menos 15 días. Para el análisis del perfil de temperatura se establecieron 3 rangos basados en el proceso biofísico de congelación de la siguiente manera: 20°C a 0°C, 0°C a -15°C y -15 °C a -70 °C. El perfil de temperatura se expresa en °C min.

El perfil de temperatura de crio preservación de semen bovino empacado en pajuelas de 0.5ml medido en el congelador programable CL 8800 en este estudio mostró una disminución lenta de temperatura de 20°C a -70°C, con una velocidad de congelación total de 4.9°C/min. Para rangos de temperatura dados, las velocidades de congelación para la crio preservación de semen bovino es de 7°C/min de 20°C a 0°C, 5.4°C/min de 0 a -15°C y 4.3°C/min de -15°C a -70 ° C. De acuerdo con las características anteriores, la congelación desde temperaturas bajas hasta -70 ° C toma alrededor de 18 minutos.



**Figura 1.5.** Motilidad y viabilidad de la masa espermática durante las etapas de crio preservación en el cultivar Sanmartinero **Fuente:** (Medina-Robles et al, 2007)

Dado que la etapa en el que la motilidad de los espermatozoides se reduce significativamente durante la congelación, se necesitan presentar nuevos estudios para investigar los efectos de velocidades más rápidas y más lentas de caída de temperatura. De igual manera, estudiar el efecto de iniciar la curva a partir de 4°C, lo cual es tradicional para la especie. Se debe estudiar una curva de descongelación más lenta, como usando un baño de agua fría (4°C), que es más consistente con las tasas de congelación observadas en el estudio actual.







De igual forma, se propone evaluar la sustitución de fructosa por glucosa en el diluyente, que ha demostrado ser más efectivo en otras especies. (Medina-Robles et al, 2007)

En el artículo de (Swartz & Lawrence), dicen que el adjetivo "criogénico" aplicado a los sistemas de control de temperatura define un conjunto de condiciones que los distingue de aquellos para los que existe la gran mayoría de aplicaciones, es decir, procesos industriales en los que las temperaturas están por encima, y a menudo muy por encima, de la temperatura ambiente. Hay al menos cinco factores que afectan de manera crucial el desempeño del control de temperatura cuando se compara un sistema criogénico con el existente dentro de un horno, por ejemplo:

1. Los valores de capacidad calorífica (menor, Cp, y conductividad térmica (a menudo mayor,  $\kappa$ , son tales que constantes de tiempo térmico mucho más cortas (τ α Cp /  $\kappa$ ) son la regla a bajas temperaturas.

2. El sensor de temperatura utilizado en un horno es casi siempre uno de una variedad de termopares con sensibilidades en el rango de 10–100  $\mu$ V / ° C. En el régimen criogénico, los termómetros de resistencia (tanto metálicos como semiconductores), diodos y termómetros de capacitancia proporcionan una sensibilidad de uno a tres órdenes de magnitud mayor.

3. La entrada de calor para los hornos casi siempre se deriva de una fuente de frecuencia de línea y está controlada por relés, transformadores variables, reactores saturables o SCR. Los experimentos realizados en un criostato suelen implicar señales de bajo nivel y, por tanto, requieren un fondo de bajo ruido. Por esa razón, para alimentar el calentador se debe utilizar corriente continua libre de ondulaciones, generalmente controlada por un banco de transistores en serie.

4. A medida que se atraviesa el régimen criogénico desde el rango del helio líquido hasta la temperatura ambiente, puede haber variaciones bastante grandes tanto en las constantes de tiempo térmicas como en las sensibilidades del termómetro.

5. En el caso del horno en el que la carga no experimenta grandes reacciones endo o exotérmicas, la entrada de calor requerida para mantener una temperatura de punto de ajuste es aproximadamente constante. Esto se debe a que la pérdida de calor a través de una conductancia térmica fija al ambiente a





temperatura ambiente fuera del horno también es constante. Sin embargo, existen sistemas criogénicos en los que el entorno de baja temperatura proporcionado por, por ejemplo, un criógeno circundante, como un baño de helio líquido o nitrógeno líquido, puede variar drásticamente a medida que cambia el nivel del criógeno. Además, la conductancia térmica al mundo exterior en gran medida es dependiente de la presión generada por el gas (vacío) que se mantiene en el criostato. Las variaciones resultantes en la "potencia de enfriamiento" harán que los requisitos de entrada de calor sean cualquier cosa menos constantes. Algunos sistemas criogénicos emplean un circuito de enfriamiento de controlador.

La mayoría de las dificultades en las aplicaciones de control criogénico están asociadas con los factores 4 y 5, donde están involucrados cambios en los parámetros. (Swartz & Lawrence)





## 1.3 Definición del problema

Con la realización de este proyecto, se tendrá la posibilidad de fortalecer las líneas de investigación y aplicación de sistemas criogénicos enfocados en el congelamiento de semen bovino por medio de un control RST.

Es decir, se pretende llegar a la aplicación práctica de un control RST en un prototipo de un congelador criogénico, limitando la tecnología a componentes comerciales de fácil adquisición.

De igual manera se espera lograr poner a disposición de productores interesados, un sistema automático para la congelación de muestras de semen bovino, con elementos tecnológicos de última generación pero de adquisición fácil y económica.







## 1.4 Justificación

La inseminación artificial es la herramienta más valiosa para la difusión de germoplasma de bovinos y para el control de enfermedades venéreas. Para lograr que esta tarea sea exitosa, la crio preservación efectiva del semen es imprescindible. La crio preservación de semen facilita su manejo y transporte para largas distancias y su uso incluso después de la muerte del padre, sin embargo con los métodos que aún en la actualidad se utilizan no ha sido posible lograr una eficiencia elevada en la preservación efectiva del semen de diversas especies de animales. El congelamiento de las muestras de semen se debe hacer siguiendo de manera fiel el perfil de temperatura adecuado para cada tipo de ganado, ya que de no ser así en el proceso de descongelamiento una gran parte de espermatozoides no sobreviven y se disminuye la calidad de la muestra y la tasa de éxito en la inseminación artificial se afecta de gran manera.

México está incursionando cada vez más en los mercados internacionales, convirtiendo a nuestro país en el sexto productor de carne bovina y el octavo exportador mundial de carne bovina. La producción de leche ocupa el 30.6% del valor de la producción ganadera nacional, ocupando el tercer lugar, mientras que México ocupa el séptimo lugar a nivel mundial. Los tres principales estados que producen leche aportan más del 40% de la producción nacional: Jalisco con el 20,3%, Coahuila con el 11,3% y Durango con el 10,2%. Esto demuestra su enorme potencial de desarrollo y la ventaja competitiva de la industria ganadera. (MSD Salud Animal México, 2020)

En Septiembre de 2019, el Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Secretario de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural de Durango, Joel Corral Alcántara dio a conocer que en el ciclo ganadero 2018-2019, Durango fue el tercer lugar a nivel nacional en cuanto a exportaciones, aportando más de 2,500 millones de pesos a la economía del estado mediante esta actividad ganadera. (Gobierno del Estado de Durango 2016 - 2022, 2019)

Actualmente, México brinda al mercado interno y al mundo alimentos de origen animal seguros y de alta calidad, producto de una alianza entre la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) con productores y la industria veterinaria. (Deloitte, 2018)

En 2018, por tercer año consecutivo, con un superávit comercial, las cifras preliminares muestran que las exportaciones tanto agrícolas como ganaderas





superan los \$32 mil millones de dólares, y México es el principal proveedor de alimentos a Estados Unidos, según el Consejo Nacional de Agricultura y Ganadería. (Deloitte, 2018)

Al llevar a cabo este proyecto no solo se fortalece el sector pecuario porque su uso no es exclusivo de éstos sino también a es posible lograr la automatización de un control de temperatura mediante la aplicación de técnicas RST para condiciones diversas de operación del sistema ya que se podría replicar debido a que los principios de funcionamiento, filosofía de operación y control están sustentadas en la misma base. Solo sería necesario hacer las modificaciones pertinentes de acuerdo a las necesidades de operación del equipo.





# 1.5 Hipótesis

Es posible lograr la automatización de un sistema criogénico para congelamiento de semen de bovinos mediante la aplicación de técnicas de control RST para condiciones diversas de operación del sistema.





## 1.6 Objetivos

## 1.6.1 Objetivo General

Desarrollar un algoritmo de control por seguimiento de señal de referencia para un sistema de congelación de muestras de semen de bovino, para el control de un congelador criogénico.

### 1.6.2 Objetivos específicos

- Determinar el modelo de la planta
- Desarrollar el modelo general del sistema de control mediante RST
- Ejecutar simulación de prueba del comportamiento del sistema de control
- Realizar control de calidad para verificar el correcto funcionamiento del sistema de control
- Puesta en marcha del sistema de control





## 1.7 Metodología

- 1. Propuesta de un control RST para la planta, donde el objetivo de control es el de seguir un perfil de temperatura para el congelamiento de las muestras de semen bovino
- 2. Determinar los valores de las constantes (masa y calor específico) de los materiales del congelador, es decir la planta.
- 3. Propuesta de diseño completo del sistema de control RST, aplicado al sistema criogénico para las muestras de semen bovino.
- 4. Desarrollo práctico del sistema de control
- 5. Diseño de PWM para el control de potencia del elemento calefactor
- 6. Diseño de la parte de control de potencia del elemento calefactor



## 2.1 Criogenia

El ámbito de la criogenia es muy amplio. Se define como la ciencia y la ingeniería de actividades y sistemas cuya temperatura es inferior a -150 °C. (Peterson & Weisend II, 2019)

La criogenia es la ciencia y la tecnología que se ocupa de las temperaturas inferiores a unos 120 K (-150° C). Las técnicas utilizadas para producir temperaturas criogénicas difieren en varios aspectos de las que se ocupan de la refrigeración convencional. En la práctica, estas dos áreas se solapan a menudo y la frontera entre la refrigeración convencional y la criogénica es a menudo indistinta. (Timmerhaus & Reed, 2007)

La criogenia está asociada con un mundo de baja temperatura. En la práctica, la criogenia es la ciencia dedicada a la producción de gases, con temperaturas entre -100 y -273 °C (la más baja de ambas equivale al cero absoluto de la escala Kelvin).

Actualmente se ha conseguido llegar hasta la temperatura alrededor de -270 °C.

Cuando se habla de criogenia, se entiende que nos referimos al uso con gases licuados a baja temperatura.

Aunque existen once gases básicos que pueden licuarse a temperaturas inferiores a -100 °C solo de cuatro se dispone en abundancia, y son: el nitrógeno, el oxígeno, el helio y el hidrógeno. (González, 2014)

La criogenia es la ciencia de crear e investigar condiciones de baja temperatura. La palabra criogenia se deriva de las palabras griegas kryos, que significa "escarcha" o "frío", y génico, que significa "producir".

Aunque las temperaturas frías pueden incluir temperaturas al nivel de congelación del agua (0 ° C), el término "Entorno criogénico" se refiere al rango de temperatura por debajo del punto en el que los gases comienzan a licuarse. El término se aplicó inicialmente a temperaturas de aproximadamente -100 ° C (-148 ° F) hasta cero absoluto Kelvin, y hoy la definición está relacionada con temperaturas por debajo de aproximadamente -150 ° C (-238 ° F).




Tabla 3. Puntos de ebullición de varios gases

Elemento gaseoso	к	°C	°F
Argón	87	-186	-302
Helio	4.2	-269	-452
Hidrógeno	20	-253	-423
Kriptón	120	-153	-242
Neón	27	-246	-411
Nitrógeno	77	-196	-320
Oxígeno	90	-183	-297
Xenón	166	-107	-161

Se utilizan varios métodos para alcanzar temperaturas criogénicas, estos métodos se basan en la conducción de calor, el enfriamiento por evaporación, el enfriamiento por expansión rápida y la desmagnetización adiabática. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

Criogenia significa literalmente "frío glacial". Sin embargo, el término generalmente se refiere a temperaturas por debajo de 120 K (-150°C). (Thirumaleshwar & Subramanyam, 1986)

"Temperatura baja" es una temperatura por debajo del promedio fisiológico (por ejemplo, 34°C a 37°C). Las "temperaturas extremadamente bajas" pueden diferir de las descritas en la ciencia de los materiales, donde los científicos estudian y usan temperaturas que descienden mucho, hasta -269 °C o 4K (temperatura del helio líquido). A diferencia de la literatura científica presentada en otros estudios, la criogenia opera principalmente a temperaturas de nitrógeno líquido (-196 °C o 77 K) o superiores.

El rango de temperaturas que se denominan criogénicas va desde los –150 °C (– 238 °F) hasta el cero absoluto (–273 °C o –460 °F), donde este último es el nivel teórico en el que se encuentra la materia, su energía más baja, o estado fundamental. En la escala absoluta, o Kelvin, esta temperatura más baja se escribe como 0 K (sin el signo de grado).





Las temperaturas inferiores a -196 °C se evalúan en un entorno criobiológico; sin embargo, no se encontró ningún beneficio significativo al aplicar dichas estrategias a la crio conservación o crio preservación. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

El campo de la criogenia se denomina generalmente a los procesos que tienen lugar en el rango de temperaturas de aproximadamente T<-150°C, donde se condensan los gases permanentes (nitrógeno y oxígeno). Se trata de una definición arbitraria pero útil que convierte a la criogenia en un campo único de la ingeniería térmica. El tema abarca muchas disciplinas, como la refrigeración, la mecánica de fluidos y la transferencia de calor, la ciencia de los materiales y la instrumentación. ΕI campo tiene amplias aplicaciones en energía, procesamiento de materiales, medicina y ciencias básicas. (Timmerhaus & Reed, 2007)

#### 2.1.1 Sistemas de refrigeración para alcanzar temperaturas criogénicas

Durante muchos años, el uso de sistemas criogénicos ha brindado un método relativamente simple y confiable de enfriamiento en una amplia gama de temperaturas: desde menos de 4K para helio líquido hasta 77 K para nitrógeno líquido y hasta 150 K para el amoníaco sólido. Estos sistemas se basan en la ebullición o sublimación de fluidos criogénicos o refrigerantes sólidos para proporcionar la refrigeración de carga requerida.

El uso de productos criogénicos almacenados, como nitrógeno líquido o helio líquido, suele ser el método preferido para la crio congelación de una amplia variedad de dispositivos. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

El LN<sub>2</sub> se ha convertido en el refrigerante estándar, porque puede fabricarse a gran escala en plantas de separación de aire y puede almacenarse y transportarse fácilmente a bajo coste. El aire atmosférico está compuesto por un 79% de nitrógeno, por lo que el uso de LN<sub>2</sub> no es contaminante y contribuye a un calentamiento global nulo. Por lo tanto, el LN<sub>2</sub> es muy atractivo desde el punto de vista medioambiental como refrigerante en comparación con los gases inertes o líquidos volátiles, aunque su uso representa un costoso derroche de energía termodinámica.

Por ello, el uso de LN<sub>2</sub> como fuente conveniente de frío ha crecido enormemente en muchos ámbitos de aplicación, como la congelación de alimentos, la crio preservación de material biológico, sangre, semen y







embriones, células madre, tejidos, en la criocirugía, entre otros. (Timmerhaus & Reed, 2007)

A la temperatura del nitrógeno líquido a presión atmosférica (-196°C), se detienen las reacciones bioquímicas y no se produce ningún proceso biológico que pueda provocar daños. (Alvarez et al, 2007)

La tecnología criogénica implica la ciencia y las técnicas de licuefacción, transporte y uso de fluidos criogénicos como el nitrógeno líquido (LN<sub>2</sub>), el hidrógeno líquido (LH<sub>2</sub>), el helio líquido (LHe), entre otros. (Thirumaleshwar & Subramanyam, 1986)

Los crio enfriadores son dispositivos utilizados para producir refrigeración a temperaturas criogénicas, que normalmente son inferiores a 123 K. Estas bajas temperaturas tienen muchas aplicaciones, algunas de las cuales se indican a continuación. (Milind D, 2020)

- Licuación y separación de gases
- Refrigeración de dispositivos superconductores
- Criobombas de vacío limpio
- Ablación de tejidos (criocirugía)
- Conservación de material biológico y alimentos
- Refrigeración de dispositivos electrónicos con bajo ruido térmico

### 2.1.2 Propiedades de los líquidos criogénicos

El método más sencillo para obtener bajas temperaturas es utilizar un criógeno líquido. El nitrógeno líquido (LN<sub>2</sub>) (Punto de ebullición ~ -196 °C a una atm de presión) y el helio líquido (LHe) (Punto de ebullición = -269 °C a una atm de presión) son los criógenos más utilizados. El hidrógeno líquido tiene un punto de ebullición normal de -253 °C. En general, su uso en el laboratorio está restringido debido a los riesgos de seguridad. Si el LN<sub>2</sub> se va a utilizar en pequeñas cantidades y para periodos de tiempo cortos, se puede almacenar en recipientes térmicos; pero si los experimentos se van a realizar durante periodos de tiempo más largos, se debe utilizar un criostato adecuado con aislamiento al vacío. (Thirumaleshwar & Subramanyam, 1986)

Todos los líquidos criogénicos producen grandes volúmenes de gas cuando se vaporizan. Por ejemplo, 1 vol de nitrógeno líquido a su temperatura de ebullición a 1 atm se vaporiza en aproximadamente 700 vol de gas nitrógeno





cuando se calienta a temperatura ambiente a 1 atm. En la tabla 4 se dan otros ejemplos de las propiedades de los líquidos criogénicos en comparación con el agua.

La temperatura crítica es la temperatura máxima a la que un material pasa de gas a líquido independientemente de la presión. Los líquidos criogénicos, concretamente el nitrógeno y el helio, tienen temperaturas críticas muy bajas, 126.3 K (-232°F) para el nitrógeno y 5.2 K (-450°F) para el helio. Debido a las temperaturas críticas extremadamente bajas, cuando los líquidos criogénicos se calientan (es decir, se exponen a la temperatura ambiente), se convierten muy rápidamente en gas. Si están confinados en un recipiente, la presión de vaporización del líquido puede ser bastante alta. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

Sustancia	Punto de ebullición (°C)	Temperatura crítica (°C)	Relación de expansión de volumen	Tipo de gas
Agua	100	374	1673:1	
Oxígeno	-183.0	-119	860:1	Oxidante
Argón	-185.7	-122	847:1	Inerte
Flúor	-187.0	-129	888:1	Reactivo
Nitrógeno	-195.8	-147	696:1	Inerte
Hidrógeno	-252.7	-240	851:1	Inflamable
Helio	-269.0	-268	757:1	Inerte

Tabla 4. Propiedades del líquido criogénico en comparación con el agua

El desarrollo de las aplicaciones prácticas de la criogenia en los últimos 50 años ha tenido lugar en paralelo al desarrollo de la mejora del almacenamiento de los líquidos criogénicos (es decir, todos los líquidos con puntos de ebullición normales por debajo del punto de hielo a 273 K, es decir 0° C. (Timmerhaus & Reed, 2007)

El nitrógeno líquido se usa como elemento de crio preservación biológica, además del nitrógeno los líquidos que se utilizan en la criogenización son: dióxido de carbono, oxígeno, helio y argón. (Alvarez et al, 2007)





#### 2.1.3 Riesgos criogénicos

En todas sus formas, la criogenia presenta riesgos de seguridad únicos. Entre ellos se encuentran los problemas asociados a:

- El frío extremo de la criogenia
- La inflamabilidad de algunos fluidos criogénicos
- El aumento de la combustión asociado a la presencia de oxígeno líquido
- El desplazamiento del oxígeno por los gases que hierven de los líquidos criogénicos (Peligros de deficiencia de oxígeno)
- Las altas presiones que pueden formarse durante la expansión de volumen que se produce cuando un fluido criogénico se convierte en un gas a temperatura ambiente.

A pesar de estos riesgos, el trabajo a temperaturas criogénicas puede realizarse con seguridad.

La seguridad criogénica se conoce bien y se basa en años de experiencia. Además, la investigación es continua a medida que avanza el campo de la criogenia. (Peterson & Weisend II, 2019)

Los líquidos criogénicos y sus vapores pueden congelar rápidamente los tejidos humanos y hacer que muchos materiales comunes como el acero al carbono, el caucho y los plásticos se vuelvan frágiles o incluso se rompan bajo tensión. Los líquidos criogénicos en contenedores y tuberías con temperaturas iguales o inferiores al punto de ebullición del aire licuado (-194°C [-318°F]) pueden condensar el aire circundante y provocar una atmósfera enriquecida de oxígeno localizada o formar hielo.

Pueden formarse tapones de hielo si la tapa superior, el puerto de escape o la válvula de gas de un recipiente criogénico se dejan abiertos, donde la humedad puede entrar en el cuello del recipiente. Cuando la humedad se convierte en hielo, se produce una situación potencialmente explosiva a medida que el líquido criogénico del recipiente se calienta y aumenta la presión.

Al igual que las quemaduras por calor, la exposición de la piel a los criógenos puede provocar la congelación local, el desgarro o la eliminación de la piel. Debido a la disminución de la sensibilidad, las quemaduras no atendidas pueden provocar una mordedura por congelación. La exposición prolongada a exposición al vapor o al gas frío puede dañar los pulmones y los ojos. Debido a la





baja viscosidad del criógeno, penetra en la ropa tejida y en otras prendas porosas más rápidamente que el agua, por lo que se requiere una protección especial en todo momento cuando se transfieran o se trabaje con líquidos criogénicos.

Un líquido criogénico no puede mantenerse indefinidamente como líquido ni siquiera en recipientes bien aislados. Si estos líquidos se vaporizan en un contenedor sellado, pueden producir enormes presiones que podrían romper el contenedor. Pueden producirse lesiones o daños como resultado de la fuerza de la presión o de los proyectiles del contenedor dañado o de la propulsión de objetos cercanos. Por esta razón, los contenedores criogénicos presurizados suelen estar protegidos con múltiples dispositivos para la prevención de la sobrepresión. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

Los principales peligros que se presentan en la utilización de líquidos criogénicos se deben a las condiciones físicas en las que se encuentran (temperatura, presión de vapor, entre otros). Los riesgos más comunes de estos líquidos son: quemaduras por frío, congelamiento o hipotermia, falta de oxígeno en el aire y asfixia. Estos riesgos se controlan a través de medidas de protección tanto colectivas (detectores de concentración de oxígeno, diseño de instalación, entre otras) y medidas de protección personal (guantes, gafas, entre otras). (Alvarez et al, 2007)







# 2.2 Crio preservación y crio conservación

La congelación de semen bovino (también llamada crio conservación o crio preservación) implica bajar la temperatura de la muestra de semen a un nivel biológicamente estable. Esta congelación se realiza sumergiendo la muestra de semen en nitrógeno líquido (LN<sub>2</sub>). Cuando la muestra se sumerge, ésta entrará en estado de ebullición debido a la gran diferencia de temperatura entre la muestra y el nitrógeno líquido (LN<sub>2</sub>), lo que provocará la evaporación y la cristalización. (Arango et al, 2017)

La crio preservación es una técnica mediante la cual el material biológico puede almacenarse indefinidamente. Esta tecnología es una alternativa a la construcción de bancos de genes, ayudando a mantener la biodiversidad y asegurando la conservación física de las especies. (Medina-Robles et al, 2007)

La crio preservación tiene por objeto mantener el semen en estado viable para que pueda ser utilizado y pueda llevar a cabo su función fisiológica después de la misma.

La crio preservación de semen bovino se utiliza para almacenar a largo plazo el producto que debe ejercer sus funciones fisiológicas normales después de descongelado.

Es particularmente útil para mantener viable el producto entre su obtención y su utilización cuando hay un período de tiempo largo entre ambos procesos.

El desarrollo de las técnicas de crio preservación de semen bovino ha permitido el progreso de muchas terapias de reproducción asistida. (Alvarez et al, 2007)

Inicialmente, las técnicas de crio preservación de esperma progresaron lentamente, sin embargo, hasta 1983, no se estandarizaron por completo. Los efectos de la crio preservación sobre la función y la fertilidad de los espermatozoides han sido ampliamente estudiados y descritos, especialmente en bovinos, caprinos y peces. (Medina-Robles et al, 2007)

La crio conservación está diseñada para preservar la viabilidad y función de las células a bajas temperaturas. (Ávila-Portillo et al, 2006)

El objetivo de la crio preservación es lograr la solidificación amorfa de las células y mantener este estado durante el almacenamiento a largo plazo. Además, se debe evitar la formación de hielo en el interior de las células al enfriarlas y





calentarlas. La crio preservación exitosa permite un almacenamiento casi indefinido en estasis eficiente sin pérdida de vigor celular.

Para lograr una vida de almacenamiento prolongada sin daño (debido a las condiciones de almacenamiento), no se debe obtener un estado líquido. A temperaturas cercanas al nitrógeno líquido, las reacciones químicas no pueden ocurrir debido a la energía térmica insuficiente. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

Según la cantidad de espermatozoides móviles, la tasa de fertilización del semen bovino congelado es más baja que la del semen fresco, y el resultado de la fertilización del semen congelado no es tan bueno como el del semen fresco. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Durante el proceso crio preservación, el semen tiene que pasar por los pasos de refrigeración, congelación y descongelación. En comparación con el semen fresco, estas etapas pueden causar daño celular en diversos grados y reducir la fertilidad. Esta disminución se debe a una combinación de pérdida de viabilidad de espermatozoides y patrones de motilidad de la población sobreviviente. Algunos factores que afectan la supervivencia de los espermatozoides congelados son la composición del medio, el crio protector y la velocidad de congelación/descongelación. Incluso en las mejores condiciones de crio preservación, aproximadamente la mitad de la población original muere después de la descongelación, y los que sobrevivan pueden experimentar cambios que afecten la actividad funcional de los espermatozoides descongelados. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Los productos crio conservados deben almacenarse entre -133 °C (vapor de nitrógeno líquido) y -196 °C (nitrógeno líquido). A estas temperaturas, no hay difusión ni energía térmica suficiente para llevar a cabo una reacción química, por lo que la dificultad de congelación no surge de la retención de baja temperatura sino del proceso de congelación y descongelación. (Ávila-Portillo et al, 2006)

El mayor reto al que se enfrentan las células durante la congelación no es resistir la baja temperatura del nitrógeno líquido, sino mantener la viabilidad en un rango de temperatura de -15 °C a -60 °C, a las que la célula se somete dos veces, durante la congelación y descongelación. A -196 °C no se produce ninguna reacción endotérmica, porque por debajo de -130°C no hay agua líquida. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)





El proceso de crio preservación consta de cinco (5) pasos: dilución, refrigeración, adición de crio protector, congelación y descongelación, y aunque algunas etapas son relativamente inofensivas, otras son muy estresantes, como es la refrigeración y congelación. Cada paso del proceso tiene una interacción específica con la estructura de la membrana, la función y el metabolismo de la célula; los espermatozoides pueden perder su capacidad de funcionar normalmente en cualquier etapa. Por otro lado, estos pasos del proceso de congelación se influyen entre sí, por lo que la tasa de cambio de temperatura elegida en un paso dado del proceso afecta directamente la tasa que se utilizará en el siguiente paso. Por lo tanto, para lograr la máxima vida útil de la célula, la tasa de descongelación debe coincidir con la tasa de congelación adecuada. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

El relativo éxito de la crio preservación de esperma indica que se ha logrado un progreso significativo en el intercambio internacional de animales genéticamente superiores, la biotecnología, la conservación de especies en peligro de extinción y la medicina reproductiva humana. (Ávila-Portillo et al, 2006)

# 2.2.1 Tasas de congelación, curvas de enfriamiento y protocolos de crio preservación

Se han desarrollado numerosos procedimientos de congelación, principalmente debido a las diferencias observadas en las respuestas entre especies a las tasas de congelación y descongelación utilizadas. Por lo tanto, debido a esta situación, se deben validar las técnicas y procedimientos existentes a partir del semen de especies de interés, para que de ésta manera se logre su conservación a largo plazo sin afectar significativamente su capacidad de fertilizar. (Medina-Robles et al, 2007)

Se han probado diferentes velocidades de enfriamiento y descongelación en la crio conservación periódica de diferentes especies sin establecer la curva estándar exacta. Esto se debe principalmente a que el resultado depende de factores como el diluyente, el crio protector utilizado y el tamaño del sistema de encapsulación; así como la buena calidad del semen, un parámetro que varía mucho entre individuos. (Medina-Robles et al, 2007)

La obtención de un procedimiento ideal para la crio conservación depende del conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de las células y/o tejidos, ya que





en el proceso influyen diversas variables como la especie, el tipo y el estado de las células que serán congeladas. El éxito de la crio conservación es inversamente proporcional a la complejidad del sistema biológico criogénico. (Ávila-Portillo et al, 2006)

La comprensión y aplicación adecuada de la crio preservación de materiales biológicos es fundamental para los laboratorios y bancos de células. Sin embargo, aunque se han introducido procedimientos de crio conservación, todavía no son óptimos en la mayoría de los casos. (Ávila-Portillo et al, 2006)

La crio conservación de esperma humano y bovino se ha desarrollado empíricamente, utilizando velocidades de congelación de hasta 100-200 °C/min y medios a base de glicerol con citrato de yema de huevo, pero otros estudios han demostrado un alto porcentaje de supervivencia exitosa usando etilenglicol. Sin embargo, es necesario volver a examinar estos procedimientos, con especial atención a los daños que plantea o se pueden ocasionar por el almacenamiento en frío. (Ávila-Portillo et al, 2006)

En la búsqueda de soluciones para controlar con precisión cada una de estas variables, un criostato controlado y programado por computadora ha ayudado a obtener perfiles de congelación muy uniformes para un gran número de células y tejidos, sin embargo, los resultados aún son inconsistentes. (Medina-Robles et al, 2007)

El resultado del procedimiento de crio conservación depende de varios factores, como la composición del diluyente y la concentración del crio protector, la velocidad de refrigeración o enfriamiento y congelación, y la velocidad de descongelación. Idealmente, estos pasos deberían minimizar el daño celular y asegurar una vida útil adecuada in vivo e in vitro. Sin embargo, a pesar de los avances en la crio preservación, los datos sobre la movilidad e integridad de la membrana sugieren que solo alrededor del 50% de las células sobreviven a la congelación. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Desde hace tiempo se piensa que los espermatozoides que sobreviven a la refrigeración, congelación y descongelación son similares a las células pre congeladas, es decir, que no se ven afectados por tratamientos de conservación. Sin embargo, los espermatozoides viables tenían características diferentes en comparación con las que contaban antes de ser congelados; lo que se confirmó con la observación de que los espermatozoides crio preservados





proporcionaron menor capacidad fecundante que el semen fresco utilizando la misma cantidad de espermatozoides en la inseminación artificial. De manera similar, la evidencia de que los espermatozoides descongelados permanecen viables por un tiempo más corto que los espermatozoides no congelados, lo que lleva a la conclusión de que el semen descongelado es menos resistente y que la congelación cambia las membranas celulares. La supervivencia de muchos tipos de células (incluido el esperma) después de la crio conservación depende en gran medida de la velocidad de congelación/descongelación y, en particular, de la temperatura a la que se enfrían las células antes de introducirlas en nitrógeno líquido, un fenómeno conocido como "temperatura de inmersión intermedia bajo cero". (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Durante la congelación entre -5°C y -10°C, ocurren fenómenos originados por el enfriamiento, como la formación de cristales intracelulares y extracelulares, que se consideran como uno de los factores más importantes para la supervivencia celular después del proceso de congelación, es eliminar la formación de cristales de hielo, lo que, gracias a una adecuada deshidratación previa a la inmersión en nitrógeno líquido, también está íntimamente relacionado con bajas velocidades de enfriamiento que permiten un mayor flujo de agua intracelular. En velocidad de congelación de 75 a 150 °C/min reportados para toros. (Medina-Robles et al, 2007)

A medida que la temperatura pasa por debajo del punto de congelación (fusión) de equilibrio del medio de conservación, se suelen utilizar tasas de enfriamiento lentas y controladas para bajar la temperatura de la muestra a -40 a -80 °C, seguido de la transferencia a un almacenamiento a muy baja temperatura (es decir, inmersión en nitrógeno líquido, fase de vapor de nitrógeno líquido o almacenamiento mecánico a < -135 °C). (Timmerhaus & Reed, 2007)

La velocidad de congelación debe ser lo suficientemente lenta para permitir que el agua se filtre fuera del interior de las células, evitando la formación de hielo intracelular, pero también lo suficientemente rápida para minimizar los efectos nocivos de la exposición prolongada a altas concentraciones de soluto (efecto de solución). Por otro lado, la tasa de congelación debe ser fisiológicamente consistente con la tasa de descongelación para evitar que la recristalización afecte la integridad de la membrana plasmática. (Medina-Robles et al, 2007)





#### 2.2.2 Métodos de crio preservación

Se pueden clasificar según las tasas de congelación y descongelación en esquemas de congelación lenta-descongelación lenta, congelación lenta-descongelación rápida, donde la adición de crio protectores se suele hacer por etapas y la temperatura se baja lentamente en el congelador programable. La descongelación rápida se realiza rápidamente a temperatura ambiente o en un baño de agua a 30°C para evitar la recristalización. La congelación rápida implica la deshidratación rápida de las células usando altas concentraciones de crio protectores (generalmente DMSO y sacarosa) seguido de inmersión en nitrógeno líquido. El proceso de vitrificación tampoco requiere el uso de un congelador programable; se basa en una rápida solidificación en una mezcla de altas concentraciones de crio protector, que aumenta su viscosidad a bajas temperaturas y forma un sólido amorfo no gelificante. (Ávila-Portillo et al, 2006)

El proceso de vitrificación elimina la formación de hielo dentro y fuera de la célula mediante enfriamiento, crio conservación y calentamiento, e implica la exposición de muestras a soluciones acuosas de soporte químico especial, generalmente a temperatura ambiente.

Muchos de estos productos químicos, conocidos como crio protectores (ACP), forman un "cristal" sólido a -130 ° C. El desafío en la crio preservación radica en su preparación cuidadosa por la acción combinada de los ACP para que se conserven sin daño por vitrificación, en lugar de la supervivencia a largo plazo de las células después del enfriamiento y el almacenamiento. Hay otras formas de evitar la formación de hielo letal dentro de la célula, a saber, enfriar la muestra lo suficientemente lento en presencia de bajas concentraciones de ACP para que el agua congelable sea extraída osmóticamente de la célula para congelarse externamente. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

El almacenamiento y conservación de materiales biológicos a temperaturas criogénicas (bajas temperaturas o crio preservación) puede detener y evitar por completo las reacciones biológicas, permitiendo que el material se almacene indefinidamente.

El proceso criogénico o de congelación se puede controlar de tal manera que las células sufran el menor daño y, por lo tanto, maximicen la recuperación.

La congelación celular descontrolada puede significar la formación de hielo intracelular o al daño osmótico, pero hay varias formas de tratar de evitar este





daño. La más eficaz es la congelación controlada mediante un congelador programable alimentado con nitrógeno líquido. (Alvarez et al, 2007)

#### 2.2.3 Congelamiento y métodos de congelamiento

La congelación es un método que permite mantener las células a temperaturas muy bajas, lo que permite una reducción absoluta del metabolismo sin perder su viabilidad a -196°C, sin reacción bioquímica o energía térmica dentro de las células, sin cambios genéticos. Esta estabilidad se mantiene solo a temperaturas inferiores a -130°C, ya que a temperaturas más altas puede haber agua intracelular que no se congela, facilitando las funciones metabólicas, provocando la degradación celular. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Al bajar la temperatura por debajo de 20 °C, los espermatozoides comienzan a sufrir cambios fisiológicos, principalmente en la membrana plasmática, los cuales sufren los espermatozoides al encontrarse con temperaturas entre 0°C y -20°C o hasta -60°C. Los efectos de disociación iónicos y fluidos son lo suficientemente severos como para causar un choque térmico. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Los espermatozoides generalmente se congelan a velocidades bastante rápidas en el rango de 15 a 60 ° C / min, que se ha determinado empíricamente que dan las mejores tasas de supervivencia. (Watson, 2000)

Existen básicamente dos métodos de congelación de esperma, convencional y automatizado. De acuerdo con el método convencional, la pajuela se coloca en una rejilla metálica y se enfría durante 4 horas a 4 °C en un refrigerador doméstico. Después de este tiempo, el soporte de metal con la pajilla se traspasa a un recipiente de poliestireno que contiene nitrógeno líquido y se coloca a 6 cm sobre la superficie del líquido durante 20 min. Finalmente, las pajuelas se sumergen en nitrógeno líquido y luego se guardan en un termo de nitrógeno. Mediante el método automatizado, el semen congelado se almacena en frío y se congela mediante un equipo automático de congelación de semen con el procedimiento estándar recomendado por el fabricante. Después de la congelación, las pajuelas se almacenan en un termo de nitrógeno líquido y lor en entrógeno líquido. (Ribeiro-Peres et al, 2014)

Los aparatos utilizados para congelar el semen van desde congeladores estáticos hasta congeladores programables. Aunque ha habido una





investigación considerable para determinar velocidades de enfriamiento óptimas y la adaptación de las curvas de enfriamiento para toros individuales, se ha tenido muy poco progreso en el sentido práctico. Los congeladores programables actualmente disponibles no pueden alterar o permitir la personalización confiable de las velocidades de enfriamiento para un gran lote de pajitas en un entorno de producción. En muchos procesamientos de semen las organizaciones continúan utilizando congeladores de vapor estáticos donde las pajitas que contienen el semen se someten a condiciones de congelación incontroladas, dependiendo de la distancia de la cámara de paja de la capa de N<sub>2</sub> líquido. En estos congeladores, la tasa de disminución de la temperatura está entre 150°C/min y 300°C/min. La ventaja del congelador de vapor estático es que todas las pajitas de cualquier ciclo de congelación se someten a las mismas velocidades de enfriamiento, porque las pajillas se colocan en una capa por encima del nivel de nitrógeno líguido. En un congelador programable, las pajitas se colocan en más de una capa, y esto contribuye a una variación considerable en las velocidades de enfriamiento en capas individuales dentro de una congelación. (Vishwanath & Shannon, 2000)

Los técnicos en sitio típicamente usan métodos tradicionales de congelación, utilizan materiales simples como refrigeradores de propiedad, realizan curvas de enfriamiento y congelan con nitrógeno líquido en una caja de poliestireno. Se ha demostrado que esta técnica es factible, aunque la normalización de las curvas de enfriamiento y congelamiento es imprecisa ya que dependen de la calidad de los materiales utilizados, como la estanqueidad del refrigerador, el tamaño de la caja de poliestireno y el nivel de nitrógeno. Por ello, se han desarrollado sistemas electrónicos automatizados móviles de bajo coste para controlar los perfiles de crio preservación de espermatozoides. La estandarización de las curvas de enfriamiento y congelamiento parece ser una ventaja frente a otras técnicas, ya que en las técnicas manuales esta estandarización es complicada, ya que depende de la calidad de los materiales utilizados, y es posible el riesgo de error humano; además, la practicidad de tener todas las etapas controladas por un solo dispositivo es otra ventaja. (Ribeiro-Peres et al, 2014)

Muchos laboratorios utilizan el método rápido y fácil de suspender las pajillas o los tubos en vapor de nitrógeno líquido durante un período de tiempo y luego introducirlas en nitrógeno líquido durante períodos prolongados. Este método no requiere equipo especializado y, aunque no es ideal, puede conducir a





índices de vida satisfactorios. Los principales problemas incluyen velocidades de enfriamiento desiguales entre eyaculados idénticos y dificultad para mantener condiciones de congelación reproducibles. Los congeladores programables en los que el vapor de nitrógeno líquido circula a un ritmo controlado permiten perfiles de enfriamiento más repetibles, lo que permite mantener la temperatura para la siembra manual. (Ávila-Portillo et al, 2006)

El almacenamiento por debajo de -130°C de las muestras conservadas de ambas formas garantiza que sólo existan estados físicos sólidos, y puede lograrse mediante la transferencia de células para su almacenamiento en nitrógeno líquido, en fase de vapor de nitrógeno líquido (que va de -145°C a -156°C), o en congeladores eléctricos (-150°C). El almacenamiento por encima del nivel de nitrógeno líquido a la temperatura de -145°C hace que las células sean menos frágiles y evita que se agrieten. En segundo lugar, numerosos virus y microorganismos de materiales infectados previamente almacenados en estos depósitos de nitrógeno líquido pueden sobrevivir y convertirse en una fuente de contaminación cruzada. La fluctuación de la temperatura durante la apertura de los tangues de almacenamiento de vapor no es significativa para las muestras grandes las muestras pequeñas se calientan mucho más rápido que las grandes. Como la temperatura de almacenamiento es mayor en la fase de vapor que en el nitrógeno líquido, el riesgo de descongelación accidental o los efectos de las mayores fluctuaciones de la temperatura de almacenamiento pueden contrarrestar las ventajas de utilizar este método de almacenamiento para las muestras pequeñas. (Bar-Cohen, Yoseph, 2016)

#### 2.2.4 Etapas principales de congelación

Para maximizar la fertilidad de las células preservadas, las etapas críticas de descenso de la temperatura deben ser cuidadosamente controladas. El inicio de la formación de los cristales de hielo -nucleación o siembra- debe controlarse estrictamente para garantizar un tamaño y una forma óptimos de los cristales. (IMV Technologies)

#### Etapa 1. Estado de refrigeración líquida:

Durante la fase líquida (antes de alcanzar el punto de cristalización), la velocidad de enfriamiento debe ser regular para evitar cualquier choque térmico que afecte a las células espermáticas. (IMV Technologies)





La etapa de formación de cristales, caracterizada por un aumento repentino de la temperatura, es la más crítica del proceso de congelación. (IMV Technologies)

#### Etapa 3. Enfriamiento hacia el estado cristalino estabilizado (-110°C):

En esta fase crítica, siguen produciéndose intercambios entre el entorno y la célula. El pico más corto posible en la caída de la temperatura, junto con la congelación uniforme de alta velocidad, minimiza la destrucción de las membranas, asegurando hasta un 10% más de espermatozoides viables en comparación con los métodos de congelación convencionales. (IMV Technologies)

#### Etapa 4. Etapa estable (a partir de -110°C)

Para una máxima seguridad, se tendrían que enfriar las pajillas a -140°C antes de su retirada. Cuando se cierra la tapa durante la manipulación en los congeladores, es necesario que la unidad vuelva a bajar la temperatura de forma instantánea y automática por lo que automáticamente la temperatura vuelve a bajar al nivel requerido. (IMV Technologies)

#### 2.2.5 Agentes crio protectores (ACP)

Se informó por primera vez de la función crio protectora del glicerol en los espermatozoides aviares y en los eritrocitos humanos (RBC), lo que condujo al nacimiento de la crio preservación en mamíferos a finales de la década de 1940. (Timmerhaus & Reed, 2007)

Todos los materiales biológicos crio preservados para su uso posterior, incluido el semen bovino, tienen una cosa en común, que son células o tejidos únicos en los que la aplicación de crio protectores y cambios de temperatura para todos los materiales se pueden realizar de manera uniforme. (Alvarez et al, 2007)

Aunque los espermatozoides fueron el primer tipo de células crio conservadas, aún se están investigando esfuerzos para mejorar su capacidad de crio conservación. No se lograron avances importantes hasta el descubrimiento de las propiedades crio protectoras del glicerol en semen de toro. (Ávila-Portillo et al, 2006)





A diferencia de la congelación de semen, la crio preservación también requiere el uso de un crio protector para permitir una mayor reducción de la temperatura, desde que se descubrió que el glicerol actúa como un crio protector efectivo y se establecieron técnicas básicas de crio preservación, se ha congelado y utilizado con éxito semen de diversas especies en inseminación artificial. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

En teoría, los crio protectores intracelulares y extracelulares contribuyen a una mayor resistencia de los espermatozoides porque reducen el número de poros en la membrana, reducen las funciones dependientes de ATP, la agregación de proteínas y las aglutinaciones de lípidos. Este es el efecto de los crio protectores, como los alcaloides vegetales y la glicerina o glicerol. Se ha demostrado que la presencia de crio protectores reduce la concentración de sales en la célula a una determinada temperatura, debido a que aumentan la fracción no congelada fuera de la célula. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Los crio conservadores son sustancias solubles en agua de baja toxicidad que reducen el punto eutéctico (el punto en el que un determinado componente de A y B se solidifica en elementos puros) para una solución dada, reducir el punto eutéctico significa que se alcanzará una concentración para solutos a temperaturas más bajas. (Ávila-Portillo et al, 2006)

Bioquímicamente, se pueden distinguir tres tipos de crio protectores, alcoholes (metanol, etanol, propanol, 1-2 propanodiol y glicerol), azúcares (glucosa, lactosa, sucrosa, sacarosa) y dimetilsulfóxido, crio protectores. De igual manera los agentes crio protectores también se pueden clasificar en penetrantes y no penetrantes según la permeabilidad celular. (Ávila-Portillo et al, 2006)

#### Agentes crio protectores penetrantes:

Tienen bajo peso molecular y son permeables a las membranas celulares. Se utilizan: glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO) y propanodiol (PROH). (Ávila-Portillo et al, 2006)

Se requieren crio protectores penetrantes para la crio conservación de la mayoría de las células. Se han probado varias moléculas frente a la eficacia de otros crio protectores, lo que indica que el glicerol es el crio protector de elección para congelar semen bovino. (González Lascarro & Pallares Sierra, 2013)

Agentes crio protectores no penetrantes:





Son de alto peso molecular que son efectivas a altas velocidades de congelación, son importantes para realizar sus efectos crio protectores al promover una rápida deshidratación de las células y se usan comúnmente junto con agentes penetrantes. Se utilizan: sacarosa, glucosa, dextrosa y dextrano. (Ávila-Portillo et al, 2006)





# 2.3 Caracterización de materiales a baja temperatura

#### 2.3.1 Propiedades de los materiales

Generalmente, las condiciones extremas y reducciones significativas de la temperatura afecta a los procesos y suele tener efectos muy pronunciados sobre las propiedades de los materiales más que cualquier otra variable, tales como la presión, el campo magnético, el campo eléctrico, la fuerza, la conductividad térmica, la ductilidad, la resistencia eléctrica, entre otros, por lo que a su vez alteran el comportamiento de los sistemas. (Timmerhaus & Reed, 2007)

Las propiedades de los materiales sólidos cambian mucho entre la temperatura ambiente y las temperaturas criogénicas. Esta variación de las propiedades de los materiales debe tenerse siempre en cuenta en el diseño criogénico. Además, hay algunos materiales que son completamente inapropiados para su uso a temperaturas criogénicas debido a sus propiedades a estas temperaturas. (Peterson & Weisend II, 2019)

#### 2.3.2 Conductividad térmica

La conductividad térmica *k* mide la capacidad de un material para conducir el calor. Por lo tanto, la conductividad térmica de un material se puede definir como la tasa de transferencia de calor por unidad de área a través de una unidad de espesor del material por un diferencial de temperatura. El coeficiente de conductividad térmica k, en W/(mK) es una propiedad del material que varía con la temperatura. Un valor alto de conductividad térmica indica que el material es un buen conductor del calor, y un valor bajo indica que es un mal conductor o aislante. (Çengel, 2007)







Tabla 5. Conductividad térmica en recipientes sin vacío

Conductividad térmica en recipientes sin vacío									
Unidad	mW/cm K	W/m K	W/cm K	kc/h m C	cal/cm s C	BTUin/ft²h	BTU/ft h F	BTU/in h	BTU/ft h R
Perlita fina	250	0.0250	0.000250	0.0215	0.0000597	0.01734	0.0144	0.0012039	0.0207
Poliuretano	291	0.0291	0.000291	0.0250	0.0000695	0.2018	0.0168	0.0014014	0.0241
Poliestireno	291	0.0291	0.000291	0.0250	0.0000695	0.2018	0.0168	0.0014014	0.0241
Masa vidrio	500	0.0500	0.000500	0.0430	0.0001194	0.3467	0.0289	0.0024079	0.0415
Fibra vidrio	250	0.0250	0.000250	0.0215	0.0000597	0.1734	0.0144	0.0012039	0.0207
Santocel	170	0.0170	0.000170	0.0146	0.0000406	0.1179	0.0098	0.0008187	0.0141
Carbonato mg	250	0.0250	0.000250	0.0215	0.0000597	0.1734	0.0144	0.0012039	0.0207
Lana vidrio	330	0.0330	0.000330	0.0284	0.0000788	0.2288	0.0191	0.0015892	0.0274

#### 2.3.3 Resistencia térmica

La resistencia térmica es una medida de la resistencia (oposición) del flujo de calor como resultado de la supresión de la conducción, la convección y la radiación. Es una función de la conductividad térmica, el grosor y la densidad del material. La resistencia térmica R, se expresa en m<sup>2</sup> K/W. (Al-Homoud, 2005)

La resistencia térmica de un medio a la conducción de calor o simplemente llamada resistencia de conducción depende de la geometría y propiedades térmicas del mismo. (Çengel, 2007)

#### 2.3.4 Conductancia térmica

La conductancia térmica es la tasa de flujo de calor (W) a través de una superficie unitaria de un componente con una diferencia de temperatura unitaria (1 K) entre las superficies de las dos caras del componente. Es el recíproco de la suma de las resistencias de todas las capas que componen ese componente sin las resistencias de las películas de aire interior y exterior. Es similar a la conductividad térmica, salvo que se refiere a un grosor concreto de material. La conductancia térmica, valor C, se expresa en W/m<sup>2</sup> K. (Al-Homoud, 2005)





#### 2.3.5 Aislantes térmicos

Los aislantes térmicos son materiales capaces de bloquear la transferencia o resistir el flujo de calor por conducción, convección y radiación, y son evaluados por sus capacidades aislantes. En la mayoría de los casos se componen de gases (más del 90%) contenidos en sólidos que forman pequeños espacios y les impiden moverse.

El rendimiento térmico óptimo se logra colocando el aislamiento térmico cerca del punto de entrada de calor. Esto evita que el flujo de calor entre o salga del exterior debido a su alta resistencia térmica.

Los aislantes térmicos pueden presentarse en diferentes formas, la elección del tipo de material aislante y la forma correcta depende en gran medida de la aplicación, las propiedades físicas y térmicas del material aislante, y el precio.

Los aislantes térmicos se pueden clasificar según su estructura química o física, como se muestra en la tabla 6. Además, los materiales aislantes pueden tener estructuras fibrosas, celulares o granulares, que determinan en gran medida sus propiedades mecánicas y térmicas. (Garza, 2016)

	Fibra	Celulosa	Granular
Incraénico	Lana de vidrio	Fanuma da vidria	Perlita expandida
inorganico	Lana de roca	Espuma de vidrio	Vermiculita expandida
		Poliestireno expandido (EPS)	
Orgánico sintético	-	Poliestireno extruido (XPS)	-
		Espuma de poliuretano (PUR)	
	Celulosa		
Orgánico natural	Lana de oveja	Corcho	Corcho granular
	Lana de algodón		
Combinaciones	Lana de madera	Espuma de yeso	-

Tabla 6. Clasificación de los materiales de aislamiento según su estructura

El Código Técnico de la Edificación considera materiales aislantes aquellos con una conductividad térmica inferior a 0.060 W/mK y una resistencia térmica superior a 0.25 m<sup>2\*</sup>K/W. (IVE, 2011)



#### 2.4 Modelo matemático de sistemas de control

#### 2.4.1 Sistemas con tiempo muerto

Muchos procesos industriales presentan una respuesta escalón como la que se muestra en la figura 2.1. El periodo de tiempo durante el cual la salida no reacciona a la entrada se denomina tiempo muerto (denotado por  $\theta$ ). (Landau & Zito, 2006)



Figura 2.1. Respuesta escalón de un sistema con tiempo muerto Fuente: (Landau & Zito, 2006)

Las características del modelo matemático para estudiar el comportamiento de un sistema dinámico de primer orden con tiempo muerto  $\theta$  se describe mediante la siguiente función de transferencia:

$$G(s) = \frac{ke^{-\theta s}}{\tau s + 1}$$

Donde:

K= Ganancia

 $\theta$ = Tiempo muerto

 $\tau$  = Constante de tiempo

La utilización de la representación de los modelos dinámicos en forma de funciones de transferencia presenta un cierto número de ventajas para el análisis y la síntesis de sistemas de control de lazo cerrado. En particular, la





concatenación de modelos dinámicos descritos por funciones de transferencia es extremadamente fácil.

La respuesta de un sistema dinámico se estudia y caracteriza para una entrada escalón. (Landau & Zito, 2006)

#### 2.4.2 Respuesta temporal de un sistema de primer orden

La respuesta de un sistema estable suele tener la forma mostrada en la figura 2.2.



La respuesta escalonada se caracteriza por un cierto número de parámetros:

t<sub>R</sub> (tiempo de crecimiento): generalmente se define como el tiempo necesario para alcanzar el 90% del valor final (o como el tiempo necesario para que la respuesta pase del 10 al 90% de su valor final). Para los sistemas que presentan un rebasamiento del valor final, o que tienen un comportamiento oscilante, se suele definir el tiempo de crecimiento como el tiempo necesario para alcanzar por primera vez el valor final.

 $t_s$  (Tiempo de establecimiento): se define como el tiempo necesario para que la curva de respuesta alcance y se mantenga dentro de una zona de tolerancia en torno al valor final (± 10%, ± 5% ± 2%)

VF (Valor final): un valor de salida fijo obtenido para  $t \rightarrow \infty$ .



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO®

Mp (Máximo sobre impulso): expresado en porcentaje del valor final.

#### 2.4.3 Sistemas de segundo orden

Los modelos de segundo orden, al igual que los de primer orden, son muy usados para aproximar procesos industriales. La función de transferencia está dada por:

$$G(s) = \frac{K\omega_n^2}{s^2 + 2\zeta\omega_n s + \omega_n^2}$$

Donde:

K= Ganancia

ω<sub>n</sub>= Frecuencia natural no amortiguada

 $\zeta$  = Factor de amortiguamiento

Existen 4 respuestas posibles de un modelo de segundo orden: respuesta sobre amortiguada ( $\zeta$ >1), críticamente amortiguada ( $\zeta$ =1), sub amortiguada ( $O<\zeta<1$ ) y sistema oscilatorio o sin amortiguamiento ( $\zeta$ =0).

Las raíces del denominador de la función de transferencia (polos) son:

- a)  $|\zeta| < 1$ , polos complejos (respuesta oscilatoria)
- b)  $|\zeta| \ge 1$ , polos reales (respuesta aperiódica)

Se obtienen así las siguientes situaciones en función del valor del factor de amortiguamiento  $\zeta$ :

- *ζ* > 0 : sistema asintóticamente estable
- ζ < 0 : sistema inestable

Estos diferentes casos se resumen en la figura 2.3.





**Figura 2.3.** Las raíces del sistema de segundo orden en función de  $\zeta$  (para  $|\zeta| \le 1$ ) **Fuente:** (Landau & Zito, 2006)

La figura 2.4 muestra las respuestas normalizadas de los escalones para el sistema de segundo orden. Este diagrama permite determinar tanto la respuesta de un sistema de segundo orden dado como los valores de  $\omega_n$  y  $\zeta$ .

Para ilustrar esto, considere el problema de determinar  $\omega_n$  y  $\zeta$  de manera que el tiempo de crecimiento (de 0 a 90% del valor final) sea de 2.75s con un máximo sobre impulso  $\approx$  5%. En Figura 2.4, se observa que para asegurar un máximo sobre impulso  $\approx$  5% debemos elegir  $\zeta$  = 0.7. El correspondiente tiempo de crecimiento normalizado es:  $\omega_n$  t<sub>M</sub>  $\approx$  2.75. Se puede concluir que para obtener un tiempo de crecimiento de 2.75s, se debe tomar  $\omega_n$  = 1 rad/seg. (Landau & Zito, 2006)











# 2.5 Controlador PID

La gran mayoría de los lazos de control automático en las industrias de procesos (90%) todavía se basan en diversas formas del controlador PID que ha estado disponible comercialmente durante más de 70 años.

Un controlador PID es el algoritmo de control clásico en el campo del control de procesos. La popularidad del controlador PID se puede atribuir a la efectividad del controlador en una amplia gama de condiciones de funcionamiento y su simplicidad funcional. Los controladores proporcionales integrales-derivados (PID) son los controladores más adoptados en entornos industriales debido a la ventajosa relación costo / beneficio que pueden proporcionar.

Un controlador PID práctico cubre cuestiones importantes que surgen cuando se va a aplicar un controlador PID en el control de procesos industriales prácticos.

La razón principal de la popularidad del controlador PID es que este controlador combina dos características importantes buscadas por los ingenieros de control:

- simplicidad de la ley de control y fácil implementación en forma de tiempo continuo o digital en microcomputadora, PLC o realización de controlador FPGA por hardware.
- Las propiedades de robustez garantizan la estabilidad y el alto rendimiento ante los cambios de los parámetros de proceso de los procesos controlados. La robustez, la fiabilidad, el estado estable y la configuración de la respuesta transitoria son los aspectos más importantes. Hay varias formas de los controladores industriales utilizados que son de tipo PID estándar (en forma continua y / o digital). Para la implementación práctica, solo se utilizan 10-20 algoritmos básicos

que se modifican de acuerdo con el tipo de procesador utilizado, la dinámica de la planta, los retardos de tiempo, etc.

En los últimos años, las especificaciones para los sistemas de control han crecido hasta incluir un cierto grado de inteligencia. Varían desde especificaciones que requieren cierta tolerancia a fallas hasta operar en diferentes condiciones de operación. Estos sistemas también deben ser capaces de seleccionar sensores inteligentes, monitorear y operar a distancia y





deben ser capaces de implementar algoritmos de control sofisticados que requieran adaptación. (Kocur et al, 2014)

Un sistema de control donde la variable del proceso debe medirse y ser comparada con un valor deseado (control de retroalimentación) tiene la calidad para ajustar la respuesta transitoria y su estado estable para brindar el rendimiento deseado. De forma general, un sistema de control retroalimentado se puede representar de la siguiente manera:



Figura 2.5. Diagrama de bloques del sistema de control con controlador convencional Fuente: Propia

Donde  $Y_c(s)$  representa la referencia o entrada, U(s) representa la acción de control, Y(s) representa el proceso o variable de salida,  $G_c(S)$  es la función de transferencia del controlador y G(s) es la función de transferencia del objeto controlado o en otras palabras la planta.

La función de transferencia de una planta G(s) se puede expresar como una función apropiadamente racional de la forma:

$$G(s) = \frac{B(s)}{A(s)}$$

Por sí sola, la función de transferencia del controlador G<sub>c</sub>(s) se puede expresar de la siguiente manera:

$$G_c(s) = \frac{S(s)}{R(s)}$$

Es el cociente entre dos polinomios S(s) y R(s).

La diferencia entre el valor esperado (referencia) y el valor medido (salida) de la variable de proceso se denomina error de control E(s) y es el error que utiliza el regulador PID para controlar el sistema. (Prieto, 2011)



#### 2.5.1 Estructura de un PID

(Martínez et al, 2019), expresan que el controlador PID implica tres parámetros como lo es la parte proporcional, integral y la derivativa. La acción de control proporcional define la relación entre el error actual, la acción de control integral define la relación entre la suma de los errores recientes, mientras que la parte derivativa determina la relación en función de la velocidad en que el error cambia.



Figura 2.6. Diagrama a bloques del controlador PID convencional Fuente: (Martínez et al, 2019)

La fórmula del PID tradicional es:

$$C(s) = Kc\left(1 + \frac{1}{\tau_l s} + \tau_d s\right)$$

Reescribiendo la ecuación:

$$C(s) = \frac{k_c \tau_i \tau_d s^2 + k_c \tau_i s + k_c}{\tau_i s}$$

Sin embargo, observamos que la ecuación de este controlador es una función no propia, el orden del numerador es mayor que el del dominador por lo que este tipo de controlador no es implementable.

Una solución a este problema es adicionando un filtro passa bajas en la acción o en el lazo de control en el término derivativo, con el fin de ejecutar este sistema además de poder filtrar las altas frecuencias. El cual viene dado de la siguiente





Figura 2.7. Diagrama a bloques con la implementación del filtro pasa bajas Fuente: (Martínez et al, 2019)

Donde su función de transferencia está dada de la siguiente manera:

 $C(s) = Kc \left( 1 + \frac{1}{\tau_i s} + \frac{\tau_d s}{\propto \tau_d s + 1} \right)$ 

Reescribiendo la ecuación:

 $C(s) = \frac{(\propto k_c \tau_i \tau_d + k_c \tau_i \tau_d) s^2 + (k_c \tau_i + \propto k_c \tau_d) s + k_c}{\alpha \tau_d \tau_l s^2 + \tau_l s}$ 

Donde  $\alpha$  es un parámetro de robustez y nos permite eliminar ruidos. (Martínez et al, 2019)

#### 2.5.2 Controlador PID por asignación de polos

Indican (Martínez et al, 2019), que la técnica de asignación de polos es un método similar al del lugar geométrico de las raíces, la diferencia entre estos dos es que en el lugar de las raíces el polo dominante es el único que se coloca en la ubicación deseada, mientras que en la asignación de polos todos los polos son movidos y colocados en un lugar deseado.

En este tipo de control suponemos que nuestro proceso este modelado por un sistema real de segundo orden, donde la ecuación de un sistema de segundo orden genérico está dada por:



$$G_d(s) = \frac{\kappa_w n^2}{s^2 + 2\xi w_n s + w_n^2}$$

Donde:

K = ganancia del sistema

 $\omega_n$  = frecuencia natural del sistema

 $\xi$  = factor de amortiguamiento

Para poder realizar la asignación de polos es necesario utilizar la ecuación de nuestro controlador.

$$C(s) = \frac{k_c \tau_i \tau_d s^2 + k_c \tau_i s + k_c}{\tau_i s}$$
$$C(s) = \frac{k_c \tau_i \tau_d s^2 + k_c \tau_i s + k_c}{\tau_i s}$$

Para las ecuaciones del controlador sin el filtro y la función de transferencia, las variables se asignarán con el fin de simplificar y permitir el cálculo de la función de transferencia en lazo cerrado.

$$G(s) = \frac{Kw_n^2}{s^2 + 2\xi w_n s + w_n^2} = \frac{A}{B}$$
$$C(s) = \frac{k_c T_d s^2 + k_c s + \frac{k_c}{T_i}}{s} = \frac{D}{E}$$

Donde la función de transferencia en lazo cerrado queda de la siguiente manera:

$$H(s) = \frac{\frac{A}{B}\frac{D}{E}}{1 + \frac{A}{B}\frac{D}{E}} = \frac{AD}{BE + AD}$$

Ahora simplemente nos queda remplazar los valores del polinomio.



 $H(s) = \frac{k(d_2s^2 + d_1s + d_0)}{s^3 + (a + kd_2)s^2 + (b + kd_1)s + kd_0}$ 

De la ecuación anterior podemos observar que el sistema contiene 3 polos y dos ceros, los cuales los 2 ceros son aportados por el controlador y los 3 polos es la combinación de nuestro controlador con el modelo de nuestra planta.

Teniendo la función de transferencia de lazo cerrado continuamos con la asignación de polos que deseamos en nuestra función de transferencia H(s), por lo cual se establecen algunos parámetros de diseño como lo es el tiempo donde está el máximo y el tiempo de establecimiento que es cuando la variable llega a la referencia.

A continuación, se muestran los pasos para la asignación de polos.

Definir la ecuación característica de segundo orden, donde dicho polinomio contendrá dos polos dominantes de los cuales se basará la dinámica del sistema, por otro lado, para completar el orden de la función de transferencia en lazo cerrado que nosotros tenemos H(s) es necesario adicionar otro polo, un polo rápido o insignificante que no va a influenciar la dinámica del sistema.

 $P_d(s) = s^2 + h_1 s + h_2$  $P_d(s) = (s^2 + h_1 s + h_2) + (sp_1)$ 

Donde nuestra ecuación característica queda de la siguiente manera:

 $P_d(s)=s^3+\alpha_1s_2+\alpha_2s+\alpha_3$ 

Una vez realizado lo anterior lo que haremos es que de la parte del denominador se igualan las ecuaciones características, es decir, H(s) y  $P_d(s)$ , lo cual nos ayudara para determinar nuestras variables de nuestro controlador que es la ganancia kc, nuestro tiempo de integral  $\tau i$  y el tiempo derivativo  $\tau d$ .

 $s^{3} + (a + kd_{2})s^{2} + (b + kd_{1})s + kd_{0}$ =  $s^{3} + \alpha_{1}s^{2} + \alpha_{2}s + \alpha_{3}$ 

Igualando coeficiente:





$$(a + kd_2) = \alpha_1$$
$$(b + kd_1) = \alpha_2$$
$$kd_0 = \alpha_2$$

Remplazando los valores del controlador:

$$a + kT_d k_c = \alpha_1$$
$$b + kk_c = \alpha_2$$
$$\frac{k_c}{T_i} = \alpha_3$$

Resolviendo nos queda de la siguiente manera donde calculamos ya las constantes de nuestro controlador. (Martínez et al, 2019)

$$k_{c} = \frac{\alpha_{2} - b}{k}$$
$$T_{i} = k \frac{k_{c}}{\alpha_{3}}$$
$$T_{d} = \frac{\alpha_{1} - a}{kk_{c}}$$





# 2.6 Controlador digital RST

Existen otros métodos de control que pueden proporcionar un mejor rendimiento en situaciones en las que el control PID no puede satisfacer completamente las necesidades. Este es el caso del controlador RST, que es un sistema de control con propiedades polinómicas cuya síntesis explota mejor los recursos algebraicos proporcionados por el modelo matemático del sistema que el PID, permitiendo desarrollar algoritmos de control más específicos para cada proceso.

El controlador RST consta de tres polinomios R(z), S(z) y T(z) que operan en tres señales diferentes en un esquema de control de retroalimentación típico, como entrada o referencia, salida o variable de proceso y salida del sustractor de ambas. Utilizando estos polinomios, se encuentra que la función de transferencia en lazo cerrado tiene un comportamiento predefinido por el usuario. El control polinómico o polinomial que se han propuesto anteriormente ajustan esencialmente dos de estos polinomios, para asignar polos en el modelo de transferencia en lazo cerrado, mientras que el controlador RST proporciona dos grados de libertad para el control del diseñador, configurando un polinomio más en la suma para poder determinar en la planta a controlar tanto los polos como los ceros.

Como es un sintonizador polinomial, el controlador RST maneja las funciones de transferencia de plantas de diferentes órdenes cuyas características se reflejan en las expresiones matemáticas. Usando esta expresión se pueden obtener tres polinomios diferentes R, S y T, los cuales se configuran de la manera correspondiente, abriendo la posibilidad de acercar un sistema en lazo cerrado al sistema deseado con el comportamiento requerido por el diseñador de control.

Los controladores de estilo RST permiten resultados favorables desde el diseño preliminar, ya que brindan un rendimiento de control específico de la para cada planta, y la capacidad de administrar de forma independiente el monitoreo o el ajuste dinámico del sistema. (Prieto, 2011)

El diseño de un controlador digital para un sistema de entrada-salida (SISO) se basa en conocer el modelo discreto del proceso, si el modelo es preciso, es posible diseñar un controlador digital cumple con los requisitos del seguimiento de la señal de referencia y estipulaciones, resultando en un controlador más flexible llamado dos grados de libertad. El controlador consta



de tres polinomios que procesan la salida del proceso  $y(z^{-1})$ , la señal de control  $u(z^{-1}) y$  el perfil o la velocidad de seguimiento deseada  $y'_{ref}(z^{-1})$ , donde estos tres polinomios se denomina R, S y T (seguimiento de la señal de referencia) respectivamente. Se denomina dos grados de libertad porque el objetivo de sintonización se logra mediante los polinomios R y S, mientras que el objetivo de seguimiento se logra mediante un polinomio T cuidadosamente diseñado. El controlador RST se puede ajustar mediante técnicas de colocación o asignación de polos.



Figura 2.8. Estructura del controlador RST Fuente: (Ordoñez, 2007)

El diseño del controlador RST se puede realizar en el dominio del tiempo o de la frecuencia (enfoque polinomial). En el dominio de la frecuencia, la especificación del dominio del tiempo deben transformarse en polos de bucle cerrado o funciones de transferencia deseadas, y el diseño del dominio del tiempo se basa en algunos criterios para forzar a cero ciertas métricas de rendimiento (durante un tiempo finito) o minimizar ciertos criterios de métricas de rendimiento. (Ordoñez, 2007)

El controlador RST constituye el algoritmo de control más recientemente investigado e implementado dentro de su ámbito, ya que su síntesis se basa en la asignación de polos, y su resolución es puramente algebraica, lo que aprovecha mejor la expresión matemática de la planta en tiempo discreto y proporciona un regulador con dos grados de libertad actuando sobre los dos polos de la función de transferencia del bucle cerrado, así como también con los ceros.



# La estructura clásica de un sistema de control de retroalimentación en tiempo discreto (como el control PID) se muestra en la figura 2.9.



Figura 2.9. Diagrama de bloques del sistema de control con controlador PID de tiempo discreto clásico Fuente: Propia

G<sub>c</sub>(z) es la función de transferencia de controlador discreto que también se puede expresar como:

$$G_c(z) = \frac{S(z)}{R(z)}$$

Similar al tiempo continuo, G(z) representa la función de transferencia discreta de la planta y es una función racional adecuada:

$$G(z) = \frac{B(z)}{A(z)}$$

El algoritmo de control clásico puede ser descrito mediante una ecuación polinomial:

$$\frac{U(z)}{E(z)} = \frac{U(z)}{Y_c(z) - Y(z)} = \frac{S(z)}{R(z)}$$

A partir de ahí da como resultado la ley de control:

$$R(z)U(z) = S(z)Y_c(z) - S(z)Y(z)$$

Al configurar o crear un controlador PID clásico, está sujeto a esta ley. De esta manera, queda claro que el polinomio S(z) tiene el mismo peso tanto para la referencia Y<sub>c</sub>(z) como para la salida del sistema Y(z).




La función de transferencia discreta de un sistema de bucle cerrado se puede expresar mediante la siguiente ecuación, como polinomios R(z) y S(z) para el controlador y A(z) y B(z) para la planta:

$$\frac{Y(z)}{Y_c(z)} = \frac{B(z)S(z)}{A(z)R(z) + B(z)S(z)}$$

El controlador RST es generalizado a la estructura clásica implementando dos polinomios diferentes S(z) y T(z) en lugar de un solo polinomio S(z). Es así que resulta la ley de control:

$$R(z)U(z) = T(z)Y_c(z) - S(z)Y(z)$$

De esta forma no hay comparación directa entre  $Y_c(z)$  y Y(z) lo que produce el error  $E(z) = Y_c(z) - Y(z)$ ; el diagrama a bloques de la figura 2.5 ha sido reemplazado por el diagrama funcional de la siguiente figura.



Figura 2.10. Estructura de un controlador RST Fuente: Propia

Al reemplazar G(z) con B(z)/A(z), se busca la función de transferencia de bucle cerrado resultante. Así mismo cuando se agrupan los términos Y(z) y  $Y_c(z)$ , obtenemos la relación entrada-salida, expresión que puede tomarse como:

$$\frac{Y(z)}{Y_c(z)} = \frac{B(z)T(z)}{A(z)R(z) + B(z)S(z)}$$

Donde los polinomios R(z) y S(z) se ajustan para facilitar la asignación o ubicación de los polos de un sistema en lazo cerrado, mientras que T(z) se ajusta para facilitar la posición o localización de los ceros en el sistema en lazo cerrado.

La comparación de las expresiones de bucle cerrado (PID y RST, respectivamente) muestra una diferencia importante: S(z) aparece en el





numerador y el denominador de la expresión en lazo cerrado del PID, mientras que al numerador de la expresión en lazo cerrado del RST le falta un polinomio T(z) en el denominador. En la estructura PID clásica, los ceros del lazo cerrado son iguales a los ceros de B(z) (ceros de la planta) y S(z) (polinomios ponderados comunes). Alternativamente, en las instrucciones RST, los ceros se pueden establecer en un bucle cerrado agregando un polinomio T(z). Por lo tanto, se incluye un grado de libertad adicional en el numerador de la función de transferencia de lazo cerrado.

El controlador RST a veces se denomina controlador de dos grados de libertad, porque como resultado de la expresión en lazo cerrado del mismo y como se muestra en la figura 16, la entrada  $Y_c(z)$  y la variable de proceso Y(z) se filtran sobre dos diferentes funciones de transferencia T(z)/R(z) y S(z)/R(z):



**Fuente:** Propia

La formulación con dos grados de libertad pretende satisfacer los problemas de un buen seguimiento de la progresión de referencia (o entrada) y un buen rechazo de ruido al mismo tiempo.

#### 2.6.2 Sintonización del controlador RST

La sintonización del controlador RST se basa en su enfoque de soluciones de sistemas de ecuaciones similar al que se describe y analiza en el método de diseño del controlador mediante la asignación de polos, donde se busca equilibrar la suma de los productos entre polinomios en el polinomio característico de la función de transferencia en lazo cerrado requerida.





La función de transferencia de un sistema de control con seguimiento dinámico sin integrador, donde vemos la participación de los polinomios R(z), S(z) y T(z) la describe la expresión en lazo cerrado de un controlador RST:

$$\frac{Y(z)}{Y_c(z)} = \frac{B(z)T(z)}{A(z)R(z) + B(z)S(z)}$$

Donde el polinomio T(z) es el polinomio de pre compensación, el polinomio S(z) es el polinomio de retroalimentación, el polinomio R(z) es el polinomio de ajuste común y la planta está representada por la relación B(z)/A(z). Calculamos los polinomios R(z), S(z) y T(z) del controlador RST de modo que sea posible igualar la función de transferencia de bucle cerrado a la función de transferencia dada por el usuario  $G_m(z)$  del modelo de referencia:

$$G_m(z) = \frac{B_m(z)}{A_m(z)}$$

Donde G<sub>m</sub>(z) es una función booleana propia o adecuada, el polinomio A<sub>m</sub>(z) es monomio y sus ceros están ubicados en el círculo unitario.

A partir de lo anterior podemos llegar a le ecuación siguiente:

$$\frac{B(z)T(z)}{A(z)R(z) + B(z)S(z)} = \frac{B_m(z)}{A_m(z)}$$

En la sintonización de controladores convencionales por asignación de polos, los polos del sistema de bucle cerrado se ubican generalmente en posiciones que permiten cumplir con las especificaciones de amortiguación transitoria. Debido a la estructura de la arquitectura clásica, este posicionamiento se limita a determinadas zonas del plano complejo y no siempre cumple las especificaciones técnicas. Este método incluye un aspecto experimental para determinar las posiciones finas de los polos, que son difíciles de traducir algebraicamente.

El rango del controlador RST generaliza significativamente la sintonización que involucra la asignación de polos, ya que es posible que estos polos puedan distribuirse arbitrariamente en el plano complejo, que son las raíces del polinomio  $A_m(z)$ . Además, el grado de  $A_m(z)$  no es necesariamente el mismo que el grado de A(z)R(z) + B(z)S(z), de hecho, a menudo elegimos un modelo de referencia más simple con el polinomio  $A_m(z)$  que suele ser elegido inferior. Dado que el controlador RST tiene dos grados de libertad, los ceros del lazo





cerrado, es decir, las raíces del polinomio B<sub>m</sub>(z), hasta cierto punto también se pueden ubicar arbitrariamente en el plano complejo.

Las especificaciones de rendimiento transitorio que deben cumplirse conjuntamente para todos los sistemas de control son generalmente aquellas relacionadas con los máximos sobre impulso y con los tiempos de respuesta de bucle cerrado.

De la sintonización del controlador RST parece que la amortiguación del estado transitorio en el sistema de seguimiento depende directamente de los polos del modelo de referencia  $G_m(z) = B_m(z)/A_m(z)$ .

En cuanto a robustez, es posible a partir del dimensionamiento del controlador RST hasta el análisis de robustez que incluye cálculos del margen de ganancia y margen de fase. Sin embargo, la solución general en la que se logre sintonizar un controlador RST que brinde los márgenes adecuados sigue siendo un problema abierto en la actualidad; solo se registra cierta información emergente. (Prieto, 2011)



# CAPITULO 3. Desarrollo y resultados

## 3.1 Introducción

Este capítulo detalla el procedimiento a realizar para lograr los objetivos establecidos, comenzando con la obtención de la función de transferencia del sistema térmico, luego realizando el sistema de control y finalmente la implementación del dispositivo en nuestra planta y desarrollo práctico del sistema de control.

## 3.2 Diseño del sistema de control

## 3.2.1 Modelo de la planta de sistema térmico: Primera opción

Para encontrar una función de transferencia de la planta que es un sistema térmico consideramos que se desea controlar  $T_1$ , añadiendo un cartucho calefactor u(t) en el medio 2 en presencia de una temperatura ambiente variable  $T_0$  que también podemos considerar como una perturbación.







Donde

- m= Masa en el medio
- c= Calor específico del medio
- k= Conductancias térmicas

Es importante que la función de transferencia esté lo más cercana posible a lo que se realiza en el laboratorio con el congelador, es por eso que se obtendrán dos funciones de transferencia considerando primeramente que la muestra de semen se almacenará en una pajilla de vidrio y como una segunda opción, las muestras de semen se almacenarán en una pajilla de plástico ABS. Esto dependerá del productor y del centro genético en el cual se lleve a cabo el proceso, es por eso que se consideran las dos posibilidades para saber cómo responde cada una en base a los materiales que se utilizan y tener una aproximación muy cercana a la realidad. Esto no significa que una función de transferencia sea mejor o peor que la otra, simplemente lo podríamos tomar como una comparativa entre ellas y para tener cubiertas ambas opciones en cuanto a los materiales que podrían ser o son usados tanto en el congelador como en el almacenamiento de las muestras de semen del bovino para desarrollar el proceso y así obtener una respuesta real de nuestro sistema.

Pensando en eso y la planta que estamos usando, es necesario obtener los datos de las constantes masa, calor específico y coeficiente térmico  $(m_1 y m_2, c_1 y c_2, k_{12} y k_{20})$  de los siguientes materiales para la primera función de transferencia que se va a considerar

- Nitrógeno, masa y calor específico. (m<sub>2</sub> y c<sub>2</sub>)
- K<sub>12</sub> del vidrio.
- K<sub>20</sub> del poliestireno expandido.
- Glicerol, masa y calor específico. (m<sub>1</sub> y c<sub>1</sub>). Este es el crio protector para el semen bovino en las pajillas, hay varios pero este es el que vamos a considerar.

Si se aplica el principio de conservación de la energía para los dos medios, las ecuaciones diferenciales que resultan son:

$$m_1 c_1 \frac{dT_1}{dt} = k_{12} (T_2 - T_1)$$



$$m_2 c_2 \frac{dT_2}{dt} = -k_{12}(T_2 - T_1) - k_{20}(T_2 - T_0) + u(t)$$

 $m_1c_1 = 223.79; \ m_2c_2 = 14.57; \ k_{12} = 1.05; \ k_{20} = 0.032$ 

Sustituyendo los valores en las ecuaciones diferenciales resultantes:

$$223.79 \frac{dT_1}{dt} = 1.05T_2 - 1.05T_1$$
$$\frac{dT_1}{dt} = 0.0047T_2 - 0.0047T_1$$
$$14.57 \frac{dT_2}{dt} = -1.05T_2 + 1.05T_1 - 0.032T_2 + 0.032T_0 + u(t)$$
$$\frac{dT_2}{dt} = -0.072T_2 + 0.072T_1 - 0.0022T_2 + 0.0022T_0 + 0.069u(t)$$
$$\frac{dT_2}{dt} = -0.0742T_2 + 0.072T_1 + 0.0022T_0 + 0.069u(t)$$

Se toma la transformada de Laplace de estas ecuaciones para obtener un conjunto de ecuaciones lineales en el dominio s, que se pueden escribir en forma de matriz como:

$$\begin{bmatrix} s + 0.0047 & -0.0047 \\ -0.072 & s + 0.0742 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} T_1(s) \\ T_2(s) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0.0022T_0(s) + 0.069U(s) \end{bmatrix}$$

Resolviendo para T1(s) utilizando la regla de Cramer tenemos:

$$T_1(s) = \frac{\begin{vmatrix} 0 & -0.0047 \\ 0.0022T_0(s) + 0.069U(s) & s + 0.0742 \end{vmatrix}}{\begin{vmatrix} s + 0.0047 & -0.0047 \\ -0.072 & s + 0.0742 \end{vmatrix}}$$
$$T_1(s) = \frac{0.0000103202T_0(s)}{s^2 + 0.078891s + 0.0000103202} + \frac{0.0003236U(s)}{s^2 + 0.078891s + 0.0000103202}$$

Que en forma de diagrama de bloques se muestra en la figura 3.2. Si queremos controlar este sistema digitalmente, necesitamos la función de transferencia entre el esfuerzo de control y la variable de respuesta.



Figura 3.2. Diagrama de bloques del sistema térmico primera opción Fuente: Propia

Función de transferencia, factorizando denominador:

$$G(s) = \frac{T_1(s)}{U(s)} = \frac{0.0003236}{(s+0.000131034)(s+0.07876)}$$

Considerando el sistema discretizado mediante un retenedor de orden cero con muestras de salida como se observa en la figura 3.3.



Figura 3.3. Planta térmica uno para ser controlada digitalmente Fuente: Propia

Evaluamos la función de transferencia del dominio z entre la secuencia de entrada y la secuencia de salida. Debemos comenzar con G (s) / s, que es:

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{0.0003236}{s(s+0.000131034)(s+0.07876)}$$

Expandiendo a fracciones parciales:

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{A}{s} + \frac{B}{s+0.000131034} + \frac{C}{s+0.07876}$$



$$C = \lim_{s \to -0.07876} \frac{0.0003236}{s(s+0.000131034)} = \frac{0.0003236}{0.0062} = 0.0523$$

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{31.36}{s} - \frac{31.408}{s+0.000131034} + \frac{0.0523}{s+0.07876}$$

Aplicando la transformada z:

$$G(z) = \frac{31.36z}{z-1} - \frac{31.408z}{z-e^{-0.000131034T}} + \frac{0.0523z}{z-e^{-0.07876T}}$$

La función de transferencia en dominio general z se obtiene aplicando la relación denominada función de transferencia de pulsos para sistemas de plantas de tiempo continuo que van a ser controladas digitalmente.

$$G(z) = \frac{z-1}{z} \left[ \frac{\alpha z^2 + \beta z}{(z-1)(z-e^{-0.000131034T})(z-e^{-0.07876T})} \right]$$

Donde

$$\alpha = -31.36(e^{-0.000131034T} + e^{-0.07879T}) + 31.408(1 + e^{-0.07876T}) - 0.1667(1 + e^{-0.00013103T})$$

 $\beta = 31.36e^{-0.000131034T}e^{-0.07876T} - 31.408e^{-0.07876T} + 0.0523e^{-0.000131034T}$ 

Debido a que las constantes de tiempo asociadas con este sistema son 5.11 y 0.392 s, respectivamente, el intervalo de muestreo debe elegirse menor que el más chico; por simplicidad usamos T = 0.25 s. La función de transferencia ahora se convierte:

$$G(z) = \frac{0.00001005z + 0.000009981}{z^2 - 1.98z + 0.9805} = \frac{T_1(z)}{U(z)}$$



#### 3.2.2 Determinación de la función de transferencia

El objetivo principal es controlar el sistema térmico, en este caso consideramos un control de temperatura manipulando la corriente eléctrica en un cartucho que funciona como calefactor, Para este control, utilizamos el modelo matemático de la planta que ya fue definido; por lo tanto la función de transferencia del sistema de control es:

$$G(z) = \frac{0.00001005z + 0.000009981}{z^2 - 1.98z + 0.9805} = \frac{T_1(z)}{U(z)}$$

Función de transferencia discreta del sistema

## 3.2.3 Diseño del controlador por asignación de polos

Para controlar el sistema térmico por asignación de polos es necesario conocer algunos datos, condiciones y ciertos aspectos.

Por cuestiones de simplicidad cambiamos la aproximación al controlador RST y lo vamos a hacer PID por ubicación de polos, básicamente el RST es un controlador por ubicación de polos, solo que el control se va a probar es un PID analógico y no digital, por eso el cambio de RST a ubicación de polos.

El controlador RST o seguidor de línea o referencia, es un método de control que utiliza el método clásico de asignación de polos de una manera más elegante.

Para crear un controlador de asignación de polos, se debe conocer de antemano el modelo matemático que representa el comportamiento de la planta, es decir, la función de transferencia. La posición de estos polos se puede manipular luego dentro de un lazo de control cerrado, y es posible colocarlos donde se desee, para lograr una respuesta particular.

El método de asignación de polos se puede utilizar para ajustar varios algoritmos de control discretos, pero para este caso en específico un PID.

Este método se realiza sobre la base del conocimiento previo de la función de transferencia del proceso. Utilizando la planta digital térmica que tenemos y obteniendo su equivalente continuo la función de transferencia es:



En términos de diseño, determinaremos que necesitamos un máximo pico del 10%. Diseñaremos nuestro controlador para alcanzar el tiempo de establecimiento en 300 segundos.

Tss = 300s

Mp = 10%

El factor de amortiguamiento está dado por:

$$Mp = 100e^{\frac{\pi\zeta}{\sqrt{1-\zeta^2}}}$$
$$\zeta = \sqrt{\frac{\ln\left(\frac{Mp}{100}\right)^2}{\pi^2 + \ln\left(\frac{Mp}{100}\right)^2}}$$

 $\zeta = 0.5912$ 

Si se determina una tolerancia del 5% en el establecimiento. Se puede obtener la frecuencia natural del sistema:

$$\omega_n = \frac{3}{\zeta T s s} = 0.0173$$

Con estos datos podemos obtener nuestra función de transferencia en lazo cerrado, con sus polos colocados exactamente donde queremos para que el sistema funcione como se desea.

$$G(s) = \frac{K\omega_n^2}{s^2 + 2\zeta\omega_n s + \omega_n^2}$$

 $G(s) = \frac{0.0003}{s^2 + 0.0204s + 0.0003}$ 

Función de transferencia continua del sistema (lazo cerrado)

70





Ecuación característica:

 $P^*_d = s^2 + 0.0204s + 0.0003$ 

Con polos complejos conjugados:

 $p_{1,2} = -0.0102 \pm 0.0139i$ 

Vamos a adicionar un polo rápido o un polo insignificante que no tiene mucha influencia en la dinámica del sistema por lo que se coloca en una ubicación deseada, generalmente se aleja unas 10 o 20 veces. Esto con la finalidad de que el sistema sea gobernado por los polos que están más cerca del eje imaginario ya que son los polos dominantes.

Una vez teniendo en cuenta lo anterior, adicionamos un polo rápido alejado 10 veces de los polos complejos conjugados:

 $p_3 = 10 Real(-0.0102 \pm 0.0139i) = -0.102$ 

La ecuación característica deseada está dada por:

 $Pd = (s^2 + 0.0204s + 0.0003)(s + 0.102)$ 

 $Pd = (s^3 + 0.1225s^2 + 0.0024s + 3.0438 * 10^{-5})$ 

Igualando coeficientes:

 $s^{3} + (a + kd_{2})s^{2} + (b + kd_{1})s + kd_{0} = (s^{3} + 0.1225s^{2} + 0.0024s + 3.0438 * 10^{-5})$ 

Entonces los parámetros o las constantes del control PID por asignación de polos son:

$$k_{c} = \frac{\alpha_{2} - b}{k} = \frac{0.0024 - 0.000103202}{0.0003236} = 7.3846$$
$$\tau_{i} = \frac{kk_{c}}{\alpha_{3}} = \frac{(0.0003236)(7.3846)}{(3.0438 * 10^{-5})} = 78.5089$$
$$\tau_{d} = \frac{\alpha_{1} - \alpha}{kk_{c}} = \frac{0.1225 - 0.078891}{(0.0003236)(7.3846)} = 18.2490$$





#### 3.2.4 Simulación y resultados

Como se ha mencionado anteriormente, el objetivo de control es el de seguir un perfil de temperatura para el congelamiento de las muestras de semen bovino, esto a partir de imitar una curva de enfriamiento óptima para la congelación de esperma tomando el comportamiento de la curva de enfriamiento que marcan los parámetros para un proceso adecuado de conservación de semen animal en este caso en particular de bovinos.

Es por eso que teniendo en cuenta lo anterior y a que existen una serie de programas que nos permiten utilizar controladores PID, se seleccionó el software Matlab® y a través de él su entorno de programación virtual que pertenece al mismo software como lo es Simulink® para realizar las simulaciones de la planta del sistema y su respuesta controlada mediante un controlador PID por asignación de polos y presentar la propuesta de control debido a que para el presente proyecto se consideró que era la mejor opción.

Se procede a simular la planta del sistema a través de la librería de bloques de Simulink® existe un bloque llamado PID el cual es posible utilizar como controlador para la planta deseada que proporciona una respuesta del sistema según la referencia planteada. Es así que se obtiene la señal que describe el comportamiento de la misma mediante un osciloscopio proporcionado de igual manera por Simulink® se puede visualizar dicha señal.



Figura 3.4. Planta uno controlada mediante PID con inclusión de señal de referencia Fuente: Propia





Partiendo de la gráfica de comportamiento de un sistema térmico la cual se obtuvo a partir de los parámetros que se marcan para un proceso de congelamiento adecuado de semen bovino, mediante el bloque Singal Editor que nos proporciona Simulink®, creamos un "Scenario" editando los parámetros del bloque para poder desarrollar la referencia que necesitamos.

	ers: Signal Editor	5	×
Signal Editor			
The Signal Editor nterchangeable s nto and out of a	block displays and allows you to c scenarios of signal sources and qui model.	reate or edit ickly switch the scenarios	5
Scenario			
File name: grafi	ica.mat		
Active scenario:	Scenario	~	]
Signal properties			
To create and ed	it scenarios, launch Signal Editor u	iser interface.	
Parameters			
	Circuit.		
Active signal:	Signal	~	
Output a bu	is signal		
Unit (e.g., m, n	n/s^2, N*m):	SI, English,	
inherit			
inherit Sample time:	0		
inherit Sample time: [ ☑ Interpolate o	0 Jata	]E	
inherit     Sample time:     ✓ Interpolate o     □ Enable zero-	0 data crossing detection		
inherit     Sample time:     ✓ Interpolate of     □ Enable zero-	0 data crossing detection		
inherit Sample time: [ ☑ Interpolate o □ Enable zero- Form output af	0 data crossing detection ter final data value by: Setting to	zero 🔻	
inherit Sample time: [ ☑ Interpolate o □ Enable zero- Form output af	0 data crossing detection ter final data value by: Setting to	zero 💌	
inherit Sample time: [ ☑ Interpolate o □ Enable zero- Form output af	0 data •crossing detection ter final data value by: Setting to	zero •	

Figura 3.5. Creación de Scenarios para desarrollar la primera señal de referencia Fuente: Propia





Ya que entramos a editar y/o crear los "Scenarios" del bloque Signal Editor, podemos asignar manualmente los valores que necesitamos en nuestra referencia o bien realizarla mediante trazos, una vez que hecho esto tenemos nuestra señal de referencia del sistema la cual es mostrada en la figura 3.6.

🧓 grafic	a - Signa	l Editor														-		Х
SIGNAL E	DITOR											<u> </u>		XXX	XY.			?
New Ope	n Save	Scenario	T Signal	■ Bus f() Function Ca ÷ Ground  ② Defaults	II Duplicate → Mov Duplicate → Mov	e Up e Down ete		25 Data Cursors ▼										
FIL	E			INSERT	ADJUST	Z	OOM & PAN	MEASURE										A
ଜ	SCENA	RIOS A F	LOTIEDIT	0					Sce	nario.Sign	al							
4	Oteric			0														
t	Signa		1				-	-										
				-50													-	_
											/							
												-						
				-100							-	-		-		-	-	_
																/		
																	/	
				0 30	80 00	120	150	190	210	240	270	200	220	280	aon	420	450	490
					00 80	120	150	100	210		2/0	000	000	000	500	420	100	100
				Apply	Cancel											double		٠
				TIME		DATA												
				0		0												
				60		-5												
				120		-10												
				180		-15												
				240		-40												
				300		-80												
				360		-100												
				420		-120				sa.								
				480		-140				•								

mediante Scenarios del bloque Signal Editor

Fuente: Propia





Una vez simulada la planta del sistema se obtiene la señal que muestra en la figura la cual describe el comportamiento de la planta controlada por el PID.



Se observa que existe una relación entre la gráfica de comportamiento planteada y la gráfica o señal perteneciente a la respuesta del sistema, es decir que la señal de la planta (línea azul) sigue a la señal de referencia que fue asignada (línea naranja). Esto se logra a través del controlador PID debido a que obliga a la planta a comportarse de manera similar a la referencia planteada o dada. Podemos observar que el comportamiento del sistema es forzado a llegar hasta los -140°C en un tiempo aproximado de 7 minutos que es lo que marcan los parámetros en distintos estudios para el óptimo congelamiento de semen bovino, de igual manera hay que recalcar que en control el forzar al sistema a que reaccione como nosotros queremos puede provocar sobre impulsos lo cual específicamente para éste proyecto es de suma importancia que no aparezcan debido a que se manipulan temperaturas y si existe un cambio brusco o significativo en ellas puede dañar el producto que para este caso en particular sería el semen bovino.

Es importante mencionar que la planta propuesta para el sistema de control únicamente ha sido simulada como se muestra en éste apartado, más no ha





sido probada directamente en el congelador criogénico debido a que éste proyecto es un trabajo en conjunto con otros compañeros los cuales son lo que están encargados y realizan el diseño del crio congelador y por distintas cuestiones que más adelante se mencionarán no se ha podido lograr obtener un diseño adecuado para poner a disposición de los productores interesados y por ese mismo motivo no es posible probar aún la respuesta de la planta propuesta de manera física en el crio conservador.

## 3.2.5 Modelo de la planta Sistema térmico: Segunda opción

Para encontrar una segunda función de transferencia de la planta como se había mencionado consideramos el mismo sistema térmico mostrado en la figura 3.1.

Para ésta función de transferencia como una segunda opción, las muestras de semen se almacenarán en una pajilla de plástico ABS.

De acuerdo a lo anterior y la planta que estamos usando, es necesario obtener los datos de las constantes masa, calor específico y coeficiente térmico  $(m_1 y m_2, c_1 y c_2, k_{12} y k_{20})$  de los siguientes materiales para la segunda función de transferencia que se va a considerar, los valores serán los mismos lo único que cambia es el coeficiente térmico  $K_{12}$  que en lugar de ser del vidrio ahora será plástico ABS

- Nitrógeno, masa y calor específico. (m<sub>2</sub> y c<sub>2</sub>)
- K<sub>12</sub> del plástico ABS.
- K<sub>20</sub> del poliestireno expandido.
- Glicerol, masa y calor específico. (m1 y c1). Este es el crio protector para el semen bovino en las pajillas, hay varios pero este es el que vamos a considerar.

Si se aplica el principio de conservación de la energía para los dos medios, las ecuaciones diferenciales que resultan son:

$$m_1 c_1 \frac{dT_1}{dt} = k_{12} (T_2 - T_1)$$

$$m_2 c_2 \frac{dT2}{dt} = -k_{12}(T_2 - T_1) - k_{20}(T_2 - T_0) + u(t)$$

 $m_1c_1 = 223.79; m_2c_2 = 14.57; k_{12} = 0.188; k_{20} = 0.032$ 





Sustituyendo los valores en las ecuaciones diferenciales resultantes:

$$223.79 \frac{dT_1}{dt} = 0.188T_2 - 0.188T_1$$
$$\frac{dT_1}{dt} = 0.00084T_2 - 0.00084T_1$$
$$14.57 \frac{dT_2}{dt} = -0.188T_2 + 0.188T_1 - 0.032T_2 + 0.032T_0 + u(t)$$
$$\frac{dT_2}{dt} = -0.013T_2 + 0.013T_1 - 0.0022T_2 + 0.0022T_0 + 0.069u(t)$$

$$\frac{dT_2}{dt} = -0.0152T_2 + 0.013T_1 + 0.0022T_0 + 0.069u(t)$$

Se toma la transformada de Laplace de estas ecuaciones para obtener un conjunto de ecuaciones lineales en el dominio s, que se pueden escribir en forma de matriz como:

$$\begin{bmatrix} s + 0.0084 & -0.0084 \\ -0.013 & s + 0.0152 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} T_1(s) \\ T_2(s) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0.0022T_0(s) + 0.069U(s) \end{bmatrix}$$

Resolviendo para T1(s) utilizando la regla de Cramer tenemos:

$$T_1(s) = \frac{\begin{vmatrix} 0 & -0.0084 \\ 0.0022T_0(s) + 0.069U(s) & s + 0.0152 \end{vmatrix}}{\begin{vmatrix} s + 0.0084 & -0.0084 \\ -0.013 & s + 0.0152 \end{vmatrix}}$$
$$T_1(s) = \frac{0.00001848T_0(s)}{s^2 + 0.0236s + 0.00001848} + \frac{0.0005796U(s)}{s^2 + 0.0236s + 0.00001848}$$

Que en forma de diagrama de bloques se muestra en la figura 3.8. Si queremos controlar este sistema digitalmente, necesitamos la función de transferencia entre el esfuerzo de control y la variable de respuesta.



Figura 3.8. Diagrama de bloques del sistema térmico segunda opción Fuente: Propia

Función de transferencia, factorizando denominador:

$$G(s) = \frac{T_1(s)}{U(s)} = \frac{0.0005796}{(s + 0.000810915)(s + 0.0227891)}$$

Considerando el sistema discretizado mediante un retenedor de orden cero con muestras de salida como se observa en la figura 3.9.



Figura 3.9. Planta térmica dos para ser controlada digitalmente Fuente: Propia

Evaluamos la función de transferencia del dominio z entre la secuencia de entrada y la secuencia de salida. Debemos comenzar con G (s) / s, que es:

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{0.0005796}{s(s+0.000810915)(s+0.0227891)}$$

Expandiendo a fracciones parciales:

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{A}{s} + \frac{B}{s+0.000810915} + \frac{C}{s+0.0227891}$$

78



$$B = \lim_{s \to -0.000810915} \frac{0.0005796}{s(s+0.0227891)} = -\frac{0.0005796}{1.78 * 10^{-5}} = -32.52$$

$$C = \lim_{s \to -0.0227891} \frac{0.0005796}{s(s+0.000810915)} = \frac{0.0005796}{5*10^{-4}} = 1.157$$

$$\frac{G(s)}{s} = \frac{31.36}{s} - \frac{32.52}{s + 0.000810915} + \frac{1.157}{s + 0.0227891}$$

Aplicando la transformada z:

$$G(z) = \frac{31.36z}{z-1} - \frac{32.52z}{z-e^{-0.000810915T}} + \frac{1.157z}{z-e^{-0.0227891T}}$$

La función de transferencia en dominio general z se obtiene aplicando la relación denominada función de transferencia de pulsos para sistemas de plantas de tiempo continuo que van a ser controladas digitalmente.

$$G(z) = \frac{z-1}{z} \left[ \frac{\alpha z^2 + \beta z}{(z-1)(z-e^{-0.000810915T})(z-e^{-0.0227891T})} \right]$$

Donde

$$\alpha = -31.36(e^{-0.000810915T} + e^{-0.0227891T}) + 32.52(1 + e^{-0.0227891T}) - 1.157(1 + e^{-0.000810T})$$

 $\beta = 31.36e^{-0.000810915T}e^{-0.0227891T} - 32.52e^{-0.0227891T} + 1.157e^{-0.000810915T}$ 

Debido a que las constantes de tiempo asociadas con este sistema son 5.11 y 0.392 s, respectivamente, el intervalo de muestreo debe elegirse menor que el más chico; por simplicidad usamos T = 0.25 s. La función de transferencia ahora se convierte:

$$G(z) = \frac{0.00001808z + 0.00001804}{z^2 - 1.994z + 0.9941} = \frac{T_1(z)}{U(z)}$$





#### 3.2.6 Diseño del controlador por asignación de polos: Segunda opción

Utilizando la planta digital térmica que tenemos considerando que las pajillas donde se almacena el semen son de plástico ABS y obteniendo su equivalente continuo la función de transferencia es:

 $G(s) = \frac{0.0005796}{s^2 + 0.0236s + 0.00001848}$ 

Función de transferencia continua del sistema (lazo abierto)

En términos de diseño, determinaremos que necesitamos un máximo pico del 10%. Diseñaremos nuestro controlador para alcanzar el tiempo de establecimiento en 300 segundos.

Tss = 300s

Mp = 10%

El factor de amortiguamiento está dado por:

$$Mp = 100e^{\frac{\pi\zeta}{\sqrt{1-\zeta^2}}}$$
$$\zeta = \sqrt{\frac{\ln\left(\frac{Mp}{100}\right)^2}{\pi^2 + \ln\left(\frac{Mp}{100}\right)^2}}$$

 $\zeta = 0.5912$ 

Si se determina una tolerancia del 5% en el establecimiento. Se puede obtener la frecuencia natural del sistema:

$$\omega_n = \frac{3}{\zeta T s s} = 0.0173$$

Con estos datos podemos obtener nuestra función de transferencia en lazo cerrado, con sus polos colocados exactamente donde queremos para que el sistema funcione como se desea.





 $G(s) = \frac{0.0003}{s^2 + 0.0204s + 0.0003}$ 

 $\longrightarrow$ 

Función de transferencia continua del sistema (lazo cerrado)

Ecuación característica:

 $P^*_d = s^2 + 0.0204s + 0.0003$ 

Con polos complejos conjugados:

 $p_{1,2} = -0.0102 \pm 0.0139i$ 

Vamos a adicionar un polo rápido o un polo insignificante que no tiene mucha influencia en la dinámica del sistema por lo que se coloca en una ubicación deseada, generalmente se aleja unas 10 o 20 veces. Esto con la finalidad de que el sistema sea gobernado por los polos que están más cerca del eje imaginario ya que son los polos dominantes.

Una vez teniendo en cuenta lo anterior, adicionamos un polo rápido alejado 10 veces de los polos complejos conjugados:

 $p_3 = 10Real(-0.0102 \pm 0.0139i) = -0.102$ 

La ecuación característica deseada está dada por:

 $Pd = (s^2 + 0.0204s + 0.0003)(s + 0.102)$ 

 $Pd = (s^3 + 0.1225s^2 + 0.0024s + 3.0438 * 10^{-5})$ 

Igualando coeficientes:

 $s^{3} + (a + kd_{2})s^{2} + (b + kd_{1})s + kd_{0} = (s^{3} + 0.1225s^{2} + 0.0024s + 3.0438 * 10^{-5})$ 

Entonces los parámetros o las constantes del control PID por asignación de polos son:



$$\tau_d = \frac{\alpha_1 - \alpha}{kk_c} = \frac{0.1225 - 0.0236}{(0.0005796)(4.1089)} = 41.5281$$

## 3.2.7 Simulación y resultados: Segunda opción

El proceso es básicamente el mismo que para la primera función de transferencia propuesta por lo que al igual que en la anterior, una vez habiendo obtenido la función de transferencia continua y digital y teniendo también el diseño del controlador por asignación de polos se procede a simular la planta del sistema a través de la librería de bloques de Simulink® mediante el PID utilizado como controlador para la planta deseada de manera que se obtiene la señal que describe el comportamiento del sistema.





Utilizando exactamente la misma gráfica de referencia para el comportamiento de un sistema térmico que fue desarrollada a partir de la función de transferencia planteada para el primer caso, tenemos por lo tanto la misma señal de referencia del sistema la cual fue diseñada y asignada como se muestra en la figura 3.6.





Una vez simulada la planta para este segundo caso o nuevo sistema se obtiene la señal mostrada en la figura la cual describe el comportamiento de la planta controlada por el PID.



Como podemos observar y al igual que en el caso anterior, es decir la primera opción existe una relación entre la gráfica de comportamiento planteada y la gráfica o señal perteneciente a la respuesta del sistema, es decir que la señal de la planta (línea azul) sigue a la señal de referencia que fue asignada (línea naranja). De igual forma y como ya se había mencionado para el caso anterior esto se logra a través del controlador PID debido a que obliga a la planta a comportarse de manera similar a la referencia planteada o dada.

La respuesta de la planta como se dijo es controlada y/o modificada mediante al controlador PID con el que se manipulan las tres ganancias antes calculadas como son la Kp, Ki y Kd obteniendo la señal de comportamiento deseada la cual describe como esperamos que se comporte el sistema.

Se vuelve necesario en el diseño del sistema y como ya se ha mencionado anteriormente el evitar los sobre impulsos debido a que las perturbaciones pueden provocar defectos o daños en el producto e inclusive pérdidas importantes del mismo.





Al igual que en el primer sistema desarrollado y planteado es necesario recalcar que ésta planta propuesta para el sistema de control únicamente ha sido simulada como se muestra en éste apartado, más no ha sido probada directamente en el congelador criogénico esto debido a que como también ya se abordó anteriormente el presente es un trabajo en conjunto con otros compañeros los cuales son lo que están encargados y realizan el diseño del crio congelador para el cual no se ha podido lograr obtener un diseño adecuado para poner a disposición de los productores interesados y por ese mismo motivo no es posible probar aún la respuesta para ninguna de las plantas propuestas de manera física en el crio conservador.



#### 3.3.1 Diseño de PWM

Se diseñó un PWM (Modulador por ancho de pulsos) con amplificadores operacionales (Op-Amps) y con MOSFET canal N para el control de potencia del elemento calefactor.





Donde:

 $\frac{1}{R_1C_1} = Frecuencia \ del \ circuito$ 

 $R_2R_3 = Divisor para señal de voltaje de referencia$ 



## R = Resistencia limitadora para protección de la compuerta (G) de MOSFET

 $Carga = Resistencia \ calefactora \ o \ cartucho \ calefactor$ 

V = Fuente CD de alta corriente

Como una nota al diseño del circuito PWM se establece que el MOSFET para la resistencia calefactora debe ser capaz de soportar la corriente máxima para la resistencia y que la fuente CD  $\rightarrow$  V, debe entregar la potencia necesaria de la resistencia.

Se realizó el diseño de un PWM para hacer pruebas mientras se obtiene el controlador de manera física, lo cual resulta útil debido a que con esto podemos saber cuál es la respuesta real de nuestra planta, y una vez que se tenga el controlador PID, únicamente sería hacer el reemplazo de la circuitería por nuestro controlador.

Una vez realizado el diseño se implementó el circuito en la placa de pruebas para electrónica que fue alimentada por una fuente dual y se probó la señal en osciloscopio como se puede observar en la imagen.



Figura 3.13. Circuito de potencia implementado para el actuador final Fuente: Propia





Se fue probando la señal obtenida por cada etapa, es decir de cada amplificador operacional, para el primero se obtiene el mostrado en la figura 3.14.



Figura 3.14. Señal obtenida del primer amplificador operacional del circuito Fuente: Propia

Para nuestro segundo amplificador operacional, que es el generador de onda triangular el resultado es el que se muestra en la figura 3.15.



Figura 3.15. Señal obtenida de segundo amplificador operacional del circuito Fuente: Propia





Y en la tercera y última etapa es decir nuestro tercer amplificador operacional

que ya es para el PWM se obtiene la imagen.



Figura 3.16. Señal PWM obtenida del tercer amplificador operacional del circuito Fuente: Propia

## 3.3.2 Curva de calibración

Con el fin de obtener una curva de calibración para ver la respuesta que podría tener nuestro controlador, se realizaron mediciones de varios puntos de resistencia en función de la temperatura con un RTD marca Omega® de tres terminales como el que aparece en la figura 3.17.





Figura 3.17. RTD marca Omega® de tres terminales Fuente: Omega®

Se elige el RTD debido a que son un tipo específico de sensor que por sus siglas es un Detector de Temperatura por Resistencia debido a que la relación temperatura-resistencia es casi lineal a diferencia de un termistor que es una respuesta exponencial, la diferencia además de esa entre cada uno es que el RTD es una resistencia metálica y el termistor en una resistencia de cerámica o polímero.

Se eligen cuatro referencias para tomar las lecturas que además del RTD se realizan con un termómetro de alcohol para tener una comparativa o establecer la relación entre la resistencia y la temperatura y obtener la curva de calibración, las referencias son: la temperatura ambiente, agua con hielo, hielo seco y por último nitrógeno líquido. Conociendo que el punto de ebullición del nitrógeno líquido es de -196°C y del hielo seco -78°C.

En la imagen podemos observar cómo se está tomando la lectura con nuestro sensor en una de las referencias en éste caso nitrógeno líquido y cuál es la resistencia que nos marca.



Figura 3.18. Medición de resistencia del nitrógeno líquido por medio de sensor RTD Omega® de tres terminales Fuente: Propia

Una vez realizado este procedimiento con nuestras cuatro referencias tanto con el RTD como con el termómetro de alcohol se hace una tabla comparativa de las mediciones como se presenta a continuación.





Tabla 7. Medición de resistencia con RTD Pt100

Referencia	Temperatura	Resistencia termistor
Temperatura ambiente	19°C	108.5Ω
Agua con hielo	-5°C	100.3Ω
Hielo seco	-78°C	70.5Ω
Nitrógeno líquido	-196°C	18.9Ω

Ya que se han obtenido los datos ahora si podemos obtener nuestra curva de calibración como aparece en la figura 3.19.



Figura 3.19. Curva característica obtenida experimentalmente con RTD PT100 Fuente: Propia

)))))





Y como podemos observar nos da una respuesta casi de manera lineal por lo que es muy bueno para nuestro controlador.

## 3.3.3 Actuador

Una de las variables a controlar en el sistema para el proceso de cambio de estado del nitrógeno líquido a gaseoso y minimizar el consumo de nitrógeno líquido del tanque criogénico y hacer el proceso de criogenización de acuerdo a los requerimientos de las pajillas obtenidas es mediante nuestro cartucho calefactor o también llamado resistencia calefactora, el cual es de un tamaño mínimo con medidas de ¼" x 1" pero suficiente para cubrir los requerimientos ya que como especificación técnica tenemos que es de 25V y 1A por lo que nos suministra una potencia de 25watts por lo que se ajusta perfectamente a nuestras necesidades.



Figura 3.20. Cartucho calefactor Fuente: Propia

Este cartucho a su vez será introducido en un cono de aluminio con una pequeña abertura con las mismas dimensiones de la resistencia para colocarla ahí, el cono de aluminio es colocado en el fondo del tanque modulador, esto





con la finalidad de que el cartucho no esté en contacto directo con el líquido y pueda sufrir algún desperfecto pero también para poder tener una transferencia hacia el líquido de nitrógeno y de ésta manera el cono de aluminio funcione como un bloque de transferencia.



Figura 3.21. Cartucho calefactor y cono de aluminio Fuente: Propia

Al tener nuestro elemento actuador es necesario hacer una caracterización del mismo por lo que se obtiene una señal de respuesta del cono de aluminio con el cartucho calefactor que se muestra en la figura , esto con la finalidad de saber en cuanto tiempo alcanza su máxima temperatura y poder tener un monitoreo.





Figura 3.22. Curva de respuesta del cono de aluminio con el cartucho calefactor Fuente: Propia

#### 3.3.4 Planta

Nuestra planta está conformada por el crio congelador el cual el sistema completo lo conforman dos tanques, uno es el tanque modulador donde es vertido el nitrógeno líquido y el otro es el tanque criogénico o de almacenamiento de pajillas.

El primero de los tanques es el modulador, el cual tiene como objetivo optimizar el consumo de nitrógeno líquido en los ciclos de congelación dentro de la cámara criogénica para el almacenamiento de pajillas de semen bovino.



Figura 3.23. Tanque modulador Fuente: Propia

A este tanque se le coloca en el fondo el cono de aluminio con el cartucho calefactor como se muestra en la figura 3.24.



Figura 3.24. Cono de aluminio en tanque modulador real Fuente: Propia

11223




El cono se coloca en la tapa o plato del tanque en la parte de abajo y una vez que el cono ha sido colocado nuevamente el tanque vuelve a ser unido con un cordón de soldadura para quedar de vuelta a su forma original.



Figura 3.25. Diseño del cono de aluminio en el tanque modulador Fuente: Propia





En la figura 3.26 podemos observar otras vistas o planos del tanque modular desde su interior para tener una visión más amplia o detallada de cómo es colocado el cono de aluminio y a su vez introducido nuestro cartucho calefactor.



Figura 3.26. Otras vistas y planos del tanque modulador Fuente: Propia

Como podemos notar y a su vez ya se había mencionado anteriormente contamos con una pequeña abertura ¼" x 1" para colocar el cartucho y tener una transferencia hacia el líquido de nitrógeno en nuestro tanque modulador.

El tanque criogénico es un cilindro el cual identifica el comportamiento térmico en el contenedor que permite elevar el rendimiento de nitrógeno en la crio preservación de pajillas de semen bovino así como permitir el congelamiento efectivo de las mismas dentro de la cámara criogénica para así obtener una motilidad óptima del semen después de ser descongelado para ser utilizado en la inseminación artificial.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO®



Figura 3.27. Tanque criogénico Fuente: Propia

Una desventaja a considerar de los congeladores criogénicos ya existentes en el mercado es el alto consumo de nitrógeno por ciclo independiente de la cantidad de pajillas a crio preservar.

Es por eso que para el tanque criogénico que se desarrolla se cuenta con una cámara de gas de nitrógeno como se puede observar en la figura 3.28 debido a que el proceso de criogenización es de volumen ajustable de acuerdo con los requerimientos de las pajillas obtenidas.



Figura 3.28. Tanque criogénico visto desde el interior Fuente: Propia

11235





### 3.3.5 Máquina de criogenia

Una vez que ya hemos visto nuestra planta de manera independiente, es decir cada uno de los tanques que la conforman y su función de manera separada y ahondando en ellos, ahora se presenta la máquina criogénica o nuestro crio congelador de manera completa tal y como se muestra en la figura 3.29 en el cual ya se han realizado pruebas de las que más adelante hablaremos de acerca de ellas.



Figura 3.29. Planta a controlar Fuente: Propia

Nuestra máquina criogénica o crio congelador es lo que conforman nuestra planta del sistema en la cual como se había mencionado con anterioridad la integran dos tanques. En un depósito aislante es introducido el tanque modulador o de depósito debido a que es el sitio donde se vierte el nitrógeno y se hace el control de la temperatura ya que en él se encuentra el actuador, éste tanque se conecta mediante una tee de distribución que es por donde circula el flujo de gas de nitrógeno hacia el tanque criogénico que es donde se almacenan las pajillas y en el que se encuentra la cámara de gas que hace el proceso de mantener la temperatura adecuada para crio conservar las muestras de semen bovino. El aislamiento de los tanques para mantener una temperatura óptima de nitrógeno líquido se realiza mediante poliestireno expandido. Como el gas de nitrógeno genera presión en los dos tanques son





colocados manómetros para medir las mimas, tanto a la entrada como a la salida y así no solo tener un monitoreo de la temperatura sino también de la presión generada.

La máquina criogénica real o física la podemos observar en la figura 3.30 que se presenta a continuación.



Figura 3.30. Prototipo crio congelador Fuente: Propia

# 3.3.6 Control de calidad y puesta en marcha para verificar el correcto funcionamiento del sistema de control

Una vez que ha quedado definido y estructurado nuestro sistema de control mediante el actuador y la planta se vuelve indispensable realizar las pruebas pertinentes o el control de calidad para verificar el correcto funcionamiento del sistema por lo que se adquiere nitrógeno líquido para probar temperaturas y presión que se ejerce dentro de ambos tanques así como la velocidad de transporte de un tanque a otro y la relación que hay entre las variables.

En la figura 3.31 se puede apreciar como en el tanque modulador ya se encuentra el nitrógeno para realizar las pruebas.



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO®



Figura 3.31. Tanque modulador con nitrógeno líquido Fuente: Propia

Ya teniendo nitrógeno dentro del tanque se comenzó a regular el calor en él mediante el cartucho calefactor todo esto mediante un monitoreo constante tanto de la presión como de la temperatura en puntos estratégicos en ambos tanques así como en la tee de distribución que une un tanque al otro y es por donde se realiza el paso del gas entre los tanques.

En la figura 3.32 podemos observar algunas de las lecturas de temperatura que se tomaron durante las pruebas así como también notar que es necesario aislar totalmente la tubería de la distribución para que se pierda la menor cantidad de nitrógeno posible.



Figura 3.32. Lecturas de temperatura realizadas durante las pruebas de funcionamiento del sistema Fuente: Propia

De igual forma en la figura 3.33 se muestran los manómetros de presión en ambos tanques y podemos ver como cada uno está calibrado en las 20lb debido a las necesidades de operación.



Figura 3.33. Manómetros durante las pruebas de funcionamiento Fuente: Propia

112231112





Así como también en la figura 3.34 es posible observar que en el tanque modulador el calor ejercido por nuestro cartucho hace el efecto adecuado notando como la parte en la que se encuentra está libre de nitrógeno.



Figura 3.34. Tanque modulador después de realizar las pruebas de funcionamiento del sistema **Fuente:** Propia







En la figura 3.35 que se muestra podemos ver una especie de resumen en el que se presentan las temperaturas alcanzadas así como la presión ejercida en ambos tanques durante el desarrollo del control de calidad de la planta, estos datos son obtenidos de las lecturas mostradas tanto por los sensores de temperatura así como por los manómetros de presión que pudimos observar en algunas imágenes anteriores.



Figura 3.35. Temperatura y presión alcanzadas en la planta del sistema durante pruebas de funcionamiento Fuente: Propia

Como nos podemos dar cuenta hay una pérdida de temperatura considerable, nada más en la entrada y salida de la tee de distribución se pierden 20° a tal punto de que a nuestro tanque criogénico llega temperatura positiva por lo que no es lo adecuado ni lo que se busca. Es por eso que se deben tomar en cuenta





algunas consideraciones como que tenemos un cambio de fase líquido a gaseoso, tenemos un recipiente sujeto a presión y por ende un cambio de volumen másico de gas, el cual genera una presión tal que eleva la temperatura de dicho gas. Al aumentar su presión aumenta su temperatura, esto se debe a la fórmula de los gases de Boile, y también tener en cuenta que para transportar el nitrógeno líquido pierde temperatura por la transferencia que existe a su paso.

Es por eso que tomando en cuenta las consideraciones anteriores se replanteó el diseño de la planta, el cual uno de los objetivos era el de reducir en lo posible las distancias de transporte del gas de nitrógeno, esto con la finalidad de reducir la transferencia de calor que ocurre en esta misma por lo que el nuevo diseño de la planta queda como se muestra en la figura 3.36.



Figura 3.36. Diseño nuevo de planta a controlar Fuente: Propia

Con este nuevo diseño lo que se busca es generar la mayor cantidad de gas de nitrógeno posible, esto pues que a mayor velocidad y por ende manejar bajas presiones, es lo más óptimo, para no elevar la temperatura del gas.





De igual manera lo que se busca es aumentar la velocidad de las partículas del nitrógeno así como el caudal y reducir presión para observar la relación entre variables y poder mantener una temperatura baja constante por aproximadamente 7 minutos como lo marca la curva o perfil de temperatura propuesto.



Figura 3.37. Prototipo nuevo crio congelador Fuente: Propia

Con este diseño una vez sometido al control de calidad y puesta en marcha física en el laboratorio los resultados que se obtienen es una mejora de un 40% respecto al crio congelador anterior en cuestión de flujo y con relación a esto concluir que la temperatura es proporcional al flujo quedando pendiente o como próxima meta hacer uniforme la temperatura en la cámara.



Figura 3.38. Temperatura alcanzada en el nuevo prototipo de la planta del sistema durante pruebas de funcionamiento Fuente: Propia

Como se mencionó, gracias al nuevo diseño se obtuvieron mejoras considerables pero aún no lo que se busca realmente por lo que todavía queda trabajo por hacer en ese sentido, algunas de las propuestas que se podrían llevar a cabo primeramente sería la de adecuar el cilindro móvil, inyección central de nitrógeno, así mismo asimilar el comportamiento del mismo y de los efectos termodinámicos dentro de la cámara de criogenia. Implementar un sistema de pre-enfriado de cámara de criogenia, esto con el fin de optimizar costos en cuestión del uso del recurso del nitrógeno así como también implementar y simular una turbina, para re direccionar el flujo de gas de nitrógeno y ver el comportamiento del gas y su óptimo aprovechamiento para la transferencia de energía.



## **Capítulo 4. Conclusiones**

En el presente trabajo de investigación se presenta el diseño y la implementación de un sistema criogénico de preservación de semen bovino por medio de control RST.

Como se mencionó durante el desarrollo de éste proyecto se realizó una aproximación al controlador RST para cambiar el diseño a un controlador PID por asignación de polos, esto debido a hacer más simple el diseño y a que se podría decir el RST es un controlador por asignación de polos, de igual manera el control desarrollado es un PID analógico y no digital, también por eso el cambio de RST a asignación de polos. Es importante mencionar que para el caso específico del proyecto, usar el método por asignación de polos fue útil para ajustar o sintonizar el controlador PID porque el error de velocidad es pequeño y sus resultados son satisfactorios.

Debido a que se trabajó con el congelador real en físico se lograron obtener funciones de transferencia, es decir, el modelo del sistema que muestra un comportamiento lo más cercano posible a la realidad a través de los trabajos realizados en el laboratorio con el crio congelador.

Sin embargo, la parte fundamental del proyecto es el desarrollo del algoritmo de control que, en términos de resultados, se obtuvo un buen comportamiento en simulación. Para darle continuidad a este proyecto de investigación se tiene la puesta en marcha del control en el crio congelador una vez que se logren cumplir con los objetivos restantes para el correcto funcionamiento de la máquina de criogenia y con la certeza de que el producto, es decir, las muestras de semen bovino serán crio preservados adecuadamente, logrando obtener la mayor cantidad posible en su estado requerido y necesario para la inseminación artificial. Siendo ésta la parte aplicada del mismo.

Todos los problemas que surgen mediante el desarrollo del proyecto contribuyen en la evolución de la investigación en la que estamos, pero a raíz de eso es que cada proyecto facilita el camino a otros investigadores.

El mismo método que ha sido desarrollado en el presente proyecto de investigación puede tenerse en cuenta para controlar algún otro material genético de otra especie de la cual sea necesario hacer un proceso de crio





preservación, no limitándose a los bovinos, simplemente con las condiciones necesarias para cumplir satisfactoriamente el proceso requerido.



# Trabajo Futuro.

A partir del presente proyecto de investigación se proponen los siguientes trabajos a futuro:

- El aislamiento térmico es de gran importancia en el crio congelador, éste influye en varios aspectos vitales como el rendimiento de nitrógeno y control de la temperatura en la cámara. Por este motivo es necesario elevar la eficacia de este, la cual se ve afectada por el diseño del crio congelador al no poder tener vacío, por lo que se deben colocar las capas de poliuretano o poliestireno expandido necesarias para aumentar el rendimiento del equipo.
- Se pretende que el nitrógeno entre en fase líquida a la cámara por medio de una tubería de cobre, con el fin de que su alta conductividad térmica gane energía y cuando entre a la cámara criogénica esté en fase gaseosa muy poco por encima de su temperatura de ebullición (entre -180 y -150°C).
- Hay que considerar redistribuir el nitrógeno en forma homogénea en la cámara por medio por medio de una pequeña turbina que esté colocada en el centro del émbolo.



- Al-Homoud, M. (2005). Performance characteristics and practical applications of common building thermal insulation materials. *Building and environment*, 353-366.
- Alvarado, E. C. (2006). *Análisis de timbre y robustez del controlador de diferencias.* Monterrey: Tecnológico de Monterrey.
- Alvarez, S. G., Gómez, F. J., García, I., & Manceras, D. (2007). Riesgos de los líquidos criogénicos. *Técnica Industrial*, 32.
- Anzar, M., Kroetsch, T., & Boswall, L. (2011). Cryopreservation of bull semen shipped overnight and its effect on post-thaw sperm motility, plasma membrane integrity, mitochondrial membrane potential and normal acrosomes. *Animal Reproduction Science*, 23–31.
- Arango, J. E., Durán, C. M., Lizarazo, J. E., & Duarte, J. A. (2017). Sistema automatizado para el congelamiento de semen bovino. *Revista Colombiana de Tecnologías de Avanzada*.
- Ávila-Portillo, L. M., Madero, J. I., López, C., León, M. F., Acosta, L., Gómez, C., . . . Reguero, M. T. (2006). Fundamentos de criopreservación. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*.
- Bar-Cohen, Yoseph. (2016). *Low temperature materials and mechanisms*. Taylor & Francis Group.
- Callejas Fuentes, M. A., Chávez Rivera, C. M., Díaz Gómez, L., & Hernández Paredes, J. M. (2019). Control de Posición de un Motor DC por Asignación de Polos. *REIA*.
- Castaño, S. A. (17 de Octubre de 2019). *Control PID por Asignación de Polos*. Obtenido de Control Automático Educación: https://controlautomaticoeducacion.com/control-realimentado/control-pid-porasignacion-de-polos/?unapproved=11306&moderationhash=3de69dda2d17adef83eb5cb6e9058a00#comment-11306
- Çengel, Y. A. (2007). *Transferencia de calor y masa. Un enfoque práctico*. México: McGraw-Hill.
- Choi, Y., & Okos, M. (1986). P. Food Engineering and Processs. Applications. Vol 1. *M. Le Magher, P. Jelen (Eds.)*, 93-103.





- Dalal, J., Kumar, A., Dutt, R., Singh, G., & Chandolia, R. (2018). Different Cooling Rates for Cryopreservation of Semen in Various Livestock Species: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*.
- Deloitte. (Agosto de 2018). *Industria*. Obtenido de Deloitte México: https://www2.deloitte.com/content/dam/Deloitte/mx/Documents/technology/SA P-Post-Agos.pdf
- Drobnis, E., Crowe, L., Berger, T., Anchordoguy, T., Overstreet, J., & Crowe, J. (1993). Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *J. Exp. Zool*, 432–437.
- Garza, V. J. (2016). Análisis del ciclo de vida de aislantes térmicos para la aplicación en edificaciones. UANL.
- Gobierno del Estado de Durango 2016 2022. (20 de Septiembre de 2019). *Durango 3er lugar nacional en exportación de ganado*. Obtenido de Gobierno del Estado de Durango 2016 2022: http://www.durango.gob.mx/durango-3er-lugar-nacional-en-exportacion-de-ganado/
- González Lascarro, A. K., & Pallares Sierra, J. D. (2013). Eficiencia comparativa entre dos diluyentes para la criopreservación de semen en toros brahmán en el departamento de Antioquia. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\_veterinaria/208
- González, R. P. (2014). *Criogenia: Cálculo de equipos. Recipientes a presión.* Ediciones Díaz de Santos.
- IMV Technologies. (s.f.). Digitcool. Programmable automatic freezers.
- IVE. (2011). Productos y materiales, propiedades de aislantes térmicos para rehabilitación energética.
- Jacquot, R. (1995). *Modern Digital Control Systems* . Routledge.
- Januskauskas, A., Gil, J., Söderquist, L., Håård, M., Håård, M., Johannisson, A., & Rodriguez-Martinez, H. (1999). Effect of cooling rates on post-thaw sperm motility, membrane integrity, capacitation status and fertility of dairy bull semen used for artificial insemination in Sweden. *Theriogenology*, 641-58.
- Kocur, M., Kozak, S., & Dvorscak, B. (2014). *Design and Implementation of FPGA Digital Based PID Controller*. Bratislava, Slovakia: Slovak University of Technology in Bratislava .





Kumar, S., Millar, J., & Watson, P. (2003). The effect of cooling rate on the survival of cryopreserved bull, ram, and boar spermatozoa: a comparison of two controlled-rate cooling machines. *Cryobiology*, 246-53.

Landau, I. D., & Zito, G. (2006). *Digital Control Systems*. Francia: Springer.

Longchamp, R. (1997). *Commande numérique de systèmes dynamiques*. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

Marshall, C. (1984). Considerations for cryopreservation of semen. Zoo Biology, 343–356.

Martínez, H. U., Andrés Marcelo, B., Muñoz Barrón, B., & Hernández, P. J. (2019). Control PID Convencional con Filtro Pasa Bajas para el Control de Velocidad de un Motor de CD. Instituto Tecnológico Superior de Huichapan, Hidalgo, México.

Mazur, P. (1965). Causes of injury in frozen and thawed cells. J. Gen. Physiol, 347-369.

Mazur, P. (1970). Cryobiology: the freezing of biological systems. *Science*, 939–949.

Medina-Robles, V. M., Sánchez-Carvajal, E., Velasco-Santamaría, Y., & Cruz-Casillas, P. E. (2007). Crioconservación de semen bovino usando un congelador programable (CL-8800) y determinación de su calidad postdescongelación por medio un sistema de análisis espermático asistido por computador (CASA). *Revista ORINOQUIA*. Obtenido de Revista ORINOQUIA.

Milind D, A. (2020). Cryocoolers Theory and Applications. Suiza: Springer.

- MSD Salud Animal México. (2020). *México se coloca como la 7ª potencia mundial en producción pecuaria*. Obtenido de Vanguardia Veterinaria: https://www.vanguardiaveterinaria.com.mx/mx-7-potencia-produccion-pecuaria
- Ogata, K. (1996). Sistemas de control en tiempo discreto. Segunda edición. Prentice Hall Hispanoamericana S.A.
- Ordoñez, P. A. (2007). Diseño automático de controladores RST robustos por medio del modelo de la función de sensibilidad. *Tecnológico de Monterrey*.
- Peterson, T. J., & Weisend II, J. G. (2019). *Cryogenic Safety. A Guide to Best Practice in the Lab.* Suiza: Springer.
- Polge, E. J. (1957). Low-temperature storage of mammalian spermatozoa. *Proc. R. Soc. Lond.*, 498–508.
- Prieto, M. (2011). Estudio y Diseño de Controladores Polinomiales RST aplicados a Plantas Lineales en Tiempo Discreto. *Universidad Distrital Francisco José de Caldas*.





- Ribeiro-Peres, A., Munita-Barbosa, L., Yumi-Kanazawa, M., Mello-Martins, M., & Ferreira de Souza, F. (2014). Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. *Arch Med Vet*.
- Rodriguez, O., Berndtson, W., Ennen, B., & Pickett, B. (1975). Effect of rates of freezing, thawing and level of glycerol on the survival of bovine spermatozoa in straws. *Journal of Animal Science*, 129-136.
- Santos, M., Sansinena, M., Zaritzky, N., & Chirife, J. (2013). How important are internal temperature gradients in french straws during freezing of bovine sperm in nitrogen vapor? Obtenido de Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina: http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/investigacion/howimportant-are-internal-temperature.pdf
- Swartz, J. M., & Lawrence, G. R. (s.f.). Fundamentals for Usage of Cryogenic Temperature Controllers. *Lake Shore Cryotronics Application Note*, 9.
- Thirumaleshwar, M., & Subramanyam, S. V. (1986). Cryogenic refrigeration methods for low and ultra-low temperatures A review. *Sddhand, Vol. 9, Part 3*, 191-232.
- Timmerhaus, K. D., & Reed, R. P. (2007). Cryogenic Engineering. New York: Springer.
- Verma, O. P., Singla, R., & Kumar, R. (2012). Intelligent Temperature Controller for Water-Bath System. *International Journal of Electrical and Computer Engineering*.
- Vishwanath, R., & Shannon, P. (2000). *Storage of bovine semen in liquid and frozen state*. Obtenido de Elsevier: www.elsevier.comr/locate/anireprosci
- Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal reproduction science*, 481-92.
- Woelders, H. (1997). Fundamentals and recent development in cryopreservation of bull and boar semen. *Vet Q.*, 135–138.
- Woelders, H., Matthijs, A., & Engel, B. (1997). Effects of trehalose and sucrose, osmolality of the freezing medium, and cooling rate on viability and intactness of bull sperm after freezing and thawing. *Cryobiology*, 93–105.



### Anexo 1. Señales fundamentales

Para el análisis de sistemas dinámicos en el dominio del tiempo es necesario el conocimiento de algunas señales típicas.

### Pulso de Dirac:

Es una señal fundamental, ya que todas las demás señales se obtienen haciendo pasar el pulso de Dirac por un filtro adecuado. El pulso de Dirac se define como el límite cuando  $\Delta \rightarrow 0$ , de un pulso de superficie unitaria que tiene una duración  $\Delta$  y una magnitud 1/ $\Delta$  (figura A.1). Para  $\Delta \rightarrow 0$ , la magnitud va hacia el infinito.

El pulso de Dirac se escribe como:

$$u(t) \begin{cases} = \lim_{\Delta \to 0} \frac{1}{\Delta}, & 0 \le t \le \Delta \\ = 0, & t < 0, t > \Delta \end{cases}$$

A pesar de ser un objeto matemático abstracto, en muchas situaciones, la duración de un pulso aplicado a un sistema es muy corta comparada con las constantes de tiempo del sistema, y puede ser aproximada por un pulso de Dirac. La respuesta de un sistema a un pulso de Dirac se conoce como respuesta al impulso.

El equivalente en tiempo discreto del pulso de Dirac (también conocido como función delta ( $\delta$ ) o función de Kronecker) es:

$$u(t) \begin{cases} = 1 & t = 0 \\ = 0 & t \neq 0 \end{cases}$$

Escalón:

El escalón unitario está definido por:





$$u(t) \begin{cases} = 0 & t < 0 \\ = 1 & t \ge 0 \end{cases}$$

El escalón puede interpretarse como la integral del pulso de Dirac.

El escalón de tiempo discreto se define de forma similar:

$$u(t) \begin{cases} = 0 & t < 0 \\ = 1 & t = 0, 1, 2, 3, \dots \end{cases}$$

El escalón de tiempo discreto puede obtenerse mediante la integración numérica del pulso de Dirac de tiempo discreto (función  $\delta$ ).

La respuesta de un sistema a un escalón se conoce como respuesta al escalón.

Rampa:

La rampa se define de la siguiente manera:

$$u(t) \begin{cases} = 0 & t < 0 \\ = t & t \ge 0 \end{cases}$$

La rampa corresponde a la integral del escalón unitario o a la doble integración del impulso de Dirac. En tiempo discreto, la rampa se define como:



Figura A.1. Señales pulso de Dirac, Escalón y Rampa Fuente: (Landau & Zito, 2006)



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO®

118

### Anexo 2. Driver Arduino IBT2 – PWM Puente H

Drivers para controlar motores de corriente continua de alta potencia, capaces de proporcionar hasta 43A de corriente a una tensión de alimentación de entre 6 a 27V.

La lógica del driver funciona a con voltajes de 3.3V a 5V. Permiten realizar el control de la velocidad del motor mediante PWM con una frecuencia máxima de 25 kHz.

Esquema de conexión:



Figura A.2. Diagrama de conexión módulo IBT2 y Arduino Fuente: (BricoGeek)







Código de funcionamiento:

	#include "BTS7960.h"
	const uint8_t EN = 8;
	const uint8_t L_PWM = 9;
	const uint8_t R_PWM = 10;
	BTS7960 motorController(EN, L_PWM, R_PWM);
	void setup()
10.	{
11.	}
12.	
13.	void loop()
14.	{
15.	<pre>motorController.Enable();</pre>
16.	
	<pre>for(int speed = 0 ; speed &lt; 255; speed+=10)</pre>
18.	{
19.	<pre>motorController.TurnLeft(speed);</pre>
20.	delay(100);
21.	}
22.	
23.	<pre>motorController.Stop();</pre>
24.	
25.	<pre>for(int speed = 255 ; speed &gt; 0; speed-=10)</pre>
26.	{
27.	<pre>motorController.TurnLeft(speed);</pre>
28.	delay(100);
29.	}
	<pre>motorController.Stop();</pre>
31.	<pre>motorController.Disable();</pre>
32.	delay(5000);
2.2	

322

3 SULLAN

3223



11233

JP DI



# Anexo 3. Masa molar, constante de gas y calores específicos de gas ideal de algunas sustancias

Masa molar, constante de gas y calores específicos de gas ideal de algunas sustancias					
Sustancia	Masa molar	Constante de gas	Datos de calores específicos a 25°C		
Sustancia	M, kg/kmol	R, kJ/kg-K*	Cp, kJ/kg-K	C <sub>v</sub> , kJ/kg-K	$\mathbf{k} = \mathbf{C}_{\mathbf{p}} / \mathbf{C}_{\mathbf{v}}$
Aire	28.97	0.2870	1.005	0.7180	1.400
Amoniaco, NH₃	17.03	0.4882	2.093	1.0605	1.304
Argón Ar	39.95	0.2081	0.5203	0.3122	1.667
Bromo, Br <sub>2</sub>	159.81	0.05202	0.2253	0.1732	1.300
n-Butano, C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	58.12	0.1430	1.694	1.551	1.092
Cloro, Cl <sub>2</sub>	70.905	0.1173	0.4781	0.3608	1.325
Clorodifluorometano (R-22), CHClF <sub>2</sub>	86.47	0.09615	0.6496	0.5535	1.174
Dióxido de Azufre, SO <sub>2</sub>	64.06	0.1298	0.6228	0.4930	1.263
Dióxido de Carbono, CO <sub>2</sub>	44.01	0.1889	0.8439	0.6550	1.288
Dióxido de Nitrógeno NO <sub>2</sub>	46.006	0.1889	0.8060	0.6171	1.306
Etano, C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	30.070	0.2765	1.744	1.468	1.188
Etileno, C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	28.054	0.2964	1.527	1.231	1.241
Flúor, F <sub>2</sub>	38.00	0.2187	0.8237	0.6050	1.362
Helio, He	4.003	2.077	5.193	3.116	1.667
n-Heptano, C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	100.20	0.08297	1.649	1.566	1.053
n-Hexano, C₀H <sub>14</sub>	86.18	0.09647	1.654	1.558	1.062
Hidrógeno, H <sub>2</sub>	2.016	4.124	14.30	10.18	1.405
Isobutano, C <sub>4</sub> H <sub>10</sub>	58.12	0.1430	1.663	1.520	1.094
Kriptón, Kr	83.80	0.09921	0.2480	0.1488	1.667
Metano, CH <sub>4</sub>	16.04	0.5182	2.226	1.708	1.303
Monóxido de Carbono, CO	28.01	0.2968	1.039	0.7417	1.400
Neón, Ne	20.183	0.4119	1.030	0.6180	1.667
Nitrógeno N <sub>2</sub>	28.01	0.2968	1.040	0.7429	1.400
Óxido Nítrico, NO	30.006	0.2771	0.9992	0.7221	1.384
Oxígeno, O <sub>2</sub>	32.00	0.2598	0.9180	0.6582	1.395
n-Pentano, C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>	72.15	0.1152	1.664	1.549	1.074
Propano C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	44.097	0.1885	1.669	1.480	1.127
Propileno, C3H6	42.08	0.1976	1.531	1.333	1.148
Tetrafluorometano, CCl <sub>4</sub>	153.82	0.05405	0.5415	0.4875	1.111
Tetrafluoroetano (R-134 <sup>a</sup> ), C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> F <sub>4</sub>	102.03	0.08149	0.8334	0.7519	1.108
Trifluoroetano (R-143ª), C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	84.04	0.09893	0.9291	0.8302	1.119
Vapor de Agua, H <sub>2</sub> O	18.015	0.4615	1.865	1.403	1.329
Xenón, Xe	131.30	0.06332	0.1583	0.09499	1.667





## Anexo 4. Propiedades de puntos de ebullición y de congelación

Propiedades de puntos de ebullición y de congelación

うしいい

11232

· · ·	Datos de ebullición a 1 atm		Datos de congelación		Propiedades de líquido		
	Punto de	Calor latente	Punto de	Calor latente			Calor
	ebullición	de vaporización	congelación,	de fusión	Temperatura,	Densidad,	específico
Sustancia	normal, °C	h <sub>fg</sub> , kJ/kg	°C	h <sub>if</sub> , kJ/kg	°C	$\rho$ , kg/m <sup>3</sup>	C <sub>P</sub> , kJ/kg-K
Aceite (ligero)					25	910	1.80
Agua	100	2257	0.0	333.7	0	1000	4.22
-					25	997	4.18
					50	988	4.18
					75	975	4.19
					100	958	4.22
Alcohol etílico	78.6	855	-156	108	20	789	2.84
Amoniaco	-33.3	1357	-77.7	322.4	-33.3	682	4.43
					-20	665	4.52
					0	639	4.60
					25	602	4.80
Argón	-185.9	161.6	-189.3	28	-185.6	1394	1.14
Benceno	80.2	394	5.5	126	20	879	1.72
n-Butano	-0.5	385.2	-138.5	80.3	-0.5	601	2.31
Dióxido de carbono	-78.4*	230.5 (a 0°C)	-56.6		0	298	0.59
Etanol	78.25	838.3	-114.2	109	25	783	2.46
Etilenglicol	198.1	800.1	-10.8	181.1	20	1109	2.84
Glicerina	179.9	974	18.9	200.6	20	1261	2.32
Helio	-268.9	22.8	-	-	-268.9	146.2	22.8
Hidrógeno	-252.8	445.7	-259.2	59.5	-252.8	70.7	10.0
Isobutano	-11.7	367.1	-160	105.7	-11.7	593.8	2.28
Mercurio	356.7	294.7	-38.9	11.4	25	13560	0.139
Metano	-161.5	510.4	-182.2	58.4	-161.5	423	3.49
					-100	301	5.79
Metanol	64.5	1100	-97.7	99.2	25	787	2.55
Nitrógeno	-195.8	198.6	-210	25.3	-195.8	809	2.06
					-160	596	2.97
Octano	124.8	306.3	-57.5	180.7	20	703	2.10
Oxígeno	-183	212.7	-218.8	13.7	-183	1141	1.71
Petróleo	-	230-384			20	640	2.0
Propano	-42.1	427.8	-187.7	80.0	-42.1	581	2.25
					0	529	2.53
					50	449	3.13
Queroseno	204-293	251	-24.9	-	20	820	2.00
Refrigerante-134a	-26.1	216.8	-96.6	-	-50	1443	1.23
					-26.1	1374	1.27
					0	1295	1.34
					25	1207	1.43
Salmuera (20 por ciento							
cloruro de sodio,							
porcentaje másico)	103.9	-	-17.4	-	20	1150	3.11





# Anexo 5. Propiedades térmicas Acrilonitrilo-Butadieno-Estireno (ABS)

Temperatura de transición vítrea:

87.9 - 118 °C

Temperatura de fusión:

200 - 245 °C

### Coeficiente de dilatación térmica lineal:

A la temperatura de:	Coeficiente de expansión lineal
T <sub>amb</sub>	9e-5 - 11e-5 1/K

### Conductividad térmica:

A la temperatura de:	Conductividad térmica
T <sub>amb</sub>	0.188 - 0.335 W/m·K

### Capacidad calorífica específica:

A la temperatura de:	Capacidad calorífica específica
T <sub>amb</sub>	1.39e3 - 1.92e3 J/kg.K

Observaciones:

NO NO NO NO

Buena estabilidad al calor. Quema generando un humo denso, sin goteo.





# Anexo 6. Propiedades del vidrio

M.S.S.

Nombre	Vidrio
Fase en STP	sólido
Densidad	2500 kg / m3
Resistencia a la tracción	7 MPa
Límite de elastacidad	N / A
Módulo de Young	80 GPa
Dureza Brinell	1550 BHN
Punto de fusion	1700 ° C
Conductividad térmica	1,05 W / mK
Capacidad calorífica	840 J / g K
Precio	5\$/kg