

УДК 536.629

© С. П. Моисеева, Г. В. Котельников, А. А. Савосин, 2019

КАПИЛЛЯРНЫЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ ТИТРАЦИОННЫЙ НАНОКАЛОРИМЕТР С МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ УСТРОЙСТВАМИ ВВОДА / ВЫВОДА

Использование мультиматричных устройств ввода / вывода в экспериментальном образце капиллярного дифференциального титрационного нанокалориметра (далее нанокалориметр) обеспечило эффективность разработки путем уменьшения времени, затраченного на поиск оптимальной структуры этого прибора и создание документации на наиболее технологически сложный и трудоемкий узел — калориметрический блок нанокалориметра. Нанокалориметр превышает мировой уровень, обеспечивая работу с короткоживущими объектами, предусмотрена возможность ввода в течение 10–20 с в измерительный объем калориметрических камер добавки, хранившейся на льду. Нанокалориметр перспективен для использования в исследованиях, повышающих продуктивность и расширяющих ареал возделывания культурных растений путем поиска механизмов и соединений, снижающих неблагоприятное воздействие экстремальных факторов природной среды.

Кл. сл.: капиллярная калориметрическая камера, тепловой шунт, мультиматричные устройства ввода/вывода, дозирующий шприц, винтовой механизм

ВВЕДЕНИЕ

В процессе разработки экспериментального образца капиллярного дифференциального титрационного нанокалориметра (далее нанокалориметр), в котором реализуются десятки различных алгоритмов, использованы мультиматричные устройства ввода/вывода (Lab-PC+ и ТЮ-10, в дальнейшем могут быть использованы PCIe 6341 и PCI-6602), система графического программирования LabView. LabVIEW оптимизирована для работы как с автономными приборами, так и со сложными системами управления. Эта система позволяет автоматизировать процесс сбора данных, информации и построить управляющие системы, а также значительно улучшить эффективность разработки путем уменьшения времени, необходимого для получения и проверки данных [1]. Все это позволило разработать цифровой блок управления, что удобно при разработке сложных научных приборов, однако дорого для коммерческого научного прибора.

Вопрос удешевления коммерческих нанокалориметров целесообразно решать, после того как новый нанокалориметр с мультиматричными устройствами ввода / вывода зарекомендует себя в научной практике. При ограниченном выпуске данных приборов создание сложного научного прибора путем разработки автономных аппаратно-программных блоков управления вместо

предложенного построения может значительно увеличить сроки разработки и окупаемости произведенных затрат.

Мультиматричные устройства ввода/вывода активно используются в авиационно-космической технике, при контроле материалов, в научных исследованиях [2–5]. Предложенное построение калориметра обеспечило успешное проведение исследований при проектировании этого прибора и его модернизации после биотехнических испытаний на исследовательских образцах, используемых в современных научных исследованиях в биологии [6].

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА НАНОКАЛОРИМЕТРА

На рис. 1 дана функциональная схема нанокалориметра, реализующая указанный подход. Нанокалориметр содержит эталонную 1 и рабочую 2 калориметрические камеры в виде прямых капиллярных трубок с внутренним диаметром 2.0 мм. Термостатирование камер осуществляется терморегулируемыми тепловыми шунтами 3, 4 и экранами 5, 6, 7 и 8. Строгое взаимное расположение указанных элементов обеспечивается креплением их к фланцу 9 калориметрического блока, к которому также крепится экран охлаждения 7 и внешний термостатирующий экран 8. На указанном фланце установлены направляющий узел 10,

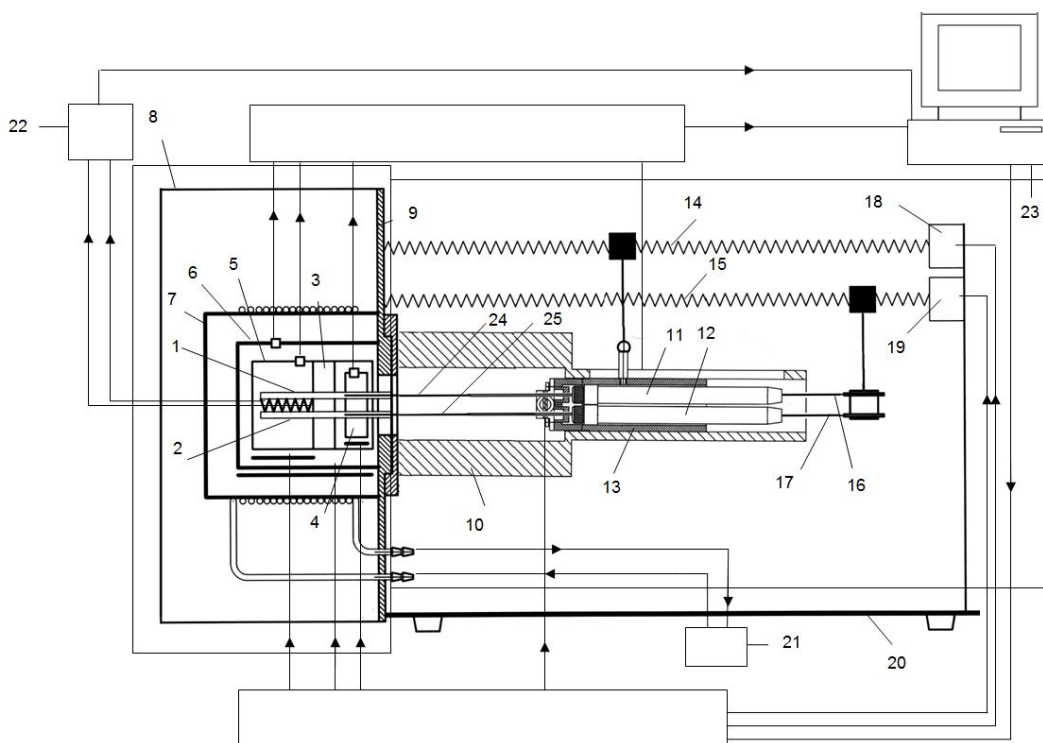


Рис. 1. Функциональная схема нанокалориметра (обозначения см. в тексте)

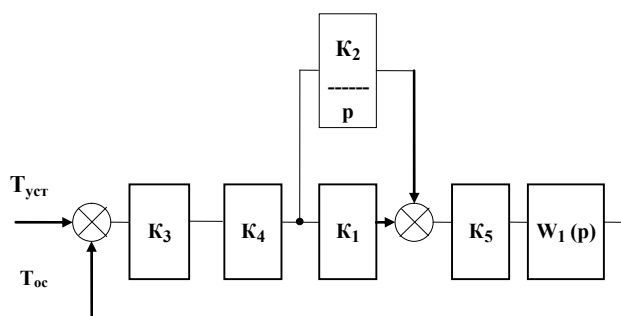


Рис. 2. Структурная схема САР термостатирующего экрана.

Данная система реализует цифровое ПИ-регулирование с обеспечением коррекции частотных характеристик элементов САР, используемых в калориметре; K_1 – K_5 — коэффициенты усиления элементов; $W_1(p)$ — передаточная функция термостатирующего экрана; $T_{уст}$ — задающий сигнал; $T_{ос}$ — сигнал жесткой обратной связи

обеспечивающий требуемое положение дозирующих шприцов 11 и 12, которые объединены общим корпусом 13, и винтовые механизмы 14 и 15 для раздельного перемещения шприцов 11, 12 и их

поршней 16 и 17. Перемещение этих элементов осуществляется двумя шаговыми двигателями 18 и 19 независимо друг от друга. Общий корпус калориметра 20 служит для крепления фланца 9 калориметрического блока, источников питания и других элементов системы управления калориметром. Термостат охлаждения 21, измерительный вольтметр 22 и управляющий компьютер 23 устанавливаются автономно. Система управления нанокалориметра обеспечивает: а) цифровое регулирование температуры пяти элементов калориметрического блока; б) автоматическое дозирование реагентов дозирующими шприцами в режимах опускания и подъема дозирующих игл 24 и 25 с обеспечением введения заданной дозы; в) режим многократного автоматизированного ввода добавки; г) перемешивание реагентов в калориметрических камерах за счет колебаний дозирующих игл; е) ввод, индикацию управляемых параметров, архивирование и визуализацию данных.

ПРИМЕР РЕАЛИЗАЦИИ СИСТЕМ АВТОМАТИЧЕСКОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ

На рис. 2 представлена структурная схема одного из термостатирующих экранов, используя

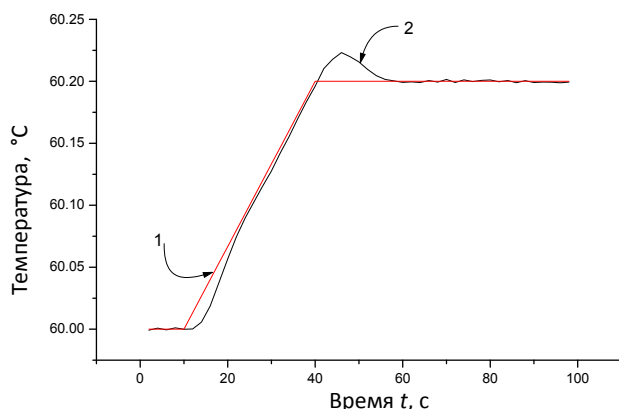


Рис. 3. Термограмма нагрева термостатирующего экрана с постоянной скоростью.
1 — задающий сигнал управления температурой;
2 — сигнал жесткой обратной связи

шая алгоритм ПИ-регулирования, обеспечивающий высокую помехозащищенность и требуемое быстродействие системы автоматического регулирования (далее САР). На рис. 3 приведена термограмма нагрева термостатирующего экрана с постоянной скоростью для получения данных для расчета добротности системы по величине динамической ошибки. На рис. 4 представлена блок-диаграмма САР в качестве примера реализации цифровых САР в калориметре. В разработке использована интегрированная среда разработчика для создания интерактивных программ сбора, обработки данных и управления периферийными устройствами [7]. Данная блок-диаграмма выполняет расчет текущего управления на основе управ-

ления предыдущего такта ("с_экран") и массива рассогласований текущего и предыдущего тактов ("ar1"), который после умножения на массив коэффициентов ("коэффициенты") и последующего сложения всех элементов полученного массива дает приращение управления в соответствии с текущим рассогласованием ("du"). Управляющий сигнал ("ul") является суммой управления предыдущего такта и приращения управления. Диаграмма отражает состояние логической линии в зависимости от флага ("fl"). В итоге блок-диаграмма реализует ПИ-закон управления. В цифровом виде этот закон представлен рекуррентным выражением, приемлемым для программирования [8]:

$$u_k = u_{k-1} + K_1 \cdot e_k + (T_0 \cdot K_2 - K_1) \cdot e_{k-1},$$

где u_k — текущее значение управления, u_{k-1} — управление предыдущего такта, e_k — текущее значение рассогласования, e_{k-1} — рассогласование предыдущего такта, T_0 — период квантования, K_2 и K_1 — коэффициенты интегральной и пропорциональной составляющих алгоритма ПИ-регулирования в соответствии со структурной схемой САР на рис. 2.

ТЕСТИРОВАНИЕ НАНОКАЛОРИМЕТРА

Для тестирования нанокалориметра использован широко применяемый в научной практике тест, основанный на взаимодействии хлористого бария с краун-эфиром [9]. По алгоритму, предложенному Wiseman в работе [10], экспериментально определяются тепловые эффекты для каждой добавки лиганда. Алгоритм обработки результатов

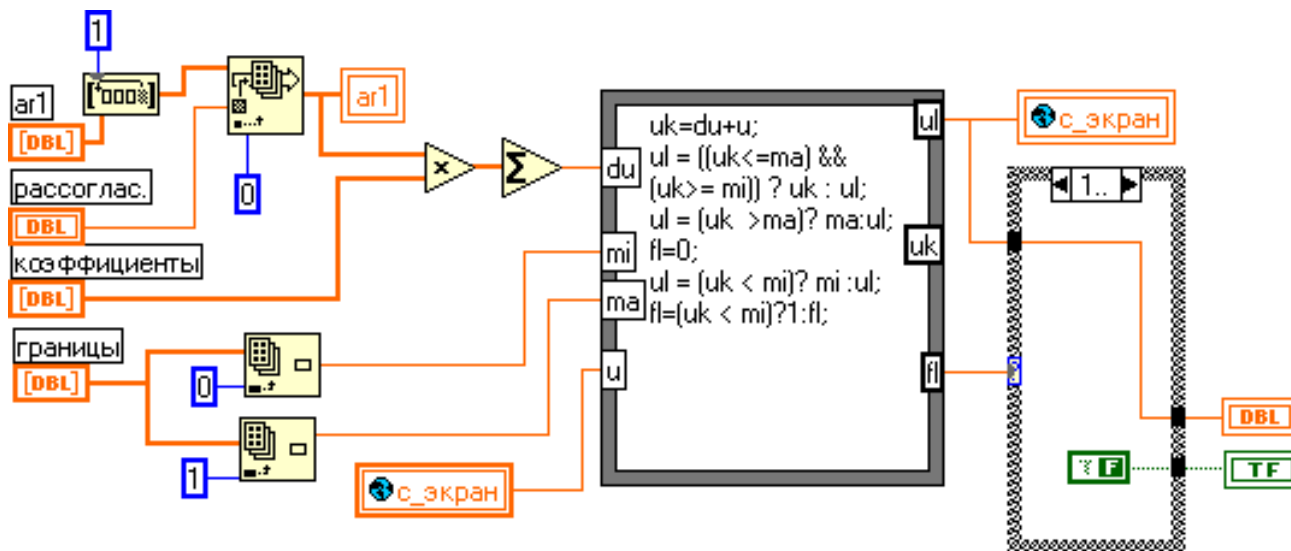


Рис. 4. Блок-диаграмма САР в качестве примера реализации цифровых САР в калориметре

измерений базируется на зависимости константы связывания в объеме калориметрической камеры от концентрации связанного лиганда, концентрации свободного лиганда и концентрации макромолекул. Тепловой эффект, связанный с каждой добавкой лиганда, представляет экспериментально наблюдаемую реакцию в титрационной калориметрии. Для каждой добавки поглощаемое или выделяемое тепло, возникающее при изменении концентрации связанного лиганда, пропорционально изменению концентрации связанного лиганда, энтальпии связывания и реакционному объему. Пошаговым титрованием система доводится до насыщения. При этом величина тепла уменьшается на каждом шаге. Для определения калибровочного коэффициента берется значение первого пика [9], что позволяет оцифровать каждый пик в единицах энергии. Предложенный Wiseman алгоритм требует вычисления концентраций образца и титранта на каждом шаге, которые вычисляются с учетом вытеснения реагентов из камер [11–13]. Для обработки результатов в среде LabView была сделана программа, которая, как и все известные: ORIGIN (Microcal Software, Inc.) [14], BindWorks (CSC Corp.) [15], KALORI [16], использовала метод нелинейной оптимизации для определения параметров связывания: изменение энтальпии (ΔH°) и константу связывания (K). Стехиометрический коэффициент был равен 1, что было известно априори для выбранного теста. Получены данные: $K = (5.3 \pm 0.2) \cdot 10^3$ л/моль и стандартная энтальпия $\Delta H = -31.5 \pm 0.3$ кДж/моль, соответствующие литературным данным [9].

Характеристики калориметра

Масштабный коэффициент шкалы мощности 83 нВ / 1мкВт; измерение исследуемых процессов трансформации и диссипации энергии в митохондриях с абсолютной погрешностью не более 50 нВт; измерительный объем калориметрической камеры 156 мкл; объем добавки суспензии митохондрий (титранта) от 1 до 10 мкл; изотермический режим работы нанокалориметра в диапазоне температур от 15 до 50 °С; механическое перемешивание реагентов в калориметрических камерах колеблющимися дозирующими иглами с частотой от 1 до 20 Гц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование multifункциональных устройств ввода/вывода в нанокалориметре обеспечило эффективность разработки путем уменьшения времени, необходимого для поиска оптимальной структуры этого прибора и разработки документации на наиболее технологически сложный и

трудоемкий узел — калориметрический блок нанокалориметра. Преимущества нанокалориметра перед зарубежными титрационными калориметрами позволяют в установленном порядке рассмотреть вопрос о подготовке к выпуску в ИБП РАН калориметра, базирующегося на основе нанокалориметра и превышающего мировой уровень. Нанокалориметр перспективен для обеспечения исследований, повышающих продуктивность и расширяющих ареал возделывания культурных растений путем поиска механизмов и соединений, снижающих неблагоприятное воздействие экстремальных факторов природной среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Знакомьтесь: LabVIEW. URL: <http://www.ni.com/ru-ru/shop/labview.html> (дата обращения 20.12.2018).
2. Недорезов Д.А., Пичкалев А.В., Красненко С.С. Лабораторно-отработочный комплекс внутриприборного интерфейса перспективных космических аппаратов // Решетневские чтения. 2014. Т. 1, № 18. С. 332–333.
3. Симонов П.И., Кубанков Ю.А. Методика декодирования сообщений ADS-B как часть проверки качества бортовых систем воздушного судна в составе автоматизированных измерительных стендов, построенных в среде графического программирования LabView // Научные технологии в космических исследованиях Земли. 2018. Т. 10, № 2. С. 12–21.
4. Загреддинов А.Р., Кондратьев А.Е., Зиганшин Ш.Г. Аппаратно-программное обеспечение ударно-акустического контроля композиционных конструкций // Инженерный вестник Дона. 2014. Т. 31, № 4-1. С. 27.
5. Вагин А.И., Сытин А.Н., Кузнецов И.Е., Лобов И.В., Коковин В.А., Дягилев В.И. Программно-аппаратный комплекс для лабораторных научных исследований // Известия Института инженерной физики. 2018. Т. 48, № 2. С. 73–76.
6. Моисеева С.П., Котельников Г.В., Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Войников В.К. Калориметрические измерения теплопродукции в митохондриях растительных клеток // Научное приборостроение. 2018. Т. 28, № 3. С. 59–62.
URL: <http://iairas.ru/mag/2018/abst3.php#abst8>
7. LabView. User Manual. National Instruments, Austin, Texas, USA, 1998. 514 p.
8. Изерман Р. Цифровые системы управления: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 541 с.
9. Briggner L.E., Wadsö I. Test and calibration processes for microcalorimeters, with special reference to heat conduction instruments used with aqueous systems // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 1991. Vol. 22, no. 2. P. 101–118.
10. Wiseman T., Williston S., Brandts J.F., Lin L. Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter // Analytical Biochemistry. 1989. Vol. 179. P. 131–137. DOI: 10.1016/0003-2697(89)90213-3

11. *Donnert J., Caruthers M.H., Gill S.J.* A calorimetric investigation of the interaction of the lac repressor with inducer // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 257, no. 24. P. 14826–14829.
12. *Harrous M.E., Mayorga O.L., Parody-Morreale A.* Description of a new Gill titration calorimeter for the study of biochemical reactions. II: operational characterization of the instrument // *Meas. Sci. Technol.* 1994. Vol. 5. P. 1071–1077. DOI: 10.1088/0957-0233/5/9/007
13. *Spokane R.B., Gill S.J.* Titration microcalorimeter using nanomolar quantities of reactants // *Rev. Sci. Instrum.* 1981. Vol. 52, no.11. P. 1728–1733. DOI: 10.1063/1.1136521
14. Origin 6.0 Reviewer's Guide.
URL: <https://www.originlab.com/pdfs/revguide.pdf> (дата обращения 24.04.2019).
15. TA Instruments New Features in NanoAnalyze Software.
URL: https://s3.amazonaws.com/TAInstruments/Nano/Nano+Analyze/NanoAnalyze_notes.pdf (дата обращения 23.04.2019).
16. *Karlsson R., Kullberg L.* A computer method for simultaneous calculation of equilibrium constants and enthalpy changes from calorimetric data // *Chemica Scripta.* 1976. Vol. 9. P. 54–57.

**Институт биологического приборостроения РАН,
г. Пущино, Московская область**

Контакты: *Моисеева Софья Петровна,*
spmoiseewa@yandex.ru

Материал поступил в редакцию 21.12.2018

CAPILLARY TITRATION NANOCALORIMETER WITH MULTIFUNCTION I/O DEVICES

S. P. Moiseyeva, G. V. Kotelnikov, A. A. Savosin

Institute for Biological Instrumentation RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia

The use of multifunctional input/output devices in an experimental sample of a capillary differential titration nanocalorimeter ensured its efficiency by reducing the time spent to find the optimal nanocalorimeter design and to develop documentation on the most technologically complicated and laborious node — the calorimetric unit of the nanocalorimeter. Nanocalorimeter exceeds the worldwide level, providing work with short-lived objects. It's possible to enter stored on ice additives into calorimetric chambers within 10–20 seconds. Nanocalorimeter is promising for use in studies that increase the productivity and expand the area of plants' cultivation by searching for mechanisms and compounds that reduce the adverse effects of extreme environmental factors.

Keywords: capillary calorimetric chamber, thermal bridge, multifunction I/O devices, dosing syringe, screw mechanism

Fig. 1. Functional diagram of the nanocalorimeter

Fig. 2. Block diagram of the automatic control system (ACS) of the thermostatic screen. This system implements a digital PI control ensuring the correction of the frequency characteristics of the ACS elements used in a calorimeter; K_1 – K_6 are the element gain ratios, $W_1(p)$ —transfer function of the thermostating screen; T_{ycr} — reference input signal; T_{oc} — follow-up direct feedback signal

Fig. 3. Thermogram of heating of a thermostatic screen at a constant velocity: 1 — reference input signal for temperature control; 2 — follow-up direct feedback signal

Fig. 4. Block diagram of the automatic control system (ACS) as an example of the implementation of digital ACS in a calorimeter

REFERENCES

1. National Instruments. *Znakomtes: LabVIEW* [What is : LabVIEW?]. URL: <http://www.ni.com/ruru/shop/labview.html> (accessed 20.12.2018). (In Russ.).
2. Nedorezov D.A., Pichkalev A.V., Krasnenko S.S. [Ground tests of internal equipment interface of advanced spacecrafts]. *Reshetnevskie chteniya* [Reshetnev Readings], 2014, vol. 1, no. 18, pp. 332–333. (In Russ.).
3. Simonov P.I., Kubankov Yu.A. [Method of decoding ADS-B messages on automated measurement stands built of LabView framework, as part of the aircraft board systems quality control]. *Naukoemkie tekhnologii v kosmicheskikh issledovaniyakh Zemli* [Hi-Tech Earth Space Research], 2018, vol. 10, no. 2, pp. 12–21. (In Russ.).
4. Zagretidinov A.R., Kondrat'ev A.E., Ziganshin Sh.G. [Firmware of shock and acoustic control of composite designs]. *Inzhenernyy vestnik Dona* [Engineering journal of Don], 2014, vol. 31, no. 4-1, pp. 27. (In Russ.).
5. Vagin A.I., Sytin A.N., Kuznetsov I.E., Lobov I.V., Kokovin V.A., Dyagilev V.I. [Software and hardware complex for laboratory scientific research]. *Izvestiya Instituta inzhenernoy fiziki* [News of Institute of engineering physics], 2018, vol. 48, no. 2, pp. 73–76. (In Russ.).
6. Moiseyeva S.P., Kotelnikov G.V., Grabelnykh O.I., Po-bezhimova T.P., Voinikov V.K. [Calorimetric measurements of heat production in plant cell mitochondria]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Scientific Instrumentation], 2018, vol. 28, no. 3, pp. 59–62. DOI: 10.18358/np-28-3-i5962
7. *LabView. User Manual*. National Instruments, Austin, Texas, USA, 1998. 514 p.
8. Isermann R. *Digital Control Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1981. 527 p. (Russ. ed.: Izerman R. *Tsifrovyye sistemy upravleniya*. Moscow, Mir Publ., 1984. 541 p.). DOI: 10.1007/978-3-662-02319-8 (In Russ.).
9. Briggner L.E., Wadsö I. Test and calibration processes for microcalorimeters, with special reference to heat conduction instruments used with aqueous systems. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 1991, vol. 22, no. 2, pp. 101–118. DOI: 10.1016/0165-022X(91)90023-P
10. Wiseman T., Williston S., Brandts J.F., Lin L. Rapid measurement of binding constants and heats of binding using a new titration calorimeter. *Analytical Biochemistry*, 1989, vol. 179, pp. 131–137. DOI: 10.1016/0003-2697(89)90213-3
11. Donnert J., Caruthers M.H., Gill S.J. A calorimetric investigation of the interaction of the lac repressor with inducer. *J. Biol. Chem.*, 1982, vol. 257, no. 24, pp. 14826–14829.
12. Harrous M.E., Mayorga O.L., Parody-Morreale A. De-

- scription of a new Gill titration calorimeter for the study of biochemical reactions. II: operational characterization of the instrument. *Meas. Sci. Technol.*, 1994, vol. 5, pp. 1071–1077. DOI: 10.1088/0957-0233/5/9/007
13. Spokane R.B., Gill S.J. Titration microcalorimeter using nanomolar quantities of reactants. *Rev. Sci. Instrum.*, 1981, vol. 52, no. 11, pp. 1728–1733. DOI: 10.1063/1.1136521
14. Origin 6.0 Reviewer's Guide.
URL: <https://www.originlab.com/pdfs/revguide.pdf>
15. TA Instruments New Features in NanoAnalyze Software.
URL: https://s3.amazonaws.com/TAInstruments/Nano/Nano+Analyze/NanoAnalyze_notes.pdf
16. Karlsson R., Kullberg L. A computer method for simultaneous calculation of equilibrium constants and enthalpy changes from calorimetric data. *Chemica Scripta*, 1976, vol. 9, pp. 54–57.

Contacts: *Moiseeva Sof'ya Petrovna*,
spmoiseewa@yandex.ru

Article received by editing board on 21.12.2018