

МИКРОПРОЦЕССОРНЫЙ БЛОК УПРАВЛЕНИЯ КЛАПАНАМИ ПОЛУПРЕПАРАТИВНОГО ХРОМАТОГРАФА

Павел Александрович Зенков

Новосибирский государственный технический университет, 630073, Россия, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20, студент, e-mail: p_zenkov@econova.ru

Михаил Петрович Перельройзен

ООО ИХ «ЭкоНова», 630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28, доктор физико-математических наук, генеральный директор

Николай Николаевич Волков

ООО ИХ «ЭкоНова», 630090, Россия, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28, ведущий инженер

Разработан и экспериментально исследован алгоритм функционирования блока управления полупрепаративного жидкостного хроматографа, в котором заданный градиент элюции формируется с помощью электромагнитных клапанов CTV-31-32U-4 и MTV-3-1/4UFH-3. Электромагнитные клапаны осуществляют распределение и смешивание потоков жидкости между двумя каналами с общим входным портом и соответствующими выходными портами.

Ключевые слова: хроматография, электромагнитные клапаны, микроконтроллер.

MICROPROCESSOR VALVE CONTROL UNIT FOR SEMI-PREPARATIVE CHROMATOGRAPH

Pavel A. Zenkov

Novosibirsk State Technical University, 20, Prospect K. Marx St., Novosibirsk, 630073, Russia, Student, e-mail: p_zenkov@econova.ru

Mikhail P. Perelroyzen

EcoNova Ltd., 28, Inzhenernaya St., Novosibirsk, 630090, Russia, Ph. D., G. M.

Nikolay N. Volkov

EcoNova Ltd., 28, Inzhenernaya St., Novosibirsk, 630090, Russia, Lead Engineer

Software has been developed for the microprocessor unit of the valve control board of a semi-preparative chromatograph. A model for constructing an elution gradient using the solenoid valves CTV-31-32U-4 and MTV-3-1 / 4UFH-3 with two channels and three ports for connection (one common input and two output) was developed and implemented.

Key words: chromatography, solenoid valves, microcontroller.

Введение

Жидкостная хроматография широко применяется в современных химических и физических исследованиях для решения препаративных задач. С ее помощью осуществляют выделение и изучение аминокислот, пептидов, белков,

ферментов, вирусов, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и других высокомолекулярных соединений. Жидкостную хроматографию также используют для анализа и диагностики в медицине, химическом производстве и мониторинге параметров окружающей среды. В данной работе представлен разработанный в ООО «ИХ ЭкоНова» полупрепаративный хроматограф «Протеохром», основное предназначение которого заключается в разделении и анализе белков различного типа. Конструктивная реализация разработанного хроматографа «Протеохром» показана на рис. 1. Для повышения эффективности и удобства работы в предлагаемом приборе используется микропроцессорный блок управления электромагнитными клапанами многоконтурной гидравлической системы. Это позволяет существенно сократить время проведения химического анализа различных материалов, в том числе белковых соединений и медицинских препаратов.



Рис. 1. Хроматограф «Протеохром»

Методы и материалы

На рис. 2 представлена функциональная схема полупрепаративного жидкостного хроматографа «Протеохром».

Элюенты (растворы) находятся в двух (А и Б) емкостях 1. Из этих емкостей растворы через фильтры с помощью перистальтического насоса 6 за счёт разряжения подаются в гидравлическую систему. Трехпортовый двухканальный электромагнитный клапан 2 предназначен для формирования требуемого процентного содержания растворителей А и Б за счет различной длительности открывания и закрывания каналов.

В хроматографе предусмотрено два метода работы. В первом случае реализуется изократический режим, обеспечивающий постоянное содержание элюентов А и Б. Во втором случае реализуется градиентный режим, в котором происходит изменение процентного содержания элюентов А и Б во времени. Клапан 2

функционирует в автоматическом режиме и срабатывает таким образом, что открывая один канал, закрывает другой. Процентное содержание формируется временем открытия того или другого канала.

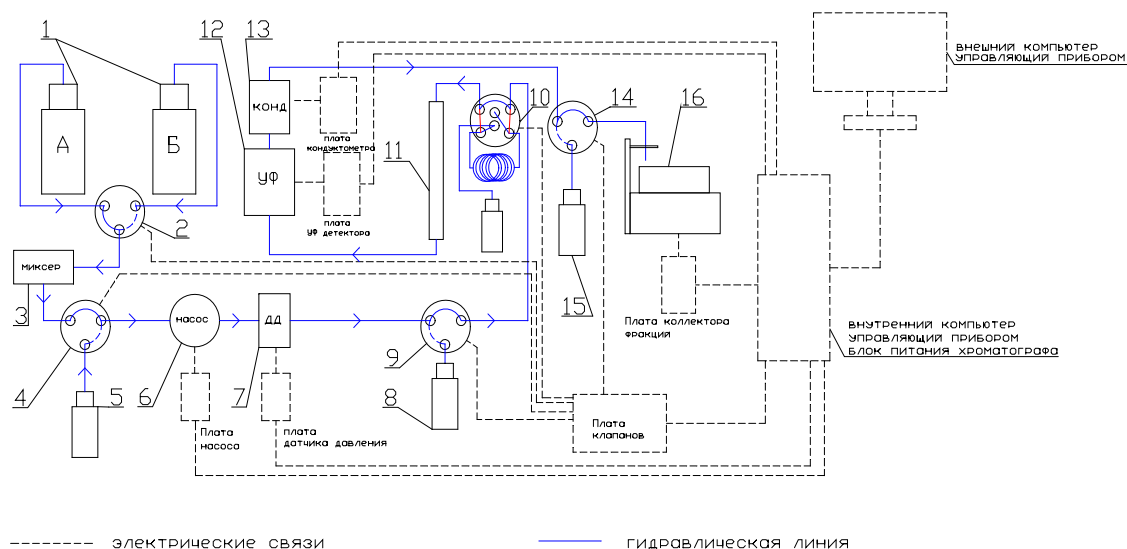


Рис. 2. Функциональная схема хроматографа «Протеохром»

В хроматографе предусмотрено два метода работы. В первом случае реализуется изократический режим, обеспечивающий постоянное содержание элюентов А и Б. Во втором случае реализуется градиентный режим, в котором происходит изменение процентного содержания элюентов А и Б во времени. Клапан 2 функционирует в автоматическом режиме и срабатывает таким образом, что открывая один канал, закрывает другой. Процентное содержание формируется временем открытия того или другого канала

Растворители, попадающие в гидравлическую систему, смешиваются в нужной пропорции в смесителе 3. Далее растворители направляются через электромагнитный клапан 4 к насосу 6. Клапан 4 применяется для загрузки образцов с объемом более 200 мкл и имеет внешнее управление от микропроцессорного блока управления клапанами. В режиме «загрузки пробы» клапан 4 напрямую соединяет емкость 5 с насосом 6. В режиме выключенной «загрузки пробы» клапан напрямую соединяет магистрали от смесителя (миксера 3) с насосом 6. Далее растворы проходят через перистальтический насос 6 в измерительную часть гидравлической системы. После этого поток жидкости проходит через датчик давления и попадает в клапан промывки 9. Далее жидкость проходит через ручной инжектор 10 для ручного ввода пробы. Анализируемые вещества (проба), попадая на хроматографическую колонку 11, разделяются и попадают в детектор ультрафиолетового излучения 12, где измеряется оптическая плотность на нескольких длинах волн. После прохождения хроматографической колонки 11 исследуемая жидкость сливается через клапан 14 в сливную емкость или в коллектор фракций.

Рассмотрим режимы управления электромагнитными клапанами хроматографа. Очевидно, что процесс управления клапанами 4, 9, 14 является тривиальной задачей (включить - выключить) и не требует подробного описания. Для клапана 2, обеспечивающего формирование градиента концентрации элюента, необходима разработка алгоритма управления.

Будем полагать, что профиль градиента элюции задается кусочно-линейной функцией. В этом случае средняя скорость течения жидкости в канале В описывается следующим выражением:

$$S(t) = S_0 \cdot (B_2 - B_1) / (T \cdot 100) \cdot t + B_1 / 100 \quad (1)$$

где B_1 – начальный градиент, B_2 – конечный градиент, T – продолжительность участка, S_0 – скорость потока жидкости; t – текущее время.

С учетом соотношения (1) объем жидкости, прокаченный через линию В, будет равен:

$$V_b(t) = \int_0^t S(t) dt = \frac{S_0 \cdot (B_2 - B_1)}{2 \cdot 100 \cdot T} \cdot t^2 + \frac{B_1}{100} \cdot t. \quad (2)$$

Исходя из вышеизложенного, наиболее перспективным вариантом практической реализации алгоритма управления режимами работы электромагнитных клапанов является использование цифровых технологий. Представленные выше соотношения (1) и (2) являются основой алгоритма, заложенного в микропроцессорный блок управления электромагнитными клапанами.

Базовый цикл алгоритма управления содержит следующую последовательность действий. Запускаем счетчик прокаченной жидкости через канал В и задаем начальное значение объема $V_p = 0$. Переключаем клапан на канал В. Запускаем таймер микропроцессора на $T_d = 500$ мсек. Это время определяется скоростью срабатывания клапана. В функции таймера вычисляем $V_p = V_p + S_0 \cdot T_d$, $t = t + T_d$, если значение V_p превысит $V_b(t)$ переключаем клапан на канал А и перестаем увеличивать V_p до тех пор, пока V_p не станет меньше $V_b(t)$. Описываемый цикл заканчивается тогда, когда значение t достигнет значения T . После этого таймер останавливается и по шине CAN-BUS выдается сообщение об окончании процесса.

В соответствии с описанным выше алгоритмом работы микропроцессорного блока были разработаны и реализованы платы управления электромагнитными клапанами хроматографа, одна из которых показана на рис. 3.

Все платы управления объединены шиной CAN и выполнены на одинаковых микроконтроллерах stm32f205.

Разработанные платы связаны с микрокомпьютером Beagle Bone Black (ARM Cortex-A8), работающим под управлением системы на ядре linux. Это позволило обеспечить взаимодействие плат управления без операционной системы по принципу «Vare-metal». При этом многозадачность реализована через сопрограммы. Соответствующие микропрограммы для каждой из плат написаны на

языке Си с использованием компилятора GCC. Электромагнитные клапаны открываются (или закрываются) подачей логического сигнала от микроконтроллера на вход управления силовыми цепями клапанов.

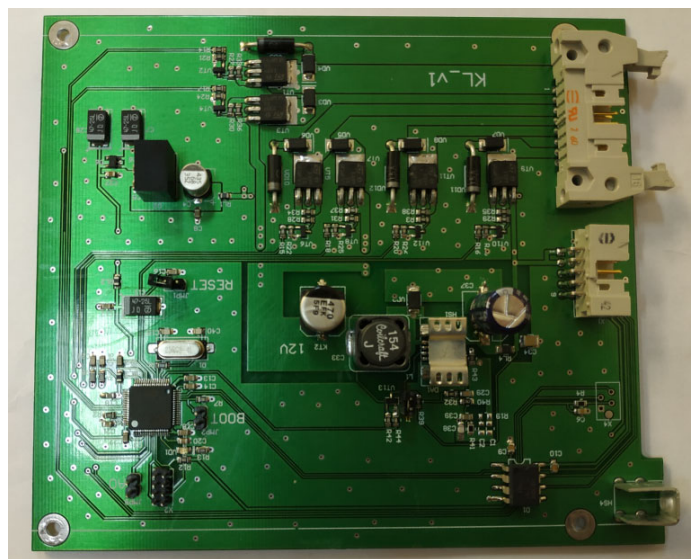


Рис. 3. Плата управления электромагнитными клапанами

Результаты

Для верификации описываемого хроматографа был проведен следующий эксперимент. Хроматографическая колонка 11 была заменена на капилляр, а в управляющей программе хроматографа x Chrome был задан профиль градиента элюции, состоящий из двух линейных участков.

На первом участке реализован линейный рост концентрации элюента В от 0 до 100 %. На втором участке было реализовано падение профиля градиента элюции по линейному закону до 0 %.

Затем в элюент был добавлено вещество уридин, которое поглощает ультрафиолетовое излучение. После прохождения элюентов А и В через пассивный смеситель они попадают в кювету блока оптического детектора, где непрерывно измеряется поглощение полученной смеси. Управляющая хроматографом программа сохраняет и визуализирует хроматограмму, полученную в ходе экспериментального измерения.

Построенный управляющей программой график для оптической плотности показывает практически реализованный градиент элюции.

Обсуждение

На рис. 4 представлены результаты работы алгоритма в тестовом режиме. Форма полученного градиента элюции достаточно хорошо совпадает с формой заданного градиента. На рисунке 4 видны две характерные особенности проведенного эксперимента: 1) практический реализованный градиент элюции

запаздывает на объем гидравлических соединений от смесителя до кюветы измерения; 2) полученный градиент в точке перегиба сглаживается за счет конечного объема смесителя. Таким образом, из анализа графиков, представленных рис. 4 следует, что полученные экспериментальные результаты применимы для практического использования.

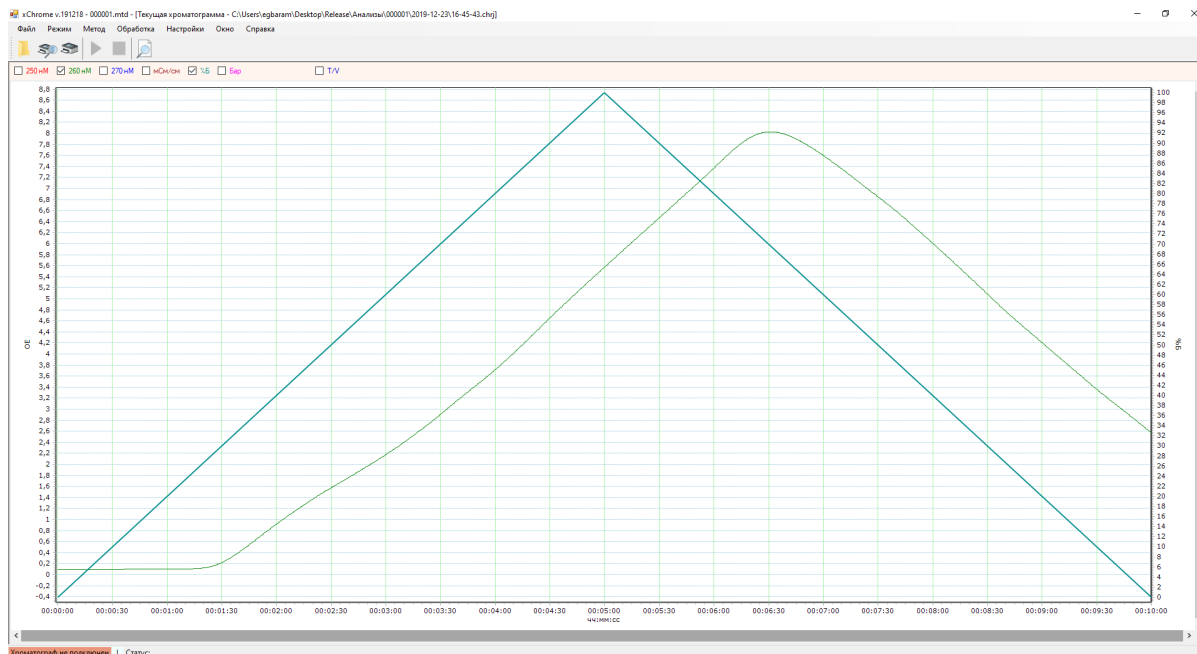


Рис. 4. Экспериментальный график градиента элюции

Заключение

Для блока управления клапанами серийно производимого хроматографа «Протеохром» был разработан и практически реализован алгоритм его функционирования на основе компьютерных и технологий и цифровых методов сбора и обработки данных. Описанная в работе программно-аппаратная реализация предложенного алгоритма успешно применяется в практической хроматографии.

Благодарности

Выражаю огромную благодарность коллегам из ООО ИХ «ЭкоНова» за предоставленное рабочее место и возможность выполнять данную работу. А именно Волкову А.Н., Волкову Н.Н., Перельройзену М. П. А так же химику-эксперту Кожановой Л.А. за проведенный эксперимент.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М., Наука, 1985. 536 с.
2. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. – М. Наука, 1981. 288 с.

3. Электрофорез белков и пептидов в полиакриламидном геле. Методическая разработка – М.: Биологический факультет МГУ, кафедра биоинженерии, 2007.
4. Raymond S., Weintraub L. Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis // Science. – 1959. – V. 130. – P. 711.
5. Ornstein L. DISC Electrophoresis. I. Background and Theory // Ann N Y Acad Sci. – 1964. – V. 121. – 321-49.
6. Davis BJ. DISC Electrophoresis. II. Method and Application to Human Serum Proteins // Ann N Y Acad Sci. – 1964. – V. 121. – P.404-27.
7. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680-685.
8. Guérin-Dubiard C, Pasco M, Hietanen A, Quiros del Bosque A, Nau F, Croguennec T. Hen egg white fractionation by ion-exchange chromatography. // J Chromatogr A. – 2005. – V. 1090. – P. 58-67.
9. Strang R H C. Purification of egg-white lysozyme by ion-exchange chromatography // Biochem Mol Biol Education. – 1984. – V. 12. – P. 57-59.
10. E. Li-Chan, S. Nakai, J. Sim, D.B. Bragg, K.V. Lo. Lysozyme Separation from Egg White by Cation Exchange Column Chromatography // J Food Sci. – 1986. – V. 51. – P. 1032.
11. Andrews AT, Taylor MD, Owen AJ. Rapid analysis of bovine milk proteins by fast protein liquid chromatography // J Chrom A. – 1985. – V. 348. – P.177-178.
12. Kristiansen KR, Otte J, Ipsen R, Qvist KB. Large-scale Preparation of b-Lactoglobulin A and B by Ultrafiltration and Ion-exchange Chromatography // Int Dairy J. – 1998. – V. 8. – P. 113-118.
13. STM32F205x, STM32F207xx Arm ® - based 32-bit MCU, 150 DMIPs, up to 1 MB Flash/128+4KB RAM, USBOTG HS/FS, Ethernet, 17 TIMs, 3 ADCs, 15 comm. interfaces and camera (datasheet)
14. Керниган Б. У., Ритчи Д. М. Язык программирования C = C programming language. – 2-е изд. – М.: «Вильямс», 2007. – С. 304. — ISBN 0-13-110362-8.
15. The C++ Programming Language by Bjarne Stroustrup — Addison–Wesley Pub Co; 3rd edition (February 15, 2000); ISBN 0-201-70073-5.
16. Лабораторный практикум для изучения микроконтроллеров архитектуры ARM Cortex-M4 на базе отладочного модуля STM32F4Discovery / Бугаев В.И., Мусиенко М.П., Крайнык Я. М. – Москва – Николаев: МФТИ-ЧГУ, 2013. –71с.
17. ARM (архитектура [Электронный ресурс] – Режим доступа: URL: [http://ru.wikipedia.org/wiki/ARM_\(архитектура\)/](http://ru.wikipedia.org/wiki/ARM_(архитектура)).
18. GNU Tools for ARM Embedded Processors [Электронный ресурс] – Режим доступа: URL: <https://launchpad.net/gcc-arm-embedded/+download>.
19. Бородулин А. STM8 и STM32 – объединенное пространство 8-и 32-разрядных микроконтроллеров // Компоненты и технологии №10. –2009.
20. STM32F4 GPIO tutorial [Электронный ресурс] – Режим доступа: URL: <http://eliaselectronics.com/stm32f4-tutorials/stm32f4-gpio-tutorial/>.
21. Brown J. Discovering the STM32 Microcontroller. January 8, 2013.
22. STM32F4: INTERRUPT TIMER [Электронный ресурс] – Режим доступа: URL:<http://amarkham.com/?p=29>.

© П. А. Зенков, М. П. Перельройзен, Н. Н. Волков, 2020