

Izotermiczna kalorymetria miareczkowa

Dariusz Wyrzykowski*

Zdecydowanej większości przemian fizycznych, chemicznych oraz biochemicznych towarzyszy absorpcja lub uwalnianie energii na sposób ciepła, dlatego ciepło stanowi uniwersalny wskaźnik przebiegu tego rodzaju przemian. Izotermiczna kalorymetria miareczkowa, w skrócie ITC (z ang. *Isothermal titration calorimetry*), to technika kalorymetryczna, w której mierzy się efekty energetyczne jakie towarzyszą procesom zachodzącym w stałej temperaturze (i pod stałym ciśnieniem atmosferycznym) podczas miareczkowania. Na podstawie pomiaru energii uwalnianej lub absorbowanej w trakcie miareczkowania kalorymetrycznego wyznaczyć można stałą tworzenia kompleksu K , stechiometrię badanego połączenia oraz wartości funkcji termodynamicznych reakcji, tj. zmianę entalpii swobodnej (ΔG°), zmianę entalpii (ΔH°) oraz zmianę entropii (ΔS°)¹⁾. Otrzymane dane pozwalają opisać badany proces na poziomie mikroskopowym.

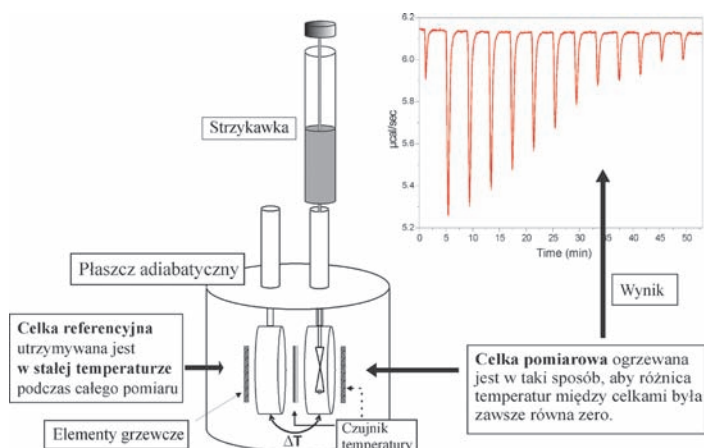
Stale tworzenia kompleksów mają istotne znaczenie w zrozumieniu procesów zachodzących w roztworach, poznaniu roli jonów metali w biologii, środowisku oraz w różnorodnych procesach przemysłowych. Wartość stałej tworzenia K dostarcza ogólnych informacji o oddziaływaniach jonu metalu z ligandem. Jednocześnie znajomość wartości funkcji termodynamicznych reakcji (ΔH , ΔS) pozwala lepiej zrozumieć charakter zachodzących przemian fizykochemicznych oraz czynniki wpływające na trwałość powstających połączeń. Z tego powodu zainteresowanie metodą ITC, szczególnie w ostatnich latach, stale wzrasta. Dodatkowo ze względu na możliwość stosowania roztworów nieprzeźroczystych oraz brak konieczności znakowania reagentów grupami chromo- lub fluorogenicznymi, izotermiczna kalorymetria miareczkowa stanowić może alternatywę lub uzupełnienie innych technik pomiarowych. Technika ITC wykorzystuje się głównie w badaniach biologicznych, biochemicznych, tj. do badania oddziaływań białek, kwasów nukleinowych, tłuszczów oraz innych makromolekuł, a także do badania kinetyki enzymatycznej [1]. W niniejszym artykule zostały przedstawione wybrane aspekty teoretyczne i praktyczne

związane z wykorzystaniem techniki ITC do badania oddziaływania jonów metali z ligandami organicznymi. Pomiar kalorymetryczny zostały przeprowadzone w temperaturze 298,15 K przy użyciu kalorymetru AutoITC firmy MicroCal Inc. GE Healthcare, Northampton, USA.

Budowa oraz zasada działania izotermicznego kalorymetru miareczkowego AutoITC firmy MicroCal Inc. GE Healthcare

Kalorymetr ITC składa się z dwóch identycznych celek umieszczonych symetrycznie wewnątrz płaszcza adiabatywnego (rys.1). Celka odniesienia wypełniona jest najczęściej wodą, natomiast do celki pomiarowej z roztworem substratu dodawany jest podczas miareczkowania titrant. Podczas całego miareczkowania celka odniesienia utrzymywana jest w stałej temperaturze. Między celkami znajduje się czujnik temperatury rejestrujący różnicę temperatur obu celek. Celka pomiarowa ogrzewana jest za pomocą dodatkowego elementu grzewczego w taki sposób, aby różnica temperatur między celkami była zawsze równa zero. Titrant dodawany jest za pomocą strzykawki do celki pomiarowej w ustalonych odstępach czasu. Podczas dodawania titranta igła strzykawki z odpowiednio wyprofilowaną końcówką obraca się z zadaną prędkością zapewniając ciągłe mieszanie reagentów.

Wynikiem miareczkowania jest termogram przedstawiający serię pików, które odpowiadają kolejnym krokom miareczkowania



Rys. 1. Schemat kalorymetru ITC

¹⁾ Izotermiczne miareczkowanie kalorymetryczne prowadzone jest przy stałym ciśnieniu (ok. 1 atm), natomiast stężenia reagentów są różne od wartości standardowych. Pomimo tego indeks górny „o” jest ogólnie stosowany w zapisie funkcji termodynamicznych uzyskanych z pomiaru ITC.

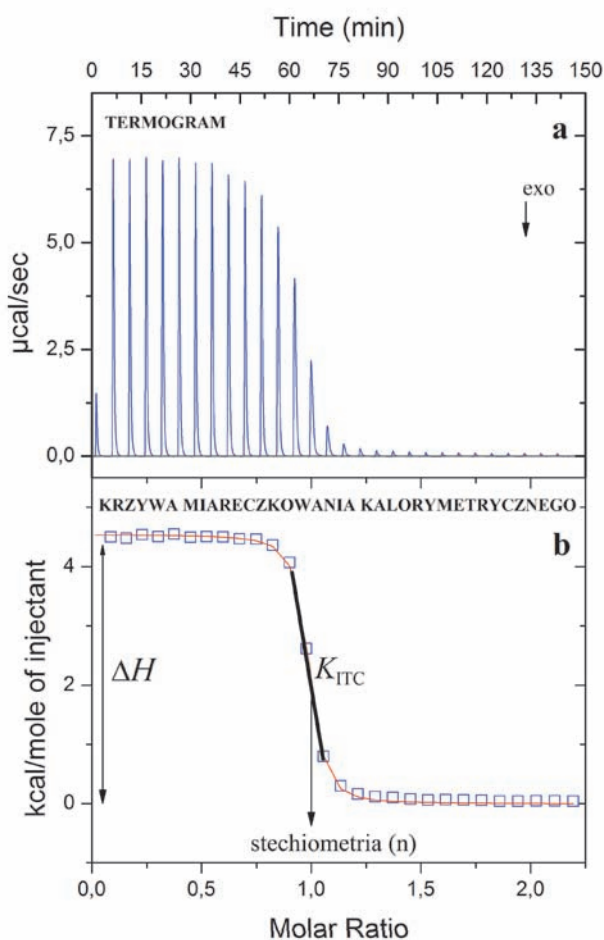


(rys. 2a). Pole powierzchni pod konturem każdego pików jest proporcjonalne do efektu cieplnego przemiany. Po scałkowaniu pól powierzchni pików otrzymuje się krzywą miareczkowania kalorymetrycznego, na podstawie której wyznaczana jest stechiometria badanego połączenia (n), warunkowa stała tworzenia kompleksu (K_{ITC}) oraz zmiana entalpii reakcji ($\Delta_{ITC}H$) (rys. 2).

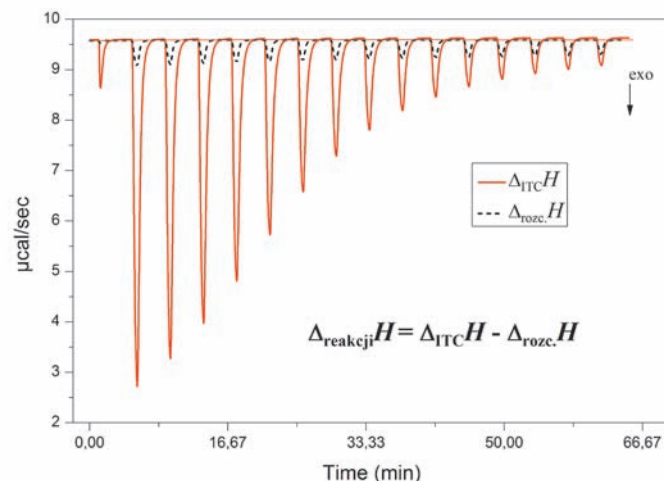
Strategia eksperymentu

Podczas miareczkowania kalorymetr mierzy globalny efekt energetyczny ($\Delta_{ITC}H$) towarzyszący mieszanii dwóch roztworów (titranta i analitu), na który składają się następujące procesy:

- zmiana entalpii mieszania ($\Delta_{miesz.}H$) roztworów titranta i analitu, która jest tym większa im większa jest różnica wartości pH, stężeń oraz temperatury obu roztworów,
- zmiana entalpii rozcieńczania ($\Delta_{rozc.}H$) roztworu titranta, którego wartość może być znaczna w sytuacji, gdy cząsteczki titranta są zdolne do tworzenia dimerów lub większych agregatów,
- zmiana entalpii związana ze zrywaniem „starych” i powstawaniem „nowych” wiązań chemicznych ($\Delta_{reakcji}H$),



Rys. 2. Termogram (a) oraz krzywa miareczkowania kalorymetrycznego (b)



Rys. 3. Termogram: ciepło rozcieńczania roztworu titranta ($\Delta_{rozc.}H$, linia przerywana), ciepło miareczkowania roztworu liganda roztworem titranta ($\Delta_{ITC}H$, linia ciągła)

stąd:

$$\Delta_{ITC}H = \Delta_{miesz.}H + \Delta_{rozc.}H + \Delta_{reakcji}H$$

Zatem, aby wyznaczyć entalpię reakcji, należy wyeliminować, w możliwie jak największym stopniu, te efekty energetyczne, które nie są bezpośrednio związane z ciepłem powstawania kompleksu.

Niedopasowanie pH (wpływające na $\Delta_{miesz.}H$) roztworu titranta (np. roztwór jonów metalu) oraz roztworu miareczkowanego (np. roztwór liganda) eliminuje się stosując reagenty rozpuszczone w roztworach buforowych o jednakowej wartości pH. W ten sposób eliminuje się wkład energetyczny związany z ciepłem zobojętniania. Wkład energetyczny związany z ciepłem rozcieńczania titranta eliminuje się przeprowadzając dwa eksperymenty. W pierwszym wyznacza się ciepło rozcieńczania titranta miareczkując buforowym roztworem jonów metali roztwór buforowy nie zawierający liganda. Wyznaczone w ten sposób ciepło odejmuje się od ciepła wyznaczonego w eksperymencie drugim, w którym roztwór buforowy jonów metalu dodawany jest do roztworu buforowego, w którym znajduje się ligand (rys. 3).

Warunkowa stała tworzenia kompleksu K_{ITC}

Wyznaczona metodą ITC stała tworzenia kompleksu oraz wartości funkcji termodynamicznych reakcji zależą od warunków w jakich prowadzony jest eksperyment. W analizie danych kalorymetrycznych należy wziąć pod uwagę rodzaj liganda, pH oraz rodzaj roztworu buforowego.

Przykład 1. Kwas cytrynowy (H_3L) to słaby trójprotonowy kwas ulegający w wodzie trójstopniowej dysocjacji. Jest on stosowany w przemyśle farmaceutycznym m. in. jako stabilizator aktywnych składników preparatu lub dodatek smakowy do tabletek.

Jony cytrynianowe pełnią rolę ligandów i tworzą z większością jonów metali stabilne termodynamicznie kompleksy o stosunku jon metalu do liganda równym 1:1 (rys. 4). Stężenie kwasu H_3L jest równe sumie stężeń równowagowych poszczególnych jego indywiduali obecnych w roztworze wodnym, zaś stężenia tych indywiduali zależą od pH roztworu:

$$c_{H_3L} = [L^{3-}] + [HL^{2-}] + [H_2L^-] + [H_3L]$$

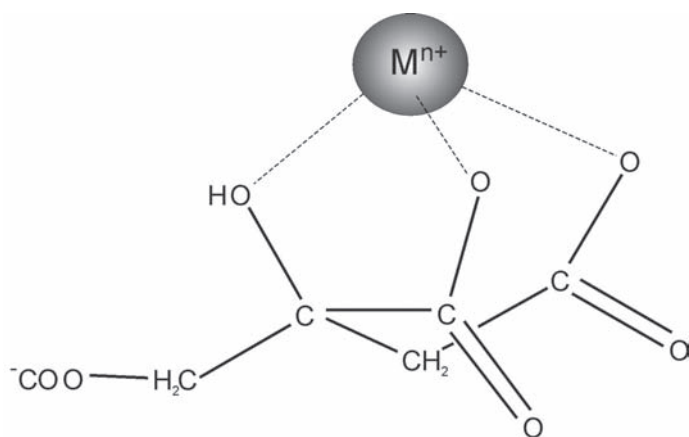
Znając wartości stałych kwasowo-zasadowych liganda (kwasu) można otrzymać wyrażenia opisujące zależność stałej tworzenia kompleksu od pH roztworu:

$$\begin{aligned} c_{H_3L} &= [L^{3-}] + [HL^{2-}] + [H_2L^-] + [H_3L] = \\ &= [L^{3-}] \left(1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{a3}} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_{a3} \cdot K_{a2}} + \frac{[H_3O^+]^3}{K_{a3} \cdot K_{a2} \cdot K_{a1}} \right) \\ \alpha_{\text{proton}} &= 1 + \frac{[H_3O^+]}{K_{a3}} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_{a3} \cdot K_{a2}} + \frac{[H_3O^+]^3}{K_{a3} \cdot K_{a2} \cdot K_{a1}} \\ c_{H_3L} &= [L^{3-}] \cdot \alpha_{\text{proton}} \\ K_{\text{ITC}} &= \frac{[ML]}{[M] \cdot c_{H_3L}} = \frac{[ML]}{[M][L]} \cdot \frac{1}{\alpha_{\text{proton}}} = K \cdot \frac{1}{\alpha_{\text{proton}}} \end{aligned}$$

gdzie: K_{ITC} – warunkowa stała tworzenia kompleksu, α_{proton} – współczynnik sprotonowania liganda, K – stała tworzenia kompleksu ($M + L = ML$) niezależna od pH roztworu.

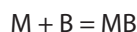
Zatem, aby wyznaczyć stałą tworzenia kompleksu K należy przemnożyć wartość stałej tworzenia K_{ITC} wyznaczoną metodą ITC przez współczynnik α_{proton} , który jest funkcją pH roztworu oraz stałych kwasowo-zasadowych liganda:

$$K = K_{\text{ITC}} \cdot \alpha_{\text{proton}}$$



Rys. 4. Kompleks jonu metalu M^{n+} z ligandem cytrynianowym

Sytuacja staje się nieco bardziej skomplikowana, gdy jony metalu są zdolne do tworzenia kompleksów ze składnikami buforu. Wówczas należy dodatkowo uwzględnić reakcję konkurencyjną jonów metalu z buforem. W najprostszym przypadku, gdy jon metalu tworzy z buforem kompleks o stosunku 1:1, reakcję tworzenia kompleksu opisuje schematyczne równanie:



$$K_{\text{MB}} = \frac{[MB]}{[M][B]}$$

Stężenie równowagowe jonów metalu w roztworze jest równe:

$$[M]_{\text{ITC}} = [M] + [MB]$$

$$[M]_{\text{ITC}} = [M] + [MB] = [M] + K_{\text{MB}}[M][B] = [M](1 + K_{\text{MB}}[B])$$

gdzie: K_{MB} – stała tworzenia kompleksu jon metalu-bufor, $[B]$ – stężenie roztworu buforowego. Wyrażenie $1 + K_{\text{MB}}[B]$ oznaczamy jako α_{bufor} stąd:

$$[M]_{\text{ITC}} = [M] \cdot \alpha_{\text{bufor}}$$

Zatem, aby wyznaczyć stałą równowagi tworzenia kompleksu niezależną od pH oraz rodzaju roztworu buforowego należy pomnożyć warunkową stałą trwałości K_{ITC} przez współczynnik α_{proton} oraz α_{bufor} :

$$K_{\text{ITC}} = \frac{[ML]}{[M]_{\text{ITC}} \cdot c_{H_3L}} = \frac{[ML]}{[M][L]} \cdot \frac{1}{\alpha_{\text{proton}} \cdot \alpha_{\text{bufor}}} = \frac{K}{\alpha_{\text{proton}} \cdot \alpha_{\text{bufor}}}$$

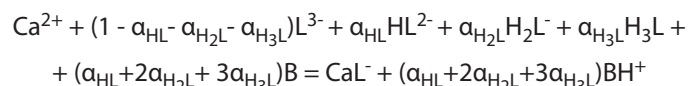
$$\text{stąd:} \quad K = K_{\text{ITC}} \cdot \alpha_{\text{proton}} \cdot \alpha_{\text{bufor}}$$

Następnie, znając wartość stałej K (niezależnej od pH oraz od rodzaju roztworu buforowego) można wyznaczyć zmianę entalpii swobodnej (ΔG) wykorzystując podstawową zależność termodynamiczną: $\Delta G^\circ = -RT \ln K$.

Zależność zmiany entalpii reakcji tworzenia kompleksu od pH oraz rodzaju roztworu buforowego

Reakcje równowagowe, które wpływają na wartość warunkowej stałej trwałości mają również wpływ na wartość mierzonej w eksperymencie ITC entalpii reakcji.

Przykład 2. W tabeli 1 zestawiono równania reakcji jakie towarzyszą procesowi tworzenia się kompleksu CaL^- (L^{3-} - jon cytrynianowy). Sumaryczne równanie opisujące równowagę tworzenia się kompleksu:



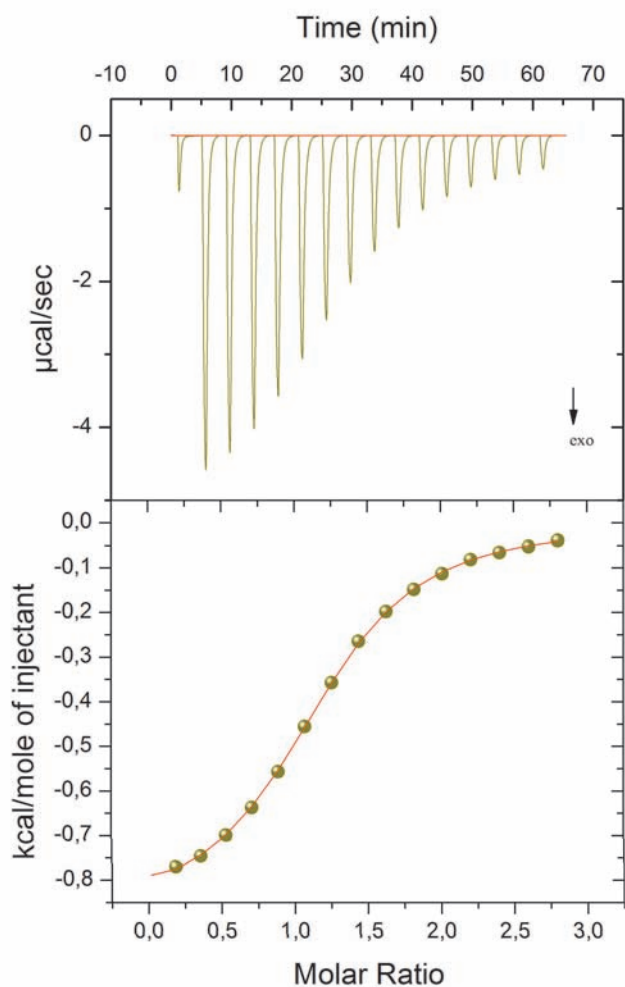
W powyższym równaniu suma wyrazów $(\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L})$ liczbowo jest równa liczbie moli protonów wymienianych w reakcji kompleksowania między ligandem a buforem.



Tabela 1. Równowagi ustalające się w procesie kompleksowania jonów Ca^{2+} anionem kwasu cytrynowego. Równania zapisane są zgodnie z kierunkiem przebiegu reakcji. ΔH° – entalpia asocjacji, α – stopień dysocjacji danego indywiduum

dysocjacja	$\text{HL}^{2-} = \text{L}^{3-} + \text{H}^+$	α_{HL}	$-\Delta_{\text{HL}}H^\circ$
dysocjacja	$\text{H}_2\text{L}^- = \text{L}^{3-} + 2\text{H}^+$	$\alpha_{\text{H}_2\text{L}}$	$-\Delta_{\text{H}_2\text{L}}H^\circ$
dysocjacja	$\text{H}_3\text{L} = \text{L}^{3-} + 3\text{H}^+$	$\alpha_{\text{H}_3\text{L}}$	$-\Delta_{\text{H}_3\text{L}}H^\circ$
asocjacja	$\text{Ca}^{2+} + \text{L}^{3-} = \text{CaL}^-$	1	$\Delta_{\text{CaL}}H^\circ$
asocjacja	$\text{B} + \text{H}^+ = \text{BH}^+$	$\alpha_{\text{HL}} + 2\alpha_{\text{H}_2\text{L}} + 3\alpha_{\text{H}_3\text{L}}$	$\Delta_{\text{BH}}H^\circ$

Analizując dane kalorymetryczne należy wziąć pod uwagę fakt, że entalpia reakcji wyznaczana w eksperymencie ITC jest sumą efektów energetycznych jakie towarzyszą poszczególnym równowagom ustalającym się w procesie tworzenia kompleksu (Tabela 1). Zmianę entalpii tworzenia kompleksu $\Delta_{\text{CaL}}H^\circ$ niezależną od pH roztworu oraz rodzaju roztworu buforowego można wyznaczyć na podstawie równania opartego na prawie Hessa:



Rys. 5. Termogram ITC (górną), krzywa miareczkowania ITC (dół) kwasu cytrynowego H_3L jonami wapnia. Temperatura 298,15 K, bufor Mes (0,1 M, pH 6)

$$\Delta_{\text{ITC}}H = -\alpha_{\text{HL}}\Delta_{\text{HL}}H^\circ - \alpha_{\text{H}_2\text{L}}\Delta_{\text{H}_2\text{L}}H^\circ - \alpha_{\text{H}_3\text{L}}\Delta_{\text{H}_3\text{L}}H^\circ + (\alpha_{\text{HL}} + 2\alpha_{\text{H}_2\text{L}} + 3\alpha_{\text{H}_3\text{L}})\Delta_{\text{BH}}H + \Delta_{\text{CaL}}H^\circ$$

W celu wyznaczenia $\Delta_{\text{CaL}}H^\circ$ musimy dysponować danymi tj. entalpia przyłączenia protonu do liganda oraz entalpia przyłączenia protonu do buforu.

Parametry reakcji kompleksowania jonów Mg^{2+} kwasem H_3L wyznaczone metodą ITC w temperaturze 298,15 K, w roztworze buforowym Mes (0,1 M, pH 6) wynoszą: $n = 0,95 (\pm 0,01)$, $K_{\text{ITC}} = (8,00 \pm 0,20) \cdot 10^4 [\text{M}^{-1}]$, $\Delta_{\text{ITC}}H = -1,42 \pm 0,01 [\text{kcal/mol}]$. Termogram oraz krzywą miareczkowania kalorymetrycznego przedstawia rysunek 5.

Przykładowe obliczenia. Stałe kwasowo-zasadowe kwasu cytrynowego H_3L wynoszą [2]: $\text{p}K_{\text{a}1} = 3,13$, $\text{p}K_{\text{a}2} = 4,76$, $\text{p}K_{\text{a}3} = 6,40$. W obliczeniach nie uwzględniono oddziaływania jonów wapnia z buforem Mes.

Dla pH = 6

$$\alpha_{\text{proton}} = 1 + \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{K_{\text{a}3}} + \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^2}{K_{\text{a}3} \cdot K_{\text{a}2}} + \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^3}{K_{\text{a}3} \cdot K_{\text{a}2} \cdot K_{\text{a}1}} = 3,65$$

$$K = K_{\text{ITC}} \cdot \alpha_{\text{proton}} = (8,00 \pm 0,20) \cdot 10^3 \cdot 3,65 = (2,92 \pm 0,73) \cdot 10^4 [\text{M}^{-1}]$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K = -8,314 \cdot 298,15 \cdot \ln(2,92 \cdot 10^4) = -25,49 \pm 0,25 [\text{kJ/mol}]$$

Entalpie przyłączenia protonu do liganda [3]:

$$\Delta_{\text{HL}}H^\circ (\text{L}^{3-} + \text{H}^+ = \text{HL}^{2-}) = -0,81 [\text{kcal/mol}]$$

$$\Delta_{\text{H}_2\text{L}}H^\circ (\text{HL}^{2-} + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{L}^-) = +0,53 [\text{kcal/mol}]$$

$$\Delta_{\text{H}_3\text{L}}H^\circ (\text{H}_2\text{L}^- + \text{H}^+ = \text{H}_3\text{L}) = +0,97 [\text{kcal/mol}]$$

Entalpia przyłączenia protonu do buforu Mes [2]:

$$\Delta_{\text{BH}}H (\text{B} + \text{H}^+ = \text{BH}^+) = -3,54 [\text{kcal/mol}]$$

Stopnie dysocjacji α poszczególnych indywiduum kwasu cytrynowego w roztworze (pH 8):

$$\alpha_{\text{HL}} = \frac{[\text{HL}^{2-}]}{c_{\text{H}_3\text{L}}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{K_{\text{a}3} \cdot \alpha_{\text{proton}}} = 0,69$$

$$\alpha_{\text{H}_2\text{L}} = \frac{[\text{H}_2\text{L}^-]}{c_{\text{H}_3\text{L}}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^2}{K_{\text{a}3} \cdot K_{\text{a}2} \cdot \alpha_{\text{proton}}} = 0,04$$

$$\alpha_{\text{H}_3\text{L}} = \frac{[\text{H}_3\text{L}]}{c_{\text{H}_3\text{L}}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^3}{K_{\text{a}3} \cdot K_{\text{a}2} \cdot K_{\text{a}1} \cdot \alpha_{\text{proton}}} = 5 \cdot 10^{-5}$$

$$\Delta_{\text{CaL}}H^\circ = \alpha_{\text{HL}}\Delta_{\text{HL}}H^\circ + \alpha_{\text{H}_2\text{L}}\Delta_{\text{H}_2\text{L}}H^\circ + \alpha_{\text{H}_3\text{L}}\Delta_{\text{H}_3\text{L}}H^\circ - (\alpha_{\text{HNTA}} + 2\alpha_{\text{H}_2\text{NTA}} + 3\alpha_{\text{H}_3\text{NTA}})\Delta_{\text{BH}}H + \Delta_{\text{ITC}}H = +768 \pm 10 [\text{cal/mol}]$$

$$\text{Zmiana entropii badanej reakcji: } \Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} = 4,6 [\text{cal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}]$$

Przykład 3. W sytuacji, gdy jony metalu są zdolne oddziaływać ze składnikami roztworu buforowego, w analizie danych należy uwzględnić dodatkową, tzw. konkurencyjną reakcję jonu metalu z buforem.

W tabeli 2 zestawiono równania reakcji równowagowych jakie zachodzą w procesie kompleksowania $Co^{2+} - H_3L$ (kwas nitrylotrioctowy), natomiast rysunek 6 przedstawia schemat reakcji.

Sumaryczne równanie opisujące równowagę tworzenia się kompleksu $CoNTA^-$ uwzględniające oddziaływanie Co^{2+} -Bufor:

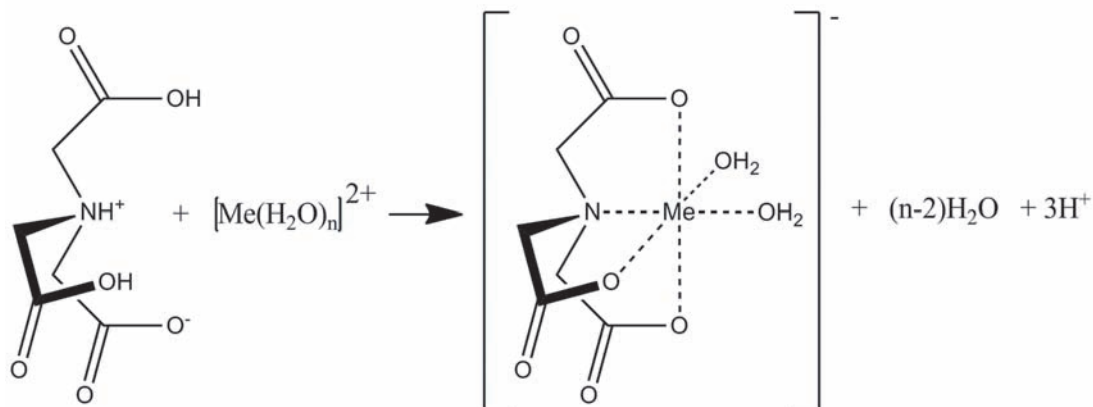
$$(1 - \alpha_{CoB})Co^{2+} + \alpha_{CoB}CoB + (1 - \alpha_{HL} - \alpha_{H_2L} - \alpha_{H_3L})L^{3-} + \alpha_{HL}HL^{2-} + \alpha_{H_2L}H_2L^- + \alpha_{H_3L}H_3L + (\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L})B = CoL^- + (\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L})BH^+$$

Na podstawie równania opartego na prawie Hessa wyznacza się zmianę entalpii badanej reakcji $\Delta_{CoL}H^\circ$ niezależną od pH oraz od rodzaju roztworu buforowego:

$$\Delta_{ITC}H = -\alpha_{CoB}\Delta_{CoB}H^\circ - \alpha_{HL}\Delta_{HL}H^\circ - \alpha_{H_2L}\Delta_{H_2L}H^\circ + \alpha_{H_3L}\Delta_{H_3L}H^\circ + (\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L})\Delta_{BH}H + \Delta_{CoL}H^\circ$$

Przykład 4. Reakcji kompleksowania może towarzyszyć dysocjacja protonu od liganda i wówczas generowany jest dodatkowy efekt energetyczny związany z przeniesieniem protonu od liganda do zasadowego składnika buforu. Przeprowadzając miareczkowanie ITC w kilku buforach o tej samej wartości pH, ale różnej entalpii jonizacji $\Delta_{BH}H$ oraz wykorzystując równanie oparte na prawie Hessa można wyznaczyć liczbę moli protonów wymienianych w procesie tworzenia się kompleksu.

$$\Delta_{ITC}H + \alpha_{CoB}\Delta_{CoB}H^\circ = (\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L})\Delta_{BH}H^\circ + \Delta_{CoL}H^\circ - \alpha_{HL}\Delta_{HL}H^\circ - \alpha_{H_2L}\Delta_{H_2L}H^\circ - \alpha_{H_3L}\Delta_{H_3L}H^\circ$$



Rys. 6. Schemat reakcji powstawania kompleksu jonu kobaltu(II) z ligandem nitrylotrioctanowym

Tabela 2. Reakcje zachodzące w procesie kompleksowania $Co^{2+} - H_3L$. Równania zapisane są zgodnie z kierunkiem przebiegu reakcji. ΔH° – entalpia asocjacji

dysocjacja	$CoB = Co^{2+} + B$	α_{CoB}	$-\Delta_{CoB}H^\circ$
dysocjacja	$HL^{2-} = L^{3-} + H^+$	α_{HL}	$-\Delta_{HL}H^\circ$
dysocjacja	$H_2L^- = L^{3-} + 2H^+$	α_{H_2L}	$-\Delta_{H_2L}H^\circ$
dysocjacja	$H_3L = L^{3-} + 3H^+$	α_{H_3L}	$-\Delta_{H_3L}H^\circ$
asocjacja	$Co^{2+} + L^{3-} = CoL^-$	1	$\Delta_{CoL}H^\circ$
asocjacja	$B + H^+ = BH^+$	$\alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L}$	$\Delta_{BH}H^\circ$

Na podstawie zależności $Y = A + B \cdot X$ wyznacza się liczbę moli protonów wymienianych między ligandem a buforem w trakcie tworzenia kompleksu CoL^- (rys. 7).

$$Y = \Delta_{ITC}H + \alpha_{CoB}\Delta_{CoB}H^\circ$$

$$B = \alpha_{HL} + 2\alpha_{H_2L} + 3\alpha_{H_3L} \text{ (liczba moli wymienianych protonów)}$$

$$X = \Delta_{BH}H^\circ \text{ (entalpia jonizacji buforu)}$$

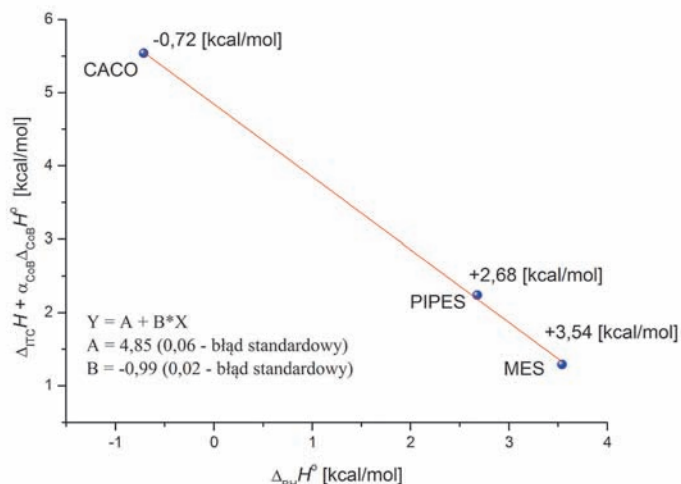
$$A = \Delta_{CoL}H^\circ - \alpha_{HL}\Delta_{HL}H^\circ - \alpha_{H_2L}\Delta_{H_2L}H^\circ - \alpha_{H_3L}\Delta_{H_3L}H^\circ$$

Dane wykorzystane do obliczeń:

Pomiary przeprowadzono w temperaturze 298,15 K, w roztworach buforowych (Mes: kwas 2-(N-morfolino)etanosulfonowy, Pipes: kwas 1,4-piperazynodietanosulfonowy, Caco: sól sodowa kwasu dimetyloarsenowego) o stężeniu 0,1 M i pH 6. Entalpie jonizacji buforów ($HB^\pm = H^+ + L^-$, $\Delta_{BH}H$): $\Delta_{MES}H = 3,537$ kcal/mol, $\Delta_{PIPES}H = 2,677$ kcal/mol, $\Delta_{CACO}H = -0,717$ kcal/mol [2]. Entalpie dysocjacji kompleksów Co^{2+} -B: $\Delta_{CoMES}H = +0,243$ kcal/mol, $\Delta_{CoPIPES}H = +0,554$ kcal/mol, $\Delta_{CoCACO}H = +1,352$ kcal/mol. Parametry α_{CoB} : $\alpha_{CoMes} = 0,684$, $\alpha_{CoPipes} = 0,811$, $\alpha_{CoCaco} = 0,778$.

Podsumowanie

Izotermiczna kalorymetria miareczkowa jest wygodnym narzędziem do badania reakcji tworzenia się kompleksów w roztworach. Ponadto, stanowić może uzupełnienie lub alternatywę dla technik elektrochemicznych czy spektroskopowych.



Rys. 7. Zależność ($\Delta_{ITC} H + \alpha_{CoB} \Delta_{CoB} H^\circ$) od $\Delta_{BH} H^\circ$

Wyznaczenie funkcji termodynamicznych reakcji kompleksowania często jest utrudnione, w szczególności, gdy badane są oddziaływania jonów metali z ligandami organicznymi. Analizując dane kalorymetryczne konieczne należy uwzględnić

warunki w jakich prowadzony był pomiar. Najważniejsze efekty energetyczne, które nie są bezpośrednio związane z ciepłem oddziaływania reagentów zostały przedstawione w niniejszym artykule. Należą do nich entalpia dysocjacji liganda, entalpia jonizacji buforu, stała dysocjacji oraz entalpia dysocjacji kompleksu jon metalu-bufor oraz pH roztworu. Odpowiednia strategia eksperymentu ITC oraz poprawna analiza danych kalorymetrycznych pozwala na uzyskanie danych stanowiących cenne źródło informacji dla chemików projektujących nowe związki o pożądanych właściwościach kompleksotwórczych.

Literatura

- [1] <http://www.microcal.com/reference-center/reference-list.asp>
- [2] Goldberg, R. N.; Kishore, N.; Lennen, R. M.: Thermodynamic Quantities for the Ionization Reactions of Buffers. J. Phys. Chem. Ref. Data, 2002, 31, 231-370
- [3] Sillen, L. G. A.; Martell, E.: Stability constants of metal-ion complexes, The Chemical Society, London, Great Britain 1966

* Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Gdańsk

METTLER TOLEDO

W naszej ofercie:

- mikrowagi
- wagi analityczne, precyzyjne i przemysłowe
- komparatory
- wagosuszarki
- pH-/jonometry i elektrody
- pipety automatyczne
- aparaty do miareczkowania
- systemy analizy termicznej
- gęstościomierze, refraktometry, wiskozymetry
- automatyczne reaktory laboratoryjne
- systemy pomiarowe pH-/Redox, O₂, przewodności, zmętnienia

Mettler-Toledo Sp. z o.o., 02-822 Warszawa, ul. Poleczki 21
 tel. (22) 545 06 80; fax (22) 545 06 88
 e-mail: Polska@mt.com, www.mt.com