

C6200–Biochemické metody

14B_KALORIMETRIE

Petr Zbořil

Princip

- Měření předávaného tepla
 - Fyzikální a chemické procesy – stav 1 a 2
 - Celková – $\Delta E = Q + W$, vnitřní E – $\Delta U = Q + W$
 - Izobarický děj – $\Delta H = \Delta U + p\Delta V$
 - $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$
- Kalorimetrická rovnice

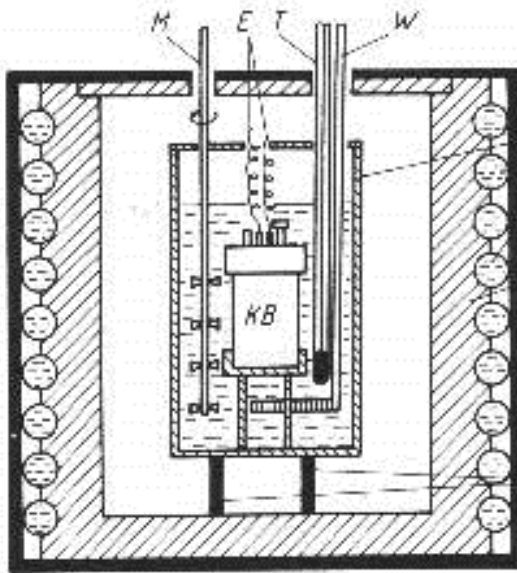
$$Q = m \cdot c \cdot \Delta T$$

Způsoby a typy

- **Měření**
 - ΔT – stanovení ΔQ
 - Q a ΔT – stanovení c
 - Q při $T = \text{konst.}$, isotermická kalorimetrie
 - teplo tání, vypařovací, směšovací
- **Oblast teplot**
 - nízko- (≈ 20 K), středně- (273-373 K) a vysokoteplotní (slitiny)
- **Oblast tepla**
 - makro- a mikro- (≈ 1 -4 J)
- **Rychlost a doba měření**
 - rychlé, středně rychlé (≈ 10 min.), pomalé (dny a více)

Jednoduchý kalorimetr

- Chemické reakce



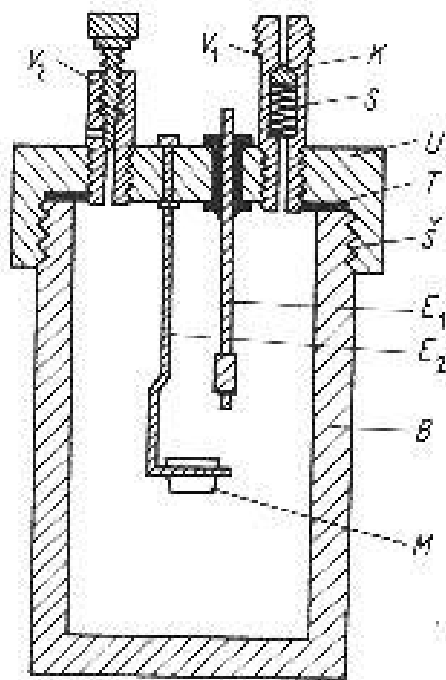
Obr. 4.6 Vodní spalný kalorimetr
KB – kalorimetrická bomba,
E – přívodní dráty k elektrodám bomby,
V – kovový válec naplněný známým množstvím vody, *M* – míchadlo,
T – Beckmannův teploměr (nebo jiný teploměr), *W* – pomocné topení,
P – termostatovaný plášť (kovový nebo dvouplášťová nádoba naplněná vodou),
S – spirála sloužící k termostatování pláště, proháněná vodou
z ultratermostatu, *N* – mechanické spoje z tepelně nevodivého materiálu,
I – tepelná izolace

$$Q = \Delta T \sum m_i \cdot c_i = \Delta T \cdot C \text{ (vodní hodnota kalorimetru)}$$

Kalibrace

$$Q_s = I \cdot U \cdot t$$

$$Q_s / \Delta T = C$$



Obr. 4.8 Kalorimetrická bomba
B – kovová bomba z nerezové oceli,
U – kovové víko se šroubením,
T – těsnění, *E*₁ – elektroda vodivě
 spojená s tělem bomby, *E*₂ – elektroda
 izolovaná od kovové bomby,
M – spalovací miska, *V*₁ – napouštěcí
 ventil s pružinovým uzávěrem,
K – těsnicí kužel,
S – pružina těsnění, *V*₂ – vypouštěcí
 ventil se šroubovým uzávěrem

Spalná tepla

chem. individua, směsi, potraviny apod.

sacharidy, lipidy, bílkoviny

ve vzduchu, O₂

Metabolická tepla

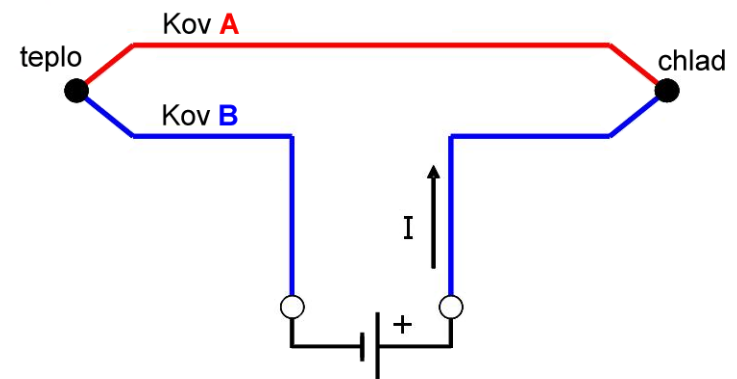
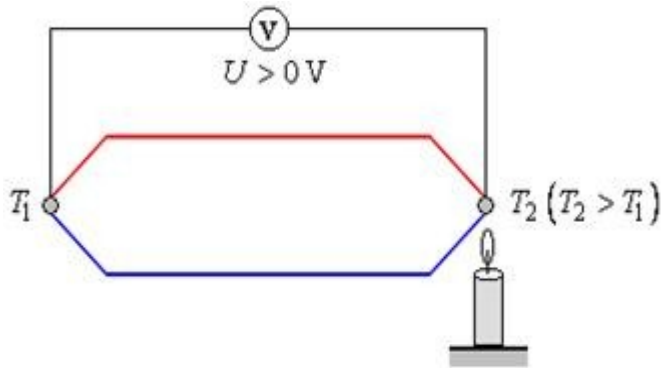
fysiologické podmínky – dlouhodobé (organismus v kalorimetru)

ITC mikrokolorimetry

- Nádoby umístěné v termostatovaném bloku
- Produkce (spotřeba tepla) – ΔT
- Vedení tepla mezi nádobkou a blokem
- Průtokové a směšovací (titrační)

Termoelektrické články

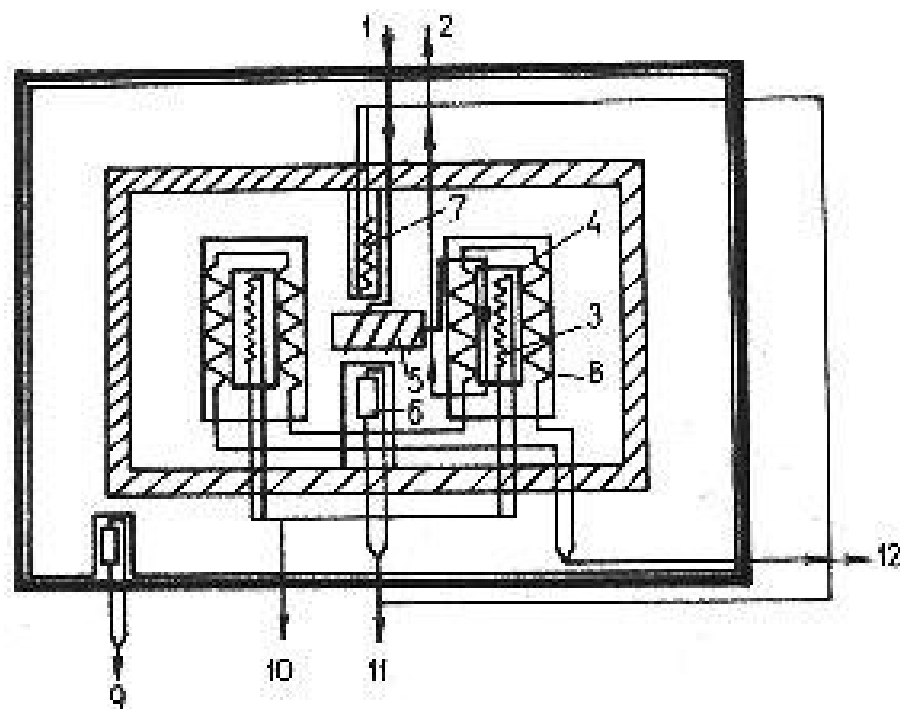
- Seebeckův a Peltierův efekt



$\Delta U = \alpha_{12} (T_2 - T_1) = \alpha_{12} \Delta T$, kde α_{12} je Seebeckův koeficient (též termoelektrický koeficient);

$[\alpha_{12}] = \text{V K}^{-1}$

$$U = \int_{T_1}^{T_2} (S_B(T) - S_A(T)) dT \quad U = (S_B - S_A) \cdot (T_2 - T_1)$$

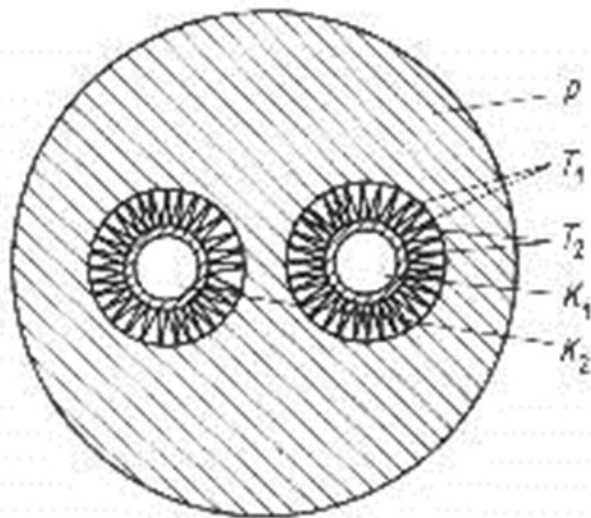


Obr. 114 Zjednodušené schéma průtokového mikrokalorimetru

1 – přívod vzorku, 2 – odtok vzorku, 3 – kalibrační topná spirála, 4 – reakční kyveta, 5 – výměník tepla, 6 – termistor, 7 – topení, 8 – termosloup, 9 – regulace termostatu, 10 – přívod ke zdroji proudu, 11 – přívod k ukazateli teploty, 12 – přívod k zesilovači a registračnímu přístroji. Pro jednoduchost jsou znázorněny přívody a odvody vzorku jen u pravé reakční kyvety

Mikrokalorimetry

- $U = k_{el} \cdot (T_k - T_p)$, $dQ/dt = k_{tv} \cdot (T_k - T_p)$
- $U = dQ/dt \cdot k_{el}/k_{tv}$ ($= 1/K$), $dQ/dt = \mathbf{K} \cdot U$



Obr. 4.9 Schematický řez

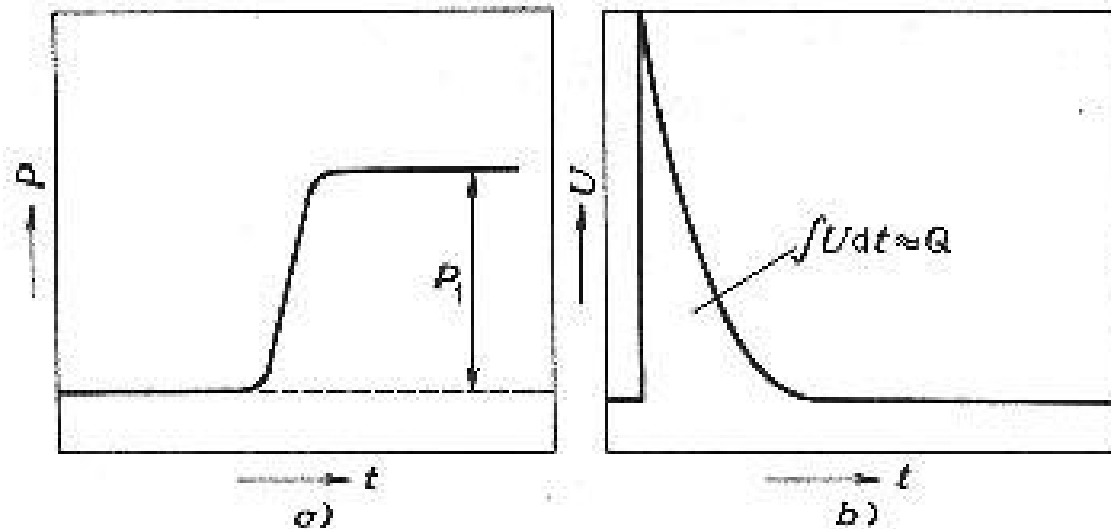
Calvetovým-Tianovým kalorimetrem

K_1 – měrná cela, K_2 – referenční cela,

T_1, T_2 – dráty termoelektrických článků,

P – vnější termostátovaný plášť

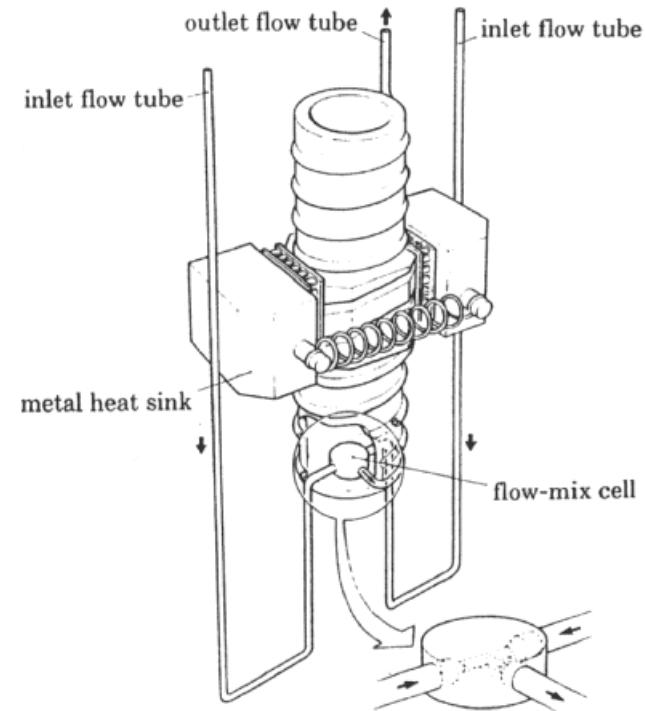
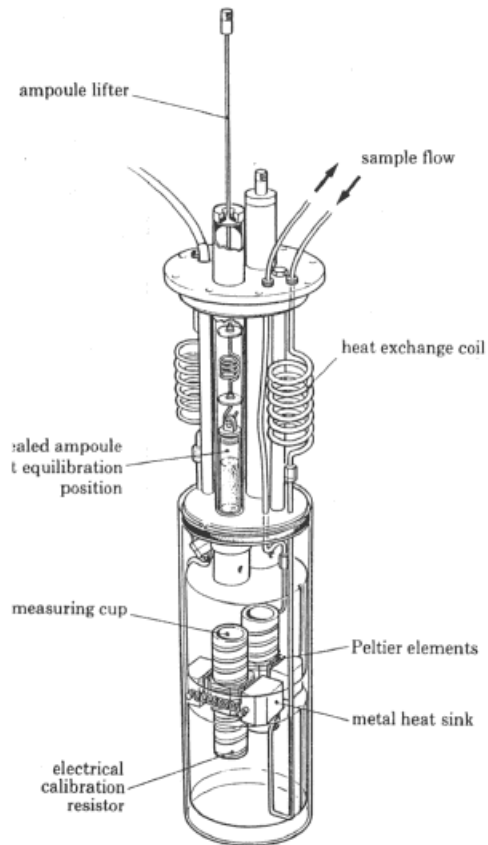
Průtokový a směšovací způsob



Obr. 115 Křivky získané při mikrokalorimetrických měřeních a) s průtokovým mikrokalorimetrem, b) s mikrokalorimetrem pro jednotlivá měření

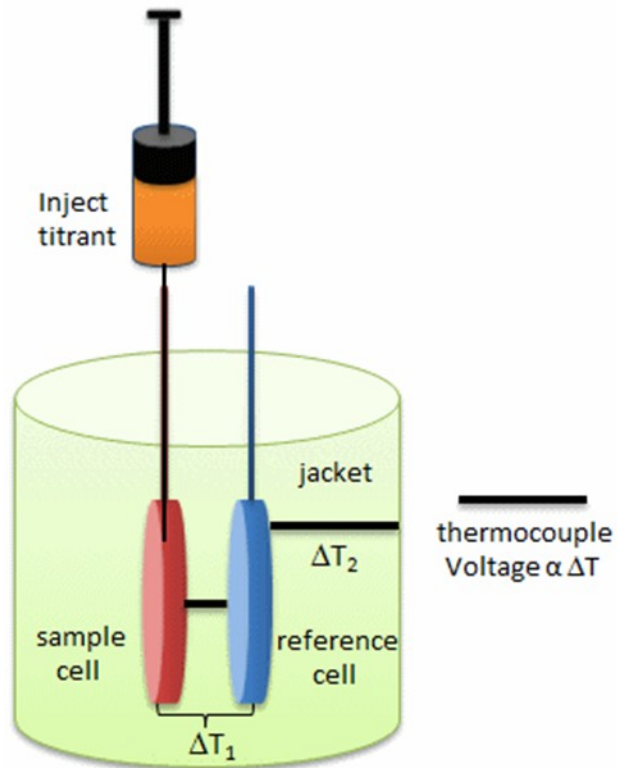
P – tepelný výkon, U – napětí termosloupů, t – čas, Q – teplo v μJ , P_1 – naměřená hodnota v $\mu\text{J s}^{-1}$

Průtočný systém



- Schema ITC

Titrační způsob

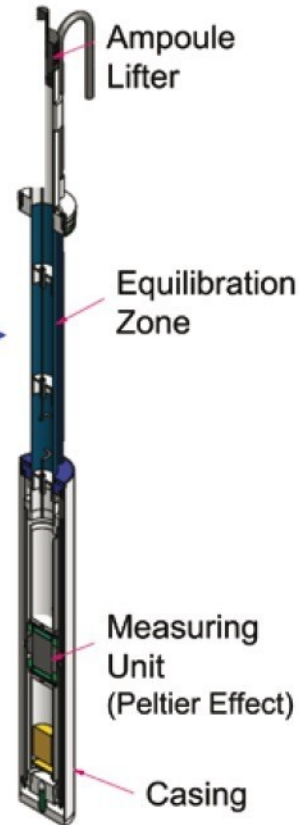


48 Channel Microcalorimeter



Specimen ampoule goes here:

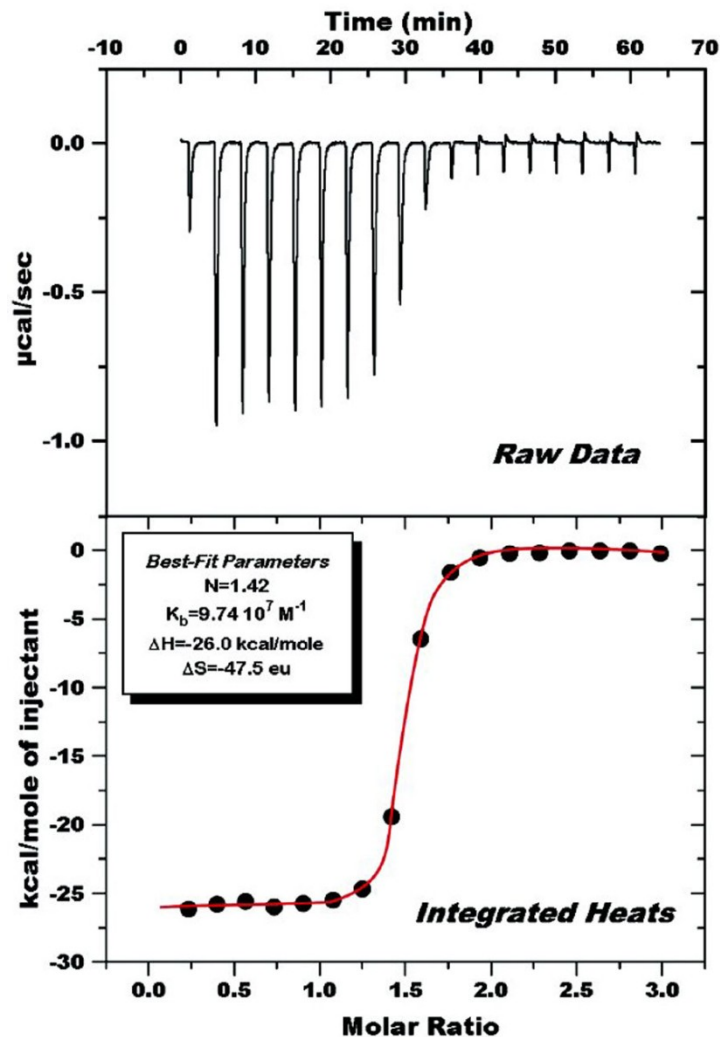
Heat flow measured relative to a reference:



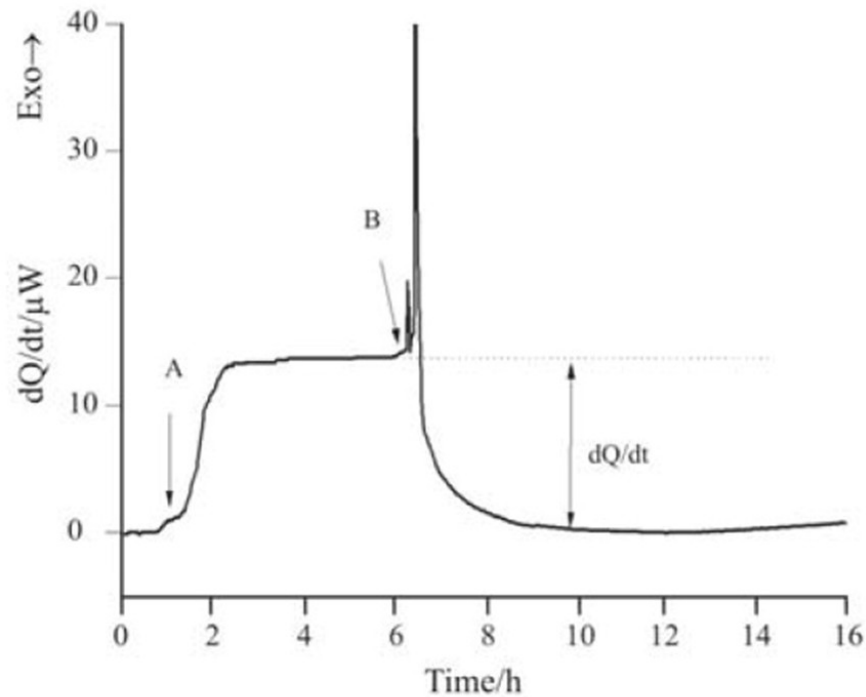
- Schema ITC

Titrační provedení

- Postupné přidavky
– vyrovnání T

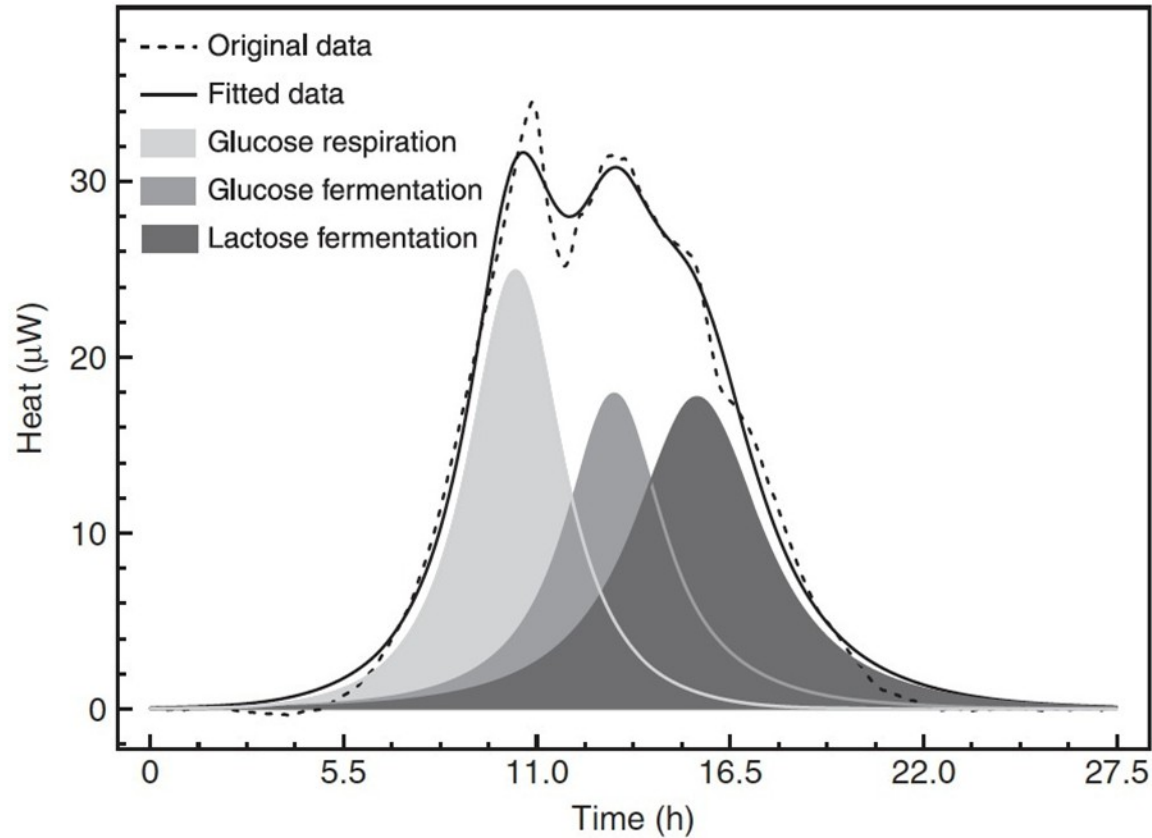


Sledování metabolismu



- Fibroblasty (A) produkují teplo, přidavek SDS (B) – lýza, další teplo – pak konec

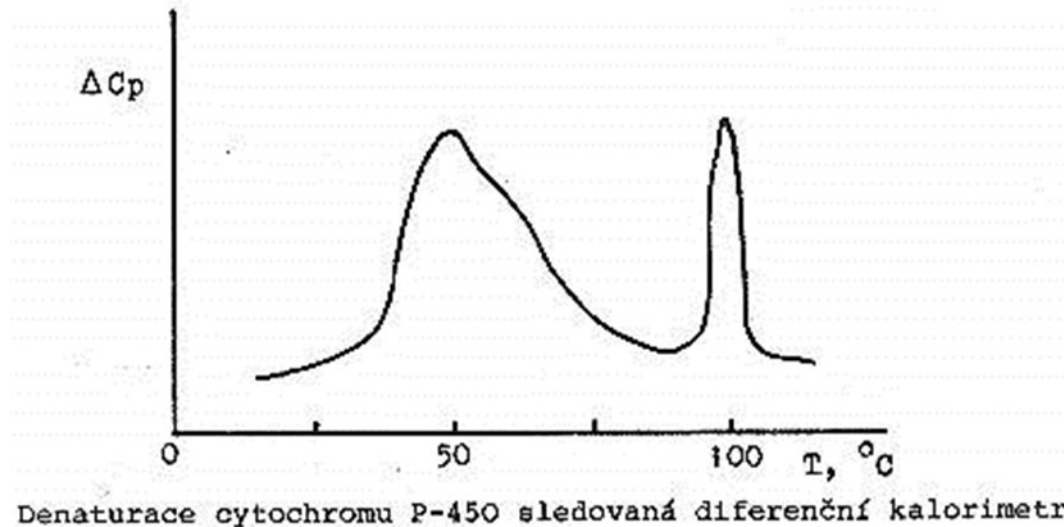
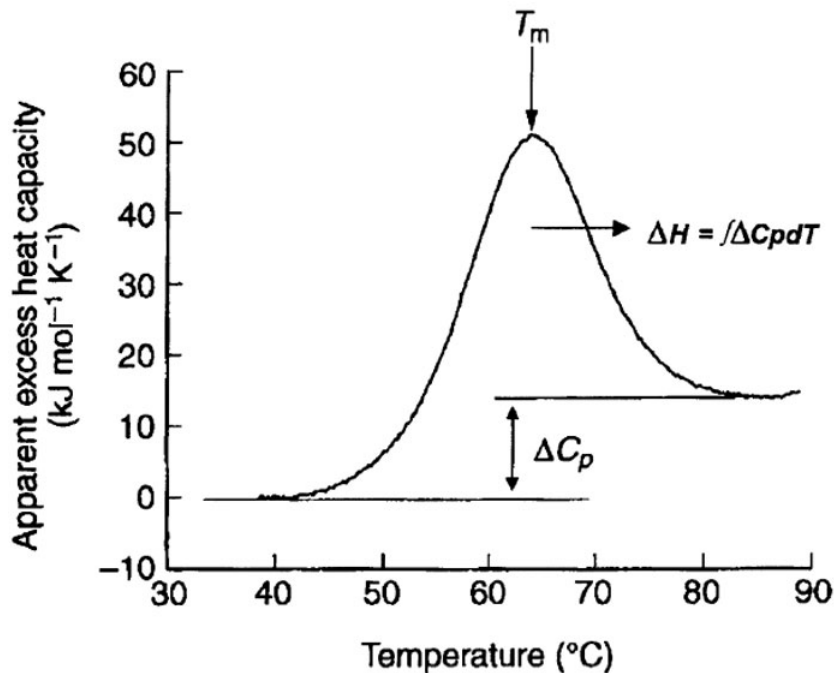
Růst buněk



- Dostupné substráty jsou využívány postupně, podle výhodnosti – *E. coli*

DSC

- Změna T – stejná v obou kyvetách
- ΔC (ΔI)



DĚKUJI ZA POZORNOST