

VYUŽITÍ ISOTERMICKÉ TITRAČNÍ KALORIMETRIE V HUMINOVÉM VÝZKUMU

Türkeová Irena¹, Klučáková Martina¹

¹*Centrum materiálového výzkumu na fakultě chemické, VUT v Brně, Purkyňova 118, Brno, 612 00, +420 725 657 593, xcturkeovai@fch.vutbr.cz*

Abstrakt

Isotermická titrační kalorimetrie se v současné době využívá k charakterizaci mezimolekulových interakcí. Dokáže spolehlivě určit míru afinity reakce. V huminovém výzkumu by mohla plnit významnou roli při objasnění struktury, především vazebných schopností huminových kyselin. Metoda isotermické titrační kalorimetrie byla optimalizována k využití při studiu reaktivity huminových kyselin, optimalizace byla nejlépe aplikovatelná na soly huminových kyselin. Dále byly zkoumány suspenze, zde výsledky nebyly optimální. Jednoduché organické sloučeniny – fenol, pyrokatechol, ftalová kyselina, benzoová kyselina a kyselina salicylová slouží jako modely HK a to jejich hlavních vazebných míst – především karboxylových a hydroxylových skupin. Vzorčky modelů a HK měly koncentrace 1, 10, 20 g/l. Titrační roztoky byly v koncentracích 0,1, 0,5, 1 M Cu²⁺. Pomocí ITC metody byly vypočítány hodnoty reakční entalpie ΔH . Reakční entalpie modelových látek byly porovnány se semiempirickými kvantově chemickými výpočty podle INDO metody. Charakterizace použitých huminových kyselin byla uskutečněna pomocí metod: elementární analýzy, FT-IR spektrometrie, potenciometrické a konduktometrické titrace.

Klíčová slova: *Isotermická titrační kalorimetrie, huminové kyseliny, přechodné kovy.*

Úvod

Huminové kyseliny podle článku [1] se vyskytují na mnoha místech v přírodě. Jsou ve všech typech půdy, sedimentech, rašelině, uhlí, řekách. Huminové kyseliny jsou schopny interakce s širokou škálou látek, jako jsou kovy, organické a anorganické polutanty v půdách a vodách. Další velmi významnou vlastností huminových kyselin přítomných v půdě je jejich vysoká pufrací schopnost v širokém rozsahu hodnot pH [2].

Huminové kyseliny jsou v podstatě soustava velkých polyfunkčních skupin, jako jsou lipidy, uhlovodíky, aromatické sloučeniny a další. Vyplývá tedy, že se výrazně liší obsah funkčních skupin u huminových kyselin podle jejich původu a vzniku. Přítomné funkční skupiny dle skupiny autorů [3] jsou zodpovědné za jejich reaktivitu. Reakčními místy jsou ve struktuře huminových především místa schopná ionizace. Tato místa obsahují atomy kyslíku, dusíku a síry formující karboxylové, fenolové, hydroxylové, aminové a thiolové funkční skupiny.

Z hlediska častého využití huminových látek v ochraně životního prostředí, např. v sanačních technologiích, je důležité znát vazebné interakce látek s kontaminujícími látkami, polutanty, těžkými kovy, které se vyskytují v prostředí. Z prozkoumaných vlastností huminových látek a ze známých informací o struktuře dokážeme přibližně odvodit možné vazebné interakce-iontová vazba, koordinační vazba, vodíkové můstky, hydrofobní interakce [4].

Rozsáhlé studie poukazují na fakt, že pouze málo HL se vyskytuje v půdě ve volné formě, ale mnoho jich je vázaných na jílu nebo na jiné minerální složky půdy. Interakcí HL se sloučeninami v půdě, vznikají: soli nízkomolekulárních organických kyselin, soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin, komplexy s kovy [5].

Obecný princip ITC se zakládá na měření tepla, které je generováno nebo absorbováno v interakci mezi dvěma molekulami. ITC se využívá k určení konstant stability, stechiometrie, interakce entalpií, za určitých podmínek i entropie, Gibbsovy volné energie a může být i touto metodou zjištěna změna tepelné kapacity [6].

Materiál a metody

Huminové kyseliny, kyselina ftalová p.a., kyselina benzoová p.a., kyselina salicylová p.a., pyrokatechol p.a., fenol p.a. byly použity k přípravě roztoků o koncentracích 1, 10, 20 g/l. Titrační roztoky byly připraveny v koncentracích 0,1, 0,5, 1 M Cu^{2+} . K ITC se využíval přístroj TAM III (TA Instruments). Během titračního procesu je pozorována změna teplotního toku uvnitř měřící cely, integrací ploch pík se poté získávají hodnoty entalpií. Roztoky o koncentraci 20 g/l byly titrovány 0,5 M a 1 M Cu^{2+} , roztoky 10 g/l byly titrovány 0,5 M Cu^{2+} , roztoky 1 g/l se titrovaly 0,1 M Cu^{2+} . Vzorky huminových kyselin byly připraveny v daných koncentracích, jen u modelů byly podle rozpustnosti připraveny roztoky viz tabulka.1. Tyto poměry koncentrací byly vybrány na základě stejných vazebných možností a očekávání podobných výsledků entalpií. Tento výzkum byl prováděn z důvodu ověření použitelnosti ITC v huminovém výzkumu. Měření se provádělo stejným způsobem u solí huminových kyselin, tak u modelů huminových kyselin. Do měrné cely bylo napipetováno 500 μl vzorku (HK, model), míchání bylo nastaveno na 90 rpm, referentní vzorek - voda, stříkačka s kapilárou (Hamilton, objem 250 μl titračního roztoku) byla naplněna titračním roztokem. *Nastavení měření*: počet injekcí 50, -přídavek 5 μl , doba přídavku 5 s, interval mezi přídavky 10 min, teplota 25 °C. Byly sestavovány grafy závislosti enthalpie na přídavku titračního činidla.

Tabulka 1. Rozpustnost modelů, připravené vzorky ✓

vzorek	Rozpustnost [g/l]	1[g/l]	10 [g/l]	20 [g/l]
benzoová kys.	3,4	✓	✗	✗
ftalová kys.	6	✓	✗	✗
salicylová kys.	2	✓	✗	✗
fenol	82,8	✓	✓	✓
pyrokatechol	200	✓	✓	✓

Výsledky a diskuse

Tato metoda byla vybrána z hlediska častého využití k charakterizaci mezimolekulárních interakcí a rozpoznávání reakcí, velký vliv na výběr této metody byl i fakt, že není omezena molekulovou hmotností studovaných látek, což by u huminových látek mohl být problém z hlediska jejich složitých polymerních struktur.

Ze závislosti entalpie na přídavku mědi bylo v grafu jasně pozorovatelné, kdy došlo k vytitrování a ze zlomu se zjistilo, kolik se mědi navázalo na huminové kyseliny a byla získána reakční entalpie reakce. Výpočet reakční entalpie byl počítán podle článků [7, 8], kde autoři použili semiempirické metody INDO.

Podle předem stanovených poměrů koncentrace solí a jejich titračních roztoků, měly být hodnoty entalpií u všech reakcí stejné. Různé koncentrace byly měřeny z důvodu získání výsledků, od kterých by se dalo odrazit pro další měření huminových kyselin pomocí isothermické titrační kalorimetrie. Výsledky potvrdily podobné hodnoty entalpie při navazování mědi, což byl očekávaný výsledek. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 2. Byly zjištěny poměry navazování mědi na karboxylové a fenolové skupiny v huminových kyselinách.

Tabulka 2. Výsledky titrací solů huminových kyselin

	Cu (mol/l)	HK (g/l)	Cu/HA (mol/l)	Cu/COOH (mol/l)	ΔH (J/mol)
sol 3	0,1	1	1,4	2,6	-784
sol 2	0,5	10	1,9	3,5	-758
sol 1	1	20	1,7	3,2	-686
Průměrná ΔH (J/mol)					-743

Výsledky titrací modelů byly zpracovány stejným způsobem jako soly huminových kyselin. Byly vypočítány hodnoty reakčních entalpií. Byly vytvořeny grafy závislosti entalpie na přidavku mědi. Výsledné entalpie se ještě navíc porovnávaly s výpočty ze studie [26], kde byly uvedeny vazebné možnosti (modely M1-M10) a vypočítány entalpie pro kyselé a zásadité prostředí. Výsledky hodnot entalpií jsou uvedeny v tabulce č.3.

Tabulka 3. Výsledky titrací modelů pro koncentrace 1 g/l, 10 g/l, 20 g/l.

vzorek	jako HK (g/l)	model	ΔH (J/mol)
benzoová	1	M9, M1	-91, -301
fenol	1	M10, M2	-105, -37
ftalová	1	M7, M4	-1055, -589
pyrokatechol	1	M8, M5	-162, -111
salicylová	1	M6, M6	-1765, -1648
fenol	10	M10, M2	-123, -52
ftalová	10	M7, M4	-862, -304
pyrokatechol	10	M8, M5	-243, -279
fenol	20	M10, M2	-92, -53
pyrokatechol	20	M8, M5	-187, -178

Závěr

Hlavní náplní práce bylo optimalizovat isotermickou titrační kalorimetrii a to především zvolit vhodný postup měření, charakter vzorku, optimální koncentraci vzorku a titračního činidla, jejich optimálního poměru při titraci, navolit ideální množství jednotlivých přidavků, stanovit interval mezi přidavky. Optimalizace byla provedena a jako vhodný vzorek ke studiu se projevil sol huminové kyseliny. U vzorků suspenzí se nedala zaručit vždy stejná koncentrace, při jednotlivých měřeních, z tohoto hlediska suspenze nebyla vhodná.

Optimalizovaným postupem byly studovány huminové kyseliny různých koncentrací, jestli vykazují stejnou kalorimetrickou odpověď. Měřením bylo zjištěno, že ΔH u reakcí huminových kyselin s mědí odpovídala přibližně stejným hodnotám, což byl požadovaný výsledek v této první studii isotermické titrační kalorimetrie. Objevila se tím metoda použitelná na prostudování vazebných interakcí huminových látek.

Další měření pomocí optimalizovaného postupu bylo aplikováno na jednoduché organické sloučeniny, které slouží jako modely funkčních skupin HL, které jsou odpovědné za interakce mezi kovem a huminovými látkami. Měření bylo aplikované stejným způsobem jako u solů

huminových látek-stejně koncentrace. Výsledné ΔH modelů byly porovnávány se studií, ve které jsou semiempirickou metodou INDO vypočítány ΔH , pro jednotlivá vazebná místa. Výsledky modelů byly přiřazeny k těmto hodnotám. Opět bylo potvrzeno využití této metody, jelikož hodnoty odpovídaly výsledkům v kyselém prostředí.

Tímto využitím isotermické titrační kalorimetrie při studiu interakcí huminových látek došlo k vytvoření odrazového můstku v této disciplíně.

Literatura

- [1.] JANSEN, S. A., Malaty, M. a kol.: *Structural modeling in humic acids*. Mat. Sci. Eng. C, 1996, vol. 4, no. 3, pp. 175 – 179. ISSN 0921-5107.
- [2.] ČECHOVÁ, E.: *Chování huminových kyselin ve vodných roztocích*. Brno, 2008. Diplomová práce na FCH VUT Brno. Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
- [3.] ANDĚLKOVIČ, T.: *Acidity of humic acid related to its oxygen-containing functional groups*. Maced. J. Chem. Chem. Eng., 2006, vol. 25, no. 2, pp. 131 – 137. ISSN 0350-0136.
- [4.] DERCOVÁ, K.: *Humínové kyseliny. Interakce huminových kyselin s kontaminantami*. Chemické listy 2008, 102, str. 338 –345.
- [5.] WEBER, J.: *Definition of soil organic matter, Humintech*. [online]. 2011, [cit. 17. 2. 2011]. Dostupné na: <<http://www.humintech.com/001/>>.
- [6.] BOUCHEMAL, K.: *New challenges for pharmaceutical formulations and drug delivery systems characterization using isothermal titration calorimetry*. DrugDiscovery Today. 2008, vol. 13, no. 21–22, p. 960–972. ISSN 13596446.
- [7.] KLUČÁKOVÁ, M. a kol: *Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. I. Properties and Reactivity of Humic and Fulvic Acids*. Journal of Polymer Materials, 2000, vol. 17, no. 4, pp. 337. ISSN: 0970- 0838.
- [8.] KLUČÁKOVÁ, M.: *Comparative Study of Binding Behaviour of Cu(II) with Humic Acid and Simple Organic Compounds by Ultrasound Spectrometry*. The Open Colloid Science Journal, 2011, vol. 5, no. 1, pp. 5-12. ISSN: 1876- 5300.

Abstract

Isothermal titration calorimetry is currently used to characterize the intermolecular interactions between humic acids. It can reliably determine the degree of affinity reactions. Such informations in humic research could play an important role in the elucidation of the structure, especially the binding properties of humic acids. The method of isothermal titration calorimetry has been optimized for use in the study of the reactivity of humic acids, optimalization was the most applicable to humic acid sols. Suspensions were examined without reproducible results. Simple organic compounds - phenol, pyrocatechol, phthalic acid, benzoic acid and salicylic acid are used as models of HK and their major binding sites - especially carboxyl and hydroxyl groups. Samples models and HK concentrations were 1, 10, 20 g/l. The titration solutions had concentration of 0.1, 0.5, 1 M Cu^{2+} . With ITC method values of reaction enthalpy ΔH were calculated. The reaction enthalpy of model compounds were compared with semiempirical quantum chemical calculations by the INDO method. Characterization of the humic acids was carried out using methods: elemental analysis, FT-IR spectroscopy, potentiometric and conductometric titration.