**Обеспечение прослеживаемости и единства измерений в области изотермической калориметрии титрования с применением нового эталонного микрокалориметра**

Карина Мишина

ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» (ВНИИМ)

190005, Россия, Санкт-Петербург, Московский пр-т,19

Телефон: +7 812 3239639, E-mail: k.a.mishina@vniim.ru

# ****Аннотация****

**В работе рассматриваются вопросы создания новых средств метрологического обеспечения в области изотермической калориметрии титрования. Анализ публикаций показал, что в данной сфере может наблюдаться несогласованность результатов, полученных на различных моделях средств измерений, а также их несоответствие литературным данным, что свидетельствует о необходимости разработки стандартизованных метрологических процедур и инструментов для обеспечения** **единства и достоверности измерений. Для решения этой проблемы предложен подход с применением эталонного микрокалориметра для установления метрологической прослеживаемости и аттестации стандартных образцов, применяемых в качестве средств передачи единицы. На данном этапе был разработан и изготовлен эталонный микрокалориметр, исследованы его технические и метрологические характеристики, и составлен бюджет неопределенности измерений количества теплоты. Исследуемые характеристики были подтверждены в ходе опробования процедуры измерений путем сравнения полученных результатов с литературными данными. На основании проведенных исследований была предложена новая ветвь поверочной схемы для средств измерений количества теплоты в диапазоне от 100 до 5000 мкДж, включающая эталонный микрокалориметр, стандартные образцы и рабочие средства измерений. В результате работы заложены основы для реализации предложенного подхода и создания новых метрологических средств.**

# Ключевые слова: изотермическая калориметрия титрования, неопределенность измерений, химическая калибровка, Государственный первичный эталон

# Введение

## Актуальность работы

С 90-х годов изотермическая калориметрия титрования (ИКТ) широко применяется как метод определения тепловых эффектов реакций в химических, медицинских и биологических исследованиях. Более 500 публикаций в год представляют экспериментальные данные, полученные методом ИКТ, поэтому большой интерес вызывает обеспечение качества, достоверности и единства измерений.

В ходе анализа была отмечена несогласованность результатов, полученных на различных моделях микрокалориметров титрования, и их несоответствие литературным данным [1]. Результаты межлабораторных сличений показали, что стандартное отклонение значения теплового эффекта реакции, полученного обработкой результатов участников, значительно превысило оценки точности, заявленные лабораториями [2]. Некоторые исследователи [3] связывают такую изменчивость с различиями в исходных материалах и процедурах их подготовки, и подчеркивают необходимость разработки первичного стандарта.

В рекомендациях IUPAC и производителей микрокалориметров обозначена необходимость химической калибровки путем проведения стандартной реакции с использованием общедоступных химических веществ или тестовых наборов, предоставляемых производителями [4, 5]. При этом зачастую отсутствует информация об однородности и стабильности применяемых веществ, способе установления референтного значения и его прослеживаемости, а ранее полученные значения теплового эффекта стандартных реакций из литературных источников могли быть подвержены систематическим эффектам и представлены с существенно заниженной неопределенностью [1, 3-4].

Таким образом, в данной области отмечается недостаток метрологических процедур и инструментов. Данная работа сосредоточена на представлении результатов текущих и постановке перспективных исследовательских задач, направленных на решение этой проблемы.

## Цель и задачи

**Целью** работы является расширение функциональных возможностей и диапазона измерений государственного первичного специального эталона единицы количества теплоты в области калориметрии растворения и реакций ГЭТ 1331.

В ходе работы были выполнены следующие **задачи**: проектирование и изготовление эталонного микрокалориметра, исследование его метрологических и технических характеристик, оценка неопределенности измерений и разработка проекта поверочной схемы.

## Научная новизна и практическая значимость

Предложен новый подход с применением эталонного микрокалориметра для обеспечения прослеживаемости и единства измерений в области изотермической калориметрии титрования.

Внедрение данного подхода на практике позволит получить точные и достоверные результаты измерений количества теплоты химических процессов, разработать метрологические средства для поверки и калибровки изотермических калориметров титрования, а также для валидации результатов измерений.

# Материалы и методы

## Оборудование

Эталонный микрокалориметр МКТ представляет собой дифференциальный титрационный микрокалориметр теплового потока. Внешний вид микрокалориметра МКТ и его принципиальная схема представлены на рисунке 1.

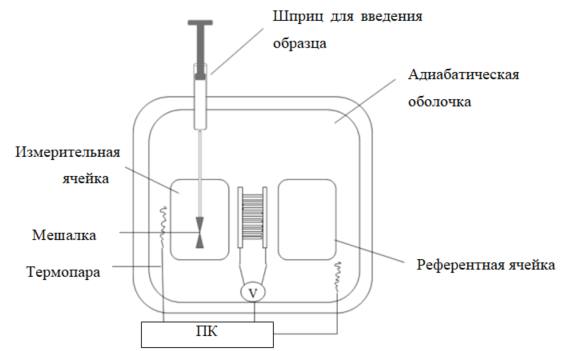
 

Рисунок 1 – Эталонный микрокалориметр титрования МКТ (слева) и его принципиальная схема (справа)

Принцип действия эталонного микрокалориметра основан на измерении термоЭДС, возникающей в тепломере при прохождении через него теплового потока от измерительной ячейки к массивному металлическому калориметрическому блоку.

Воспроизведение единицы количества теплоты эталонным микрокалориметром МКТ осуществляется на основе эффекта Джоуля и заключается в определении энергетического эквивалента калориметра , Вт/В, в стационарном режиме и измерении количества теплоты , мкДж, выделившегося на нагревателе при работе в импульсном режиме для симуляции процесса титрования.

При передаче единицы количества теплоты подача образца в измерительную ячейку сопровождается химической реакцией с выделением или поглощением тепла. В режиме симуляции процесса титрования нагреватель формирует импульсы заданной длительности, что обеспечивает тепловыделение в диапазоне *Q* = 100 ÷ 5000 мкДж.

При этом зависимость измеряемого напряжения на тепломере от подаваемой мощности характеризуется уравнением Тиана, а количество теплоты в этом режиме вычисляется по уравнению:

|  |  |
| --- | --- |
| , | (1) |

где – напряжение на тепломерах, В;

– время до возвращения к базовой линии, с.

## Материалы

В качестве исследуемых материалов были выбраны стандартные образцы массовой доли пропанола-1. Для экспериментальных исследований в ходе опробования процедуры измерений растворы заданной концентрации были приготовлены гравиметрическим методом без последующего контроля другими методами. Для приготовления раствора с массовой долей 2 %  брали 2 г пропанола-1 и добавляли 98 г деионизированной воды, полученной на бидистилляторе УПВА-5-1. Для взвешивания навесок применялись весы Sartorius ME 235S.

## Метод оценки неопределенности измерений

Оценка неопределенности была произведена в соответствии с [6].

На основании анализа уравнения (1) абсолютная суммарная стандартная неопределенность измеренного количества теплоты была представлена как:

|  |
| --- |
| , |

где , , – стандартные неопределенности по типу B определения энергетического эквивалента, измерений напряжения на тепломерах и измерений времени;

, – стандартные неопределенности по типу A шума базовой линии и измерений количества теплоты.

Оценки входных величин *, ,*  были получены в ходе предварительных исследований; входных величин *I*, , − в ходе эксперимента.

Стандартные неопределенности по типу B , , , , и были оценены на основе известных характеристик применяемого оборудования.

Стандартная неопределенность по типу А была оценена в ходе предварительных исследований характеристик шума применяемого АЦП.

Стандартная неопределенность по типу А была оценена в ходе эксперимента.

# Результаты

## Оценка неопределенности измерений

Бюджет неопределенности измерений количества теплоты на эталонном микрокалориметре МКТ, включая оценки входных величин, представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Бюджет неопределенности измерений количества теплоты

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Входная (влияющая) величина и единица | Значение или интервал | Тип оценки | Стандартная неопределенность | Коэффициент чувствительности | Вклад в |
| Энергетический эквивалент, ε, Вт/В | 1,143 | B | 0,002 |  | 0,3 ÷ 20,7 |
| Напряжение на тепломерах, , мкВ | 0,800 ÷ 33,955 | B | 0,005 |  | 1,2 ÷ 2,1 |
| Время до возвращения к базовой линии, , с | 400 ÷ 735 | B | 0,001 |  | <0,1 |
| Количество теплоты, , мкДж | 109 ÷ 4980 | A | 3,1 ÷ 10,0 | 1 | 3,1 ÷ 10,0 |
| Шум базовой линии, , мкДж | 0,09 ÷ 1,06 | А | 0,06 | 1 | 0,06 |
| Суммарная стандартная неопределенность, , мкДж | | | | | 4,1 ÷ 23 |
| Расширенная неопределенность, (P = 95 %), мкДж (%) | | | | | 8,5 ÷ 58,7  (1,2 ÷ 8,1) |

## Опробование процедуры измерений

Опробование процедуры измерений было проведено путем измерения интегральной теплоты разведения 2 % раствора пропанола-1 (n = 2). Полученные средние значения количества теплоты растворения составили -1587 мкДж, интегральной теплоты растворения ‑0,200 кДж/моль, а расширенная неопределенность при передаче единицы количества теплоты составила 1,4 %.

Полученные результаты были валидированы путем сравнительного анализа с литературными данными, полученными различными исследователями на прецизионных калориметрических установках.

Рисунок 2 – Сравнительный анализ результатов измерений теплоты разведения 2 % раствора пропанола-1

Сопоставление результатов измерений позволяет сделать вывод, что полученные результаты измерений согласованы с литературными данными.

## Поверочная схема

Разработанная новая ветвь поверочной схемы предполагает передачу единицы количества теплоты от эталонного микрокалориметра МКТ рабочим эталонам (стандартным образцам) методом прямых измерений. Передача единицы рабочим средствам измерений (СИ) должна осуществляться согласно соответствующим методикам поверки или калибровки с применением рабочих эталонов (стандартных образцов).

Принимая во внимание приведенные в публикациях оценки неопределенности измерений с применением рабочих средств измерений (5-14 %), необходимо отметить, что характеристики эталонного калориметра МКТ позволяют обеспечить требуемое соотношения показателей точностей средства поверки к поверяемому СИ «1:3».

# Заключение

Лабораторией калориметрии ВНИИМ было проведено совершенствование государственного первичного специального эталона ГЭТ 133 с целью расширения его функциональных возможностей и диапазона измерений. Для достижения этой цели был изготовлен эталонный микрокалориметр, проведены исследования его характеристик и оценена неопределенность измерений. В перспективе планируется разработка процедур калибровки, исследования веществ-кандидатов для создания стандартных образцов и уточнение значений тепловых эффектов стандартных реакций. В связи с коммерческой доступностью исходных материалов высокой чистоты и простотой приготовления их растворов, перспективными для исследований выбраны реакция разведения растворов 1-пропанола в воде, реакции солей бария с дибензо-18-краун-6 и хлорида кальция с этилендиаминтетрауксусной кислотой.

# Список источников

[1] Baranauskiene L., et al. Titration Calorimetry Standards and the Precision of Isothermal Titration Calorimetry Data. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009; 10 (6): 2752-2762.

[2] Myszka D.G., et al. The ABRF-MIRG’02 Study: Assembly State, Thermodynamic, and Kinetic Analysis of an Enzyme/Inhibitor Interaction. *Journal of Biomolecular Techniques*, 2003; 14(4): 247-269.

[3] Velazquez‑Campoy A., et al. A multi-laboratory benchmark study of isothermal titration calorimetry (ITC) using Ca2+ and Mg2+ binding to EDTA. *European Biophysics Journal*, 2021; (50): 429-451

[4] Adao R., et al. Chemical calibration of Isothermal Titration Calorimeters: An evaluation of the dilution of propan-1-ol into water as a test reaction using different calorimeters, concentrations, and temperatures // J. Chem. Thermodynamics - 2012. - №. 52, P. 57-63

[5] Wadso I., Goldberg R.N. Standards in isothermal microcalorimetry (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 2001; 73(10): 1625-1639

[6] JCGM 100:2008 Reference materials — Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement. First edition. 2008, 134 p. 11.

**Ensuring traceability and uniformity of measurements in the field of Isothermal Titration Calorimetry using new reference microcalorimeter**

Karina Mishina

D.I. Mendeleyev Institute for Metrology (VNIIM)

190005, Russia, Saint Petersburg, Moskovskiy pr., 19

Phone: +7 812 3239639, E-mail: k.a.mishina@vniim.ru

# ****Abstract****

**The paper discusses the need for development of new means of metrological support in the field of isothermal titration calorimetry. The analysis of publications showed inconsistencies in results obtained on different measuring instruments and with literature data, which indicates the need to develop standardized metrological procedures and tools to ensure the uniformity and reliability of measurements. To address this issue, an approach was proposed using a reference microcalorimeter and certified reference materials to establish metrological traceability chain. At this stage, a reference microcalorimeter was developed and manufactured, its technical and metrological characteristics were studied, and the uncertainty budget for the amount of heat measurements was calculated. The studied characteristics were confirmed through testing the measurement procedure and comparing the obtained results with the literature data. As a result of the research, a new branch of the verification scheme for measuring instruments for the amount of heat in the range from 100 to 5000 μJ was proposed, including a reference microcalorimeter, reference materials and measuring instruments. The work lays the foundation for implementing this approach and creating new metrological tools to ensure the quality, reliability, and uniformity of ITC measurements.**

# Key words: isothermal titration calorimetry, measurement uncertainty, chemical calibration, State primary standard