



Universidade Federal do ABC

**BC-1308 Biofísica**

**Calorimetria**

# **Aula 16**

## **Calorimetria**

---

**Jiří Borecký**  
**CCNH**  
**2014**



Universidade Federal do ABC

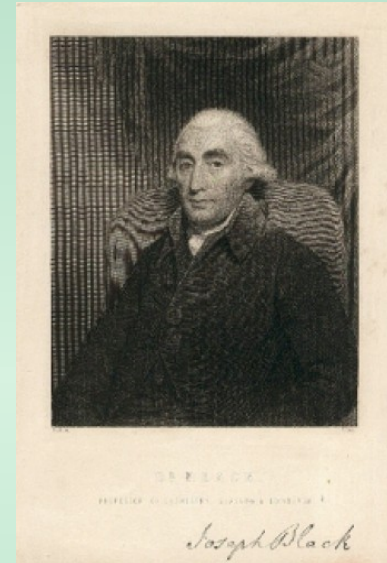
BC-1308 Biofísica

# Calorimetria - introdução

Calorimetria

## ➤ Calorimetria (do latim *calor*):

- A ciência que analisa e quantifica o calor de:
  - Reações químicas
  - Mudanças do estado físico
  - Mudanças da organização de moléculas
- Origem: Joseph Black, médico e cientista escocês que reconheceu a diferença entre o calor e temperatura, é considerado como fundador da calorimetria.
- Equipamento usado – calorímetro ou microcalorímetro
- Categorias:
  - Calorimetria direta – o sistema físico, reação química ou organismo é colocado dentro do calorímetro
  - Calorimetria indireta – calcula o calor produzido por seres vivos a partir de
    - produção de  $\text{CO}_2$ , amônia ou ureia
    - Consumo de  $\text{O}_2$  (em 1780, Lavoisier usou regressão múltipla para relacionar o consumo de  $\text{O}_2$  com a produção de calor)





# Calorimetria

## ➤ Repetitório de termodinâmica:

- Energia intrínseca do sistema (1ª lei):
- Entropia (o nível da desordem) do sistema (2ª lei):
- Entalpia (o conteúdo de calor) do sistema:
  - Se  $\Delta p = 0$
  - Se  $\Delta W = p\Delta V$
- Energia livre de Gibbs:
  - Se  $\Delta p = \Delta T = 0$
- Calor específico:

Calor recebido



trabalho exercido



$$dU = dQ - dW$$

$$dS = \frac{dQ}{T}$$

$$dH = dU + PdV + VdP$$

$$dH = dU + PdV$$

$$dH = dU + dW = dQ$$

$$dG = dU - TdS - SdT + PdV + VdP$$

$$dG = dU - TdS + PdV = dH - TdS$$

$$q = mc \Delta T$$



## ➤ Repetitório de termodinâmica:

- Processos

- Isobárico ( $\Delta p = 0$ ):
- Isocórico ( $\Delta V = 0$ ):
- Isotérmico ( $\Delta T = 0$ ):
- Adiabático ( $\Delta Q = 0$ ):
  - Isentálpico ( $\Delta H = 0$ ; irreversível e  $\Delta W = 0$ )
  - Isentrópico ( $\Delta S = 0$ ; reversível)



Universidade Federal do ABC

**BC-1308 Biofísica**

# Calorimetria

**Calorimetria**

## ➤ Tipos de estudo por calorimetria:

- Cinética – o calor liberado/consumido é diretamente proporcional a velocidade da reação
- Desenvolvimento do processo – perfil da liberação do calor revela mecanismos de reações
- Segurança – quando a reação é feita em larga escala (indústria), o calor da reação tem que ser avaliado
- Cristalização – determinação da efetividade e otimização do processo

## ➤ Técnicas:

- Calorimetria de fluxo
- Calorimetria de tempo real
- Calorimetria de balanço de calor
- Calorimetria diferencial de varredura
- Calorimetria de titulação isotérmica



Universidade Federal do ABC

**BC-1308 Biofísica**

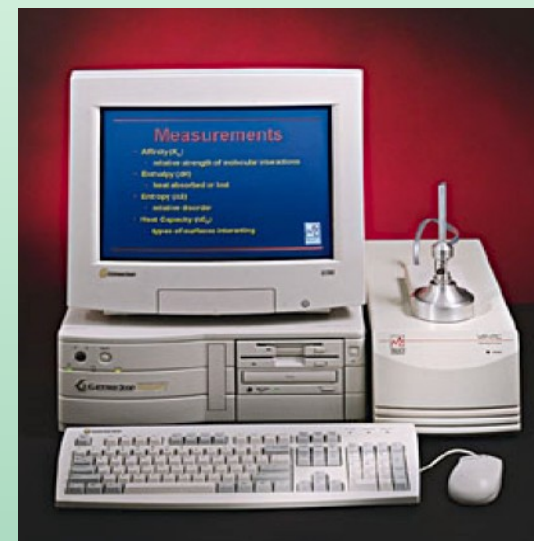
# Calorímetro

**Calorimetria**

- **Primeiro calorímetro de gelo usado no inverno 1782-83 pelos Antoine Lavoisier e Pierre-Simon Laplace para determinar calor em mudanças químicas**



- **Calorímetro diferencial de varredura MicroCal VP-DSC**



- **Calorímetro de titulação isotérmica MicroCal VP-ITC**



Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

# Calorimetria de fluxo de calor

Calorimetria

- Calorimetria de fluxo de calor mede o fluxo de calor que atravessa a parede do reator:

$$Q = U.A. (T_r - T_j)$$

- Onde Q = potência do processo de aquecimento/resfriamento em W; U = coeficiente global de transferência de calor em  $\text{W.m}^{-2}\text{K}^{-1}$ ; A = área de transferência do calor em  $\text{m}^2$ ;  $T_r$  e  $T_j$  = temperaturas do reator e da jaqueta, respectivamente
- $T_r - T_j$  é a força que impulsiona a transferência do calor – pode ser medida com precisão
- U ou U.A tem que ser calibrado para cada caso porque depende de:
- Composição do produto
  - Temperatura do processo
  - Velocidade da agitação
  - Viscosidade
  - Nível do líquido em calorímetro



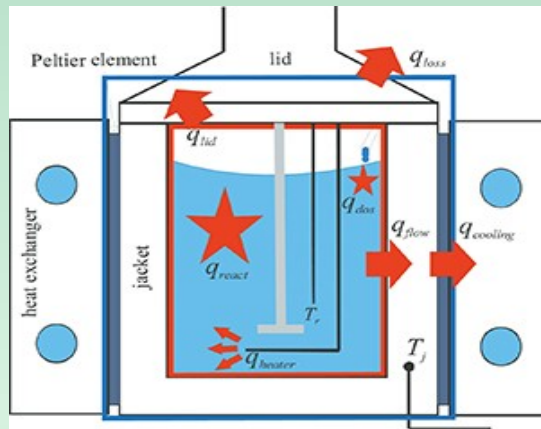


Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

# Calorimetria de fluxo de calor

Calorimetria



At steady-state:

Inner energy balance

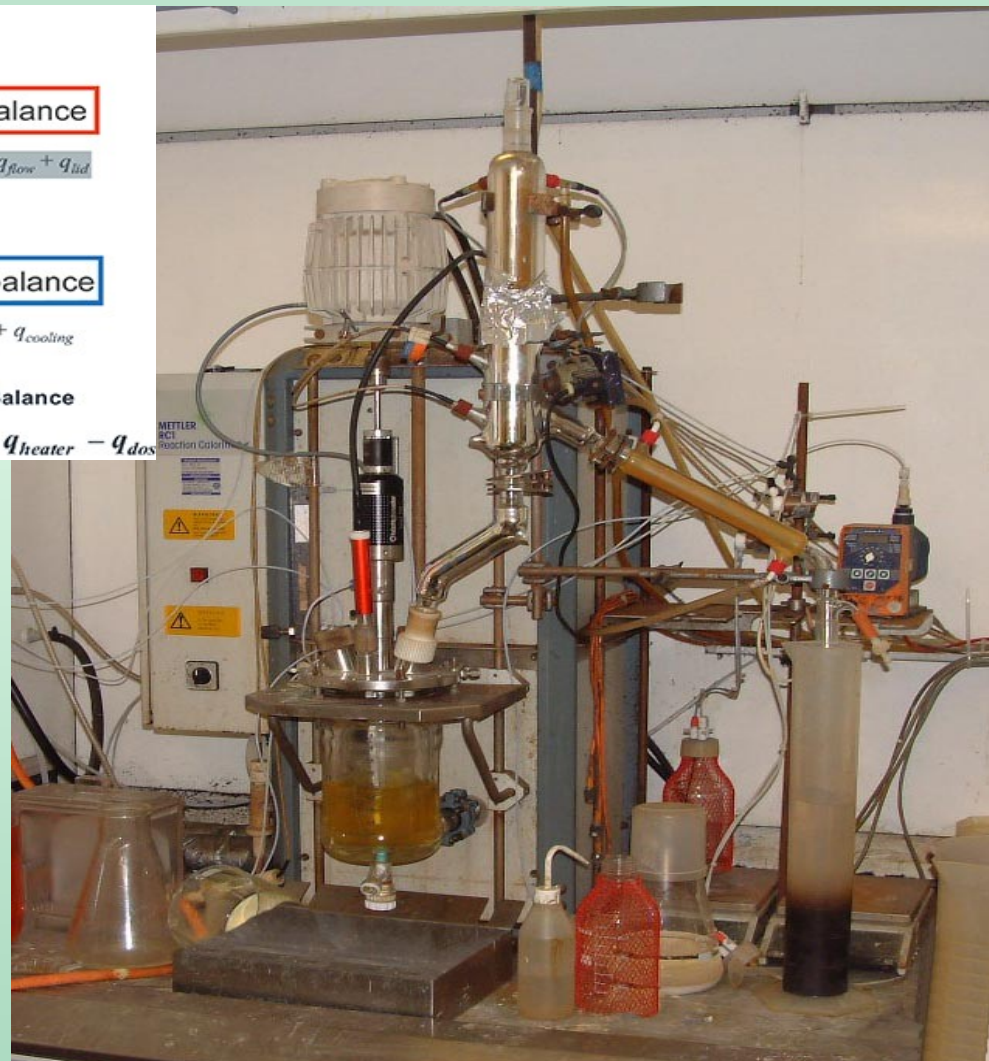
$$q_{\text{heater}} + q_{\text{dos}} + q_{\text{react}} = q_{\text{flow}} + q_{\text{lid}}$$

Outer energy balance

$$q_{\text{flow}} + q_{\text{lid}} = q_{\text{loss}} + q_{\text{cooling}}$$

Total Energy Balance

$$q_{\text{react}} = q_{\text{loss}} + q_{\text{cooling}} - q_{\text{heater}} - q_{\text{dos}}$$



➤ Original calorímetro RC1





# Calorimetria em tempo real

## ➤ RTCal (*Real-Time Calorimetry*)

- Tecnologia patenteada que determina o fluxo de calor através dos sensores de fluxo de calor localizados na parede do reator
- Os sensores medem o fluxo de calor
  - Diretamente
  - Independentemente da temperatura,
  - Independentemente do comportamento da reação
  - Independentemente das propriedades do produto/matéria
- Fluxo de calor é obtido com valores instantâneos
- Não é precisa calibração durante o experimento
- Ajuste de velocidade da reação em tempo real
- Observação de mudanças em UA em condições especiais (espuma, mudança de viscosidade)
- Identificação de parâmetros da agitação
- Investimento bastante caro



Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

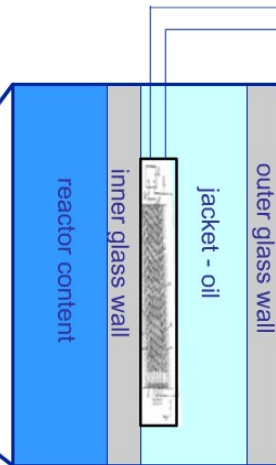
# Calorimetria em tempo real

Calorimetria

## Sensor Principle

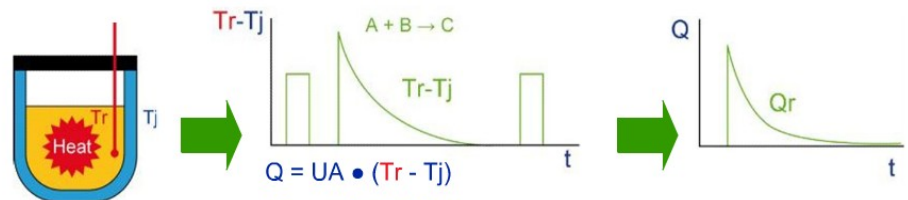
### Principle of the sensor bands

- Thermocouples are integrated in polymer matrix
- Heat flow across the matrix leads to a voltage signal
- The measured voltage signal is converted into heat flow [W]



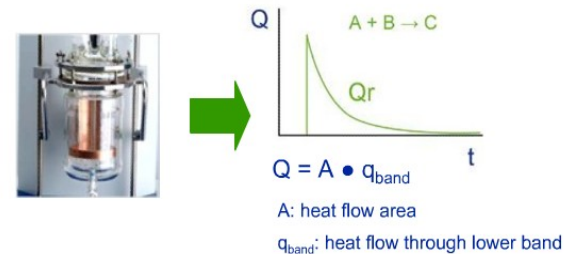
2

## Heat Flow vs. RTCal™



Heat flow calorimetry

RTCal™



\* Isothermal conditions

3



Slide 3 / 5 | Stopped

00:00 / 00:25



Slide 4 / 5 | Stopped

00:00 / 01:38



# Calorimetria de balanço de calor

- Metodologia baseada na medição de calor transferido do reator para um fluido :

$$Q = m_s C_{ps} (T_i - T_o)$$

- Onde  $m_s$  = fluxo de massa do fluido (kg/s);  $C_{ps}$  = calor específico do fluido;  
 $T_i$  e  $T_o$  = temperaturas do fluido na entrada e saída do calorímetro
- Teoricamente metodologia ideal – elimina calibrações
- Desvantagem – o sinal é obscurecido por diferenças de calor no corpo da jaqueta do calorímetro (vasão do calor)



Universidade Federal do ABC

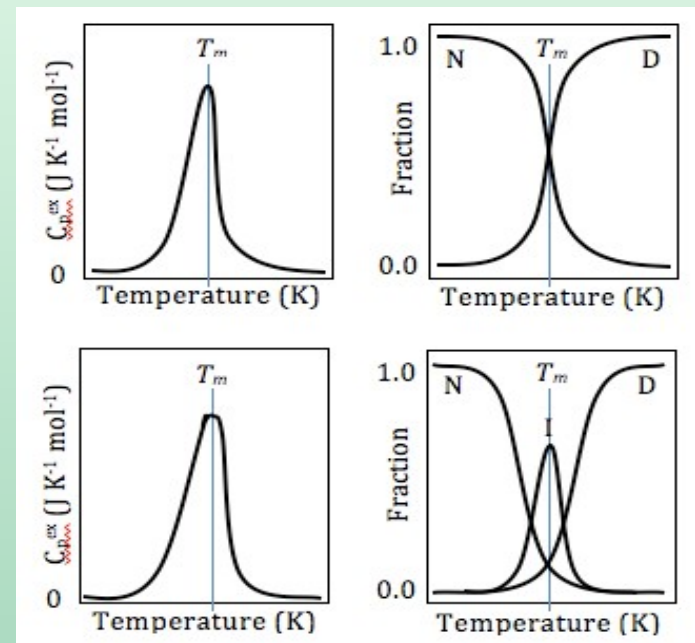
BC-1308 Biofísica

# Calorimetria diferencial de varredura

Calorimetria

## ➤ DSC (*Differential scanning calorimetry*):

- Método termoanalítico que mede a diferença de quantidades de calor necessárias para aquecer a amostra e referência
  - Referência tem que ter seu calor específico bem definido na faixa de temperaturas do experimento
  - Uso:
    - Transição de fases
    - Decomposições exotérmicas
    - Desnaturação de proteínas
- Cálculo de entalpia:  $\Delta H = KA$ , onde K é constante do calorímetro e A é área do pico



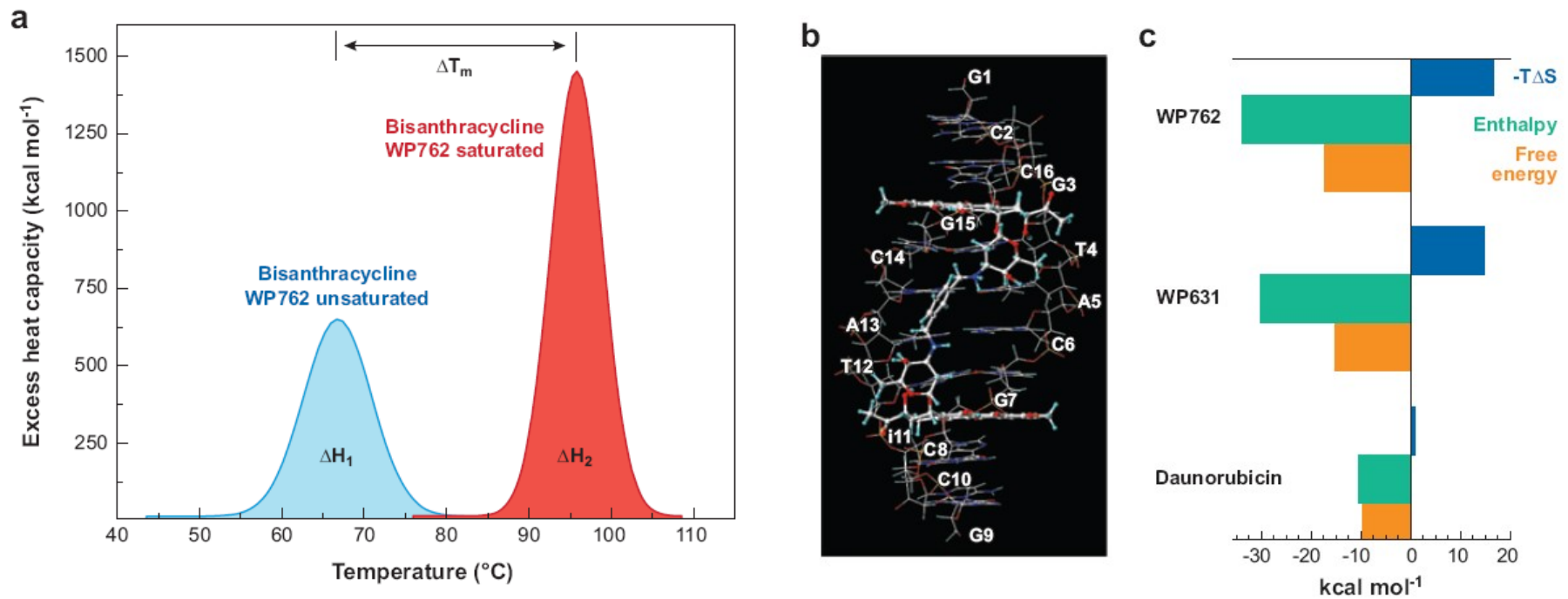


Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

# Calorimetria diferencial de varredura

Calorimetria



**Figure 4**

Ultratight binding of a bisanthracycline to DNA. (a) A schematic of the DSC thermograms observed for DNA in the absence and presence of saturating amounts of the bisanthracycline WP762. (b) The structure of the WP762-DNA complex. (c) The thermodynamic profiles for the binding to DNA of the parent monomer daunorubicin and two bisanthracyclines, WP631 and WP762, which differ in their linker geometry. Free energy, enthalpy, and  $-T\Delta S$  are shown.



Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

# Calorimetria de titulação isotérmica

Calorimetria

## ➤ ITC (*Isothermic Titration Calorimetry*)

- Técnica quantitativa para medir diretamente
  - Afinidade de ligação ( $K_a$ )
  - Mudanças de entalpia ( $\Delta H$ )
  - Estequiometria ( $n$ ) de ligação de duas ou mais moléculas em solução
  - Diferenças na energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) e entropia ( $\Delta S$ ) podem ser determinadas:

$$\Delta G = -RT \ln(K) = \Delta H - T \Delta S$$

- Uso:
  - Interação de vacinas ou drogas com proteínas
  - Ligação de enzimas com substratos
  - Ligação de proteínas ao DNA, RNA





Universidade Federal do ABC

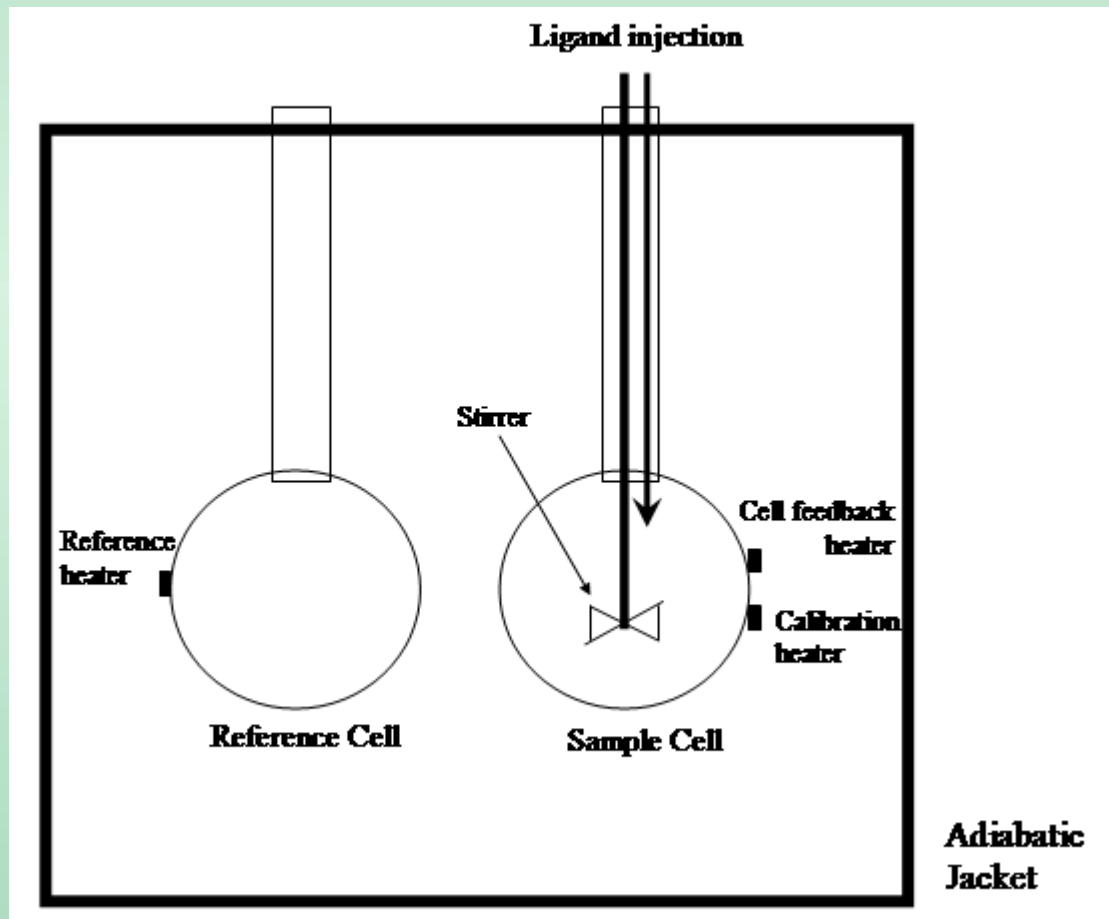
BC-1308 Biofísica

# Calorimetria de titulação isotérmica

Calorimetria

## ➤ Princípio:

- Aplica-se aquecimento pequeno ( $<1$  mW) e constante ao aquecedor da referência
- Para manter  $\Delta T = 0$  ( $T_{\text{ref}} - T_{\text{sample}}$ ), o aquecedor de retroalimentação começa aquecer a amostra
- Quando o equilíbrio dinâmico é alcançado, injetam-se pequenas e precisas quantidades de ligante
- Calor liberado ou absorvido por interação é compensado por diminuição ou aumento da potência de aquecedor de retroalimentação → este sinal é medido



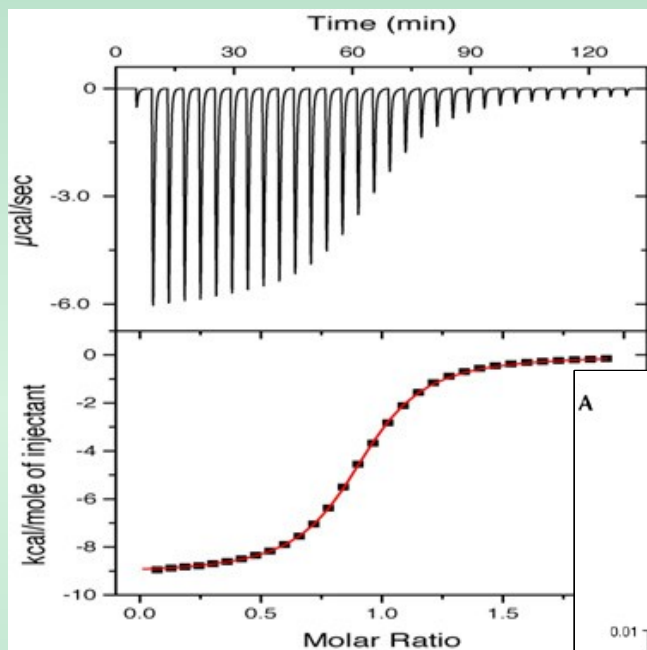


Universidade Federal do ABC

BC-1308 Biofísica

# Calorimetria de titulação isotérmica

Calorimetria



Isothermal Titration Calorimetry of Protein-Protein Interactions. Example of a typical calorimetric titration data. Upper graph showing the differential power recorded directly over time and the lower figure showing the  $\Delta H$  over molar ratio.

RNA binding of exosome subunits studied by isothermal titration calorimetry. (A) Isothermal titration calorimetry (ITC) of yeast Rrp40N (25  $\mu\text{M}$ ) with a solution of an A8 RNA oligonucleotide (670  $\mu\text{M}$ ). (B) ITC of SsRrp4 (20  $\mu\text{M}$ ) with a solution of A7 RNA (210  $\mu\text{M}$ ). (C) ITC of SsRrp41-Rrp42 (43  $\mu\text{M}$ ) with a solution of A7 RNA (430  $\mu\text{M}$ ). (D) ITC of SsRrp41-Rrp42-Rrp4 (14  $\mu\text{M}$ ) with a solution of A7 RNA (70  $\mu\text{M}$ ). For all titrations, the raw data are shown in the upper panel, and the integrated heat data, corrected for dilution, are shown in the lower panel. Above the ITC data is a schematic representation of the species in solution: magenta and orange circles represent ScRrp40 and SsRrp4 subunits respectively; blue and green circles represent Ss RNase PH-like subunits; small, black circles represent RNA molecules. Sc, *Sulfolobus cerevisiae*; Ss, *Sulfolobus solfataricus*.

EMBO reports (2007) 8, 63 - 69

