

О потребности в метрологическом обеспечении в области изотермической калориметрии титрования

Мишина К. А., Корчагина Е. Н.

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии имени Д.И. Менделеева»,
г. Санкт-Петербург, Россия, e-mail: k.a.mishina@vniim.ru

Аннотация: В данной работе приведен обзор текущего состояния метрологического обеспечения в области изотермической калориметрии титрования, рассмотрена проблематика существующих подходов и обозначены возможные пути решения. На основании полученных выводов были поставлены цели и задачи научно-исследовательской работы по совершенствованию ГЭТ 133.

Ключевые слова: изотермическая калориметрия титрования, неопределенность, химическая калибровка ИКТ, стандартные образцы, Государственный первичный эталон

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 основаны на экспериментальных данных ИТК, поэтому большой интерес вызывает вопрос обеспечения качества, достоверности и единства измерений. Установлено, что в этой области наблюдается недостаток метрологических процедур и инструментов, несмотря на внимание, уделяемое данной проблеме и поиску путей ее решения. Данная работа сосредоточена на анализе и обзоре текущих и постановке перспективных исследовательских задач.

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, составило около 10-20 %, что значительно превысило оценки точности, заявленные лабораториями [2]. Некоторые исследователи [3,4] связывают такую изменчивость с различиями в исходных материалах и процедурах их подготовки, подчеркивают необходимость первичного стандарта, обладающего достаточной стабильностью и доступностью для пользователей.

Рекомендации IUPAC и производителей микрокалориметров предполагают необходимость проведения химической калибровки путем проведения стандартной реакции с использованием общедоступных химических веществ или тестовых наборов, предоставляемых производителем [5,6,7]. В отсутствие стандартных образцов для этих процедур, нет уверенности в однородности и стабильности применяемых веществ. Также возникает вопрос, каким образом образцу присвоено приписанное значение и его неопределенность. Зачастую информация о способе установления этого значения, его прослеживаемости, методах обработки и получения исходных данных отсутствует. Следует отметить, что результаты из литературных источников можно применять в качестве референтных значений с некоторой осторожностью, поскольку ранее полученные результаты могли быть подвержены систематическим эффектам и представлены с существенно заниженной неопределенностью, например, по причине того, что не были учтены важные составляющие, такие как концентрация титранта [1,3,4,5,8].

Для изучения этих вопросов лабораторией калориметрии ВНИИМ было начато совершенствование ГПСЭ единицы количества теплоты в области калориметрии растворения и реакций ГЭТ 133 с целью расширения его функциональных возможностей и диапазона измерений. Для достижения этой цели изготовлен эталонный микрокалориметр, и к концу

2022 г. будут завершены исследование его характеристик и оценка неопределенности. В перспективе планируется разработка процедур калибровки, исследования веществ-кандидатов для создания стандартных образцов и уточнение значений тепловых эффектов стандартных реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Titration calorimetry standards and the precision of isothermal titration calorimetry data / L. Baranauskiene [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. 2009. Vol. 10. no. 6. P. 2752–2762. <https://doi.org/10.3390/ijms10062752>
2. The ABRF-MIRG'02 study: assembly state, thermodynamic, and kinetic analysis of an enzyme/inhibitor interaction / D. G. Myszka [et al.] // *Journal of Biomolecular Techniques*. 2003. Vol. 14. no. 4. P. 247–269.
3. Calibration of nanowatt isothermal titration calorimeters with overflow reaction vessels / N.A. Demarse [et al.] // *Analytical Biochemistry*. 2011. Vol. 417, no. 2. P. 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.06.014>
4. A multi-laboratory benchmark study of isothermal titration calorimetry (ITC) using Ca^{2+} and Mg^{2+} binding to EDTA / A. Velazquez-Campoy [et al.] // *European Biophysics Journal*. 2021. Vol. 50, no. 3-4. P. 429-451. <https://doi.org/10.1007/s00249-021-01523-7>
5. Evaluation and minimization of uncertainty in ITC binding measurements: heat error, concentration error, saturation, and stoichiometry / S.A. Kantonen [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2017. Vol. 1861, no. 2. P. 485–498. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.09.002>
6. Wadsö I., Goldberg R.N. Standards in isothermal microcalorimetry (IUPAC Technical Report) // *Pure and applied chemistry*. 2001. Vol. 73, no. 10. P. 1625–1639. <https://doi.org/10.1351/pac200173101625>
7. The Ca^{2+} –EDTA chelation as standard reaction to validate Isothermal Titration Calorimeter measurements (ITC) / C. Ràfols [et al.] // *Talanta*. 2016. Vol. 154. P. 354-359. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.075>
8. Bayesian analysis of isothermal titration calorimetry for binding thermodynamics / T.H. Nguyen [et al.] // *PLoS ONE*, 2018. Vol. 13, no. 9. P. 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203224>