

a.a. 2021-2022

Corso di
Chimica delle Macromolecole I

Prof. R. URBANI
Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche



Calorimetry

DSC

CALORIMETRIA DIFFERENZIALE A SCANSIONE

La **Calorimetria Differenziale a Scansione** (DSC) misura la temperatura ed il flusso di calore associato ad una transizione di un materiale in funzione del tempo e della temperatura.

La tecnica fornisce informazioni qualitative e quantitative circa le evoluzioni chimiche e fisiche che coinvolgono processi esotermici o endotermici o variazioni della capacità termica.

La quantità di materiale necessario è molto bassa.

DSC: calorimetria differenziale a scansione

Il DSC misura il tempo, la temperatura, il flusso di calore e integrando il flusso di calore l'entalpia delle transizioni

La quantita' di energia fornita per ristabilire l'equilibrio termico rappresenta una misura diretta dell'energia termica assorbita o sviluppata nella transizione

- **Flusso di calore** utilizzato per determinare:
Capacita' Termica, **Transizione vetrosa**, **Calore di fusione**, Stabilita' termica, Velocita' di reticolazione, Durata dei prodotti, Cinetica delle transizioni
- **Misurazione dell'entalpia:**
Calore di fusione, Potenziale esplosivo, Cristallinita' percentuale, **Grado di reticolazione**, **Calore di Cristallizzazione**, Calore di reazione

Calorimetria a scansione differenziale - DSC

La calorimetria a scansione differenziale (DSC) è un metodo termico nel quale viene misurata, in funzione della temperatura del campione, la differenza tra i flussi termici nella sostanza ed in un riferimento mentre entrambi sono sottoposti ad un programma controllato di temperatura.

Strumentazione:

- DSC a compensazione di potenza
- DSC a flusso di calore



Forniscono le stesse informazioni



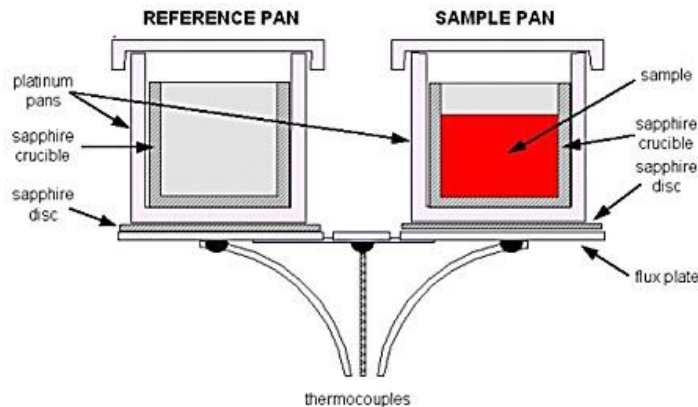
Velocità di flusso di calore
(dQ/dt) in funzione della T

DSC - Compensazione di potenza

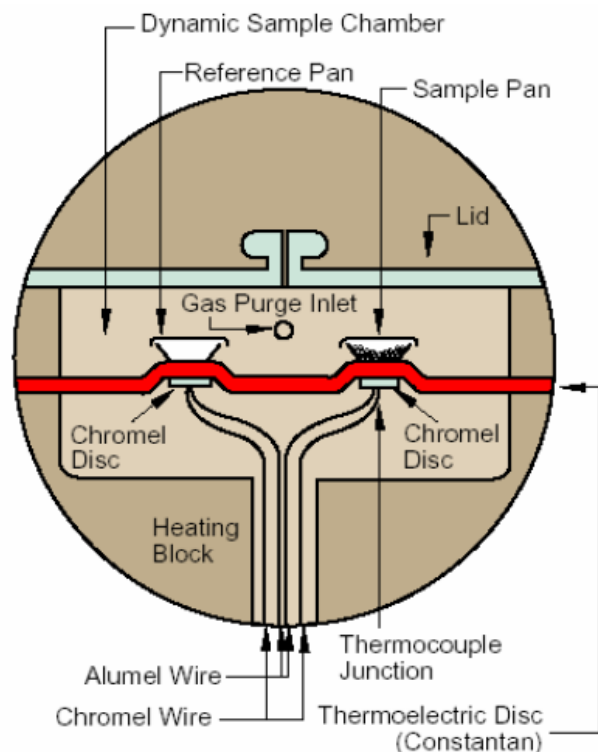
Due forni separati

Portacampioni in cui sono
inseriti I termometri a
resistenza di platino

Tramite un circuito di
controllo viene regolata la
potenza di alimentazione
dei due forni in modo
da eguagliare le loro
temperature.



DSC – Flusso Calore



Il calore fluisce nel campione e nel riferimento attraverso una piattaforma termoelettrica di costantana riscaldata elettricamente

La differenza tra i flussi di calore del campione e del riferimento viene misurata dalle termocoppie poste sotto i campioni.

Il flusso di calore differenziale è direttamente proporzionale alla differenza tra i segnali in uscita dalle termocoppie”

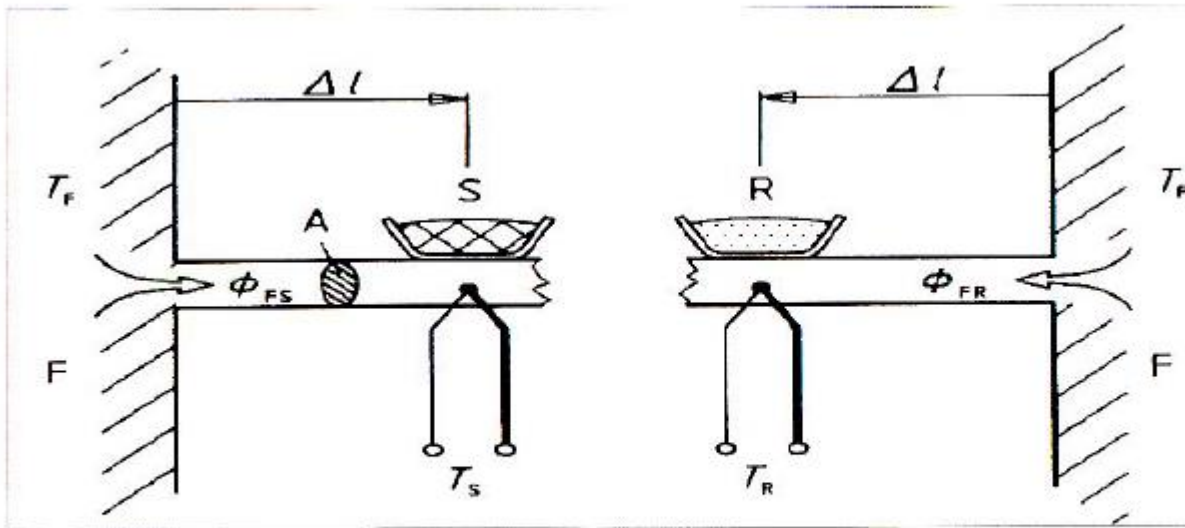


Fig 2.1 Schema di funzionamento del calorimetro differenziale

$$H = U + PV$$

per una trasformazione **isobara** in cui si ha solo **lavoro** di tipo meccanico la variazione di entalpia è uguale al **calore** scambiato dal sistema con l'ambiente esterno:

$$dU = TdS - PdV = dQ - PdV$$

$$dH = dU + PdV + VdP$$

$$dH = TdS - PdV + PdV + VdP$$

$$dH = dQ + VdP$$

$$H = H(T, P, n)$$

$$dH = \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_{P, n} dT$$

$$dH = dQ_p = C_p dT$$

$$\Phi = \frac{dQ_p}{dt} = \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_{P, n} \frac{dT}{dt} = C_p \beta$$

con β la **scan rate** [$^{\circ}\text{C}/\text{s}$]

Conduzione termica

l'equazione di Biot-Fourier definisce il flusso di

calore che attraversa una sezione di area A come:

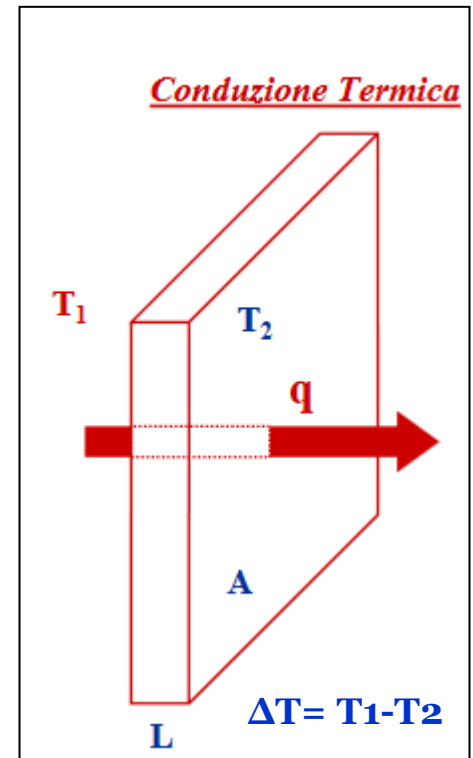
$$\Phi = -A \cdot \lambda \cdot \frac{\partial T}{\partial x}$$

$\lambda \left[\frac{W}{m \cdot ^\circ K} \right]$ rappresenta la conducibilità termica del materiale.

L'espressione è nota come postulato di Fourier. L'espressione è valida allo stato stazionario per un mezzo omogeneo ed isotropo e nel caso in cui lo scambio termico sia monodimensionale (nel caso dell'espressione nella direzione x).

$$\Phi_r = -\frac{\lambda A}{L} \cdot (T_S - T_R) = -\frac{\lambda A}{L} \cdot \Delta T_{SR} = -K \cdot \Delta T$$

$K =$ costante del calorimetro



Deteminazione delle entalpie di transizione

Si effettuano scansioni di taratura con campioni standard
le cui temperature ed entalpie di fusione siano note in modo preciso

Come standard si usano di solito dei metalli, nella maggior parte dei casi si usa **indio metallico**

L'entalpia di fusione per unità di massa si ricava da:

$$\frac{A \text{ (camp)}}{A \text{ (indio)}} = \frac{\Delta H_m \text{ (camp)} M \text{ (camp)}}{\Delta H_m \text{ (indio)} M \text{ (indio)}}$$

T osservabili in DSC

- **Misure di temperatura** piu' importanti:

T di fusione,

T di transizione vetrosa,

T di stabilita' termica,

T di induzione dell'ossidazione,

T di induzione della reticolazione,

T di cristallizzazione,

T di una transizione polimorfica

T di una transizione liquido cristallina

T di denaturazione delle proteine

T di transizione solido-solido

Fenomeni osservabili in DSC

Fusione sol-liq (endotermico)

Cristallizzazione liq-sol (esotermico)

Evaporazione liq-gas (endotermico)

Condensazione gas-liq (esotermico)

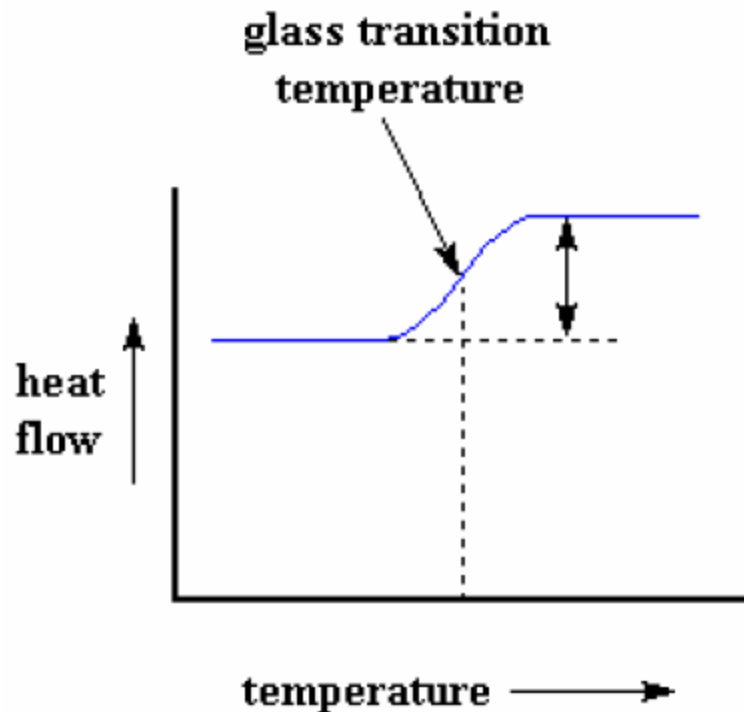
Sublimazione sol-gas (endotermico)

Brinazione gas-sol (esotermico)

Transizioni vetrose **C_p**

Reazioni chimiche (esotermiche o endotermiche)

Temperatura di transizione vetrosa (T_g)

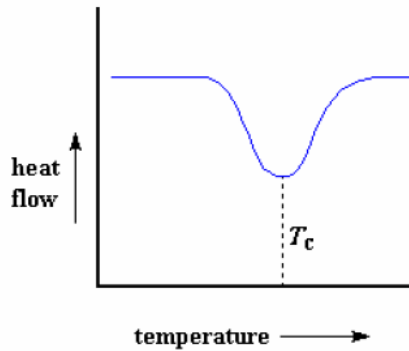


Una variazione del grafico di questo tipo è dovuta alla variazione del C_p del polimero.

Questa variazione avviene in occasione della temperatura di transizione vetrosa (T_g).

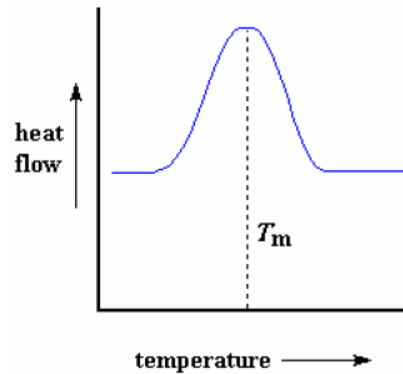
I polimeri hanno un C_p maggiore al di sopra della T_g .

Cristallizzazione



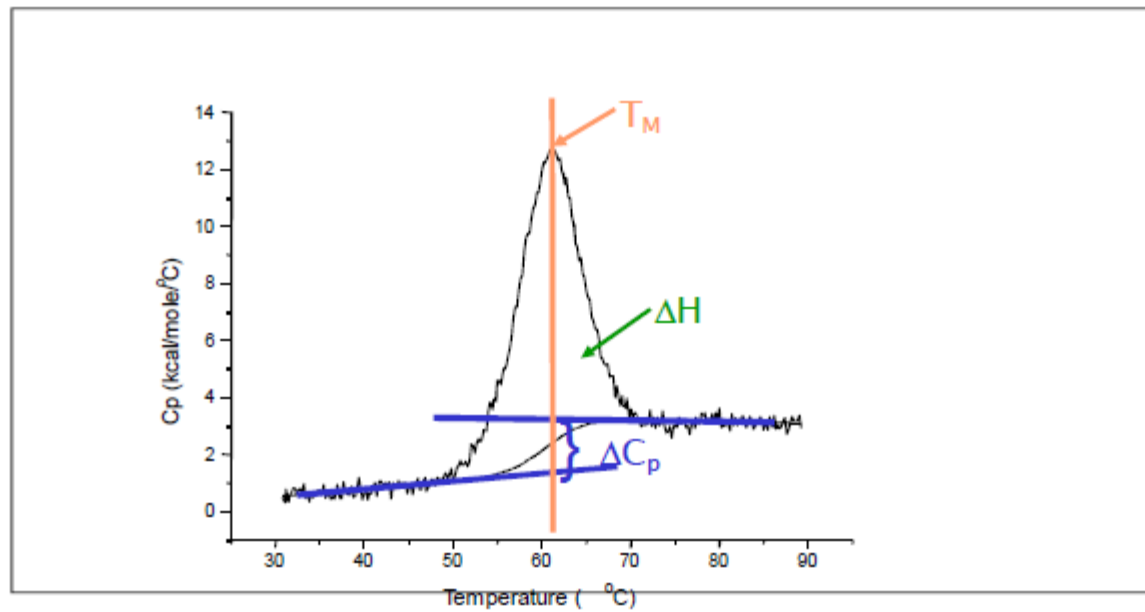
Se il polimero tende a formare delle strutture ordinate (cristalliti) si ha una cessione di calore da parte del materiale (cristallizzazione) che si evidenzia con una **diminuzione del flusso di calore**, come mostrato in figura.

Fusione

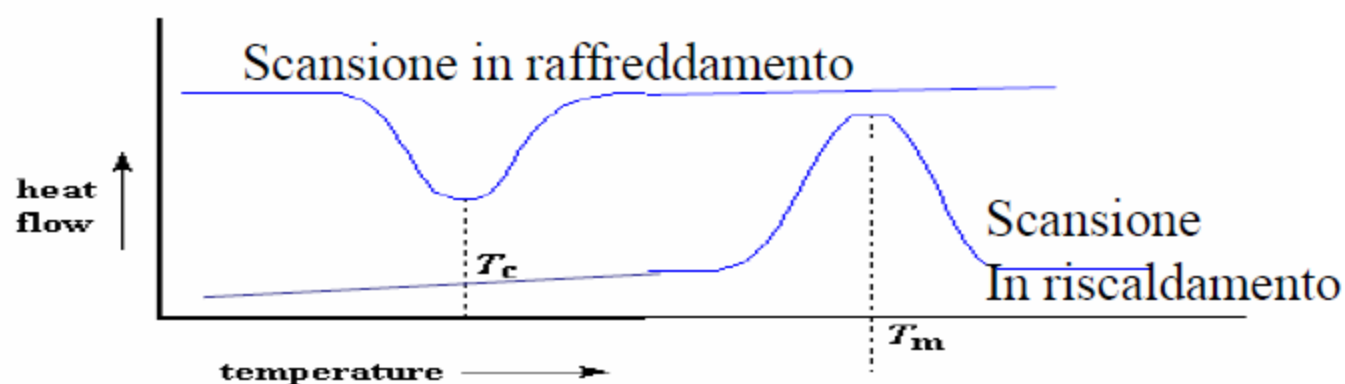


Oltre una certa temperatura l'agitazione molecolare è tale da vincere le forze di coesione nei cristalliti. Questi si rompono (fondono) assorbendo calore (fusione). Si osserva un **aumento del flusso di calore**

Transizione generica



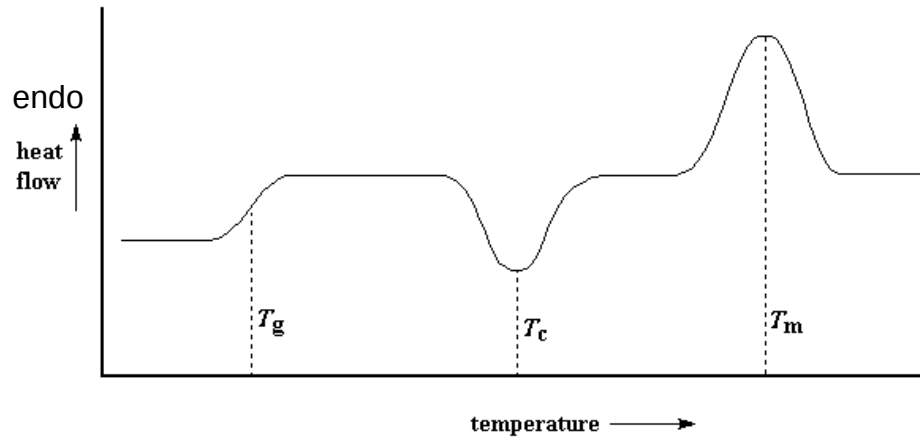
Scansioni DSC per polimeri



Picchi molto larghi e

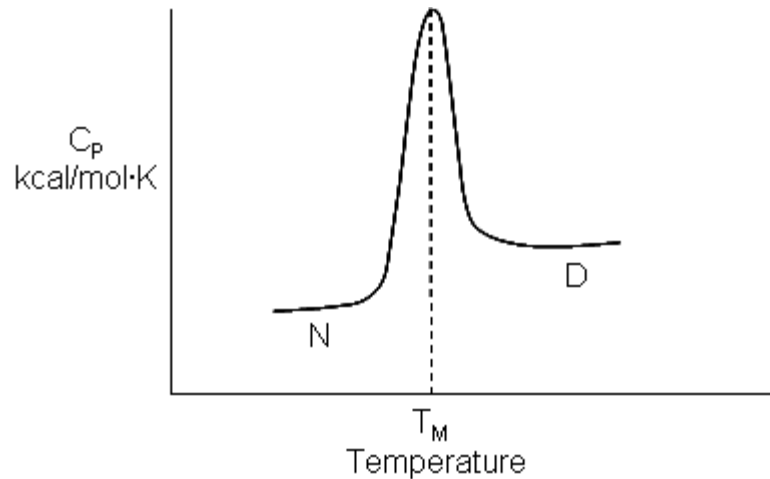
$$T_c \ll T_m$$

Esempi di utilizzo della calorimetria DS



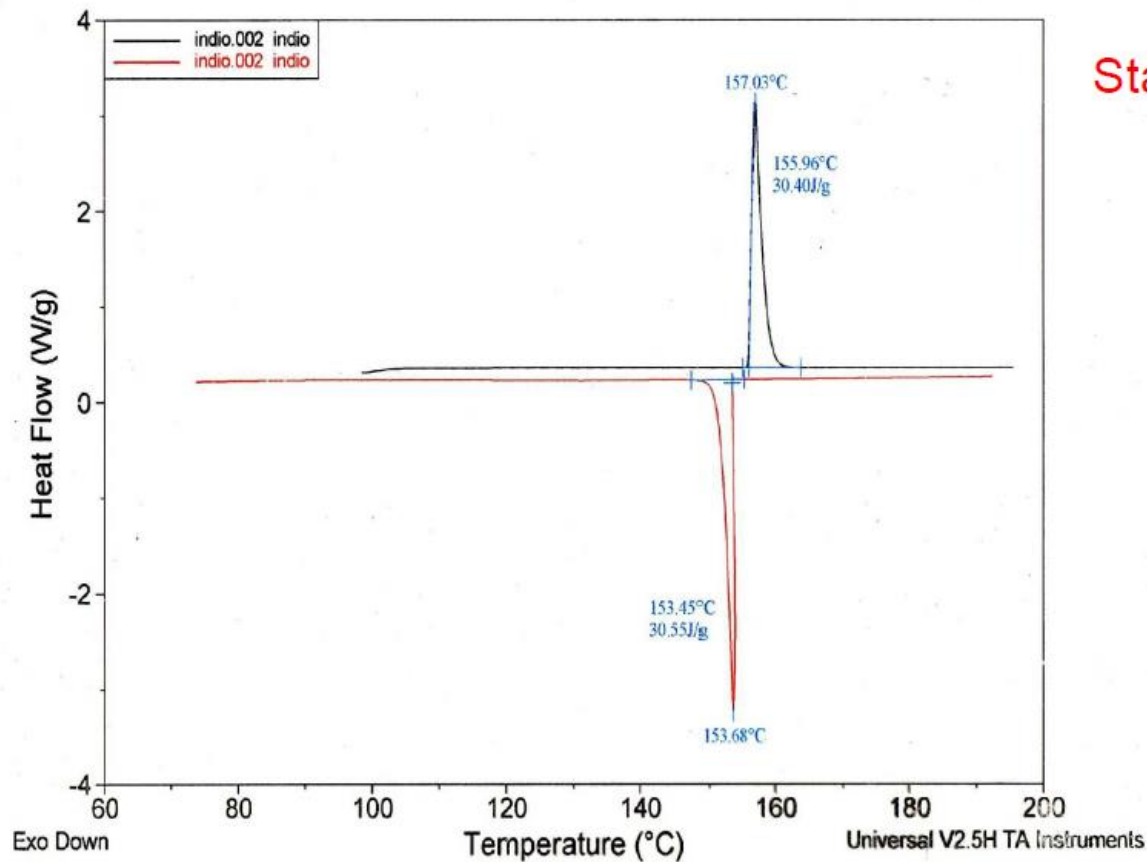
Comportamento termico di
un polimero amorfo

decomposizione



Denaturazione termica di
una proteina monitorata
con DSC

Deteminazione delle temperature di transizione



Standard:INDIO

$$T_C < T_f$$

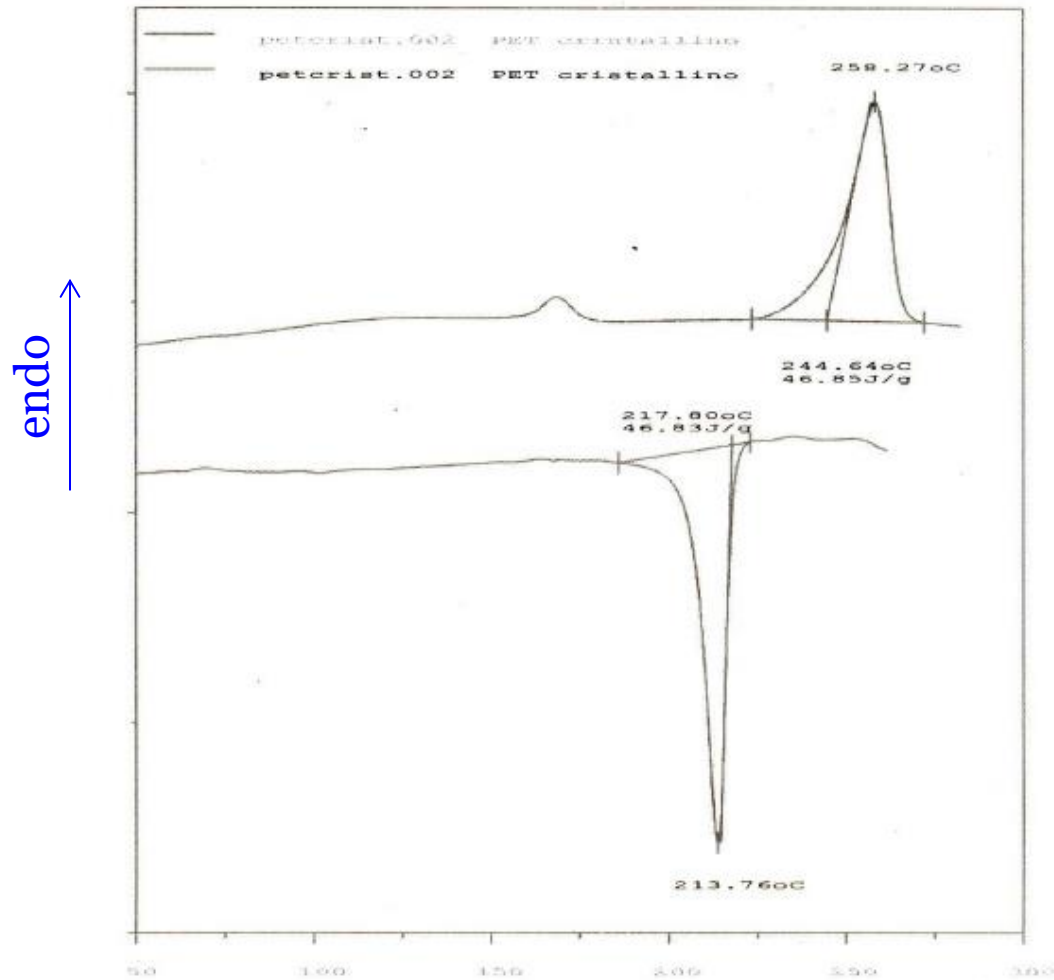
Effetto
strumentale

Calibrazione della temperatura

Table 1.1 Commonly used standards and reference materials

Standard	Melting point (°C)	Heat of fusion (J/g)
Indium	156.6	28.42
Tin	231.9	
Lead	327.5	
Zinc	419.5	108.26
K ₂ SO ₄	585.0	
K ₂ Cr ₂ O ₇	670.5	
Substance	Transition	Transition temperature (°C)
Cyclopentane	Crystal	−151.16
Cyclopentane	Crystal	−135.06
Cyclohexane		−87.06
Cyclohexane		6.54
<i>n</i> -Heptane		−90.56
<i>n</i> -Octane		−56.76
<i>n</i> -Decane		−29.66
<i>n</i> -Dodecane		−9.65
<i>n</i> -Octadecane	Melt	28.24

Polimero: PET cristallino



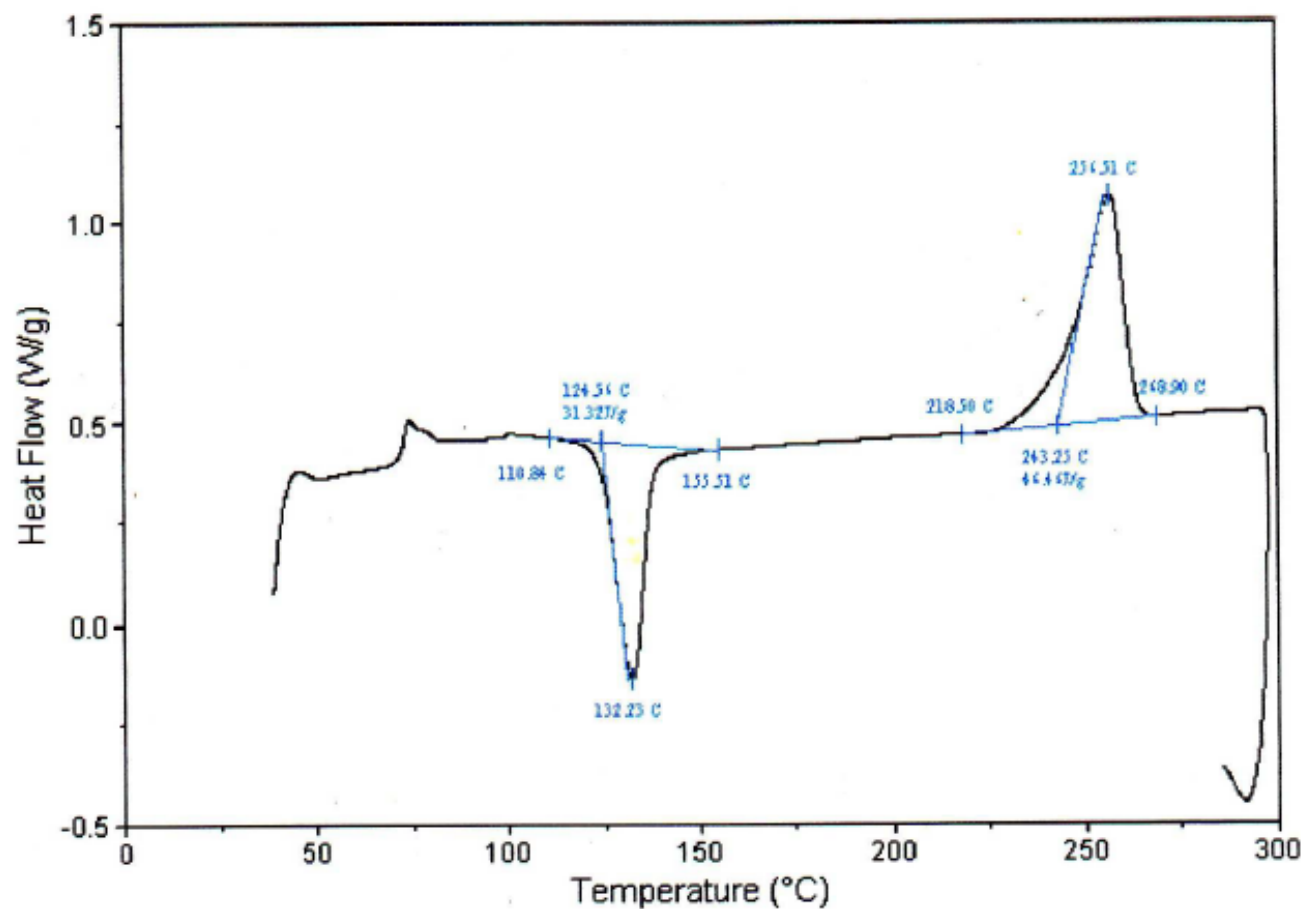
$$T_C \ll T_f$$

picchi molto larghi

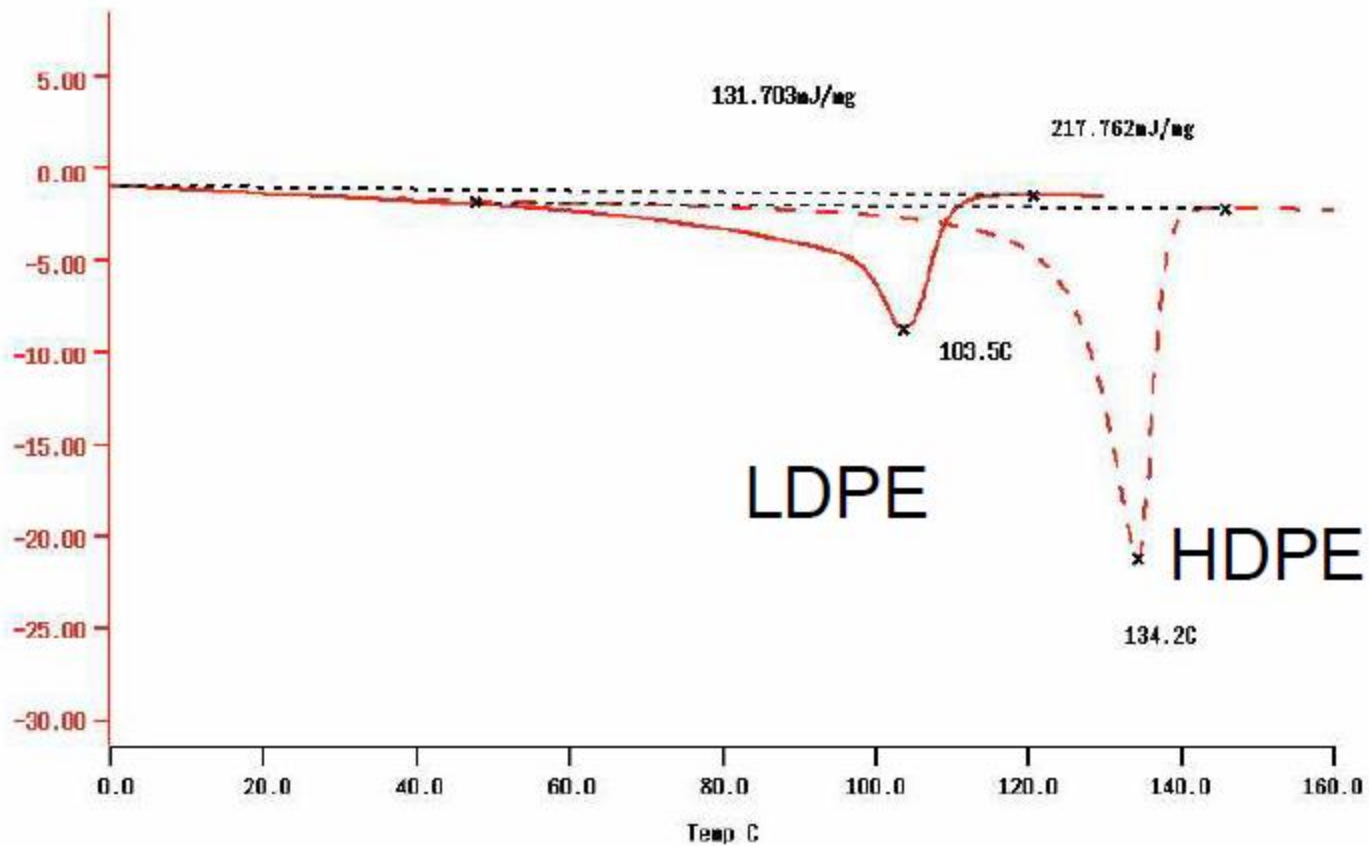
- I) riscaldamento
- II) raffreddamento

DSC:PET amorfo cristallizzabile

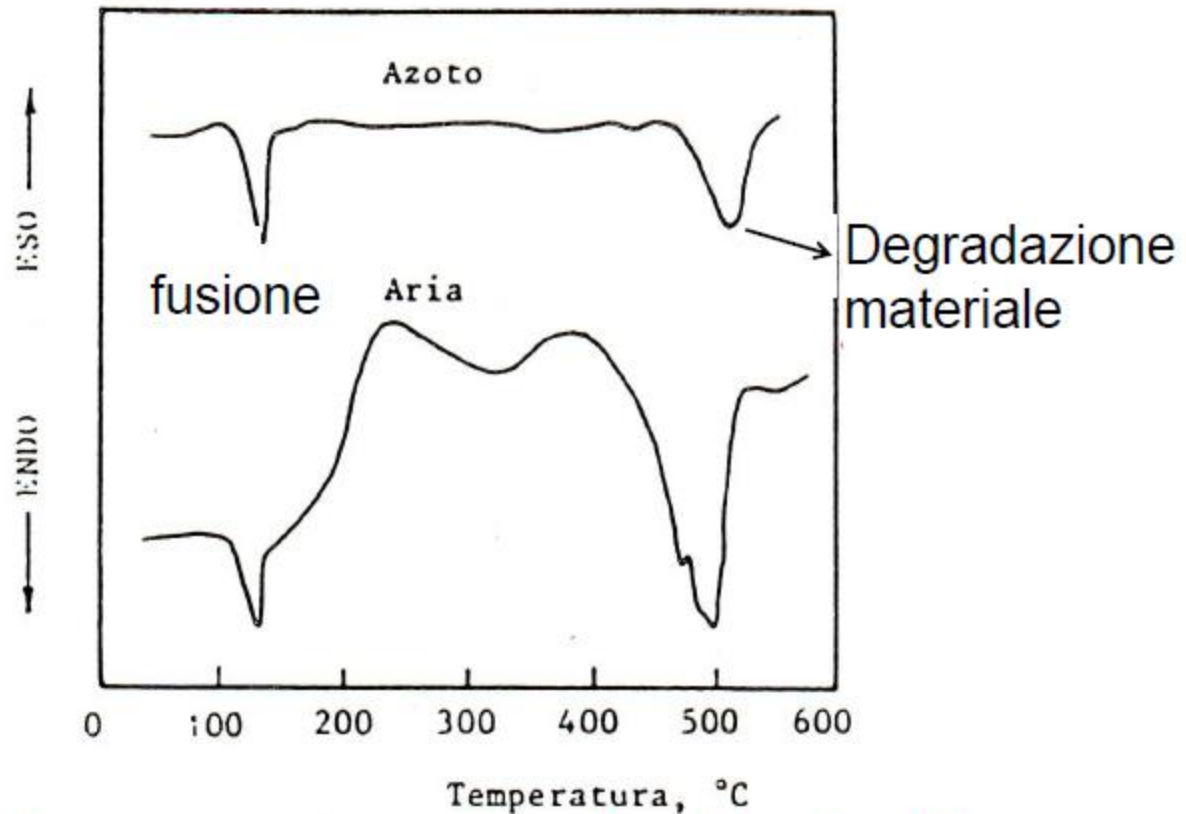
DSC (PET amorfo)



Polymer identification

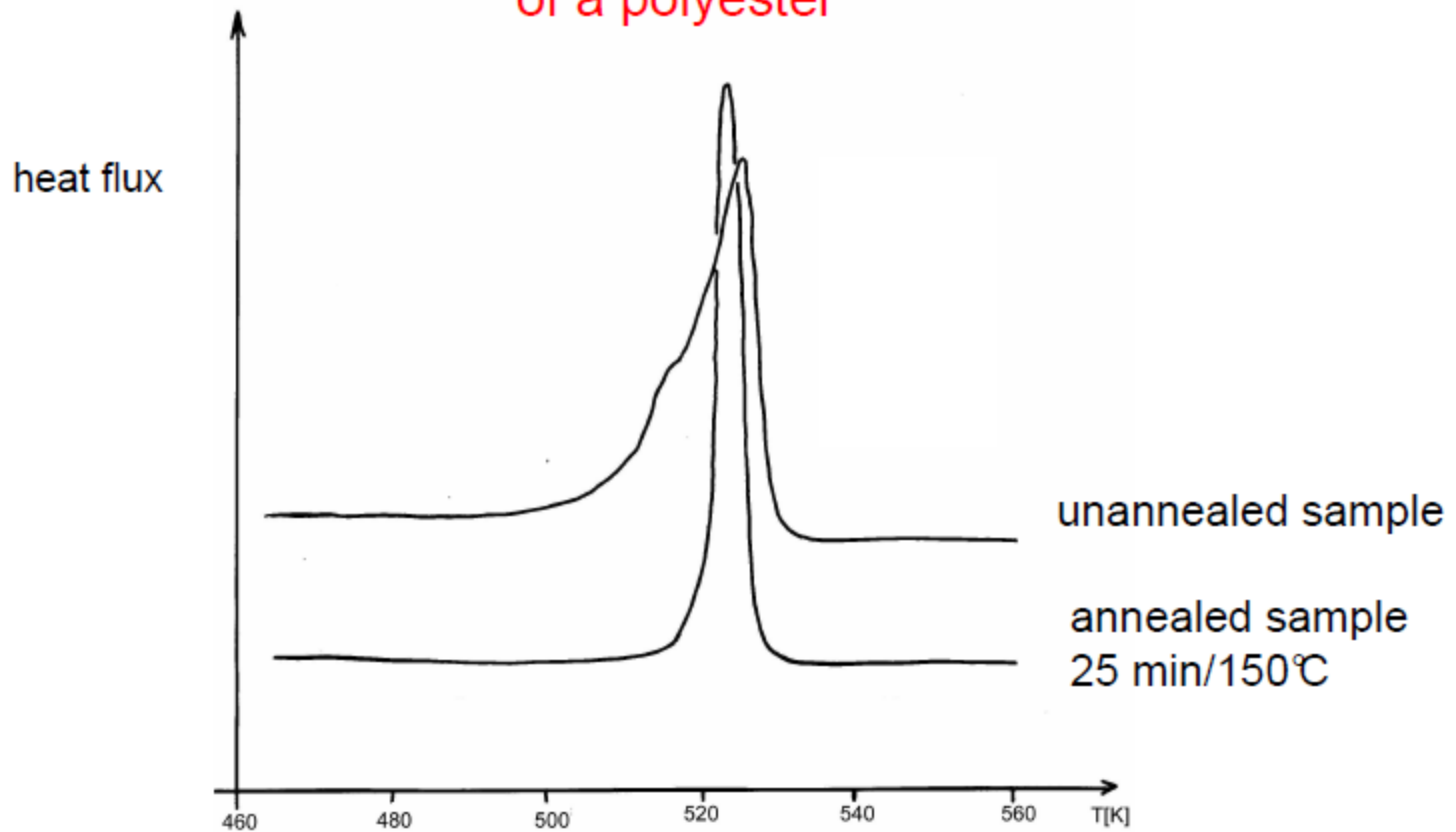


DSC: Studio delle reazioni di ossidazione del PE



In aria forte processo esotermico dovuto alla reazione di ossidazione

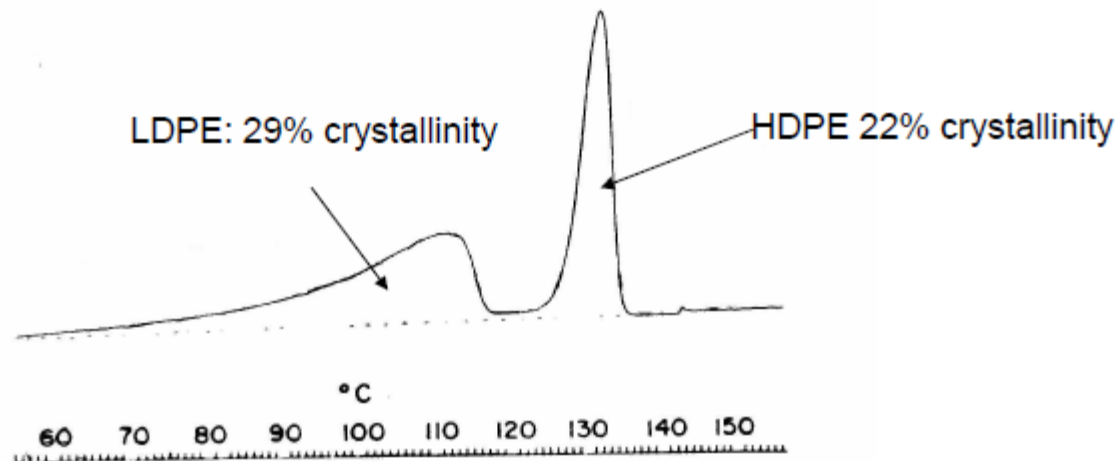
The effect of annealing on the melting transition of a polyester



Physical mixture (blend) of a HDPE and a LDPE

Composition: 75% (w/w) LDPE
25% (w/w) HDPE

} Total crystallinity: 51%



Calorimetria

Il **grado di cristallinità entalpico** può essere ricavato da misure calorimetriche in base all'ipotesi dell'additività dell'entalpia delle fasi amorfa e cristallina:

$$x = (H_a - H)/(H_a - H_c)$$

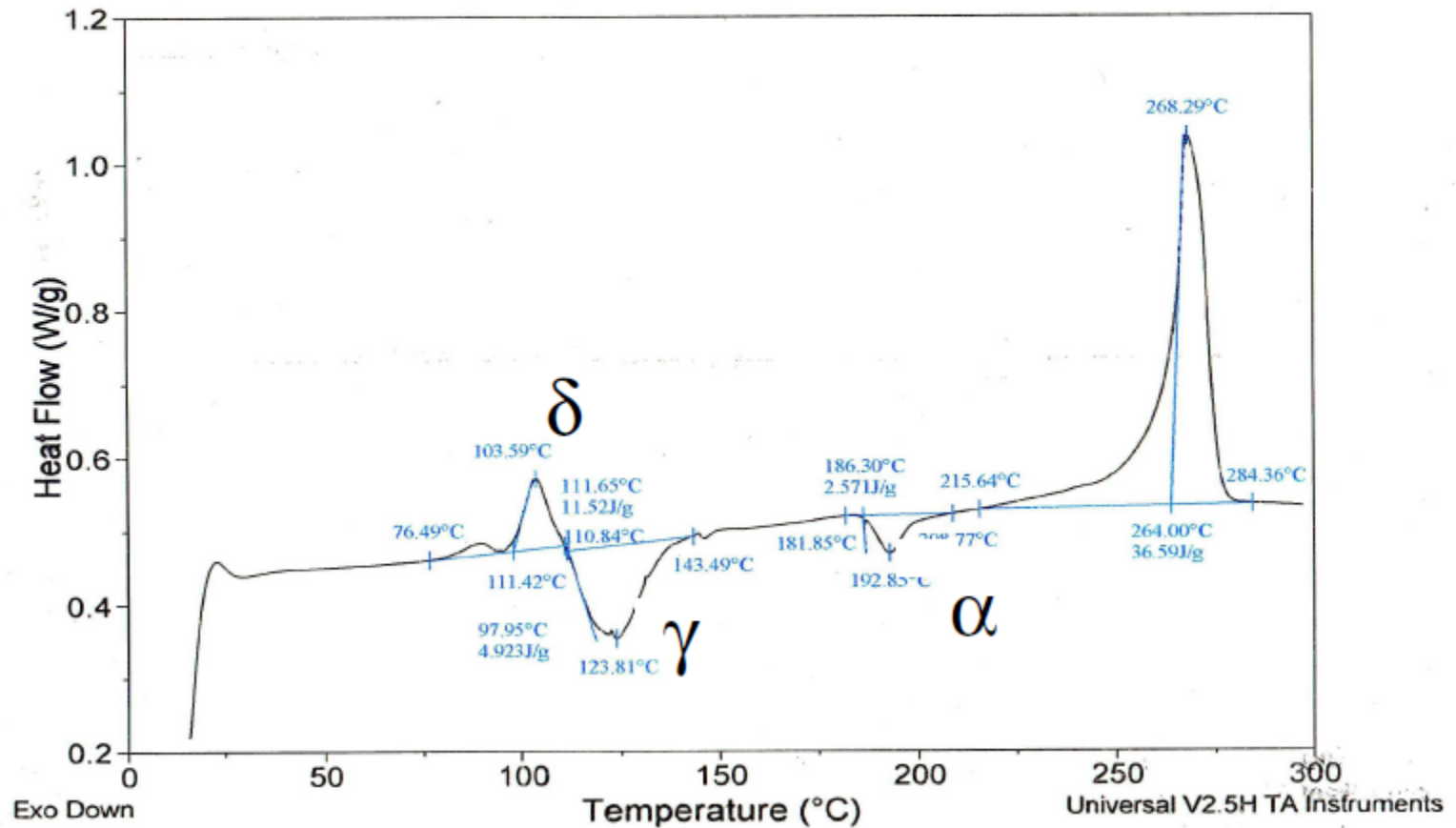
essendo H , H_a e H_c le entalpie specifiche del campione, del polimero completamente amorfo e del cristallo perfetto, cioè **di un cristallo senza difetti cristallografici, costituito da catene non ripiegate e con massa molecolare infinita.**

Polimorfismo sPS

Sample: delta vuota
Size: 5.5700 mg
Method: to3001r2m

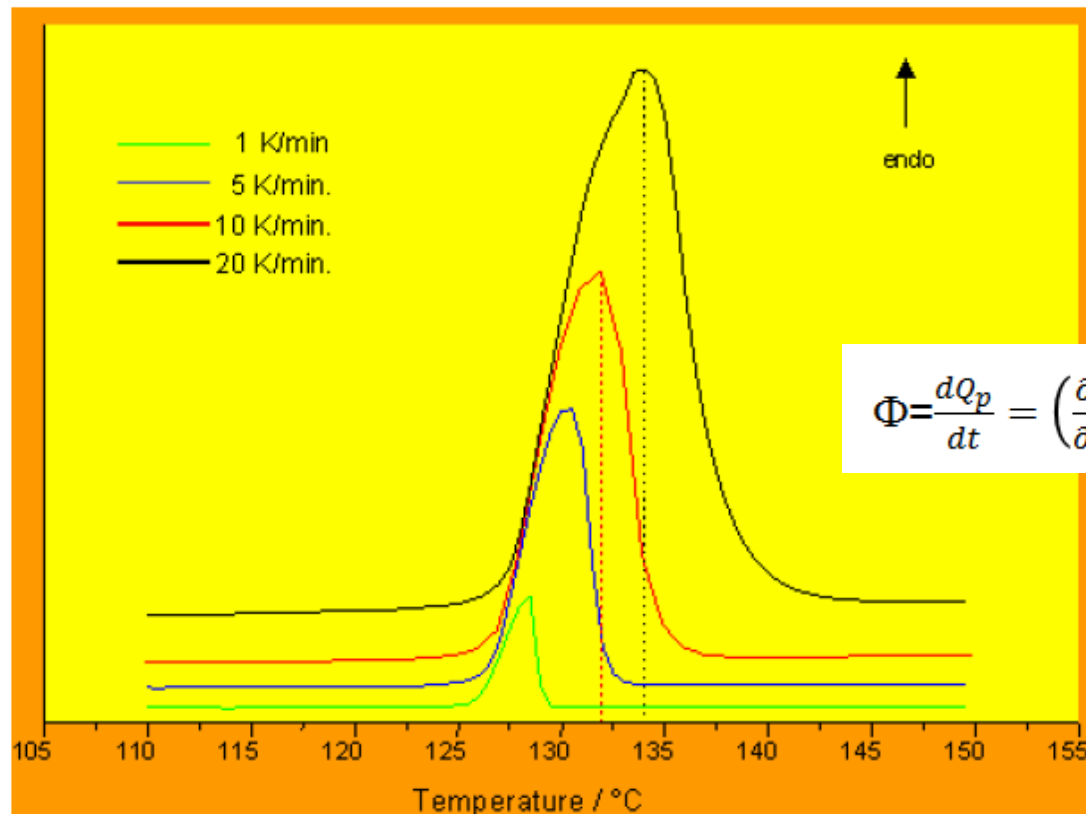
DSC

File: E:\alexandra\dlvuota.dat
Operator: alexandra
Run Date: 24-Mar-04 10:58



Parametri che possono influenzare la misura

- Velocità di riscaldamento
- Effetto massa



$$\Phi = \frac{dQ_p}{dt} = \left(\frac{\partial H}{\partial T} \right)_{P,n} \frac{dT}{dt} = C_p \beta$$

Parametri che possono influenzare la misura

SENSIBILITA'

Per evidenziare transizioni di piccola entità occorre aumentare la sensibilità dello strumento, ossia il rapporto segnale rumore



aumentare la massa del campione



aumentare la velocità di scansione

RISOLUZIONE

Per avere una migliore risoluzione nella separazione di transizioni con temperature molto simili



piccole quantità di materiale



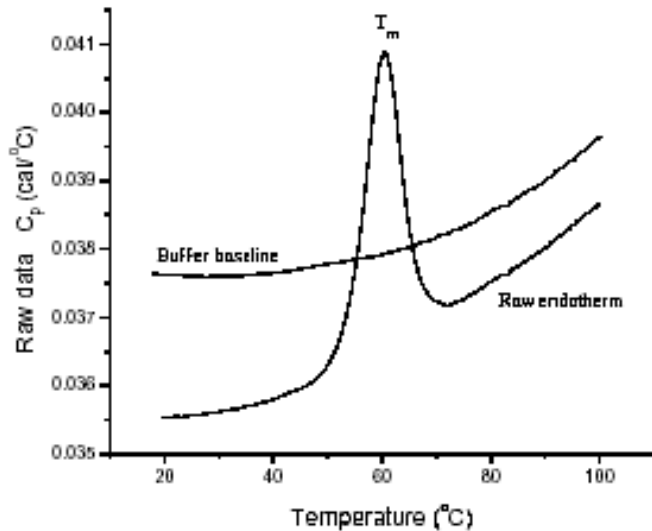
basse velocità di scansione

N.B. l'aumento di sensibilità strumentale va a discapito della risoluzione e viceversa

Applicazioni della DSC allo studio di macromolecole

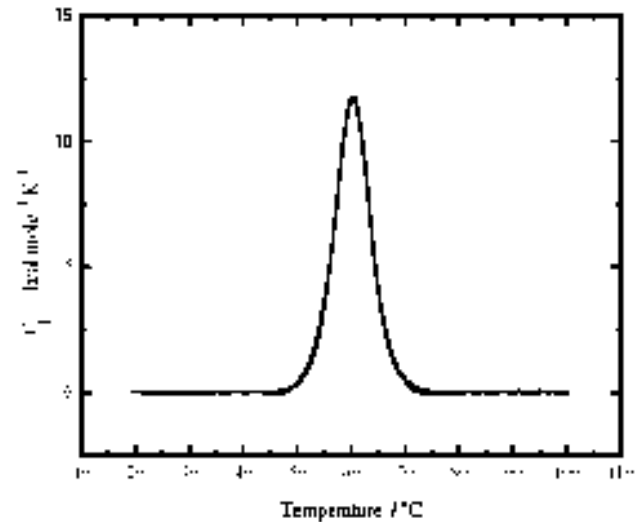
- Analisi dei parametri termodinamici del processo (ΔH_{cal} , ΔH_{vH} , ΔG , ΔS , T_m)
- Effetto delle condizioni sperimentali (pH, forza ionica, presenza di ligandi/cofattori)
- Cinetica e reversibilità di processi temperatura-dipendenti
- Interazioni tra macromolecole

Come dovrebbero essere gli esperimenti ed i dati!



Esempio:
Denaturazione di una proteina
globulare che mostra l'acquisto di
energia termica (endoterma C_p).

Dopo normalizzazione per la
concentrazione del campione e
correzione della linea di base si
ottiene un termogramma che
potrebbe essere analizzato con
vari modelli



Parametri sperimentali che si ottengono dalle curve DSC

- T_m indice della stabilità termica
- ΔC_p indice della compattezza della struttura
- ΔH_{cal} contributo delle interazioni
 caratteristica strutturale
 che dipende soprattutto dal contributo dei
 legami ed in minor misura dalle altre
 interazioni deboli).

Equazione di van 't Hoff

Dalle relazione

$$\frac{\partial(\Delta G/T)}{\partial T} = -\frac{\Delta H}{T^2}$$

In condizioni standard

$$\frac{\partial(\Delta G^\phi/T)}{\partial T} = -\frac{\Delta H^\phi}{T^2}$$

$$\Delta G^\phi = -RT \ln K^\phi$$

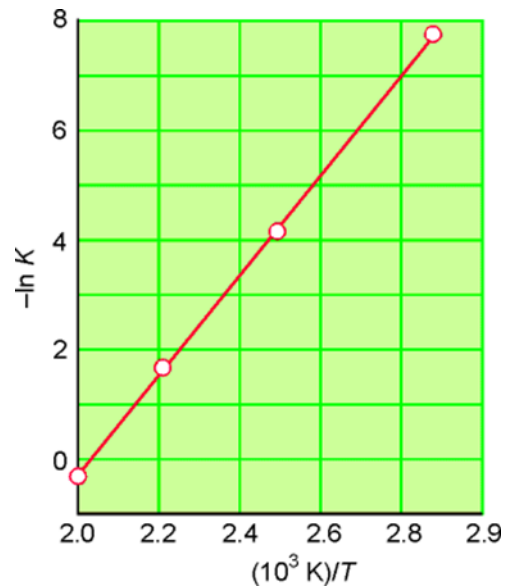
$$\frac{\partial \ln K^\phi}{\partial T} = \frac{\Delta H^\phi}{RT^2} \quad \text{Eq. di Gibbs-Helmholtz}$$

Partendo dall'equazione di Gibbs-Helmholtz è possibile derivare **l'equazione di Van't Hoff**

$$\frac{\partial \ln K}{\partial (1/T)} = -\frac{\Delta_r H}{R}$$

- L'equazione di Van't Hoff permette di calcolare la costante di equilibrio a diverse temperature
- Assumendo che l'Entalpia di reazione non vari con la temperatura, possiamo ricavare

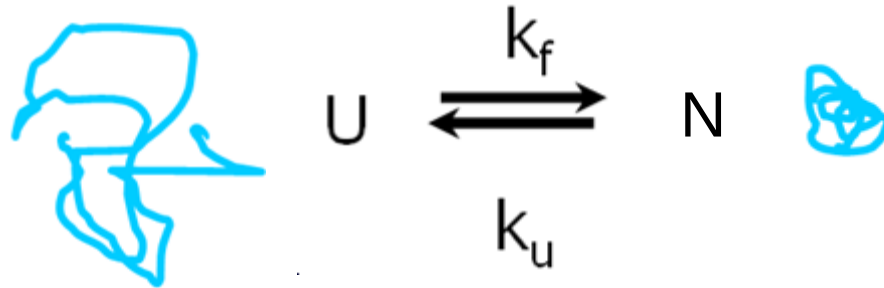
$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \frac{\Delta_r H}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$



Analisi termodinamica di curve DSC

- Deconvoluzione in transizioni a due stati
($\Delta H_{cal} = \Delta H_{vH}$)
 - possibilità di attribuire ciascuna transizione a due stati alla denaturazione di un dominio della proteina
 - possibilità di valutare l'influenza di diversi fattori (es. pH, presenza di cofattori, effetto di sostituzioni aminoacidiche) sulla stabilità della proteina (o di un singolo dominio)

La denaturazione di una proteina: Il modello a due stadi



$$K = \frac{[U]}{[N]} = \frac{\alpha}{1 - \alpha}$$

$$\alpha = \frac{[U]}{[U] + [N]} = \frac{K}{1 + K}$$

$$K = e^{-\Delta G^0/RT}$$

$$\alpha = \frac{1}{1 + e^{-\Delta G^0/RT}}$$

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$$

La temperatura alla quale il 50% della proteina è nello stato nativo (folded) oppure il DNA è ibridizzato al 50% è definita come temperatura di fusione T_m

$$\text{A } T=T_m, \quad \Delta G^0 = 0 \quad T_m = \Delta H^0 / \Delta S^0$$

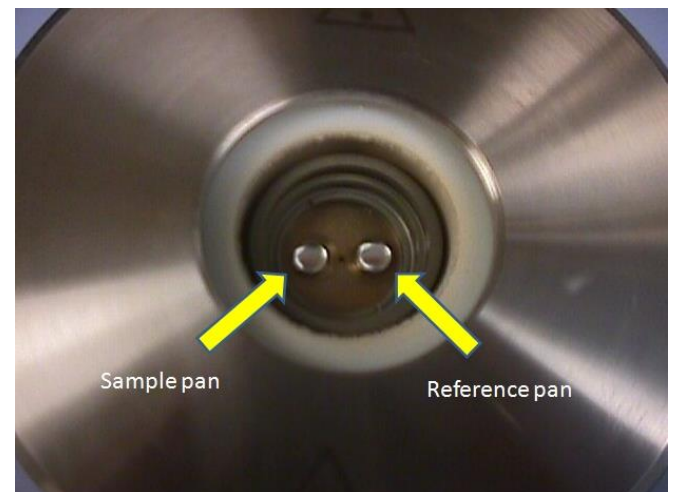
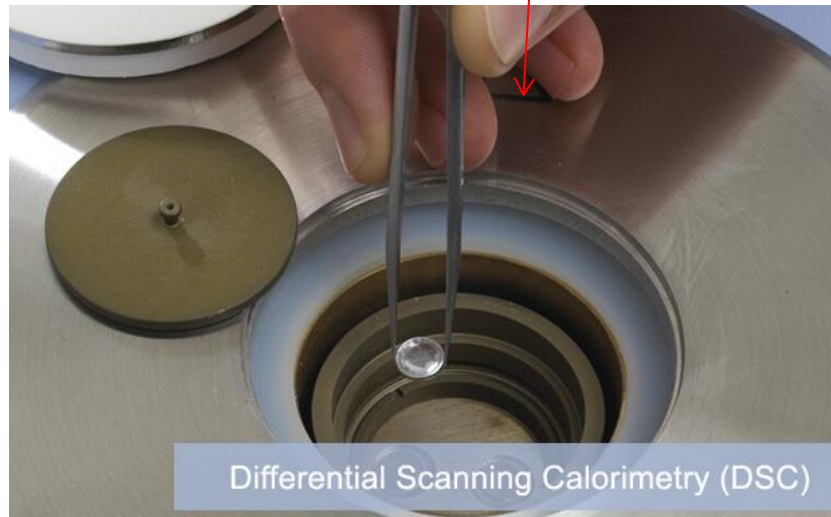
Preparazione del campione (solido, gel)



Quantità: pochi **mg** o **100-200 μL**



DSC 7
PerkinElmer



Micro DSC III Analyzer (Setaram)



- High sensitivity DSC and calorimetry
- Temperature range: -20 to 120 °C
- Scanning rate: 0.001 to 1.2 °C/min
- Vessel volume: 850 μ l
- Resolution: 0.3 μ W
- Cooling rate from 120°C to room temperature: 1.5 h
- Scanning or isothermal mode



Closed « Batch » Cell



Quantità: **1 mL**
campione liquido o gel

