

УДК 544.33: 544.35:547-32-304.2

**ТЕРМОДИНАМИКА РАСТВОРЕНИЯ ГЛИЦИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ
МОЧЕВИНЫ. ПРАВИЛО \sqrt{m}** © 2007 В.П. Королев^{1,2*}, Д.В. Батов^{1,2}, Н.Л. Смирнова^{1,2}, А.В. Кустов^{1,2}¹Институт химии растворов РАН, Иваново²Ивановский государственный химико-технологический университет

Статья поступила 11 июля 2006 г.

Калориметрическим методом определены значения теплоты растворения глицина в водном растворе мочевины при 298 К (моляльность 0—13) и 313 К (моляльность 0—22). Теплота растворения аминокислоты описывается линейной зависимостью от квадратного корня из моляльности мочевины. Рассчитаны величины энтальпии, энтропии и энергии Гиббса переноса глицина из воды в водный раствор мочевины, а также значения теплоемкости, изменения энтропии и энергии Гиббса растворения глицина в интервале температур 273—323 К. Обнаружено, что добавки мочевины к воде приводят к смене знака теплоемкости растворения.

Ключевые слова: энтальпия, теплоемкость, энтропия и энергия Гиббса растворения, глицин, смешанные растворители, вода, мочевина.

Интерес к исследованию термодинамики растворения и сольватации аминокислот в водных растворах органических веществ, денатурирующих или стабилизирующих нативную структуру белков, обусловлен стремлением лучше понять биохимические системы. В том числе такие работы проводятся на протяжении более чем 40 лет различными методами с водными растворами мочевины, являющейся типичным денатурирующим агентом [1—4]. Теплота растворения глицина в водном растворе мочевины ранее измерялась только при стандартной температуре [2, 4]. В нашей лаборатории исследована температурная зависимость энтальпии растворения ряда аминокислот в воде [5, 6]. Настоящая работа продолжает исследование влияния температуры на сольватацию аминокислот в смешанных растворителях и выяснение температурных изменений при варьировании состава раствора. В ней сообщаются и обсуждаются результаты калориметрических измерений теплоты растворения глицина в водных растворах мочевины в интервале моляльности 0—13 моль/кг при 298,15 К и 0—22 моль/кг при 313,15 К.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для экспериментов использовали воду — бидистиллят (удельная проводимость 10^{-5} См·см⁻¹), глицин квалификации "ч" ("Reanal", Венгрия), дважды перекристаллизованный из смеси этанол—вода [7] и высушенный в вакууме ($P < 10$ Па) при $T = 318$ К, мочевины квалификации "puriss. p.a., Reag. ACS" ("Riedel de Haën") с содержанием основного вещества более 99,5 % без дополнительной очистки. Содержание воды в мочеvine, определенное по методу Фишера [8], составило 0,15 мас.% и учитывалось при приготовлении растворов.

Интегральную теплоту растворения измеряли в калориметре ампульного типа переменной температуры с изотермической оболочкой и объемом реакционного сосуда 60 см³ [6, 9]. Для измерения тепловых эффектов растворения использовали сравнительный метод, при котором

* E-mail: korolev@isuct.ru

Т а б л и ц а 1

Теплота растворения глицина в воде и водных растворах мочевины

m_2	$g_3 \cdot 10^5, \text{ г}$	$m_3 \cdot 10^4$	$q, \text{ Дж}$	$\Delta_r H^m, \text{ кДж/моль}$	m_2	$g_3 \cdot 10^5, \text{ г}$	$m_3 \cdot 10^4$	$q, \text{ Дж}$	$\Delta_r H^m, \text{ кДж/моль}$
298,15 К					313,15 К				
0,00	12873	285	24,3	14,17	0,00	21113	468	37,8	13,44
	16646	369	31,2	14,07		17066	379	30,6	13,46
	11508	256	21,8	14,22		18463	409	33,4	13,58
	12000	267	22,7	14,20		19045	422	34,2	13,48
	15035	333	28,4	14,18		17889	398	32,1	13,47
0,85	17016	378	30,7	13,53	1,16	18317	407	30,9	12,67
1,46	18206	404	31,6	13,01	2,34	14502	322	23,1	11,98
2,95	16957	376	27,1	12,01	3,64	16148	358	24,5	11,37
4,25	15943	354	24,5	11,55	4,77	11612	258	17,1	11,07
5,48	19467	432	29,2	11,26	6,17	17700	393	25,6	10,85
6,21	17200	382	25,5	11,11	7,67	19767	439	28,4	10,79
8,11	15616	347	22,1	10,60	9,86	17841	383	24,6	10,36
9,86	16138	358	21,6	10,03	13,79	16632	352	22,3	10,05
12,01	16214	360	21,4	9,90	17,75	14569	306	18,7	9,65
13,33	16553	367	21,5	9,74	22,00	18337	393	23,1	9,47

Примечание. Здесь m_2 и m_3 — моляльность мочевины в водном растворе и аминокислоты в бинарной системе вода—мочевина, моль/кг; q — тепловой эффект растворения навески g_3 аминокислоты. Средние значения $\Delta_r H^m$ глицина в воде при 298,15 и 313,15 К составили $14,17 \pm 0,05$ и $13,49 \pm 0,05$ кДж/моль соответственно. По литературным данным $\Delta_r H^0$ глицина в воде при 298,15 К составила (кДж/моль): 14,08 [2], 14,20 [4], 14,25 [11], 14,16 [12].

после каждого опыта проводили калибровку системы электрическим током. Тестирование калориметра проводили в соответствии с рекомендациями [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по тепловым эффектам растворения глицина приведены в табл. 1. Считали, что как в воде, так и в водном растворе мочевины теплота растворения глицина не зависит от концентрации аминокислоты. На рис. 1 и из табл. 1 видно, что полученные нами при 298,15 К результаты хорошо согласуются с литературными данными [2, 4, 11, 12]. Данные также показывают, что в изученном интервале концентраций и температур растворение глицина в водном растворе мочевины, как и в чистой воде, является эндотермическим процессом. Затраты энергии на разрушение кристаллической структуры аминокислоты и перестройку межмолекулярных связей растворителя превышают количество энергии, выделяющейся при образовании связей растворитель—растворенное вещество. Эндотермический эффект процесса растворения уменьшается с ростом концентрации мочевины. Это может быть обусловлено как уменьшением энергетических затрат, связанных с образованием полости, так и усилением специфического взаимодействия аминокислота—растворитель. Указанным изменениям могут способствовать, с одной стороны, лабильная структура водного раствора мочевины [13, 14], с другой — усиление электронодонорной способности смешанного раствора теля за счет неподеленных электронных пар атома азота мочевины [15, 16]. Постоянное снижение $\Delta_r H^0$ с ростом концентрации мочевины в исследованном интервале может свидетельствовать об отсутствии образования устойчивых комплексов определенного состава глицина с мочевиной.

Для извлечения информации из концентрационной зависимости термодинамических характеристик тройных систем растворитель (1)—компонент (2)—растворенное вещество (ком-

Т а б л и ц а 2

Параметры уравнения (1) для систем вода (1)—компонент (2)—растворенное вещество (компонент (3))

Компонент (2)	Компонент (3)	<i>n</i>	$\Delta_p H^0 (m_2 = 0)$, кДж/моль	b_1	b_2	s_f , кДж/моль	r
$T = 298,15 \text{ K}$							
CO(NH ₂) ₂	Gly	10	14,17	-0,697±0,030	0,0281±0,0028	0,20	0,990
CO(NH ₂) ₂	NaCl	5	3,89 [17]	-0,855±0,035	0,0390±0,0037	0,13	0,998
NaCl	Gly	5	14,20 [4]	-0,793±0,022	—	0,08	0,993
<i>n</i> -PrOH	Gly	5	14,25 [11]	1,800±0,083	-0,1411±0,0186	0,17	0,997
$T = 313,15 \text{ K}$							
CO(NH ₂) ₂	Gly	10	13,49	-0,484±0,038	0,0144±0,0021	0,41	0,925

Примечание. *n* — число точек; s_f — стандартное отклонение подгонки; r — коэффициент корреляции. Указаны стандартные отклонения коэффициентов.

понент (3)) для состояния бесконечно разбавленного раствора используют разложение по степеням m_2 . Для энтальпии такое разложение имеет вид

$$\Delta_p H^0 = \Delta_p H^0(m_2 = 0) + b_1 \cdot m_2 + b_2 \cdot m_2^2 + \dots \quad (1)$$

Здесь $\Delta_p H^0(m_2 = 0)$ — стандартная теплота растворения вещества; m_2 — моляльность компонента (2); b_1 и b_2 — подгоночные параметры.

В рамках теории МакМиллана—Майера коэффициенты b_1 и b_2 выражения (1) связаны с энтальпийными коэффициентами парных и тройных межчастичных взаимодействий. В интервале от 0 до нескольких единиц m обычно используется полином первой степени, при более высоких концентрациях — полином второй степени.

Анализ полученных в настоящей работе концентрационных зависимостей теплоты растворения глицина (Gly) показал, что выполняется соотношение

$$\Delta_p H^0 = \Delta_p H^0(m_2 = 0) + c_1 \sqrt{m_2}, \quad (2)$$

где c_1 — подгоночный параметр.

Результаты аппроксимации зависимости теплоты растворения Gly от концентрации уравнениями (1) и (2) представлены в табл. 2 и 3. Однопараметровое уравнение (2) воспроизводит экспериментальные данные даже лучше, чем двухпараметровое (1)*. Расчеты показали, что усложнение уравнения (2) добавлением линейного члена от концентрации ($\Delta_p H^0 = \Delta_p H^0(m_2 = 0) + c_1 \cdot \sqrt{m_2} + c_2 \cdot m_2$) не улучшает описание. Исходя из сказанного выше, для дальнейшего анализа использовали уравнение (2).

Интересно было понять, в каких системах выполняется обнаруженная закономерность (2). Учитывая, что зависимость термодинамических характеристик от \sqrt{m} следует из первого приближения теории Дебая—Хюккеля для разбавленных растворов электролитов, а также имея в виду эмпирическое правило Мессона—Россини для растворов средних концентраций, целесообразно сравнить системы вода—мочевина—аминокислота (цвиттер-ион), вода—мочевина—электролит, вода—электролит—аминокислота и вода—неэлектролит—аминокислота.

Приведенные на рис. 2 графики, построенные по данным [11, 17, 18], и величины в табл. 2 и 3 показывают, что в широком интервале концентраций уравнение (2) дает неплохие результаты. Угловой коэффициент c_1 характеризует отличия в энергетике межмолекулярных взаимодействий гидратированных и сольватированных смешанным растворителем молекул Gly. Его отри-

* Данные [2] описываются уравнением $\Delta_p H^0 = 14,08 - (1,203 \pm 0,046) \sqrt{m_2}$, $s_f = 0,24$ кДж/моль, $r = 0,99$, коэффициент которого согласуется со значением, приведенным в табл. 3.

Параметры уравнения (2) для систем вода (1)—компонент (2)—растворенное вещество (компонент (3))

Компонент (2)	Компонент (3)	n	c_1	s_f , кДж/моль	r
$T = 298,15 \text{ K}$					
CO(NH ₂) ₂	Gly	9	-1,242±0,018	0,15	0,995
CO(NH ₂) ₂	NaCl	5	-1,423±0,037	0,18	0,995
NaCl	Gly	5	-1,065±0,068	0,19	0,965
<i>n</i> -PrOH	Gly	5	2,345±0,066	0,26	0,992
$T = 313,15 \text{ K}$					
CO(NH ₂) ₂	Gly	9	-0,973±0,024	0,20	0,986

Примечание. Величины $\Delta_p H^0(m_2 = 0)$ даны в табл. 1. Для системы вода—мочевина—Gly исключены точки при $m_2 = 0,85$ (298 K) и $m_2 = 22,0$ (313 K), для которых отклонения превысили 3 s_f .

цательные значения для водно-карбамидного растворителя объясняются указанными выше причинами. Некоторое уменьшение величины c_1 по абсолютному значению с ростом температуры свидетельствует о меньших структурных изменениях растворителя при добавках мочевины к воде, а также более постепенном изменении состава сольватной сферы растворенного вещества при высоких температурах. На примере водно-пропанольного растворителя видно, что в случае добавок к воде гидрофобных веществ c_1 имеет положительную величину (см. табл. 3).

В работе [18] показано, что для хлоридов и иодидов натрия, калия и цезия, а также нитратов натрия и калия не обнаружено влияния природы катиона на энтальпийные коэффициенты парного взаимодействия соль—глицин. В случае анионов, взаимодействующих с аммонийной группой глицина, размер гидратированного аниона дифференцирует силу электростатических взаимодействий, существующих между молекулой аминокислоты и анионом в водном растворе [18]. Карбоксильная группа, которая имеет отрицательный заряд, взаимодействует с катионами настолько сильно, что гидратация катиона не вносит каких-либо затруднений во взаимодействие катиона с карбоксильной группой [18]. Таким образом, глицин "не различает" катионы щелочных металлов (исключение составляет Li⁺, представляющий малый ион с высокой плотностью заряда [19]). Из приведенных на рис. 2 данных видно, что глицин "не различает" электролит (NaCl) и неэлектролит (мочевину). Из сказанного следует, что глицин преимущественно взаимодействует с мочевиной через свою карбоксильную группу.

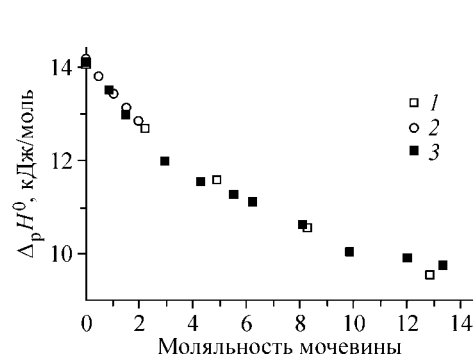


Рис. 1. Стандартная энтальпия растворения глицина при 298,15 K в водном растворе мочевины:

1 — данные [2], 2 — [4], 3 — наши данные

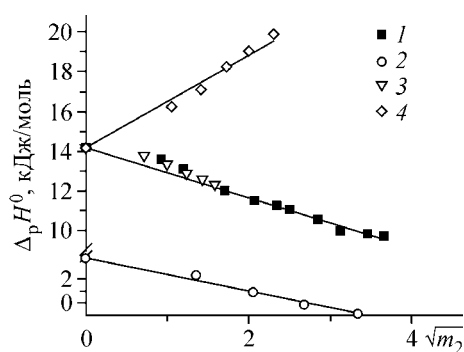


Рис. 2. Стандартная энтальпия растворения NaCl в водном растворе мочевины (2), глицина в водном растворе мочевины (1), хлористого натрия (3) и *n*-пропанола (4) при 298,15 K.

Символы — эксперимент, линии — расчет по формуле (2).
1 — наши данные, 2 — данные [17], 3 — [18], 4 — [11]

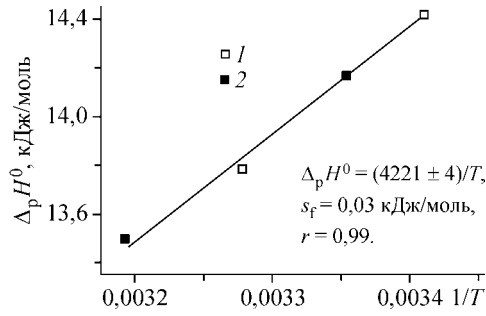


Рис. 3. Зависимость стандартной энтальпии растворения глицина в воде от обратной температуры.

1 — данные [12], 2 — наши данные

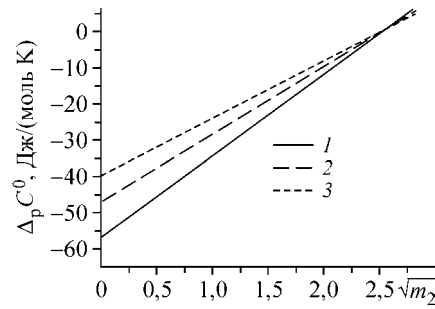


Рис. 4. Стандартная теплоемкость растворения глицина в водном растворе мочевины при 273,15 К (1), 298,15 К (2) и 323,15 К (3)

Температурная зависимость стандартной теплоты растворения глицина в воде (данные настоящего исследования и работы [12]) очень хорошо передается однопараметровым (!) уравнением (рис. 3):

$$\Delta_p H^0 = (4221 \pm 4)/T, \quad s_f = 0,03 \text{ кДж/моль}, \quad r = 0,997. \quad (3)$$

Это первое слагаемое уравнения (2). Второе слагаемое равно стандартной теплоте переноса ($\Delta_n H^0$) глицина из воды в водный раствор мочевины. Мы принимаем, что теплота переноса также пропорциональна обратной температуре. Тогда для c_1 (ур.(2)) будет выполняться соотношение

$$c_1 = 4,374 - 1674/T. \quad (4)$$

Теперь можно записать уравнение для теплоты растворения глицина в водном растворе мочевины

$$\Delta_p H^0 = 4221/T + (4,374 - 1674/T)\sqrt{m_2} \quad (5)$$

и уравнение для теплоты переноса

$$\Delta_n H^0 = (4,374 - 1674/T)\sqrt{m_2}. \quad (6)$$

Используя известное термодинамическое соотношение

$$\partial(\Delta G^0/T)/\partial T = -\Delta H^0/T^2, \quad (7)$$

получаем соответствующие уравнения для энергии Гиббса

$$\begin{aligned} \Delta(\Delta_p G^0/T) &= \Delta_p G_2^0/T_2 - \Delta_p G_1^0/T_1 = \\ &= 2110(1/T_2 - 1/T_1) + [4,374(1/T_2 - 1/T_1) - 837(1/T_2^2 - 1/T_1^2)]\sqrt{m_2}, \end{aligned} \quad (8)$$

$$\Delta_n G_2^0 = \Delta_n G_1^0 T_2/T_1 + (1 - T_2/T_1)[4,374 - 837(1/T_2 + 1/T_1)]\sqrt{m_2}. \quad (9)$$

С учетом соотношения $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$ получаем соответствующие энтропийные характеристики.

На рис. 4 показана рассчитанная по уравнению (5) зависимость теплоемкости растворения ($\Delta_p C^0 = \partial \Delta_p H^0 / \partial T = -4221/T^2 + 1674\sqrt{m_2}/T^2$) от концентрации мочевины. Приведенные результаты указывают на инверсию знака теплоемкости растворения глицина в водных растворах мочевины при $m_2 \approx 7$. С увеличением концентрации мочевины в растворе гидрофильная гидратация глицина ослабляется.

На рис. 5 показаны температурные изменения термодинамических характеристик растворения глицина (изомоляльные серии). Видно, что величины $\Delta(\Delta_p G^0/T)$ в воде и водных растворах мочевины имеют отрицательные значения. В отсутствие мочевины ($m_2 = 0$, см. рис. 5, а) имеем $\Delta(\Delta_p H^0/T) < \Delta \Delta_p S^0 \approx \Delta(\Delta_p G^0/T)$, следовательно, $\Delta(\Delta_p H^0/T) = 2\Delta \Delta_p S^0 = 2\Delta(\Delta_p G^0/T)$. При $m_2 = 4$ (см. рис. 5, б) имеем $\Delta(\Delta_p H^0/T) < \Delta(\Delta_p G^0/T) < \Delta \Delta_p S^0$, а при $m_2 = 8$ (см. рис. 5, в) — $\Delta(\Delta_p G^0/T) < \Delta(\Delta_p H^0/T) < \Delta \Delta_p S^0$. При $m_2 = 0$ и $m_2 = 4$ наиболее сильно изменяется с температурой приведенная энтальпия растворения глицина [$\Delta(\Delta_p H^0/T)$]. В концентрированном ($m_2 = 8$)

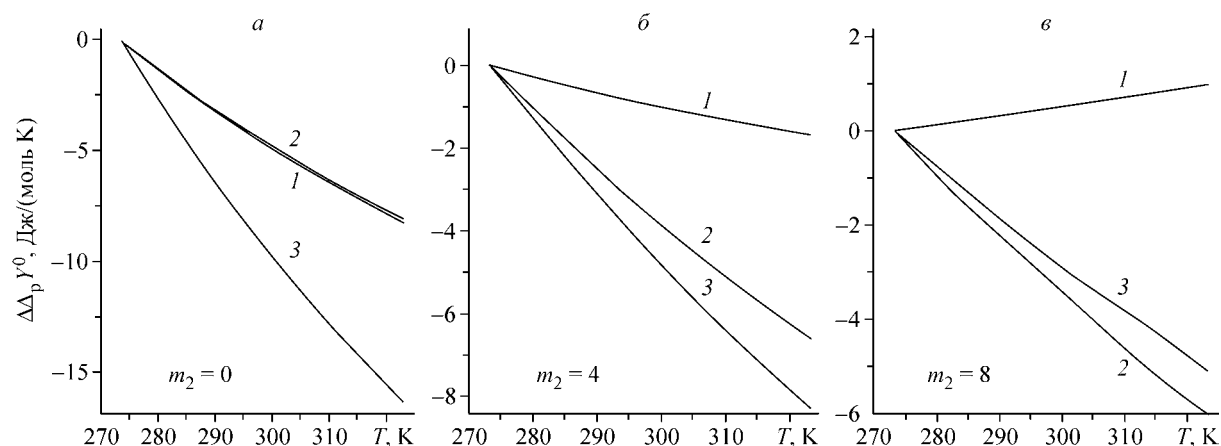


Рис. 5. Значения $\Delta\Delta_p S^0$ (1), $\Delta(\Delta_p G_T^0/T)$ (2), $\Delta(\Delta_p H^0/T)$ (3) для глицина в водном растворе мочевины при $m_2 = 0$ (а); $m_2 = 4$ (б) и $m_2 = 8$ (в)

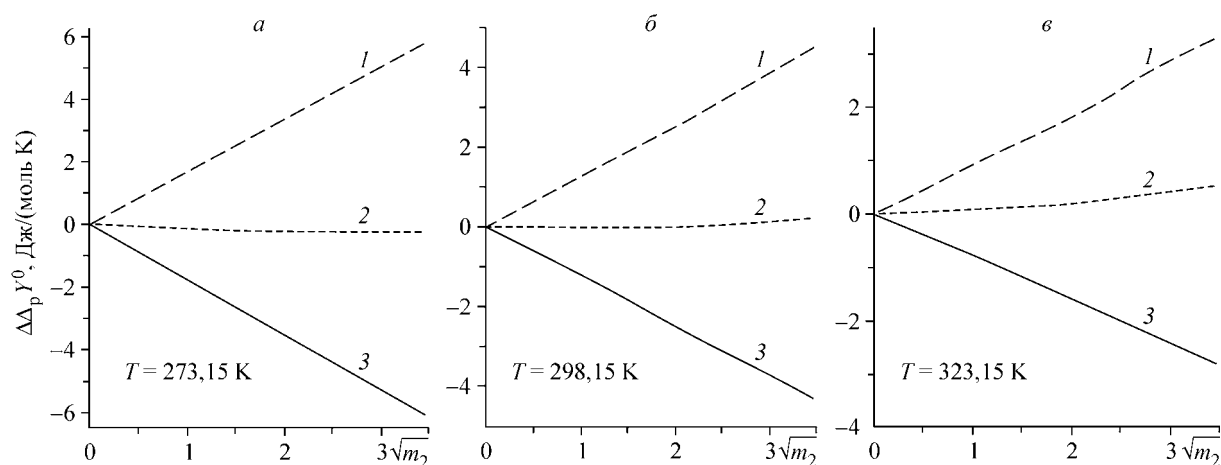


Рис. 6. Значения $(-T\Delta_n S^0)$ (1), $\Delta_n G^0$ (2) и $\Delta_n H^0$ (3) для глицина в водном растворе мочевины при 273,15 К (а), 298,15 К (б) и 323,15 К (в)

растворе мочевины наиболее сильно изменяется с температурой уже приведенная энергия Гиббса $[\Delta(\Delta_p G^0/T)]$. При $m_2 = 0$ и $m_2 = 4$ система вода—мочевина—глицин становится с ростом температуры более структурированной ($\Delta\Delta_p S^0 < 0$). При $m_2 = 8$ с ростом температуры система становится менее структурированной ($\Delta\Delta_p S^0 > 0$).

На рис. 6 показаны графики концентрационной зависимости термодинамических характеристик переноса при различных температурах. При расчете $\Delta_n G^0(T)$ по уравнению (9) использовали данные [1] для $\Delta_n G^0$ при 298 К. Видно, что независимо от температуры наблюдается практически полная энтальпийно-энтропийная компенсация. С ростом температуры как энтальпийный, так и энтропийный вклады в $\Delta_n G^0$ уменьшаются по абсолютной величине. Так как уменьшение $T\Delta_n S^0$ происходит с большей интенсивностью по сравнению с $\Delta_n H^0$, то $\Delta_n G^0$ меняет знак при $T \approx 295$ К. Так, согласно расчету $\Delta_n G^0$ из воды в водный раствор мочевины ($m_2 = 8$) при 273,15 К составляет $-0,24$ кДж/моль, а при 323,15 К — уже $0,53$ кДж/моль.

С увеличением m_2 система вода—мочевина—глицин становится более структурированной ($\Delta_n S^0 < 0$) в изученном интервале температур.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 05-03-96401рег и № 06-03-96320р-центр-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Nozaki Y., Tanford C.* // J. Biol. Chem. – 1963. – **238**, N 12. – P. 4074 – 4081.
2. *Abu-Hamdlyyah M., Shehabuddin A.* // J. Chem. Eng. Data. – 1982. – **27**. – P. 74 – 76.
3. *Wegrzyn T.F., Hedwig G.R.* // J. Chem. Thermodyn. – 1984. – **16**, N 9. – P. 843 – 851.
4. *Palecz B., Taniewska-Osinska S.* // Thermochim. Acta. – 1990. – **173**. – P. 295 – 299.
5. *Бекенева А.В., Кустов А.В., Королев В.П.* // Журн. физ. химии. – 2004. – **78**, № 11. – С. 1697 – 1700.
6. *Kustov A.V., Korolev V.P.* // Thermochim. Acta. – 2006. – **447**. – P. 212 – 214.
7. *Межевой И.Н., Парфенюк Е.В., Баделин В.Г.* // Биофизика. – 2003. – **48**, № 4. – С. 585 – 588.
8. *Климова В.А.* Основные микрометоды анализа органических соединений. – М.: Химия, 1967.
9. *Кустов А.В., Емельянов А.А., Сыщенко А.Ф. и др.* // Журн. физ. химии. – 2006. – **80**, № 9. – С. 1724 – 1728.
10. *Wadsö I., Goldberg R.N.* // Pure Appl. Chem. – 2001. – **73**, N 10. – P. 1625 – 1639.
11. *Баделин В.Г., Смирнов В.И., Межевой И.* // Журн. физ. химии. – 2002. – **76**, № 7. – С. 1299 – 1302.
12. *Spink C.N., Wadsö I.* // J. Chem. Thermodyn. – 1975. – **7**, N 6. – P. 561 – 572.
13. *Frank H.S., Franks F.* // J. Chem. Phys. – 1968. – **48**, N 10. – P. 4746 – 4757.
14. *Finer E.G., Franks F., Tait M.* // J. Amer. Chem. Soc. – 1972. – **94**, N 13. – P. 4424 – 4429.
15. *Королев В.П., Батов Д.В., Вандышев В.Н., Антонова О.А.* // Термодинамика растворов неэлектролитов. Сб. научн. трудов ИХНР АН СССР. – Иваново, 1989. – С. 13 – 20.
16. *Иванов Е.В., Абросимов В.К.* Биологически активные вещества в растворах. Структура. Термодинамика. Реакционная способность. – М.: Наука, 2001. – С. 110 – 183.
17. *Somsen G.* // Reports in Symposium on Thermodynamics and Thermochemistry. – Lund, 1963.
18. *Palecz B.* // Thermochim. Acta. – 1991. – **180**. – P. 199 – 202.
19. *Davis K.G., Lilley T.H.* // Ibid. – 1986. – **107**. – P. 267 – 276.