15. БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ

Цель занятия. Усвоить представления о составе, классификации и механизме действия буферных систем. Научиться применять теоретический материал для расчета PH и буферной емкости буферных систем. Изучить медико-биологические значения буферных систем.

Значимость темы: Биологические жидкости характеризуются определенной величиной pH, отклонения от которой ограничены. Сохранение постоянства кислотности жидких сред имеет для жизнедеятельности человеческого организма первостепенное значение, потому что, во-первых, ионы водорода оказывают каталитическое действие на многие биохимические превращения; во-вторых, ферменты и гормоны проявляют биологическую активность только в строго определенном интервале значений pH; в-третьих, даже небольшие изменения концентрации ионов водорода в крови и межтканевых жидкостях ощутимо влияют на величину осмотического давления в этих жидкостях.

Вопросы к занятию:

1. Буферные системы.
2. Классификация буферных систем и их биороль.
3. Буферная емкость.
4. Кислотно-основное равновесие в живых организмах.
5. Биологические буферные системы.

15.1. Буферные системы

Биологические жидкости характеризуются определенной величиной pH, отклонения от которой ограничены. Сохранение постоянства кислотности жидких сред имеет для жизнедеятельности человеческого организма первостепенное значение, потому что, во-первых, ионы водорода оказывают каталитическое действие на многие биохимические превращения; во-вторых, ферменты и гормоны проявляют биологическую активность только в строго определенном интервале значенийpH; в-третьих, даже небольшие изменения

концентрации ионов водорода в крови и межтканевых жидкостях ощутимо влияют на величину осмотического давления в этих жидкостях.

Решающую роль в регулировании PH играют буферные системы. Еще точнее можно сказать, что буферные системы позволяют живому организму, как открытой системе, реализовать принцип Ле – Шателье, противодействовать влиянию внешних факторов, направленных как на снижение, так и на увеличение pH его жидких сред, сохранять гомеостаз.

Буферными называют растворы, обладающие свойством сохранять постоянство pH при разбавлении и противодействовать изменению pH при добавлении умеренных количеств сильной кислоты или щелочи.

По химическому составу буферные растворы (буферные системы, буферные смеси, буферы) делят на такие группы:

а) кислотные буферные растворы (состоят из слабой кислоты и соли этой слабой кислоты и сильного основания), например, ацетатный буферный раствор (CH_3COOH +CH_3COONa);

б) основные буферные растворы (состоят из слабого основания и соли этого слабого основания и сильной кислоты), например, аммиачный буферный раствор ($NH_3 \cdot H_2O$ +NH_4Cl);

в) белковые амфолитные буферные растворы.

Наиболее употребляемые приведены в таблице (значения pH указаны для случая, когда концентрации обоих компонентов буферной смеси одинаковы) (табл.1):

Таблица 1.

Наиболее распространенные в лабораторной практике буферные системы.

Название буферной смеси	Состав буферной смеси	pH

Формиатная	Муравьиная кислота HCOOH и формиат натрия HCOONa	3,8
Бензоатная	Бензойная кислота C_6H_5COOH и бензоат натрия C_6H_5COONa	4,2
Ацетатная	Уксусная кислота CH_3COOH и ацетат натрия CH_3COONa	4,8
Фосфатная	Дигидрофосфат натрия NaH_2PO_4 и гидрофосфат натрия Na_2HPO_4	6,6
Аммонийная	Гидрат аммиака $NH_3 \cdot H_2O$ и хлорид аммония NH_4Cl	9,2

Чтобы вывести формулу для расчета pH кислотного буферного раствора, рассмотрим раствор, содержащий ацетат натрия CH_3COONa и уксусную кислоту CH_3COOH. Соль CH_3COONa, являясь сильным электролитом, в растворе полностью распадается на ионы:

$$CH_3COONa \longrightarrow CH_3COO^- + Na^+.$$

Уксусная кислота (слабый электролит) частично распадается на ионы:

$$CH_3COOH \rightleftarrows CH_3COO^- + H^+.$$

Формула для расчета константы диссоциации уксусной кислоты имеет вид:

$$K_д = \frac{[CH_3COO^-][H^+]}{[CH_3COOH]} = 1{,}74 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}.$$

Путем несложных преобразований $К_д = \frac{[CH_3COO^-][H^+]}{[CH_3COOH]}$ можно получить формулу, выражающую зависимость молярной концентрации ионов H^+ от константы диссоциации слабой кислоты $К_д$ и соотношения молярных концентраций молекул CH_3COOH и ионов CH_3COO^-:

$$[\mathrm{H}^+] = K_{\text{д}} \frac{[CH_3COOH]}{[CH_3COO^-]}.$$

Сильный электролит – ацетат натрия – в буферном растворе полностью диссоциирует, создавая высокую молярную концентрацию ионов $\mathrm{CH_3COO^-}$, поэтому равновесная молярная концентрация ионов $\mathrm{CH_3COO^-}$ практически равна молярной концентрации ацетата натрия $\mathrm{c(CH_3COONa)}$. Вследствие высокой концентрации ацетат-ионов равновесие диссоциации уксусной кислоты сместится в сторону образования молекул настолько, что практически все количество уксусной кислоты будет находиться в растворе в недиссоциированном состоянии.

Итак, в растворе, содержащем смесь уксусной кислоты и ацетата натрия, равновесная молярная концентрация уксусной кислоты $[CH_3COOH]$ равна общей концентрации уксусной кислоты $\mathrm{c(CH_3COOH)}$, а равновесная молярная концентрация ацетат-ионов $[CH_3COO^-]$ – молярной концентрации ацетата натрия $\mathrm{c(CH_3COONa)}$. После соответствующей замены $[CH_3COO^-]$ на $\mathrm{c(CH_3COONa)}$ и $[CH_3COOH]$ на $\mathrm{c(CH_3COOH)}$ можно получить уравнение:

$$[\mathrm{H}^+] = K_{\text{д}} \frac{\mathrm{c(CH_3COOH)}}{\mathrm{c(CH_3COONa)}}.$$

Прологарифмировав это уравнение, получим:

$$Ig[\mathrm{H}^+] = IgK_{\text{д}} + Ig\frac{\mathrm{c(CH_3COOH)}}{\mathrm{c(CH_3COONa)}}.$$

После несложных преобразований получаем уравнение Гендерсона-Гассельбаха:

$$pH = pK_{\text{д}} - Ig\frac{\mathrm{c(CH_3COOH)}}{\mathrm{c(CH_3COONa)}},$$

где $pK_{\text{д}}$ – отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации слабой кислоты; $pK_{\text{д}} = -IgK_{\text{д}}$. В общем виде уравнение Гендерсона-Гассельбаха для кислотного буферного раствора имеет вид:

$$pH = pK_{\text{д}} + Ig\frac{\text{c(соли)}}{\text{c(кислоты)}}.$$

Следует подчеркнуть, что это уравнение является приближенным и его нельзя применять в следующих случаях:

- если концентрации кислоты и соли отличаются больше, чем в 100 раз;
- если кислота слишком сильная (pk<3);
- если кислота слишком слабая (pk>11).

Для основных буферных растворов уравнение Гендерсона-Гассельбаха можно довольно легко вывести, используя формулу константы диссоциации слабого основания и формулу pH + pOH = 14.

Уравнение Гендерсона-Гассельбаха для основных буферных растворов имеет вид:

$$pH = 14 - \left(pK_{\text{д}} + Ig\frac{\text{с(соли)}}{\text{с(кислоты)}}\right),$$

где $pK_{\text{д}}$ - отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации слабого основания ($pK = -IgK_{\text{д}}$).

Способность буферных смесей поддерживать практически неизменное значение pH базируется на том, что отдельные их компоненты связывают ионы H^+ кислот или ионы OH^- оснований, которые вводят в раствор. Эта способность не безгранична. Добавление значительного количества сильной кислоты или основания приведет к полному израсходованию одного из компонентов буферной смеси. Образовавшийся раствор не будет буферным и не сможет поддерживать постоянство pH.

Количественной мерой способности буферных систем поддерживать PH неизменным является буферная емкость.

Буферной емкостью (B) называют количество молей эквивалента сильной кислоты или сильного основания, которое необходимо добавить к одному литру буферного раствора, чтобы изменить значение его pH на единицу.

Буферную емкость выражают в ммоль/л и вычисляют по формулам

$$B_{\text{к}} = (\text{с}(1/z\text{к-ты})*\text{V}(\text{к-ты}))\ /(\text{V}(\text{буф. р-ра})*\Delta\text{pH});$$

$$B_{\text{осн}} = (\text{с}(1/z\text{осн-я})*\text{V}(\text{осн-я}))\ /(\text{V}(\text{буф. р-ра})*\Delta\text{pH}),$$

где $B_к$– буферная емкость по кислоте; $B_{осн}$– буферная емкость по основанию; ΔpH – изменение pH буферной системы при добавлении кислоты (основания); V(буф. р-ра) – объем буферного раствора.

Наибольшая величина буферной емкости достигается, если компоненты буферной смеси имеют одинаковые концентрации, тогда pH = pk. Поэтому применение любой буферной смеси ограничивается определенной областью pH (областью буферирования), а именно:

$$pH = pk \pm 1$$

Итак, при использовании кислотных буферных растворов для обеспечения наибольшей буферной емкости необходимо выбирать такие кислоты, для которых значение pk наиболее близки к заданному значению pH. При работе с основными буферными растворами следует выбирать такие основания, для которых значение pk наиболее близко к нужному значению (14-pH).

Из приведенных сведений о буферных растворах можно сделать следующие важные выводы:

1) любая буферная смесь практически сохраняет постоянство pHтолько при условии добавления небольшого определенного количества кислоты или щелочи, т.е. характеризуется определенной буферной емкостью;
2) максимальную буферную емкость имеют буферные растворы, содержащие равные концентрации слабой кислоты и соли или слабого основания и соли;
3) чем выше концентрация компонентов буферной смеси, тем больше буферная емкость раствора;
4) по мере добавления к буферному раствору кислоты или щелочи устойчивость раствора к изменению pHпостепенно уменьшается;
5) чтобы буферная емкость имела достаточное для практического применения значение, концентрация одного из компонентов не должна превышать концентрацию второго компонента более чем в 10 раз.

Сохранение постоянства кислотности жидких сред имеет для жизнедеятельности человеческого организма первостепенное значение. Такое постоянство обусловлено тем, что:

1) ионы водорода осуществляют каталитическое действие во многих биохимических преобразованиях;
2) ферменты и гормоны проявляют биологическую активность только в определенном интервале значений pH;
3) даже небольшие изменения концентраций ионов водорода в крови и межтканевых жидкостях ощутимо влияют на величину осмотического давления в этих жидкостях.

В медицинской практике часто возникает необходимость в приготовлении буферных растворов с необходимым постоянным значением pH, например, для введения этих растворов в организм, для моделирования в лабораторных условиях биологических процессов, в некоторых клинических анализах и т.д.

15.2. Биологические буферные системы

Регуляторами, непосредственно обеспечивающими быструю неполную компенсацию смещений pH крови, являются буферные системы жидких сред организма, а именно крови и других биологических жидкостей. Деятельность легких, почек, печени и кожи компенсирует смещение pH более медленно, но зато полностью, а буферные системы реагируют на изменение pHпрактически мгновенно.

Из буферных систем организма наибольшей емкостью характеризуются буферные системы крови, которые неравномерно распределены между эритроцитами и плазмой крови. И в плазме, и в эритроцитах находятся гидрокарбонатная (бикарбонатная) буферная система и буферные пары неорганических фосфатов. Только в плазме локализуется буферная система плазменных белков (альбуминов, глобулинов и др.). Гемоглобиновая буферная система и буферные пары органических фосфатов находятся в эритроцитах.

В организме человека в результате протекания различных метаболических процессов постоянно образуются большие количества кислых продуктов и в меньшей степени основания.

Среднесуточная норма их выделения соответствует 20-30 литрам раствора сильной кислоты с молярной концентрацией химического эквивалента кислоты равной 0,1 моль/л (или 2000-3000 ммоль химического эквивалента кислоты). Образуются при этом и основные продукты: аммиак, мочевина, креатин и др., - но только в гораздо меньшей степени. В состав кислых продуктов обмена веществ входят как неорганические (H_2CO_3, H_2SO_4), так и органические кислоты (молочная, масляная, пировиноградная).Соляная кислота выделяется в полость желудка со скоростью1-4 ммоль/час. Угольная кислота является конечным продуктом окисления липидов, углеводов, белков и различных других биоорганических веществ. Впересчете на CO2 ежесуточно ее образуется до 13 молей. Тем не менее, благодаря наличию вышеперечисленных буферных систем, pH крови остается постоянным (7.4 ± 0.04).

15.2.1. Гидрокарбонатная (бикарбонатная) буферная система

Величина pH крови зависит от концентраций свободной растворенной в крови H_2CO_3 и кислоты, связанной в гидрокарбонат-ион:

$$pH = pK_1 + Ig\frac{[NaHCO_3]}{[H_2CO_3]} = pK_1 + Ig\frac{[CO_2^{\text{связ}}]}{[CO_2^{\text{своб}}]},$$

где $[CO_2^{\text{связ}}]$ – концентрация гидрокарбоната в пересчете на CO_2 в объемных процентах; $[CO_2^{\text{своб}}]$ – концентрация свободной угольной кислоты в объемных процентах. В условиях плазмы крови (при 37ºС) $pK_{1_{H_2CO_3}} = 6.1$.

Концентрация углекислоты, растворенной в крови, можно найти по формуле:

$$\left[CO_2^{\text{своб}}\right] = s \cdot p_{CO_2},$$

где p_{CO_2} – парциальное давление углекислого газа в воздухе, находящемся в равновесии с кровью; s – коэффициент растворимости углекислого газа в крови.

Для определения суммарной концентрации CO_2 в крови к ней добавляют сильную кислоту и измеряют объем выделяющегося газа. Таким образом, пользуясь газоаналитическим методом определения гидрокарбонат-иона и CO_2, можно вычислить величину pH плазмы:

$$pH = 6.1 + Ig\frac{[CO_2^{сум}] - [CO_2^{своб}]}{[CO_2^{своб}]}.$$

Из уравнения Гендерсона-Гассельбаха нетрудно рассчитать соотношение гидрокарбонат-иона и угольной кислоты в крови при pH = 7.4. Оно равно 20:1. Избыток гидрокарбоната обеспечивает так называемый щелочной резерв крови. При поступлении в кровь кислот гидрокарбонат нейтрализует их, а избыток CO_2 выводится через легкие, вызывая увеличение легочной вентиляции. Таким образом, соотношение$\frac{[NaHCO_3]}{[H_2CO_3]}$, а следовательно, и величина pH крови не изменяются.

У гидрокарбонатной буферной системы наибольшая взаимосвязь со всеми буферными системами и вне-, и внутриклеточных жидкостей. Нарушение в любой буферной системе сказывается на концентрациях, составляющих гидрокарбонатной буферной системы, поэтому изменение ее параметров может достаточно точно характеризовать состояние дыхательных или метаболических нарушений, то есть кислотно-основное состояние организма.

15.2.2. Фосфатная буферная система

Величина $pK_{2_{H_3PO_4}}$в условиях плазмы крови (при 37ºС) равна 6.8, поэтому уравнение Гендерсона-Гассельбаха принимает вид

$$pH = 6.8 + Ig\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}.$$

Отношение $\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}$ в плазме крови (при pH = 7.4) равно 4:1 и не изменяется, так как при избыточном накоплении какого-либо из компонентов он выделяется с мочой.

Фосфатная буферная система крови характеризуется меньшей буферной емкостью, чем гидрокарбонатная, из-за малой концентрации компонентов в крови. Однако эта система играет решающую роль в других биологических средах – в клетке, в моче и соках пищеварительных желез.

15.2.3. Белковые и аминокислотные буферные системы

Значительную долю буферной емкости крови обеспечивают белковые буферные системы (гемоглобин, оксигемоглобин и в меньшей степени, белки плазмы). Клетки и ткани организма проявляют заметное буферное действие благодаря белкам.

Молекулы белков (Prot-H) содержат остатки аминокислот H_2N-CHR-COOH, которые проявляют себя как амфотерные электролиты. В них группы –COOH имеют слабые кислотные, а $–NH_2$ – слабоосновные свойства. Соответственно, белки противодействуют как подкислению, так и подщелачиванию среды.

Следует подчеркнуть, что белковая (протеиновая) буферная система работает совместно с гидрокарбонатной системой:

$$CO_2 + H_2O \rightleftarrows H_2CO_3 \rightleftarrows HCO_3^- + H^+ \quad (а)$$

$$Prot - H \rightleftarrows Prot^- + H^+ \quad (б)$$

Равновесия (а) и (б) тесно связаны между собой. Рост концентрации CO_2 (за счет повышения продукции, например, при мышечной работе или за счет снижения скорости удаления при дыхательной недостаточности) сдвигает реакцию (а) вправо, а реакцию (б) – влево.

Следовательно, увеличение концентрации бикарбонат-иона соответствует снижению концентрации $Prot^-$. Сумма концентраций HCO_3^- и

$Prot^-$ остается неизменной благодаря совместному действию этих буферных систем.

Если ионы водорода возникают из других источников, например, в связи с избыточным образованием молочной кислоты при гипоксии или 3-гидроксимасляной кислоты при диабетическом кетозе, то обе реакции сдвигаются влево, образуются формы Prot-H и CO_2, при этом избыток CO_2 удаляется через легкие.

Чтобы понять механизм действия буферных систем белков плазмы, рассмотрим более простые аминокислотные системы с аналогичным механизмом буферного действия.

Аминокислотные буферные растворы

В качестве примера возьмем простейшую аминокислоту – глицин (аминоуксусная кислота). В результате ионизации амино- и карбоксильной групп глицин существует в водном растворе в виде биполярного иона $R^{\pm}$.

$$NH_2 - CH_2 - COOH\ (R) \rightleftharpoons NH_3^+ - CH_2 - COO^-(R^{\pm})$$

Концентрация биполярных ионов $R^{\pm}$ в водном растворе глицина в 224 000 раз больше концентрации нейтральных молекул R.

Если к водному раствору глицина добавить сильную кислоту, то он присоединит протон по COO^- - группе с образованием катиона глицина R^+. При добавлении к раствору глицина щелочи группа NH_3^+ отдаст протон, и образуется анион глицина R^-:

$$pK_{a_1} = 2.6 \qquad\qquad pK_{a_2} = 9.8$$

$$NH_3^+ - CH_2 - COOH \xrightleftharpoons{+H^+} NH_3^+ - CH_2 - COO^- \rightleftharpoons NH_2 - CH_2 - COO^-$$

R^+ (катион глицина) $\qquad$ $R^{\pm}$ (биполярный ион глицина) $\qquad$ R^- (анион глицина)

Из этой схемы видно, что катион глицина R^+ можно рассматривать как слабую двухосновную кислоту, которая характеризуется двумя константами ионизации - K_{a_1} и pK_{a_2}. Следовательно, должны существовать два вида глициновых буферных растворов.

В водных растворах глицина все его три формы (R^+, $R^\pm$, R^-) находятся в подвижном равновесии. Это равновесие при подкислении должно сдвигаться в сторону увеличения концентрации R^+. Следовательно, при добавлении к глицину определенного количества сильной кислоты получается смесь двух форм – R^+ и $R^\pm$, которая представляет собой глициновый кислотный буферный раствор:

$$\underset{R^\pm}{NH_3^+ - CH_2 - COO^-} + H^+ \text{ (недостаток)} \rightleftharpoons \underset{R^+}{NH_3^+ - CH_2 - COOH}$$

В этом случае катион глицина играет роль кислоты, а глицин – соли. Величина pH такого раствора вычисляется по формуле:

$$pH = pK_{a_1} + Ig\frac{[R^\pm]}{[R^+]}.$$

При добавлении к глицину щелочи равновесие сдвигается в сторону увеличения концентрации R-. При этом можно получить смесь форм $R^\pm$ и R^-. Такая смесь представляет собой глициновый щелочной буферный раствор:

$$\underset{R^\pm}{NH_3^+ - CH_2 - COO^-} + OH^- \text{ (недостаток)} \rightleftharpoons \underset{R^-}{NH_2 - CH_2 - COO^-}$$

В этом случае роль кислоты играет биполярный ион глицина $R^\pm$, а соли – анион глицина R^-. Величину pH такой буферной смеси вычисляют по формуле:

$$pH = pK_{a_2} + Ig\frac{[R^\pm]}{[R^-]}.$$

15.2.4. Гемоглобиновый буферный раствор

Гемоглобиновая буферная система является основной буферной системой эритроцитов и обладает большой буферной емкостью.

Гемоглобиновый буфер является разновидностью белковой буферной системы. Она состоит из двух форм гемоглобина – восстановленного (HHb – гемоглобина) и окисленного ($HHbO_2$ – оксигемоглобина). Условно гемоглобиновый буфер можно записать так:

А) Буферная система, образованная гемоглобином:

$$HHb \rightleftarrows H^+ + Hb^-$$

$$KtHB \longrightarrow Kt^+ + Hb^-$$

Б) Буферная система, образованная оксигемоглобином:

$$HHbO_2 \rightleftarrows H^+ + HbO_2^-$$

$$KtHbO_2 \longrightarrow Kt^+ + HbO_2^-$$

Уравнение Гендерсона-Гассельбаха для этих двух систем можно записать следующим образом:

$$pH = pK_{HHb} + Ig\frac{[Hb^-]}{[HHb]} = 8.2 + Ig\frac{[Hb^-]}{[HHb]} \text{ и}$$

$$pH = pK_{HHbO_2} + Ig\frac{[HbO_2^-]}{[HHbO_2]} = 6.95 + Ig\frac{[HbO_2^-]}{[HHbO_2]}.$$

Так как гемоглобин HHb, присоединяя кислород, образует оксигемоглобин $HHbO_2$:

$$HHb + O_2 \rightleftarrows HHbO_2,$$

то система гемоглобина и оксигемоглобина взаимосвязаны и существуют как единое уелое, причем гемоглобин является более слабой кислотой ($pK_{HHb} = 8.2, pK_{HHb} = 6.3 \cdot 10^{-9}$), чем оксигемоглобин ($pK_{HHbO_2} = 6.95$, pK_{HHbO_2} =1.12$\cdot 10^{-7}$). Отсюда следует, что ион Hb^-, являющийся анионом более слабой кислоты, способен активнее связывать протон, чем ион HbO_2^-.

Участие гемоглобина в регуляции pH крови связано с его ролью в транспорте кислорода и углекислоты. Гемоглобиновые буферные системы взаимодействуют с гидрокарбонатным буфером.

Углекислый газ, образующийся в значительных количествах в периферических тканях, участвующих в процессе дыхания, поступает в

эритроциты, где эффективно превращается в угольную кислоту под действием фермента карбоангидразы:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{ферментативно}} H_2CO_3 \rightleftarrows H^+ + HCO_3^-$$

(в ткани)

При $pH_{клетки} \sim 7.4$ и $pK_{a_{2_{H_2CO_3}}} = 6.1$ более 90% образовавшейся угольной кислоты диссоциирует, поэтому связанные CO_2 приводит к повышению концентрации H^+ и грозит «закислить» кровь.

Для предотвращения опасного повышения кислотности крови в действие вступают гемоглобиновые буферные системы. Учитывая отмеченную ранее различную кислотность гемоглобина и оксигемоглобина, при pH = 7.4 равновесные концентрации каждой из сопряженных пар (кислота-соль) будут различными:

$$HHbO_2 \rightleftarrows H^+ + HbO_2^-$$

преобладающая форма

$$HHb \rightleftarrows H^+ + Hb^-$$

преобладающая форма

Протоны, возникающие при диссоциации угольной кислоты, будут взаимодействовать с преобладающей в растворе ионной формой оксигемоглобина HbO_2^-, образуя его молекулярную форму:

$$H^+ + HbO_2^- \longrightarrow HHbO_2$$

Известно, что при повышенной кислотности эффективность связывания гемоглобином кислорода снижается. Это явление названо эффектом Бора. Поэтому оксигемоглобин освобождает кислород (уходящий в ткани) и дает слабую кислоту – гемоглобин:

$$HHbO_2 \longrightarrow HHb + O_2.$$

Таким образом, в тканях повышение концентрации протонов, вызванное диффузией CO_2 в клетку, в значительной мере нейтрализуется.

Однако вследствие указанных процессов нарушилось соотношение соль/кислота в буферных системах: содержание HCO_3^- и HHb увеличилось, а

концентрация HbO_2^- уменьшилось. Восстановление этих соотношений происходит в легких. Когда венозная кровь достигает легких, кислород и гидрокарбонат-ион (из тканей) снова проникает внутрь эритроцитов. При этом кислород связывается с присутствующим в избытке гемоглобином:

$$O_2 + HHb \longrightarrow HHbO_2$$

Теперь в присутсвии HCO_3^--иона $HHbO_2$ выступает уже в роли кислоты, образуя HbO_2^- и угольную кислоту:

$$HHbO_2 + HCO_3^- \longrightarrow HbO_2^- + H_2CO_3.$$

И вновь возникающая угольная кислота под действием карбоангидразы разлагается, уходя в легкие в виде углекислого газа:

$$H_2CO_3 \longrightarrow H_2O + CO_2 \text{ (ферментативно)}.$$

15.3. Кислотно-основное состояние

Кислотно-основное состояние – неотъемлемая составная часть гомеостаза внутренней среды организма, который обеспечивает оптимальные условия правильного течения обмена веществ.

Физиологические системы регуляции кислотно-основного состояния связаны с функциональной активностью легких и почек.

Процессы, происходящие в легких, связаны с тем, что образование оксигемоглобина приводит к освобождению иона водорода из гемоглобина. Ион водорода ассоциируется с бикарбонатом. Образующаяся в результате угольная кислота распадается в легких под действием фермента карбоангидразы, и удаление CO_2 в атмосферу смещает равновесие этой реакции в сторону распада угольной кислоты. Ион водорода при этом оказывается в составе воды, соединения, мало способного к диссоциации. В результате этих процессов идет активное удаление гидрокарбонат-иона, потери которого восполняются его ресинтезом в почках.

Действие почек заключается в удалении из организма ионов водорода и насыщении плазмы крови гидрокарбонат-ионом. При этом принципиальную роль играет фермент карбоангидраза клеток канальцев почек, имеющая ту

особенность, что быстро образует угольную кислоту и значительно более медленно ее разлагает, вне зависимости от концентрации CO_2 и H_2O.

Принципиальную роль играют биосинтез аммиака в почках и фосфатная буферная система мочи. В результате ферментативной реакции дезаминирования (то есть отщепления аммиака) глутаминовой кислоты образуется аммиак, который связывает протоны, превращаясь в ион аммония. Процесс замены натрия на аммоний в дигидрофосфате приводит к изменению соотношения гидрофосфат/дигидрофосфатот 1:4 крови до 1:50 в почках.

Способность почек выводить из организма ионы водорода настолько велика, что в итоге соотношение между концентрациями водородных ионов в моче и в крови может составлять 800:1.

Рассмотренные буферные и физиологические механизмы в норме обеспечивают стабильное значение pH. Дисбаланс между образованием и (или) удалением ионов водорода, когда вышеуказанные механизмы стабилизации их концентрации не справляются с нагрузкой, приводит к снижению или повышению pH. В первом случае (при снижении pH) состояние называется ацидозом. Во втором случае (при повышении pH) – алкалозом.

В зависимости от механизма развития расстройств кислотно-основного состояния выделяют дыхательный и метаболический ацидозы и алкалозы.

Метаболический ацидоз характеризуется нарушением метаболизма, которое приводит к нескомпенсированному или частично компенсированному падению pH крови.

Метаболический ацидоз наступает вследствие:

а) Избыточного введения или образования стойких кислот (поступление кетокислот при голодании и диабете, повышенное образование молочной кислоты при шоке, повышенное образование серной кислоты при усиленном катаболизме, то есть в процессе распада биомолекул, и др.).

б) Неполного удаления кислот при почечной недостаточности.

в) Избыточной потери гидрокарбонат-иона в результате поноса, колита, язвы кишечника. Процессы компенсации связаны с нейтрализацией ионов водорода гидрокарбонат-ионом и усилением легочной вентиляции.

Метаболический алкалоз характеризуется нарушением метаболизма, которое приводит к нескомпенсированному или частично компенсированному увеличению pH крови.

Метаболический алкалоз наступает вследствие:

а) Потери водородных ионов (высокая кишечная непроходимость, рвота и др.).

б) Увеличения концентрации бикарбоната (потеря воды, избыточное введение бикарбонат-иона при метаболическом ацидозе, введения солей органических кислот – молочной, уксусной, лимонной, метаболизирующихся с поглощением ионов водорода и др.).

Компенсации этого явления достигают снижением легочной вентиляции (соответственно, задержки CO_2), удалением гидрокарбоната-иона почками.

Дыхательный ацидоз – это нескомпенсированное или частично компенсированное снижение pH в результате гиповентиляции из-за:

а) Заболевания легких и дыхательных путей (пневмония, отек легких, инородные тела в верхних дыхательных путях и др.).

б) Повреждения (заболевания) дыхательной мускулатуры.

в) Угнетения дыхательного центра лекарственными средствами или наркотиками – опиатами, барбитуратами и др.

Дыхательный алкалоз – это нескомпенсированное или частично компенсированное повышение pH в результате гипервентиляции из-за лихорадочного состояния или истерии. Процесс компенсации осуществляются буферными системами, повышенным выведением гидрокарбонат-иона почками.

Для коррекции кислотно-щелочного равновесия при ацидозах обычно используют 4%-ный раствор гидрокарбоната натрия, который вводят внутривенно. Коррекция кислотно-щелочного равновесия при алкалозах более

сложна. В качестве одной из временных мер целесообразно введение 5%-ного раствора аскорбиновой кислоты.

Ситуационные задачи:

Задача 1. Как изменится pH, если к ацетатному буферному раствору, состоящему из 100 мл кислоты и 100 мл раствора соли, с концентрацией компонентов по 0,1 моль/л, прибавить 10 мл раствора с концентрацией гидроксида натрия 0,1 моль/л? $pK_a = 4{,}76$.

Решение:

Ацетатный буфер состоит из уксусной кислоты и соли – ацетата натрия, т.е. сопряженной пары: CH_3COOH/CH_3COO^-.

При добавлении сильного основания положение равновесия в растворе $CH_3COOH + H_2O \leftrightarrows CH_3COO^- + H_3O^+$будет сдвинуто вправо, так как уксусная кислота будет взаимодействовать с добавленными гидроксид-ионами:

$$CH_3COOH + OH^- \leftrightarrows CH_3COO^- + H_2O.$$

Количество израсходованной кислоты равно количеству добавленной щелочи, а количество ацетат-ионов (соли), соответственно, на эту же величину возрастает; в связи с этим уравнение Гендерссона–Гассельбаха принимает вид:

$$pH = pK(CH_3COOH) + Ig\frac{c(\text{соли}) \cdot V(\text{соли}) + c(NaOH) \cdot V(NaOH)}{c(\text{к} - \text{ты}) \cdot V(\text{к} - \text{ты}) - c(NaOH) \cdot V(NaOH)}$$

$$= 4{,}76 + Ig\frac{0{,}1 \cdot 100 \cdot 10^{-3} + 0{,}1 \cdot 10 \cdot 10^{-3}}{0{,}1 \cdot 100 \cdot 10^{-3} - 0{,}1 \cdot 10 \cdot 10^{-3}} = 4{,}85;$$

$$\Delta pH = 4{,}85 - 4{,}76 = 0{,}09.$$

Этот результат демонстрирует возможность буферной системы достаточно стойко сохранять постоянство pH.

Ответ: pH изменится на 0,09 ед.

Задача 2. Рассчитайте pH ацетатного буферного раствора, приготовленного из 80 мл 0,1 н. раствора CH_3COOH и 20 мл 0,1 н. раствора CH_3COONa. $K_д(CH_3COOH) = 1{,}74 \cdot 10^{-5}$.

Решение:

Расчет pH буферных растворов производится по уравнению Гендерсона–Гассельбаха:

$$pH = pK_{\text{к-ты}} + Ig\frac{[\text{соль}]}{[\text{кислота}]}, \text{где } pK = -IgK_{\text{д}};$$

$$pH = 4{,}76 + Ig\frac{20\ \cdot 10^{-3}\ \text{л} \cdot 0{,}1\ \text{моль/л}}{80\ \cdot 10^{-3}\ \text{л} \cdot 0{,}1\ \text{моль/л}} = 4{,}16.$$

Ответ: pH ацетатного буферного раствора 4,16.

Задача 3. Рассчитайте значение pH аммиачного буфера, в 1 л которого содержится 0,1 моль аммиака и 0,2 моль нитрата аммония NH_4NO_3. Константа основности аммиака $K_в = 1{,}76 \cdot 10^{-5}$.

Решение:

$$pH = 14 + IgK_{\text{в}} + Ig\frac{c(NH_3 \cdot H_2O) \cdot V(NH_3 \cdot H_2O)}{c(NH_4NO_3) \cdot V(NH_4NO_3)};$$

$$pH = 14 + Ig1{,}76 \cdot 10^{-5} + Ig\frac{0{,}1 \cdot 1}{0{,}2 \cdot 1} = 8{,}94.$$

Ответ: $pH = 8{,}94$.

Задача 4. Рассчитайте объемы 0,1М раствора гидрофосфата и 0,05М раствора дигидрофосфата натрия, которые нужно взять для приготовления 1,5 л буферного раствора с pH = 7,4. $pK_a(H_2PO_4^-) = 7{,}21$.

Решение:

$$pH = pK_{\text{а}}(\text{H}_2\text{PO}_4^-) + Ig\frac{c(Na_2HPO_4) \cdot V(Na_2HPO_4)}{c(NaH_2PO_4) \cdot V(NaH_2PO_4)}.$$

После арифметических преобразований получаем:

$$Ig\frac{V(Na_2HPO_4)}{V(NaH_2PO_4)} = pH - pK(\text{H}_2\text{PO}_4^-) - Ig\frac{c(Na_2HPO_4)}{c(NaH_2PO_4)};$$

$$Ig\frac{V(Na_2HPO_4)}{V(NaH_2PO_4)} = 7{,}4 - 7{,}21 - Ig\frac{0{,}1}{0{,}05} = -0{,}111;$$

$$\frac{V(Na_2HPO_4)}{V(NaH_2PO_4)} = 10^{-0{,}111} = 0{,}774;$$

$$\frac{1{,}5 - V(Na_2HPO_4)}{V(NaH_2PO_4)} = 0{,}774, \text{отсюда}$$

$V(NaH_2PO_4) = 0{,}846$ л;

$V(Na_2HPO_4) = 1{,}5 - 0{,}846 = 0{,}654$ л.

Ответ: $V(NaH_2PO_4) = 0{,}846$ л; $V(Na_2HPO_4) = 0{,}654$ л.

Задача 5. В каком соотношении находятся исходные компоненты фосфатной и бикарбонатной буферных систем в плазме крови при pH = 7,36, если для плазмы $pK(H_2PO_4^-) = 6{,}8$; $pK(H_2CO_3) = 6{,}1$.

Решение:

$$pH(H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}) = pK(HPO_4^{2-}) + Ig\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]};$$

$$pH(H_2CO_3/H_2CO_3^-) = pK(HCO_3) + Ig\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]};$$

$$Ig\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} = 7{,}36 - 6{,}8 = 0{,}56; \qquad \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} = 3{,}63;$$

$$Ig\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = 7{,}36 - 6{,}1 = 1{,}26; \qquad \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = 18{,}2.$$

И в фосфатной, и в бикарбонатной буферных системах сопряженных оснований больше, чем кислот, что необходимо для живых организмов, в результате метаболизма которых образуется значительно больше кислот, чем оснований.

Ответ: исходные компоненты фосфатной и бикарбонатной буферных систем (основание: кислота) находятся соответственно в соотношениях: 3,63:1 и 18,2:1.

Задача 6. К 100 мл крови для изменения pH от 7,36 до 7,00 надо добавить 3,6 мл соляной кислоты с концентрацией 0,1 моль/л. Какова буферная емкость крови по кислоте?

Решение:

Буферная емкость (B) определяется числом моль эквивалентов сильной кислоты или щелочи, которое надо добавить к 1 л буферного раствора, чтобы изменить его pH на единицу:

$$B_а = \frac{n_{экв\ к-ты}}{\Delta pH \cdot V_{р-ра}(л)}; \quad f_{экв}(HCl) = 1, \text{поэтому:}$$

$$n(HCl) = n_{\text{экв}}(HCl) = 0{,}1\frac{\text{моль}}{\text{л}} \cdot 3{,}6 \cdot 10^{-3}\text{л} = 3{,}6 \cdot 10^{-4}\ \text{моль}$$

$$B_{\text{а}} = \frac{3{,}6 \cdot 10^{-4}\ \text{моль}}{0{,}36 \cdot 0{,}1(\text{л})} = 0{,}01\ \text{моль/л}.$$

Ответ: буферная емкость по кислоте составляет 0,01 моль/л.

Вопросы изадания для самоконтроля:

1. При исследовании активности трансфераз динитрофенилгидразиновым методом применяют фосфатный буфер. Для его приготовления смешивают 840 мл раствора гидрофосфата натрия с с=0,1моль/л и 160 мл раствора дигидрофосфата калия, с=0,1моль/л. Вычислите pH такого буферного раствора.

2. В 1литре раствора содержится 0,05 моль ацетата калия и 0,02 моль уксусной кислоты. Вычислите pH этого буферного раствора.

3. К 100 мл 0,05М раствора хлорида аммония добавили 100 мл 0,02 М раствора аммиака. Рассчитайте pH полученного раствора.

4. Какой объем 0,2М раствора ацетата калия следует добавить к 500 мл 0,1М раствора уксусной кислоты для получения раствора, pH которого равна 5,05?

5. В каком объемном соотношении смешаны децимолярные растворы гидрофосфата калия и дигидрофосфата натрия, если получен раствор с pH, равным 6,21?

6. К 100 мл 0,05М раствора хлорида аммония добавили 100 мл 0,02 М раствора гидроксида калия. Рассчитайте pH полученного раствора.

7. Какую массу формиата натрия следует добавить к 100 мл 0,1М раствора муравьиной кислоты, чтобы получить раствор с pH, равным 4,05?

8. Как изменится pH, если к ацетатному буферному раствору, состоящему из 100 мл кислоты и 100 мл соли, с концентрацией компонентов по 0,1 моль/л, прибавить 10 мл раствора с концентрацией соляной кислоты 0,1 моль/л? $pK_{(\text{кислоты})}$ = 4,76.

9. В лабораторной биохимической практике часто используют фосфатный буфер с pH=7,0. В каком соотношении нужно взять компоненты фосфатного

буфера (гидро- и дигидрофосфат калия) для приготовления некоторого объема данного буфера?

10. Как изменится pH фосфатного буферного раствора, содержащего 100мл раствора с концентрацией дигидрофосфата натрия 0,1 моль/л и 300мл раствора с концентрацией гидрофосфата натрия 0,1 моль/л при добавлении к нему 20мл раствора с концентрацией гидроксида натрия 0,1 моль/л?