

Лекція 4. Поняття про буферні системи

План

Буферні розчини, їх класифікація.

Рівняння Гендерсона-Гассельбаха.

Механізм буферної дії.

Буферні системи організму людини (фосфатний, бікарбонатний, білковий, гемоглобін-оксигемоглобінний) та механізм їх дії.

Буферна ємкість: визначення, залежність від різних чинників.

Визначення буферної ємкості за кислотою та за лугом.

Буферна ємкість крові.

Поняття про кислотно-основний стан крові.

Лужний резерв крові.

Порушення кислотно-основної рівноваги в організмі.

Актуальність теми. Значення рН внутрішніх середовищ характеризується постійністю і стійкістю. У процесі обміну речовин у різних органах безперервно утворюється продукти кислотного і основного характеру. При нормальному функціонуванні організм успішно справляється з кислотно-основними коливаннями і підтримує стає рН внутрішнього середовища за допомогою фізіологічних (нирки, печінка, легені) і фізико-хімічних (буферні системи) механізмів компенсацій. Зміна рН біологічних рідин свідчить про проходження патологічних процесів, що може служити діагностичною ознакою деяких захворювань. Тому вивчення складу буферних систем, механізмів їх дії сприяє глибшому пізнанню біологічних процесів.

Організм людини намагається зберегти стабільність внутрішніх параметрів, зокрема осмотичний тиск, сталу температуру, склад крові та міжклітинної рідини, енергію Гіббса та інші фізіологічні показники.

Гомеостаз – це динамічна сталість внутрішнього середовища живого організму. Також для гомеостазу є типовим збереження рН середовища, оскільки біохімічні реакції відбуваються при певних значеннях рН.

Розчини, рН яких практично не змінюються при додаванні невеликих кількостей сильних основ та кислот, також при розведенні називають *буферними розчинами*.

Отже, **буферними** називають системи, які достатньо стійко зберігають величину рН під час додавання невеликої кількості сильної кислоти або лугу, а також під час розведення(або концентрування). Існує два типи буферних систем:

а) кислотні – складаються із слабкої кислоти (донор протонів) та її солі (акцептор протонів), утвореної сильною основою; до них належать:

ацетатна буферна система ($\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$);

гідрофосфатна ($\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$);

гідрокарбонатна ($\text{H}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$);

гемоглобінова ($\text{Hb} + \text{KHb}$);

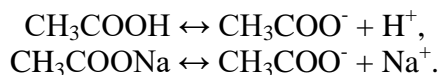
оксигемоглобінова ($\text{HbO}_2 + \text{KHbO}_2$);

б) основні – складаються із слабкої основи (акцептор протонів) та її солі(донор протонів), утвореної сильною кислотою; наприклад, аміачний буфер: $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$.

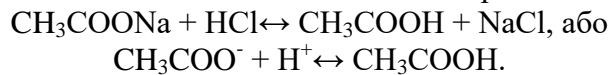
Білкові буферні системи залежно від складу амінокислот, які входять до складу білка, можуть утворювати як кислу так, і основну буферну систему.

Здатність буферної системи зберегти постійне значення рН називається *буферною дією*.

Механізм дії буферних систем. Розглянемо механізм буферної дії на прикладі ацетатного буфера.

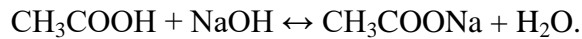


Додавання невеликої кількості сильної кислоти HCl приводить до реакції



Видно, що сильна кислота (HCl) замінюється еквівалентною кількістю слабкої оцтової кислоти (CH₃COOH), і концентрація іонів водню збільшується незначно. За законом розведення Оствальда підвищення концентрації слабого електроліту (CH₃COOH) знижує ступінь дисоціації незначно, і концентрація іонів H⁺ практично не змінюється.

Додавання до ацетатного буфера розчину сильної основи (NaOH) приводить до утворення еквівалентної кількості слабоосновної солі і води:



В цілому рівновага системи не порушується, оскільки утворення надлишку CH₃COO⁻ змщує рівновагу



у бік утворення кислоти, а води навпаки.

Кислотність і основність буферних систем розраховують виходячи з рівнянь *Гендерсон-Гассельбаха*:

- кисла буферна система

$$pH = pK_a - \lg \frac{[\text{Кисл}]}{[\text{Сіль}]},$$

$$pH = pK_a - \lg \frac{C_M(\text{кисл}) \cdot V(\text{кисл})}{C_M(\text{солі}) \cdot V(\text{солі})};$$

- основна буферна система

$$pH = 14 - pK_b - \lg \frac{[\text{Основа}]}{[\text{Сіль}]},$$

$$pH = 14 - pK_b - \lg \frac{C_M(\text{основи}) \cdot V(\text{основи})}{C_M(\text{солі}) \cdot V(\text{солі})}.$$

Здатність буферної системи підтримувати постійне значення рН не є безмежною, вона обмежується буферною ємністю.

Буферна ємність (В) – це число моль-еквівалентів сильної кислоти або сильної основи, яку потрібно додати до 1 л буферної системи, щоб змістити рН на 1. Буферну ємність визначають титруванням.

$$V_{\text{кисл}} = \frac{C_N(\text{кисл}) \cdot V(\text{кисл})}{\Delta pH \cdot V_{\text{буф.розч}}},$$

$$V_{\text{осн}} = \frac{C_N(\text{основи}) \cdot V(\text{основи})}{\Delta pH \cdot V_{\text{буф.розч}}}.$$

Буферна ємність залежить від концентрації компонентів системи та їх співвідношення. Чим вища концентрація вихідних речовин, тим більша буферна ємність. Вона максимальна при відношенні компонентів 1:1.

Біохімічні реакції проходять при певних значеннях рН. Тому вибір буферної системи (наприклад фізіологічного розчину) залежить від величини сталої дисоціації слабкої кислоти або слабкої основи. Так, при співвідношенні [кислота] : [сіль] = 10 : 1 або 1 : 10 маємо

$$pH = pK_a \pm 1.$$

Потрібно враховувати природу компонентів, оскільки досліджувані речовини можуть утворювати важкорозчинні осадки або комплекси у буферному середовищі. Так, фосфатні та карбонатні буферні системи можуть при рН 7-9 осаджувати кальцій.

Буферні системи організму

Фізіологічні розчини організму (кров, лімфа, шлунковий сік, сеча) характеризуються постійністю концентрації іонів водню. Це явище називається *ізогідрією*. В організмі внаслідок

метаболізму утворюється багато різних кислот: піровиноградна, молочна, лимонна та інші, які з катіонами створюють буферні системи.

Головним джерелом іонів водню в організмі є CO_2 (15000 ммоль/добу), який утворюється внаслідок метаболізму, наприклад декарбоксілювання кислот.



Організм людини постійно зазнає навантаження через надлишок іонів водню, що компенсується такими основними буферними системами: гідрокарбонатною, фосфатною, гемоглобіною, оксигемоглобіною, білковою. Дія їх в організмі взаємопов'язана і забезпечує постійність рН у крові, клітинах, міжклітинній рідині, плазмі.

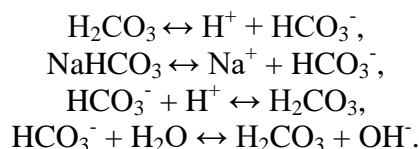
Буферні системи крові є буферними системами плазми (гідрокарбонатна, фосфатна, білкова) і еритроцитів (гемоглобінова, гідрокарбонатна, система органічних фосфатів). Буферні ємності окремих буферів крові наведені в табл. 2.4

Таблиця 2.4 - Буферна ємність окремих буферів крові

Назва буферної системи	відсоток відносної буферної ємності
Гемоглобін і оксигемоглобін	35
Гідрокарбонат плазми	35
Гідрокарбонат еритроциту	18
Білки плазми	7
Органічні фосфати	3
Неорганічні фосфати	2



Гідрогенкарбонатна буферна система (H_2CO_3 , NaHCO_3) забезпечує приблизно 55% буферної ємності крові.



Кислотно-основний стан буферної системи оцінюють за рівнянням Гендерсона-Гассельбаха

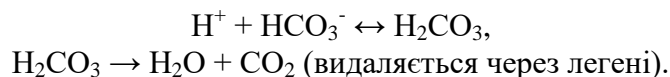
$$pH = pKa + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]},$$

$$pH = pKa + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{K \cdot P_{\text{CO}_2}},$$

де P_{CO_2} – парціальний тиск CO_2 у крові, який в нормі становить приблизно 5,3 КПа, що відповідає концентрації CO_2 – 1,2 ммоль/л; K – стала, яка в нормі дорівнює 0,23.

Розрахунки показали, що рН гідрогенкарбонатного буфера крові дорівнює 7,40. Кислотно-основний стан крові визначається величиною рН, концентрацією іонів HCO_3^- і тиском CO_2 у крові. Співвідношення у позаклітинній рідині $[\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_2] = 20 : 1$.

Зниження відношення $[\text{HCO}_3^-] / [\text{CO}_2]$, тобто зсув у кислу область, призводить до *ацидозу*, а підвищення цього відношення приводить до *алкалозу*. Ацидоз трапляється частіше внаслідок утворення іонів водню при проходженні метаболізму:



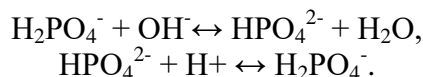
Нова кількість гідрокарбонат-іонів виробляється у нирках. У регуляції кислотно-основного стану крові беруть участь і легені.

Метаболічні порушення, які часто мають безсимптомний перебіг (ацидоз, алкалоз), викликають чисельні захворювання і потребують клінічного контролю.

Респіраторні порушення кислотно-основного стану виникають за рахунок зміни CO_2 , клінічно легко визначаються вимірюванням P_{CO_2} .

Фосфатна буферна система.

Вона функціонує в крові та міжклітинній рідині (особливо в нирках). У клітинах представлена солями KH_2PO_4 і K_2HPO_4 , а в плазмі крові та міжклітинній рідині – NaH_2PO_4 і Na_2HPO_4 .



Фосфатна буферна система записується так:

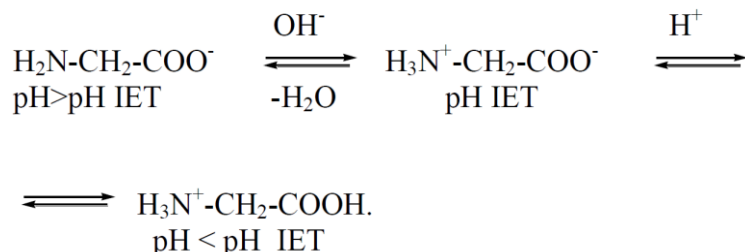
$$\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4 = 9 : 1, \quad \text{pH } 5,91$$

$$\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4 = 1 : 9, \quad \text{pH } 7,73$$

$$\Delta\text{pH} = 1,82$$

Співвідношення $\text{HPO}_4^{2-} : \text{H}_2\text{PO}_4^- = 4 : 1$.

Білкова буферна система є амфотерною, оскільки до складу білка входять α -амінокислоти, які вміщують кислотні групи (COOH , $+\text{NH}_3$) і основні групи ($-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$). У біполярному іоні кількість аміногруп дорівнює кількості карбоксильних груп (ізоелектрична точка, ІЕТ).

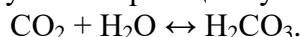


З наведеного рівняння бачимо механізм білкової буферної системи. Білки і гемоглобін є полівалентними аніонами і зсувають рН крові в лужну область (рН крові 7,36 у нормі). Роль білкової буферної системи в крові дуже незначна (табл.2.4).

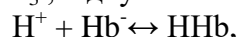
Гемоглобін-оксигемоглобінова буферна система функціонує в еритроцитах сумісно з бікарбонатною буферною системою. За силою своєї кислоти або основи ці буферні системи можна розмістити так:



Діоксид вуглецю виділяється у кров різними тканинами. Молекули CO_2 дифундують крізь мембрану в еритроцити, де відбувається реакція з участю ферменту карбоангідрази

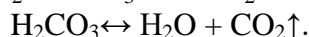
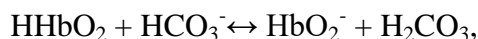


Внаслідок дисоціації $\text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$, відбувається реакція

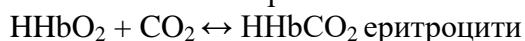


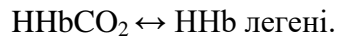
через те, що Hb^- є більш сильною спряженою основою ніж HCO_3^- , HbO_2^- .

В еритроцитах збільшується концентрація гідрокарбонат-іонів, які дифундують у позаклітинну рідину і переносяться до легенів, де проходять процеси з виділенням CO_2 , легенями у повітря

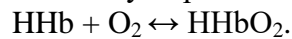


Частина CO_2 зв'язується з гемоглобіном і теж переноситься в легені, де відбувається

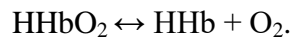




У легенях відбувається оксигенація гемоглобіну, що сприяє підтримці рН буферного розчину за рахунок більшої сили кислоти оксигемоглобіну порівняно з гемоглобіном



За рахунок низького парціального тиску кисню оксигемоглобін дисоціює з утворенням кисню, який дифундує у клітини.



Утворений гемоглобін також не зсуває рН середовища внаслідок надходження у кров вуглекислого газу (вуглекислоти).

КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ СТАН КРОВІ

Кислотно-основна рівновага є однією з найважливіших характеристик внутрішнього середовища організму. Кислотно-основною рівновагою називають співвідношення концентрацій гідроген- і гідроксил-йонів у біологічному середовищі. рН крові 7,40 – артеріальна, 7,35 – венозна, концентрація йонів Гідрогену в організмі людини приблизно в 17 разів менша від концентрації гідроксильних йонів. Не дивлячись на те, що в процесі обміну речовин постійно утворюють продукти кислого й основного характеру, рН крові практично залишається незмінним. Це має дуже важливе значення, оскільки організм людини надзвичайно чутливий до зміни рН. Для корекції кислотно-основної рівноваги у клініці при ацидозі (підвищена кислотність крові) використовують 4% розчин натрію гідрогенкарбонату внутрішньовенно. Корекція при алкалозі (підвищена лужність) складніша. У простих випадках коригують 5% розчином аскорбінової кислоти.

Основну частину білків плазми крові (90%) становлять альбуміни й глобуліни. Буферна ємність, що зумовлена білками плазми, залежить від концентрації білків, їх вторинної й третинної структури, числа вільних протон-акцепторних груп. Ця система може нейтралізувати як кислоти, так й основні продукти. Ізоелектричні точки цих білків (коли вони згортаються і втрачають свої властивості) знаходяться у діапазоні рН 4,9-6,3, тому за фізіологічних умов при рН = 7,4 білки перебувають переважно в основній формі, тому буферна ємність їх значно вища за кислотою й становить для альбумінів 10 ммоль/л, а для глобулінів – 3 ммоль/л. Буферна ємність вільних амінокислот плазми крові незначна як за кислотою, так і за лугом. Це пов'язано з тим, що майже всі амінокислоти мають значення рКа далекі від рКа = 7. Тому при фізіологічному значенні рН їх потужність мала. Практично тільки одна амінокислота – гістидин (рКа=6,0) має значну буферну дію при значеннях рН, близьких до рН плазми крові. Отже, потужність буферних систем плазми крові зменшується в ряду:



У внутрішньому середовищі еритроцитів (червоні клітини крові які містять білок гемоглобін) у нормі рН становить 7,25, який підтримується за рахунок гідрогенкарбонатної, фосфатної, гемоглобінової й оксигемоглобінової систем (дивись вище). Крім того, в еритроцитах білкова система гемоглобін-оксигемоглобін відіграє важливу роль у процесі дихання – транспортна функція щодо переносу кисню до тканин і органів й видаленню з них метаболічного CO_2 . Співвідношення концентрацій компонентів гідрогенкарбонатної системи в еритроцитах менше, ніж у плазмі крові, проте ця система ефективно підтримує сталість рН. Фосфатна буферна система відіграє в клітинах крові важливішу роль, ніж у плазмі крові. Насамперед, це пов'язано з більшим вмістом в еритроцитах неорганічних фосфатів. До того ж велике значення в підтримці сталого рН мають фосфоліпіди, що становлять основу мембран еритроцитів.