

Кафедра биологической химии с курсами медицинской,
фармакологической и токсикологической химии

Тема: Буферные растворы

Лекция №2 для студентов 1 курса,
обучающихся по специальности
060101-Лечебное дело

Лектор: к.б.н. доцент
Оловянная Раиса Яковлевна

Красноярск, 2015

Актуальность

- Сохранение постоянства кислотности жидких сред имеет для жизнедеятельности человеческого организма первостепенное значение
- Даже небольшие изменения концентрации ионов водорода в крови и межтканевых жидкостях ощутимо влияют на биологическую активность ферментов и гормонов, а также на величину осмотического давления в этих жидкостях
- Решающую роль в регулировании рН играют буферные системы

АКТУАЛЬНОСТЬ

- Кроме того, в медицинской практике часто возникает необходимость в приготовлении буферных растворов, способных поддерживать постоянное значение рН, например,
 - для введения этих растворов в организм;
 - для моделирования в лабораторных условиях биопроцессов;
 - в клиническом анализе и т.д.

Цель лекции

- Рассмотреть теоретические основы протолитического гомеостаза в организме и причины его нарушения
- Показать теоретические подходы для диагностики и коррекции ацидемии и алкалиемии.

План лекции

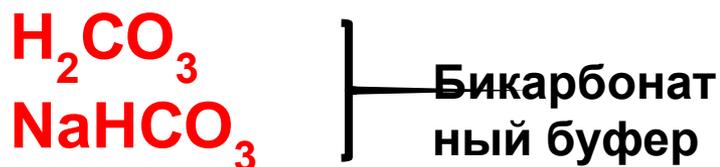
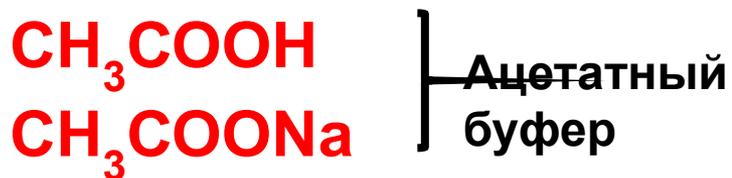
1. Актуальность темы
2. Понятия и типы буферных растворов, механизм их действия
3. Приготовление буферных растворов
4. Буферная емкость
5. Кислотно-основное равновесие в организме и его нарушения
6. Выводы

ПОНЯТИЕ БУФЕРА

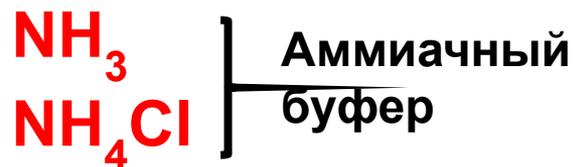
- **БУФЕРНЫЕ РАСТВОРЫ** – ЭТО РАСТВОРЫ, рН которых мало меняется при добавлении сильных кислот или сильных оснований (щелочей), а также при разбавлении водой.

По своему составу буферные растворы можно разделить на три типа:

- **Кислотный буфер** – *образован слабой кислотой и её солью*, например,

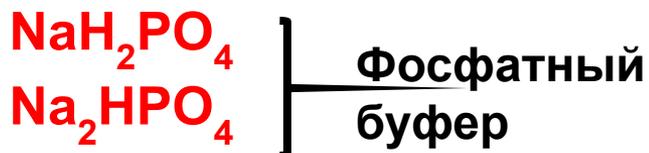


- **Основной буфер** – *образован слабым основанием и его солью*, например,



- **Солевой буфер**

– *образован двумя солями, одна из которых выполняет роль слабой кислоты, а другая – сопряженного ей основания*, например,



Приготовить такие буферные растворы можно просто путём сливания двух соответствующих растворов.

При этом будут совмещаться два равновесия:

✓ Диссоциация слабого электролита (1) и

✓ Гидролиз по его сопряженному иону (2):

Так в ацетатном буфере:



Благодаря совмещению равновесий

ДОБАВЛЕНИЕ РАСТВОРА СОЛИ к буферу не приведет к смещению равновесия реакции диссоциации уксусной кислоты влево.

Этому препятствует HO^- , который появляется при гидролизе соли по аниону.

И наоборот, ДОБАВЛЕНИЕ КИСЛОТЫ к буферу не приведет к смещению равновесия реакции гидролиза соли влево,

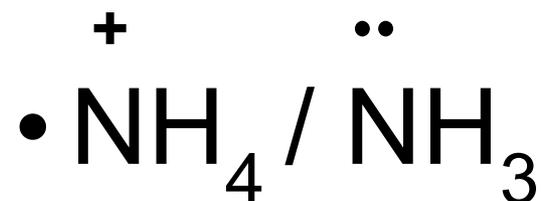
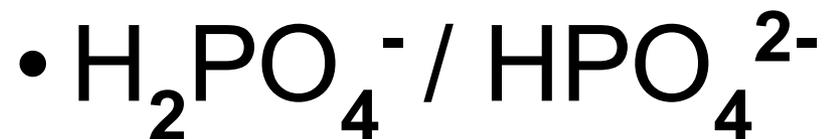
Этому препятствуют H^+ , образующийся при диссоциации слабой кислоты.

Понятие буфера

(продолжение)

- Если пренебречь диссоциацией слабой кислоты и гидролизом соли, то *буфер будет представлять собой ни что иное, как **сопряженную кислотно-основную пару, компоненты которой находятся в соотношении 1:1 или один из компонентов этой пары может преобладать над другим в 10 раз.***

АН/А⁻ или ⁺ВН/В^{..}



Ограничения, накладываемые на буферную систему:

- ✓ Кислота в ней не должна быть слишком сильной ($pK_a < 3$), так как в этом случае нельзя пренебречь диссоциацией кислоты;
- ✓ Кислота в ней не должна быть и слишком слабой ($pK_a > 11$), так как в этом случае нельзя пренебречь гидролизом соли (ведь очень слабой кислоте будет соответствовать очень сильное сопряженное основание, по которому идет гидролиз).

рН буфера

(уравнение Гендерсона-Гассельбаха)

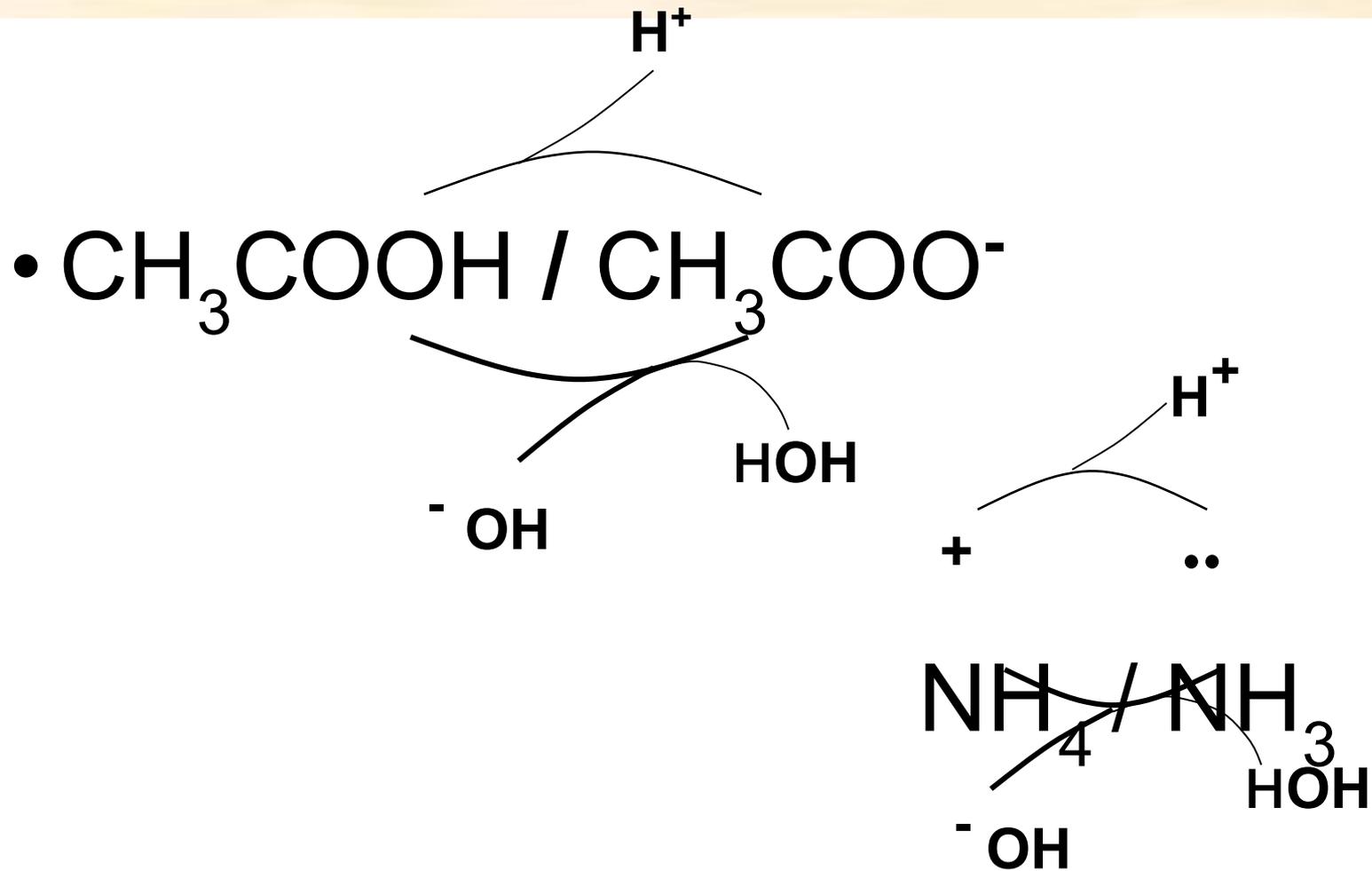
$$\bullet \text{ рН}_6 = \text{рК}_a(\text{к-та/осн.}) + \lg \frac{[\text{основание}]}{[\text{кислота}]}$$

Это обобщенное уравнение для любого буфера, как кислотного, так и основного.

Оно показывает, что рН буферного раствора зависит:

- от природы сопряж. кислотно-основной пары (через её рК_a)*
- от температуры (также через рК_a)*
- от соотношения равновесных молярных концентраций основания и кислоты*

Механизм действия буфера



или в виде химических реакций

- $\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH}$
- $\text{CH}_3\text{COONa} + \text{HCl} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaCl}$
- $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{OH}^- \rightarrow \text{HOH} + \text{CH}_3\text{COO}^-$
- $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{NaOH} \rightarrow \text{HOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$

- $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+$
- $\text{NH}_3 + \text{HCl} \rightarrow \text{NH}_4\text{Cl}$
- $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{HOH} + \text{NH}_3$
- $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NaOH} \rightarrow \text{HOH} + \text{NH}_3 + \text{NaCl}$

Приготовление буферного раствора (по заданному рН)

- Используется уравнение Гендерсона – Гассельбаха, где равновесные молярные концентрации компонентов буфера выражены через их аналитические концентрации и объёмы:

- $$\text{pH}_6 = \text{pK}_a(\text{к-та/осн.}) + \lg \frac{C \cdot V(\text{осн})}{C \cdot V(\text{к-ты})}$$

Если $C_M(\text{осн}) = C_M(\text{к-ты})$, то уравнение примет более простой вид:

- $$\text{pH}_6 = \text{pK}_a(\text{к-та/осн.}) + \lg \frac{V(\text{осн})}{V(\text{к-ты})}$$

Отсюда можно вычислить отношение
объемов компонентов буфера

$$\bullet \underbrace{pH - pK_a}_{\Delta pH} = \lg \frac{V(\text{осн})}{V(\text{к-ты})}$$

$$\frac{V(\text{осн})}{V(\text{к-ты})} = \text{anti } \lg \Delta pH$$

Остается научиться брать антилогарифмы

Как определить объемы компонентов буфера ?

- Если знаем отношение объемов компонентов и объём всего буфера, то нетрудно доказать, что

$$V_{\text{к}} = \frac{V (\text{буфера})}{1 + a \lg \Delta \text{pH}}$$

$$V_{\text{о}} = V (\text{буфера}) - V_{\text{к}}$$

Решим задачу

- Приготовить 50 мл аммиачного буфера с рН 8,8 из растворов двух его компонентов равной концентрации.
- Решение:

$$V(^+\text{NH}_4) = \frac{V(^+\text{NH}_4 / \text{NH}_3)}{1 + a \lg \Delta \text{pH}} = \frac{50}{1 + a \lg \underbrace{(8,8 - 9,24)}_{-0,44}}$$

$$a \lg -0,44 = a \lg 1,56 = 10^{-1} \cdot 3,6 = 0,36$$

- Можно это вычислять по-другому:
 $\text{alg } -0,44 = 10^{-0,44} = 10^{-1} \cdot 10^{0,56} = 3,6 \cdot 10^{-1}$

- $V(\overset{+}{\text{N}}\text{H}_4) = \frac{50}{1+0,36} = 36,76 \text{ мл}$

- $V(\text{NH}_3) = 50 - 36,76 = 13,24 \text{ мл}$

Ответ: $V(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 13,24 \text{ мл}$

$V(\overset{+}{\text{N}}\text{H}_4\text{Cl}) = 36,76 \text{ мл}$

Буферная емкость

- Ёмкость по основанию:

$$V_o = \frac{C_э \cdot V (\text{осн})}{V(\text{буф}) \cdot \Delta \text{pH}}$$

моль / л

Указывает на количество эквивалентов кислоты в буфере

- Ёмкость по кислоте:

$$V_k = \frac{C_э \cdot V (\text{к-ты})}{V(\text{буф}) \cdot \Delta \text{pH}}$$

моль / л

Указывает на количество эквивалентов основания в буфере

Для нормальной сыворотки крови

• $V_k = 0,029$ моль/л
или 29 ммоль/л

• $V_o = 0,012$ моль/л
или 12 ммоль/л



**Вывод: в крови преобладают
основные компоненты**

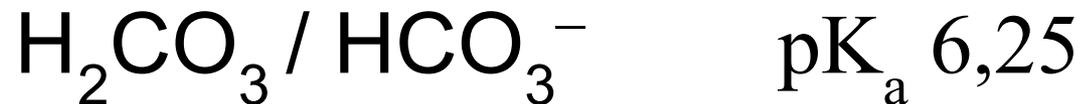
**Это имеет биологический смысл, так
как в кровь поступает больше
кислот (продуктов катаболизма), чем
оснований (аммиак, мочеви́на, креатинин и
некоторые другие)**

Буферные растворы организма

- Постоянство рН крови ($7,36 \pm 0,04$) обеспечивается буферными системами крови сопряженно с работой легких и почек.
- Буферные системы крови неравномерно распределены между плазмой и эритроцитами.

В плазме

- **Гидрокарбонатный буфер**



- **Фосфатный буфер**

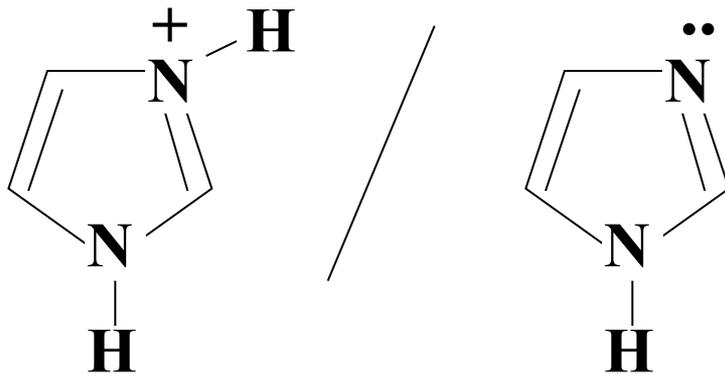


- **Белковый буфер**

HPt / Pt^- работает сопряженно с бикарбонатной системой.

- **Аминокислотный буфер**

вероятнее всего, гистидиновый



pK_a 7,0

В эритроцитах

- **Гемоглобиновый буфер** в двух вариантах:



Гемоглобиновый-оксигемоглобиновый буфер составляет 75 % всей буферной емкости эритроцитов

В эритроцитах

- **Гидрокарбонатный буфер**

работает сопряженно с гемоглобиновым

- **Фосфатный буфер** (*незначительная буферная емкость*)

здесь могут быть:

а) неорганические фосфатные
буферные пары

б) органические фосфатные буферные
пары

В других тканях организма

- В моче, межклеточной жидкости **фосфатная буферная система** будет играть более важную роль, чем в крови.
- Предполагают, что в тканях может существовать также **аминокислотная и пептидная буферная система** (дипептиды карнозин, ансерин)
- В почках может работать **аммиачная буферная система**, но в сопряжении с фосфатной и гидрокарбонатной.

Гидрокарбонатная буферная система

- Согласно уравнению Гендерсона-Гассельбаха,

$$\text{pH} = \text{pK}_a(\text{H}_2\text{CO}_3 / \text{HCO}_3^-) + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} =$$

6,4 при 25 °C
6,1 при 37 °C

$$= \mathbf{6,1} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\mathbf{S \cdot P_{CO_2}}},$$

Растворимая в воде часть CO₂

где **S** – коэффициент растворимости CO₂ в крови, равный 0,033 (коэфф. Будзена),

P_{CO₂} – равновесное парциальное давление CO₂

- Знание этого уравнения совершенно необходимо для понимания того, как будут развиваться ацидозы и алкалозы.
- На основе этого уравнения можно также подсчитать, каким должно быть соотношение бикарбоната и угольной кислоты, чтобы обеспечить рН 7,4:

$$7,4 = 6,1 + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$7,4 - 6,1 = \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad \text{и отсюда}$$

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = \text{anti}\lg 1,3 = 10^1 \cdot 2 = 20 \text{ раз}$$

Таким образом, в плазме крови преобладает основной компонент бикарбонатного буфера.

- **Вот почему физиологи говорят о «щелочном резерве организма»**
- ***Избыток HCO_3^- – есть щелочной резерв организма.***

- Понятно, что емкость по кислоте V_K такой буферной системы будет больше, чем емкость по основанию V_O
- Итак, если бы бикарбонатный буфер один поддерживал pH 7,4, то основной (солевой) компонент должен был преобладать над кислотным в 20 раз.
- Реально это отношение меньше (10,2), что можно объяснить сопряжением с другими системами, в том числе, системой транспорта HCO_3^- в эритроциты.

- Этим же способом можно было показать, что в эритроцитах (где рН 7,2) отношение

$$\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 12,6$$

$$\frac{[\text{Hb}^-]}{[\text{HHb}]} = 0,14$$

$$\frac{[\text{Hb} \cdot \text{O}_2^-]}{[\text{HHb} \cdot \text{O}_2]} = 2,57$$

- И таким образом, в венозной крови преобладает кислотная форма гемоглобина HНb, а в артериальной – основная (солевая) форма оксигемоглобина $\text{Hb} \cdot \text{O}_2^-$
- При поступлении H^+ в кровь в работу включается в первую очередь бикарбонатная буферная система:



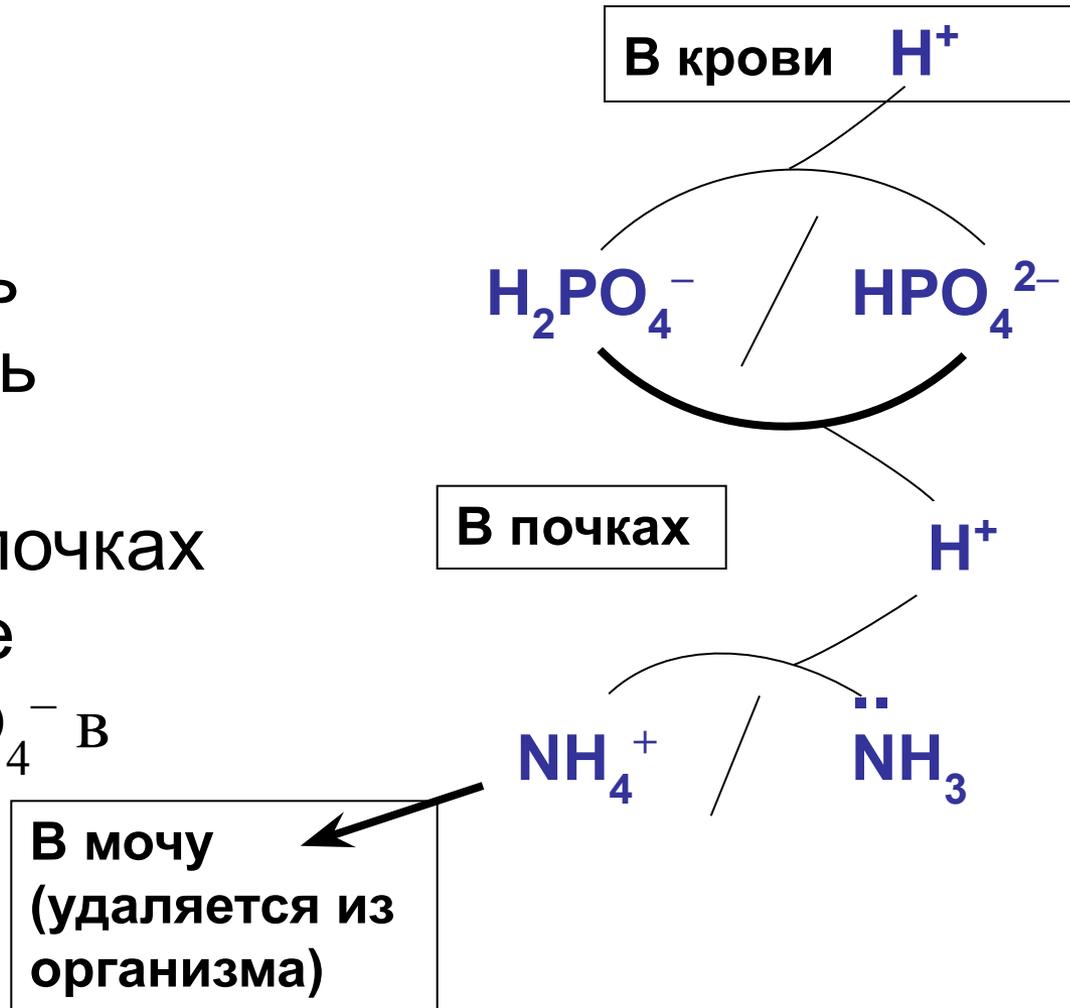
CO_2 выводится через легкие

- Вентиляция легких сдвигает равновесие вправо.
- Таким образом, легкие помогают удалять протоны H^+
- **Гидрокарбонатная система – это система быстрого реагирования**, так как продукт её деятельности H_2CO_3 , возникший при защите от кислот, дает CO_2 , который быстро удаляется через легкие.

Работа аммиачной буферной системы в сопряжении с фосфатной в почках

- В почках есть ферментативные системы, производящие **аммиак** $\ddot{\text{N}}\text{H}_3$ (из аминокислоты глутамина) и **гидрофосфат** HPO_4^{2-} (из органических фосфатов), который подается в кровь.
- Из крови в почки поступает H_2PO_4^- и отдает свой H^+ на $\ddot{\text{N}}\text{H}_3$. Образовавшийся NH_4^+ транспортируется в мочу и выводится из организма.

- Это дает возможность восстановить отношение $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ в почках и отношение $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ в крови.



Отсюда видна важная роль почек в элиминировании H^+

Нарушения кислотно-основного равновесия

- Изменение рН на 0,2 – 0,3 единицы приводит к серьезным патологическим нарушениям
- Сдвиг рН на 0,6 единиц является смертельным.
 - изменяется структура белков и их функции
 - запускается неферментативный катализ нежелательных органических реакций

- Включение буферных систем в компенсацию возникших сдвигов в концентрации H^+ самое быстрое (10 – 15 мин).
- Легочная вентиляция включается через 10 – 18 часов и приводит к стабилизации отношения $[HCO_3^-]/S \cdot P_{CO_2}$
- Почечная компенсация включается в течение 2–3 суток и связана с включением ряда дополнительных ферментативных процессов.

Виды нарушения КОР

Состояние	pH	P _{CO₂} , мм рт.ст.
Норма	7,36 ± 0,04	40
1. Метаболический ацидоз	<7,4	≤ 40
2. Метаболический алкалоз	>7,4	≥ 40
3. Дыхательный ацидоз	<7,4	>40
4. Дыхательный алкалоз	>7,4	<40

Метаболический ацидоз

- Характеризуется относительным избытком нелетучей кислоты H_2CO_3 или относительным дефицитом HCO_3^-
- Причины
 - Нарушение кровообращения,
 - Кислородное голодание
 - Диарея
 - Нарушение выделительной функции почек
 - Диабет

Метаболический алкалоз

- Характеризуется удалением молекул кислот или накоплением буферных оснований, включая содержание HCO_3^-
- Причины
 - Неукротимая рвота, удаление кислых продуктов из желудка
 - Запор (накопление щелочных продуктов в кишечнике)
 - Длит. прием щелоч. пищи и минерал.воды

Респираторный (газовый) ацидоз

- Характеризуется пониженной скоростью вентиляции легких по сравнению со скоростью образования CO_2 .
- Причины
 - Заболевания органов дыхания
 - Гиповентиляция легких
 - Угнетение дыхательного центра некоторыми препаратами, например, барбитуратами

Респираторный (газовый) алкалоз

- Характеризуется повышенной скоростью вентиляции легких по сравнению со скоростью образования метаболического CO_2 .
- Причины
 - Вдыхание разреженного воздуха
 - Чрезмерное возбуждение дыхательного центра вследствие поражения мозга,
 - Гипервентиляция легких
 - Развитие тепловой одышки

Коррекция нарушений КОР

- Прежде всего выясняются причины: нарушение процессов дыхания (при респираторном ацидозе или алкалозе) или процессов пищеварения и выделения (при метаболическом ацидозе или алкалозе)
- Для устранения алкалоза иногда используют 5% раствор аскорбиновой кислоты, частично нейтрализованный гидрокарбонатом натрия до рН 6 - 7

Коррекция нарушений КОР (продолжение)

- При ацидозе в качестве экстренной мере используют в/в вливание 4-8 % растворов гидрокарбоната натрия, но лучше вводить 3,66% водный трисамин $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ или 11% лактат натрия. Последние средства, нейтрализуя кислоты, не выделяют CO_2 , что повышает их эффективность

Литература

Основная:

1. Слесарев В.И. – Химия: Основы химии живого: Учебник для вузов. – 3-е изд., испр. – СПб: Химиздат. – 2007. – 784с

Дополнительная:

- Пузаков С.А. – Химия: Учебник, 2-е изд. испр. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа Медицина, - 2006. – 624 с
- Артеменко А.И. – Справочное руководство по химии. – М.: Высшая школа, 2003

Литература

Электронные ресурсы:

1. Электронный каталог Крас ГМУ
2. Электронная библиотека по дисциплине химия: общая и неорганическая.-/ гл. ред. М.А. Пальцев.-М.: Русский врач, 2005
3. Ресурсы Интернет

КОНЕЦ ЛЕКЦИИ

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ