

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БУФЕРНІ СИСТЕМИ, ЇХ БІОЛОГІЧНА РОЛЬ

Методичні вказівки для самостійної роботи студентів I курсу з дисципліни
«Медична хімія»

«Затверджено»
Вченою радою Харківського
національного медичного
університету
Протокол №11
від 27 листопада 2014 р.

Харків 2014

Буферні системи, їх біологічна роль: Метод. вказ. для студентів 1-го курсу / уклад. Г.О. Сирова, В.М. Петюніна, О.Л. Левашова, Л.Г. Шаповал, Є.Р. Грабовецька, С.В. Андрєєва, В.О. Макаров, Л.В. Лук'янова, С.М. Козуб, С.А. Наконечна, Т.С. Тішакова, Р.О. Бачинський, О.В. Савельєва, Н.В. Копотєва, Н.М. Чаленко. – Харків: ХНМУ, 2014. – 17 с.

Укладачі:

Г.О. Сирова,

В.М. Петюніна

О.Л. Левашова

Л.Г. Шаповал

Є.Р. Грабовецька

С.В. Андрєєва

В.О. Макаров

Л.В. Лук'янова

С.М. Козуб

С.А. Наконечна

Т.С. Тішакова

Р.О. Бачинський

О.В. Савельєва

Н.В. Копотєва

Н.М. Чаленко.

ТЕМА ЗАНЯТТЯ «БУФЕРНІ СИСТЕМИ, ЇХ БІОЛОГІЧНА РОЛЬ»

1. Кількість годин 2

2. Матеріальне та методичне забезпечення теми.

Таблиці:

1. Графологічна структура теми.

2. Класифікація буферних розчинів.

3. Вивчення Гендерсона-Гассельбаха для розрахунку рН буферних розчинів.

4. Буферні системи організму.

Мультимедійне забезпечення (презентація, навчальний фільм).

Навчально-методична література:

1. Медична хімія : підручник / В.О. Калібабчук, І.С. Чекман, Г.О. Сирова, В.І. Галинська та ін.; за ред. проф. В.О. Калібабчук. – К.: ВСВ «Медицина», 2013. – 336 с. (Затверджено Міністерством освіти і науки України (лист МОН України №1/11-1152 від 05.02.13) та Міністерством охорони здоров'я України як базовий підручник для студентів вищих навчальних закладів IV рівня акредитації (напрями «Лікувальна справа» та «Стоматологія»).

2. Завгородній І.В., Сирова Г.О., Ткачук Н.М. та ін. Медична хімія. Навчальний посібник рекомендований МОЗ та МОН України як навчальний посібник для самостійної роботи студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації, Харків, ХНМУ, 2010. – 268 с.

3. Робочий зошит для самостійної роботи студентів з курсу «Медична хімія» Харків, ХНМУ, 2013. – 72 с.

4. Методичні вказівки для самостійної роботи студентів з курсу «Медична хімія» за темою «Буферні системи, їх біологічна роль».

5. Конспект лекції.

Лабораторний посуд та реактиви для проведення лабораторної роботи «Вивчення властивостей буферних розчинів з допомогою потенціометрії» (штативи з бюретками, розчини 0,2М CH_3COOH та CH_3COONa , 0,2М NaH_2PO_4 та Na_2HPO_4 , рН-метр, розчини 0,01М HCl та NaOH , піпетки, хімічні стакани.

3. Обґрунтування теми. Значення рН внутрішніх середовищ організму характеризується значною сталістю й стійкістю. Це має першорядне значення, тому що іони гідрогену каталітично діють на багато біохімічних перетворень, ферменти й гормони активні тільки за певним значенням рН. Навіть невеликі зміни концентрації іонів гідрогену в крові й міжтканинних рідинах відчутно впливають на величину осмотичного тиску в цих рідинах. За нормальним функціонуванням організм успішно справляється з кислотно-основними коливаннями й підтримує сталість рН внутрішніх середовищ за допомогою фізіологічних (нирки, печінка, легені, кишки) і фізико-хімічних (буферні системи організму) механізмів компенсації.

4. Мета заняття:

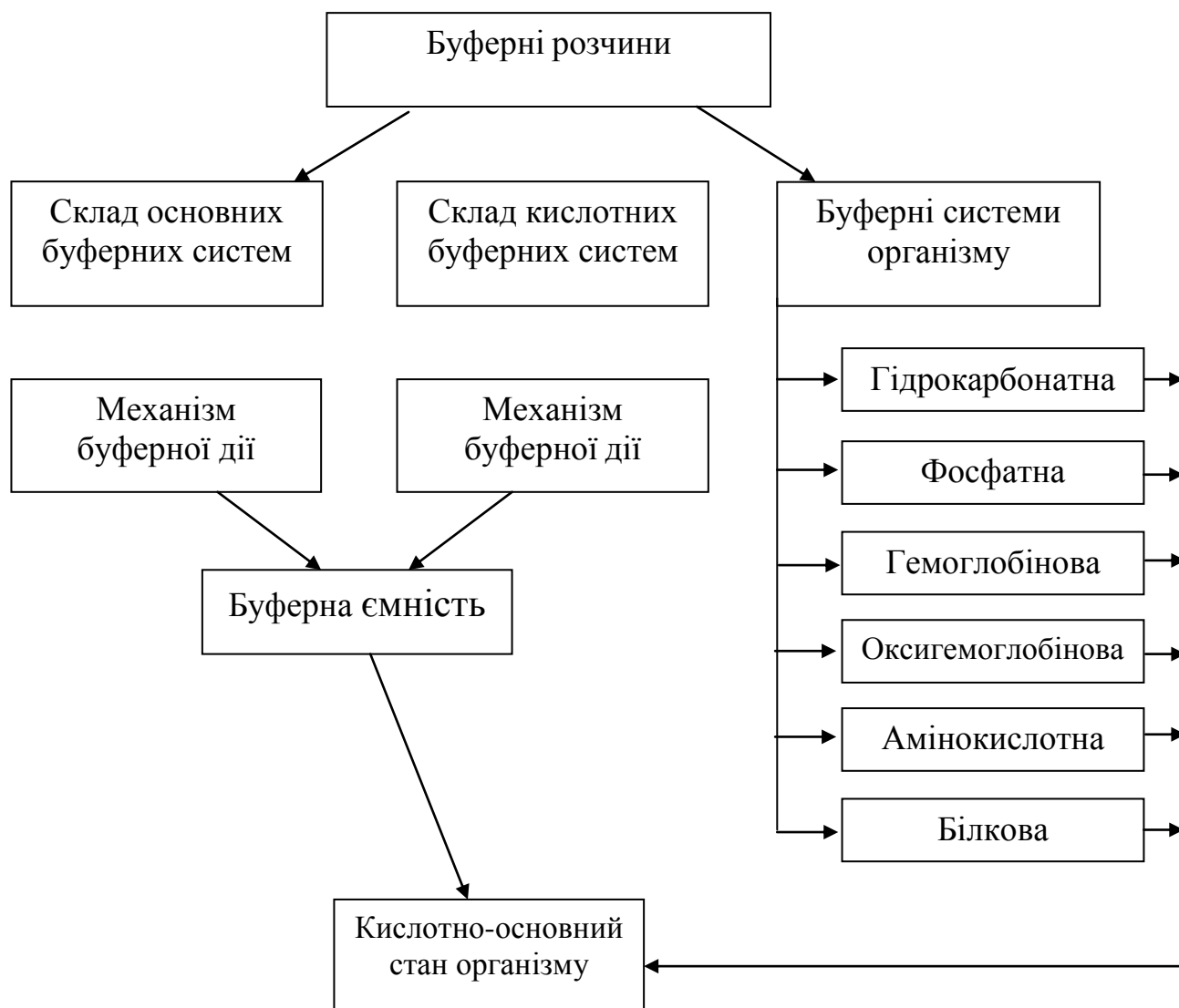
- загальна: вміти пояснювати механізм дії буферних систем і їх роль у підтримці кислотно-основної рівноваги в біосистемах;

- конкретна: пояснювати механізм дії буферних систем та їх роль в підтримці кислотно-основної рівноваги в біосистемах;

а) **знати:** класифікацію буферних розчинів у залежності від їх складу, механізм буферної дії буферних систем організму і їх взаємозв'язок;

б) **вміти:** характеризувати механізм буферної дії буферних систем організму і їх взаємозв'язок; розраховувати рН буферних систем, а також Δ рН за умов додавання до буферних систем сильної кислоти або лугу; розраховувати буферну ємність буферних систем; розраховувати об'єми компонентів, необхідні для приготування буферних розчинів.

5. Графологічна структура теми.



6. Орієнтована карта роботи студентів.

№ п.п	Етапи	Час у хв.	Навчальні й наочні засоби	Місце проведення
1.	Мотиваційна характеристика та план теми. Відповіді на питання студентів	25	Навчальний посібник (робочий зошит)	Навчальна кімната
2.	Самостійна робота студентів з методичною літературою, рішення навчальних завдань	35	Методичні вказівки для студентів, тексти лекцій, навчальний посібник для самостійної роботи студентів, довідкові дані, таблиці	
3.	Виконання лабораторної роботи	10	Методичні вказівки для студентів, тексти лекцій, навчальний посібник для самостійної роботи студентів, довідкові дані, таблиці	
4.	Контроль знань	15		
5.	Аналіз і підведення підсумків заняття	4		
6.	Домашнє завдання	1		

7. Завдання для самостійної роботи:

- перелік питань, що підлягають вивченню:

На практичному занятті слід розглянути наступні теоретичні питання:

1. Буферні розчини, їх класифікація.
2. Механізм буферної дії.
3. Рівняння Гендерсона-Гассельбаха для розрахунку рН буферних розчинів.
4. Буферна ємність і визначальні її фактори.

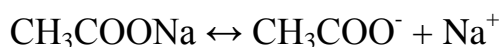
5. Буферні системи організму.
6. Поняття про кислотно–основний стан крові.

Буферні розчини – це розчини, які здатні досить стійко зберігати сталість концентрації іонів гідрогену при додаванні до них деякої кількості сильної кислоти або лугу, при розведенні або концентруванні. Здатність стійко зберігати сталість рН називається буферною дією.

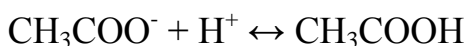
Буферні системи бувають кислотні, основні та амфолітні. Кислотні складаються зі слабкої кислоти і її солі із сильною основою. Основні – зі слабкої основи і її солі із сильною кислотою. Наприклад, ацетатний буферний розчин містить слабку оцтову кислоту й ацетат натрію; аміачний буферний розчин – слабку основу гідроксид амонію й хлорид амонію. Амфолітні – розчини амінокислот або білків.

Процеси, які протікають в ацетатному буферному розчині і їх взаємний вплив

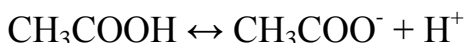
CH_3COONa – сіль, сильний електроліт, який повністю дисоціює на іони



Так як ацетат-іон – іон слабкої кислоти, то у водному розчині він піддається гідролізу з утворенням оцтової кислоти.



Оцтова кислота – слабка кислота, дисоціює в незначній мірі:



Дисоціація її ще більш пригнічується присутністю ацетат-іонів від солі, тому концентрацію непродисоційованої оцтової кислоти можна вважати рівною її молярній концентрації у буферному розчині.

Константна дисоціації оцтової кислоти згідно закону діючих мас піддається рівнянню:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

Звідси: $[\text{H}^+] = K_a \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}$, тобто $[\text{H}^+] = K_a \frac{C_k}{C_c}$.

Знаходимо від'ємний десятинний логарифм цього виразу:

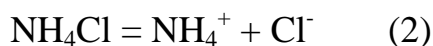
$$- \lg [H^+] = - \lg K_a - \lg \frac{C_k}{C_c} \text{ або}$$

$$pH = pK_a - \lg \frac{v_k}{v_c} = pK_a - \lg \frac{C_k V_k}{C_c V_c}$$

Це є рівняння Гендерсона-Гассельбаха для розрахунку рН кислотного буферного розчину.

Процеси, які протікають в амоніачному буферному розчині і їх взаємний вплив

Амоніачний буферний розчин складається із слабкої основи – амонію гідроксиду та солі – амонію хлориду. Амоній гідроксид дисоціює частково, а амоній хлорид – повністю



Для першої рівноваги записуємо константу дисоціації:

$$K_b = \frac{[NH_4^+][OH^-]}{[NH_4OH]}$$

Для другого процесу справедливий вираз:

$$[NH_4^+] = [Cl^-] = C_c$$

З виразу для константи дисоціації визначаємо концентрацію гідроксид-іонів:

$$[OH^-] = K_b \frac{[NH_4OH]}{[NH_4^+]}$$

Так як сіль продисоціювала повністю концентрація NH_4^+ дорівнює молярній концентрації солі, а концентрація непродисоційованих молекул амоній гідроксиду – вихідній концентрації основи, оскільки дисоціація пригнічена присутністю одноіменних катіонів. Прологарифмувавши вираз, отримуємо рівняння Гендерсона-Гассельбаха для основних буферних систем:

$$pOH = pK_b - \lg \frac{v_{осн}}{v_c} = pK_b - \lg \frac{C_{осн} V_{осн}}{C_c V_c}$$

$$pH = 14 - pOH = 14 - pK_b + \lg \frac{C_{осн} V_{осн}}{C_c V_c}$$

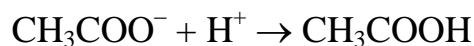
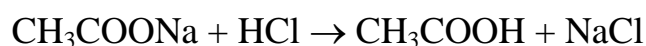
Проаналізувавши рівняння Гендерсона-Гассельбаха, доходимо висновку, що рН буферного розчину залежить від сили кислоти (рК), а також від співвідношення концентрацій компонентів. Виходячи із цього, розведення й концентрування буферного розчину до відомих меж не змінює рН. Цю властивість буферних розчинів використовують при аналізі плазми крові, лімфи, сечі.

Слід відмітити, що рівняння Гендерсона-Гассельбаха не можна застосовувати, якщо:

- концентрація кислоти (основи) і солі відрізняються більш ніж у 100 разів;
- кислота (основа) сильні, так як у цьому випадку не можна нехтувати її дисоціацією;
- кислота (основа) дуже слабка, так як у цьому випадку не можна нехтувати гідролізом солі.

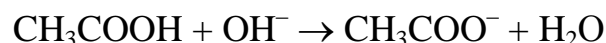
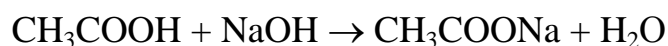
Механізм буферної дії.

При додаванні сильної кислоти до кислої буферної системи вона реагує із сіллю (акцептор протонів) і витісняє еквівалентну кількість слабкої кислоти:



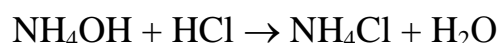
У розчині замість сильної кислоти утворюється слабка кислота й тому величина рН зменшується незначно.

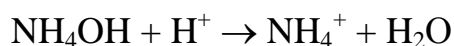
При додаванні до такого ж розчину лугу вона нейтралізується слабкою кислотою (донор протонів) і в розчині з'являється еквівалентна кількість солі, гідроліз якої загальмований присутністю кислоти:



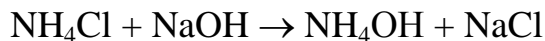
У результаті рН майже не збільшується.

При додаванні до основного буферного розчину сильної кислоти вона буде нейтралізована основою:





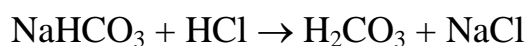
Якщо ж до розчину додати луг, то він взаємодіє із сіллю й у результаті замість сильної основи в розчині утвориться еквівалентна кількість слабкої основи:



У підсумку величина рН в обох випадках змінюється незначно.

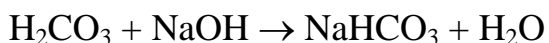
Розрахунок рН буферного розчину після додавання до нього сильної кислоти або лугу впливає з механізму буферної дії.

Додавання сильної кислоти:



$$\text{pH} = \text{pKa} - \lg \frac{C_{\text{K}}V_{\text{K}} + C_{\text{HCl}}V_{\text{HCl}}}{C_{\text{C}}V_{\text{C}} - C_{\text{HCl}}V_{\text{HCl}}}$$

Додавання лугу:



$$\text{pH} = \text{pKa} - \lg \frac{C_{\text{K}}V_{\text{K}} - C_{\text{NaOH}}V_{\text{NaOH}}}{C_{\text{C}}V_{\text{C}} + C_{\text{NaOH}}V_{\text{NaOH}}}$$

Із буферних систем організму найбільшою буферною ємністю характеризуються буферні системи крові. Найважливішими буферними системами крові є гідрокарбонатна, гемоглобінові, оксигемоглобінові та фосфатна.

В результаті обміну речовин в організмі щодобово утворюється кількість кислот еквівалентна 2,5 л концентрованої НСІ. Тим не менш, буферні системи підтримують рН на рівні $7,4 \pm 0,04$.

Гідрокарбонатна (бікарбонатна) буферна система (рН=6,0-8,0) складається зі слабкої карбонатної кислоти та гідрокарбонат іонів:



Величина рН крові залежить від співвідношення концентрацій вільної карбонатної кислоти і натрію гідрокарбонату:

$$pH = pK_1 + \lg \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

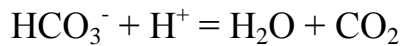
В умовах плазми крові (при 37°C) $pK_1 = 6,1$. Згідно рівняння Гендерсона-Гассельбаха розраховуємо співвідношення концентрацій при $pH = 7,4$:

$$7,4 = 6,1 + \lg \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

$$7,4 - 6,1 = 1,3 = \lg \frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

$$\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]} = \frac{20}{1}$$

Надлишок гідрокарбонат-іонів – лужний резерв крові. При появі у плазмі крові надлишкової кількості кислоти протікає реакція

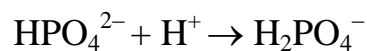
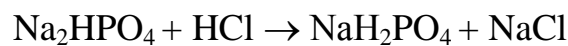


Надлишок CO_2 виводиться з крові через легені. Таким чином, співвідношення $\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$ і значення pH крові не змінюються.

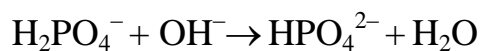
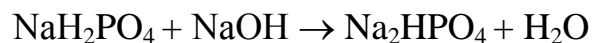
Фосфатна буферна система

Фосфатна буферна система складається із двох солей – дигідрофосфату натрію (слабка кислота) і гідрофосфату натрію (сіль). Міститься у клітинах, сечі, соках травних залоз. Механізм буферної дії можна представити наступною схемою:

– додавання кислоти:



– додавання лугу:



Розрахунок pH фосфатного буфера проводять за рівнянням:

$$pH = 6,8 + \lg \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}$$

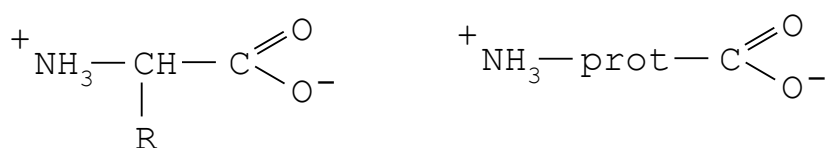
Відношення $\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}$ в плазмі крові дорівнює 4:1 і не змінюється, тому

що при надлишковому нагромадженні будь-якого з компонентів він виділяється із сечею.

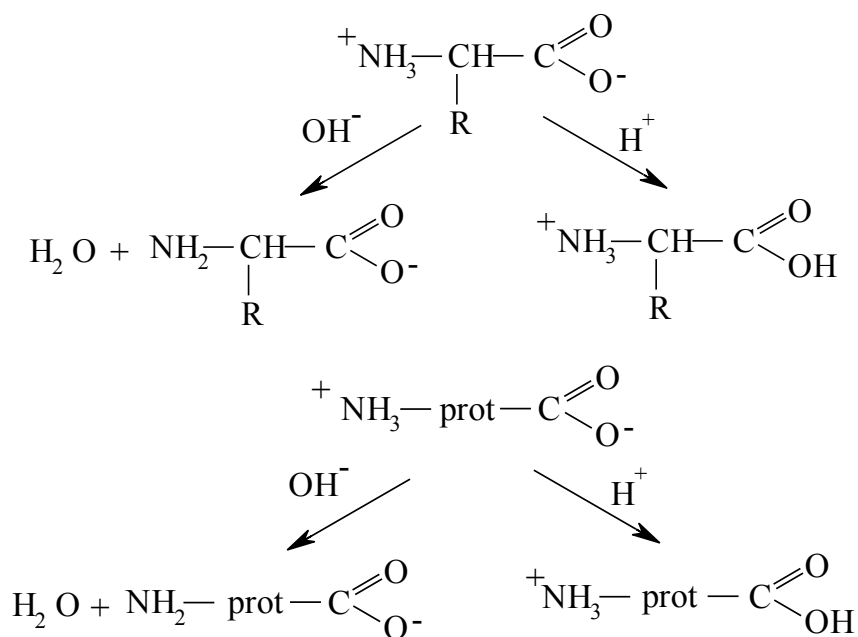
Буферні властивості амінокислот і білків

Амінокислоти й білки – амфоліти, тому що містять у своєму складі групи, які є донорами протонів ($-\text{COOH}$) і акцепторами протонів ($-\text{NH}_2$).

В водних розчинах амінокислоти й білки існують у вигляді внутрішніх солей (цвіттеріонів):



Механізм буферної дії амінокислот і білків відповідає схемі:



Значення рН, при якому амінокислота або білок існують у вигляді цвіттеріонів і при цьому кількість NH_3^+ і COO^- – груп однакові, називається ізоелектричною точкою (ІЕТ). Якщо у молекулі амінокислоти або білка однакова кількість аміногруп і карбоксилів $\text{pH}_{\text{ІЕТ}} \approx 7$. Якщо переважають аміногрупи – $\text{pH}_{\text{ІЕТ}} > 7$; якщо переважають карбоксильні групи – $\text{pH}_{\text{ІЕТ}} < 7$.

В ізоелектричному стані розчини білків дуже нестійкі й легко випадають в осад. При $pH_{\text{середовища}} > pI_{\text{БІЛКІВ}}$ білок перебуває у формі багатовалентних аніонів, при $pH_{\text{середовища}} < pI_{\text{БІЛКІВ}}$ – у формі багатовалентних катіонів.

pH крові зсунуто у лужну область від $pI_{\text{БІЛКІВ}}$ плазми й гемоглобіну, тому ці білки перебувають у крові у вигляді полівалентних аніонів, тобто мають негативний заряд.

З дією буферних систем тісно взаємопов'язане поняття про кислотно-основний стан. Кислотно-основний стан – це невід'ємна складова частина гомеостазу внутрішнього середовища організму, яка забезпечує оптимальні умови правильного плинного обміну речовин.

Кислотно-основний стан організму медики оцінюють за допомогою рівняння Гендерсона-Гассельбаха для гідрокарбонатного буфера крові:

$$pH = 6,1 + \lg [\text{HCO}_3^-] / p\text{CO}_2 ,$$

де $pK = 6,1$ (усереднена величина при $T = 311 \text{ K}$), $p\text{CO}_2$ – тиск вуглекислого газу в крові.

Якщо pH крові дорівнює 7,4, то співвідношення між вмістом гідрокарбонат-іонів у плазмі крові й тиском CO_2 повинне бути 20:1.

У гідрокарбонатної буферної системи найбільший взаємозв'язок з усіма буферними системами організму. Порушення в будь-якій буферній системі впливає на концентрації складових гідрокарбонатної буферної системи, тому зміна її параметрів може досить точно характеризувати стан дихальних або метаболічних порушень, тобто кислотно-основний стан організму. Порушення кислотно-основного стану в організмі компенсуються насамперед гідрокарбонатною буферною системою. Цей буфер забезпечує 55 % буферної ємності крові.

Оскільки в регуляції кислотно-основного стану беруть участь нирки й легені, розрізняють метаболічний і респіраторний ацидоз і алкалоз.

Метаболічний ацидоз – порушення метаболізму, що призводить до падіння pH крові внаслідок:

а) надлишкового введення або утворення стійких кислот (надходження кетоникислот при голодуванні й діабеті, підвищене утворення молочної кислоти при шоці, підвищене утворення сульфатної кислоти в процесі посиленого розпаду біомолекул та ін.);

б) неповне видалення кислот при нирковій недостатності;

в) надлишкова втрата HCO_3^- при поносі, коліті, виразці кишечника.

Метаболічний алкалоз – порушення метаболізму, що приводить до підвищення рН крові внаслідок:

а) втрати H^+ (блювота, кишкова непрохідність);

б) збільшення концентрації HCO_3^- (втрата води, надлишкове введення HCO_3^- при метаболічному ацидозі, введення солей молочної, оцтової, лимонної та ін. органічних кислот, які приєднують H^+).

Дихальний ацидоз – некомпенсоване або частково компенсоване зниження рН крові внаслідок гіповентиляції:

а) захворювання легень і дихальних шляхів (пневмонія, набряк легенів, сторонні предмети у верхніх дихальних шляхах);

б) ушкодження дихальної мускулатури;

в) гноблення дихального центру ліками або наркотиками (опіати, барбітурати та ін.).

Дихальний алкалоз – некомпенсоване або частково компенсоване збільшення рН крові внаслідок гіпервентиляції через гарячковий стан або істерію.

Для корекції кислотно-основної рівноваги при ацидозах внутрішньовенно вливають 4% розчин гідрокарбонату натрію, при алкалозах – 5 % розчин аскорбінової кислоти.

Далі студенти виконують лабораторну роботу «Вивчення властивостей буферних розчинів за допомогою потенціометрії».

Алгоритм виконання лабораторної роботи

1. Розрахуйте об'єм _____ та об'єм _____ для приготування 20 мл _____ буферного розчину з рН = _____.

Концентрації кислоти і солі однакові 0,2 моль/л. $pK_{\text{оцт.к-ти}} = 4,75$; $pK_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} = 6,8$

2. В стакан з допомогою бюретки відміряти відповідні об'єми розчинів кислот і солі, обережно перемішати.

3. Виміряти рН отриманого буферного розчину з допомогою рН-метра, користуючись інструкцією для роботи з приладом. Розчини використовуємо для подальшої роботи.

4. Піпеткою відбираємо 5 мл буферного розчину, переносимо до мірної колби на 50 мл, доводимо до відмітки дистильованою водою, перемішуємо. Буферний розчин, який залишився, ділимо на 2 рівні об'єми, переносимо в 2 хімічні стакани. До одного піпеткою додаємо 1 мл 0,01М розчину НСІ, до другого – 1 мл 0,01М розчину NaOH.

5. Відмірюємо величини рН розчинів після розбавлення та додавання кислоти і лугу на тому ж рН-метрі. Дані заносимо до таблиці:

Найменування розчинів	Значення рН	
	розрахована	виміряна
Вихідний буферний розчин		
Після додавання НСІ		
Після додавання NaOH		
Розведений розчин		

Обробка експериментальних даних:

1. Розрахунок рН буферного розчину після додавання сильної кислоти.
2. Розрахунок рН буферного розчину після додавання лугу.
3. Розрахунок рН буферного розчину після розведення.
- 4.Зробити висновки.

- перелік практичних навичок, якими необхідно оволодіти:

вміти характеризувати механізм буферної дії буферних систем організму і їх взаємозв'язок; розраховувати рН буферних систем, а також ΔpH за умов додавання до буферних систем сильної кислоти або лугу; розраховувати буферну ємність буферних систем; розраховувати об'єми компонентів,

необхідних для приготування буферних розчинів.

8. Ситуаційні задачі для визначення кінцевого рівня знань.

1. Визначте рН буферного розчину, отриманого змішуванням 400 мл розчину NH_4Cl із $C(\text{NH}_4\text{Cl}) = 0,1$ моль/л і 250 мл розчину NH_4OH із $C(\text{NH}_4\text{OH}) = 0,2$ моль/л, $K(\text{NH}_4\text{OH}) = 1,8 \cdot 10^{-5}$.

А: 5,36

Б: 9,36

В: 11,23

2. Є два ацетатних буферних розчини, рН першого дорівнює 4,0; рН другого дорівнює 5,0 . Який з розчинів більш стійкий до додавання однакової кількості HCl ?

А: перший

Б: однакова стійкість

В: другий

3. Як зміниться рН буферної суміші, яка складається з 100 мл розчину CH_3COOH із $C(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,1$ моль/л і 200 мл розчину CH_3COONa із $C(\text{CH}_3\text{COONa}) = 0,2$ моль/л при додаванні до нього 5 мл розчину NaOH із $C(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/л.

А: $\Delta\text{pH} = 0,25$

Б: $\Delta\text{pH} = 0,05$

В: $\Delta\text{pH} = 0,02$

Еталон відповіді: 1 – Б, 2 – В, 3 – В.

9. Рекомендації до оформлення результатів роботи.

Алгоритми вирішення навчальних питань аудиторної та самостійної роботи і результати занести у робочий зошит. Оформити протокол лабораторної роботи, зробити висновки, щодо впливу розбавлення та додавання сильної кислоти чи лугу на рН буферних розчинів.

10. Література.

а) основна:

1. Медична хімія : підручник / В.О. Калібабчук, І.С. Чекман, Г.О. Сирова, В.І. Галинська та ін.; за ред. проф. В.О. Калібабчук. – К.: ВСВ «Медицина», 2013. – 336 с. (Затверджено Міністерством освіти і науки України (лист МОН України №1/11-1152 від 05.02.13) та Міністерством охорони здоров'я України як базовий підручник для студентів вищих навчальних закладів IV рівня акредитації (напрями «Лікувальна справа» та «Стоматологія»).

2. Завгородній І.В., Сирова Г.О., Ткачук Н.М. та ін. Медична хімія. Навчальний посібник рекомендований МОЗ та МОН України як навчальний посібник для самостійної роботи студентів вищих медичних навчальних закладів IV рівня акредитації, Харків, ХНМУ, 2010. – 268 с.

б) допоміжна:

1. Садовнича Л.П., Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я. Биофизическая химия. – Киев: «Вища школа», 1986. – 272с.

2. Левітін Є.Я., Бризицька А.М., Ключова Р.Г. Загальна та неорганічна хімія. – Вінниця: Нова книга, 2003. – 464с.

3. Зеленин К.Н. Химия. – Санкт-Петербург: «Специальная Литература», 1997. – 688с.

4. Чанг Р. Физическая химия с приложениями к биологическим системам. – Москва, «Мир», 1980.