

А.А. Чиркин, О.В. Пышненко

ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА

*Учебно-методический комплекс для студентов
биологического факультета по специальности
1-31 01 01-02 Биология (научно-педагогическая
деятельность) специализация 1-31 01 01-02 05
Биохимия*

УДК 575(075.8)
ББК 28.04я73
Ч65

Авторы: заведующий кафедрой химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор биологических наук, профессор **А.А. Чиркин**; старший преподаватель кафедры общей и теоретической физики УО «ВГУ им. П.М. Машерова» **О.В. Пышненко**

Рецензенты:

заведующий кафедрой физики и основ высшей математики УО «ВГАВМ», доктор биологических наук *А.Д. Наумов*; заведующий кафедрой токсикологической и аналитической химии УО «ВГМУ», доктор фармацевтических наук, профессор *А.И. Жебентяев*

Учебно-методический комплекс по основам биоэнергетики и катализа для студентов биологического факультета включает программу дисциплины, рабочий план, тематику лекций и лабораторных занятий, теоретические основы предмета, лабораторный практикум, вопросы для итогового контроля (зачет). Комплекс призван оказать помощь студентам биологических специальностей в изучении основ биоэнергетики и катализа в рамках специализации «Биохимия».

УДК 575(075.8)
ББК 28.04я73

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ «ОСНОВЫ БИО-ЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА»	6
ГЛАВА 1. Основы молекулярно-кинетической теории (МКТ)	20
1.1. Основные положения МКТ. Идеальный газ. Изо- процессы в идеальном газе. Основное уравнение со- стояния идеального газа – уравнение Менделеева– Клапейрона	20
1.2. Основное уравнение МКТ. Кинетическая энергия молекул. Внутренняя энергия вещества	22
1.3. Явления переноса	24
ГЛАВА 2. Физические основы термодинамики	25
2.1. Основные положения термодинамики. Теплоем- кость. Первое начало термодинамики	25
2.2. Работа в термодинамике. Работа при изопроцессах	28
2.3. Тепловая машина, ее к.п.д. К.п.д. живого организма...	30
2.4. Энтропия. Второе начало термодинамики	35
ГЛАВА 3. Метод термодинамических потенциалов	39
3.1. Математическое отступление: «О функции состояния»	39
3.2. Термодинамический потенциал – внутренняя энергия	41
3.3. Математическое отступление: «О преобразованиях Лежандра»	44
3.4. Термодинамический потенциал – энтальпия	45
3.5. Термодинамический потенциал – свободная энер- гия Гельмгольца	47
3.6. Термодинамический потенциал – свободная энер- гия Гиббса	50
3.7. Связь между термодинамическими потенциалами	52
3.8. Максимальная полезная работа. Условие сущест- вования равновесного состояния термодинамиче- ской системы. Направление химических реакций	56
3.9. Зависимость свободной энергии от концентрации газа или растворенных веществ	59
3.10. Термодинамические потенциалы систем с пере- менным числом частиц	61
3.11. Свойства химического потенциала. Условие сущест- вования равновесного состояния в открытой системе ...	64

ГЛАВА 4. Основы неравновесной термодинамики открытых систем	66
4.1. Живой организм как открытая термодинамическая система. Стационарное состояние. Второе начало термодинамики для линейных необратимых процессов ...	66
4.2. Условия химической и биологической эволюции. Стационарное состояние. Теорема Пригожина	70
4.3. Основы нелинейной неравновесной термодинамики. Универсальный критерий эволюции Гленсдорфа–Пригожина	74
4.4. Химическая кинетика и катализ	79
ГЛАВА 5. Ферменты. Кинетика ферментативного катализа	89
5.1. Определение и историческая справка	89
5.2. Характеристика ферментов	91
5.3. Классификация и номенклатура ферментов	92
5.4. Структурная организация ферментов	96
5.5. Функциональная организация ферментов	97
5.6. Механизм действия ферментов	98
5.7. Кинетика ферментативных реакций	104
5.8. Управляемое изменение свойств ферментов	108
ГЛАВА 6. Регуляция и оценка активности ферментов..	110
6.1. Активаторы	110
6.2. Ингибиторы	111
6.3. Активация проферментов	115
6.4. Химическая (ковалентная) модификация	118
6.5. Аллостерическая регуляция	120
6.6. Регуляция активности по принципу обратной связи (ретроингибирование)	121
6.7. Единицы измерения активности ферментов	122
6.8. Применение ферментов	122
ГЛАВА 7. Мембраны	125
7.1. Функции мембран	125
7.2. Структура мембран	126
7.3. Модели строения мембран	137
7.4. Механизмы мембранного транспорта	138
7.5. Состояние мембран и здоровье	150
7.6. Мембраны или гели?	151
ГЛАВА 8. Введение в обмен веществ и энергии	152
8.1. Функции метаболизма	152

8.2. Регуляция метаболизма	154
8.3. Введение в биоэнергетику	157
8.4. Введение в биохимию питания и пищеварения	163
ГЛАВА 9. Биологическое окисление. Цепь переноса электронов	164
9.1. Пути потребления кислорода (биологическое окисление)	165
9.2. Строение митохондрий	169
9.3. Компоненты дыхательной цепи	171
9.4. Организация цепи переноса электронов	178
ГЛАВА 10. Окислительное фосфорилирование	188
10.1. Определение окислительного фосфорилирования	188
10.2. Механизм окислительного фосфорилирования	188
10.3. Дыхательный контроль и нарушения клеточного дыхания	196
10.4. Окислительные системы, не связанные с запасанием энергии	198
ГЛАВА 11. Свет в биологии	203
11.1. Фотосинтез	204
11.2. Фазы фотосинтеза	206
11.3. Пигменты фотосинтеза	207
11.4. Характеристика фотосистем	208
11.5. Механизм световой стадии фотосинтеза	209
11.6. Темновая фаза фотосинтеза	212
11.7. Зрение	216
11.8. Бактериородопсин	217
11.9. Другие типы световых реакций	217
ГЛАВА 12. ПРАКТИКУМ	219
12.1. Единицы Энергии и работы и значения некоторых физических постоянных (по Д. Мецлер, 1980)	219
12.2. Общие принципы работы с ферментами	220
12.3. Кинетика ферментативного катализа	222
12.4. Лабораторная работа «Определение времени затухания флуоресценции»	224
ПРОГРАММНЫЕ ВОПРОСЫ ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ	227

ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ «ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА»

Пояснительная записка

Дисциплина «Основы биоэнергетики и катализа» является вводной в комплексе дисциплин учебного плана для подготовки студентов в рамках специализации 1-31 01 01-02 05 Биохимия. Содержание дисциплины предусматривает перенос фундаментальных положений термодинамики, энергетики химических процессов и катализа, изучаемых в общей химии, на химические реакции в биологических объектах. Подобный этап интеграции знаний необходим для формирования у специалиста-биохимика знаний, умений и навыков в области количественных характеристик химических процессов, протекающих в живых организмах, позволяющих судить о направлении и преимущественной селективности процессов. Изучаемая дисциплина позволяет понять, каким образом в метаболических процессах взаимодействуют экзергонические и эндергонические процессы, сущность и особенности ферментативных превращений веществ, процессы аккумуляции и использования энергии в клетках живых организмов, молекулярные процессы адаптации организма к изменяющимся условиям внутренней и внешней среды. Полученные знания и умения будут использованы при изучении биохимии фило- и онтогенеза, экологической биохимии и в процессе выполнения лабораторных, курсовых и дипломных работ.

Программа оставлена с ориентацией на конечный результат обучения студентов на биологическом факультете со специализацией – биохимия. В соответствии с этим при изучении дисциплины ставится следующая цель: научить студента применять при изучении последующих дисциплин и будущей профессиональной деятельности сведения о термодинамике химических процессов, биоэнергетике и ферментативном катализе. В Программе дается переход от физических основ термодинамики к теории, биологической роли и практическому применению ферментативного катализа и затем к фундаментальным и прикладным аспектам биоэнергетики клетки. Программа основана на учебно-исследовательском принципе изучения предмета.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель изучения дисциплины: формирование целостной системы знаний о протекании энергоаккумулирующих и энергозависимых процессов в живых системах.

Задачи дисциплины

В результате усвоения этой дисциплины обучаемый должен

ЗНАТЬ:

иметь представление

- о физических основах химической термодинамики;
- о механизмах трансформации, аккумуляции и использования энергии живыми организмами;
- о теории и прикладном значении ферментативного катализа;

знать

- основные понятия, математические символы и уравнения, описывающие основы термодинамики;
- теоретические основы энергетического обеспечения метаболизма в живых системах и особенности регуляции;
- роль ферментативного катализа в функционировании клеток и тканей, во взаимодействии клетки с окружающей средой;

В результате усвоения этой дисциплины обучаемый должен

УМЕТЬ:

владеть

- методами подготовки образцов для биохимического анализа;
- навыками определения качественного и количественного состава основных органических веществ, характеристик энергетического обмена и ферментов биологических объектов;
- методическими приемами анализа полученных результатов на основе карты метаболизма;

уметь использовать

- справочники и метаболическую карту для анализа процессов жизнедеятельности;
- методы биохимического анализа для исследования взаимосвязей структуры и функций биологических объектов;
- знания путей метаболизма органических молекул в клетке для раскрытия механизмов образования и использования энергии;

иметь опыт

- проведения экспериментальных исследований состава, свойств и превращений основных биомолекул;
- выполнения исследований по оценке биоэнергетических и ферментативных показателей с использованием общедоступного лабораторного оборудования и знания правил ТБ и ОТ;
- обработки данных биохимических экспериментов и лабораторных исследований биологического материала. Весь материал разбит на 3 следующих раздела.

1. Основы термодинамики. Основные понятия. Приложение к биологическим системам.

2. Молекулярные основы ферментативного катализа.

3. Основы биоэнергетики клетки и организма.

В соответствии с утвержденным учебным планом для биологического факультета по специальности «биология» и специализации «биохимия» на преподавание дисциплины «Основы биоэнергетики и катализа» выделяется следующее количество часов:

Название факультета и специализация	Всего часов	Аудиторные часы	Лекции	Лабораторные занятия	Самостоятельная работа	Экзамен, зачет
Биологический. 1-31 01 01-02 05	116	74	30	44	17	Экзамен

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ЛЕКЦИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ «ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА» ДЛЯ СТУДЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ «БИОЛОГИЯ» И СПЕЦИАЛИЗАЦИИ «БИОХИМИЯ»

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
1	Первое начало термодинамики. Работа системы. Идеальный газ. Работа изотермического расширения идеального газа. Тепловой двигатель. Адиабатические изменения объема газа. Цикл Карно. Коэффициент полезного действия при цикле Карно. Обратимость цикла Карно. Фундаментальная термодинамическая функция. Теорема Шеннона. Принцип максимума энтропии. Изменения энтропии при обратимых процессах. Изменение энтропии при необратимых процессах. Второе начало термодинамики. Энтропия и вероятность. Способ количественного определения энтропии.	2
2	Энтальпия (теплосодержание). Свободная энергия. Свободная энергия при постоянном давлении. Направление химических реакций. Зависимость величины свободной энергии от концентрации газа или растворенного вещества. Максимальная полезная работа. Уравнения Гиббса-Гельмгольца. Соотношения Максвелла. Уравнение Гиббса-Дюгема.	2
3	Основы термодинамики открытых истем. Стационарные состояния. Теоремы Рэлея и Пригожина. Химические неустойчивости. Активная среда, колебательные и автоколебательные процессы. Диссипативные структуры. Реакция Белоусова-	2

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
	Жаботинского. Периодические изменения термодинамических параметров как обязательное условие химической и биологической эволюции, сопровождающейся повышением степени организации макроскопических систем.	
4	Термодинамический вывод закона действующих масс. Молекулярность, формальная кинетика реакций (реакции 1-го, 2-го, 3-го порядка, цепные, обратимые, необратимые). Химическое равновесие, химическая переменная, закон Гесса, изотерма и изобара реакции. Роль диффузии. Теория бинарных соударений. Метод активированного комплекса. Фотохимические и цепные процессы Радикалы. Свободная энергия образования химических веществ. Гомогенный и гетерогенный катализ. Кинетика фазовых переходов. Термодизлектрический эффект (эффект Рибейры). Кинетика конформационных переходов в биополимерах.	2
5	Мембранный потенциал. Доннановское равновесие и доннановский потенциал. Мембранные электроды, стеклянные электроды, уравнение Никольского. Профиль потенциала в мембране, собственная и индуцированная проницаемость, уравнение Гольдмана. Сопряжение электронного и протонного транспорта в биомембранах. Методы регистрации трансмембранной разности протонного потенциала.	2
6	Статистическая термодинамика малых систем. Структурные особенности энергопреобразующих органелл живых систем. Химическое равновесие в малых системах. Проблема описания «канализованных» химических реакций в гетерогенных системах. Кажущееся нарушение второго начала термодинамики в биосистемах.	2
7	Выделение и очистка ферментов. Методы очистки. Методы фракционирования. Критерии чистоты ферментов. Затруднения, встречающиеся при работе с чистыми ферментами. Номенклатура и классификация ферментов. Характеристика классов ферментов. Единицы измерения количества и активности ферментов. Механизм действия ферментов. Стадии ферментативного процесса, их характеристика. Теории «шаблона» и «индуцированного	2

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
	соответствия» в объяснении взаимодействия фермента с субстратом. Молекулярные механизмы стадий ферментативного катализа. Значение сближения и ориентации реагентов в действии ферментов. Значение образования переходных комплексов с более низкой энергией активации. Понятие о кислотно-основном и ковалентном катализе. Механизм действия оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лиаз, изомераз, лигаз.	
8	Кинетика ферментативного катализа, ее задачи. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Способы графического изображения. Константы диссоциации (K_s) и Михаэлиса (K_m), их определение и значение. Уравнение Лайнуивера-Берка. Зависимость V от количества фермента, pH среды, температуры.	2
9	Влияние активаторов на ферментативную реакцию, их виды (катионы, анионы, ферменты ферментов, органические). Ингибиторы ферментов, их деление в зависимости от механизма действия, прочности связывания с ферментом: неспецифические, специфические; необратимые, обратимые. Механизмы конкурентного, неконкурентного и бесконкурентного ингибирования ферментов. Примеры разных видов ингибиторов, их роль в реализации действия экологических факторов. Регуляция количества ферментов, конститутивные и адаптивные ферменты. Регуляция активности ферментов, ее механизмы: химическая модификация, ее виды; аллостерическая регуляция, ее типы; кооперативный эффект (симметричная и последовательная модели).	2
10	Строение и функции клеточных мембран. Структурно-биохимическая организация клетки. Функции органелл клетки. Модели молекулярной организации мембран: жидкостно-мозаичная и решетчато-мозаичная. Характеристика структурных компонентов биологических мембран (белков, липидов, углеводов) – их локализация, содержание, физико-химические свойства, соотношение компонентов. Способы транспорта веществ через мембраны: пассивный транспорт, облегченная диффу-	2

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
	зия, активный транспорт (первичный, вторичный, симпорт, антипорт). Работа Na^+, K^+ -АТФазы, кальцийзависимой, протонной АТФазы. Везикулярный транспорт. Мембранные белки-рецепторы.	
11	Энергетический обмен. Различие организмов по используемым источникам углерода, энергии. Аэробные и анаэробные организмы. Энергетические ресурсы клеток. Фазы извлечения энергии из них. Введение в энергетику биохимических реакций. Экзергонические и эндергонические реакции. Термодинамическая шкала химических веществ, макроэргические соединения. Сопряжение эндергонических и экзергонических реакций. АТФ как важнейший аккумулятор и источник энергии.	2
12	Биологическое окисление: путем дегидрирования субстратов, путем присоединения кислорода (монооксигеназы, диоксигеназы) и образования свободнорадикальных форм кислорода. Понятие об окислительно-восстановительных парах субстратов – доноров и акцепторов электронов. Стандартный окислительно-восстановительный потенциал (редокс-потенциал), его выражение. Значение величин редокс-потенциалов для характеристики биологического окисления. Дегидрирование субстратов и окисление водорода с образованием воды как источник энергии для синтеза АТФ. Молекулярно-структурная организация митохондрии; локализация биохимических процессов, типы субстратов окисления и кислорода (матрикс) и цепи переноса электронов (внутренняя мембрана митохондрий). Термодинамические закономерности последовательности переносчиков и каскадные изменения свободной энергии при переносе электронов. Структура и функция ферментативных комплексов цепи переноса электронов.	2
13	Окислительное фосфорилирование, его количественное выражение -коэффициент P/O . Освобождение энергии в цепи переноса электронов, локализация пунктов фосфорилирования АДФ. Сопряжение дыхания и фосфорилирования. Характеристика хемиосмотической гипотезы Митчела. Трансмембранный электрохимический потенциал как	2

№	СОДЕРЖАНИЕ	Часы
	промежуточная форма запасаения энергии при окислительном фосфорилировании; механизм его образования. Строение и функции протонной АТФ-синтетазы. Дыхательный контроль. Разобщение и ингибирование окислительного фосфорилирования.	
14	Свойства света. Количественные аспекты поглощения света веществом. Энергетические уровни молекул. Инфракрасные спектры. Электронные спектры. Круговой дихроизм и дисперсия оптического вращения. Флуоресценция и фосфоресценция. Поляризация флуоресценции. Внутримолекулярный перенос энергии. Триплетные состояния. Фотохимия. Химическое равновесие в возбужденном состоянии. Фотохимические реакции в биосистемах.	2
15	Распространение фотосинтеза и его значение для жизни на земле. Виды фотосинтезирующих организмов. Характеристика фотосинтезирующих структур. Пигменты фотосинтеза. Световая стадия. Характеристика фотосистем 1 и 11, локализация и функционирование. Механизм световой фазы. Нечетический и четический перенос электронов в фотосистемах. Образование протонного градиента в тилакоидах. Фотофосфорилирование. Образование АТФ и НАДФН. Темновая стадия. Карбоксилирование рибулозо-1,5-бисфосфата. Биосинтез углеводов и регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата. Регуляция фотосинтеза. Химическая природа воспринимающих световую энергию молекул и их превращения. Нервный импульс. Регенерация зрительных, пигментов. Бактериородопсин. Другие типы световых реакций. Фитохром. Биолуминесценция.	2
	ИТОГО: лекции 30 часов	

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН
ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
«ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА» ДЛЯ СТУДЕНТОВ
БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ
«БИОЛОГИЯ» И СПЕЦИАЛИЗАЦИИ «БИОХИМИЯ»

№	Наименование раздела, темы, элемента	К-во часов	Примечание
1	Термодинамика химических процессов	4	
2	Основы химической кинетики и катализа	4	
3	Химические нестабильности и колебательные процессы в химических реакциях	4	
4	Термодинамика электрохимических процессов	4	
5	Мембранные потенциалы. Ион-селективные электроды	4	
6	Выделение ферментов	4	
7	Оценка активности ферментов	4	
8	Ферментативный катализ	4	
9	Биоэнергетика	4	
10	Биоэнергетика	4	
11	Фотосинтез	4	

ИТОГО: лабораторные занятия 44 часа.

ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ
«ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ И КАТАЛИЗА»

Предмет и задачи дисциплины «Основы биоэнергетики и катализа»; место биоэнергетики в биохимии. Важнейшие этапы развития биоэнергетики и ферментативного катализа. Вклад белорусских ученых. Особенности методических подходов при изучении дисциплины «Основы биоэнергетики и катализа»: изучение основ физической термодинамики, ферментативного катализа, биоэнергетики живых систем.

1. Основы термодинамики. Основные понятия. Приложение к биологическим системам.

1.1. Термодинамические условия биохимических реакций. Направление самопроизвольно идущих процессов. Состояния и свойства системы. Первое начало термодинамики. Работа системы. Идеальный газ. Работа изотермического расширения идеального газа. Тепловой двигатель. Адиабатические изменения объема газа. Цикл Карно. Коэффициент полезного действия при цикле Карно. Обратимость цикла Карно. Фундаментальная термодинамическая функция. Теорема Шеннона. Принцип максимума энтропии. Изменения энтропии при обратимых процессах. Изменение энтропии при необратимых процессах. Второе начало термодинамики. Энтропия и вероятность. Способ количественного определения энтропии.

1.2. Энтальпия (теплосодержание). Свободная энергия. Свободная энергия при постоянном давлении. Направление химических реакций. Зависимость величины свободной энергии от концентрации газа или растворенного вещества. Максимальная полезная работа.

Уравнения Гиббса-Гельмгольца. Соотношения Максвелла. Уравнение Гиббса-Дюгема. Использование определителей Якоби.

1.3. Основы термодинамики открытых систем. Стационарные состояния. Теоремы Рэлея и Пригожина. Химические неустойчивости. Активная среда, колебательные и автоколебательные процессы. Диссипативные структуры. Реакция Белоусова-Жаботинского. Интерфазный осциллятор Буравцева. Периодические изменения термодинамических параметров как обязательное условие химической и биологической эволюции, сопровождающейся повышением степени организации макроскопических систем.

1.4. Термодинамический вывод закона действующих масс. Молекулярность, формальная кинетика реакций (реакции 1-го, 2-го, 3-го порядка, цепные, обратимые, необратимые). Химическое равновесие, химическая переменная, закон Гесса, изотерма и изобара реакции. Роль диффузии. Теория бинарных соударений. Метод активированного комплекса. Фотохимические и цепные процессы. Радикалы. Свободная энергия образования химических веществ. Гомогенный и гетерогенный катализ. Кинетика фазовых переходов. Термодиелектрический эффект (эффект Рибейры). Кинетика конформационных переходов в биополимерах.

1.5. Мембранный потенциал. Доннановское равновесие и доннановский потенциал. Мембранные электроды, стеклянные электроды, уравнение Никольского. Профиль потенциала в мембране, собственная и индуцированная проницаемость, уравнение Гольдмана. Сопряжение электронного и протонного транспорта в биомембранах. Методы регистрации трансмембранной разности протонного потенциала.

1.6. Статистическая термодинамика малых систем. Структурные особенности энергоаккумулирующих органелл живых систем. Химическое равновесие в малых системах. Проблема описания «канализованных» химических реакций в гетерогенных системах. Флуктуации, шумы и кажущееся нарушение второго начала термодинамики в биохимических системах.

2. Молекулярные основы ферментативного катализа.

2.1. Понятие о ферментах (энзимах). История развития учения о ферментах. Общие представления о катализе. Основные характеристики действия катализаторов: энергетический барьер реакции, энергия активации, свободная энергия. Сходство и различия химических и биологических катализаторов. Специфичность действия ферментов, ее виды.

Выделение и очистка ферментов. Методы очистки. Методы фракционирования. Критерии чистоты ферментов. Затруднения, встречающиеся при работе с чистыми ферментами.

Номенклатура и классификация ферментов. Характеристика классов ферментов. Единицы измерения количества и активности ферментов.

2.2. Структурно-функциональная организация ферментов. Простые (однокомпонентные) и сложные (двухкомпонентные) белки-

ферменты. Строение сложных белков-ферментов: холофермент, апофермент, кофакторы (простетические группы и коферменты). Кофакторы – ионы металлов, органические соединения витаминной и невитаминной природы. Функциональная организация ферментов. Активный центр, его строение. Аллостерический центр, его значение.

2.3. Механизм действия ферментов. Стадии ферментативного процесса, их характеристика. Теории «шаблона» и «индуцированного соответствия» в объяснении взаимодействия фермента с субстратом. Молекулярные механизмы стадий ферментативного катализа. Значение сближения и ориентации реагентов в действии ферментов. Значение образования переходных комплексов с более низкой энергией активации. Понятие о кислотно-основном и ковалентном катализе. Механизм действия оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лиаз, изомераз, лигаз.

2.4. Кинетика ферментативного катализа, ее задачи. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Способы графического изображения. Константы диссоциации (K_s) и Михаэлиса (K_m), их определение и значение. Уравнение Лайнуивера-Берка. Зависимость скорости ферментативной реакции от количества фермента, pH среды, температуры. Влияние активаторов на ферментативную реакцию, их виды (катионы, анионы, ферменты ферментов, органические). Ингибиторы ферментов, их деление в зависимости от механизма действия, прочности связывания с ферментом: неспецифические, специфические; необратимые, обратимые. Механизмы конкурентного, неконкурентного и бесконкурентного ингибирования ферментов. Примеры разных видов ингибиторов, их роль в реализации действия экологических факторов. Регуляция количества ферментов, конститутивные и адаптивные ферменты. Регуляция активности ферментов, ее механизмы: химическая модификация, ее виды; аллостерическая регуляция, ее типы; кооперативный эффект (симметричная и последовательная модели).

2.5. Полиферментные комплексы, значение организации ферментов в них. Множественные молекулярные формы ферментов, общие представления о них. Изоферменты, их роль. Методы разделения, качественного и количественного определения изоферментов.

2.6. Биологическое значение ферментных систем. Ферменты как основа жизни. Ферменты и структурные компоненты клетки. Сравнительная биохимия ферментов. Энзимологическая генетика. Происхождение ферментов. Ферментативные системы и биоэнергетика клетки.

2.7. Применение ферментов. Источники получения ферментов. Имобилизованные ферменты. Ферментативные реакции в неводных средах. Способы повышения устойчивости ферментов к повышенной температуре. Использование ферментов в разных областях народного хозяйства. Термостабильная ДНК-зависимая ДНК-полимераза и полимеразная цепная реакция. Экология человека и ферменты. Ферменты как аналитические реагенты, биосенсоры.

3. Основы биоэнергетики клетки и организма

3.1. Питание, метаболизм и выделение продуктов метаболизма как этапы обмена веществ в рамках концепции взаимосвязей организмов в экосистемах. Состав пищи человека. Органические и минеральные вещества. Основные и минорные компоненты. Основные пищевые вещества: углеводы, жиры, белки. Суточная потребность. Энергетическая и биологическая ценность пищи.

3.2. Катаболизм и анаболизм как две стороны метаболизма, их стадии и взаимосвязь. Катаболические, анаболические и амфиболические пути в обмене веществ, их значение. Специфические и общие пути катаболизма. Понятие о карте метаболизма. Основные конечные продукты метаболизма. Методы изучения обмена веществ: исследования на целом организме, органах, срезах тканей, гомогенатах тканей, субклеточных фракциях. Выделение ферментов и метаболитов и определение последовательности превращения веществ. Изотопные методы.

3.3. Строение и функции клеточных мембран. Структурно-биохимическая организация клетки. Функции органелл клетки. Модели молекулярной организации мембран: жидкостно-мозаичная и решетчато-мозаичная. Характеристика структурных компонентов биологических мембран (белков, липидов, углеводов) – их локализация, содержание, физико-химические свойства, соотношение компонентов. Способы транспорта веществ через мембраны: пассивный транспорт, облегченная диффузия, активный транспорт (первичный, вторичный, симпорт, антипорт). Работа Na^+, K^+ -АТФазы, кальцийзависимой, протонной АТФазы. Везикулярный транспорт. Мембранные белки-рецепторы; трансмембранная передача сигналов в клетку. Биохимия межклеточных взаимодействий. Мембранный потенциал. Доннановское равновесие и доннановский потенциал. Мембранные электроды, стеклянные электроды, уравнение Никольского. Профиль потенциала в мембране, собственная и индуцированная проницаемость, уравнение Гольдмана.

3.4. Энергетический обмен. Различия организмов по используемым источникам углерода, энергии. Аэробные и анаэробные организмы. Энергетические ресурсы клеток. Фазы извлечения энергии из них. Введение в энергетику биохимических реакций. Понятие о полной энергии вещества, свободной энергии, энтропии. Экзергонические и эндергонические реакции. Термодинамическая шкала химических веществ, макроэргические соединения. Сопряжение эндергонических и экзергонических реакций. АТФ как важнейший аккумулятор и источник энергии. Образование АТФ методами субстратного и окислительного фосфорилирования АДФ.

3.4.1. Биологическое окисление: путем дегидрирования субстратов, путем присоединения кислорода (монооксигеназы, диоксигеназы) и образования свободнорадикальных форм кислорода. Понятие об окислительно-восстановительных парах субстратов – доноров и акцепторов электронов. Стандартный окислительно-восстановительный

потенциал (редокс-потенциал), его выражение. Значение величин редокс-потенциалов для характеристики биологического окисления.

3.4.2. Дегидрирование субстратов и окисление водорода с образованием воды как источник энергии для синтеза АТФ. Молекулярно-структурная организация митохондрии; локализация биохимических процессов, типы субстратов окисления и кислорода (матрикс) и цепи переноса электронов (внутренняя мембрана митохондрий). Термодинамические закономерности последовательности переносчиков и каскадные изменения свободной энергии при переносе электронов. Структура и функция ферментативных комплексов цепи переноса электронов.

3.4.3. Окислительное фосфорилирование. его количественное выражение коэффициент Р/О. Освобождение энергии в цепи переноса электронов, локализация пунктов фосфорилирования АДФ. Сопряжение дыхания и фосфорилирования. Характеристика хемиосмотической гипотезы Митчела. Трансмембранный электрохимический потенциал как промежуточная форма запасаания энергии при окислительном фосфорилировании; механизм его образования. Строение и функции протонной АТФ-синтетазы. Дыхательный контроль. Разобщение и ингибирование окислительного фосфорилирования как важная проблема экологии. Терморегуляторная функция тканевого дыхания.

4. Свет в биологии. Фотосинтез. Зрение.

4.1. Свойства света. Количественные аспекты поглощения света веществом. Энергетические уровни молекул. Инфракрасные спектры. Электронные спектры. Круговой дихроизм и дисперсия оптического вращения. Флуоресценция и фосфоресценция. Поляризация флуоресценции. Внутримолекулярный перенос энергии. Триплетные состояния. Фотохимия. Химическое равновесие в возбужденном состоянии. Фотохимические реакции в биосистемах.

4.2. Распространение фотосинтеза и его значение для жизни на земле. Виды фотосинтезирующих организмов. Характеристика фотосинтезирующих структур. Пигменты фотосинтеза. Световая стадия. Характеристика фотосистем I и II, локализация и функционирование. Механизм световой фазы. Нециклический и циклический перенос электронов в фотосистемах. Образование протонного градиента в тилакоидах. Фотофосфорилирование. Образование АТФ и НАДФН. Темновая стадия. Карбоксилирование рибулозо-1,5-бисфосфата. Биосинтез углеводов и регенерация рибулозо-1,5-бисфосфата. Регуляция фотосинтеза. Бесхлорофильный фотосинтез. Фотосинтез и действие экологических факторов. Химическая природа воспринимающих световую энергию молекул и их превращения. Нервный импульс. Регенерация зрительных пигментов. Бактериородопсин. Другие типы световых реакций. Фитохром. Реакции на синий свет. Биолюминесценция.

ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1998.
2. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика: практический курс. – М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999.
3. Вестерхофф Х., Ван Дам К. Термодинамика и регуляция превращений свободной энергии в биосистемах. – М.: Мир, 1992.
4. Горшков В.И., Кузнецов И.А. Физическая химия. – М.: Издательство Московского университета, 1986.
5. Ершов Ю.А., Мушамбаров Н.Н. Кинетика и термодинамика биохимических и биофизических процессов. – М.: Медицина, 1990.
6. Кантор Ч., Шиммел П. Биофизическая химия: в 3 т. – М.: Мир, 1985.
7. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 1998.
8. Кулиев С.И., Борисевич И.С., Радевич А.Г. Физическая и коллоидная химия. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006.
9. Северин С.Е., Соловьева Г.А. (ред.) Практикум по биохимии. – М.: Изд-во Московского университета, 1989.
10. Семак, И.В. Инженерная энзимология: курс лекций. – Мн.: БГУ, 2006.
11. Северин Е.С., Николаев А.Я. (ред.) Биохимия: краткий курс с упражнениями задачами. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.
12. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. – М.: Агар, Фланта, Лань, 1999.
13. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Н., Хмельницкий А.И. Биологические мембраны: учеб. пособие. – Мн.: БГУ, 2008.
14. Черенкевич С.Н., Хмельницкий А.И. Транспорт веществ через биологические мембраны: учеб. пособие. – Мн.: БГУ, 2005. – 141 с.
15. Чиркин А.А. Практикум по биохимии: учебное пособие. – Мн.: ООО «Новое знание», 2002.
16. Чиркин А.А., Данченко Е.О. Биохимия с основами молекулярной биологии. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006.
17. Марри Р. и др. Биохимия человека: в 2 т. – М.: Мир, 1993.
18. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1966.
19. Уайт А. и др. Основы биохимии: в 3 т. – М.: Мир, 1981.
20. Уилсон Дж., Хант Т. Молекулярная биология клетки: сб. задач. – М.: Мир, 1994.

Дополнительная литература

1. Аккерман Ю. Биофизика. – М.: Мир, 1964.
2. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки: в 3 т. – М.: Мир, 1994.
3. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. – М.: МГУ, 1985.
4. Владимиров Г.Е., Лызлова С.Н. Энзимология. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1962.

5. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. – М.: Мир, 1990.
6. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2000.
7. Киселева Е.В., Каретников Г.С., Кудрявцев И.В. Сборник примеров и задач по физической химии. – М.: Высшая школа, 1976.
8. Конев СВ., Волотовский И.Д. Фотобиология. – Мн.: ВГУ, 1979.
9. Краснов К.С. (ред.) Физическая химия. – М.: Высшая школа, 1982.
10. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3 т. – М.: Мир, 1986.
11. Николаев А.Я. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 1989.
12. Никольский Б.П. (ред.) Физическая химия. – Л.: Химия, 1987.
13. Скулачев В.П. Аккумуляция энергии в клетке. – М.: Наука, 1969.
14. Спирин А.С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и синтез белка. – М.: Высшая школа, 1986.
15. Строев Е.А. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 1986.
16. Страйер Л. Биохимия: в 3 т. – М.: Мир, 1984.
17. Уилкинсон Дж. Изоферменты. – М.: Мир, 1968.
18. Уолтер Ч. Кинетика ферментативных реакций. – М.: Мир, 1969.
19. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982.
20. Харбери Д. Введение в экологическую биохимию. – М.: Мир, 1985.
21. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger principles of biochemistry. – N.Y.: Worth Publishers, 2000.

Глава 1. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНО-КИНЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ (МКТ)

1.1. Основные положения МКТ. Идеальный газ.

Изопроцессы в идеальном газе. Основное уравнение состояния идеального газа – уравнение Менделеева–Клапейрона

При описании состояния вещества используется два подхода:

- описание состояния с помощью макропараметров: давление p , температура T , объем V , масса m , молярная масса μ , внутренняя энергия вещества;
- описание состояния вещества с помощью микропараметров: скорость, кинетическая энергия отдельных молекул W_k , и др.

Связь между микро- и макропараметрами может быть найдена двумя способами:

- на основании изучения статистических закономерностей поведения большого количества частиц – такой подход реализуется в **молекулярно-кинетической теории (МКТ) и статистической физике**;
- на основании закона сохранения энергии – такой подход реализуется в **термодинамике**.

Исторически, в процессе развития естествознания в целом и науки о строении вещества в частности, были сформулированы **основные положения МКТ**:

1. *Все вещества состоят из мельчайших частиц: атомов и молекул.*

2. *Молекулы и атомы находятся в непрерывном тепловом хаотическом движении.*

Мерой теплового хаотического движения молекул является температура.

(Температура в международной системе единиц СИ измеряется по шкале Кельвина. Переход от температуры по шкале Цельсия к температуре по шкале Кельвина: $T(K) = t(^{\circ}C) + 273$).

3. *Частицы взаимодействуют между собой с силами притяжения и отталкивания.*

Основная задача МКТ состоит в том, чтобы получить соотношение, связывающее все макропараметры, описывающие вещество. Необходимо найти некоторую функцию, связывающую все макропараметры. Такая **функция вида $f=f(p, V, T, m, \mu)$ называется функцией состояния**. Исследовать одновременное изменение всех этих макропараметров сложно. Поэтому было введено понятие **идеального газа** – *это газ, молекулы которого представляют собой абсолютно упругие материальные точки, между которыми нет сил взаимодействия* (т.е. между частицами такого газа нет сил притяжения и отталкивания – это значит, что не учитывается третье положение МКТ). Все взаимодействия между ними сводятся только к абсолютно упругим соударениям. Дальнейшие экспериментальные исследования идеального проводились при, так называемых, изопроцессах.

Изопроцессы – *это процессы, при которых масса газа всегда остается постоянной $m = \text{const}$, также остается постоянным один из макропараметров p , V или T , а два других макропараметра изменяются*. Таким образом, возможными оказываются три изопроцесса.

Изотермический процесс – протекает при постоянной массе газа $m=const$ и температуре $T=const$. Для него справедлив **закон Бойля – Мариота**: для постоянной массы газа, при постоянной температуре, произведение давления газа на его объем остается величиной постоянной: $pV=const$. (1.1)

График изотермического процесса – изотерма приведен на рис. 1.1.

Изобарический (изобарный) процесс – протекает при постоянной массе газа $m=const$ и постоянном давлении $p=const$. Для него справедлив **закон Гей – Люссака**: для постоянной массы газа, при постоянном давлении, отношение объема газа к его температуре остается величиной постоянной: $\frac{V}{T} = const$. (1.2)

Изохорический (изохорный) процесс – протекает при постоянной массе газа $m=const$ и постоянном объеме $V=const$. Для него справедлив **закон Шарля**: для постоянной массы газа, при постоянном объеме, отношение давления газа к температуре остается величиной постоянной: $\frac{p}{T} = const$. (1.3)

Дальнейшие экспериментальные исследования, проведенные Клапейроном, показали, что если для постоянной массы газа $m=const$ изменяются все три параметра p , T , V , то выполняется закон: $\frac{pV}{T} = const$. (1.4)

Выражение (1.4) получило название **уравнение Клапейрона**: для постоянной массы газа отношение произведения давления газа на его объем к температуре остается величиной постоянной.

Одновременно, был получен еще один важный закон – **закон Авогадро**:

1) в одном моле любого вещества содержится одинаковое количество частиц: $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ (моль⁻¹). N_A – число Авогадро. Говорят «просто»:

В одном моле любого вещества содержится N_A – частиц.

2) один моль любого газа при одинаковом давлении и температуре занимает одинаковый объем, а при нормальных условиях ($p = 1,01 \cdot 10^5$ Па, $T = 273$ К) объем $V = 22,4$ л = $22,4 \cdot 10^{-3}$ м³.

В работах Д.И. Менделеева было установлено значение константы в уравнении Клапейрона: $\frac{pV}{T} = 8,31 \frac{\text{Дж}}{\text{моль} \cdot \text{К}} = R$. (1.5)

Постоянная R – получила название – **универсальная газовая постоянная**. Из выражения (1.5) вытекает следствие: $pV = RT$. (1.6)

Выражение (1.6) представляет собой уравнение Менделеева- Клапейрона для одного моля газа. Если же газ содержит n молей, которое равно отношению массы вещества к его молярной массе: $n = \frac{m}{\mu}$ (1.7)

тогда **уравнение Менделеева – Клапейрона для произвольной массы газа** примет

$$\text{вид: } pV = nRT \text{ или } pV = \frac{m}{\mu} RT \quad (1.8)$$



Рис. 1.1.

1.2. Основное уравнение МКТ. Кинетическая энергия молекул. Внутренняя энергия вещества

В МКТ доказано, что давление, оказываемое молекулами газа на стенки сосуда, зависит от скорости теплового хаотического движения молекул газа. Это соотношение называется **основным уравнением МКТ**:

$$p = \frac{2}{3} n_0 \overline{W_k} \quad (1.9)$$

где: n_0 – концентрация молекул; ($n_0 = \frac{N}{V}$ – это количество частиц в единице

объема вещества). $\overline{W_k}$ – это средняя кинетическая энергия молекул газа. Мы говорим о средней кинетической энергии молекул потому, что все молекулы газа при тепловом хаотическом движении движутся с различными скоростями. Но какое-то определенное число молекул движется с некоторой средней скоростью.

Тогда можно сформулировать **основное уравнение МКТ** (1.9): *давление, оказываемое молекулами газа на стенки сосуда прямо пропорционально концентрации молекул и их средней кинетической энергии*. Выражение (1.9) связывает макропараметр – давление с микропараметром – кинетической энергией молекул. Но, исходя из этого выражения, нельзя объяснить, почему температура является мерой теплового хаотического движения. Представим, что у нас есть один моль идеального газа, т.е. концентрация молекул в нем: $n_0 = \frac{N_A}{V}$, где N_A – число Авогадро.

$$\text{Тогда выражение (1.9) примет вид: } p = \frac{2}{3} \cdot \frac{N_A}{V} \cdot \overline{W_k} \quad (1.10)$$

Подставим (1.10) в (1.6), откуда кинетическая энергия молекулы:

$$\overline{W_k} = \frac{3}{2} \cdot \frac{RT}{N_A}$$

Так как в полученном выражении R – универсальная газовая постоянная, N_A – постоянная Авогадро – это постоянные величины, то их отношение можно посчитать один раз и навсегда и обозначить некоторую новую константу, например буквой k , которую назовем – **постоянной Больцмана**:

$$\frac{R}{N_A} \equiv k = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{\text{Дж}}{\text{К}} \quad (1.11)$$

$$\text{И выражение для кинетической энергии примет вид: } \overline{W_k} = \frac{3}{2} kT \quad (1.12)$$

Выражение (1.12) – **средняя кинетическая энергия молекулы идеального газа, которая прямо пропорциональна температуре газа**. Чем больше температура, тем больше и кинетическая энергия молекул, т.е. увеличивается степень их теплового хаотического движения. Чтобы получить кинетическую энергию любых молекул (не только идеального газа) надо понять, чем отличаются молекулы идеального и реального газа. Для этого введем понятие числа степеней свободы.

Число степеней свободы – это число независимых движений, которые могут изменять местоположение молекулы в пространстве. Как могут двигаться молекулы?

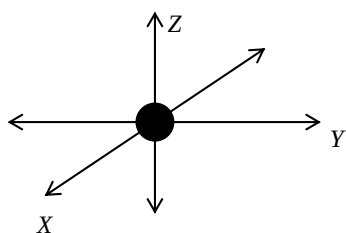


Рис.1.2

Если газ – идеальный, то его молекула – это материальная точка (например – одноатомная молекула). Одноатомная молекула может независимо двигаться только вдоль трех независимых осей координат: OX ; OY ; OZ (рис. 1.2). Это значит, что одноатомная молекула – молекула идеального газа обладает тремя поступательными степенями свободы. Число степеней свободы обозначается i . Таким образом, для **одноатомной молекулы число степеней свободы равно трем**: $i = i_{\text{пост}} = 3$

Пусть теперь у нас двухатомная молекула (рис. 1.3). Такая молекула, также как и одноатомная, может поступательно двигаться относительно трех осей OX ; OY ; OZ . Кроме этого, такая молекула может независимо вращаться вокруг осей OY и OZ . Вращение вокруг оси OX хотя и возможно, но при этом не будет меняться местоположение молекулы в пространстве (природа не тратит энергию на бесполезное движение), поэтому ось OX не является вращательной степенью свободы. Таким образом, **двухатомная молекула газа обладает тремя поступательными и двумя вращательными степенями свободы, т.е. число степеней свободы двухатомной молекулы равно пяти**:

$$i = i_{\text{пост}} + i_{\text{вр}} = 3 + 2 = 5$$

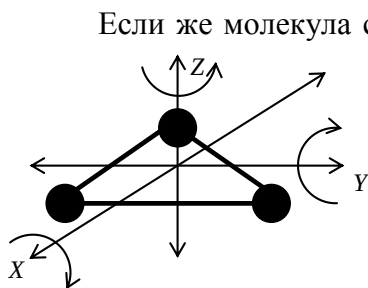


Рис.1.4

Если же молекула состоит из трехатомных или многоатомных молекул (Рис.1.4), то **число степеней свободы трех- или многоатомных молекул складывается из трех поступательных и трех вращательных степеней свободы, т.е. число степеней свободы трех- или многоатомных молекул равно шести**: $i = i_{\text{пост}} + i_{\text{вр}} = 3 + 3 = 6$

Вернемся к полученному нами выражению для кинетической энергии молекулы идеального газа (1.12).

Эта энергия – энергия молекулы идеального газа – одноатомной молекулы, у которой три степени свободы $i = 3$. Если разделить эту энергию на число степеней свободы, то мы получим, что **на одну степень свободы приходится энергия одна вторая kT** : $\bar{W}_{1 \text{ степ.}} = \frac{1}{2} kT$ (1.13)

Тогда, если у какой-либо молекулы i – степеней свободы, то для нахождения кинетической энергии такой молекулы надо «просто» умножить энергию, приходящуюся на одну степень свободы (1.13) на число степеней свободы этой молекулы. Тогда, **кинетическая энергия любой молекулы**:

$$\bar{W}_k = \frac{i}{2} kT \quad (1.14)$$

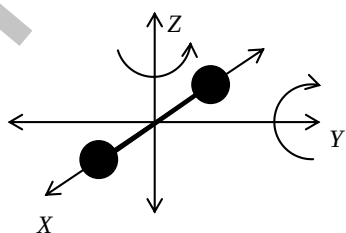


Рис.1.3

Внутренней энергией вещества U называется сумма кинетических энергий молекул и потенциальных энергий их взаимодействия:

$$U = \sum_{\text{по всем молекулам}} \bar{W}_k + \sum_{\text{по всем молекулам}} \bar{W}_{\text{пот.}}$$

Но, мы рассматриваем идеальный газ – это газ, молекулы которого не взаимодействуют

с силами притяжения и отталкивания, т.е. между ними не существует никаких полей, а, значит, не существует и потенциальной энергии взаимодействия. Поэтому, **внутренней энергией идеального газа U** называется сумма кинетических энергий всех его молекул: $U = \sum_{\text{по всем молекулам}} \bar{W}_k$

Теперь представим, что нам надо найти внутреннюю энергию хотя бы одного моля газа. Это значит, что нам надо сложить кинетические энергии всех его молекул. Но, даже в одном моле газа (по закону Авогадро) содержится $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ молекул. Надо вспомнить из математики, что сумму одинаковых слагаемых мы можем найти с помощью умножения, т.е. умножить среднюю кинетическую энергию одной молекулы (1.14) на их число в

$$\text{одном моле} - N_A : U_{1 \text{ моль}} = \sum_{i=1}^{N_A} (\bar{W}_k)_i = \bar{W}_k \cdot N_A$$

$$\text{Подставляя выражение (1.14), получим: } U_{1 \text{ моль}} = \frac{i}{2} kT \cdot N_A$$

Вспомним, что k – это постоянная Больцмана. Подставляя ее выражение (1.11) во внутреннюю энергию одного моля газа и, сокращая на постоянную Авогадро, получим **внутреннюю энергию 1 моля газа**: $U_{1 \text{ моль}} = \frac{i}{2} RT$ (1.15)

Если же газ состоит не из одного, а из $n = \frac{m}{\mu}$ – молей, то, умножив на число молей, мы найдем **внутреннюю энергию любого количества вещества, состоящего из молекул, имеющих различное число атомов**:

$$U_{n \text{ молей}} = \frac{m}{\mu} \frac{i}{2} RT \quad (1.16)$$

1.3. Явления переноса

За счет теплового хаотического движения происходит перемешивание частиц газа и вещества. При этом молекулы могут переносить с собой различные физические характеристики. *Явления, при которых частицы вещества переносят свои физические характеристики, называются явлениями переноса.*

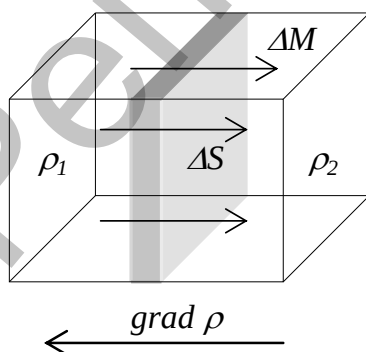


Рис.1.5

Перенос массы ΔM - диффузия (рис. 1.5).

Диффузия – это явление самопроизвольного переноса молекул из области с большей концентрацией (плотностью ρ_1), в область с меньшей концентрацией (плотностью ρ_2). Явление диффузии описывается **законом Фика**: $\Delta M = -D \frac{\Delta \rho}{\Delta x} \cdot \Delta S \cdot \Delta t$ (1.17)

Закон Фика: масса вещества, продиффундировавшего через площадку ΔS за время Δt прямо пропорционально градиенту плотности, площади, через которую произошел перенос и

времени переноса. Стрелками обозначено направление переноса массы ве-

щества ΔM . Знак минус означает, что направление переноса массы противоположно по направлению вектору градиента плотности – $grad\rho$. Величина $|D| = \frac{\Delta M}{\frac{\Delta\rho}{\Delta x} \cdot \Delta S \cdot \Delta t}$ – это **коэффициент диффузии**, который численно равен массе

вещества, продиффундировавшего через единичную площадку за единицу времени при градиенте плотности равном единице.

За счет диффузии обеспечивается проникновение вещества из внеклеточной среды в живую клетку через плазматическую мембрану из-за наличия градиента концентрации вещества. В физиологии такой механизм называется **пассивный мембранный транспорт**.

Перенос энергии ΔQ – теплопроводность.

Теплопроводность – это явление, при котором молекулы переносят свою энергию, описывается законом Фурье: $\Delta Q = -H \frac{\Delta T}{\Delta x} \Delta S \Delta t$ (1.17)

Закон Фурье: количество теплоты, перенесенной через площадку площадью ΔS за время Δt прямо пропорционально градиенту температуры, площади и времени переноса. Знак минус означает противоположное направление переноса энергии и градиента температуры. Величина

$|H| = \frac{\Delta Q}{\frac{\Delta T}{\Delta x} \Delta S \Delta t}$ – это **коэффициент теплопроводности**, который равен коли-

честву теплоты, перенесенному через единичную площадку за единицу времени при единичном градиенте температуры.

За счет теплопроводности (конвекции, лучеиспускания) поддерживается энергетический баланс организма, постоянство температуры внутренних органов. Так для мышечной ткани $H = 0,5 \frac{\text{Дж}}{\text{м} \cdot \text{с} \cdot \text{К}}$, для жировых клеток

$H = 0,1 \div 0,2 \frac{\text{Дж}}{\text{м} \cdot \text{с} \cdot \text{К}}$, для воздуха $H = 0,024 \frac{\text{Дж}}{\text{м} \cdot \text{с} \cdot \text{К}}$. Как видно, наименьший коэффициент теплопроводности у воздуха. Поэтому, например, в холодную погоду лучше одеваться в многослойную одежду, между слоями которой будет находиться воздух, обладающий наименьшей теплопроводностью.

Глава 2. ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТЕРМОДИНАМИКИ

2.1. Основные положения термодинамики. Теплоемкость.

Первое начало термодинамики

Термодинамика – раздел физики, изучающий процессы превращения энергии при переходе термодинамической системы из одного состояния в другое.

Химическая термодинамика изучает превращение энергии химических реакций в теплоту и работу.

Термодинамическая система – это тело или группа тел условно выделенные из окружающей среды, в которой происходят термодинамические процессы.

Различают три вида термодинамических систем:

- **изолированная** – которая не обменивается с окружающей средой ни энергией, ни веществом;
- **закрытая** – которая обменивается с окружающей средой энергией, но не обменивается веществом;
- **открытая** – которая обменивается с окружающей средой всеми параметрами: энергией и веществом.

Термодинамический процесс – это процесс перехода системы из одного состояния с параметрами P_1, V_1, T_1 в другое с параметрами P_2, V_2, T_2 , сопровождающийся превращением энергии из одного вида в другой или совершением механической работы. Различают три вида термодинамических процессов:

- **обратимые** – при которых система, пройдя ряд изменений, возвращается в первоначальное состояние, и при этом ликвидируются все последствия, как в самой системе, так и в окружающей среде. Так как убрать последствия из окружающей среды невозможно, то обратимых процессов в природе не существует;
- **необратимые** – при которых не выполняются условия обратимости процесса, т.е. все процессы в природе;
- **циклические** – при которых сама система периодически возвращается в первоначальное состояние, но последствия в окружающей среде не ликвидируются. (По-сути, это особый вид необратимых процессов, например, циклы: день-ночь, смена пор года, физиологические циклы живых организмов и т.д.). Химические реакции, удовлетворяющие такому условию, называются **обратимыми реакциями**.

Любой термодинамический процесс сопровождается изменением энергии системы. Мерой изменения энергии является **количество теплоты** ΔQ (или dQ , если мы рассматриваем бесконечно малое изменение энергии системы): $\Delta Q = W_2 - W_1$, где: W_1 и W_2 – энергия начального и конечного состояния системы, соответственно. При сообщении различным телам одинаковой массы извне одинакового количества теплоты ΔQ температура этих тел изменится на разную величину. (Например, если мы нагреваем две сковороды одинаковой массы, причем одна из них стальная, а вторая – чугунная. По опыту мы знаем, что быстрее будет нагреваться стальная сковорода.). Способность тела изменять свою температуру при сообщении ему количества теплоты называется **теплоемкостью**. Для сравнения теплоемкостей различных тел используют понятие **удельной теплоемкости** c – теплоемкости единицы массы вещества: $c = \frac{dQ}{mdT}$ (2.1)

Удельная теплоемкость численно равна количеству теплоты, необходимому для нагревания тела массой 1 кг на один градус.

Из определения теплоемкости можно получить удобную на практике формулу для нахождения количества тепла, необходимого для изменения температуры тела на заранее заданную величину dT : $dQ = cmdT$ (2.2)

Рассмотрим, что будет происходить с системой, например газом, при сообщении ему количества теплоты dQ . Здесь можно условно выделить два механизма:

Первый механизм. При сообщении $dQ > 0$ увеличивается температура тела. Выражение $dQ > 0$ означает, что изменение теплоты – это положительная величина, т.е. тело нагревается. Если бы dQ было < 0 – это бы значило, что тело остывает. Так как температура тела увеличивается, то $dT > 0$. Из МКТ известно, что от температуры зависит внутренняя энергия вещества (1.16). Если происходит увеличение температуры тела $dT > 0$, то будет увеличиваться и внутренняя энергия: $dU = \frac{m}{\mu} \frac{i}{2} R dT > 0$. Внутренняя энергия, например, идеального газа – это сумма кинетических энергий всех его молекул $U = \sum W_k$. Поэтому: **при увеличении внутренней энергии газа увеличивается скорость теплового хаотического движения молекул.**

Второй механизм. Давление газа зависит от средней кинетической энергии молекул: $p = \frac{2}{3} n_0 \bar{W}_k$. При ее увеличении возрастает давление, оказываемое газом на стенки сосуда. Но **давление**, по определению $p = \frac{F}{S}$ – это *сила, действующая на единицу площади*, откуда $F = pS$. Таким образом, при увеличении давления возрастает сила, с которой молекулы действуют на стенки сосуда. Т.е.: **при сообщении количества тепла газу он может совершить работу по расширению.**

Эти два механизма объединяются **законом сохранения энергии**, который в термодинамике называется **первым началом термодинамики**:

$$dQ = dU \pm dA \quad (2.3)$$

– *количество теплоты, сообщаемое термодинамической системе, расходуется на увеличение внутренней энергии и совершение системой работы против внешних сил.*

Если сама система совершает работу – то работа положительна $dA > 0$ (в формуле – знак «+»); если над системой совершается работа то $dA < 0$ (в формуле – знак «-»).

Пусть, например, при обратимой реакции система возвращается в первоначальное состояние. Это значит, что ее внутренняя энергия не изменяется $dU = 0$. Подставляя в первое начало термодинамики, получим: $dQ = dA$ (2.4)

Это значит, что при обратимой реакции все сообщаемое системе тепло будет расходовано на совершение работы. Выражение (2.4) трактуется как **невозможность создания вечного двигателя первого рода**: *система может совершить максимально возможную работу, равную количеству тепла, которое ей передано. Это значит, что невозможно один раз передав системе энергию, получить вечно работающий механизм, совершающий работу больше, чем переданная ему теплота.*

Но, как указано выше, *обратимых процессов в природе не существует*. Поэтому в дальнейшем, на основании второго начала термодинамики, мы увидим, что условие преобразования всего полученного системой тепла в работу также является практически неосуществимым.

2.2. Работа в термодинамике. Работа при изопроцессах

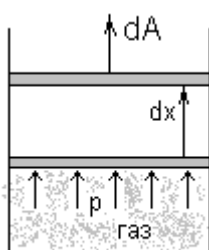


Рис. 2.1

Пусть в сосуде под подвижным поршнем находится газ (рис. 2.1). Поршень подвижен и газ может совершить работу подъема поршня против силы тяжести. Найдем работу по расширению такого газа при перемещении поршня на бесконечно малое расстояние dx . Работа – это произведение силы на бесконечно малое перемещение: $dA = Fdx$. Силу можно выразить через давление: $F = pS$. Тогда работа: $dA = pSdx$. Но $Sdx = dV$, где dV – изменение объема на бесконечно малую величину. Тогда: $dA = pdV$ (2.5)

Выражение (2.5) представляет собой **элементарную работу в термодинамике**.

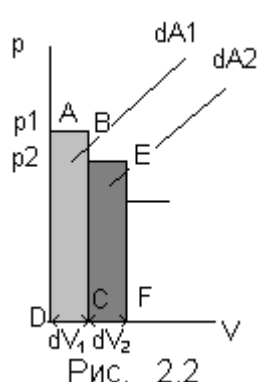


Рис. 2.2

При совершении работы давление газа падает. Предположим, что при некотором давлении p_1 он изменит свой объем на dV_1 и при этом совершит работу dA_1 , а при давлении p_2 работу dA_2 и т.д.. Построим график зависимости давления от объема (рис. 2.2). Графически элементарная работа dA_1 численно равна площади прямоугольника $ABCD$, работа dA_2 численно равна площади прямоугольника $BEFC$ и т.д.. Чтобы найти полную работу, необходимо просуммировать все элементарные работы dA : $A = \sum dA$. В математике сумма бесконечно малых величин находится с помощью определенного интеграла при изменении состояния газа из состояния 1 в состояние 2: $A = \int_1^2 dA$ (2.6)

что соответствует геометрическому смыслу определенного интеграла – это площадь криволинейной трапеции. Если объем газа изменяется от V_1 до V_2 , то, подставляя в формулу полной работы (2.6) выражение (2.5) элементарной работы и, меняя пределы интегрирования с 1 и 2 на V_1 и V_2 , получим формулу **полной работы в термодинамике**: $A = \int_{V_1}^{V_2} pdV$. (2.7)

Проанализируем все изопроцессы с двух точек зрения

С точки зрения совершения работы	С точки зрения 1-ого начала термодинамики
Изохорический процесс	
Так как при изохорическом процессе объем остается постоянным $V = const$, то изменение объема $dV = 0$. Но тогда и элементарная работа $dA = 0$. Тогда и полная работа тоже равна $A = 0$. Следовательно, <i>работа при изохорическом процессе равна нулю</i> .	Из первого начала термодинамики: $dQ = dU + dA$. Но элементарная работа $dA = 0$, тогда, $dQ = dU$ <i>При изохорическом процессе все сообщаемое системе тепло идет на увеличение внутренней энергии.</i>

С точки зрения совершения работы	С точки зрения 1-ого начала термодинамики
Изотермический процесс	
При изотермическом процессе температура $T=const$. Это значит, что при нагревании газа, происходит его расширение из состояния с объемом V_1 до состояния с объемом V_2. Из формулы полной работы (2.7) получим, что работа при изотермическом расширении: $A = \frac{m}{\mu} RT \ln \frac{V_2}{V_1}$ (2.8)	Так как температура постоянна $T=const$, то $dT=0$. Но тогда и изменение внутренней энергии тоже равно нулю $dU=0$. Из первого начала (2.3): $dQ = dU + dA$ получим, что: $dQ = dA$ <i>При изотермическом процессе все сообщаемое системе количество тепла расходуется на совершение работы против внешних сил.</i>
Изобарический процесс	
При изобарическом процессе постоянным остается давление $p=const$. Из формулы (2.7) работа при изобарическом расширении: $A = p(V_2 - V_1)$	При изобарическом процессе «работает» все первое начало термодинамики: $dQ = dU + dA$
Адиабатический процесс	
В термодинамике возникает еще один вид изопроцессов – это адиабатический процесс, при котором термодинамическая система не обменивается теплом с окружающей средой. Такая термодинамическая система называется адиабатической. Примером адиабатической системы является термос или сосуд Дьюара («холодное»- не нагревается; «горячее»- не остывает). Поведение идеального газа при адиабатическом процессе описывается уравнением Пуассона: $pV^\gamma = const$ (2.9) для постоянной массы газа при постоянном количестве тепла, произведение давления газа на его объем в степени γ (греч. «гамма») остается величиной постоянной. где: $\gamma = \frac{i+2}{i}$; i – число степеней свободы молекул. Иначе, $\gamma = \frac{c_p}{c_v}$ – это отношение теплоемкости при постоянном давлении к теплоемкости при постоянном объеме.	
(Здесь, вначале прочитайте правый столбец таблицы, т.е. «взгляд» на адиабатический процесс с точки зрения первого начала термодинамики). Итак, из правого столбца, т.е. из первого начала термодинамики, мы нашли, что элементарная работа, совершаемая газом при адиабатическом процессе: $dA = -dU$. Подставляя ее в формулу полной работы (2.7): $A = - \int_{T_1}^{T_2} dU$	При адиабатическом процессе количество теплоты в термодинамической системе остается постоянным $Q=const$. Это значит, что $dQ=0$. Тогда первое начало термодинамики: $dQ = dU + dA$ принимает для адиабатического процесса вид: $0 = dU + dA$. Откуда: $dA = -dU$. Это значит, что: <i>термодинамическая система может совершать работу при адиабатическом процессе только за счет уменьшения своей внутренней энергии.</i>

С точки зрения совершения работы	С точки зрения 1-ого начала термодинамики
Получим, что работа газа при адиабатическом процессе: $A = \frac{m}{\mu} \frac{i}{2} R(T_1 - T_2) \quad (2.10)$	Если же над системой совершается работа со стороны внешних сил, то первое начало термодинамики имеет вид: $dQ = dU - dA$ Тогда, при $dQ=0$, первое начало примет вид: $0 = dU - dA$ и, окончательно, получим, что: $dA = dU$ Т.е.: <i>работа, совершаемая внешними силами при адиабатическом процессе, идет на увеличение внутренней энергии термодинамической системы.</i>

2.3. Тепловая машина, ее к.п.д. К.п.д. живого организма

Тепловая машина – это периодически действующий механизм, который преобразует внутреннюю энергию топлива в механическую работу и возвращается в первоначальное состояние.

Тепловая машина должна работать периодически, возвращаясь в первоначальное состояние (иначе, для человека просто не будет смысла от машины, которая, например, однократно совершит работу). Из всех известных нам видов термодинамических процессов, принципу действия тепловой машины будет удовлетворять только **циклический процесс**, напомним, при котором сама система возвращается в первоначальное состояние, но последствия в окружающей среде не ликвидируются. Пусть, например, в качестве рабочего вещества – рабочего тела в тепловой машине используется идеальный газ (напомним, что реальные газы при высоких температурах ведут себя как идеальные). Для идеального газа мы знаем четыре типа изопроцессов: изотермический, изобарический, изохорический и адиабатический. Как, исходя из этих известных изопроцессов, построить циклический процесс?

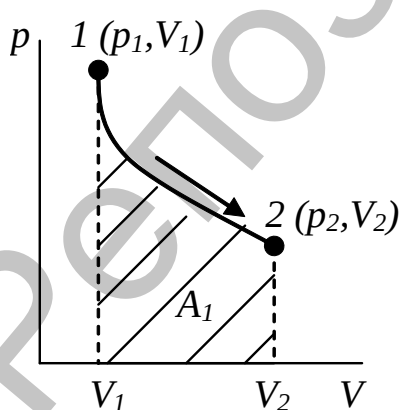


Рис.2.3

Рассмотрим процесс (рис. 2.3), при котором газ, расширяясь из состояния 1 с параметрами (p_1, V_1) , переходит в состояние 2 с параметрами (p_2, V_2) , совершает работу A_1 . Стрелкой показано направление процесса. Поскольку при таком расширении газ сам совершает работу, то его работа $A_1 > 0$, т.е. – положительна. Из предыдущего пункта мы знаем, что работа, совершаемая газом, вычисляется с помощью нахождения интеграла (2.7).

Геометрический смысл определенного интеграла – это площадь криволинейной трапеции или площадь под графиком функции.

В нашем случае, это площадь под кривой нашего термодинамического процесса (на рисунке – это заштрихованная область). Т.е. численное значение работы A_1 (интеграла (2.7)), совершаемой при расширении идеального газа – это площадь под кривой перехода газа из состояния 1 в состояние 2.

Это работа самого газа. Но нам надо создать циклический процесс, т.е. вернуть систему – газ в первоначальное состояние. Сам газ этого сделать не «сможет», потому что, уменьшая обратно объем, надо будет увеличивать давление. Поэтому, для того, чтобы, снова сжать газ, необходима работа внешних сил. Как же должен выглядеть график такого термодинамического процесса при переходе системы из состояния 2 в состояние 1? Рассмотрим следующие варианты.

1. Попробуем вернуть нашу систему в первоначальное состояние по тому же самому пути, но в обратном направлении (рис. 2.4). При этом, работа, совершаемая внешними силами над газом A_2 будет геометрически равна площади под кривой перехода газа из состояния 2 в состояние 1 (обратите внимание, что эта площадь, соответствующая работе над газом, имеет дру-

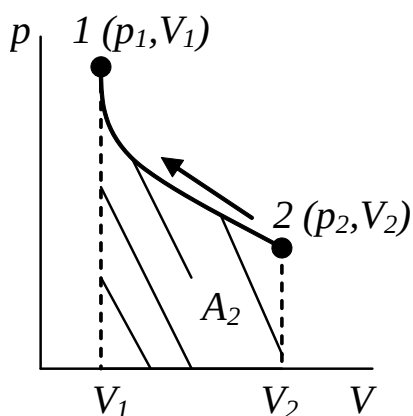


Рис.2.4

гую штриховку). Поскольку работа, теперь, совершается над газом то $A_2 < 0$, т.е. работа над газом – отрицательна.

Так как работа, как самого газа, так и работа над газом проводилась по одному и тому же пути, то по абсолютной величине (по модулю) эти работы равны $|A_1| = |A_2|$ (т.к. равны площади под одной и той же кривой, пройденной в противоположных направлениях).

Но, тогда полная работа при таком циклическом процессе: $A = A_1 - A_2 = 0$. Следовательно, такая тепловая машина не совершает полезной для человека работы и, соответственно, не имеет смысла.

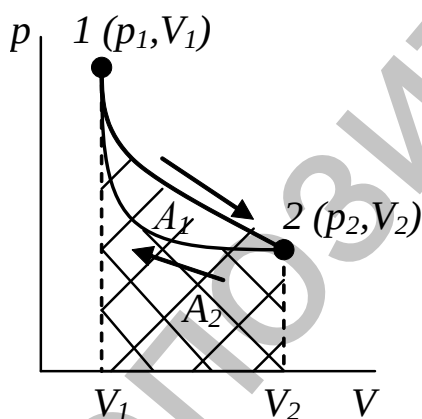


Рис.2.5

2. Из геометрических соображений, приведенных выше, следует необходимость, чтобы величина работы, совершаемой над газом $A_2 < A_1$ была меньше, чем работа самого газа. Тогда полная работа такой тепловой машины $A = A_1 - A_2 > 0$ будет положительной, т.е. такая тепловая машина будет полезна. Как это сделать? Для этого кривая процесса перехода газа из состояния 2 в 1 должна «идти ниже», чем кривая перехода газа из состояния 1 в 2 (рис. 2.5). Тогда геометрическая раз-

ность между работой A_1 , совершаемой самим газом, и работой A_2 , совершаемой над газом, (рис. 2.6) будет представлять собой площадь, ограниченную графиком циклического процесса.

Такой механизм реализован в цикле Карно (рис. 2.7), построенном на основе двух изотермических (они обозначены 1) и 3)) и двух адиабатических (они обозначены 2) и 4)) процессов. В нижней части рисунка показаны, соответственно, четыре этапа работы одного

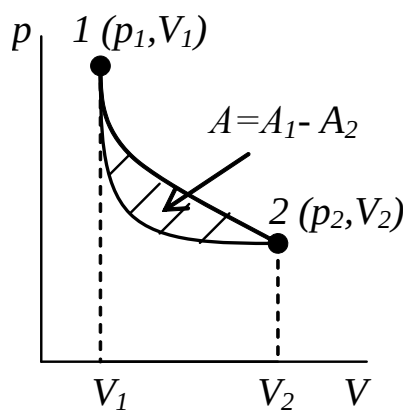
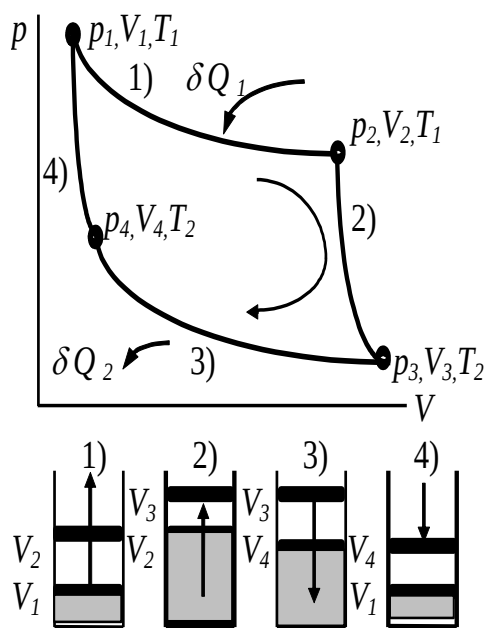


Рис.2.6



$T_1 = \text{const } dQ = 0 \quad T_2 = \text{const } dQ = 0$
Рис.2.7

цилиндра, соответствующие четырем этапам цикла Карно. В середине цикла стрелкой указано направление «обхода» цикла. Рассмотрим работу цикла Карно по этапам (номера подпунктов соответствуют номерам этапов на рисунке: как на самом цикле, так и для работы цилиндра).

1) этап: изотермическое расширение. Соответственно, график 1-го процесса – изотерма, на которой газ находится при температуре $T_1 = \text{const}$. Однако, мы знаем, что при изотермическом процессе газ совершает работу за счет уменьшения своей внутренней энергии. При этом температура газа должна уменьшаться. Однако это изотермический процесс. Поэтому, чтобы при расширении газа не происходило его охлаждения необходимо сообщать некоторое количество тепла δQ_1 от нагревателя (на рисунке

стрелкой показано подведение этого количества тепла от нагревателя). На примере цилиндра видно как газ расширяется из состояния с объемом V_1 до объема V_2 , совершая работу (2.8):

$$A_1 = \frac{m}{\mu} RT_1 \ln \frac{V_2}{V_1}$$

2) этап: адиабатическое расширение. График второго процесса – адиабата. Но мы знаем, что при адиабатическом процессе система теплоизолирована $dQ = 0$, и работа, совершаемая газом $dA = -dU$, идет за счет уменьшения его внутренней энергии – газ охлаждается. На примере цилиндра показано как газ расширяется из состояния с объемом V_2 до объема V_3 , совершая работу (2.10): $A_2 = \frac{m}{\mu} \frac{i}{2} R(T_1 - T_2)$

3) этап: изотермическое сжатие. График третьего процесса, вновь изотерма при температуре $T_2 = \text{const}$. Но здесь надо учитывать, что сам газ сжиматься не может. Для этого необходима работа внешних сил, которая будет увеличивать давление в газе, а, соответственно, будет увеличиваться внутренняя энергия и, соответственно, температура газа. Чтобы этого не происходило, и процесс оставался в рамках «изотермы», необходимо «отводить» некоторое количество теплоты δQ_2 к холодильнику (на рисунке стрелкой показано отведение этого количества тепла к холодильнику). На примере цилиндра видно сжатие газа из состояния с объемом V_3 до объема V_4 под действием внешних сил, совершающих работу (2.8): $A_3 = \frac{m}{\mu} RT_2 \ln \frac{V_4}{V_3}$

4) этап: адиабатическое сжатие. График четвертого процесса вновь представлен «адиабатой». Как при изотермическом сжатии, адиабатическое сжатие происходит под действием внешних сил. При этом, как известно из

предыдущего пункта, работа внешних сил $dA = dU$ идет на увеличение внутренней энергии газа. На примере цилиндра показано сжатие газа из состояния с объемом V_4 до объема V_1 под действием внешних сил, совершающих работу (2.10): $A_4 = \frac{m}{\mu} \frac{i}{2} R(T_2 - T_1)$.

Полная работу, совершаемая термодинамической системой при таком циклическом процессе: $A_{\text{полная}} = A_1 + A_2 + A_3 + A_4$. Складывая выражения для работы на каждом этапе цикла Карно, в итоге, получим: $A_{\text{полная}} = A_1 - A_3$.

Поэтому, полезная работа на цикле Карно равна разности работы самого газа при изотермическом расширении и работы над газом при его изотермическом сжатии. Такой же результат, только в общих чертах, мы уже обсуждали, когда рассматривали основные принципы построения циклических процессов. Теперь учтем, что работу по изотермическому расширению газ совершает за счет полученного от нагревателя количества тепла, т.е.: $A_1 = \delta Q_1$, а работа по изотермическому сжатию газа может быть произведена со стороны внешних сил только при условии, что эта дополнительная энергия должна быть отведена к холодильнику, т.е.: $A_3 = \delta Q_2$. Тогда, полезная работа: $A_{\text{полная}} = \delta Q_1 - \delta Q_2$ равна разности количества теплоты, полученного от нагревателя, и количества теплоты, отданного холодильнику.

Невозможность израсходования всего получаемого тепла от нагревателя на совершение полезной работы, выражает собой глобальный мировой закон, называемый **Второе начало термодинамики**: невозможно создать периодически действующий механизм, который все получаемое тепло переводил бы в полезную работу (часть тепла все равно необходимо отдать холодильнику).

На рис. 2.8 представлена блок-схема такой **тепловой машины**, работающей на основе цикла Карно.

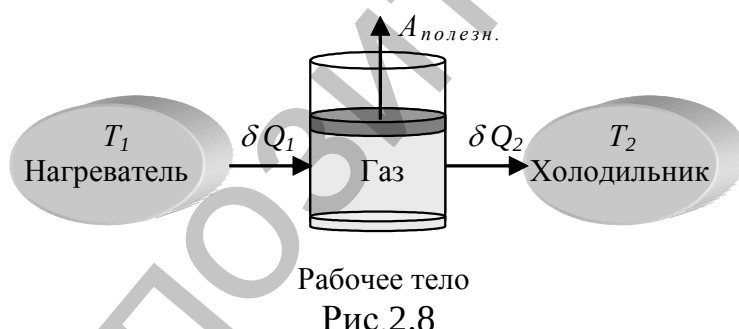


Рис.2.8

Рабочее тело — газ, получая от нагревателя, находящегося при температуре T_1 , количество тепла δQ_1 , совершает полезную работу

и, под действием работы внешних сил, возвращается в первоначальное состояние, отдавая некоторое количество тепла δQ_2 холодильнику, находящемуся при температуре T_2 .

Возникает вопрос: что является в тепловой машине нагревателем и холодильником? «Роль» нагревателя играет энергия, выделяющаяся, например, при сгорании топлива, а «роль» холодильника — окружающая среда (в двигателе — система охлаждения, которая сообщается с окружающей средой). Если предположить, что и живой организм — это тоже тепловая машина, то:

Холодильник для живого организма очевиден — это тоже окружающая среда. Но «роль» нагревателя в живом организме более сложна. Энергия в живом организме высвобождается при окислительно-восстановительных реакциях. С точки зрения энергетики — это экзергонические реакции. В частности,

в живом организме главным источником энергии является реакция гидролиза макроэргических связей АТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ, креатинфосфата и других макроэргических соединений.

Тепловая машина характеризуется **коэффициентом полезного действия η** (греч. «этта») – **к.п.д.** это величина, равная отношению полезной работы к затраченной :

$$\eta = \frac{A_{пол.}}{A_{затр.}} \quad (2.11)$$

Величина к.п.д. может быть выражена в %: $\eta = \frac{A_{пол.}}{A_{затр.}} \cdot 100\%$

Ранее показано, что $A_{пол.} = \delta Q_1 - \delta Q_2$ и $A_{затр.} = \delta Q_1$

Тогда **к.п.д. реальной тепловой машины:** $\eta_{реальн} = \frac{\delta Q_1 - \delta Q_2}{\delta Q_1} \quad (2.12)$

Но в реальной тепловой машине всегда существует потеря энергии на нагревание тела самой машины и потери энергии на преодоление сил трения. Невозможно создать идеальную адиабатическую «рубашку», которая бы не пропускала тепло в окружающую среду. Поэтому, существует абстрактная модель: **идеальная тепловая машина, которая полностью удовлетворяет требованиям цикла Карно.** Такая идеальная тепловая машина характеризуется своим идеальным – теоретическим к.п.д., который рассчитывается не по количеству теплоты, а по температурам нагревателя и холодильника:

$$\eta_{теор} = \frac{T_1 - T_2}{T_1} \quad (2.13)$$

Из приведенных выше соображений, очевидно, что к.п.д. идеальной тепловой машины, конечно, больше к.п.д. реальной тепловой машины:

$$\eta_{теор} \geq \eta_{реальн}$$

Если проходить цикл Карно в обратном направлении: 4), 3), 2), 1), то получим принцип работы холодильника.

Рассмотрим теперь вопрос: **возможно ли представить живой организм как идеальную тепловую машину?** Для этого рассчитаем теоретический к.п.д. организма – к.п.д. идеальной тепловой машины. Пусть температура нагревателя «человеческого тела» $T_1 = 37^\circ\text{C} + 273 = 310 \text{ K}$, а температура холодильника – окружающей среды $T_2 = 20^\circ\text{C} + 273 = 293 \text{ K}$. Тогда к.п.д. организма:

$$\eta_{теор} = \frac{T_1 - T_2}{T_1} \cdot 100\% = \frac{310 - 293}{310} \cdot 100\% \approx 5\%$$

Следовательно, теоретическое к.п.д. организма составляет всего 5% . Однако, в действительности, реальное к.п.д. человеческого организма, измеренное с помощью приборов, составляет $\eta_{реальн} \approx 30\%$. Здесь мы сталкиваемся с фактом, противоречащим второму началу термодинамики: для живого организма реальный к.п.д. больше, чем к.п.д. теоретический. Возникает вопрос: откуда взялись эти дополнительные 25% к.п.д.? Оказывается, это связано с тем, что живой организм сам вырабатывает для себя «топливо» – АТФ, чего ни одна тепловая машина делать не может.

Поэтому: **живой организм нельзя рассматривать как идеальную тепловую машину.**

2.4. Энтропия. Второе начало термодинамики

В предыдущем пункте мы рассмотрели цикл Карно, совершаемый газом при обратимом процессе. Ранее мы говорили, что химические реакции, удовлетворяющие такому циклу, называются обратимыми. Поэтому, обратимая химическая реакция, идущая на основании такого цикла, характеризуется двумя коэффициентами полезного действия. Теоретический (идеальный) к.п.д. (2.13): $\eta_{теор} = \frac{T_1 - T_2}{T_1}$

где T_1 и T_2 температуры нагревателя (системы, в которой происходит химическая реакция) и холодильника (окружающей среды), соответственно.

$$\text{Реальный к.п.д. (2.12): } \eta_{реальн} = \frac{\delta Q_1 - \delta Q_2}{\delta Q_1}$$

где δQ_1 и δQ_2 количества тепла, переданного от нагревателя (выделившегося при химической реакции) и отданного окружающей среде, соответственно.

Причем мы объяснили, что идеальный к.п.д. всегда больше к.п.д. реального: $\eta_{теор} \geq \eta_{реальн}$. Это связано с необратимыми потерями тепла, рассеивающегося в окружающую среду. Равенство будет выполняться только в случае идеальных обратимых химических реакций: $\eta_{теор} = \eta_{реальн}$.

$$\text{Подставим в это равенство (2.12) и (2.13): } \frac{T_1 - T_2}{T_1} = \frac{\delta Q_1 - \delta Q_2}{\delta Q_1}.$$

$$\text{Преобразуем левую и правую часть: } 1 - \frac{T_2}{T_1} = 1 - \frac{\delta Q_2}{\delta Q_1}.$$

$$\text{«Сократим единицу»: } -\frac{T_2}{T_1} = -\frac{\delta Q_2}{\delta Q_1}. \text{ Умножим на «минус единицу»:$$

$$\frac{T_2}{T_1} = \frac{\delta Q_2}{\delta Q_1}.$$

Соберем множители с индексами «1» и «2», поменяв их местами «крест-накрест»: $\frac{\delta Q_1}{T_1} = \frac{\delta Q_2}{T_2}$. Соберем слагаемые в левой части:

$$\frac{\delta Q_1}{T_1} - \frac{\delta Q_2}{T_2} = 0.$$

Учтем, что $\delta Q_2 < 0$ – это теплота, отданная холодильнику. Тогда:

$$\frac{\delta Q_1}{T_1} + \frac{\delta Q_2}{T_2} = 0$$

Иначе, $\sum \frac{\delta Q}{T} = 0$. Сумма отношений количества теплоты к температуре при обратимой химической реакции равна нулю. Если разбить такой цикл Карно обратимой реакции на бесконечно малые участки, то перейдем от символа δQ – «дельта» Q – конечного изменения тепла к dQ – бесконечно малого изменения теплоты. Тогда: $\sum \frac{dQ}{T} = 0$. В математике сумма бесконечно малых величин находится при помощи операции – интегрирования:

$\int \frac{dQ}{T} = 0$. Но при обратимом цикле Карно необходимо интегрировать как по прямому, так и по обратному пути. Такой интеграл называется интегралом по замкнутому контуру: $\oint \frac{dQ}{T} = 0$

Видно, что под знаком интеграла стоит полный дифференциал некоторой функции, которую обозначим S . Ее полный дифференциал:

$$dS = \frac{dQ}{T} \quad (2.14)$$

Тогда: $\oint dS = 0$ (2.15)

В пункте 2.1 утверждалось, что при обратимом процессе не меняется внутренняя энергия. Оказывается, что кроме внутренней энергии, существует функция, которая не меняется при обратимой химической реакции, удовлетворяющей идеальному циклу Карно. В следующем пункте (3.1) обсудим математические свойства таких функций, изменение которых при обратимых процессах равно нулю. Такого вида функции называются – функциями состояния. Функция S , которая возникла после формальных математических преобразований, имеет очень большой физический смысл и получила название – **фундаментальная термодинамическая функция ЭНТРОПИЯ**. Выражение (2.14) представляет собой полный дифференциал энтропии. Размерность энтропии: $[dS] = \frac{Дж}{К}$ совпадает с размерностью постоянной Больцмана.

Выражение (2.14) позволяет найти изменение энтропии при сообщении бесконечно малого количества тепла. Если необходимо найти полное изменение энтропии ΔS при переходе термодинамической системы из состояния 1 в состояние 2, то необходимо вычислить определенный интеграл:

$$\Delta S = \int_1^2 \frac{dQ}{T} \quad (2.16)$$

Например, если происходит нагревание тела, с удельной теплоемкостью c от T_1 до T_2 , то количество тепла рассчитывается по выражению (2.2):

$dQ = cmdT$. Подставляя его в (2.16): $\Delta S = \int_{T_1}^{T_2} \frac{cmdT}{T}$ или $\Delta S = cm \int_{T_1}^{T_2} \frac{dT}{T}$, откуда

$$\Delta S = cm \ln \frac{T_2}{T_1}$$

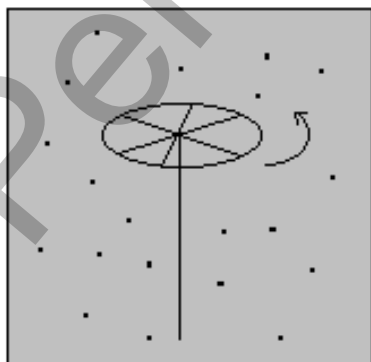


Рис.2.9

Определение энтропии (2.14) мы получили исходя из термодинамических рассуждений. У энтропии есть намного более глубокий физический смысл, основывающийся на статистической механике. Чтобы его понять, осуществим мысленный эксперимент (рис. 2.9). Пусть есть изолированная система, состоящая из сосуда, внутри которого находится газ и вращается механическое колесо (например, обычное велосипедное колесо).

1. В начале вся энергия – это механиче-

ская энергия вращающего колеса, которую человек мог сравнительно легко израсходовать на совершение полезной работы (например: подсоединить к колесу динамо-машину и вырабатывать электроэнергию). В процессе трения колеса о газ, эта механическая энергия будет переходить к молекулам газа, в результате чего колесо остановится. После того как *механическая энергия колеса* перешла к молекулам газа и превратилась в *энергию теплового хаотического движения*, эту энергию стало труднее использовать для *совершения полезной человеку работы* (надо сделать цилиндр – поршень – двигатель). И, хотя в изолированной системе величина полной энергии осталась неизменной, эта энергия стала менее ценной для человека. Как описать такую характеристику энергии: «более ценная – менее ценная»? Для характеристики степени ценности энергии, как способности к совершению работы, и было введено понятие **энтропия**. Исходя из рассмотренного выше механизма, мы можем сказать, что в приведенном мысленном эксперименте энергия из более ценной стала для нас менее ценной. Отсюда вытекает первое определение энтропии.

Энтропия – это мера обесценивания энергии

2. При вращении колеса молекулы газа, за счет трения о него, будут приобретать дополнительную кинетическую энергию и их движение в системе станет более хаотичным, т.е. увеличится беспорядок. Отсюда следует второе определение энтропии.

Энтропия – это мера беспорядка или хаоса в термодинамической системе

3. Посмотрим на этот процесс с точки зрения теории вероятности. Известно, что все процессы в природе идут от менее вероятных к более вероятным. При трении молекул газа о колесо более вероятно, что молекулы станут двигаться более хаотично, чем обратное. Отсюда следует третье определение энтропии.

Энтропия – это мера вероятности состояния термодинамической системы

Пусть, например, в начальном состоянии газ занимал определенный объем, в пределах которого могли двигаться молекулы. Количество «мест», которые могли занимать молекулы в таком объеме, называется **числом микросостояний или статистическим весом термодинамической системы и обозначается Γ** (греч. «гамма»). При расширении газа его объем увеличивается. При этом увеличивается произвол в распределении молекул газа по этому объему. Соответственно, увеличивается и число микросостояний такой термодинамической системы. Поэтому, увеличивается и энтропия такой системы. Людвиг Больцман получил связь между энтропией и числом микросостояний термодинамической системы (формула Больцмана):

$$S = k \ln \Gamma \quad (2.17)$$

Энтропия – это логарифм статистического веса, где k – постоянная Больцмана.

Объединим три определения энтропии и получим, что: *в изолированной системе идет процесс перехода к наиболее вероятному состоянию с максимальным хаосом, при котором происходит обесценивание энергии*. Чтобы не говорить такую большую фразу, можно сказать: **энтропия изолированной системы возрастает**.

Если учесть, что любая изолированная система – самопроизвольная химическая реакция стремится к равновесному состоянию, то можно уви-

деть, что при стремлении самопроизвольной химической реакции к состоянию равновесия – энтропия возрастает и стремится к максимальному значению (максимальный хаос, полностью обесцененная энергия – полная неспособность совершать работу).

При обратимых процессах все последствия в системе и окружающей среде должны быть ликвидированы. Молекулы должны вернуться в первоначальное состояние. Тогда изменение энтропии будет равно нулю $dS = 0$, т.е. энтропия останется постоянной $S = const$. Но в реальных процессах это невозможно (мы уже говорили в начале темы, что обратимых процессов не существует). Поэтому, в изолированных системах все процессы идут только с увеличением энтропии: $dS > 0$. Таким образом, обобщая все выше сказанное, можно дать вторую – энтропийную формулировку:

Второе начало термодинамики: *все процессы в изолированных термодинамических системах идут с увеличением энтропии*

Иначе, **наиболее вероятное равновесное состояние любой изолированной термодинамической системы – это состояние с максимальным хаосом.**

Анализируя второе начало термодинамики, можно прийти к выводу, что живой организм не является равновесной изолированной термодинамической системой, поскольку он существует долгое время, не разрушаясь.

Теперь отметим важный момент! Выше мы напомнили, что обратимых процессов не существует, а, следовательно, невозможно сделать так, чтобы энтропия изолированной термодинамической системы оставалась постоянной. **ВНИМАНИЕ!** Что мы понимали под термодинамической системой? *Это тело или группа тел, выделенные из окружающей среды!* Если мы изолируем нашу химическую реакцию от окружающей среды, мы не сможем получить обратимую химическую реакцию! А что такое циклический процесс или обратимая химическая реакция? *Это реакция, в результате которой все последствия в самой системе ликвидируются, но последствия в окружающей среде мы ликвидировать не в состоянии.* Для осуществления такого процесса необходим контакт системы с окружающей средой – это уже не изолированная система. Поэтому, действительно, в случае обратимой химической реакции все последствия в самой системе могут быть ликвидированы, т.е. энтропия самой системы может оставаться постоянной, но в окружающей среде мы НИКОГДА последствия данной химической реакции ликвидировать не сумеем.

Вывод! Обратимых термодинамических процессов – НЕ СУЩЕСТВУЕТ!

Обратимые химические реакции ВОЗМОЖНЫ!

Энтропия имеет еще один очень важный – информационный смысл. **Энтропия – это параметр термодинамической системы, характеризующий величину потерь информации при переходе от микро- к макроописанию термодинамической системы.** Действительно, пусть мы имеем «очень хороший» микроскоп, позволяющий нам увидеть каждую молекулу в любой момент времени. В этом случае, микросостояние каждой молекулы «для нас» четко известно, т.е. «для нас» молекула может находиться только в одном микросостоянии (потому, что мы ее видим, и все о ней знаем). Тогда число микросостояний $\Gamma = 1$. Тогда, по формуле Больцмана (2.17), энтропия такой системы: $S = k \ln 1 = 0$

Когда мы посмотрим на систему через «худший» микроскоп, то не увидим каждую молекулу в отдельности. Мы лишь можем предполагать, где она находится. Число возможных микросостояний увеличивается $\Gamma > 1$ и, соответственно, растет энтропия $S > 0$. При этом мы потеряли «полное» знание, информацию о системе.

Исходя из термодинамического определения энтропии (2.15), количество тепла:

$dQ = TdS$. Смысл данного равенства в том, что при сообщении системе количества теплоты dQ происходит пропорциональное ему увеличение энтропии, где «роль» коэффициента пропорциональности «играет» температура. Т.е. при большей температуре одно и то же количество теплоты вызывает большее увеличение энтропии термодинамической системы. Вспомним, что равенство $dQ = TdS$ было получено из (2.15), т.е. для системы, совершающей обратимый процесс. Но таких процессов не существует. Поэтому, равенство $dQ = TdS$ для реальных термодинамических процессов превращается в неравенство Клаузиуса: $TdS \geq dQ$ (2.18)

Смысл данного неравенства в том, что: *увеличение энтропии в термодинамической системе всегда больше, чем увеличение энтропии при обратимом процессе*. Знак равенства соответствует обратимому процессу.

Глава 3. МЕТОД ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ

3.1. Математическое отступление: «О функции состояния»

Пусть какая-то механическая или термодинамическая система характеризуется двумя параметрами x и y . Тогда некоторое уравнение, связывающее изменение этих параметров – **некоторая функция $F=F(x;y)$ будет называться функцией состояния**, если изменение этой функции не зависит от пути, по которому изменение произошло, а зависит только от начального и конечного значения функции. Это значит, что, по какому бы пути а), б)

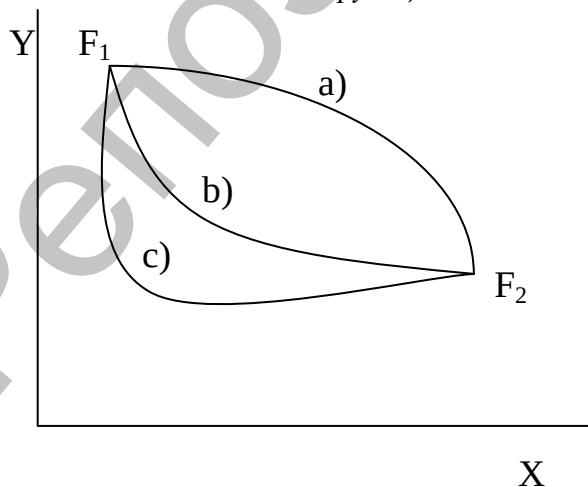


Рис.3.1

или с) (рис. 3.1) ни происходило изменение переменных x и y , изменение самой функции $F=F(x;y)$ будет одинаковым для любого пути. Бесконечно малое изменение такой функции двух переменных в математике называется полным дифференциалом. Его смысл – это приращение функции при приращении ее аргументов x и y .

Полный дифференциал функции двух переменных находится как:

$$dF = \left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y dx + \left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x dy, \quad (3.1)$$

где $\left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y$ и $\left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x$ – частные производные данной функции по соответствующим переменным. Такая форма записи частной производной в скобках, когда справа от скобки стоит вторая переменная означает, что мы находим производную данной функции по одной из переменных, считая, что вторая переменная не изменяется, и наоборот.

Чтобы понять смысл таких выражений, надо вспомнить механический смысл **производной функции** – это скорость изменения функции. Тогда, каждая частная производная показывает скорость изменения функции только при изменении одного из параметров – или x или y , при условии, что в момент вычисления второй параметр остается неизменным. Если понятно, что частная производная – это скорость изменения функции при изменении данного параметра, то выражения вида:

$$\left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y dx \quad \text{или} \quad \left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x dy,$$

когда мы умножаем частную производную – *скорость изменения функции на дифференциал данной переменной* – *приращение этой переменной*, означают **приращение самой функции F** при изменении параметра x или параметра y . следовательно, каждое такое произведение показывает, как изменилась функция, если изменился какой-то из ее параметров. В таком случае, все выражение (3.1) покажет, **как изменилась функция F , если изменились оба ее параметра**.

Выражение (3.1) – полный дифференциал функции двух переменных показывает бесконечно малое изменение функции при бесконечно малом изменении переменных. В реальной жизни, в физико-химических процессах происходит **конечное** изменение каких-то переменных, характеризующих состояние системы. Чтобы найти изменение функции при таких конечных изменениях, надо найти сумму всех таких бесконечно малых изменений (3.1). В математике, сумма бесконечно малых величин находится при помощи операции нахождения определенного интеграла. Тогда, полное изменение функции:

$$\Delta F = \int_1^2 \left[\left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y dx + \left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x dy \right], \quad (3.2)$$

где индексы 1 и 2 в пределах интеграла означают значения переменных x_1, y_1 и x_2, y_2 соответственно, при изменении которых находим изменение самой функции от F_1 до F_2 . Зная это, следует разобраться, что такое функция состояния.

Вспомним, что в начале пункта была определена функция состояния как функция, изменение которой ΔF не зависит от пути, по которому это изменение произошло (Рис.3.1). Это должно означать, что интеграл (3.2) не зависит от пути интегрирования. Попробуем организовать циклический процесс. Сначала будем менять переменные x и y так, чтобы функция изменилась от F_1 до F_2 , т.е. на ΔF_1 . Затем, будем менять x и y , чтобы произошло обратное изменение функции от F_2 до F_1 , т.е. на ΔF_2 . Тогда, полное изменение функции при таком циклическом процессе $\Delta F = \Delta F_1 + \Delta F_2$. Изменение функции на каждом этапе высчитывается с помощью интеграла (3.2). Его значение для функции состояния не зависит от пути интегрирования, т.е.

$|\Delta F_1| = |\Delta F_2|$. Причем, значение интеграла, при изменении переменных в обратном направлении – противоположно по знаку, т.е. $\Delta F_1 = -\Delta F_2$. Поэтому, полное изменение функции состояния при циклическом процессе: $\Delta F = 0$. Все это математически можно записать всего одним действием:

$$\Delta F = \oint \left[\left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y dx + \left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x dy \right] = 0, \quad (3.3)$$

где знак $\oint$ – называется циклическим интегралом или интегралом по замкнутому контуру. Таким образом, **интеграл по замкнутому контуру циклического процесса, вычисленный от функции состояния термодинамической системы, всегда равен нулю. Функция состояния, которая обладает такими свойствами, называется в математике – Потенциальной функцией.** Рассмотрим ее свойство, постоянно используемое в термодинамике.

Обозначим каждую частную производную $\left(\frac{\partial F}{\partial x} \right)_y \equiv A$ и $\left(\frac{\partial F}{\partial y} \right)_x \equiv B$. Тогда выражение (3.1) примет вид:

$$dF = Adx + Bdy \quad (3.4)$$

Если функция F – это действительно функция состояния (т.е. для нее справедливо условие (3.3)), то для нее должно выполняться условие Пфаффа:

$$\left(\frac{\partial A}{\partial y} \right)_x = \left(\frac{\partial B}{\partial x} \right)_y. \quad (3.5)$$

Обратите внимание, как записывается это выражение – «крест-накрест»: частная производная первого коэффициента A по второй независимой переменной y при условии, что первая переменная x остается постоянной, должна быть равной частной производной второго коэффициента B по первой независимой переменной x при условии, что вторая независимая переменная y остается постоянной.

3.2. Термодинамический потенциал – внутренняя энергия

В пункте 2.1 мы узнали, что изменение внутренней энергии, если сама термодинамическая система совершает работу (знак «+»), выражается первым началом термодинамики (2.3). Откуда $dU = dQ - dA$ (3.6)

При обратимом процессе изменение внутренней энергии $dU = 0$, по какому бы пути это изменение не происходило. Таким образом, *внутренняя энергия представляет собой с математической точки зрения функцию состояния*, которая должна обладать всеми свойствами, рассмотренными в пункте 3.1.

Функции состояния называются еще и потенциальными функциями (пункт 3.1). Тогда мы их будем называть в термодинамике **ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИМИ ПОТЕНЦИАЛАМИ**. Рассмотрим эту функцию. Прежде всего, подставим в нее все величины, которые обсуждались ранее, а именно: $dA = pdV$ – элементарная работа (2.5); $dQ = TdS$ – бесконечно малое количество тепла, выраженное через изменение энтропии термодинамической системы (2.14). Тогда, получим полный дифференциал внутренней энергии как функции состояния: $dU = TdS - pdV$ (3.7)

Анализируя это уравнение, можно отметить, что это функция двух независимых параметров $U = U(S, V)$. Это видно при сравнении (3.7) и (3.4).

Те величины, которые стоят под знаком дифференциала, являются независимыми переменными. Поэтому, внутренняя энергия $U=U(S,V)$ – это функция состояния термодинамической системы относительно независимых параметров S – энтропия и V – объем. А изменение функции состояния при изменении dS и dV – это ее полный дифференциал (3.7).

Тогда, полное изменение внутренней энергии, при конечном изменении энтропии и объема вычислим по выражению (3.2): $\Delta U = \int_1^2 (TdS - pdV)$. (3.8)

Если учесть, что при обратимом или циклическом процессе внутренняя энергия не меняется $dU = 0$, то получим условие, аналогичное (3.3):

$$\Delta U = \oint (TdS - pdV) = 0. \quad (3.9)$$

Сравнивая (3.7) с (3.4) можно сразу видеть, что роль коэффициентов A и B соответственно играют T – температура и p – давление. Подтвердим такое сравнение следующими рассуждениями. Действительно, внутренняя энергия $U=U(S,V)$ – это функция двух переменных и ее полный дифференциал, согласно (3.1):

$$dU = \left(\frac{\partial U}{\partial S} \right)_V dS + \left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_S dV \quad (3.10)$$

С другой стороны, в термодинамике выражение (3.7) показывает, что полный дифференциал внутренней энергии: $dU = TdS - pdV$.

Из высшей математики известно, что два полных дифференциала могут быть равны только в том случае, если равны коэффициенты при независимых дифференциалах. Итак, сравниваем (3.10) и (3.7).

$$\text{При } dS: T = \left(\frac{\partial U}{\partial S} \right)_V \quad (3.11).$$

$$\text{При } dV: p = - \left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_S \quad (3.12)$$

В результате вычислений (3.11) и (3.12) удалось найти уравнения: $T=T(S,V)$ и $p=p(S,V)$, т.е. удалось определить соотношения между всеми макропараметрами термодинамической системы. Прделанное сравнение (3.10) и (3.7) – это строгое математическое доказательство. Но поступать так каждый раз при обсуждении новой функции состояния трудоемко. Чтобы этого не делать, можно использовать следующее правило (сравните выражения (3.7) и (3.11)): *чтобы получить выражение для какого-либо коэффициента в полном дифференциале (например, T), надо взять частную производную самой функции состояния по соответствующей независимой переменной, при условии, что вторая независимая переменная остается постоянной*. В данном случае: температура – это частная производная внутренней энергии по энтропии, при постоянном объеме. Аналогично, давление (выражение (3.12)) – это частная производная внутренней энергии по объему, при постоянной энтропии. При проведении опытов мы часто будем менять какой-то макропараметр. При этом, нас будет интересовать: как меняются при этом другие макропараметры? Чтобы ответить на этот вопрос, воспользуем-

ся (3.5) – равенством Пфаффа $\left(\frac{\partial A}{\partial y} \right)_x = \left(\frac{\partial B}{\partial x} \right)_y$. Давайте применим его к

внутренней энергии: $dU = TdS - pdV$. Вспомнив про правило «крест-накрест», получим:
$$\left(\frac{\partial T}{\partial V}\right)_S = -\left(\frac{\partial p}{\partial S}\right)_V, \quad (3.13)$$

которое дословно читается так: «дэ T по дэ V , при постоянном S , равно минус дэ p по дэ S , при постоянном V ». Это мы прочли «чисто» математическую запись. Для понимания смысла такой записи необходимо вспомнить суть производной – это скорость изменения функции. Тогда выражение (3.13) наполняется реальным содержанием: изменение температуры при единичном изменении объема равно изменению давления при единичном изменении энтропии, с противоположным знаком. Соотношение (3.13) в термодинамике получило название – **соотношение Максвелла**.

Таким образом, изучая изменения каких-либо двух макропараметров системы, которые возможно измерять приборами (например, T и V), допустимо говорить и про изменения двух других макропараметров, измерить которые трудно (например, изменение энтропии системы). Преимущества выражений типа (3.13) еще и в том, что с частными производными можно работать как с обыкновенными дробями. Например, можно их «перевернуть»:

$$\left(\frac{\partial V}{\partial T}\right)_S = -\left(\frac{\partial S}{\partial p}\right)_V \quad (3.14)$$

И тогда можно увидеть новый результат. Например, проводя опыт, было обнаружено, что при увеличении температуры T объем системы V увеличился. Этот результат согласуется с выражением $\left(\frac{\partial V}{\partial T}\right)_S > 0$. Действи-

тельно, температура – растет; объем – тоже. Это возрастающая функция и ее производная – положительна. Еще раз подчеркнем, что этот результат мы получили путем прямых приборных измерений. Чем же полезно выражение (3.14)? Оказывается, что, не проводя больше никаких измерений, мы можем утверждать, что в исследуемой системе при увеличении давления энтропия должна уменьшаться (знак минус перед производной).

Давайте попробуем сказать еще проще. Оказывается, что насколько быстро увеличивается объем при возрастании температуры (при постоянной энтропии), настолько же быстро уменьшается энтропия системы при увеличении давления (при постоянном объеме). Польза выражений типа (3.14) еще и в том, что они позволяют не только узнать поведение одних макропараметров при изменении других, но и предсказать, как производить опыты (при каких дополнительных внешних условиях). Например, объем возрастает при повышении температуры при постоянной энтропии. Это значит, что необходимо проводить опыты в адиабатической системе, т.е. если система теплоизолирована. Или, энтропия системы уменьшается при увеличении давления при постоянном объеме. Это значит, что мы должны производить действия над системой при изохорическом процессе (например, сообщая системе тепло).

Рассмотрим, **какие преимущества дает использование термодинамического потенциала**. Оказывается, что если удастся найти такую функцию (например, внутреннюю энергию), как функцию $U=U(S,V)$ энтропии и объема, то можно, используя (3.11) и (3.12) найти и остальные макропараметры, описывающие состояние термодинамической системы. А, используя соотношения Максвелла (3.13), (3.14), можно найти скорости изменения одних макропараметров при изменении других.

В заключении, необходимо напомнить, что, работая с термодинамическим потенциалом – внутренней энергией, нельзя забывать, о ее смысле: **внутренняя энергия** – это сумма всех кинетических энергий молекул и потенциальных энергий их взаимодействия. Поэтому, говоря об ее изменении на основании (3.7) – первого начала термодинамики, необходимо понимать, что при этом изменяется кинетическая энергия теплового хаотического движения молекул и потенциальная энергия их взаимодействия, т.е. величина энергии химических связей.

3.3. Математическое отступление: «О преобразованиях Лежандра»

Пусть мы сумели найти для термодинамической системы ее функцию состояния $f=f(p, V, T, S)$ – это, формально, функция четырех переменных: давление, объем, температура и энтропия.

В пункте 3.2 мы обсудили одну из таких функций – внутреннюю энергию, полный дифференциал которой (3.7): $dU = TdS - pdV$.

Отсюда мы сделали вывод, что внутренняя энергия – это функция энтропии S и объема V , т.е. $U=U(S, V)$. Это значит, что если мы говорим о «нашей» термодинамической системе «на языке» внутренней энергии, то ее изменение всегда определяется ТОЛЬКО изменением двух макропараметров: энтропии S и объема V . Но, формально, любая термодинамическая система характеризуется четырьмя макропараметрами: p, V, T, S . И, формально математически, любая из пар этих параметров может «играть роль» независимых переменных (а не только S и V). И тогда, каждой из таких пар независимых макропараметров будет соответствовать какая-то «своя» функция состояния – «свой» термодинамический потенциал. Для того, чтобы из известной функции построить другую, существует **преобразование Лежандра**. Его упрощенная схема состоит в следующем.

Пусть, как в пункте 3.1, мы имеем функцию двух переменных $F=F(x; y)$, полный дифференциал которой (3.4) имеет вид: $dF = Adx + Bdy$ (3.15)

Это значит, что мы можем узнать, как изменяется наша система при изменении параметров x и y . Допустим, мы хотим узнать изменение системы при изменении не этих «старых» параметров, а при изменении, например, A и y . Иными словами, один из «старых» параметров y мы хотим оставить, а вместо «старого» параметра x «сделать» «новым» независимым параметром – A . Если посмотреть на (3.15), то можно увидеть, что мы пытаемся поменять A и x местами. Для этого, произведем преобразования Лежандра в четыре этапа:

1-й этап: надо составить полный дифференциал произведения тех переменных, которые мы собираемся поменять местами: $d(Ax) = x dA + A dx$

2-й этап: выразим отсюда то слагаемое, которое стоит в полном дифференциале (3.15): $A dx = d(Ax) - x dA$ и подставим его в (3.15): $dF = d(Ax) - x dA + B dy$

3-й этап: соберем полные дифференциалы в левой части выражения:

$$dF - d(Ax) = -x dA + B dy$$

Воспользуемся тем, что разность полных дифференциалов – это полный дифференциал разности: $d(F - Ax) = -x dA + B dy$

4-й этап: под знаком полного дифференциала (в скобках) «родилась» какая-то новая функция, которую обозначим, например G . Тогда: $G = F - Ax$ (3.16)

– это определение этой новой функции. А ее полный дифференциал:

$$dG = -x dA + B dy \quad (3.17)$$

Глядя на (3.17), можно увидеть, что мы получили новую функцию относительно переменных A и y . И если это еще и функция состояния, то для нее справедливы все свойства, рассмотренные в пункте 3.1, в том числе – равенства Пфаффа (3.5), которые в случае термодинамики превращаются в соотношения Максвелла.

3.4. Термодинамический потенциал – энтальпия

Воспользуемся, рассмотренными в пункте 3.3, преобразованиями Лежандра и построим из известного термодинамического потенциала – внутренней энергии какой-нибудь новый термодинамический потенциал.

Итак, внутренняя энергия – это функция $U=U(S,V)$ энтропии и объема и ее полный дифференциал $dU = TdS - pdV$ (3.18)

Попробуем «поменять местами», например, переменные p и V . Воспользуемся для этого алгоритмом преобразований Лежандра, описанным в предыдущем пункте.

1-й этап: составляем полный дифференциал произведения переменных, которые мы собираемся поменять местами: $d(pV) = pdV + Vdp$.

2-й этап: выражаем слагаемое, которое стоит в полном дифференциале (3.18): $pdV = d(pV) - Vdp$ и подставляем его в (3.18): $dU = TdS - d(pV) + Vdp$

3-й этап: собираем полные дифференциалы в левой части выражения:

$$dU + d(pV) = TdS + Vdp$$

Воспользуемся тем, что сумма полных дифференциалов – это полный дифференциал суммы: $d(U + pV) = TdS + Vdp$

4-й этап: под знаком полного дифференциала (в скобках) «родилась» какая-то новая функция – новый термодинамический потенциал, который обозначим, например H . Тогда: $H = U + pV$ (3.19)

– это новый *термодинамический потенциал*, получивший название **ЭНТАЛЬПИЯ**. Ее полный дифференциал: $dH = TdS + Vdp$ (3.20)

Таким образом, мы получили новый термодинамический потенциал $H=H(S,p)$ относительно переменных S и p , который также является функцией состояния термодинамической системы.

Рассмотрим смысл термодинамического потенциала. Давайте вспомним, что мы делали с внутренней энергией (3.7) $dU = TdS - pdV$? В этом выражении мы видим «знакомые» нам слагаемые: $dA = pdV$ – элементарная работа; $dQ = TdS$ – количество тепла. Отсюда мы можем вспомнить первое начало термодинамики $dQ = dU + dA$, что теплота, сообщенная термодинамической системе, идет на увеличение ее внутренней энергии и совершение работы против внешних сил. В этом и есть смысл первого начала термодинамики. А как найти смысл энтальпии?

Попробуем поступить аналогично. Заметим, что в полном дифференциале энтальпии (3.20) $dH = TdS + Vdp$ присутствует «знакомое» нам слагаемое $dQ = TdS$ – количество тепла. Но слагаемое Vdp мы «совершенно не знаем». Тогда, поступим следующим образом: мы *зафиксируем давление*. Мы будем считать, что изменения в термодинамической системе происходят при постоянном давлении $p = \text{const}$. Действительно, многие как физические процессы, так и химические реакции происходят при постоянном – атмосферном давлении. В таком случае изменение давления $dp = 0$. Но тогда: $(dH)_p = TdS = dQ$.

Отсюда мы можем определить физический смысл энтальпии – **Энтальпия** – это функция теплосодержания в термодинамической системе (при постоянном давлении). Поэтому, если химическая реакция происходит при постоянном давлении, и нам удалось зафиксировать все выделяемое или все поглощаемое количество тепла то, на самом деле, мы зафиксировали изменение энтальпии такой термодинамической системы.

Теперь, когда мы разобрались со смыслом энтальпии, изучим ее свойства аналогично тому, как мы поступили в предыдущем пункте с внутренней энергией. Формально, энтальпия $H = H(S, p)$ – это функция энтропии и давления и ее полный дифференциал как функции двух переменных:

$$dH = \left(\frac{\partial H}{\partial S} \right)_p dS + \left(\frac{\partial H}{\partial p} \right)_S dp \quad (3.21)$$

Сравнивая полные дифференциалы (3.20) и (3.21), получаем выражения для макропараметров термодинамической системы:

$$T = \left(\frac{\partial H}{\partial S} \right)_p \quad (3.22) \quad V = \left(\frac{\partial H}{\partial p} \right)_S \quad (3.23)$$

Таким образом, измерив экспериментально изменение энтальпии – теплосодержания в термодинамической системе и, используя выражения (3.22) и (3.23), мы можем найти:

1) зависимость температуры нашей системы от энтропии при постоянном давлении, т.е. уравнение $T = T(S, p)$;

2) зависимость объема системы от давления при постоянной энтропии, т.е. уравнение $V = V(S, p)$.

Воспользуемся теперь равенством Пфаффа (3.5) и, глядя на полный дифференциал энтальпии (3.20) $dH = TdS + Vdp$, получим соотношения Максвелла для энтальпии. Используя правило «крест накрест»:

$$\left(\frac{\partial T}{\partial p} \right)_S = \left(\frac{\partial V}{\partial S} \right)_p \quad (3.24)$$

На основании выражения (3.24) можно утверждать, что скорость возрастания температуры системы при увеличении давления при постоянной энтропии должна быть равна скорости увеличения объема при увеличении энтропии при постоянном давлении. (Обратите внимание, что и «слева» и «справа» в выражении (3.24) мы говорим о скорости увеличения, поскольку и одна и вторая производная положительные, т.е. – функции возрастают).

Вспомним, что выражение (3.24) можно «перевернуть»:

$$\left(\frac{\partial p}{\partial T} \right)_S = \left(\frac{\partial S}{\partial V} \right)_p \quad (3.25)$$

Оказывается, что насколько быстро увеличивается давление в системе при повышении температуры (при постоянной энтропии), настолько же быстро увеличивается энтропия в системе при увеличении ее объема (при постоянном давлении). Следовательно, используя знания термодинамического потенциала – *энтальпии*, ее полного дифференциала (3.20), выражений для *термодинамических макропараметров* (3.22) и (3.23), *соотношений Максвелла* для нее (3.24) и (3.25), мы можем практически полностью описать состояние термодинамической системы. Это, вообще-то, очевидный результат, поскольку в пункте «функция состояния» было показано, что используя ее, мы можем получить полные сведения о нашей системе. В таком случае, снова возникает вопрос: «Если мы использовали раньше термодинамический потенциал – внутреннюю энергию, то с какой целью мы получили новый термодинамический потенциал – энтальпию?»

Ответ на этот вопрос мы уже частично дали в пункте 3.3, когда пояснили, что при описании состояния термодинамической системы любая пара макропараметров может быть независимыми переменными в термодинамическом потенциале. А теперь, сравним два термодинамических потенциала:

Внутренняя энергия – это функция $U=U(S,V)$ энтропии и объема.

Энтальпия – это функция $H=H(S,p)$ энтропии и давления.

При проведении экспериментальных исследований, положим химической реакции, может оказаться, что «удобнее» экспериментально измерять либо объем, либо давление. В первом случае, тогда, «удобнее» пользоваться термодинамическим потенциалом – внутренней энергией; во втором случае – термодинамическим потенциалом – энтальпией. Таким образом, выбор того или иного термодинамического потенциала для интерпретации наших экспериментальных результатов диктуется в основном «чисто» удобством его использования.

3.5. Термодинамический потенциал – свободная энергия Гельмгольца

Поступим аналогично тому, как мы получали в пункте 3.4 термодинамический потенциал – энтальпию. Воспользуемся преобразованиями Лежандра и построим из известного термодинамического потенциала – внутренней энергии новый термодинамический потенциал. Внутренняя энергия – это функция $U=U(S,V)$ энтропии и объема и ее полный дифференциал (3.7) $dU = TdS - pdV$. «Поменяем местами», теперь, переменные T и S . Применим алгоритм преобразований Лежандра:

1-й этап: составляем полный дифференциал произведения переменных, которые мы собираемся поменять местами: $d(TS) = TdS + SdT$.

2-й этап: выражаем слагаемое, которое стоит в полном дифференциале (3.7): $TdS = d(TS) - SdT$ и подставляем его в (3.7): $dU = d(TS) - SdT - pdV$

3-й этап: собираем полные дифференциалы в левой части выражения:

$$dU - d(TS) = -SdT - pdV$$

Воспользуемся тем, что разность полных дифференциалов – это полный дифференциал разности: $d(U - TS) = -SdT - pdV$.

4-й этап: под знаком полного дифференциала (в скобках) «родилась» новая функция – новый термодинамический потенциал, который обозначим F . Тогда: $F = U - TS$ (3.26)

– это новый термодинамический потенциал, получивший название **СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ ГЕЛЬМГОЛЬЦА**.

Тогда ее полный дифференциал: $dF = -SdT - pdV$ (3.27)

Мы получили новый термодинамический потенциал $F = F(T, V)$ относительно переменных T и V , который также является функцией состояния термодинамической системы. Найдем смысл свободной энергии Гельмгольца. Заметим, что в полном дифференциале свободной энергии (3.27) $dF = -SdT - pdV$ присутствует «знакомое» нам слагаемое $dA = pdV$ – работа. Слагаемое $-SdT$ пока не известно.

Будем считать, что изменения в термодинамической системе происходят при постоянной температуре $T = \text{const}$. В таком случае изменение температуры $dT = 0$. Тогда:

$$(dF)_T = -pdV = -dA. \quad (3.28)$$

Или, для большей очевидности, запишем это выражение относительно работы:

$$dA = -(dF)_T. \quad (3.29)$$

Из (3.28) и (3.29) определим физический смысл: **Свободная энергия Гельмгольца** – это та энергия, которая может быть израсходована термодинамической системой на совершение работы (при постоянной температуре). Можно сказать и по-другому: работа, совершаемая термодинамической системой против внешних сил (при изотермическом процессе), идет за счет уменьшения свободной энергии Гельмгольца. Поэтому, если химическая реакция происходит при постоянной температуре, и нам удалось зафиксировать работу, совершенную термодинамической системой, например по расширению (при постоянной температуре) то, на самом деле, мы зафиксировали изменение свободной энергии Гельмгольца данной термодинамической системы.

Смысл свободной энергии Гельмгольца (далее будем называть ее – **СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ**) можно найти и по-другому, на основании ее определения (3.26): $F = U - TS$.

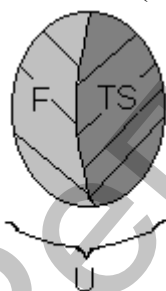


Рис. 3.2

До сих пор мы знали внутреннюю энергию, которая представляет собой сумму кинетических и потенциальных энергий молекул, из которых состоит термодинамическая система. Например, для нашего организма U – это весь энергетический ресурс организма. Выразим из (3.26) внутреннюю энергию: $U = F + TS$. (3.30)

Мы видим (рис. 3.2), что внутренняя энергия – «ресурс» термодинамической системы, состоит из двух частей: F – свободной энергии и величины TS . Размерность этой величины:

$$[TS] = [T] \cdot [S] = K \frac{Дж}{К} = Дж.$$

Следовательно, TS имеет размерность энергии, причем эта энергия связана с энтропией – мерой обесценивания энергии. Поэтому, такая энергия TS называется – **энергией обесценивания или связанной энергией**. TS – это та часть внутренней энергии, которая расходуется на организацию структуры термодинамической системы. Например, в организме эта энергия

отвечает за образование всех химических соединений: белков, аминокислот и т.д.

Связанная энергия – это та часть внутренней энергии, которую термодинамическая система никогда не сможет расходовать на совершение работы.

Связанная энергия – это та часть внутренней энергии живого организма, которую мы никогда не имеем права расходовать на совершение работы (иначе возникают заболевания, а при большом расходе TS – летальный исход).

Великий физик, один из создателей квантовой механики, Э.Шредингер сказал про энергию обесценивания так:

«**Энергия обесценивания, связанная энергия** – это та цена, которую мы должны заплатить природе, чтобы она разрешила нам совершить работу».

Исследуем свойства свободной энергии, как это делалось в пунктах (3.2) и (3.4) при изучении внутренней энергии и энтальпии. Формально, сводная энергия $F=F(T,V)$ – это функция температуры и объема и ее полный дифференциал как функции двух переменных: $dF = \left(\frac{\partial F}{\partial T}\right)_V dT + \left(\frac{\partial F}{\partial V}\right)_T dV$ (3.31)

Сравнивая полные дифференциалы (3.27) и (3.31), получаем выражения для макропараметров термодинамической системы:

$$S = -\left(\frac{\partial F}{\partial T}\right)_V \quad (3.32) \quad p = -\left(\frac{\partial F}{\partial V}\right)_T \quad (3.33)$$

Таким образом, измерив экспериментально изменение свободной энергии в термодинамической системе (по величине совершенной работы расширения) и, используя выражения (3.32) и (3.33), мы можем найти:

- 1) зависимость энтропии нашей системы от температуры при постоянном объеме, т.е. уравнение $S=S(T,V)$;
- 2) зависимость давления в системе от объема при постоянной температуре, т.е. уравнение $p=p(T,V)$.

Воспользуемся равенством Пфаффа (3.5) и, глядя на полный дифференциал (3.27) $dF = -SdT - pdV$, получим соотношения Максвелла для свободной энергии. Используя правило «крест накрест»: $\left(\frac{\partial S}{\partial V}\right)_T = \left(\frac{\partial p}{\partial T}\right)_V$ (3.34)

На основании выражения (3.34) можно утверждать, что скорость возрастания энтропии системы при увеличении объема при постоянной температуре должна быть равна скорости увеличения давления при увеличении температуры при постоянном объеме. (Обратите внимание, что и «слева», и «справа» в выражении (3.34) мы говорим о скорости увеличения, поскольку и одна, и вторая производная отрицательные. «Сократив минус», получим обе производные с «плюсом»).

Получив термодинамический потенциал – свободная энергия Гельмгольца, используя ее полный дифференциал (3.27), выражения для термодинамических макропараметров (3.32) и (3.33), соотношение Максвелла (3.34), мы, также как и при использовании внутренней энергии и энтальпии, можем, практически полностью, описать состояние термодинамической системы при изменении макропараметров T и V . Кстати, стоит заранее отметить, что свободная энергия – это «более» удобный для практического приме-

ния термодинамический потенциал, поскольку его изменение зависит от «удобно» измеряемых макропараметров: температура и объем. В противоположность свободной энергии, изменение внутренней энергии и энтальпии зависит от такого макропараметра как энтропия, измерять изменение которой весьма трудоемко. Хотя все термодинамические потенциалы – это функции состояния, с помощью которых можно «все» сказать о термодинамической системе, оказывается, существует «более удобный» с практической точки зрения термодинамический потенциал – свободная энергия Гельмгольца.

3.6. Термодинамический потенциал – свободная энергия Гиббса

И, наконец, получим *четвертый термодинамический потенциал* для закрытых термодинамических систем – свободную энергию Гиббса. Как вы уже, наверное, догадались, у нас осталась неиспользованной одна пара независимых термодинамических переменных: p – давление и T – температура. Поступим аналогично предыдущим пунктам. Воспользуемся преобразованиями Лежандра и построим из свободной энергии Гельмгольца новый термодинамический потенциал.

Свободная энергия Гельмгольца – это функция $F=F(T,V)$ температуры и объема, и ее полный дифференциал (3.27): $dF = -SdT - pdV$

«Поменяем местами», теперь, переменные p и V . Применяем алгоритм преобразований Лежандра:

1-й этап: составляем полный дифференциал произведения переменных, которые мы собираемся поменять местами: $d(pV) = pdV + Vdp$.

2-й этап: выражаем слагаемое, которое стоит в полном дифференциале (3.27): $pdV = d(pV) - Vdp$ и подставляем его в (3.27): $dF = -SdT - d(pV) + Vdp$

3-й этап: собираем полные дифференциалы в левой части выражения:

$$dF + d(pV) = -SdT + Vdp$$

Воспользуемся тем, что сумма полных дифференциалов – это полный дифференциал суммы: $d(F + pV) = -SdT + Vdp$

4-й этап: под знаком полного дифференциала (в скобках) «родилась» новая функция – новый термодинамический потенциал, который обозначим G . Тогда: $G = F + pV$ (3.35)

– это новый термодинамический потенциал **СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ ГИББСА**.

Тогда ее полный дифференциал: $dG = -SdT + Vdp$ (3.36)

Мы получили новый термодинамический потенциал $G=G(T,p)$ относительно переменных T и p , который также является функцией состояния термодинамической системы.

Чтобы не «путать названия» и «не произносить» такие длинные названия двух видов свободной энергии: Гельмгольца или Гиббса, «неформально» условились их называть так:

Свободную энергию Гельмгольца – «просто» **СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ**;

Свободную энергию Гиббса – «просто» **ПОТЕНЦИАЛОМ ГИББСА**.

Итак, с этого момента будем называть свободную энергию Гиббса – потенциалом Гиббса. Найдем смысл свободной энергии Гиббса.

Смысл потенциала Гиббса не столь очевиден, как в случае предыдущих термодинамических потенциалов, потому, что в полном дифференциале (3.36) отсутствуют «знакомые» слагаемые. Действительно, пока не рассмотрено, что такое SdT и Vdp .

Для того чтобы определить смысл потенциала Гиббса необходимо ввести, помимо, «знакомой» механической работы, совершаемой термодинамической системой против внешних сил pdV , другие виды немеханических работ, которые могут совершаться над данной термодинамической системой. Это могут быть работы, например, по намагничиванию системы (под действием внешнего магнитного поля) или по поляризации системы (под действием внешнего электрического поля) и т.д. Обозначим такую внешнюю работу, совершаемую над системой: $dA_{\text{внеш.}} = Rdr$ (3.37)

где R – некоторая внешняя сила (называемая обобщенной силой); r – соответствующий этой силе внутренний параметр системы, который меняется под ее воздействием (называемый обобщенной координатой). Сравните, например, (3.37) с выражением для работы самой системы $dA = pdV$. Оказывается, что p – это не что иное, как один из примеров обобщенной силы, а V – обобщенная координата – внутренний параметр самой системы, изменяющийся, под действием этой обобщенной силы.

Добавляя (3.37), например, в первое начало термодинамики (2.3), получим:

$$dQ = dU + dA - dA_{\text{внеш.}} \quad (3.38)$$

В (3.38) работа, совершаемая самой системой против внешних сил, берется со знаком «плюс»; работа, совершаемая внешними силами – со знаком «минус». Тогда полный дифференциал внутренней энергии: $dU = TdS - pdV + dA_{\text{внеш.}}$ (3.39)

Аналогично можно ввести такие же малые добавки в виде немеханической работы, совершаемой над системой, в каждый термодинамический потенциал, в том числе, и в потенциал Гиббса. Тогда его полный дифференциал (3.36) примет вид:

$$dG = -SdT + Vdp + dA_{\text{внеш.}} \quad (3.40)$$

Теперь можно определить смысл потенциала Гиббса. Представим, что данная термодинамическая система находится при постоянной температуре и давлении, т.е. их изменение равно нулю: $dT=0$ и $dp=0$. Тогда изменение потенциала Гиббса при постоянной температуре и давлении: $(dG)_{T,p} = dA_{\text{внеш.}}$ (3.41)

Оказывается, что если над системой совершается какая-либо работа немеханической природы, то при этом происходит увеличение потенциала Гиббса. Или наоборот. Если сама термодинамическая система при постоянной температуре и давлении совершает работу $A_{\text{внутр.}}$ против таких внешних сил, то: $(dG)_{T,p} = -dA_{\text{внутр.}}$ (3.42)

Откуда, $dA_{\text{внутр.}} = -(dG)_{T,p}$ (3.43)

Из выражения (3.43) можно по-другому определить **смысл потенциала Гиббса**: *термодинамическая система может совершать работу против внешних сил немеханической природы за счет уменьшения своего потенциала Гиббса.*

Выяснив смысл потенциала Гиббса, изучим его свойства аналогично предыдущим пунктам. Формально, потенциал Гиббса $G=G(T,p)$ – это функ-

ция температуры и давления и его полный дифференциал как функции двух переменных:

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_p dT + \left(\frac{\partial G}{\partial p} \right)_T dp. \quad (3.44)$$

Сравнивая полные дифференциалы (3.36) и (3.44), получаем выражения для макропараметров термодинамической системы:

$$S = - \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_p \quad (3.45) \quad V = \left(\frac{\partial G}{\partial p} \right)_T \quad (3.46)$$

Таким образом, измерив экспериментально изменение потенциала Гиббса в термодинамической системе и, используя выражения (3.45) и (3.46), мы можем найти:

- 1) зависимость энтропии нашей системы от температуры при постоянном давлении, т.е. уравнение $S=S(T,p)$;
- 2) зависимость объема системы от давления при постоянной температуре, т.е. уравнение $V=V(T,p)$.

Воспользуемся равенством Пфаффа (3.5) и, глядя на полный дифференциал (3.36) $dG = -SdT + Vdp$, получим соотношения Максвелла для потенциала Гиббса. Используя правило «крест-накрест»: $-\left(\frac{\partial S}{\partial p} \right)_T = \left(\frac{\partial V}{\partial T} \right)_p \quad (3.47)$

На основании выражения (3.47) можно утверждать, что, насколько быстро увеличивается объем термодинамической системы при увеличении ее температуры (при постоянном давлении), настолько же быстро уменьшается энтропия системы при увеличении давления (при постоянной температуре). (Обратите внимание, что, «справа» в выражении (3.47), мы говорим о скорости увеличения, поскольку производная положительная, а «слева» говорим про скорость уменьшения потому, что производная отрицательная).

Получив потенциал Гиббса, используя ее полный дифференциал (3.36), выражения для термодинамических макропараметров (3.45) и (3.46), соотношение Максвелла (3.47), также как и при использовании других термодинамических потенциалов, можно полностью описать состояние термодинамической системы при изменении макропараметров T и p . Так же, как и при обсуждении свободной энергии Гельмгольца, стоит отметить, что потенциал Гиббса – это «более» удобный для практического применения термодинамический потенциал, потому, что его изменение зависит от «удобно» измеряемых макропараметров – температуры и давления.

3.7. Связь между термодинамическими потенциалами

В пунктах (3.2), (3.4), (3.5) и (3.6) мы получили четыре основных термодинамических потенциала для закрытых термодинамических систем. Полезно собрать и оценить их вместе (Табл.3.1). Отметим «жаргонное» правило «перехода» от одного потенциала к другому: когда меняются местами переменные в каком-нибудь из потенциалов, то при этом изменяется «знак» на противоположный, а новый потенциал «получается» путем прибавления произведения этих переменных (с «плюсом» или «минусом» к первоначальному потенциалу).

Таблица 3.1. Термодинамические потенциалы

Название потенциала	Функция состояния в переменных	Полный дифференциал	Определение потенциала	Соотношения Максвелла
Внутренняя энергия	$U=U(S,V)$	$dU = TdS - pdV$	U	$\left(\frac{\partial T}{\partial V}\right)_S = -\left(\frac{\partial p}{\partial S}\right)_V$
Энтальпия	$H=H(S,p)$	$dH = TdS + Vdp$	$H = U + pV$	$\left(\frac{\partial T}{\partial p}\right)_S = \left(\frac{\partial V}{\partial S}\right)_p$
Свободная энергия Гельмгольца	$F=F(T,V)$	$dF = -SdT - pdV$	$F = U - TS$	$\left(\frac{\partial S}{\partial V}\right)_T = \left(\frac{\partial p}{\partial T}\right)_V$
Свободная энергия – потенциал Гиббса	$G=G(T,p)$	$dG = -SdT + Vdp$	$G = F + pV$	$-\left(\frac{\partial S}{\partial p}\right)_T = \left(\frac{\partial V}{\partial T}\right)_p$

Внутренняя энергия – это сумма всех кинетических энергий молекул и потенциальных энергий их взаимодействия.

Энтальпия – это функция теплосодержания в термодинамической системе (при постоянном давлении). $(dH)_p = TdS = dQ$

Свободная энергия Гельмгольца – это та энергия, которая может быть израсходована термодинамической системой на совершение работы (при постоянной температуре). По-другому: работа, совершаемая термодинамической системой против внешних сил при изотермическом процессе, идет за счет уменьшения свободной энергии Гельмгольца. $dA = -(dF)_T$

Свободная энергия – потенциал Гиббса: это та энергия, за счет которой термодинамическая система может совершать работу против внешних сил немеханической природы при изотермо – изобарических процессах $dA_{\text{внутр.}} = -(dG)_{T,p}$

Используя полные дифференциалы потенциалов (Табл.3.1), можно получить выражения для любых макропараметров термодинамической системы:

$$\text{Для } U=U(S,V) : T = \left(\frac{\partial U}{\partial S}\right)_V \quad p = -\left(\frac{\partial U}{\partial V}\right)_S$$

$$\text{Для } H=H(S,p) : T = \left(\frac{\partial H}{\partial S}\right)_p \quad V = \left(\frac{\partial H}{\partial p}\right)_S$$

$$\text{Для } F=F(T,V) : S = -\left(\frac{\partial F}{\partial T}\right)_V \quad p = -\left(\frac{\partial F}{\partial V}\right)_T$$

$$\text{Для } G=G(T,p) : S = -\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_p \quad V = \left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_T$$

Чтобы показать «полезность» использования различных термодинамических потенциалов, рассмотрим три примера.

Пример 1. Допустим, нам надо *найти* теплоемкость системы при постоянном объеме: $C_V = \left(\frac{dQ}{dT} \right)_V$ (3.48)

Напомним: **теплоемкость** – это количество тепла, необходимое для изменения температуры термодинамической системы на один градус.

Вспомним, что из первого начала термодинамики (2.3): $dQ = dU + dA$ или $dQ = dU + p dV$. Но при постоянном объеме $dV = 0$. Тогда $(dQ)_V = dU$.

Подставляя количество теплоты при постоянном объеме в определение теплоемкости (3.48), получим: $C_V = \left(\frac{dU}{dT} \right)_V$ (3.49)

И подставляя выражение для полного дифференциала внутренней энергии (Табл.3.1) с учетом, что $dV = 0$: $C_V = \left(\frac{dU}{dT} \right)_V = T \left(\frac{dS}{dT} \right)_V$ (3.50)

Аналогично можно заметить, что если надо найти теплоемкость при постоянном давлении, то можно использовать термодинамический потенциал – энтальпию. Действительно, при $p = \text{const}$ изменение давления $dp = 0$. Тогда $(dH)_p = T dS = dQ$. И теплоемкость при постоянном давлении равна:

$$C_p = \left(\frac{dQ}{dT} \right)_p = \left(\frac{dH}{dT} \right)_p = T \left(\frac{dS}{dT} \right)_p \quad (3.51)$$

Таким образом, для определения теплоемкости при постоянном объеме нам необходимо знать изменение потенциала – внутренняя энергия; для определения теплоемкости при постоянном давлении изменение потенциала – энтальпия.

Пример 2. Используя определения термодинамических потенциалов (табл. 3.1), также *перейти* от одного потенциала к другому и найти все макропараметры системы.

Например, нам удалось измерить свободную энергию $F = F(T, V)$ при изменении температуры и объема термодинамической системы. Используя определение полного дифференциала, мы уже можем определить:

Энтропию: $S = - \left(\frac{\partial F}{\partial T} \right)_V$ как функцию температуры и объема;

Давление: $p = - \left(\frac{\partial F}{\partial V} \right)_T$ как функцию температуры и объема.

Для определения остальных макропараметры воспользуемся определением потенциала Гиббса (Табл.3.1): $G = F + pV$

Если прямо подставим в него, найденную ранее свободную энергию, то получится «не совсем корректно»! Посмотрим: $G(T, p) = F(T, V) + pV$. (3.52)

Что здесь «не корректно»? С одной стороны, потенциал Гиббса должен быть по определению функцией температуры и давления (слева), а с другой стороны, мы получили его как функцию температуры, давления и объема (справа). Тогда воспользуемся полным дифференциалом свободной энергии,

откуда $p = - \left(\frac{\partial F}{\partial V} \right)_T$ и подставим в (3.52):

$$G(T, V) = F(T, V) - V \left(\frac{\partial F}{\partial V} \right)_T \quad (3.53)$$

Используя (3.53) мы сможем найти потенциал Гиббса как функцию $G=G(T,V)$ температуры и объема. Но это «не родные» переменные для потенциала Гиббса (Табл.3.1). В этих переменных потенциал Гиббса *не является* термодинамическим потенциалом! Действительно, «родные» переменные для потенциала Гиббса – это температура и давление! Тогда, например, для идеального газа, можно использовать дополнительно уравнение состояния – уравнение Менделеева – Клапейрона, связывающее все макропараметры. Выразив из него объем $V = \frac{RT}{p}$ и подставив в потенциал Гиббса, полу-

чим его как функцию $G=G(T,p)$ температуры и давления (т.е. в родных переменных). А теперь, используя полный дифференциал потенциала Гиббса (Табл.3.1), получим остальные макропараметры:

Энтропию: $S = -\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_p$ как функцию температуры и давления;

Объем: $V = \left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_T$ как функцию температуры и давления.

Пример 3. Пусть нам удалось найти свободную энергию $F=F(T,V)$. Тогда из ее определения (Табл.3.1) мы можем выразить внутреннюю энергию: $U=F+TS$. Находя из полного дифференциала свободной энергии энтропию: $S = -\left(\frac{\partial F}{\partial T}\right)_V$ и подставляя во внутреннюю энергию, получим:

$$U(T,V) = F(T,V) - T\left(\frac{\partial F}{\partial T}\right)_V \quad (3.54)$$

Уравнение (3.54), позволяющее, зная свободную, найти внутреннюю энергию называется **уравнением Гиббса-Гельмгольца для свободной энергии**.

Пусть, аналогично, нам удалось измерить потенциал Гиббса $G=G(T,p)$. Его определение $G = F + pV$. Подставим в него определение свободной энергии $F = U - TS$. Тогда: $G = U - TS + pV$. Учтем, что $U + pV = H$. Тогда: $G = H - TS$. Откуда, энтальпия: $H = G + TS$

Используя свойства полного дифференциала потенциала Гиббса:

$$S = -\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_p$$

Подставляя энтропию в выражение для энтальпии, получим:

$$H(T, p) = G(T, p) - T\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_p \quad (3.55)$$

Уравнение (3.55), позволяющее, зная потенциал Гиббса, найти энтальпию называется **уравнением Гиббса-Гельмгольца для потенциала Гиббса**.

Таким образом, используя определения и полные дифференциалы термодинамических потенциалов, можно переходить от одного потенциала к другому и получать любые интересующие нас макропараметры системы, причем, в зависимости от любых интересующих нас параметров.

3.8. Максимальная полезная работа. Условие существования равновесного состояния термодинамической системы. Направление химических реакций

При рассмотрении тепловой машины, работающей по обратимому циклу Карно (пункт 2.3), мы увидели, что максимальная работа, которая совершается термодинамической системой, может быть выполнена только при обратимом процессе. В пункте 2.4 при обсуждении энтропии мы показали, что при таком обратимом процессе изменение энтропии равно нулю $\Delta S = 0$. Таким образом, **условие максимальной работы, которую может совершить термодинамическая система – это постоянство энтропии $S = const$** . Учитывая, что обратимых процессов не существует, то в любых других необратимых процессах работа, совершаемая термодинамической системой, всегда будет меньше, чем работа при обратимом процессе. Это связано с увеличением энтропии и необратимой потерей теплоты при взаимодействии с окружающей средой, что поясняется *неравенством Клаузиуса* (2.18).

Пусть «перед нами» находится некоторая термодинамическая система, у которой «мы хотим изменить» ее параметры, например, внутреннюю энергию, энтропию и объем. Наша задача: определить, что для этого необходимо сделать?

Итак. «Мы находимся» во внешней среде с параметрами: температура T_0 и давление p_0 . А система, изменить параметры которой нам предстоит, характеризуется своей температурой T и давлением p . Изменить параметры системы мы можем, например, совершив над ней некоторую работу. Но при совершении работы изменится внутренняя энергия как системы, на которую мы воздействуем ΔU , так и внутренняя энергия внешней среды, из которой совершается работа ΔU_0 (наша энергия). По закону сохранения энергии, совершаемая над системой работа будет равна сумме этих изменений внутренних энергий: $\Delta A = \Delta U + \Delta U_0$. (3.56)

Одновременно, энтропия всей нашей системы «тело + внешняя среда» должна увеличиваться (по второму началу термодинамики): $\Delta S + \Delta S_0 \geq 0$. (3.57)

где ΔS и ΔS_0 – изменение энтропии тела и внешне среды, соответственно. Знак «равенства» возможен только при обратимых процессах.

Конечное изменение внутренней энергии при конечных изменениях энтропии и объема, найдем из (3.7), переходя в этом выражении к конечным приращениям:

$$\Delta U_0 = T_0 \Delta S_0 - p_0 \Delta V_0.$$

Откуда выразим изменение энтропии внешней среды:

$$\Delta S_0 = \frac{\Delta U_0}{T_0} + \frac{p_0}{T_0} \Delta V_0.$$

И подставим это изменение энтропии в (3.57):

$$\Delta S + \frac{\Delta U_0}{T_0} + \frac{p_0}{T_0} \Delta V_0 \geq 0 \quad (3.58)$$

Не стоит забывать, что мы хотим изменить параметры самого тела, находящегося во внешней среде. Поэтому, нам нужно получить такую зависимость, в которой будут фигурировать изменения параметров самого тела,

но не окружающей среды (это значит, что изменения внутренней энергии и объема должны быть без индекса «0»). Действительно, окружающая среда настолько велика, что измерить изменения ее параметров просто невозможно. Чтобы добиться этого, выразим из (3.56) изменение внутренней энергии внешней среды: $\Delta U_0 = \Delta A - \Delta U$, и подставим в (3.58):

$$\Delta S + \frac{\Delta A - \Delta U}{T_0} + \frac{p_0}{T_0} \Delta V_0 \geq 0. \quad (3.59)$$

Учтем также, что изменение объема тела происходит за счет изменения объема внешней среды. При этом эти изменения противоположны по знаку. При увеличении объема тела объем среды уменьшается и наоборот. Следовательно, заменим в (3.59): $\Delta V_0 = -\Delta V$ Тогда:

$$\Delta S + \frac{\Delta A - \Delta U}{T_0} - \frac{p_0}{T_0} \Delta V \geq 0.$$

Умножим почленно каждое слагаемое на T_0 :
 $T_0 \Delta S + \Delta A - \Delta U - p_0 \Delta V \geq 0.$

И выразим отсюда работу: $\Delta A \geq \Delta U - T_0 \Delta S + p_0 \Delta V$ (3.60)

Неравенство (3.60) имеет очень большое значение. Согласно (3.60) можно найти работу, которую надо совершить над термодинамической системой (телом), находящейся во внешней среде, чтобы изменить ее параметры (внутреннюю энергию, энтропию и объем) на некоторую, заранее заданную величину.

Из (3.60) видно, что такая работа всегда больше чем выражение:

$$\Delta U - T_0 \Delta S + p_0 \Delta V.$$

$$\text{Равенство } \Delta A_{\min} = \Delta U - T_0 \Delta S + p_0 \Delta V \quad (3.61)$$

возможно только в случае минимальной работы, совершаемой при обратимом процессе, но их не существует. Поэтому при реально существующих – необратимых процессах мы должны всегда совершить работу большую, чем $\Delta A_{\min}$. Все это объясняется на основании неравенства Клаузиуса (2.18) и связано с необратимыми потерями тепла, приводящими к увеличению энтропии. *Итак, работа, которую необходимо совершить над системой будет всегда больше, чем при обратимом процессе $\Delta A > \Delta A_{\min}$.*

А теперь оценим эту минимальную работу при изменении различных параметров термодинамической системы.

Пример 1. Пусть, например, наша химическая реакция происходит при температуре внешней окружающей среды: $T = T_0$. И, производя внешнюю работу над системой, мы не будем менять ее объем: $\Delta V = 0$, т.е. **объем термодинамической системы остается постоянным**. Действительно, такое возможно, если мы совершаем работу по поляризации диэлектрика или намагничивания магнетика. Тогда из равенства (3.61) следует, что: $\Delta A_{\min} = \Delta U - T \Delta S = \Delta(U - TS).$

Но по определению (3.26) $U - TS = F$ – это свободная энергия Гельмгольца! Иначе, можно записать: $\Delta A_{\min} = \Delta F$. (3.62)

Вывод: минимальная работа, которая совершается над термодинамической системой при обратимом процессе при постоянном объеме и температуре идет на увеличение ее свободной энергии Гельмгольца.

$$\text{Верно и обратное: } \Delta A = -\Delta F. \quad (3.63)$$

Если сама термодинамическая система совершает работу против внешних сил при постоянном объеме и температуре, то ее свободная энергия Гельмгольца уменьшается.

Так как процесс изменения свободной энергии Гельмгольца происходит при постоянном объеме, то такую свободную энергию часто называют – **СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИЕЙ ПРИ ПОСТОЯННОМ ОБЪЕМЕ** или **ИЗОХОРНО-ИЗОТЕРМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ**. Но от изменения ее названия, смысл свободной энергии, рассмотренный ранее, не меняется.

Пример 2. Пусть, теперь, химическая реакция происходит при температуре $T = T_0$, и при давлении $p = p_0$ окружающей среды. Учитывая это, равенство (3.61) примет вид: $\Delta A_{\min} = \Delta U - T\Delta S + p\Delta V$.

Так как температура и давление постоянны, то знак дифференциала (в нашем случае – приращения) можно вынести за скобки: $\Delta A_{\min} = \Delta(U - TS + pV)$.

Учтем, что $U - TS = F$ – это свободная энергия Гельмгольца: $\Delta A_{\min} = \Delta(F + pV)$.

А по определению (3.35) $G = F + pV$ – это свободная энергия или потенциал Гиббса. Тогда: $\Delta A_{\min} = \Delta G$. (3.64)

Вывод: минимальная работа, которая совершается над термодинамической системой при обратимом процессе при постоянном давлении и температуре идет на увеличение ее свободной энергии – потенциала Гиббса!

Верно и обратное: $\Delta A = -\Delta G$. (3.65)

Если сама термодинамическая система совершает работу против внешних сил при постоянном давлении и температуре, то ее свободная энергия или потенциал Гиббса уменьшается.

Аналогично, т.к. процесс изменения потенциала Гиббса происходит при постоянном давлении, то такую свободную энергию часто называют – **СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИЕЙ ПРИ ПОСТОЯННОМ ДАВЛЕНИИ** или **ИЗОБАРНО-ИЗОТЕРМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ**.

Следствие из примеров 1 и 2. Если теперь вспомнить, что $\Delta A > \Delta A_{\min}$, т.е. при реальных необратимых процессах мы должны совершать работу больше, чем при обратимом процессе, то вместо равенств (3.62) и (3.64) должны возникнуть неравенства: $\Delta A \geq \Delta F$ и $\Delta A \geq \Delta G$. Т.е. для заданного изменения свободной энергии или потенциала Гиббса мы должны совершить большую работу, чем при обратимом процессе. Воспользуемся теперь общим неравенством (3.60): $\Delta A \geq \Delta U - T_0\Delta S + p_0\Delta V$ и предположим, что термодинамическая система сама переходит в состояние термодинамического равновесия, но работа при этом не совершается, т.е. $\Delta A = 0$.

Тогда наше неравенство примет вид: $\Delta U - T_0\Delta S + p_0\Delta V \leq 0$ (3.66)

Из неравенства (3.66) мы можем получить **условия установления равновесного состояния в термодинамических системах – условия, определяющие направления химических реакций.**

Пример 3. Пусть химическая реакция стремится к состоянию равновесия при постоянном объеме $\Delta V = 0$ и температуре окружающей среды

$T = T_0$. Тогда из (3.66): $\Delta U - T\Delta S \leq 0$. Откуда $\Delta U - T\Delta S \leq 0$. Или $\Delta(U - TS) \leq 0$. Окончательно: $\Delta F \leq 0$. (3.67)

Это «маленькое» выражение (3.67) имеет огромный смысл.

Оказывается, что при стремлении химической реакции при постоянном объеме и температуре к состоянию термодинамического равновесия должна уменьшаться и стремиться к минимальному значению свободная энергия Гельмгольца. Таким образом, химическая реакция, протекающая при постоянном объеме и температуре, будет происходить до тех пор, пока свободная энергия Гельмгольца не примет минимальное возможное значение.

Пример 4. Пусть система переходит в состояние равновесия при давлении $p = p_0$ и температуре окружающей среды $T = T_0$. Тогда из (3.66): $\Delta U - T\Delta S + p\Delta V \leq 0$. Откуда: $\Delta(U - TS + pV) \leq 0$. Или: $\Delta G \leq 0$. (3.68)

Неравенство (3.68) имеет большое значение в химии, поскольку многие химические реакции протекают при температуре и давлении окружающей среды.

Оказывается, что при стремлении химической реакции к состоянию термодинамического равновесия при температуре и давлении внешней среды уменьшается и стремиться к минимальному значению свободная энергия или потенциал Гиббса. Аналогично, химическая реакция, протекающая при температуре и давлении окружающей среды, будет происходить до тех пор, пока потенциал Гиббса не примет минимальное возможное значение.

3.9. Зависимость свободной энергии от концентрации газа или растворенных веществ

Работа идеального газа при его изотермическом расширении в условиях обратимого процесса может быть рассчитана по формуле (3.28): $(dF)_T = -pdV = -dA$, из анализа которой мы определили смысл свободной энергии.

Многие термодинамические процессы и химические реакции протекают не только при постоянной температуре, но и при постоянном внешнем атмосферном давлении. Поэтому, для таких процессов можно использовать (3.43) – выражение для работы, которая совершается за счет убыли потенциала Гиббса: $(dG)_{T,p} = -dA$. (3.69)

Но сама работа идеального газа при изотермическом расширении рассчитывается по формуле (2.8): $A = \frac{m}{\mu} RT \ln \frac{V_2}{V_1}$. (3.70)

Пусть мы имеем $n = \frac{m}{\mu} = 1$ моль газа. Тогда работа: $A = RT \ln \frac{V_2}{V_1}$. (3.71)

Подставляя (3.71) в (3.69), найдем конечное изменение свободной энергии Гиббса при таком изотермическом процессе: $\Delta G = -RT \ln \frac{V_2}{V_1}$. (3.72)

Выражение (3.72) показывает, что при совершении работы уменьшается запас свободной энергии газа.

Учтем, что изотермический процесс описывается уравнением Бойля-Мариотта (1.1): $pV = \text{const}$. Это уравнение означает, что:

$$p_1 V_1 = p_2 V_2 \quad \text{или} \quad \frac{V_2}{V_1} = \frac{p_1}{p_2}. \quad (3.73)$$

Заменим в (3.72) отношение объемов обратным отношением давлений (3.73): $\Delta G = -RT \ln \frac{p_1}{p_2}$. Но изменение свободной энергии $\Delta G = G - G_0$ – это разность между ее конечным и начальным значением. Тогда:

$$G - G_0 = -RT \ln \frac{p_1}{p_2}. \quad \text{Откуда, конечное значение свободной энергии:}$$

$$G = G_0 - RT \ln \frac{p_1}{p_2}. \quad (3.74)$$

Пример 1. Пусть, например, в начале, идеальный газ находился при начальном давлении $p_1 = 1 \text{ атм}$. Тогда конечное значение свободной энергии:

$$G = G_0 - RT \ln \frac{1}{p_2} \quad \text{или} \quad G = G_0 - RT \ln(p_2)^{-1}.$$

Используя свойство логарифма, что показатель степени можно вынести за знак логарифма, получим, что произведение «минуса на минус» даст нам «плюс»:

$$G = G_0 + RT \ln p_2 \quad (3.75)$$

Таким образом, выражение (3.75) показывает, что при увеличении внешнего давления увеличивается и свободная энергия Гиббса (необходимо обратить внимание, что свободная энергия увеличивается не в линейной, а в логарифмической зависимости от давления). Ее величину можно рассчитать как сумму свободной энергии при начальном давлении и произведение RT на логарифм конечного давления.

Выражение (3.75) – это частный случай, когда внешнее давление увеличивается. В самом общем случае, необходимо использовать выражение (3.74). В случае увеличения давления $p_1 < p_2$, откуда $\frac{p_1}{p_2} < 1$ и логарифм величины, меньшей единицы – отрицательная величина. В этом случае, мы приходим к выражению (3.75). При уменьшении давления $p_1 > p_2$, откуда $\frac{p_1}{p_2} > 1$. Тогда в выражении (3.74) останется знак «минус».

Это означает, что при уменьшении давления уменьшается и свободная энергия Гиббса.

Учтем, выражение для давления идеального газа (1.9): $p = \frac{2}{3} n_0 \overline{W_k}$.

Если температура газа не изменилась, то не меняется и кинетическая энергия молекул (1.14). Тогда отношение давлений в (3.74) можно заменить отношением концентраций молекул при постоянной температуре:

$$G = G_0 - RT \ln \frac{n_{01}}{n_{02}}. \quad (3.76)$$

Выражение (3.76) показывает зависимость свободной энергии от концентрации молекул газа.

Пример 2. Пусть, например, начальная концентрация молекул $n_{01} = 1 \frac{\text{моль}}{\text{л}}$ и происходит увеличение концентрации молекул. Тогда:

$$G = G_0 - RT \ln \frac{1}{n_{02}}.$$

Учитывая свойства логарифма, использованные в примере 1:
 $G = G_0 + RT \ln n_{02}.$

Таким образом, при увеличении концентрации молекул свободная энергия Гиббса также увеличивается. Это частный случай изменения концентрации.

В самом общем случае, все зависит от отношения начальной и конечной концентраций. Если концентрация увеличивается, то $n_{01} < n_{02}$, откуда $\frac{n_{01}}{n_{02}} < 1$. И выражение (3.76) дает увеличение свободной энергии (что совпадает с примером 2).

Если концентрация уменьшается, то $n_{01} > n_{02}$, откуда $\frac{n_{01}}{n_{02}} > 1$. И выражение (3.74) дает уменьшение свободной энергии.

Выражения (3.74) и (3.76) получены для идеального газа. Данные выражения пригодны также и для слабых растворов, поскольку при бесконечном разведении любые растворы становятся идеальными. Растворы, преобладающие в живых организмах, в основном – это слабые растворы, и для них пригодны для расчета свободной энергии выражения (3.74) и (3.76). В случае, если растворы далеки от идеальности, вместо концентраций ионов необходимо использовать их активность:

$$a = \gamma n_0, \quad (3.77)$$

где γ - показатель активности ионов, определяемый экспериментально.

Используя понятие активности, выражение (3.76) для любых растворов примет вид: $G = G_0 - RT \ln \frac{a_1}{a_2}.$ (3.78)

Если мы имеем многокомпонентный раствор, то его полная свободная энергия равна сумме свободных энергий каждой компоненты:

$$G_{\text{пол.}} = \sum_{i=1}^N G = \left(G_0 - RT \ln \frac{a_1}{a_2} \right)_1 + \dots + \left(G_0 - RT \ln \frac{a_1}{a_2} \right)_N,$$

где суммирование производится по всем N компонентам раствора.

3.10. Термодинамические потенциалы систем с переменным числом частиц

В пунктах 3.1–3.9 мы рассмотрели термодинамические потенциалы и их свойства для систем с постоянным числом частиц – это изолированные или закрытые системы. Пусть теперь число частиц в термодинамической системе тоже меняется – это *открытая термодинамическая система*. Такие случаи бывают в химических реакциях, когда может происходить синтез соединений (число частиц – уменьшается) или распад соединений (число частиц увеличивается). Обозначим число частиц в системе N . При этом все

термодинамические потенциалы также будут зависеть от N . Термодинамические потенциалы, как функции состояния, будут теперь функциями уже не двух, а трех переменных: внутренняя энергия $E = E(S, V, N)$; энтальпия $H = H(S, p, N)$; свободная энергия $F = F(T, V, N)$; потенциал Гиббса $G = G(T, p, N)$.

Наиболее удобно ввести зависимость термодинамического потенциала от числа частиц при помощи потенциала Гиббса. **Почему?**

Все величины в термодинамике делятся на два типа:

- 1) **интенсивные величины** (не аддитивные) – это величины, которые не зависят от числа частиц в термодинамической системе. Например, это температура T (она зависит от средней кинетической энергии молекул (1.14) и не зависит от числа частиц) и давление p (оно зависит от концентрации (1.9));
- 2) **экстенсивные величины** (аддитивные) – это те величины, которые зависят от числа частиц в термодинамической системе – это все остальные термодинамические параметры и потенциалы: E , H , F , G , V , S и др. Таким образом, *только один термодинамический потенциал $G = G(T, p, N)$ – потенциал Гиббса зависит от T и p – от интенсивных величин. Все остальные потенциалы, помимо числа частиц, зависят обязательно еще от одного экстенсивного параметра.*

Такое свойство потенциала Гиббса можно использовать следующим образом. Пусть, например, в термодинамической системе имеется N частиц. Тогда ее потенциал Гиббса: $G = G(T, p, N)$. Пусть теперь число частиц в системе изменилось в k раз. Температура и давление не зависят от числа частиц, и поэтому потенциал Гиббса может измениться только за счет изменения числа частиц в системе. Это значит, что $G(T, p, kN) = kG(T, p, N)$ (3.79) при изменении числа частиц в термодинамической системе в k раз, сам потенциал Гиббса изменится также в k раз. Пусть, например, число частиц в системе изменилось в $k = \frac{1}{N}$ раз. Тогда условие (3.79) примет вид:

$$G(T, p, \frac{1}{N} N) = \frac{1}{N} G(T, p, N). \text{ Или: } G(T, p, 1) = \frac{1}{N} G(T, p, N). \text{ Откуда:}$$

$$G(T, p, N) = N \cdot G(T, p, 1). \quad (3.80)$$

Выражение (3.80) означает, что *потенциал Гиббса системы частиц можно найти как произведение потенциала Гиббса $G(T, p, 1)$, приходящегося на одну частицу, на число частиц в системе.* Потенциал Гиббса, приходящийся на одну частицу:

$$G(T, p, 1) = \frac{G(T, p, N)}{N} \equiv \varphi(T, p) \equiv \mu(T, p) \quad (3.81)$$

получил название – химический потенциал. Для него могут применяться обозначения $\varphi(T, p)$ (греч. «фи») или $\mu(T, p)$ (греч. «мю»). Таким образом: **химический потенциал (3.81) – это потенциал Гиббса, приходящийся на одну частицу.** Тогда выражение (3.80) примет вид: $G(T, p, N) = \mu(T, p) \cdot N$ (3.82) т.е., чтобы узнать потенциал Гиббса системы, нужно найти произведение химического потенциала на число частиц в системе.

Стоит отметить, что химический потенциал относится к одной частице и не зависит от их числа в системе. Поэтому, химический потенциал – это еще один (кроме температуры и давления) интенсивный параметр системы.

Пусть теперь температура и давление в системе остаются постоянными, а изменяется только число частиц. Чтобы найти скорость изменения потенциала Гиббса при изменении числа частиц в системе, найдем производную (3.82) по числу частиц:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial N}\right)_{T,p} = \left(\frac{\partial(\mu N)}{\partial N}\right)_{T,p} = \mu \frac{\partial N}{\partial N} = \mu.$$

Откуда мы можем узнать приращение потенциала Гиббса при изменении числа частиц в системе: $(dG)_{T,p} = \mu dN$. (3.83)

Если же, помимо числа частиц, в системе изменяется еще давление и температура, то полный дифференциал – полное изменение потенциала Гиббса при изменении T , p и N : $dG = -SdT + Vdp + \mu dN$. (3.84)

Выражение μdN «очень похоже» на выражение (3.37) $dA_{\text{внеш}} = Rdr$ внешней работы, совершаемой над системой внешними обобщенными силами. Таким образом, химический потенциал μ выступает в роли обобщенной силы, а N – в роли обобщенной координаты. Но тогда само выражение μdN – играет роль некоторой работы, получившей название – **химическая работа** – это та работа, которую необходимо совершить над термодинамической системой, чтобы увеличить число ее частиц на dN . В пункте 3.6 мы уже говорили, что подобные малые добавки можно добавить и в остальные термодинамические потенциалы. Приращения термодинамических потенциалов для открытых систем и выражения для химического потенциала, найденного с помощью соответствующего потенциала, приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2. Термодинамические потенциалы открытых систем

Название потенциала	Функция состояния в переменных	Полный дифференциал	Выражение для хим. потенциала
Внутренняя энергия	$U=U(S,V,N)$	$dU = TdS - pdV + \mu dN$	$\mu = \left(\frac{\partial U}{\partial N}\right)_{S,V}$
Энтальпия	$H=H(S,p,N)$	$dH = TdS + Vdp + \mu dN$	$\mu = \left(\frac{\partial H}{\partial N}\right)_{S,p}$
Свободная энергия Гельмгольца	$F=F(T,V,N)$	$dF = -SdT - pdV + \mu dN$	$\mu = \left(\frac{\partial F}{\partial N}\right)_{T,V}$
Свободная энергия – потенциал Гиббса	$G=G(T,p,N)$	$dG = -SdT + Vdp + \mu dN$	$\mu = \left(\frac{\partial G}{\partial N}\right)_{T,p}$

Из определения химического потенциала (3.82), потенциал Гиббса: $G = \mu \cdot N$

Найдем отсюда его полный дифференциал: $dG = \mu dN + Nd\mu$. (3.93)

Но с другой стороны, полный дифференциал потенциала Гиббса – это выражение (3.88). Сравним (3.88) и (3.93): $\mu dN + Nd\mu = -SdT + Vdp + \mu dN$

Откуда получим очень важное в термодинамике равенство:

$$SdT - Vdp + Nd\mu = 0. \quad (3.94)$$

Выражение (3.94) называется – **уравнением Гиббса – Дюгема**. Оно связывает изменения сразу всех интенсивных параметров термодинамической системы.

3.11. Свойства химического потенциала. Условие существования равновесного состояния в открытой системе

Пусть в целом термодинамическая система находится в состоянии термодинамического равновесия. Это значит, что температура и давление одинаковы во всей системе. Однако в нашей термодинамической системе отсутствует равновесие по отношению к обмену частицами. Например, в одной части раствора концентрация частиц больше, чем в другой части.

Итак, наша термодинамическая система состоит из двух больших макроскопических частей, в которых разное количество частиц N_1 и N_2 . Полное число частиц в системе, очевидно, равно: $N = N_1 + N_2 = \text{const}$. Система в целом изолирована, т.е. может происходить только перераспределение частиц между частями системы, но полное число частиц в системе не меняется. Тогда изменение числа частиц во всей системе в целом: $dN = dN_1 + dN_2 = 0$. Откуда: $dN_2 = -dN_1$. (3.95)

Выражение (3.95) означает, что увеличение числа частиц, например, во второй части раствора происходит за счет уменьшения числа частиц в первой части – частицы диффундируют из области большей концентрации в область с меньшей концентрацией (см. пункт 1.3).

Энтропия системы в целом складывается из энтропий ее отдельных частей: $S = S_1 + S_2$. По второму началу термодинамики, в состоянии термодинамического равновесия энтропия системы достигает максимального значения. Это условие равносильно тому, что в состоянии термодинамического равновесия энтропия больше не изменяется: $dS = 0$. (3.96)

Учитывая (3.96): $dS = dS_1 + dS_2 = 0$. (3.97)

Но температура и давление во всей системе постоянны. Поэтому энтропия не будет зависеть от этих параметров, а будет зависеть лишь от количества частиц в системе. Энтропия первой части: $S_1 = S_1(N_1)$ зависит только от числа частиц в первой части системы. Аналогично, энтропия второй части: $S_2 = S_2(N_2)$. Тогда изменение энтропии каждой части, связанное с изменением числа частиц в них:

$$dS_1 = \frac{dS_1}{dN_1} dN_1 \text{ и } dS_2 = \frac{dS_2}{dN_2} dN_2.$$

Подставляя в (3.97): $dS = dS_1 + dS_2 = \frac{dS_1}{dN_1} dN_1 + \frac{dS_2}{dN_2} dN_2 = 0$.

Учтем (3.95): $\frac{dS_1}{dN_1} dN_1 - \frac{dS_2}{dN_2} dN_1 = 0$.

Вынесем dN_1 за скобки: $\left(\frac{dS_1}{dN_1} - \frac{dS_2}{dN_2} \right) dN_1 = 0$.

И учтем что $dN_1 \neq 0$, поскольку происходит диффузия, т.е. явно изменяется число частиц. Но тогда произведение равно нулю, если равно нулю

выражение в скобках: $\frac{dS_1}{dN_1} - \frac{dS_2}{dN_2} = 0$. Откуда получим условие установления равновесного состояния в термодинамической системе по отношению к обмену частицами:

$$\frac{dS_1}{dN_1} = \frac{dS_2}{dN_2}. \quad (3.98)$$

Чтобы понять смысл выражения (3.98), выразим из приращения внутренней энергии открытой системы (3.85) $dU = TdS - pdV + \mu dN$ изменение энтропии: $dS = \frac{dU}{T} + \frac{pdV}{T} - \frac{\mu dN}{T}$. Вспомним, что в нашей системе уже существует состояние равновесия (кроме равновесного распределения частиц). Это значит, что энергия и объем частей, из которых состоит система, не меняются, т.е.: $dU = 0$ и $dV = 0$. Тогда: $dS = -\frac{\mu dN}{T}$. Откуда: $\left(\frac{dS}{dN}\right)_{U,V} = -\frac{\mu}{T}$. (3.99)

Подставим (3.99) в (3.98): $\frac{\mu_1}{T_1} = \frac{\mu_2}{T_2}$. (3.100)

Но в состоянии термодинамического равновесия температура во всей термодинамической системе постоянна, т.е.: $T_1 = T_2$. Тогда условие установления равновесного состояния может быть выполнено только в том случае, если равны химические потенциалы каждой части системы: $\mu_1 = \mu_2 = \mu = \text{const}$. (3.101)

Таким образом, выражение (3.101) представляет собой **условие установления равновесного состояния термодинамической системы по отношению к обмену частицами**: *в состоянии термодинамического равновесия химический потенциал должен быть постоянен в любой точке термодинамической системы*. Иначе, диффузия будет продолжаться до тех пор, пока не произойдет выравнивания химического потенциала во всей термодинамической системе.

Посмотрим, как будет вести себя изменение потенциала Гиббса в такой системе, где происходит диффузия. Его изменение (3.88): $dG = -SdT + Vdp + \mu dN$. Если температура и давление постоянны, то $dT = 0$ и $dp = 0$. Тогда: $(dG)_{T,p} = \mu dN$

Но изменение потенциала Гиббса всей системы складывается из изменений потенциалов Гиббса каждой части: $(dG)_{T,p} = \mu_1 dN_1 + \mu_2 dN_2$

Учтем опять (3.95): $(dG)_{T,p} = \mu_1 dN_1 - \mu_2 dN_1 = (\mu_1 - \mu_2) dN_1$

И вспомним (3.68) – условие установления равновесного состояния в термодинамической системе $\Delta G \leq 0$, по которому: при стремлении термодинамической системы к состоянию равновесия ее потенциал Гиббса стремится к минимуму. Учитывая это, получим: $(dG)_{T,p} = (\mu_1 - \mu_2) dN_1 \leq 0$. (3.102)

Неравенство (3.102) позволяет нам определить направление диффузионного потока при установлении равновесного состояния.

Пусть, например, в первой части системы химический потенциал $\mu_1 > \mu_2$ больше, чем во второй части системы. Тогда разность: $\mu_1 - \mu_2 > 0$. Но выражение (3.102) при стремлении к равновесию должно быть **отрицательным**. Это возможно только в том случае, если $dN_1 < 0$. Это значит, что

число частиц в первой части системы, где химический потенциал выше — уменьшается. Таким образом:

Частицы переходят из области с большим в область с меньшим химическим потенциалом. Или: диффузия происходит в направлении уменьшения химического потенциала. Или: диффузия происходит в направлении, противоположном градиенту химического потенциала.

Глава 4. ОСНОВЫ НЕРАВНОВЕСНОЙ ТЕРМОДИНАМИКИ ОТКРЫТЫХ СИСТЕМ

4.1. Живой организм как открытая термодинамическая система. Стационарное состояние. Второе начало термодинамики для линейных необратимых процессов

Из первого начала следует, что работа может совершаться или за счет изменения внутренней энергии системы, или за счет сообщения системе некоторого количества тепла. В живой системе, независимо от того, целый это организм или отдельные органы, работа не может совершаться за счет притока тепла извне, т.е. живой организм не может работать как идеальная тепловая машина. В качестве доказательства определим температуру мышцы (T_1), предполагая, что она работает как тепловая машина с КПД = 30% при температуре окружающей среды $T_2 = 298^\circ K$ по формуле (1.14). Получим: $T_1 = 426^\circ K$ или $153^\circ C$, что естественно нереально, так как белки денатурируются при температуре 40–60°C.

Таким образом, в живом организме работа совершается за счет изменения внутренней энергии системы при различного рода биохимических процессах или за счет изменения энтропийного фактора. Опытное подтверждение справедливости первого закона термодинамики для биологических систем в 1780 году провели Лавуазье и Лаплас методом непрямой калориметрии, который основан на том факте, что нормальное употребление кислорода O_2 и выделение углекислого газа CO_2 в организме теплокровного животного тесно коррелируется с теплопродукцией. В 1904 году Этуотер использовал метод прямой калориметрии. В результате опыта, расхождение между притоком теплоты (от обмена белков, жиров и углеводов) в организм человека и расходом теплоты (на выделение с газом, с калом и мочой, на испарение при дыхании, через кожу и др.), было не более 1% (табл. 4.1).

Таблица 4.1. Тепловой баланс человека за сутки

Приход теплоты (кДж)		Расход теплоты (кДж)	
белок (56,8 г)	993	выделенная теплота	5757
жиры (140,0 г)	5476	с газом	180
углеводы (79,9 г)	1404	с калом и мочой	96
		теплота испарения	
		при дыхании	758
		через кожу	951
		различные поправки	46

Всего:	7873	7788
--------	------	------

Приведенные расчеты показывают хорошие совпадения в том случае, если организм не производит значительной физической нагрузки и в нем не происходит значительное накопление массы. Таким образом:

живой организм в какой-то степени сходен с тепловой машиной: он также выделяет теплоту в окружающую среду, т.е. обладает свойством теплопродукции за счет энергии, полученной от продуктов питания и фотосинтеза и, кроме того, выполняет различные виды работы:

- **механическую** (мышцы при сокращениях);
- **электрическую** (при генерации биопотенциалов в клетках);
- **химическую** (совершается клеткой при синтезе высокомолекулярных веществ из низкомолекулярных);
- **осмотическую** (при активном транспорте веществ через клеточные мембраны против направления градиента концентрации веществ);
- **оптическое высвечивание** (на люминесценцию – всего насчитывают около 250 видов живых организмов, в той или иной степени создающей свечение).

Аккумуляция энергии в живом организме происходит в процессе катаболизма органических молекул. В организме, при окислении пищевых продуктов до конечных продуктов, образуется энергия, которая выделяется в виде основной (первичная) и активной (вторичная) теплоты.

Первичная теплота (Q_1) выделяется сразу после поглощения организмом кислорода и продуктов питания и идет на нагревание организма, рассеивается в окружающее пространство и 50% накапливается в макроэргических соединениях (прежде всего – АТФ), которую затем организм черпает на жизнедеятельность.

Вторичная теплота (Q_2) – это теплота, которая выделяется при разрыве макроэргических связей, запасенных ранее в организме и реализуемых при активной работе. В норме первичная теплота должна равняться вторичной. Уменьшение вторичной теплоты вызывает увеличение первичной (потовыделение) и, наоборот, уменьшение первичной теплоты вызывает увеличение вторичной (при переохлаждении появляется дрожь тела).

Из всего сказанного следует, что обмен веществ в организме неразрывно связан с процессами превращения энергии. Следовательно, первый закон термодинамики полностью применим к биологическим системам. Непосредственное применение второго начала термодинамики к живому организму, как открытой системе, в которой протекают неравновесные процессы, встречает ряд трудностей. Действительно, организм поглощает из среды питательные вещества и выводит из нее продукты метаболизма, получает энергию (в процессе простого поглощения тепла или процессе фотосинтеза) и выводит из нее теплоту, реагирует на любые изменения в окружающем его геополях (гравитационных, электрических, магнитных и др.).

Если в изолированной физической системе в начальный момент имеются градиенты давления, концентрации, температуры и других величин, то через некоторое время произойдет выравнивание этих градиентов и параметры системы распределяются равномерно и по всему объему, а энтропия системы достигает максимума.

Иное положение в биологических системах.

Организм – это открытая термодинамическая система – система, которая обменивается с окружающей средой не только энергией, но и веществом.

Известно, что свойством живых клеток, тканей или организмов является их способность совершать работу, а работа может совершаться только за счет изменения энергии системы. Но изменение энергии связано с наличием градиентов физических величин. Поэтому на основании величины различных градиентов можно судить о жизнеспособности того или иного организма, и по выравниванию градиентов судить о наступлении его гибели.

При этом эти неравновесные состояния в живом организме таковы, что многие определяющие их физические и химические параметры сохраняются длительное время неизменными. Например, температура тканей, величины биопотенциалов покоя, осмотические величины, солевой состав и кислотность различных биологических жидкостей и т.п. Такое состояние системы называется **стационарным**. Стационарное состояние достигается путем взаимной компенсации всех процессов, связанных с поступлением, удалением и превращением вещества в энергию.

Стационарное состояние осуществляется за счет постоянства скоростей физических и химических процессов в живых организмах

В пункте 1.3 мы рассмотрели диффузию и теплопроводность. Если, например, уравнение Фика (1.17) записать в виде: $\frac{\Delta M}{\Delta S \cdot \Delta t} = -D \frac{\Delta \rho}{\Delta x}$, то величину $\frac{\Delta M}{\Delta S \cdot \Delta t} \equiv J_D$ можно трактовать как массу вещества, перенесенного через единичную площадку, перпендикулярную направлению переноса, за единицу времени. Такая величина называется – плотность потока массы и обозначается J_D .

Аналогично, для описания неравновесных процессов вводят понятие **интенсивности термодинамических потоков** – это количество переносимой физической величины в единицу времени через единицу площади поверхности перпендикулярно к этой поверхности.

Например, интенсивность теплового потока пропорциональна градиенту температуры: $J_T \propto H \frac{\Delta T}{\Delta x}$, интенсивность диффузионного потока про-

порциональна градиенту плотности вещества: $J_D \propto D \frac{\Delta \rho}{\Delta x}$, интенсивность

потока электрического заряда пропорциональна градиенту потенциала: $J_C \propto \gamma \frac{\Delta \varphi}{\Delta x}$, где γ – удельная электропроводность.

Могут быть потоки: осмотический, электродиффузионный и другие, которые также определяются градиентами соответствующих величин. В биологической системе потоки связаны друг с другом. Например, диффузия определяется не только разностью концентраций (плотностей), но разностью температур (термодиффузия), разностью потенциалов (электродиффузия), если диффундирующие частицы заряжены и т.п.

Поэтому диффузионный поток равен алгебраической сумме всех потоков:

$$J_d = -D \frac{\Delta \rho}{\Delta x} - H \frac{\Delta T}{\Delta x} - \gamma \frac{\Delta \varphi}{\Delta x} \dots \quad (4.1)$$

Обозначим через: J_i **термодинамический поток**, вызванный i -ой причиной (диффузией, вязкостью, теплопроводностью и т.д.); градиенты различных величин назовем **термодинамическими силами** и обозначим их X_k ; соответствующие коэффициенты (диффузии, теплопроводности и др.) обозначим L_{ik} . Тогда уравнение (4.1) примет вид: $J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2 + L_{13}X_3$, (4.2)

где: $L_{11} = D$ – коэффициент диффузии; $L_{12} = H$ – коэффициент теплопроводности; $L_{13} = \gamma$ – удельная электропроводность; $X_1 = -\frac{\Delta \rho}{\Delta x}$ – термодина-

мическая сила, противоположная градиенту плотности; $X_2 = -\frac{\Delta T}{\Delta x}$ – термо-

динамическая сила, противоположная градиенту температуры; $X_3 = -\frac{\Delta \varphi}{\Delta x}$ –

термодинамическая сила, противоположная градиенту электрического потенциала (на самом деле – это напряженность электрического поля, например в клеточной мембране).

Тогда уравнение какого-либо потока в неравновесной системе, вызванного рядом причин (диффузией, теплопроводностью, электродиффузией и др.), можно записать в виде уравнения, получившего название феноменологического:

$$J_i = \sum_{k=1}^n L_{ik} X_k, \quad (4.3)$$

где: $i = 1, 2 \dots n$ – номер потока; $k = 1, 2 \dots n$ номер термодинамической силы (градиента), вызывающей этот поток; L_{ik} – **феноменологический или кинетический коэффициент Онсагера**.

Каждый из потоков влияет на величины других потоков. Например, химическая реакция окисления в клетках снижает концентрацию кислорода в них, что создает диффузионный поток кислорода внутрь клетки, а этот поток создает диффузионный поток углекислого газа из клетки. Это значит, что возникновение градиента какой-либо величины (это какая-то термодинамическая сила) вызывает возникновение, противоположно направленного градиента другой величины (другой термодинамической силы). Говорят, что такие термодинамические силы **связаны** или **сопряжены** друг с другом. В таком случае, **условие сопряженности термодинамических сил** можно представить как: $L_{ik} = L_{ki}$. (4.4)

Выражение (4.4) представляет собой **соотношение взаимности Онсагера**. Это соотношение можно трактовать как: **Второе начало термодинамики для линейных необратимых процессов: при стационарном состоянии вклад, который дает термодинамическая сила X_k в несоответствующий этой силе термодинамический поток J_i , равен вкладу, который дает термодинамическая сила X_i в несоответствующий этой силе термодинамический поток J_k .**

Значит, **равное действие вызывает равную ответную реакцию в неравновесной термодинамической системе**.

Совмещая это условие устойчивости с соотношением взаимности Онсагера, можно сформулировать **принцип Ле Шателье в линейной термо-**

динамике необратимых процессов: *при внешнем воздействии на систему в стационарном состоянии в ней возникают внутренние потоки, ослабляющие результаты этого воздействия.* В случае неравновесного состояния, например, при диффузионном потоке, увеличивается число частиц в какой-то области системы. При этом увеличивается число возможных микросостояний и по формуле Больцмана (2.17) – увеличивается энтропия в этой области неравновесной системы. Таким образом, *возникновение какого-либо из термодинамических потоков, вызванного наличием ряда термодинамических сил (градиентов), приводит к увеличению энтропии неравновесной термодинамической системы.* Второе начало термодинамики, полученное в случае равновесной системы и, имеющее вид: $\frac{dS}{dt} > 0$, в случае линейных

необратимых процессов, принимает вид: $\frac{dS}{dt} = \sum_{i,k} L_{ik} X_i X_k > 0$. (4.5)

Таким образом, из условия (4.5) следует, что *при линейных необратимых процессах в открытых системах происходит увеличение энтропии, обусловленное наличием сопряженных термодинамических потоков и сил.*

В равновесной термодинамике мы нашли условия устойчивости равновесных состояний: энтропия системы стремится к максимуму; термодинамические потенциалы Гиббса и Гельмгольца – стремятся к минимуму. Каковы же условия устойчивости линейных неравновесных систем? В следующем пункте мы рассмотрим теорему Пригожина, согласно которой определяется **условие устойчивости стационарного состояния неравновесных термодинамических систем:** *скорость изменения – скорость производства энтропии в такой системе должна быть минимальной.* Это условие минимума производства энтропии в стационарном состоянии играет такую же роль, как минимум термодинамических потенциалов для равновесных систем.

Но, возникает вопрос: **если живой организм является такой линейной неравновесной открытой системой, в которой происходит постоянное увеличение энтропии, то каким образом ему удастся длительное время находиться в стационарном состоянии?**

4.2. Условия химической и биологической эволюции. Стационарное состояние. Теорема Пригожина

В равновесной термодинамике мы рассматривали процессы, в состоянии равновесия. При этом энтропия термодинамической системы стремится к максимуму. Термодинамическое равновесие характеризуется отсутствием каких-либо процессов: процессы закончились – равновесное состояние достигнуто – энтропия максимальна. В линейной неравновесной термодинамике открытых систем мы также получили условие возрастания энтропии (4.5), обусловленное наличием сопряженных потоков и сил.

Попробуем найти ответ на вопрос, поставленный в конце предыдущего пункта. Предположим, что энтропия организма стремится к нулю. Но энтропия может быть равна нулю только при температуре 0 К (ведь энтропия – мера хаоса, а хаос возникает за счет теплового хаотического движения молекул. Тепловое движение отсутствует только при абсолютном нуле – это -273°C. Значит, энтропия живого организма не может быть равна нулю. Итак, с одной стороны – энтропия организма не может увеличиваться до беско-

нечности (мы рассыплемся); с другой стороны – не может уменьшаться до нуля. Значит, энтропия организма, это какая-то постоянная величина:

$$S_{орг} = const. \quad (4.6)$$

*Термодинамическая система, у которой энтропия остается величиной постоянной, называются **стационарной термодинамической системой**. Живой организм – это стационарная термодинамическая система.*

Конечно, условие (4.6) стационарности живого организма – это «идеальное» условие. Если бы это условие выполнялось в нашей жизни, то хаос внутри нас был бы всегда постоянным, не увеличивался, и мы жили бы ВЕЧНО! На самом деле, мы знаем, что с течением времени происходит процесс старения, т.е. накапливается неупорядоченность – хаос, а значит, энтропия организма постепенно возрастает. О том, как с этим «бороться» мы и поговорим. Как достигнуть постоянства энтропии? В живом организме для этого существует два механизма:

- **Энергетический механизм** – живой организм получает из окружающей среды энергию путем теплопроводности; поглощения теплового электромагнитного излучения и других процессов. При этом энтропия организма увеличивается. Сам организм тоже излучает энергию в окружающую среду, если ее температура меньше температуры организма. Поэтому летом при температуре 37°C и выше теплокровным млекопитающим тяжелее поддерживать постоянство энтропии.

- **Механизм обмена веществ** – мы – живые организмы, поглощаем из окружающей среды питательные вещества – высокомолекулярные соединения с относительно небольшой энтропией. Это молекулы со сложной структурой. В них много порядка, а значит относительно мало беспорядка, т.е. хаоса – энтропии. В организме эти высокомолекулярные соединения расщепляются до низкомолекулярных веществ с более высокой энтропией. Эти высокоэнтропийные продукты распада (шлаки) должны выводиться из организма. Определим баланс между поступающей в организм и выводящейся из него энтропией. Что значит условие (4.6)? По-другому, его можно записать как: $dS_{орг.} = 0$. (4.7)

Действительно, если мы хотим, чтобы наша энтропия оставалась постоянной, нужно, чтобы ее изменение было равно нулю. А теперь вспомним, что организм – это открытая система. Учтем, что изменение энтропии в нем может происходить как за счет внутренних процессов (расщепление пищи), так и за счет взаимодействия с окружающей средой (выведение высокоэнтропийных шлаков, теплообмен). Поэтому изменение энтропии в организме имеет вид: $dS_{орг} = dS_i + dS_e$. (4.8)

т.е. изменение энтропии организма в целом складывается из изменения энтропии внутри организма $dS_i = dS_{внутр}$ и изменения энтропии за счет обмена с окружающей средой $dS_e = dS_{внеш}$. Теперь учтем условие (4.7) стационарного существования организма: $0 = dS_{внутр} + dS_{внеш}$. Откуда получим, что: $dS_{внутр} = -dS_{внеш}$. (4.9)

Выражение (4.9) показывает, что изменения энтропии внутри организма и за счет обмена с внешней средой противоположны по знаку. Как можно трактовать полученный результат? При поглощении питательных веществ происходят окислительно-восстановительные реакции – и, что са-

мое главное, – это экзергонические реакции, идущие с выделением тепла, то есть $dQ > 0$. Если посмотреть на определение энтропии (2.14), то мы увидим, что при этом и энтропия внутри организма будет возрастать $dS_i \geq 0$. Тогда условие (4.9) можно сформулировать более конкретно: *увеличение энтропии внутри организма должно компенсироваться обменом энтропией с окружающей средой*.

dS_e – изменение энтропии при взаимодействии организма с окружающей средой, в результате чего в организм поступает свободная энергия. dS_e – может принимать любые значения: положительные, отрицательные и равные нулю. Если $dS_e > 0$, то $dS_{опз} > 0$ – это означает, что сложные биохимические соединения распадаются на простые, клеточные структуры разрушаются и жизнь прекращается. Если $dS_e = 0$, то $dS_{опз} = dS_i > 0$, тоже происходит гибель организма. Если $dS_e < 0$, но больше dS_i , то $dS_{опз} < 0$, что вызывает образование клеток, рост тканей и т.д.

Таким образом, **в открытой системе поток энтропии может быть не только положительным, но и отрицательным**. Положительное приращение энтропии есть мера превращения упорядоченной формы движения в неупорядоченную, а отрицательное приращение энтропии – наоборот, т.е. условие $dS_{опз} < 0$ – это условие существования и усложнения живых организмов.

В работах И. Пригожина и его школы показано, что *решающую роль играет не сама энтропия, а скорость, с которой она накапливается или выводится из организма*. На различных этапах жизни dS меняется, поэтому ввели понятие скорость изменения энтропии в организме. Чтобы найти скорость изменения какой-либо величины, надо найти производную по времени. Поступим так с выражением (4.8):

$$\frac{dS_{опз}}{dt} = \frac{dS_i}{dt} + \frac{dS_e}{dt}. \quad (4.10)$$

Выражение (4.10) можно сформулировать как: **Второе начало термодинамики для живого организма: скорость изменения энтропии в организме равна алгебраической сумме скорости возрастания энтропии внутри организма и скорости поступления отрицательной энтропии из внешней среды в организм**.

При стационарном состоянии $\frac{dS_{опз}}{dt} = 0$, тогда (4.10) примет вид:

$$\frac{dS_i}{dt} = -\frac{dS_e}{dt}. \quad (4.11)$$

В этом случае в организме ряд параметров системы остаются постоянными – такая способность организма называется **гомеостаз**. Если в организме происходит нарушение гомеостаза до определенного предела, то стационарное состояние рано или поздно восстанавливается. Это явление называется **аутостабилизация**.

Таким образом, **условие стационарного существования живого организма достигается тогда, когда скорость увеличения энтропии внутри организма должна быть равна скорости ее выведения в окружающую среду**.

Но, к сожалению, мы стареем, хаос в организме постепенно накапливается, и, на самом деле: $\frac{dS_{\text{внутр}}}{dt} > -\frac{dS_{\text{внеш}}}{dt}$. Следовательно, *скорость увеличения энтропии внутри организма превышает скорость ее выведения в окружающую среду*. Попросту говоря, мы недостаточно быстро выводим из организма шлаки, то есть недостаточно быстро очищаем свой организм.

В работах И. Пригожина доказана теорема, устанавливающая основное условие стационарного существования живых организмов.

Теорема Пригожина: *в состоянии динамического равновесия скорость производства энтропии в организме стремится к минимуму.*

Математически, скорость – это всегда производная по времени. Условились обозначать производную по времени точкой, которая ставится над величиной, производная которой находится. Например, скорость изменения энтропии: $\frac{dS}{dt} \equiv \dot{S}$. В теореме Пригожина говорится, что такая скорость производства энтропии стремится к минимуму. Это значит, что мы должны найти скорость изменения «самой» скорости производства энтропии. Т.е. мы

должны найти еще одну – вторую производную по времени: $\frac{d\dot{S}}{dt}$. А

теперь учтем, что эта скорость стремится к минимуму. Это значит, что такая производная должна быть отрицательной – меньше нуля. Таким образом, математическая запись

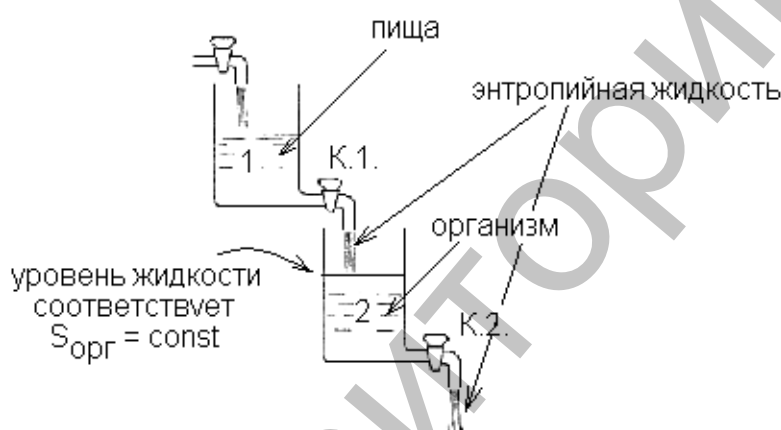


Рис.4.1

теоремы Пригожина: $\frac{d\dot{S}}{dt} < 0$ (4.12)

Мы выяснили, что живой организм является стационарной открытой термодинамической системой. Это термодинамическая система далекая от состояния равновесия, которое мы изучали в равновесной термодинамике, потому, что по второму началу термодинамики в состоянии термодинамического равновесия энтропия изолированной системы стремится к максимуму. В таком случае, состояние живых организмов характеризуется, так называемым, состоянием **динамического равновесия**, при котором уровень энтропии остается постоянным.

Выражение (4.11), характеризующее состояние динамического равновесия, хорошо иллюстрируется на примере «**проточной модели организма**» (рис.4.1).

Из первого резервуара (окружающей среды) через кран К.1. в организм вливается «энтропийная жидкость». В организме, резервуар №2, уровень энтропийной жидкости должен оставаться постоянным. Для этого кран

К.2. должен быть открыт также как и кран К.1. Но что это за краны К.1. и К.2. в организме?

Роль крана К.1. играют сигнальные молекулы, активирующие катаболизм и обеспечивающие функционирование ферментов – катализаторов экзергонических реакций, приводящих к увеличению энтропии. В нашем случае важен не сам кран К.1. Важно насколько он открыт, насколько быстро втекает в организм энтропийная жидкость. Значит, главная роль отводится не самим сигнальным молекулам, а скорости, с которой они регулируют выработку ферментов катаболических процессов.

Главную роль в скорости накопления энтропии в организме играет **активность** сигнальных молекул, управляющих катаболическими процессами.

Что такое кран К.2? Ответ более очевиден. Это органы, вернее не сами органы, а активность работы органов и тканей выделительной системы.

Главную роль в скорости выведения энтропии из организма играет **активность** работы выделительной системы.

Таким образом, условие (4.5) «вечной жизни» можно сформулировать так:

Если активность катаболических процессов равна активности работы выделительной системы, то организм будет находиться в стационарном состоянии и может существовать неограниченно долго.

4.3. Основы нелинейной неравновесной термодинамики.

Универсальный критерий эволюции

Гленсдорфа–Пригожина

В последние годы работами ряда авторов, и, прежде всего И. Пригожина и П. Гленсдорфа, была развита термодинамика сильнонеравновесных систем, в которых связь между термодинамическими потоками и силами перестает быть линейной, а также не выполняются соотношения взаимности Онсагера. Это новое, далеко, еще не завершенное физико-химическое учение, получившее название нелинейной неравновесной термодинамики, приводит к возможности спонтанного возникновения упорядоченных структур в различных сильнонеравновесных открытых системах, т. е. к процессу их самоорганизации. Отдельные примеры подобных процессов были известны. Это образование ячеечной структуры в неоднородно нагретом вертикальном слое жидкости, возникновение турбулентности, вихрей и т. д.

Общим во всех явлениях образования упорядоченных структур при необратимых процессах в сильнонеравновесных открытых системах является совместное (кооперативное) движение больших групп молекул. Немецкий ученый Г. Хакен предложил для таких процессов самоорганизации общий термин «**синергетика**» (от греч. *synergeia* – совместное, или кооперативное, действие).

Физическая природа синергетики состоит в том, что в нелинейной области, вдали от равновесного состояния, система теряет устойчивость, и малые флуктуации приводят к новому режиму – совокупному движению многих частиц.

Установление самоорганизации в сильнонеравновесных системах имеет важнейшее значение для физики, химии и особенно для биологии. Дело в том, что живые организмы и их различные органы представляют собой весьма неравновесные макросистемы, в которых существуют большие гра-

диенты концентраций химических веществ, температуры, давления, электрического потенциала.

Этот вывод имеет также большое мировоззренческое значение. Известно, что стройно организованный окружающий нас мир религиозные идеологи объясняют его божественным сотворением. Синергетика показывает, как законы природы приводят к появлению определенного порядка в неупорядоченных системах и затем к усложнению и развитию образовавшихся упорядоченных структур. М. Эйгеном было показано, что в сложных сильнонеравновесных системах возможно возникновение записи информации в виде некоторого кода, с помощью которого управляется самовоспроизведение образовавшихся структур. Развитие нелинейной термодинамики позволяет высказать гипотезу, как с точки зрения науки могла возникнуть жизнь.

Нелинейная термодинамика коренным образом изменяет статус второго начала термодинамики. Действительно, этот закон определяет не только разрушение структур при необратимых процессах вблизи равновесного состояния, но и возникновение структур при необратимых процессах вдали от равновесия открытой системы. Отражая необратимость всех реальных процессов, второе начало выражает, таким образом, закон развития материи. Такое понимание второго начала термодинамики снимает кажущееся противоречие между этим законом о возрастании энтропии и беспорядка в замкнутой системе и теорией эволюции Дарвина о возникновении все более сложных и самовоспроизводящихся структур в живой природе. Заметим, что дело здесь не только в том, что живая система является открытой, поскольку вместе со средой она образует закрытую систему, энтропия которой также возрастает при усложнении живой системы.

Общая теория процессов самоорганизации в открытых сильнонеравновесных системах развивается в нелинейной термодинамике на основе установленного Гленсдорфом и Пригожиным универсального критерия эволюции. Этот критерий является обобщением принципа минимального производства энтропии на нелинейные процессы и состоит в следующем.

При описании поведения открытых термодинамических систем вблизи состояния термодинамического равновесия ее параметры изменяются по линейным законам. Поэтому такой раздел неравновесной термодинамики мы называли линейной неравновесной термодинамикой. Иначе, это такое состояние термодинамической системы, когда мы лишь незначительно изменяли ее параметры от равновесных значений. В таком случае, сама система, после этого, могла вернуться в состояние динамического равновесия.

Выше, было показано, что в организме в случае линейных необратимых процессов $\frac{dS}{dt} > 0$ энтропия возрастает. Причем, это возрастание энтропии обусловлено наличием сопряженных термодинамических потоков и сил

$$(4.5): \frac{dS}{dt} = \sum_{i,k} L_{ik} X_i X_k > 0.$$

Обозначим скорость изменения энтропии такой открытой системы – живого организма: $P \equiv \frac{dS}{dt} = \sum_{i,k} L_{ik} X_i X_k > 0$. Не будем забывать, что такую скорость изменения энтропии открытой системы мы называем также – **скорость производства энтропии**.

Одновременно было показано, что для установления состояния динамического равновесия должна выполняться теорема Пригожина о минимуме

производства энтропии (4.12): $\frac{dS}{dt} < 0$. В наших новых обозначениях, теорема Пригожина примет вид:

$\frac{dP}{dt} < 0$, где такая производная по времени от

производства энтропии называется – **скорость изменения производства энтропии**. Тогда напомним саму теорему Пригожина: *в состоянии динамического равновесия скорость производства энтропии в организме стремится к минимуму.*

Теперь обратим внимание, что функция – скорость производства энтропии зависит от двух переменных: $P = P(L_{ik}, X_i)$, т.е. от термодинамических потоков и сил. Поэтому, если формально найти производную от такой функции

по времени, то она разобьется на два слагаемых: $\frac{dP}{dt} = \frac{\partial_L P}{\partial t} + \frac{\partial_X P}{\partial t}$, (4.13)

где: первое слагаемое определяет скорость изменения производства энтропии за счет термодинамических потоков; второе – скорость изменения производства энтропии за счет термодинамических сил (градиентов).

В области линейных процессов оба слагаемых одинаковы и производная dP/dt выражает принцип минимума производства энтропии. В самом

деле, используя соотношения Онсагера (4.4), получим: $\frac{dP}{dt} \leq 0$. Где знак ра-

венства соответствует стационарному состоянию открытой системы (организма). Что соответствует рассмотренной выше теории Пригожина стационарного существования живого организма.

Однако, в сильнонеравновесных системах, в которых связь между термодинамическими потоками и силами перестает быть линейной, не выполняются соотношения взаимности Онсагера. Поэтому общей теории таких нелинейных процессов еще не существует. Однако, как показали Гленсдорф и Пригожин, для любого типа неравновесных процессов (и линейных и не-

линейных), величина $\frac{\partial_X P}{\partial t}$ удовлетворяет неравенству: $\frac{\partial_X P}{\partial t} \leq 0$. (4.14)

Это неравенство является обобщением принципа минимального производства энтропии для любого типа неравновесных процессов. Оно не зависит ни от каких предположений о характере связей между потоками и силами в условиях локального равновесия. Ввиду большой общности соотношение (4.14) называется **универсальным критерием эволюции Гленсдорфа–Пригожина**. Согласно этому критерию: *в любой неравновесной системе с фиксированными граничными условиями процессы идут так, что скорость изменения производства энтропии, обусловленная изменением термодинамических сил, уменьшается.* Знак равенства в (4.14) относится к стационарному состоянию (живому организму).

Заметим, что универсальный критерий эволюции Гленсдорфа – Пригожина (4.14) является косвенным следствием второго начала термодинамики для неравновесных процессов. Один из основателей общей теории возникновения диссипативных структур И. Р. Пригожин (Бельгия) в 1977 г. за работы по термодинамике был удостоен Нобелевской премии.

Критерий эволюции (4.14) определяет только часть прироста энтропии, связанную с изменением термодинамических сил, поэтому он не позволяет ввести такой функции состояния – термодинамического потенциала, который бы в стационарном состоянии имел экстремум (максимум или минимум), подобно энтропии, энергии Гельмгольца или энергии Гиббса при малых (спонтанных) отклонениях от равновесия. Однако при некоторых условиях форма $d_x P$ приобретает свойства полного дифференциала, что позволяет и в сильнонеравновесной области ввести локальные потенциалы с экстремальными свойствами.

Упорядоченные структуры, возникающие согласно критерию Гленсдорфа–Пригожина (4.14) при необратимых процессах в открытых системах вдали от равновесия в нелинейной области, когда параметры систем превышают определенные критические значения, Пригожин назвал **диссипативными структурами**.

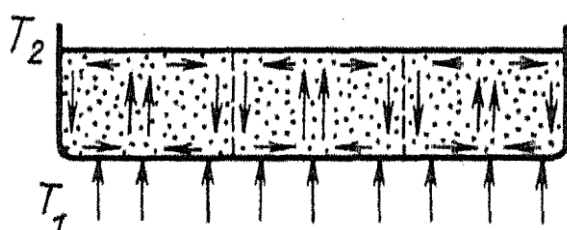


Рис.4.2

Среда, в которой возможно образование диссипативных структур называется **активной средой**. Существуют пространственные, временные и пространственно-временные диссипативные структуры. Рассмотрим некоторые из них.

Простейшим примером **пространственных диссипативных структур** являются **ячейки Бенара**, обнаруженные еще в 1900 г. Если горизонтальный слой жидкости сильно подогреть снизу, то между нижней и верхней поверхностями возникает разность температур $\Delta T = T_1 - T_2 > 0$. При малой разности температур $\Delta T < \Delta T_{кр}$ ниже некоторого критического значения $\Delta T_{кр}$, подводимое снизу количество теплоты распространяется вверх путем теплопроводности и жидкость остается неподвижной. Однако при разности температур выше критической $\Delta T > \Delta T_{кр}$ в жидкости начинается конвекция: холодная жидкость опускается вниз, а нагретая поднимается вверх. Распределение этих двух противоположно направленных потоков оказывается самоорганизованным (рис. 4.2), в результате чего возникает система правильных

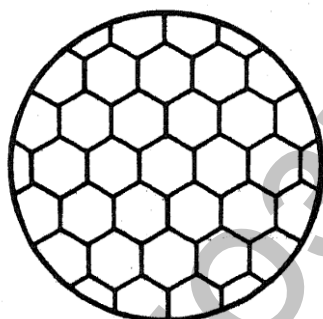


Рис.4.3

шестиугольных ячеек (рис. 4.3). По краям каждой такой ячейки жидкость опускается вниз, а в центре поднимается вверх. При $\Delta T > \Delta T_{кр}$ состояние неподвижной теплопроводящей жидкости становится неустойчивым и вместо него наступает устойчивый режим в виде конвекционных ячеек Бенара. Обуславливается это тем, что при большой разности температур покоящаяся жидкость уже не обеспечивает перенос возросшего количества теплоты, и поэтому устанавливается новый конвекционный режим. При переходе от докритического к сверхкритическому режиму спонтанно меняется симметрия системы, что аналогично термодинамическим фазовым переходам. Поэтому переходы в неравновесных системах называют **кинетическими фазовыми переходами**.

Другим примером пространственных диссипативных структур является решетка вакансионных пар, экспериментально обнаруженная Дж. Эван-

сом в 1970 г. при исследовании микроструктуры молибдена, облученного ионами азота. Известно, что облучение металла быстрыми частицами (нейтронами, ионами) приводит к образованию в кристаллической решетке точечных дефектов – вакансий и межузельных атомов. При повышении температуры эти вакансии, двигаясь в кристалле, образуют сложные кластеры дефектов в виде сферических вакансионных пор и плоских дислокационных петель. Обычно такие кластеры образуют пространственно однородную систему. Однако при определенных условиях облучения вакансионные поры располагаются упорядоченно в виде правильных «сверхрешеток», тип которых совпадает с типом кристаллической решетки металла, которые имеют период, в сотни раз превышающий период этой решетки. Образование таких упорядоченных структур вакансионных пор вызвано нелинейным динамическим взаимодействием точечных дефектов с мелкими вакансионными кластерами и диффузионным взаимодействием между порами.

К числу пространственных диссипативных структур принадлежат также кольца Сатурна. Образование этой структуры (более 90 колец, различаемых современной аппаратурой) обусловлено неравновесностью вращающегося вокруг планеты вещества и притяжением его к Сатурну и взаимодействием отдельных частиц вещества между собой.

Примером **пространственно – временных диссипативных структур** может быть реакция Белоусова–Жаботинского. Явления самоорганизации, приводящие к образованию упорядоченных во времени диссипативных структур, возникают при протекании некоторых нелинейных химических реакций в активных средах, в которых скорость образования продукта реакции, например, квадратично зависит от концентраций реагирующих компонентов.

В 1951 г. Б. П. Белоусов открыл гомогенную периодическую химическую реакцию окисления лимонной кислоты смесью бромата калия KBrO_3 и сульфата церия $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$. В смеси этих веществ, растворенных в разбавленной серной кислоте, происходит реакция восстановления церия:

$$\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+} + \text{Br}^- \quad (4.15)$$

и реакция его окисления: $\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Ce}^{4+}$. (4.16)

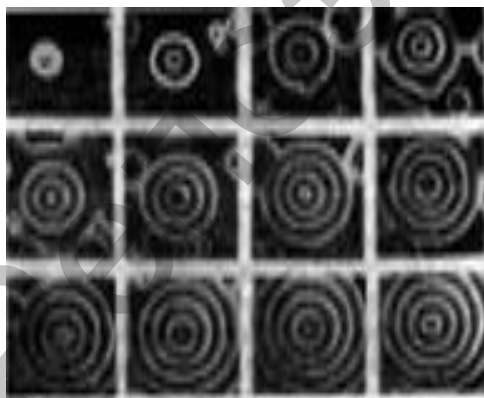


Рис.4.4. Активные центры



Рис.4.5. Химический ревербератор

Реакция (4.16) автокаталитическая – в ней продукты реакции являются ее катализаторами и ускоряют протекание самой реакции. Сводный ион Br^- реакции (4.15) действует как сильный ингибитор (замедлитель) реакции

(4.16). Поэтому вначале протекает только реакция (4.15), пока все ионы Ce^{4+} не превратятся в Ce^{3+} . Затем начинается весьма быстрая реакция (4.16), все ионы Ce^{3+} превращаются в Ce^{4+} и процесс начинается сначала. В результате возникает периодическая временная структура, для которой характерно изменение цвета раствора от красного (избыток Ce^{3+}) к синему (избыток Ce^{4+}) и обратно. Колебания окраски происходят с периодом около 4 мин и продолжаются до тех пор, пока не израсходованы все реагенты, т.е. пока система далека от термодинамического равновесия.



Рис.4.6. Фотография лишайника

Вследствие принципиальной новизны исследования Б. П. Белоусова своевременно не были поняты. Его статьи не принимались к опубликованию ни в 1951 г., ни в 1957 г. редакциями двух научных журналов «ввиду теоретической невозможности» описываемых в них реакций (краткий реферат работы Б.П. Белоусова был опубликован лишь в 1959 г.). Исследования Б.П. Белоусова были продолжены и детально развиты А.М. Жаботинским.

В ряде случаев нелинейные химические реакции, идущие в тонком слое, приводят к образованию пространственно-временной структуры, которая имеет вид кольцевых и спиральных волн. Возникновение таких структур в нелинейных химических реакциях связано с локальными флуктуациями концентраций и диффузией реагентов. Жаботинский и Заикин наблюдали и изучали автоволновые процессы в активной среде, обнаруженной Белоусовым, где в качестве катализатора применялся не Ce^{3+} , а ферроиновый комплекс железа. Возбуждение системы производилось прикосновением к поверхности раствора иглой, смоченной раствором AgNO_3 или нагретой проволокой. В такой активной среде возникают волны, бегущие со скоростью 0,01 см/с (рис. 4.4). Экспериментально были обнаружены точечные источники автогенерации – ведущие центры, возникающие в однородной среде в результате локальных флуктуаций концентрации. При разрыве волнового фронта может возникнуть ревербератор – спиральная волна. На рис. 4.5 показана фотография химических ревербераторов, а на рис. 4.6. – фотография лишайника. Конечно, периодический рост лишайника не является аналогом поведения рассмотренных химических систем, но есть все основания считать, что химические автоколебательные и автоволновые процессы моделируют важные биологические явления.

В 1980 г. группе авторов – Б.П. Белоусову (посмертно) и А.М. Жаботинскому с сотрудниками – была присуждена Ленинская премия за открытие нового класса *автоволновых* и *автоколебательных процессов*. История с работой Б. П. Белоусова показывает, как иногда новые факты и идеи, противоречащие сложившимся ранее представлениям, длительное время не принимаются и не развиваются.

4.4. Химическая кинетика и катализ

Кинетика химических процессов – учение о скорости их протекания и о зависимости скорости реакции, концентрации реагирующих компонентов, температуры, pH и др. Единичное взаимодействие молекул, которое приводит к образованию новых частиц, называется *элементарным актом*. *Молекулярность химической реакции* равно числу молекул или других частиц, принимающих участие в элементарном акте реакции (различают моно-, би- и тримолекулярные реакции). Любая химическая реакция – это бесконечное число элементарных актов. Если эти акты однотипны, то реакция – *одностадийная (элементарная)*. Разнообразные одновременно происходящие элементарные акты характерны для *сложной (многостадийной) реакции*. *Совокупность всех стадий в целом определяют механизм реакции*.

Важнейшими понятиями в кинетике являются скорость реакции, константа скорости реакции, молекулярность и порядок реакции.

Скорость химической реакции – это реальная возможность протекания реакции, которая разрешена термодинамикой. Для гомогенной реакции – это изменение концентрации реагирующих веществ во времени в единице объема; для гетерогенной реакции – это изменение концентрации реагирующих веществ во времени на единице поверхности раздела фаз. Графическое изображение зависимости концентрации реагентов или продуктов от времени есть кинетическая кривая (рис. 4.7).

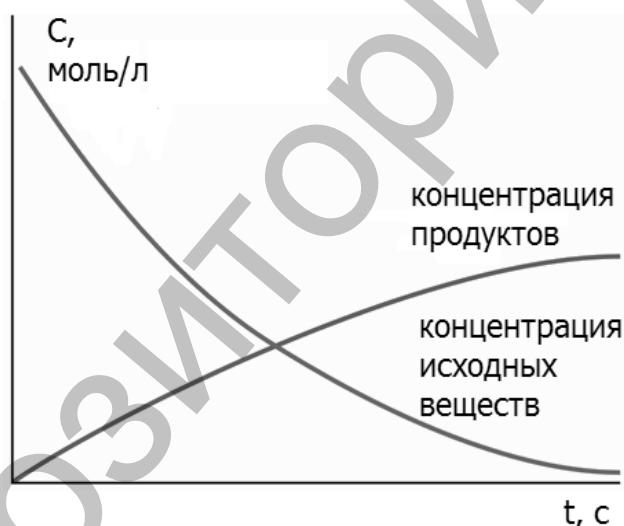


Рис. 4.7. Кинетические кривые для исходных веществ и продуктов реакции.

Согласно основному постулату химической кинетики *скорость химической реакции прямо пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ, взятых в некоторых степенях*.

Например, для реакции $aA + bB + dD + \dots \rightarrow eE + \dots$

можно записать: $V = k \cdot C_A^x C_B^y C_D^z \dots$,

где коэффициент пропорциональности k есть *константа скорости химической реакции*. Константа скорости численно равна скорости данной реакции при условии, что концентрации реагирующих веществ равны между собой и равны 1 моль/л. Она зависит от природы реагирующих веществ и от температуры.

Зависимость скорости реакции от концентраций реагирующих веществ определяется экспериментально и описывается *кинетическим уравне-*

нием химической реакции. Чтобы записать кинетическое уравнение, необходимо экспериментально определить величину константы скорости и показатели степеней при концентрациях реагирующих веществ. Показатель степени при концентрации каждого из реагирующих веществ в кинетическом уравнении химической реакции есть *частный порядок реакции* по данному компоненту. Сумма показателей степени в кинетическом уравнении химической реакции ($x + y + z$) представляет собой *общий порядок реакции*.

Порядок реакции определяется численной зависимостью скорости реакции от концентрации исходных веществ. В отличие от порядка *молекулярность реакции* – это понятие теоретическое. Для простых реакций, протекающих в полном соответствии со стехиометрическим уравнением и проводимых при близких концентрациях исходных веществ, величины молекулярности и порядка реакции совпадают. Не совпадает порядок и молекулярность реакции в случаях гетерогенных процессов, каталитических и сложных реакций.

В химической кинетике принято *классифицировать реакции по величине общего порядка реакции*.

Для реакций *нулевого порядка* кинетическое уравнение имеет следующий вид:

$$V = k_0.$$

Для реакции *первого порядка* $A \rightarrow B$ мгновенная скорость характеризуется уравнением:

$$V = k_1 C_A = -\frac{dC}{dt}.$$

После интегрирования выражения данного уравнения получаем:

$$\ln C = -kt + g.$$

Константу интегрирования g определим из начальных условий: в момент времени $t = 0$ концентрация C равна начальной концентрации C_0 . Отсюда следует, что $g = \ln C_0$. Получаем:

$$\ln C = \ln C_0 - k_1 t.$$

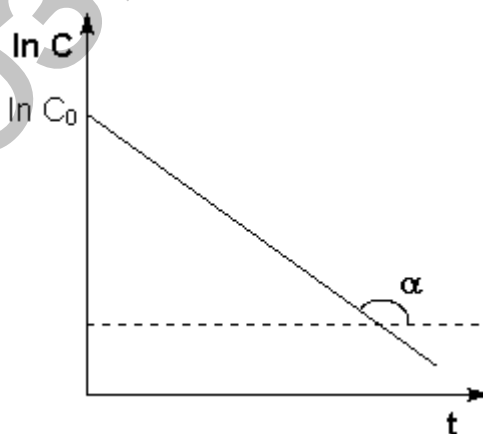


Рис. 4.8. Зависимость логарифма концентрации от времени для реакций первого порядка.

Таким образом, логарифм концентрации для реакции первого порядка линейно зависит от времени (рис. 4,8) и константа скорости численно равна тангенсу угла наклона прямой к оси времени.

$$k_1 = -\operatorname{tg} \alpha.$$

Кинетическое уравнение для реакции первого порядка:

$$k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{C_0}{C}.$$

Важной кинетической характеристикой реакции является *период полупревращения* ($t_{1/2}$) – время, за которое концентрация исходного вещества уменьшается вдвое по сравнению с исходной концентрацией. Для реакций первого порядка время полупревращения является величиной, не зависящей от начальной концентрации исходного вещества.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_1}.$$

Для реакций *второго порядка* в случае, когда концентрации исходных веществ одинаковы, мгновенная скорость реакции определяется по уравнению:

$$V = k_2 C^2 = -\frac{dC}{dt}.$$

После разделения переменных и интегрирования получаем:

$$\frac{1}{C} = k_2 t + g.$$

Постоянную интегрирования g , как и в предыдущем случае, определим из начальных условий. Получим:

$$\frac{1}{C} = k_2 t + \frac{1}{C_0}.$$

Таким образом, для реакций второго порядка, при равенстве концентраций исходных веществ, характерна линейная зависимость обратной концентрации от времени (рис. 4.9) и константа скорости равна тангенсу угла наклона прямой к оси времени:

$$k = \operatorname{tg} \alpha$$

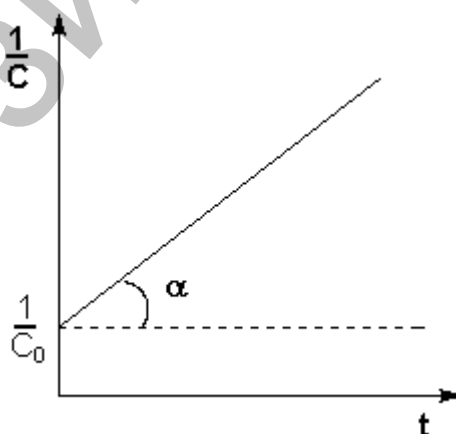


Рис. 4.9. Зависимость обратной концентрации от времени для реакций второго порядка.

Концентрации реагирующих веществ к моменту времени определяются по уравнению:

$$k_2 = \frac{1}{t} \left(\frac{1}{C} - \frac{1}{C_0} \right).$$

Период полупревращения $t_{1/2}$ для реакции второго порядка находят по уравнению:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k} \left(\frac{1}{1/2 C_0} - \frac{1}{C_0} \right) = \frac{1}{k C_0}.$$

Если начальные концентрации реагирующих веществ $C_{0,A}$ и $C_{0,B}$ различны, то мгновенная скорость определяется по уравнению:

$$V = -\frac{dC}{dt} = k_2 C_A C_B.$$

В этом случае для константы скорости получаем выражение

$$k_2 = \frac{1}{t(C_{0,A} - C_{0,B})} \ln \frac{C_{0,B} C_A}{C_{0,A} \cdot C_B}.$$

Для определения **порядка реакции** используют:

1. *Метод подстановки.* Рассчитывают константу скорости реакции, подставляя экспериментальные значения в уравнения реакций для различных порядков, и оценивают, в каком случае будут получаться близкие по значению константы.

2. *Графический метод.* Экспериментальные значения наносят на график, подбирая оси таким образом, что график представлял собой прямую линию. Например, прямая линия получается в координатах $\ln C = f(t)$, следовательно, данная реакция первого порядка, если в координатах $\frac{1}{C} = f(t)$ – реакция второго порядка.

3. *Метод периода полупревращения.* Период полупревращения реакций различных порядков по разному зависит от начальной концентрации исходного вещества. На основании влияния начальной концентрации исходного вещества на период полупревращения делается заключение о порядке реакции. Например, период полупревращения реакции не зависит от начальной концентрации исходного вещества, следовательно, данная реакция первого порядка.

4. *Метод Вант-Гоффа.* Данный метод позволяет находить не только целые, но и дробные порядки. Для этого необходимо знать скорости данной реакции (V_1 и V_2) при двух концентрациях исходных веществ (C_1 и C_2). Тогда $V_1 = k C_1^n$, а $V_2 = k C_2^n$. Находят отношение V_1 к V_2 .

$$\frac{V_1}{V_2} = \left(\frac{C_1}{C_2} \right)^n.$$

Прологарифмировав и выразив из данного уравнения порядок реакции, получают:

$$n = \frac{\lg V_1 - \lg V_2}{\lg C_1 - \lg C_2}.$$

Для расчета порядка реакции можно использовать и графический метод Вант-Гоффа. Для этого необходимо прологарифмировать уравнение $V = k C^n$. В результате логарифмирования получают уравнение:

$$\ln V = \ln k + n \ln C.$$

Из уравнения вытекает, что логарифм концентрации линейно зависит от логарифма скорости реакции и порядок реакции численно равен тангенсу угла наклона прямой к оси логарифма концентрации.

5. *Метод изоляции (избытка)*. Данный метод позволяет определить частный порядок по каждому веществу в отдельности. Общий порядок реакции даст сумма порядков по всем реагирующим веществам. Если скорость реакции характеризует уравнение: $V = kC_B^x C_D^y$, то сначала берут в избытке реагент В и определяют порядок по веществу D (y) одним из вышеперечисленных методов, например, по методу Вант-Гоффа. Затем аналогично определяют порядок по веществу В (x) взяв в избытке реагент D. Общий порядок реакции даст сумма порядков по веществам В и D (x+y). Таким же путем находят порядок реакции с большим числом реагентов.

Кинетика сложных реакций. Сложными называют химические реакции, протекающие более чем в одну стадию. Общая скорость многостадийных реакций определяется скоростью более медленной стадии, называемой поэтому, скоростьюопределяющей или *лимитирующей стадией*.

К **сложным реакциям** относятся *обратимые, параллельные, последовательные, сопряженные реакции*. Рассматривая кинетику сложных реакций необходимо исходить из *принципа независимости*: если в системе протекает несколько реакций, то каждая из них независима от остальных и скорость ее прямо пропорциональна концентрации реагирующих в ней веществ, а общая скорость и состав продуктов определяется взаимосвязью всех независимых реакций.

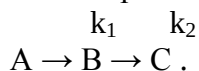
Для элементарной *двусторонней реакции* $A + B \leftrightarrow D + E$ общая скорость в любой момент времени равна разности скоростей прямой и обратной реакции:

$$V = V_1 - V_2 = k_1 C_A C_B - k_2 C_D C_E.$$

По мере протекания двусторонней реакции скорость прямой реакции уменьшается, скорость обратной реакции – увеличивается; в некоторый момент времени скорости прямой и обратной реакции становятся равными и концентрации реагентов перестают изменяться. Таким образом, в результате протекания в закрытой системе двусторонней реакции система достигает состояния химического равновесия; при этом константа равновесия будет равна отношению констант скоростей прямой и обратной реакции:

$$K_C = \frac{k_1}{k_2}.$$

Последовательными называются сложные реакции, когда вещества, образующиеся на одной стадии, расходятся на другой стадии. Схематично последовательную реакцию можно изобразить следующим образом:



Данная реакция идет через образование промежуточного продукта В. В определенный момент, скорость образования этого продукта проходит через максимум, следовательно, вместе с ней проходит через максимум и скорость образования конечного продукта С. Время достижения максимального выхода продукта ($t_{\max}$) может быть рассчитано по формуле:

$$t_{\max} = \frac{\ln(k_2 / k_1)}{k_2 - k_1}.$$

Параллельными называют химические реакции, в которых одни и те же исходные вещества одновременно могут образовывать различные продукты реакции. Для таких реакций в любой момент времени отношение

концентраций продуктов постоянно и определяется константами скоростей элементарных стадий:

$$\frac{C_C}{C_D} = \frac{k_1}{k_2}.$$

Кинетика гетерогенных химических реакций. Гетерогенный процесс состоит из ряда стадий, причем скорость всего процесса лимитируется скоростью самой медленной стадии.

Вант-Гофф сформулировал эмпирическое правило: *при повышении температуры на каждые 10 градусов константа скорости элементарной химической реакции увеличивается в 2 – 4 раза.* Величина, показывающая, во сколько раз увеличивается константа скорости при повышении температуры на 10 градусов, есть **температурный коэффициент** константы скорости реакции γ . Математически правило Вант-Гоффа можно записать следующим образом:

$$\gamma = \frac{k_{T+10}}{k_T}; \quad k_{T_2} = k_{T_1} \cdot \gamma^{\frac{T_2-T_1}{10}}.$$

Аррениус постулировал, что столкновения молекул будут эффективны (т.е. будут приводить к реакции) только в том случае, если сталкивающиеся молекулы обладают некоторым запасом энергии – **энергией активации**. **Энергия активации** есть минимальная энергия, которой должны обладать молекулы, чтобы их столкновение могло привести к химическому взаимодействию.

Рассмотрим путь некоторой элементарной реакции $A + B \rightarrow C$.

Поскольку химическое взаимодействие частиц связано с разрывом старых химических связей и образованием новых, считается, что всякая элементарная реакция проходит через образование некоторого неустойчивого промежуточного соединения, называемого **активированным комплексом** ($K^\#$):



Образование активированного комплекса всегда требует затраты некоторого количества энергии, что вызвано, во-первых, отталкиванием электронных оболочек и атомных ядер при сближении частиц и, во-вторых, необходимостью построения определенной пространственной конфигурации атомов в активированном комплексе и перераспределения электронной плотности. Таким образом, *по пути из начального состояния в конечное состояние система должна преодолеть своего рода энергетический барьер*. Энергия активации реакции приближенно равна превышению средней энергии активированного комплекса над средним уровнем энергии реагентов.

Уравнение Аррениуса устанавливает полуэмпирическую зависимость константы скорости химической реакции от температуры.

$$k(T) = A \exp \left[-\frac{E_A}{RT} \right].$$

Здесь A – постоянная интегрирования. Из уравнения Аррениуса трудно показать физический смысл предэкспоненциального множителя A , который равен константе скорости реакции при температуре, стремящейся к бесконечности.

Зная энергию активации реакции и константу скорости при какой-либо температуре T_1 , по уравнению Аррениуса можно рассчитать величину константы скорости при любой температуре T_2 :

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right).$$

Теории химической кинетики. Основная задача теории химической кинетики – предложить способ расчета константы скорости элементарной реакции и ее зависимости от температуры, используя различные представления о строении реагентов и пути реакции. Рассмотрим две простейшие теории теории активных столкновений (ТАС) и теорию активированного комплекса (ТАК).

Теория активных столкновений (ТАС) основана на подсчете числа столкновений между реагирующими частицами. В этой теории предполагается, что столкновение приведет к реакции, если выполняются два условия: 1) поступательная энергия относительного движения частиц превышает энергию активации E_A ; 2) частицы правильно ориентированы в пространстве относительно друг друга. Первое условие вводит в выражение для константы скорости множитель $\exp(-E_A/RT)$, который равен доле активных столкновений в общем числе столкновений. Второе условие дает так называемый *стерический множитель* P – константу, характерную для данной реакции. Окончательное выражение для константы скорости бимолекулярной реакции:

$$k(T) = P \cdot N_A \cdot Z_0 \cdot \exp \left[-\frac{E_A}{RT} \right],$$

где P – стерический множитель, N_A – постоянная Авогадро, Z_0 – частота столкновений, E_A – энергия активации. Это уравнение иногда называют *уравнением Траутса-Льюиса*.

В теории активированного комплекса (или, что то же, теории переходного состояния) элементарную реакцию представляют как мономолекулярный распад активированного комплекса по схеме: реагенты $\leftrightarrow$ активированный комплекс $\rightarrow$ продукты. **Активированный комплекс** рассматривается как состояние системы реагирующих веществ, соответствующее наибольшей энергии на пути реакции. Дополнительная энергия, необходимая для перехода системы из исходного состояния в активированный комплекс, представляет собой энергию активации E_A .

Основное уравнение ТАК имеет вид:
$$k(T) = \chi \frac{RT}{N_A h} \cdot K_C^\ddagger,$$

где χ – трансмиссионный коэффициент, учитывающий возможность обратного распада активированного комплекса; R – универсальная газовая постоянная; T – температура; N_A – постоянная Авогадро; h – постоянная Планка; $K_C^\ddagger$ – константа равновесия образования активированного комплекса.

В термодинамическом подходе **константу равновесия** выражают через разность термодинамических функций активированного комплекса и исходных веществ. Для этого константу равновесия, выраженную через концентрацию, переводят в константу, выраженную через давления. По-

следняя константа связана с изменением энергии Гиббса в реакции образования активированного комплекса: $K_p^\ddagger = \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right)$.

Для мономолекулярной реакции, в которой образование активированного комплекса происходит без изменения числа частиц, $K_c^\ddagger = K_p^\ddagger$ и константа скорости выражается следующим образом:

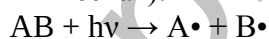
$$k(T) = \chi \frac{RT}{N_A h} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) = \chi \frac{RT}{N_A h} \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right).$$

Энтропийный множитель $\exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right)$ иногда интерпретируют как стeric множитель P из теории активных столкновений.

Реакции, в которых активация частиц является результатом их взаимодействия с квантами электромагнитного излучения видимой области спектра, называют *фотохимическими реакциями*.

Под действием **квантов света** может происходить:

1. *Переход частиц в возбужденное электронное состояние* (переход электронов на вышележащие орбитали): $A + h\nu \rightarrow A^*$.
2. *Ионизация частиц* за счет отрыва электронов: $A + h\nu \rightarrow A^+ + e^-$.
3. *Диссоциация молекул* с образованием свободных радикалов (гомолитическая) либо ионов (гетеролитическая):



Переход частиц вещества в возбужденное электронное состояние (фотохимическая активация) – это, так называемая, первичная химическая реакция. Возбужденная частица A^* испытывает следующие превращения (вторичные реакции):

1. Флуоресценция – быстрое испускание света и переход в электронное состояние:



2. Фосфоресценция – испускание света с некоторой задержкой по времени



6. Сенсibilизация – передача энергии активной молекулой другой молекуле, которая затем вступает в химическую реакцию: $Hg + h\nu \rightarrow Hg^*$; $Hg^* + H_2 \rightarrow Hg + 2H\cdot$

При всех фотохимических процессах выполняется закон Гротгуса: *химическое превращение вещества может вызвать только то излучение, которое поглощается этим веществом.*

Между количеством лучистой энергии, поглощенной молекулами вещества, и количеством фотохимически прореагировавших молекул существует соотношение, выражаемое *законом фотохимической эквивалентности Штарка-Эйнштейна*: *число молекул, подвергшихся первичному фотохимическому превращению, равно числу поглощенных веществом квантов электромагнитного излучения.*

Поскольку фотохимическая реакция, как правило, включает в себя и так называемые вторичные процессы, для описания реакции вводится понятие *квантовый выход фотохимической реакции (γ): квантовый выход фотохимической реакции есть отношение числа частиц, претерпевших превращение, к числу поглощенных веществом квантов света.*

Для практического применения фотохимических процессов используют **закон поглощения света Бугера-Ламберта-Бера**: *поглощенная в единицу времени световая энергия (I_{II}) равна разности между интенсивностью падающего на среду (I_0) и вышедшего из нее (I) света.*

Математическая запись закона поглощения света Бугера-Ламберта-Бера:

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\varepsilon C l},$$

где T – светопропускание, ε – молярный коэффициент поглощения (не зависит от концентрации, а зависит от природы вещества, поглощающего свет, от длины волны и температуры).

$$D = \lg \frac{1}{T} = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon C l,$$

где D – *оптическая плотность или поглощение.*

Катализ – явление изменения скорости химической реакции в присутствии веществ, состояние и количество которых после реакции остаются неизменными.

Различают *положительный* и *отрицательный катализ* (соответственно увеличение и уменьшение скорости реакции), хотя часто под термином «катализ» подразумевают только положительный катализ; отрицательный катализ называют *ингибированием*. Вещество, входящее в структуру активированного комплекса, но стехиометрически не являющееся реагентом, называется *катализатором*.

Необходимо отметить, что наличие катализатора не влияет на величину изменения термодинамического потенциала в результате процесса. **Катализатор не может** сделать возможным самопроизвольное протекание термодинамически невозможного процесса (процесса, ΔG (ΔF) которого больше нуля). Катализатор не изменяет величину константы равновесия для обратимых реакций; влияние катализатора в этом случае заключается только в ускорении достижения равновесного состояния.

В зависимости от фазового состояния реагентов и катализатора различают **гомогенный** и **гетерогенный** катализ.

Гомогенный катализ – каталитические реакции, в которых реагенты и катализатор находятся в одной фазе.

Аутокатализ – процесс каталитического ускорения химической реакции одним из ее продуктов.

Гетерогенный катализ – каталитические реакции, идущие на поверхностях раздела фаз, образуемых катализатором и реагирующими веществами. Механизм гетерогенно-каталитических процессов значительно более сложен, чем в случае гомогенного катализа.

Глава 5. ФЕРМЕНТЫ. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Одной из важнейших функций белков является катализ химических реакций. Подавляющее число химических превращений в организме носит каталитический характер. Именно благодаря белкам-катализаторам удалось на Земле реализовать генетическую информацию, записанную в виде нуклеотидного кода, в разнообразные структуры и функции живых организмов.

5.1. Определение и историческая справка

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы (от греч. *enzyme* – в дрожжах или от лат. *fermentatio* – брожение).

Представления о том, что в живых системах химические реакции протекают при помощи каких-то факторов, возникло более 200 лет назад. В начале XIX века господствовало мнение о наличии «жизненных сил», управляющих процессами жизнедеятельности. Более четкие и однозначные химические представления сформировались в связи с развитием теории химического катализа, выдвинутой шведским химиком Й.Я. Берцелиусом, который первым отметил высокую производительность биологических катализаторов на примере диастазы.

В 50-х гг. XIX столетия Л. Пастер показал, что сбраживание дрожжами сахара в спирт катализируется веществами белковой природы – ферментами. Ошибка Пастера заключалась в том, что он считал ферменты неотделимыми от живых клеток (в данном случае дрожжевых). Это представление разделялось многими учеными, его современниками. Поэтому открытие Э. Бухнера, который первым показал, что в водных экстрактах дрожжевых клеток находится набор ферментов, катализирующих превращение сахара в спирт, является началом формирования науки энзимологии. В 20-х гг. XX в. Р. Вильштеттер впервые получил ряд ферментов в высокоочищенном состоянии. Однако химическую природу ферментов он не идентифицировал из-за ошибочного исходного представления о том, что ферменты – особый класс низкомолекулярных веществ, сорбированных на белках. В 1926 г. Дж. Самнер впервые получил растительную уреазу в виде белковых кристаллов. Четыре года спустя Дж. Нортроп и М. Кунитц представили данные о получении кристаллов пепсина и трипсина, доказав их исключительно белковую природу. В конце прошлого века появились сведения о каталитических антителах (абзимы) и РНК (рибозимы).

Идея W. Jencks (1969) о способности белков-антител катализировать химические реакции была подтверждена в конце 80-х годов прошлого века. Были введены термины «*каталитические антитела*» или «*абзимы*» (от antibody enzyme). В настоящее время известны несколько классов химических реакций, катализируемых антителами: ацилтрансферазные, изомеразные, бимолекулярной ассоциации и окислительно-восстановительные.

Каталитические РНК (рибозимы) были описаны в 80-х годах прошлого века (T.R. Chech et al., 1981; C. Guerrier-Takada et al., 1983). Рибозимы достаточно широко представлены в природе и играют важную роль в эволюции живых организмов, поскольку они могут обеспечивать репродукцию и процессинг РНК без участия белков-ферментов. В частности, рибозимы участвуют в удалении неинформативных интронов из пре-м-РНК, на этапе синтеза белков путем созревания тРНК с помощью рибонуклеазы Р РНК, а также в процессе саморепликации вирусного РНК генома (патогенные вирусы для растений и человека). Ранее неоднократно сообщалось, что синтез белка в рибосомах зависит от уровня рРНК.

Активность рибозимов может контролироваться антибиотиками, что открывает новую страницу в профилактике и лечении вирусных заболеваний, включая вакцинацию.

Ферменты ускоряют реакции в миллионы раз. Многие реакции не могут протекать в организме в отсутствие ферментов. Например, гидратация углекислоты, катализируемая карбоангидразой, является одной из наиболее быстрых реакций. Каждая молекула фермента гидрирует 10^6 молекул CO_2 за секунду! Эта катализируемая реакция протекает в 10^7 раз быстрее, чем не катализируемая. Ферментативный гидролиз пептидной связи происходит за миллисекунды, а без фермента для разрыва пептидной связи при нейтральном значении рН потребуется от 10 до 1000 лет.

Для *выделения ферментов* используют методы препаративной химии белков в специальных щадящих условиях (низкая температура, отсутствие эффектов необратимой денатурации). Оптимальным способом выделения ряда ферментов является биоспецифичная аффинная хроматография. Из более 3800 ферментов, включенных в список, $\frac{3}{4}$ выделены и очищены, у 500 ферментов изучена первичная структура и охарактеризованы гены и только у десятков из них постулирована третичная структура.

5.2. Характеристика ферментов

Сходства между ферментами и химическими катализаторами:

1. Не расходуются и не образуются в процессе реакции.
2. Катализируют только энергетически возможные реакции.
3. Не изменяют свободную энергию субстратов и продуктов реакции.
4. Не смещают равновесия реакции, а ускоряют его наступление.

Различия между ферментами и химическими катализаторами:

1. Ферменты являются *белками* и поэтому катализируют реакции в «*мягких*» условиях (давление 1 атм, температура 37°C и нейтральное значение pH).

2. Ферменты обладают *физико-химическими свойствами*, характерными для белков: высокой молекулярной массой, амфотерностью, не способны к диализу, подвергаются высаливанию и денатурации.

3. Для ферментов характерна *более высокая эффективность*. Например, энергия активации разложения перекиси водорода $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2$ равна 75,2 кДж/моль. При добавлении неорганического катализатора платины энергия активации снижается до 50,2 кДж/моль. Фермент каталаза снижает энергию активации до 8,3 кДж/моль.

4. Активность фермента *регулируется* и контролируется на генетическом уровне (на этапе синтеза белка-фермента и его фолдинга) и посредством низкомолекулярных соединений (субстратов, продуктов реакции и других низкомолекулярных эффекторов).

5. Ферменты *обладают специфичностью*. Различают 4 вида специфичности ферментов:

5.1. *Абсолютная специфичность* – фермент катализирует превращение *только одного субстрата*. Например, аргиназа расщепляет аргинин, уреаза – мочевины.

5.2. *Относительная специфичность* – фермент расщепляет *определенный тип связи*. Например, липаза гидролизует жиры по месту сложноэфирной связи на глицерол и жирные кислоты.

5.3. *Относительная групповая специфичность* – фермент расщепляет *определенный тип связи*, но в ее образовании участвуют определенные функциональные группы. Такие ферменты обычно участвуют в процессе пищеварения. Например, пищеварительные ферменты, гидролизующие пептидную связь в белках,

относятся к протеиназам (относительная специфичность), но среди них пепсин расщепляет пептидную связь, образованную аминокислотной группой ароматических аминокислот; трипсин – пептидную связь, образованную карбоксильной группой основных аминокислот, а химотрипсин – карбоксильной группой ароматических аминокислот (относительная групповая специфичность).

5.4. *Стереохимическая специфичность* – фермент катализирует превращение определенного стереоизомера. Например, оксидаза L-аминокислот превращает только L-аминокислоты.

6. В организме действуют, как правило, полиферментные системы, в результате чего происходит многоэтапное превращение вещества с допустимыми для организма перепадами энергии.

Полиферментные системы (комплексы) представляют собой несколько ферментов, катализирующих ряд согласованных реакций, причем конечные продукты одной ферментативной реакции являются субстратами для следующей. Различают три типа полиферментных комплексов:

а) ферменты растворены в цитоплазме и контакт субстратов с ними осуществляется посредством диффузии;

б) ферменты соединены друг с другом за счет белок-белковых взаимодействий;

в) ферменты соединены друг с другом и иммобилизованы на внутриклеточных или цитоплазматических мембранах.

5.3. Классификация и номенклатура ферментов

1. Ферменты называются добавлением суффикса *-аза* к названию субстрата, на который данный фермент действует. Например, уреаза катализирует гидролиз мочевины; ферменты, гидролизующие крахмал (амилон), были названы амилазами; гидролизующие жиры (липос) – липазами; ферменты, гидролизующие белки (протеины) – протеиназами.

2. Используются названия для групп ферментов, катализирующих сходные по механизму реакции. Их название строится по принципу – «субстрат-тип реакции». Например, ферменты, которые переносят остаток фосфорной кислоты от АТФ на другую молекулу, называются киназами (глюкокиназа катализирует перенос остатка фосфорной кислоты от АТФ на глюкозу).

3. Тривиальные названия не показывают механизма действия, но они широко используются. Например, пепсин, трипсин и др.

4. Международный Совет Биохимиков (IUB) предложил систематическое название и классификацию ферментов по типу и механизму катализируемой реакции.

Реакции и ферменты их катализирующие делят на 6 классов, каждый из которых состоит из 4–13 подклассов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтетазы).

4.1. Оксидоредуктазы. К классу оксидоредуктаз относятся ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов А и В: А восстан. + В окислен $\leftrightarrow$ А окислен. + В восстан. Систематические названия их составляют по форме «донор: акцептор –оксидоредуктаза». Например: ЛДГ – лактат: НАД⁺-оксидоредуктаза (тривиальное название лактатдегидрогеназы). Различают следующие основные оксидоредуктазы: оксидазы (аэробные дегидрогеназы), которые катализируют перенос протонов (электронов) на кислород (на атом кислорода – с образованием H₂O, на молекулу кислорода – с образованием H₂O₂); анаэробные дегидрогеназы, катализирующие перенос протонов (электронов) на промежуточный субстрат, но не на кислород; цитохромы, обеспечивающие перенос только электронов; включение кислорода в другой субстрат (включение атома кислорода – образование ОН-группы, монооксигеназы; включение молекулы кислорода – диоксигеназы); каталаза и пероксидаза, катализирующие реакции с участием перекиси водорода (перенос протонов и электронов на молекулу кислорода).

4.2. Трансферазы. К классу трансфераз относятся ферменты, катализирующие реакции межмолекулярного переноса групп Х (отличной от атома водорода) с субстрата А на субстрат В: А-Х + В $\leftrightarrow$ А + В-Х. Катализируют перенос одноуглеродных остатков, ацильных, гликозильных, альдегидных или кетонных, нуклеотидных остатков, азотистых групп, остатков фосфорной и серной кислот и др. Наименование этих ферментов составляется по форме: «донор: транспортируемая группа – трансфераза». Например, Ацетил-КоА + Холин $\leftrightarrow$ КоА + Ацетил-холин. Эту реакцию катализирует фермент ацетил-КоА: холин-О-ацетилтрансфераза (короче – холин-ацетилтрансфераза). Используется ряд специальных терминов для названия ферментов этого класса: киназы – перенос фосфатного (фосфорильного) остатка от нуклеозидтрифосфата (например, АТФ) на другую молекулу или наоборот с образованием нуклеозидтрифосфата; фосфомутазы – внутримолекулярный перенос фосфатного остатка.

4.3. Гидролазы катализируют гидролиз эфирных, сложно-эфирных, пептидных и гликозидных связей, кислородных ангидридов, связей С-С, С-галоген и Р-N, т.е. расщепление внутримолекулярных связей с участием воды. Наименование их составля-

ется по форме: «субстрат – гидролаза». Например, Ацетилхолин + $H_2O \leftrightarrow$ Холин + Уксусная кислота. Фермент называется ацетилхолин-ацилгидролаза. К этому классу относят эстеразы (гидролиз и синтез сложных эфиров); гликозидазы (разрыв гликозидных связей); фосфатазы и пептидгидролазы (разрыв фосфоангидридных и пептидных связей), пептидазы (гидролиз пептидных связей) и др.

4.4. Лиазы (синтазы) – это ферменты, отщепляющие группы от субстратов по негидролитическому (без участия воды) механизму, с образованием двойных связей. Ферменты действуют на связи C-C, C-O, C-N, C-S и C-галоген. Название ферментов: «субстрат-лиаза». Например, L-малат $\leftrightarrow$ фумарат + H_2O . Этот фермент называется L-малат-гидролиаза (тривиальное название – фумараза). К этому классу относят декарбоксилазы (карбоксилиазы, амилазы-лиазы и др.). В рекомендуемых названиях используются термины «альдолаза», «декарбоксилаза».

4.5. Изомеразы катализируют различные типы оптических, геометрических и позиционных изомеров. Название этих ферментов составляется с учетом типа реакции: «Субстрат-цис-транс-изомераза (например транс-ретиаль – 11 цис-транс изомераза катализирует превращения транс-ретиала в 11-цис-ретиаль при восприятии света); «альдегид-кетон-изомераза» (D-глицеральдегид-3-фосфаткетон-изомераза катализирует превращение D-глицеральдегид-3-фосфата в дигидроксиацетонфосфат); если изомеризация включает внутримолекулярный перенос группы, то фермент получает название мутазы. К классу изомераз относят так же рацемазы и эпимеразы.

4.6. Лигазы (синтетазы) катализируют соединения двух молекул, сопряженное с разрывом пирофосфатной связи АТФ или другого макроэргического соединения. Систематическое название этих ферментов составляют по форме «А: В лигазы», где через А и В обозначают исходные вещества. В этот класс включены ферменты, катализирующие реакции образования связей C-O, C-S, C-N, C-C. Например, образование C-N связи при синтезе глутамина катализирует фермент L-глутамат: аммиак лигаза, тривиальное название глутаминсинтетаза: $АТФ + L-глутамат + NH_4^+ \leftrightarrow АДФ + ортофосфат + L-глутамин$.

5. Каждый фермент имеет специальный шифр, состоящий из 4-х кодовых чисел, разделенных точками; первая цифра характеризует класс реакции, вторая – подкласс, третья – подподкласс, четвертая указывает порядковый номер фермента в его подподклассе. Например, лактатдегидрогеназа имеет шифр 1.1.1.27, т.е. фермент от-

носится к 1-му классу (оксидоредуктазы), к 1-му подклассу (оксидоредуктазы, действующие на СН-ОН-группировки в качестве доноров атомов водорода), к 1-му подподклассу (акцептором атомов водорода служит никотинамидадениндинуклеотид) и занимает 27-ю позицию в перечне ферментов упомянутого подкласса (табл. 5.1.).

Таблица 5.1. Примеры номенклатуры ферментов

Шифр	Рабочее название	Реакция	Систематическое название
1.1.1.1.	Алкогольдегидрогеназа	Алкоголь + НАД ⁺ ↔ альдегид (кетон) + НАДН + Н ⁺	Алкоголь: НАД ⁺ оксидоредуктаза
2.4.1.1.	Гликогенфосфорилаза	(1,4-α-D-глюкозил) _n + Н ₃ РO ₄ → (1,4-α-D-глюкозил) _{n-1} + α-D-глюкозо-1-фосфат	1,4-α-D-глюкан: ортофосфат гликозилтрансфераза
3.1.1.7.	Ацетилхолинэстераза	Ацетилхолин + Н ₂ O → холин + ацетат	Ацетилхолин-ацетилгидролаза
4.1.3.7.	Цитрат-синтаза	Цитрат + КоА → ацетил-КоА + Н ₂ O + оксалоацетат	Цитрат– оксалоацетат-лиаза
5.3.1.9.	Глюкозофосфат-изомераза	D-глюкозо-6-фосфат ↔ D-фруктозо-6-фосфат	D-Глюкозо-6-фосфат кетолизомераза
6.2.1.3.	Ацил-КоА-синтетаза	АТФ + кислота + КоА → АМФ + ацил-КоА + Н ₄ Р ₂ O ₇	Кислота: КоА лигаза (образующая АМФ)

Название класса указывает на тип химической реакции, катализируемой ферментами. Классы делятся на подклассы, а те, в свою очередь, на подподклассы. Подкласс уточняет действие фермента, т.к. указывает на природу химической группы субстрата, атакуемой ферментом. Подподкласс уточняет природу атакуемой связи субстрата или природу акцептора, который участвует в реакции. *Дополнительная информация*, если она необходима для уточнения, заключается в скобки. Например, фермент, катализирующий реакцию L-малат + НАД⁺ = пируват + СО₂ + НАДН + Н⁺ называется L-малат: НАД⁺ оксидоредуктаза (декарбоксилирующая).

В связи со значительным усложнением названий ферментов в новой номенклатуре и живучестью тривиальных названий ино-

гда допускается использование последних в публикациях.

5.4. Структурная организация ферментов

По строению ферменты делятся на *простые (однокомпонентные)* и *сложные (двухкомпонентные) белки*. Простые белки-ферменты состоят из аминокислот. Сложные белки-ферменты состоят из белковой части – *апофермента* и небелковой части – *кофактора*. Кофактор, прочно связанный с апоферментом, называется *простетической группой*. Комплекс апофермента и прочно связанного кофактора называется *холоферментом*. Кофактор, который связан с апоферментом нековалентными связями и легко отделяется при диализе, называется *коферментом*. Кофермент присоединяется во время реакции к молекуле фермента подобно субстрату, химически изменяется и затем снова освобождается.

Роль коферментов выполняют 2 группы веществ: витамины и их производные и вещества невитаминной природы. Ко второй группе веществ относятся нуклеотиды (УДФ-глюкоза), фосфаты моносахаридов (2,3-бисфосфоглицерат), металлопорфирины (гем, хлорофилл) и пептиды (глутатион). Кофактором могут быть неорганические ионы, например, Mg^{2+} . Роль металлов: 1) обеспечивают образование фермент-субстратного комплекса; 2) металлы с переменной валентностью участвуют в транспорте электронов; 3) способствуют формированию нативной структуры фермента; 4) облегчают образование связи между апоферментом и коферментом.

Примеры кофакторов ферментов представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2. Кофакторы некоторых ферментов

Кофактор	Фермент
Тиаминпирофосфат	Пируватдегидрогеназа
Флавинаденинмононуклеотид (ФМН)	Моноаминоксидаза
Никотинамидадениндинуклеотид (НАД)	Лактатдегидрогеназа
Пиридоксальфосфат	Гликогенфосфорилаза
Кофермент А (КоА)	Ацетил-КоА-карбоксилаза
Биотин (витамин Н)	Пируваткарбоксилаза
5'-дезоксиаденозилкобаламин	Метилмалонилмутаза
Тетрагидрофолиевая кислота (витамин В ₉)	Тимидилатсинтаза
Zn^{2+}	Карбоксипептидаза
Mg^{2+}	Гексокиназа
Ni^{2+}	Уреаза
Se	Глутатионпероксидаза
Mn^{2+}	Супероксиддисмутаза
K^{+}	Пропионил-КоА-карбоксилаза

Кофакторы ферментов должны поступать с пищей, а апофермент синтезируется в организме.

5.5. Функциональная организация ферментов

Вещества, вступающие в ферментативную реакцию, называются *субстратами*. В результате ферментативных превращений получаются *продукты* реакции.

В трехмерной структуре фермента выделяют несколько участков, несущих определенную функцию. В молекуле фермента выделяют *активный* центр, т.е. участок с которым связывается субстрат и где протекает каталитическая реакция. Характеристика активного центра:

1. Активный центр фермента формируется при образовании *третичной структуры* белка за счет пространственного сближения радикалов аминокислот (чаще сер, гис, тре, цис, глу, асп, арг). Потеря конформации фермента в результате денатурации приводит к разрушению активного центра.

2. Активный центр образуется *боковыми радикалами* аминокислот, которые могут располагаться на значительном расстоянии в первичной структуре. Например, в активный центр химотрипсина входят гис-57, асп-102 и сер-195, а всего фермент образуют 246 аминокислотных остатков. Лизоцим осуществляет разрушение клеточных стенок некоторых бактерий благодаря активному центру, образованному 35, 52, 62, 63, 101 и 108 остатками аминокислот полипептидной цепи, которая включает 129 аминокислот.

3. Активный центр представляет собой полость, щель или карман, который занимает малую область фермента. Большинство ферментов состоят из более, чем 100 аминокислотных остатков, имеют молекулярную массу более 10 кДа и диаметр более 2,5 нм. На область активного центра приходится всего лишь 25–100-часть от объема фермента.

4. Активный центр не является жесткой структурой. Его конформация изменяется при связывании субстрата. При связывании субстрата со структурами активного центра вода обычно не участвует, за исключением случаев, когда она является реагентом.

5. У сложных ферментов в состав активного центра входят кофакторы.

6. В активном центре выделяют *контактный (якорный)* участок, связывающий субстрат и *каталитический* участок, где происходит превращение субстрата.

7. Субстрат связывается с активным центром фермента *не ковалентными* связями. Фермент-субстратные комплексы характеризуются константами равновесия от 10^{-2} до 10^{-8} молей, что со-

ответствует свободной энергии взаимодействия всего от -3 до -12 ккал/моль (от -13 до 50 кДж/моль). Напомним, что для ковалентных связей свободная энергия связи составляет от -50 до -110 ккал/моль (от -210 до -460 кДж/моль).

Единицы энергии: калория (кал) эквивалентна количеству тепла для подъема температуры 1 г воды от 14,5 до 15,5 °С. Килокалория (ккал) равна 1000 кал. Джоуль (Дж) равен работе, совершаемой силой 1 Н при перемещении точки ее приложения на 1 м в направлении действия силы. Килоджоуль (кДж) равен 1000 Дж. 1 ккал = 4,184 кДж.

8. Взаимодействие между ферментом и активным центром является необходимым для формирования переходного состояния. Взаимодействие субстратов и активного центра ферментов требует их сближения (*для реализации слабых взаимодействий*) и наличия комплементарных функциональных групп. Субстраты связываются с активным центром с образованием фермент-субстратного комплекса. Продукт высвобождается и фермент снова используется для реакции.

Кроме активного центра у ряда ферментов имеется *регуляторный*, или *аллостерический* (от греч. allos – иной, чужой) центр, который в молекуле фермента, как правило, пространственно отделен от активного центра. К аллостерическому центру присоединяются вещества – *эффекторы*, которые делятся на *активаторы* и *ингибиторы*. Присоединение эффектора к аллостерическому центру приводит к изменению третичной и/или четвертичной структуры молекулы фермента и соответственно конфигурации активного центра, вызывая снижение или повышение ферментативной активности. Ферменты, имеющие аллостерический центр, называются *аллостерическими*.

5.6. Механизм действия ферментов

Изменение свободной реакции при катализируемой и некатализируемой реакции представлено на рисунке 5.1.

Энергия активации – это дополнительное количество энергии, которое необходимо дать молекуле для преодоления энергетического барьера (или для достижения переходного состояния), т.е. это энергия, необходимая для перевода всех молекул моля вещества в активированное состояние. Ферменты ускоряют реакцию путем *снижения энергии активации* за счет увеличения числа активизированных молекул, которые становятся реакционно-способными на более низком энергетическом уровне.

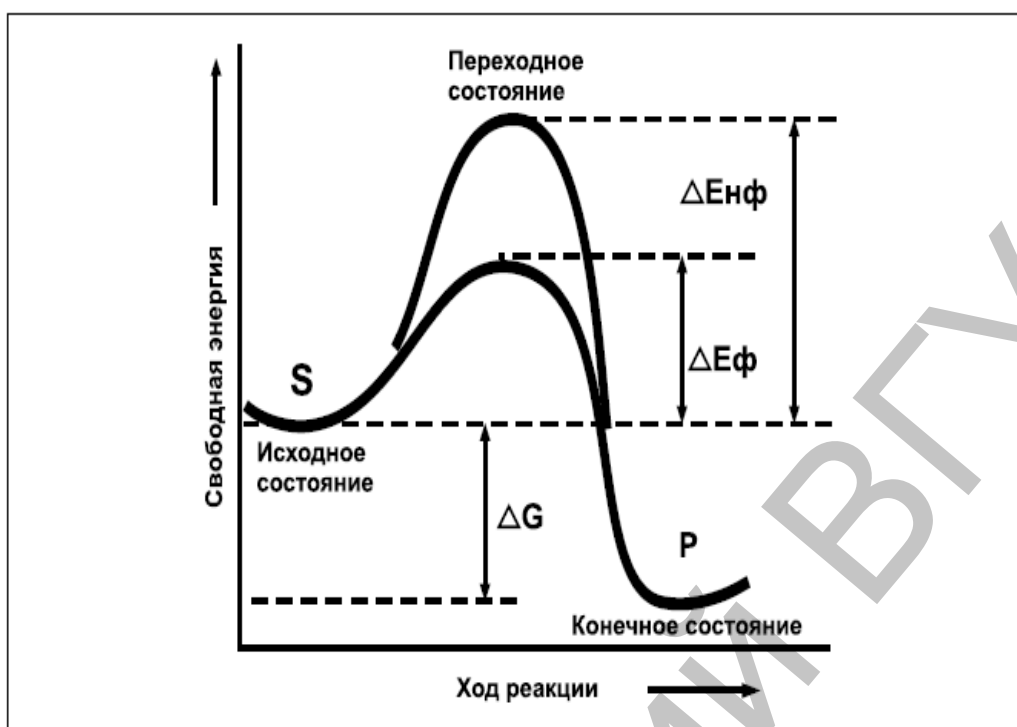
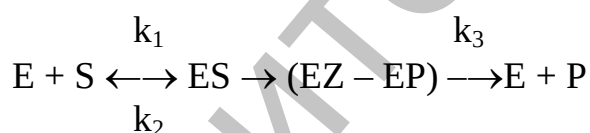


Рис. 5.1. Изменения свободной энергии катализируемой и некатализируемой реакции. S – исходный субстрат; P – продукт; $\Delta E_{\text{нф}}$ – энергия активации неферментативной реакции; $\Delta E_{\text{ф}}$ – энергия активации ферментативной реакции; ΔG – стандартное изменение свободной энергии.

Ферментативный катализ идет в 3 стадии:



I стадия – присоединение молекулы субстрата к молекуле фермента и образование фермент-субстратного комплекса:
 $E + S \leftrightarrow ES$

Изменение энергии активации на этой стадии незначительно. В образовании фермент-субстратного комплекса участвуют водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия. Для этой стадии важно *сближение* и *правильная ориентация* фермента и субстрата. Сближение и необходимая ориентация реагентов значительно повышают вероятность образования продуктивного фермент-субстратного комплекса. Кроме того, связывание субстрата в активном центре приводит к удалению гидратной оболочки субстрата. В результате удаления молекул воды в активном центре фермента во время катализа создаются совершенно другие условия, чем в растворе. В сумме эти факторы дадут ускорение реакции в 10^4 раз.

Существует 2 теории объясняющие взаимодействие фермента и субстрата.

1. В соответствии с теорией Э. Фишера (1890) фермент и субстрат подходят друг другу как *ключ к замку*. Это означает, что структура фермента и субстрата строго комплементарны.

2. Согласно гипотезе Д. Кошланда (1958) «*индуцированного*» или «*вынужденного*» соответствия фермент изменяет конформацию активного центра при присоединении субстрата. Кроме того, в процессе присоединения происходит перестройка молекул субстрата.

Доказательства существования фермент-субстратного комплекса:

1. При одинаковой концентрации фермента скорость реакции повышается с повышением концентрации субстрата по гиперболической зависимости, а не катализируемая ферментом реакция не дает такого эффекта насыщения. Наличие эффекта насыщения свидетельствует в пользу образования дискретного ES-комплекса; если все каталитические центры фермента будут заняты скорость реакции не будет повышаться, а останется постоянной.

2. При современных вариантах рентгеновских кристаллографических исследований доказано наличие фермент-субстратных комплексов при действии многих ферментов.

3. Методы спектроскопического анализа доказали наличие фермент-субстратных комплексов по изменению спектров поглощения или флуоресценции в процессе катализируемой реакции.

II стадия – преобразование фермент-субстратного комплекса в один или несколько последовательных (переходных) комплексов с образованием на поверхности фермента конечного продукта реакции:



На этой стадии происходит образование *переходных состояний*, продолжительность жизни которых составляет 10^{-14} - 10^{-13} с. При этом важным фактором является стабилизация переходного состояния вследствие взаимодействия между функциональными группами субстрата и фермента. Переходное состояние в случае ферментативной реакции требует меньшей энергии активации.

Механизмы действия ферментов на этой стадии объясняются *эффектом деформации субстрата, кислотно-основным и ковалентным катализом*. Эффект деформации субстрата (или так называемая теория «дыбы») объясняет действие гидролаз, лиаз и трансфераз. После связывания с активным центром молекула субстрата как бы растягивается на активном центре фермента. Чем больше длина межатомной связи в субстрате, тем меньше энергия ее разрыва.

Многие ферменты во время катализа переносят специфические группировки от субстрата или на субстрат. Особенно часто

осуществляется перенос протонов. Этот ферментативный *кисотно-основной катализ* более эффективен, чем обмен протонов с кислотами и основаниями в растворе. При закреплении субстрата в активном центре на его молекулу влияют электрофильные и нуклеофильные группы каталитического участка, что вызывает перераспределение электронной плотности на участках субстрата, атакуемого кислотно-основными группами.

Итак, кислотно-основной катализ заключается в том, что молекулы, отличные от воды, могут играть роль доноров или акцепторов протонов в процессе катализа. Так в активном центре химотрипсина остаток гистидина повышает нуклеофильную мощность остатка серина (рисунок 5.2).

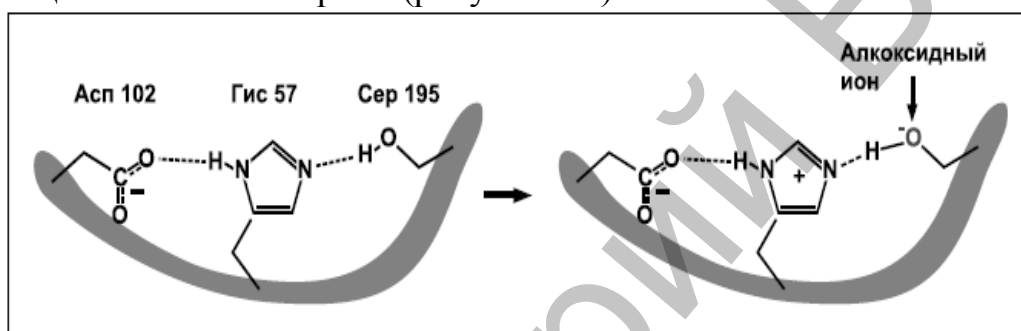


Рис. 5.2. Каталитическая триада. В активном центре химотрипсина – 3 аминокислотных остатка (асп 102, Гис 57 и сер 195) (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Разрыв пептидной связи белка химотрипсином начинается с взаимодействия остатка серина-195 активного центра фермента с карбонильной группой пептидной связи. Атакующая гидроксильная группа серина активируется через взаимодействие с имидазольной группой гистидина-57, который связан с остатком аспартата-102. Такое сближенное в пространстве взаимодействие остатков сер-гис-асп называется *каталитической триадой*, служащей для обеспечения нуклеофильной атаки на пептидную связь. Аналогично протекает каталитическое действие трипсина и эластазы.

Часто химические группировки ковалентно присоединяются к остаткам фермента. Это явление называют *ковалентным катализом*. Ковалентные фермент-субстратные комплексы очень неустойчивы и легко распадаются. Ковалентный катализ подразумевает наличие реакционных групп в активном центре, чаще всего нуклеофильного типа, которые вступают во временные ковалентные связи с субстратом в процессе катализа (так реализуется протеолитическое действие химотрипсина).

Роль ионов металлов заключается в том, что они могут 1) быть электрофильными участниками превращений; 2) участво-

вать в стабилизация отрицательного заряда в промежуточном метаболите; 3) обеспечивать связывание субстрата и др. Например, карбоангидраза катализирует образование угольной кислоты из H_2O и CO_2 . Для осуществления этой быстрой реакции необходимы *ионы цинка*: каждый ион цинка связывает молекулу воды и способствует ее депротонированию с образованием гидроксидного иона при нейтральном pH. Этот гидроксидный ион атакует CO_2 с образованием бикарбонатного иона HCO_3^- (рис. 5.3).

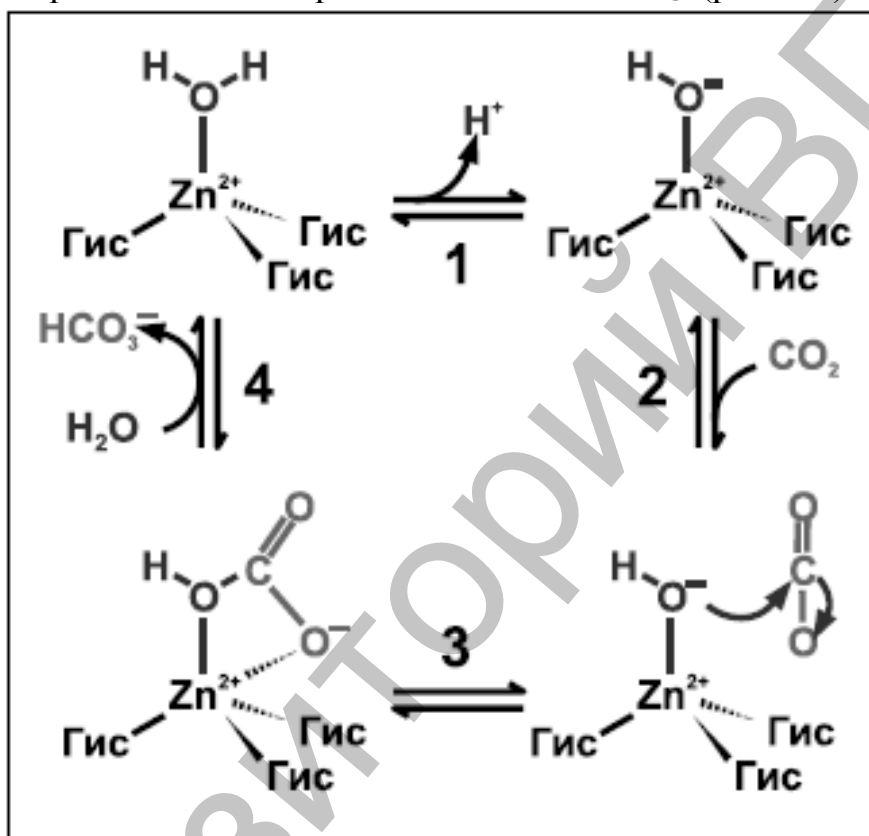


Рис. 5.3. Роль цинка в функционировании карбоангидразы (ион цинка в активном центре фермента связан с имидазольными кольцами остатков гистидина в 94, 96 и 119 положениях) (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Высокий уровень субстратной специфичности ферментативных реакций играет ключевую роль в функционировании рестриктаз, т.е. ферментов, катализирующих точный разрыв полинуклеотидных цепей ДНК. Для образования фермент-субстратного комплекса между рестриктазой и ДНК необходимы *ионы магния*. Ионы магния связывают и активируют молекулы воды, которые и атакуют фосфодиэфирные связи между нуклеотидами. Местом каталитического разрыва фосфодиэфирных связей рестриктазами являются области палиндромов в структуре ДНК (рис. 5.4). В этих участках двуспиральной молекулы ДНК чтение нуклеотидов на цепях ДНК от точки (оси) симметрии одинаково в обоих направлениях (как в слове «шалаш»). Метилирование азотистых оснований препятствует действию рестриктаз.

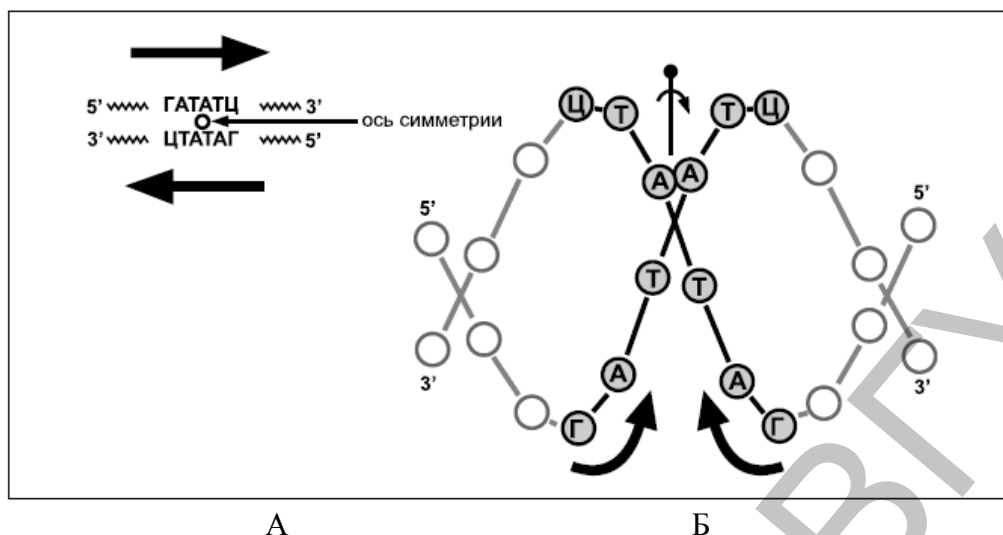


Рис. 5.4. Место разрыва полинуклеотидных цепей ДНК рестриктазой *EcoRV*.
 А – Последовательности оснований цепей ДНК, имеющих ось вращения (точка между цепями), являющиеся мишенью для действия фермента.
 Б – инвертированные последовательности цепей ДНК (палиндромы) являются местом атаки рестриктаз (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Правильная ориентация двух разных субстратов путем связывания их с соответствующими функциональными группами активного центра существенно повышает скорость ферментативной реакции.

Для функционирования других ферментов, например, нуклеозидмонофосфаткиназ ионы металлов служат для образования фермент-субстратных комплексов, но сама реакция зависит от конформационных изменений ферментов. Нуклеозидмонофосфаткиназы катализируют реакцию переноса конечной фосфорильной группы от нуклеозидтрифосфатов (чаще от АТФ) на фосфорильную группу нуклеозидмонофосфата. Этот перенос происходит без гидролитического отделения конечного фосфорильного остатка нуклеозидтрифосфата. У этих ферментов имеется структурная особенность – так называемая *P-петля*, которая во время катализа располагается над фосфодиэфирной связью нуклеозидтрифосфата, приближая ее к фосфорильному остатку нуклеозидмонофосфата. Такое сближение субстратов реакции позволяет активному центру фермента перенести фосфорильную группу без гидролитического расщепления нуклеозидтрифосфата.

Вторая стадия лимитирует скорость всего катализа. Скорость катализируемого процесса очень чувствительна к величине энергии активации. Ее изменение, соответствующее образованию всего одной водородной связи, может ускорить реакцию в миллион раз.

На этой стадии возможно разделение реакции на 2–3 этапа, каждый из которых требует меньшей энергии активации, чем ес-

ли бы процесс осуществлялся в один этап. При такой разбивке суммарная энергия активации будет такой же как и при одно-этапном процессе, но энергетический барьер будет уменьшен. В результате всех механизмов второй стадии катализа скорость реакции может увеличиться до 10^{10} раз.

III стадия – отделение продукта реакции от фермента: $EP \rightarrow E + P$.

Стадия непродолжительна и определяется скоростью диффузии продуктов реакции в окружающую среду. *Фермент освобождается без изменений*. Суммарное повышение скорости катализируемой реакции может достигать 10^{14} – 10^{16} раз.

5.7. Кинетика ферментативных реакций

Основная функция ферментов заключается в повышении скорости химических реакций в соответствии с потребностями живого организма. Для понимания функционирования ферментов изучают кинетику их действия.

В 1913 г. Леонор Михаэлис и Мауд Ментен предложили простую модель расчета кинетических характеристик катализируемых ферментами реакций. По их представлениям для ферментативного катализа необходимо введение понятия фермент-субстратного комплекса (ES). Скорость ферментативных реакций зависит от концентрации фермента, субстрата, температуры, pH, наличия активаторов и ингибиторов.

5.7.1. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента. В условиях избытка субстрата скорость реакции прямо пропорциональна концентрации фермента (рис. 5.5).

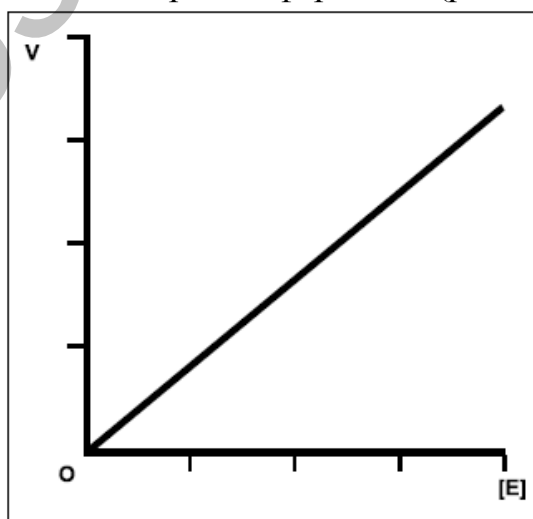


Рис. 5.5. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

5.7.2. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата представлена на рисунке 5.6.

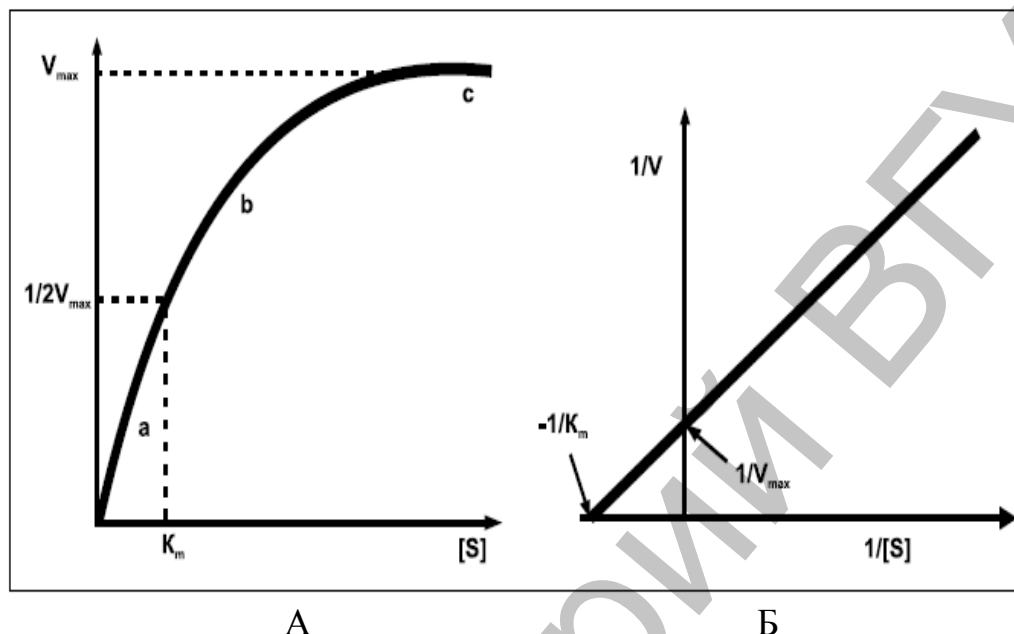
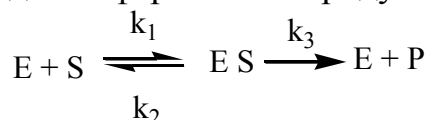


Рис. 5.6. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата. А – в координатах V (скорость реакции) и $[S]$ (концентрация субстрата) согласно уравнения Михаэлиса-Ментен; Б – в координатах обратных величин ($1/V$ и $1/[S]$) согласно уравнения Лайнуивера-Бэрка.

На гиперболической кривой графика А выделяют три участка. При низкой концентрации субстрата (участок *a*) скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата и подчиняется кинетике первого порядка. На участке *b* (реакция смешанного порядка) эта зависимость нарушается. На участке *c* скорость реакции максимальна и не зависит от концентрации субстрата.

Ферментативная реакция характеризуется формированием фермент-субстратного комплекса $[ES]$, который распадается с образованием свободного фермента и продукта реакции.



В этом уравнении k_1 – константа скорости образования фермент-субстратного комплекса, k_2 – константа диссоциации фермент-субстратного комплекса с образованием свободного фермента и субстрата и k_3 – константа скорости диссоциации фермент-субстратного комплекса до свободного фермента и продукта реакции.

Л. Михаэлис и М. Ментен предложили уравнение, которое описывает зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_s + [S]} \quad \text{или} \quad v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_s}{[S]}}$$

v – скорость реакции при данной концентрации субстрата; K_s – константа диссоциации фермент-субстратного комплекса; $V_{\max}$ – максимальная скорость реакции.

$K_s = k_2/k_1$ т.е. отношение константы обратной реакции к константе прямой реакции.

Однако данное уравнение описывает только участок *a* на гиперболической кривой графика A и не учитывает влияния на скорость ферментативного процесса продуктов реакции.

Математическая обработка кривой превращения субстрата в продукт реакции дает значение константы Михаэлиса (K_m):

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}.$$

Холдейн и Бриггс заменили в уравнении константу диссоциации на константу Михаэлиса.

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{или} \quad v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$$

Константа Михаэлиса численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной. Константа Михаэлиса характеризует сродство фермента и субстрата. Высокое сродство фермента к субстрату характеризуется низкой величиной K_m и наоборот. Этот подход можно использовать при анализе любых взаимодействий между молекулами и лигандами, характеризующихся гиперболической зависимостью (эффекты насыщения мест связывания).

Использование графика, предложенного Михаэлисом и Ментен, не позволяет точно определить величины $V_{\max}$ и K_m . Для более удобного графического представления Г.Лайнуивер и Д.Бэрк преобразовали уравнение Холдейна и Бриггса по методу двойных обратных величин.

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}.$$

$V_{\max}$ зависит от константы k_3 ($k_{\text{кат}}$) и общей концентрации фермента. Кинетическая константа $k_{\text{кат}}$, называемая *числом обо-*

*рот*ов, отражает количество молекул субстрата, превращенных в продукт за единицу времени простым активным центром фермента, полностью насыщенным субстратом. Число оборотов большинства ферментов от 1 до 10^4 за секунду. Величина отношения $k_{кат}/K_m$ используется для оценки эффективности фермента.

Аллостерические ферменты не подчиняются кинетике Михаэлиса-Ментен. У таких ферментов зависимость начальной скорости от концентрации субстрата носит S-образную (сигмоидную) форму. Для аллостерических ферментов полунасыщающую концентрацию субстрата обозначают не K_m , а $S_{0,5}$.

Физиологические концентрации субстратов обычно близки к величинам K_m и $S_{0,5}$. Небольшие изменения величин полунасыщающих концентраций субстратов сопровождаются большими изменениями в мощности катализа.

5.7.3. Зависимость скорости реакции от pH среды. Графическое изображение зависимости скорости реакции от величины pH имеет колоколообразную форму. Значение pH, при котором фермент проявляет максимальную активность, называется *оптимумом pH* (рис. 5.7, А). Для большинства ферментов оптимум pH равен 6-8. Исключение составляет пепсин, оптимум которого равен 1,5-2,0. При изменении pH в ту или другую сторону от оптимума скорость реакции уменьшается, вследствие ионизации функциональных групп фермента и субстрата, что нарушает образование фермент-субстратного комплекса.

5.7.4. Зависимость скорости реакции от температуры.

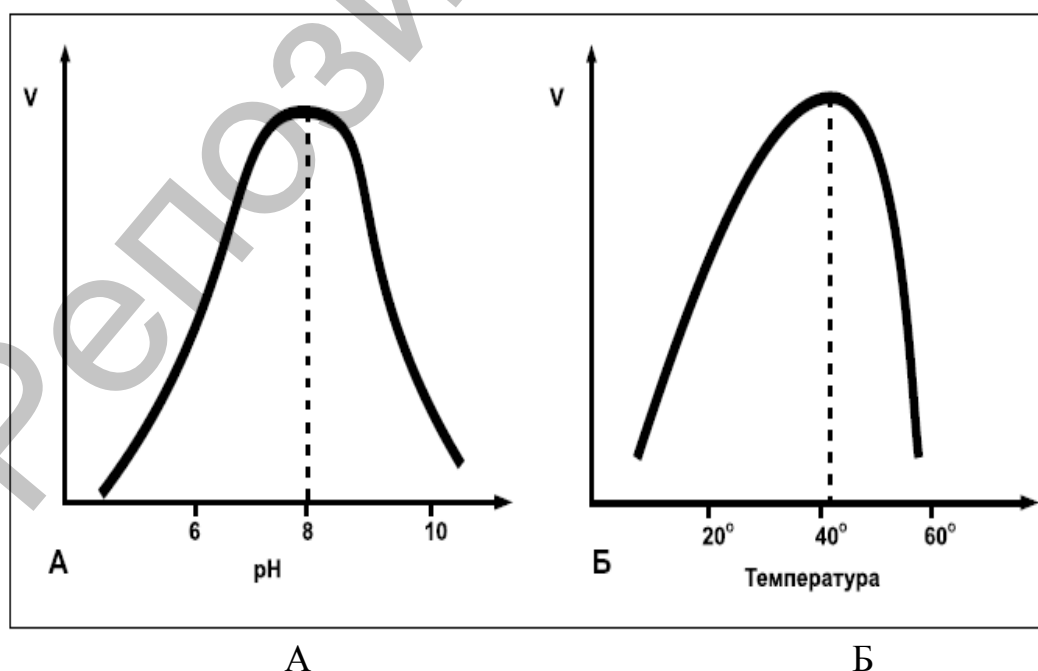


Рис. 5.7. Зависимость скорости реакции от pH (А) и температуры (Б).

Скорость химической реакции повышается в 2 раза при повышении температуры на 10°C. Однако вследствие белковой природы фермента при дальнейшем повышении температуры наступает денатурация фермента. Температура, при которой скорость реакции максимальна, называется *температурным оптимумом* (рис. 5.7, Б). Для большинства ферментов оптимум температуры составляет 37-40°C. Некоторые ферменты термостабильны. Например, миокиназа мышц, которая выдерживает нагревание до 100°C.

Ключевое значение для широкого распространения метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в медицине и биологии имеет использование термостабильного фермента ДНК-полимеразы, полученной из термофильных бактерий.

5.8. Управляемое изменение свойств ферментов

Рассмотрим некоторые подходы к управляемой модификации свойств белков-ферментов:

1. Повышение термостабильности белковой молекулы за счет введения дополнительных дисульфидных связей делает ее более технологичной (длительность использования, устойчивость к действию органических растворителей, экстремальных значений pH и др.). Рассмотрим эффективность получения термостабильной мутантной ксиланазы *Bacillus circulans* – фермента, который можно использовать при производстве бумаги. Одним из этапов этого процесса является удаление гемицеллюлозы из пульпы с целью ее отбеливания, при этом образуются большие количества токсических отходов. Обработка древесной массы ксиланазой позволяет использовать меньше отбеливающих химикатов. К сожалению, перед добавлением фермента пульпу обрабатывают горячей щелочью. Поэтому ксиланаза должна оставаться активной при относительно высоких температурах. Для модификации белка-фермента был вначале использован метод компьютерного моделирования пространственной структуры ксиланазы. В результате были получены восемь производных ксиланазы. Все они обладали более высокой термостабильностью, чем нативный фермент; три сохраняли активность при 60°C. Одно из производных ксиланазы, содержащее дисульфидную связь между концевыми аминокислотами, оказалось в два раза более активным и сохраняло свыше 85% активности после 120-минутного прогревания при 60°C.

2. Замена аспарагина на другие аминокислоты. Известно, что при высоких температурах остатки аспарагина и глутамина могут дезамидироваться, в результате чего конформация полипептидной цепи изменяется. Это является причиной изменения функциональной активности белка. Рассмотрим роль этих остатков на примере триозофосфатизомеразы *Saccharomyces cerevisiae*. Этот фермент состоит из двух идентичных субъединиц, каждая из которых содержит два остатка аспарагина. При помощи олигонуклеотид-направленного мутагенеза были заменены остатки аспарагина в положениях 14 и 78. Замена одного из них на остаток треонина или изолейцина приводила к повышению термостабильности фермента, на аспарагиновую кислоту – к понижению. Фермент, получающийся при замене обоих остатков, оказался

нестабильным при нормальной температуре. Кроме того, была выявлена положительная корреляционная зависимость между термостабильностью полученных форм фермента и его устойчивостью к протеолизу. Следовательно, одним из путей к повышению термостабильности ферментов, используемых в промышленных технологиях, является замена некоторых остатков аспарагина на другие остатки аминокислот.

3. Уменьшение числа свободных сульфгидрильных групп. При синтезе в клетках *E. coli* человеческого β -интерферона установлено, что белковый продукт обладал в 10 раз более низкой противовирусной активностью из-за возможности образования димеров. Оказалось, что остатки цистеина в 17 положении молекулы участвуют в образовании дисульфидных связей, что ведет к созданию олигомерных форм с низкой противовирусной активностью. После замены цистеина в 17 положении на серин был получен рекомбинантный интерферон сер-17-интерферон- β , не отличимый по активности от естественного. Этот интерферон был более стабильным при хранении, чем природный. Таким образом, с помощью направленного мутагенеза можно повышать стабильность ферментов.

4. Повышение ферментативной активности возможно осуществлять также с помощью направленного мутагенеза. Для этого необходимо иметь представление о третичной структуре области активного центра фермента. С помощью компьютерного моделирования подбирается вариант замен аминокислотных остатков, который может дать повышение активности фермента. Затем вносятся изменения в клонированный ген и получают фермент – продукт его функционирования с заданным повышением активности. Реальные исследования были проведены с использованием тирозил-тРНК-синтетазой.

5. Изменение потребности ферментов в кофакторах-металлах. Промышленное использование металлозависимых ферментов ограничено применением различных, необходимых по технологии, хелатирующих агентов (агентов, связывающих металлы). Так, сериновые протеиназы субтилизины требуют присутствия кальция и служат как биodeградируемые детергенты. Однако, используемые в технологическом процессе хелатирующие вещества быстро инактивируют субтилизины. Для решения этой проблемы методом олигонуклеотид-направленного мутагенеза был создан мутантный ген, в котором отсутствовал участок, кодирующий кальцийсвязывающий домен белка-субтилизина. Мутантный субтилизин обладал той же ферментативной активностью и не боялся хелатирующих агентов, т.е. оказался более устойчивым, чем естественный фермент.

6. Изменение специфичности фермента с помощью олигонуклеотид-направленного мутагенеза. Это направление генной инженерии нашло наиболее эффективное применение в создании ферментов, обладающих специфичной рестриктазной активностью.

7. Повышение стабильности и специфичности фермента. Фермент активатор тканевого плазминогена (tPA) используется в клинике для растворения тромбов. Однако он быстро выводится из кровеносного русла. Для клиники необходимо создать фермент, обладающий тремя эффектами: 1) длительным пребыванием в кровеносном русле; 2) высоким сродством к фибрину в тромбах; 3) не вызывать кровотечения. Белок с такими свойствами был создан путем внесения специфических мутаций в ген естественного tPA. При экспрессии этого мутантного гена был получен фермент, сохраняющийся в крови в 10 раз дольше, с повышенным сродством к фибрину и

сохраненной фибринолитической активностью.

Таким образом, *технологии генной инженерии позволяют придавать новые свойства существующим белкам и создавать новые белки-ферменты с уникальными свойствами*. Многие из таких исследований еще не вышли из стадии экспериментальных разработок, дороги и требуют специального оборудования и высоко профессионального персонала. Однако, бурное развитие молекулярной биотехнологии делает эти подходы реальными для воплощения в практическую деятельность промышленности, медицины, ветеринарии и фармации в ближайшие годы.

Глава 6. РЕГУЛЯЦИЯ И ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Главным в регуляции жизнедеятельности клетки является ее способность адаптировать активность ферментов к изменяющимся условиям внутренней и внешней среды. Скорость биохимических реакций внутри организма регулируется поступлением питательных веществ и потребностями в метаболитах для деления, роста и функционирования клеток.

Активность ферментов в клетке может регулироваться основными двумя путями: 1) присоединением эффекторных молекул, которые повышают или понижают активность ферментов и 2) путем ковалентной модификации ферментов (фосфорилирование, ацетилирование, метилирование). Регуляция активности ферментов путем связывания эффекторных молекул является универсальным и основным механизмом контроля метаболической активности клеток. Эффекторными молекулами являются низкомолекулярные органические молекулы, ионы металлов и белки. Связываясь со специфическими ферментами эффекторы активируют или ингибируют ферментативную активность.

6.1. Активаторы

Активаторы ферментов – это вещества 1) формирующие активный центр фермента (Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+}); 2) облегчающие образование фермент-субстратного комплекса (Mg^{2+}); 3) восстанавливающие SH-группы (глутатион, цистеин, меркаптоэтанол); 4) стабилизирующие нативную структуру белка-фермента. Активируют ферментативные реакции обычно катионы (в таблице Менделеева с 19 по 30). Анионы менее активны, хотя ионы хлора и анионы некоторых других галогенов могут активировать пепсин, амилазу, аденилатциклазу. Активаторами могут быть белки: апопротеин А-I (лецитин-

холестеролацилтрансфераза – ЛХАТ), апопротеин С-II (липопротеинлипаза – ЛПЛ), вторичные внутриклеточные посредники (табл. 6.1).

Таблица 6.1. Активаторы сериновых (треониновых) протеинкиназ (D. Fell, 1997)

Вторичный мессенджер	Фермент
Циклические нуклеотиды	цАМФ-зависимая протеинкиназа цГМФ-зависимая протеинкиназа
Ионы кальция и кальмодулин	Ca ²⁺ -кальмодулин-протеинкиназа Киназа фосфорилазы или киназа 2 гликогенсинтазы
АМФ	АМФ-активируемая киназа
Диацилглицерол	Протеинкиназа С

6.2. Ингибиторы

Ингибиторы ферментов – это соединения, которые взаимодействуя с ферментом, препятствуют образованию нормального фермент-субстратного комплекса, уменьшая тем самым скорость реакции или прекращая ее.

Ингибиторы делят на две группы – *неспецифические* и *специфические*. Неспецифические ингибиторы вызывают денатурацию белка-фермента (соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи и др.) и их действие не связано с механизмами ферментативного катализа. Действие специфических ингибиторов связано с механизмами ферментативного катализа. Специфические ингибиторы делятся на 2 группы: *необратимые* и *обратимые*.

При необратимом ингибировании происходит непрерывная модификация молекул фермента, в результате чего фермент частично или полностью теряет свою активность. Такое действие оказывают вещества, которые прочно и необратимо связывают функциональные группы активного центра или препятствуют изменению валентности металла активного центра. К ним относятся:

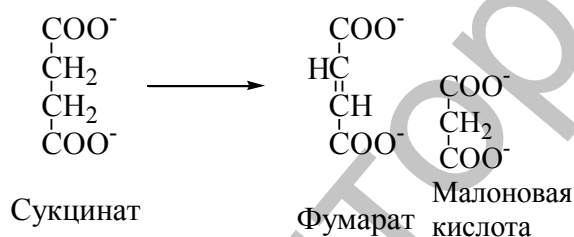
1) *ингибиторы металлосодержащих ферментов* (HCN, RCN, HF, CO и др.). Эти соединения связываются с металлами с переменной валентностью (Cu или Fe), в результате чего нарушается процесс переноса электронов по дыхательной цепи ферментов. Поэтому эти ингибиторы называются дыхательными ядами.

2) *ингибиторы ферментов, содержащих SH-группы* (монойодацетат, дийодацетат, йодацетамид, соединения мышьяка и ртути).

3) ингибиторы ферментов, содержащих ОН-группу в активном центре (фосфоорганические соединения, инсектициды). Эти ингибиторы тормозят, прежде всего, активность холинэстеразы – фермента, играющего первостепенную роль в деятельности нервной системы.

Обратимое ингибирование поддается количественному изучению на основе уравнения Михаэлиса-Ментен. Обратимые ингибиторы делятся на *конкурентные* и *неконкурентные*.

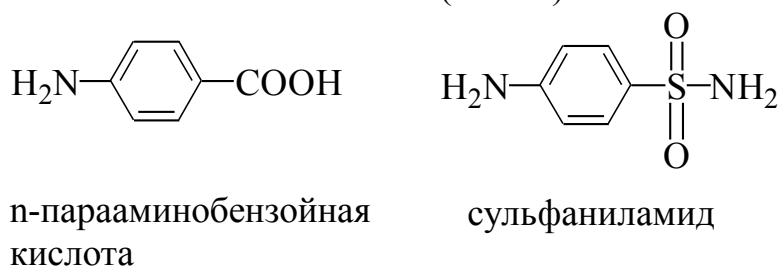
Конкурентные ингибиторы – это молекулы, настолько похожие на молекулы субстратов реакций, что ферменты «не могут их различить». В результате связывания конкурентного ингибитора с активным центром фермента уменьшается количество истинных фермент-субстратных комплексов и падает скорость катализируемой реакции. Классическим примером конкурентного ингибирования является торможение сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой. Сукцинатдегидрогеназа катализирует окисление янтарной кислоты (сукцината) путем дегидрирования в фумаровую кислоту.



Если в среду добавить малоновую кислоту (ингибитор), то в результате структурного сходства с истинным субстратом – сукцинатом он будет реагировать с активным центром и образовывать фермент-ингибиторный комплекс, который не может подвергаться дальнейшим превращениям. Связывание конкурентного ингибитора не приводит к повреждению структуры активного центра фермента. Действие такого ингибитора устраняется путем *увеличения концентрации субстрата*. Таким образом, конкурентный ингибитор дает эффект «разбавления» субстрата. Поэтому при конкурентном ингибировании *увеличивается значение K_m (концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной), но величина V_{max} остается постоянной* (рис. 6.1).

Метод конкурентного ингибирования нашел применение в медицинской практике, в виде использования *антиметаболитов*. Многие лекарственные вещества ингибируют ферменты человека и животных по конкурентному типу. Примером являются суль-

фаниламидные препараты, которые имеют структурное сходство с парааминобензойной кислотой (ПАБК).



Бактериальная клетка использует ПАБК для синтеза фолиевой кислоты, необходимой для образования нуклеиновых кислот. Благодаря структурному сходству сульфаниламид ингибирует ферменты метаболизма парааминобензойной кислоты, что приводит к снижению синтеза фолиевой кислоты, нуклеиновых кислот и гибели микроорганизма.

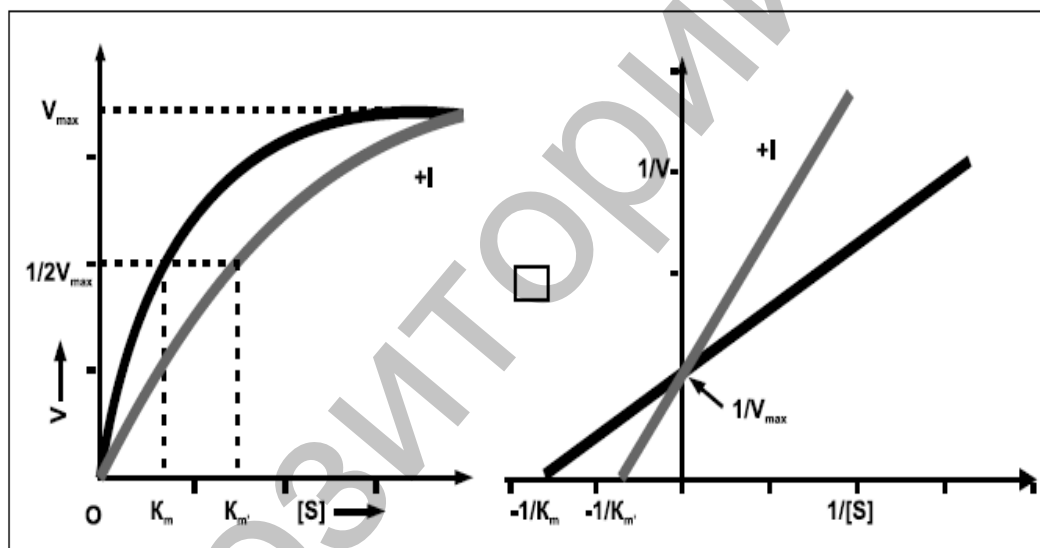


Рис. 6.1. Влияние конкурентных ингибиторов на скорость ферментативной реакции.

Неконкурентные ингибиторы – вещества, не имеющие структурного сходства с субстратами. Неконкурентные ингибиторы связываются не с активным центром, а в другом месте молекулы фермента, в том числе и в области аллостерического центра. Обратимые неконкурентные ингибиторы *понижают* V_{max} за счет уменьшения количества действующих молекул фермента. Ингибиторы этого типа не мешают связыванию субстрата с активным центром сохранившихся молекул фермента, в результате величина K_m *не меняется*. Механизм ингибирования состоит в снижении скорости реакции за счет уменьшения количества нормальных фермент-субстратных комплексов. Таким образом, при

неконкурентном ингибировании: V_{max} уменьшается, а K_m не изменяется (рис. 6.2).

Чаще встречается *смешанный тип ингибирования*, когда снижение V_{max} сочетается с одновременным увеличением K_m . Это означает: при соединении ингибитора с ферментом сохраняется возможность последующего присоединения субстрата с образованием тройного комплекса, что обеспечивает медленное превращению в продукт реакции.

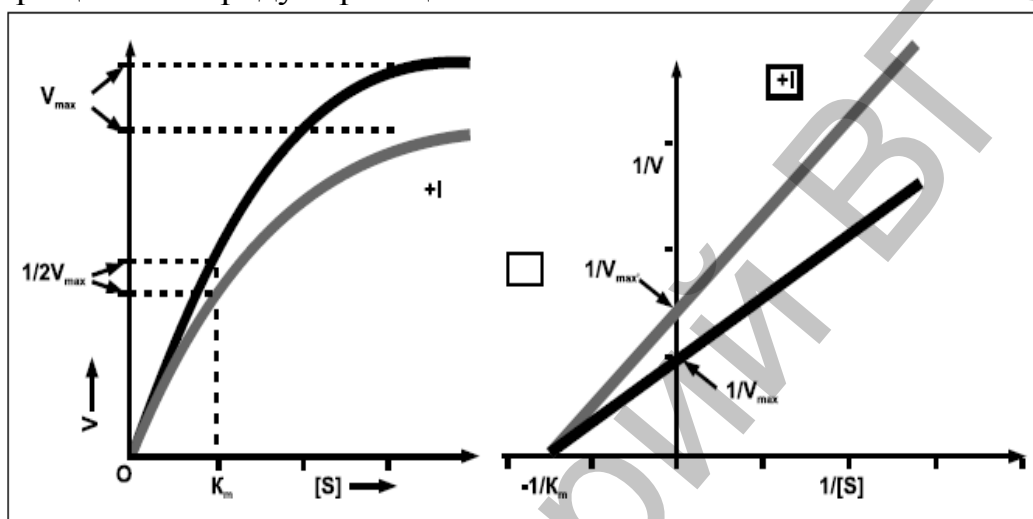


Рис. 6.2. Влияние неконкурентных ингибиторов на скорость реакции.

В редких случаях возможно *бесконкурентное ингибирование*, обнаруживаемое при повышении концентрации субстрата. Один из возможных механизмов этого эффекта связан с соединением ингибитора с фермент-субстратным комплексом, что ведет к образованию неактивного или медленно реагирующего тройного комплекса.

Специфическую группу ингибиторов ферментов составляют *ингибиторы белковой природы*. Они блокируют действие фермента за счет белок-белковых взаимодействий, в результате чего закрывается активный центр фермента. Особенно энергично белковые ингибиторы регулируют деятельность протеиназ клетки, поскольку в результате их действия тормозится переход проферментов в ферменты, отщепление сигнальных пептидов и других пептидных фрагментов при созревании белков, блокируются реакции протеолиза, ведущие к образованию биологически активных пептидов.

6.3. Активация проферментов

Происходит путем отщепления части полипептидной цепи от молекулы предшественника с образованием активного центра фермента. Этот путь характерен для *агрессивных* протеолитических ферментов, которые синтезируются в неактивной форме (проферменты) в желудке и поджелудочной железе и участвуют в переваривании белков. Синтез в виде проферментов исключает самопереваривание органов. Например, в поджелудочной железе вырабатывается химотрипсиноген. В кишечнике под действием трипсина происходит последовательно отщепление 2-х дипептидов и образуются три полипептидные цепи, соединенные дисульфидными мостиками. Это изменяет конформацию молекулы и формирует ее активный центр, в состав которого входит серин, гистидин и аспарагиновая кислота.

Специфический частичный протеолиз является распространенным способом активации ферментов и других белков в биологических системах. Рассмотрим некоторые примеры.

1. Свертывание крови является каскадом протеолитических реакций, обеспечивающим быстрый и усиленный ответ на повреждение тканей и кровеносных сосудов (см. раздел 6.3.1).

2. Многие гормоны пептидной природы синтезируются в виде предшественников (проинсулин, проопиомеланокортин), после частичного протеолиза которых образуются гормоны.

3. Нерастворимые в воде фибриллы коллагена возникают после частичного протеолиза водорастворимого проколлагена.

4. Запрограммированная гибель клеток – апоптоз опосредуется протеолитическими ферментами каспазами, которые синтезируются в виде про-каспаз.

6.3.1. Свертывание крови является каскадным процессом, благодаря которому на каждом этапе усиливается образование факторов свертывания крови (рис 6.3).

На примере свертывания крови наиболее отчетливо видна регуляторная роль частичного протеолиза ферментов-предшественников. В биохимическом отношении наиболее интересной является стадия превращения фибриногена в фибрин под действием протеолитического фермента тромбина.

1. Тромбин синтезируется в виде профермента протромбина, который включает четыре больших домена. Первый домен называется gla-домен, 2 и 3 домены обозначают как kringle-домены и четвертый домен серин-протеиназа на С-конце (рис. 6.4).

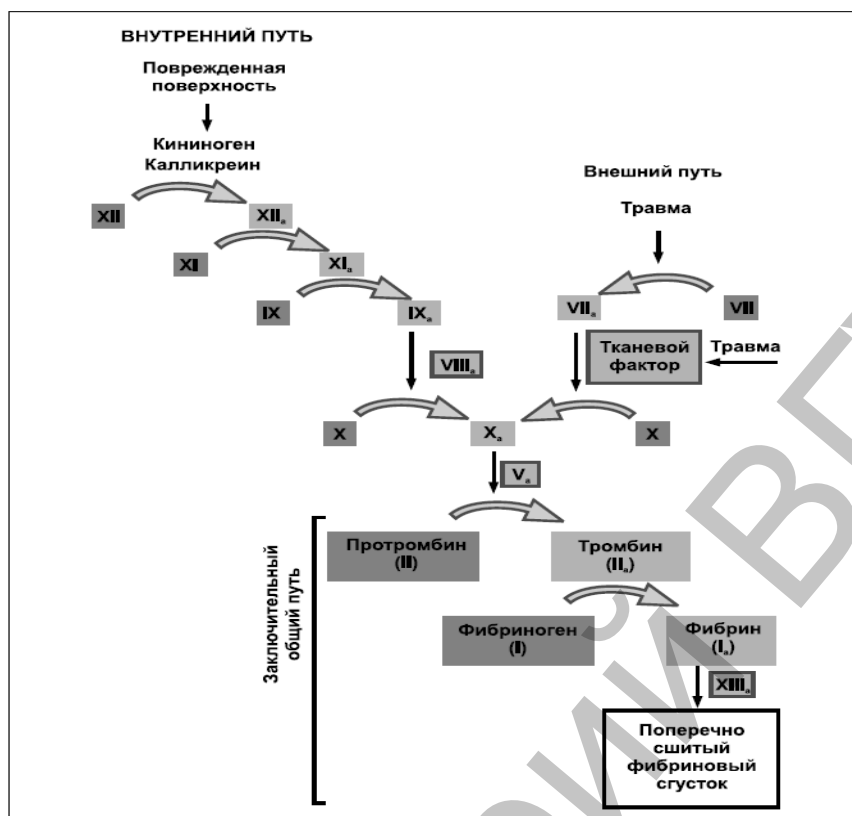


Рис. 6.3. Каскад свертывания крови. Образование фибринового сгустка – это конечный этап внешнего, внутреннего и общего путей свертывания крови. Внутренний путь начинается с активации фактора XII (фактор Хагемана) при контакте крови с поврежденной поверхностью. Внешний путь запускается травмой, которая активирует фактор VII и освобождает липопротеин, называемый тканевым фактором, из стенок сосудов. Неактивные формы факторов свертывания без подстрочных индексов; их активные формы с индексом «а». Суть процесса в последовательной активации факторов свертывания крови.



Рис. 6.4. Строение протромбина. После разрыва двух пептидных связей образуется тромбин. Все γ -карбоксиглутаматные остатки относятся к gla-домену.

Эти домены сохраняют протромбин в неактивном состоянии и обеспечивают его активацию либо фактором Ха (сериновая протеиназа) или фактором Va (стимулирующий белок). Активация происходит при протеолитическом расщеплении пептидной связи арг(274)-тре(275), что приводит к высвобождению фрагмента, содержащего первые три домена и после разрыва пептидной связи арг(323)-иле(324) образуется активный тромбин.

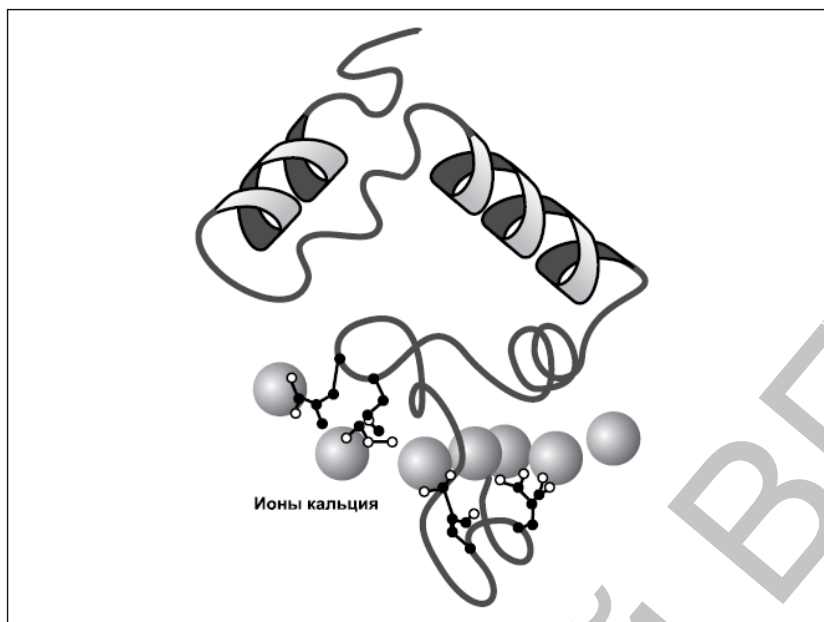


Рис. 6.5. Кальций связывающая область протромбина. Протромбин связывает ионы кальция с помощью остатков γ -карбоксиглутамата ((Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

2. Витамин К необходим для синтеза протромбина, а также еще трех факторов свертывания в крови. Поэтому при его дефиците возникает кровоточивость. Антагонистом витамина К являются дикумаролы и препарат варфарин.

Первые 10 остатков глутамата на N-конце протромбина карбоксилируются в γ -карбоксиглутамат с помощью витамин К зависимой карбоксилазы. В результате происходит превращение слабого хелататора ионов кальция глутамата в сильный хелататор – γ -карбоксиглутамат (рис. 6.5).

3. Связывание кальция с протромбином прикрепляет этот профермент к фосфолипидной мембране в области повреждения (тромбоциты) и тем самым приближает его к активирующим факторам Ха или Va. Такое превращение протромбина в тромбин сопровождается удалением кальций-связывающего домена и освобождает тромбин для расщепления фибриногена.

4. Фибриноген является глобулярным белком с молекулярной массой 340 кДа, состоящий из шести цепей $2A\alpha$, $2B\beta$ и 2γ . Тромбин расщепляет четыре аргинин-глициновые пептидные связи в центре глобулярной области фибриногена. В результате отщепляется по 18 остатков аминокислот от каждой $A\alpha$ -цепи и по 20 остатков аминокислот от каждой $B\beta$ -цепи. Эти A и B пептиды называются *фибринопептидами*. Молекула фибриногена, лишенная этих пептидов, называется *фибрин мономер* и имеет субъединичную структуру $(\alpha\beta\gamma)_2$. Фибрин мономер спонтанно организуется в фибриллярную структуру, называемую *фибрином*. Гомологичные β и γ цепи имеют на C-конце глобулярные домены с местами связывания в виде углубления (домен β -цепи связывается с H_3N^+ -гли-гис-арг, а домен γ -цепи с H_3N^+ -гли-про-арг). Именно эти последовательности находятся на N-концах α и β цепей после действия тромбина. Фибрин является периодической структурой с повторами через каждые 23 нм (рис. 6.6).

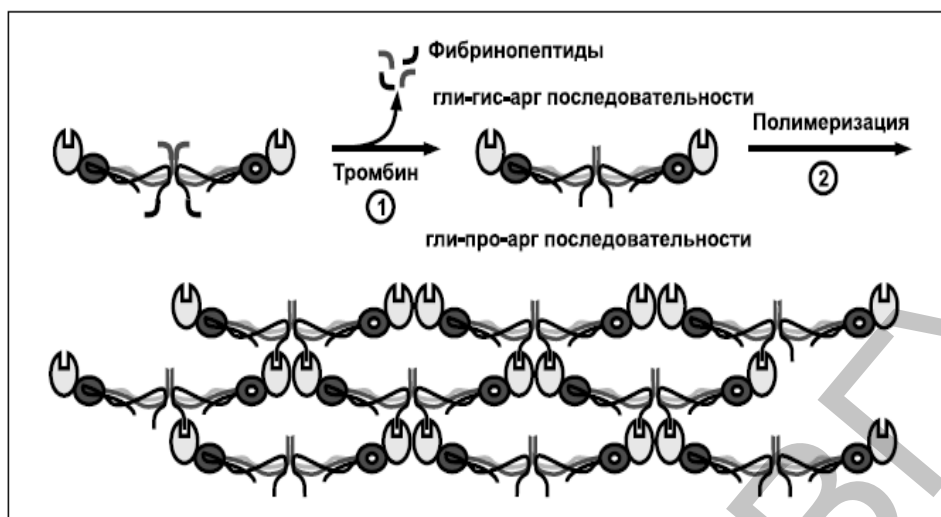


Рис. 6.6. Формирование фибринового сгустка.

1. Тромбин разрезает фибринопептиды А и В в центральной глобуле фибриногена. 2. Глобулярные домены с С-конца β и γ цепей взаимодействуют с выступающими группами на N-конце α и β цепей с образованием сгустка (фибриновой сети) ((Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

5. Образованный сгусток стабилизируется благодаря образованию поперечных амидных связей между радикалами лизина и глутамина. Эта реакция катализируется ферментом транслугтаминаза (*фактор XIIIa*), который активируется из ферментного предшественника протранслугтаминазы тромбином.

6. При классической гемофилии А отсутствует или имеет сниженную активность *фактор VIII* (антигемофильный фактор) внутреннего пути свертывания крови. Этот фактор не является протеолитическим ферментом, но через сериновую протеиназу *фактор IXa* активирует *фактор X*, играющий важную роль в активации общего пути свертывания крови. Для лечения этого наследуемого заболевания используют рекомбинантный фактор VIII.

6.4. Химическая (ковалентная) модификация.

Заключается в присоединении к ферменту или отщеплении от него низкомолекулярной молекулы, при котором происходит активация или ингибирование фермента. Например, фермент, участвующий в синтезе гликогена – гликогенсинтаза – при присоединении фосфорной кислоты становится неактивным, а фермент распада гликогена – фосфорилаза – активным.

Фосфорилирование-дефосфорилирование является наиболее эффективным способом контроля активности белков по следующим причинам:

1. Фосфорильные группы приносят два отрицательных заряда в молекулу белка, что изменяет характер электростатических взаимодействий (например, изменяется связывание субстрата и каталитическая активность).

2. Фосфатная группа может участвовать в образовании трех или более водородных связей. Тетраэдрическая геометрия фосфорильной группы делает водородные связи строго направленными, что важно для межмолекулярных отношений.

3. Величина свободной энергии фосфорилирования белков достаточно высока: в макроэргической связи АТФ имеется -12 ккал/моль (-50 кДж/моль). Примерно половина тратится на фосфорилирование, а вторая половина депонируется в фосфорилированном белке. Такое Фосфорилирование может изменить конформационное равновесие между двумя состояниями белка в 10^4 раз.

4. Фосфорилирование-дефосфорилирование занимает примерно секунду времени, что по скорости увязывается с физиологическими процессами.

5. Фосфорилирование носит, как правило, каскадный характер с увеличением концентрации продукта на каждом этапе в 10 или более раз (амплификационный эффект фосфорилирования).

6. АТФ является энергетической валютой клетки. Фосфор освобождается в прямой реакции $АТФ \leftrightarrow АДФ + P_n$; фосфор потребляется в обратной реакции. Следовательно, процесс фосфорилирования-дефосфорилирования белков связан с концентрацией P_n и регуляцией метаболизма.

Виды ковалентной модификации ферментов представлены в таблице 6.2.

Таблица 6.2. Примеры белков, активность которых изменяется при ковалентной модификации

Модификация	Молекула – донор модифицирующей группы	Модифицируемый белок	Функция белка
Фосфорилирование	АТФ	Гликогенфосфорилаза	Распад гликогена
Ацетилирование	Ацетил-КоА	Гистоны	Упаковка ДНК; транскрипция
Миристоилиция	Миристоил-КоА	Src (онкоген)	Передача сигнала
АДФ-рибозилирование	НАД	РНК-полимераза	Транскрипция
Фарнезиляция	Фарнезил пирогосфат	Ras (онкоген)	Передача сигнала
Гамма-карбоксилирование	$НСО_3^-$	Тромбин	Свертывание крови
Сульфатирование	3'-Фосфоаденозил-5'-фосфосульфат	Фибриноген	Образование сгустка крови
Убиквитинация	Убиквитин	Циклин	Контроль клеточного цикла

6.5. Аллостерическая регуляция

Происходит путем присоединения к аллостерическому центру фермента эффекторов – *активаторов и ингибиторов*. Если в роли активатора выступают молекулы субстрата – *гомotropная активация*, если какой-то другой метаболит – *гетеротропная*. Для аллостерических ферментов кривая насыщения субстратом представляет собой сигмоидную кривую, а не гиперболу как для нерегуляторных ферментов.

Для аллостерической регуляции характерны следующие признаки:

1. Аллостерические ферменты состоят из 2-х или более, часто симметричных, субъединиц, т.е. имеют четвертичную структуру.

2. Субъединицы фермента могут находиться в 2-х конформациях: R и T. Конформация R (relax – расслабление) обладает высоким сродством к субстрату, конформация T (tense – напряженная) – низким сродством. Формы R и T могут переходить друг в друга.

3. Эффекторы связываются с T и R-конформациями фермента. Аллостерический ингибитор связывается преимущественно с T-конформацией и ее стабилизирует. В присутствии ингибитора большая часть молекул находятся в T-конформации, что снижает сродство фермента к субстрату. Аллостерический активатор связывается преимущественно с R-формой.

4. Субъединицы аллостерических ферментов связаны между собой нековалентными связями. Изменение конформации одной субъединицы приводит к изменению конформации соседних субъединиц (кооперативный эффект).

Предложено 2 модели кооперативного эффекта.

Симметричная модель: субъединицы должны находится в одном и том же конформационном состоянии, т.е. возможны состояния RR и TT и невозможно состояние RT. В отсутствие субстрата почти все молекулы фермента находятся в T-форме. Добавление субстрата приводит к переходу T-формы в R-формы *одновременно всех субъединиц*.

Последовательная модель. Согласно этой модели каждая субъединица может существовать в одном из возможных конформационных состояний (R или T). Связывание субстрата с одной субъединицей может вызвать *последовательное* изменение конформации соседней субъединицы или соседних субъединиц и в результате увеличивать (положительная кооперативность) или

уменьшать (отрицательная кооперативность) их сродство к субстрату (рис. 6.7).

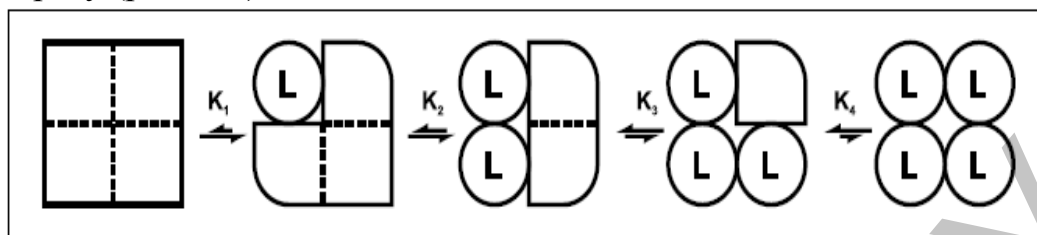
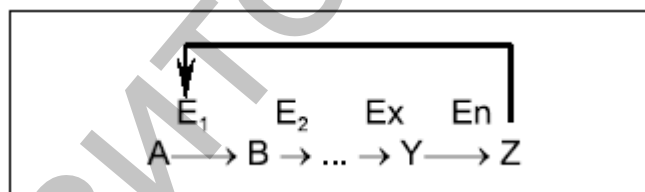


Рис. 6.7. Простая модель для тетрамерного аллостерического белка. Связывание лиганда (L) с одной субъединицей изменяет ее конформацию из Т (напряженная, квадрат) в R (расслабленная, способная связывать лиганд, окружность). Это повышает эффективность связывания лиганда другими субъединицами белка.

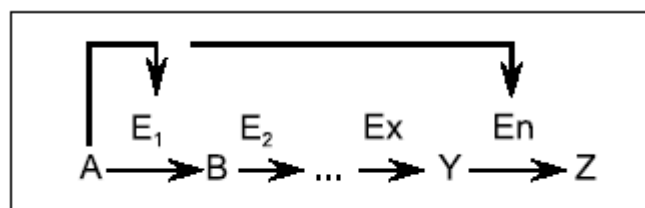
6.6. Регуляция активности по принципу обратной связи (ретроингибирование)

Во многих биосинтетических процессах основным типом регуляции скорости многоступенчатого процесса является ингибирование *по принципу обратной связи*, когда конечный продукт связывается с активным центром фермента и ингибирует его. Такие ферменты называются ключевыми, находятся на первых этапах метаболического пути и определяют скорость всего процесса.



Например, фермент аспартат-транскарбамоилаза осуществляет первый этап синтеза пиримидиновых нуклеотидов и ингибируется продуктом этого биосинтеза цитидинтрифосфатом (ЦТФ) по принципу обратной связи.

Активация предшественником (форактивация) – первый метаболит в многоступенчатом процессе активирует фермент, катализирующий первую или последнюю стадию.



6.7. Единицы измерения активности ферментов

Для выражения концентрации фермента используют стандартную международную единицу и катал.

Стандартная международная единица (Е или U) – количество фермента, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту (мкмоль/мин).

Катал – количество фермента, которое в оптимальных условиях катализирует превращение 1 моль субстрата в секунду (моль/сек). 1 Е фермента соответствует 16,67 нкат; $1 \text{ кат} = 6 \times 10^7 \text{ Е}$

Для выражения активности фермента используют удельную и молярную активности.

Удельная активность – число единиц ферментативной активности на 1 мг ферментативного белка.

Молярная активность (число оборотов) – число молекул субстрата, подвергающихся превращению одной молекулой фермента в секунду (таблица 6.4).

Таблица 6.4. Взаимосвязь между числом оборотов и величиной Км

Фермент	Субстрат	Км (мкмоль)	Число оборотов (с)
Лизоцим	Гекса-N-ацетилглюкозамин	6	0,5
Пенициллиназа	Бензилпенициллин	50	2000
Карбоангидраза	CO ₂	8000	600000

6.8. Применение ферментов

Ферменты в течение многих лет применяются в различных областях практической деятельности человека: в кожевенной, пищевой, текстильной, фармацевтической и других отраслях промышленности, а также в медицине, сельском хозяйстве, химическом синтезе. Эффективность действия ферментов многократно выше по сравнению с химическими катализаторами, однако их промышленное применение затруднено из-за неустойчивости при хранении и температурных воздействиях.

Ферменты применяются в *медицине*:

6.8.1. Энзимодиагностика – исследование ферментов в биологических средах организма с диагностической целью.

Нормальные уровни активности ферментов в сыворотке крови отражают соотношение между биосинтезом и высвобождением ферментов (при

обычном обновлении клеток), а также их клиренсом из кровотока. Повышение скорости обновления ферментов, повреждения клеток или индуцирование синтеза обычно приводят к повышению активности ферментов в сыворотке крови. В сыворотке крови выделяют три группы ферментов: *клеточные, секреторные и экскреторные*.

Клеточные ферменты в зависимости от локализации в тканях делят на несколько групп:

1. Неспецифические ферменты, которые катализируют общие для всех тканей реакции обменов белков, углеводов, липидов и находятся в большинстве органов и тканей. При повреждении мембран клеток и гистогематических барьеров эти ферменты появляются в крови или повышается их количество. Определение повышенного количества этих ферментов в крови не позволяет локализовать патологический процесс.

2. Органоспецифические, или индикаторные, ферменты, специфичные только для определенного типа тканей. Как правило, эти ферменты катализируют реакции, обеспечивающие специфические функции органа. В клетках других органов этих ферментов нет или находят следы. Выход органоспецифических ферментов в кровь сигнализирует о поражении определенного органа.

3. Изоферменты – группа или семейство ферментов с четвертичной структурой, которые катализируют одну и ту же реакцию, но отличаются по строению (т.е. первичной структуре) субъединиц и физико-химическим свойствам. Например, фермент лактатдегидрогеназа состоит из 4-х субъединиц 2-х типов Н (от heart – сердце) и М (от muscle – мышца) и возможно 5 вариантов, т.е. изоферментов:

1 Н Н Н Н	2 Н Н Н М	3 Н Н М М	4 Н М М М	5 М М М М
СЕРДЦЕ	→	ЛЕГКИЕ	←	ПЕЧЕНЬ

В зависимости от физиологического состояния, возраста, особенностей среды обитания в организме устанавливаются определенные соотношения изоферментов, что оптимизирует катализируемые превращения веществ. Следовательно, изменение соотношения изоферментов во всем организме или в отдельных тканях и органах является способом регуляции действия ферментов. Исследование множественных молекулярных форм ферментов и изоферментов используется в медицине для поиска поврежденных тканей.

4. Ферменты, локализованные в органеллах клеток (окислительно-восстановительные в митохондриях; кислые гидролазы в лизосомах и др.), выходя в кровь, сигнализируют о глубоком поражении клетки.

В сыворотке крови активность клеточных ферментов низкая или вообще отсутствует. При патологических процессах активность ферментов этой группы в сыворотке крови зависит от скорости высвобождения из клеток, которая, в свою очередь, определяется скоростью и степенью повреждения клетки.

Секреторные ферменты (псевдохолинэстераза) поступают непосредственно в плазму крови и выполняют в ней специфические функции. Эти ферменты синтезируются в печени и постоянно высвобождаются в плазму. Их активность в сыворотке крови выше, чем в клетках или тканях. При нарушении функции печени их активность в сыворотке крови становится ниже нормы.

Экскреторные ферменты образуются органами пищеварительной системы (поджелудочной железой, слизистой оболочкой кишечника, печенью,

эндотелием желчных путей). К ним относится α -амилаза, щелочная фосфатаза. В норме их активность в сыворотке крови низкая и постоянная. Однако при патологии, когда блокирован любой из обычных путей экскреции, активность этих ферментов в сыворотке крови значительно увеличивается.

Для диагностики заболеваний используют также оценку эндогенных *ингибиторов ферментов*. В тканях и крови человека имеются ингибиторы протеолитических ферментов пептидной природы, например, панкреатический ингибитор трипсина (ингибирует трипсин) или α 1-антитрипсин плазмы крови (ингибирует эластазу, продуцируемую нейтрофилами при поглощении бактерий). Поэтому α 1-антитрипсин правильнее называть антиэластаза. Оба ингибитора блокируют действие ингибируемых ферментов путем присоединения в непосредственной близости от активных центров.

Заболевание легких эмфизема связана с наследственными дефектами ингибитора эластазы. Курение усиливает вероятность развития эмфиземы, поскольку происходит окисление метионина-358 в той части молекулы ингибитора эластазы, которая необходима для связывания активной формы фермента. Для лечения эмфиземы легких используют рекомбинантный α 1-антитрипсин (2-4 г), полученный генноинженерным путем с помощью эукариотических клеток – дрожжей.

6.8.2. Наследственные энзимопатии. Ряд пороков обмена веществ является результатом наследственного дефицита определенных ферментов. В этом случае диагноз ставится, главным образом, на основе исследования показателей обмена этих ферментативных реакций (биохимический диагноз).

6.8.3. Энзимотерапия – использование ферментов и метаболитов в качестве лечебных средств:

1) заместительная терапия ферментами используется при болезнях желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин, химотрипсин, амилаза, липаза);

2) для очистки ран и воздействия на избыточно разрастающуюся соединительную ткань применяют гиалуронидазу, трипсин, химотрипсин;

3) нашли применение регуляторы (активаторы и ингибиторы) ферментов. Например, ингибиторы моноаминоксидазы используют при нервных и психических заболеваниях; тканевые ингибиторы протеиназ (трасилол, инипрон, контрикал др.) эффективны при лечении панкреатита, эмфиземы легких, инфаркте миокарда.

Ингибиторы протеолитических ферментов играют важную роль в медицине. Эти ингибиторы похожи по строению на истинные субстраты ферментов. Например, каптоприл является ингибитором металлопротеазы ангиотензин-превращающий фермент (АПФ, ACE) и используется для лечения артериальной гипертензии; криксиван является ингибитором HIV-протеазы и используется при лечении СПИДА (AIDS); ингибитор трипсина животного и растительного происхождения используют при лечении панкреатита.

Для *продолженного* действия используют иммобилизованные ферменты – это ферменты, связанные с твердым носителем или спрятанные в полимерную капсулу. При введении в кровь такие ферменты не разрушаются, а, накопившись в патологическом очаге (например, у тромба) оказывают эффект. Для получения иммобилизованных ферментов используют многочисленные носители различной природы. Носители должны быть устойчивы к воздействию химических и биологических факторов, иметь высокую проницаемость для ферментов и субстратов, а также переходить в активированное состояние. Органические полимерные носители разделяют на

природные и синтетические. К природным носителям относятся полисахариды, белки и липиды. Наиболее часто для иммобилизации на основе полисахаридов используют агарозу, целлюлозу, декстран и их производные. Нередко для целей иммобилизации используют хитин. Белки как носители представляют наибольший интерес для использования в медицине, однако они обладают высокой иммуногенностью и быстро деградируют при применении *in vivo*. Наиболее часто для иммобилизации ферментов применяют фибриллярные белки, например, кератин и коллаген.

Для транспорта ферментов наиболее эффективны капсулы из липидов – *липосомы*. Ферменты внутри липосом транспортируются через клеточные мембраны и оказывают действие в клетке.

К синтетическим полимерным носителям относятся полимеры на основе стирола, производные акриловой кислоты, а также полиамидные носители.

6.8.4. Ферменты как аналитические реагенты. Широко применяются в практике лабораторных исследований при определении субстратов, нуклеотидов и пр. В настоящее время выпускается ряд наборов для определения глюкозы, этанола, молочной кислоты, АТФ и пр. Принцип: в исследуемом материале содержится неизвестное количество субстрата. Чтобы определить его количество вводят фермент, катализирующий превращение только этого субстрата, создают оптимальные условия реакции (рН, t° и др.) и регистрируют скорость реакции (по образованию продукта или изменению кофермента). Затем определяют концентрацию искомого субстрата по скорости реакции, используя калибровочный график.

Глава 7. МЕМБРАНЫ

Мембраны – это высокоорганизованные структуры, ограничивающие внутреннее пространство клетки или ее отсеков, построенные из белков, липидов и углеводов.

7.1. Функции мембран

1. Отделяют клетки от окружающей среды. Обладают избирательной проницаемостью, содержат специфические транспортные системы. Внутренние мембраны клеток ограничивают органеллы и формируют обособленные внутриклеточные отсеки – компартменты. Они обеспечивают функциональную специализацию клетки.

2. Мембраны играют центральную роль в системе межклеточных взаимодействий. В них располагаются рецепторы, вос-

принимающие химические, физические и другие внешние сигналы. Некоторые мембраны сами способны генерировать сигнал (химический или электрический).

3. Мембраны участвуют в процессах превращения энергии (фотосинтез, окислительное фосфорилирование).

7.2. Структура мембран

7.2.1. Характеристика мембран. Все биологические мембраны имеют общие признаки строения.

1. Мембраны являются *сложными структурами, построенными из липидов, белков и углеводов*. Основу мембран составляет липидный бислой, имеющий толщину 6-10 нм.

2. Соотношение белков и липидов в мембранах варьирует от 1:4 до 4:1 и зависит от типа клеток и органелл.

3. Мембраны являются *асимметричной* структурой с наружной и внутренней поверхностями.

4. Мембрана стабилизируется *нековалентными* связями и является *термодинамически стабильной* и *метаболически активной*.

5. Специфические белки встроены в мембраны и выполняют *специфические функции* рецепции управляющих сигналов, межклеточного взаимодействия, транспорта веществ и пр.

6. Мембраны – это жидкостные структуры.

7. Большинство мембран способны к поляризации (для внутренней поверхности мембран типично 60 мВ). Мембраны играют ключевую роль в транспорте, преобразовании энергии и хранении энергии.

7.2.2. Липиды мембран. Основными липидами мембран являются *фосфолипиды, гликолипиды и холестерол*.

1. В мембранах присутствуют 2 основных класса *фосфолипидов*:

1.1. *Глицерофосфолипиды* являются основным компонентом большинства мембран и состоят из спирта *глицерола*, 2-х *остатков жирных кислот*, остатка *фосфорной кислоты* и *спирта*: холина (фосфатидилхолин), этаноламина (фосфатидилэтаноламин), серина (фосфатидилсерин), глицерола (фосфатидилглицерол), глицеролфосфата, треонина или инозитола (рис. 7.1, таблица 7.1).

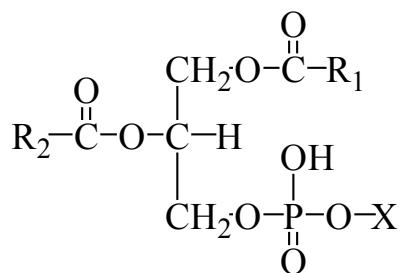
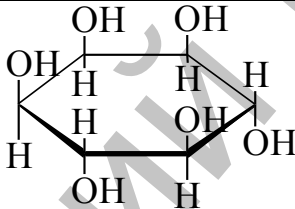
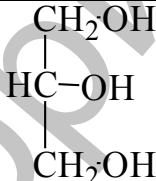


Рис. 7.1. Строение глицерофосфолипидов. X – спирт.

Таблица 7.1. Структура глицерофосфолипидов

Глицерофосфолипид	Спирт
Фосфатидилэтаноламин	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
Фосфатидилхолин	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$
Фосфатидилсерин	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
Фосфатилиинозитол	
Фосфатидилглицерол	

Жирные кислоты содержат *четное число атомов углерода* (чаще 16 и 18). Жирные кислоты *неразветвленные* и могут быть *насыщенными* (чаще в 1 положении глицерофосфолипиды) и *ненасыщенными* (чаще во 2 положении глицерофосфолипиды).

Жирные кислоты – это углеводородные цепи различной длины и степени насыщенности, заканчивающиеся карбоксильной группой. Системное наименование происходит от родительского углеводорода с окончанием – овая. Например, C_{18} насыщенная жирная кислота называется октадекановая кислота, поскольку родительский углеводород – октадекан. C_{18} ненасыщенная жирная кислота с одной двойной связью называется октадеценовая кислота, с двумя двойными связями – октадекадиеновая кислота, а с тремя двойными связями – октадекатриеновая кислота. Запись 18:0 означает C_{18} жирную кислоту без двойных связей; запись 18:2 означает, в жирной кислоте есть две двойные связи. *Нумерация углеродных атомов начинается от карбоксильной группы*. По другой классификации углеродные атомы 2 и 3 обозначают как α и β углеродные атомы, соответственно. Наиболее отдаленный от карбоксильной группы концевой атом углерода называют ω -углеродный атом. Положение двойной связи обозначают символом Δ . Например, цис- Δ^9 означает наличие двойной связи между 9 и 10 углеродными атомами.

В медицинской литературе часто обозначают положение двойной связи по отношению к дистальному атому углерода, ко-

торому придается номер 1. Например, ω -3 жирная кислота (рис. 7.2).

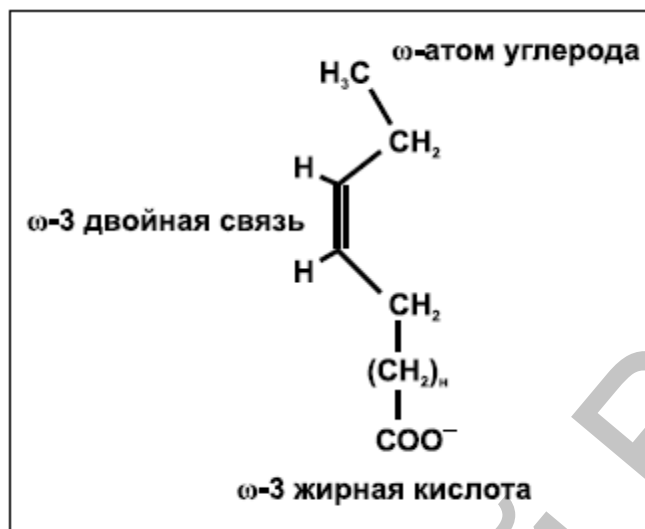
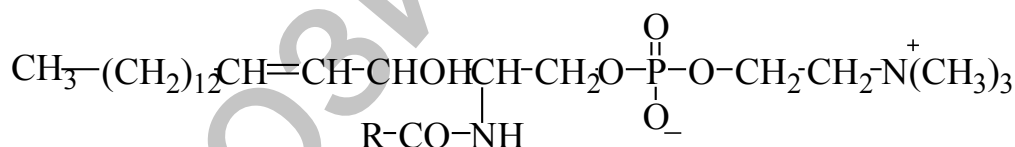


Рис. 7.2. ω -3 жирная кислота.

Жирные кислоты ионизированы при физиологическом значении pH, поэтому они получают суффикс -ат, например, пальмитат, олеат.

1.2. *Сфингомиелины* содержат спирт *сфингозин*. Жирная кислота присоединяется амидной связью к аминогруппе сфингозина. Первичная гидроксильная группа сфингозина эстерифицируется фосфорилхолином. Сфингомиелины находятся преимущественно в миелиновых оболочках.



1.3. *Гликолипиды* являются сахаросодержащими липидами и делятся на *ганглиозиды* и *цереброзиды*. *Цереброзиды* вместо фосфорилированного спирта содержат остаток гексозы (глюкозу или галактозу). *Ганглиозиды* содержат цепь из 3 и более остатков углеводов (например, сиаловые кислоты), которые присоединяются к первичной спиртовой группе сфингозина.

1.4. *Стероиды*. Основным стероидом в мембранах является *холестерол* (рисунок 7.3), который находится преимущественно в плазматической мембране клеток.

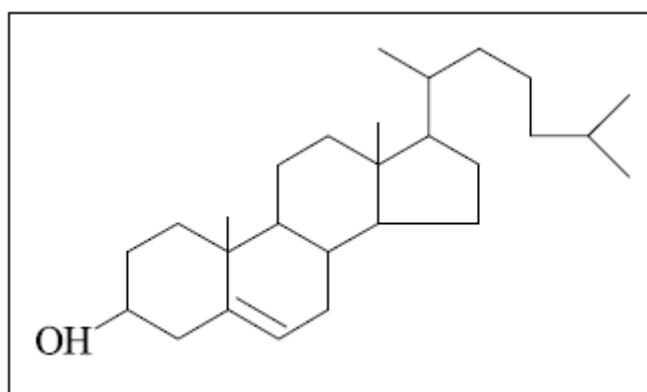


Рис. 7.3. Холестерол.

Холестерол в основном встречается в *наружном слое* плазматической мембраны. Молекула *холестерола* встраивается в фосфолипидный бислой, причем гидроксильная группа в положении 3 образует водородные связи с полярными головками фосфолипидов, а сочлененные кольца палочкообразной формы располагаются в гидрофобной зоне ацильных остатков фосфолипидов бислоя.

7.2.3. Мембрана является амфипатической структурой.

1. Все молекулы липидов, входящих в состав мембран, имеют гидрофильную и гидрофобную области и поэтому являются *амфипатическими*.

2. Амфипатические липиды мембран имеют *полярную головку* и *неполярные гидрофобные хвосты* (рисунок 7.4). Полярные головки нейтральны или имеют отрицательный заряд.

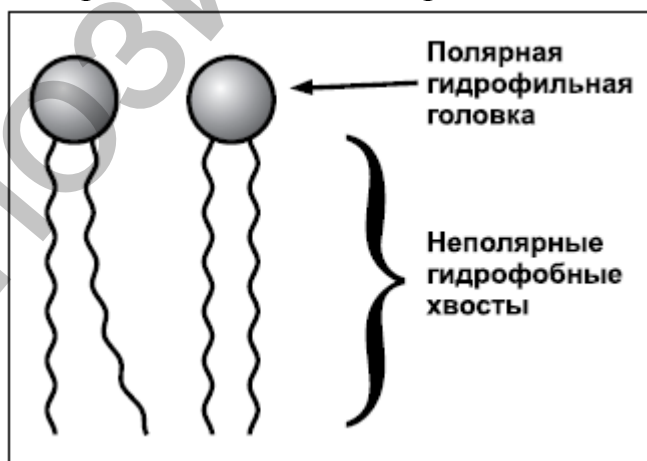


Рис. 7.4. Структура липидов мембран.

3. Насыщенные жирные кислоты имеют прямые хвосты, ненасыщенные жирные кислоты имеют цис-конформацию и изогнутые хвосты, что делает мембрану менее жесткой и более текучей.

4. Липиды формируют *бислой*, в котором гидрофобная область фосфолипидов защищена от воды, а гидрофильная область обращена к воде (рис. 7.5). Липидный бислой получают *in vitro* в виде липосом.

Для формирования бислоя необходимо наличие *двух гидрофобных хвостов* у каждого фосфолипида. Утрата одного из них превращает данный фосфолипид в детергент (вещество, разрушающее фосфолипидный бислой). Например, возникает гемолиз эритроцитов при действии яда гюрзы за счет отщепления фосфолипазой A_2 остатка жирной кислоты во втором положении глицерофосфолипида.

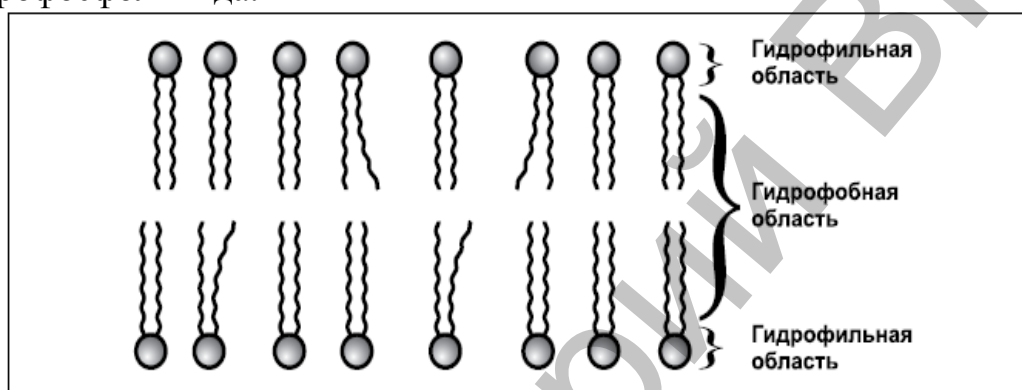


Рис.7.5. Строение липидного бислоя.

7.2.4. Липосомы. Образование липидного бислоя из амфифильных молекул фосфолипидов в водной среде сыграло важнейшую роль в формировании живых организмов, поскольку возникла возможность отграничения биологически важных молекул от окружающей среды. В отличие от мицелл, размер которых менее 20 нм, из фосфолипидного бислоя можно формировать макроскопические образования размером 10^6 нм, т.е. мембраны. В основе их строения лежит структура липосомы (рис. 7.6).

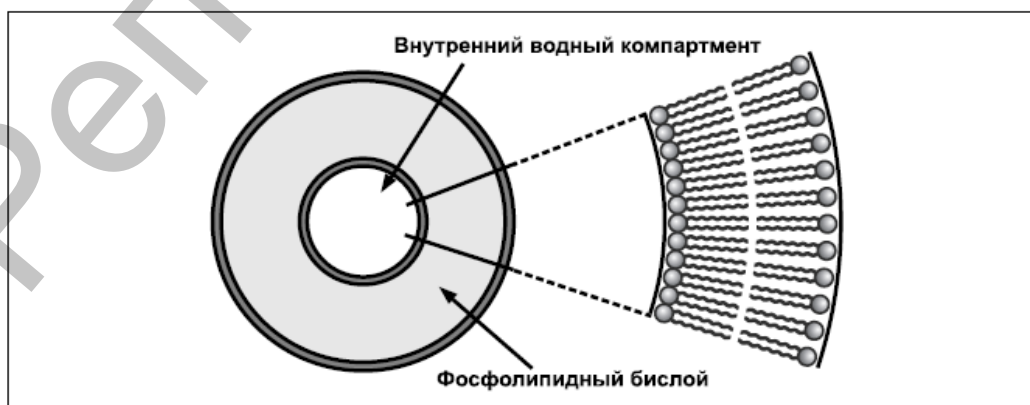


Рис. 7.6. Строение липосомы (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002)..

Липосомы нашли применение в медицине и косметике. Питательные и лекарственные вещества вводят в составе липосом. Липосомы могут перемещаться через плазматические мембраны многих клеток и тем самым доставлять биоактивные вещества в клетку. При встраивании белка в бислой липосомы получают *протеолипосомы*. Протеолипосомы используют для направленного транспорта лекарств в определенные клетки, а также для осуществления гетерогенного катализа, когда субстрат и фермент имеют различную растворимость (фермент – липаза водорастворим, а субстрат – триацилглицерол гидрофобен).

Протеолипосомы – это модель мембран.

Для жизнедеятельности клетки важна проницаемость фосфолипидного слоя для различных веществ (рис. 7.7).

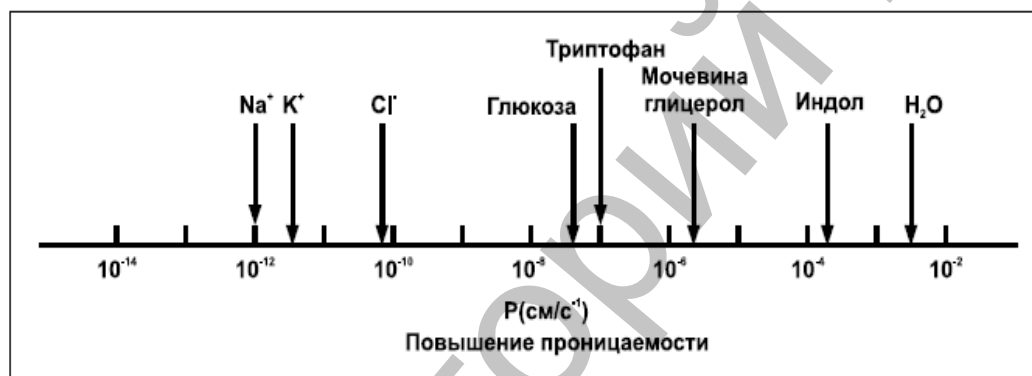


Рис. 7.7. Коэффициенты проницаемости липидного бислоя (P) для ионов, воды и органических веществ (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H. Freeman and Company, 2002).

7.2.5. Белки мембран

По расположению белков в мембране, способу их ассоциации с липидным бислоем их можно разделить на: поверхностные (периферические) мембранные белки, связанные с гидрофильной поверхностью липидного бислоя; интегральные мембранные белки, погруженные в гидрофобную область бислоя.

Прошивающие мембрану белки имеют конформацию α -спирали во внутренней части мембраны. В этой части белка преобладают гидрофобные аминокислотные остатки. Такая структура была впервые установлена при исследовании бактериородопсина (7 тесно упакованных α -спиралей, пересекающих мембрану размером 4,4 нм).

Поры или каналы в мембранах образуются β -структурами белков. Антипараллельные β -структуры связаны водородными связями и извиваясь формируют полый цилиндр, который вы-

полняет функции поры. Важно, что остатки гидрофобных аминокислот взаимодействуют с гидрофобными группами внутримембранного окружения канала, а внутренняя поверхность канала образуется радикалами гидрофильных аминокислот (рис. 7.8).

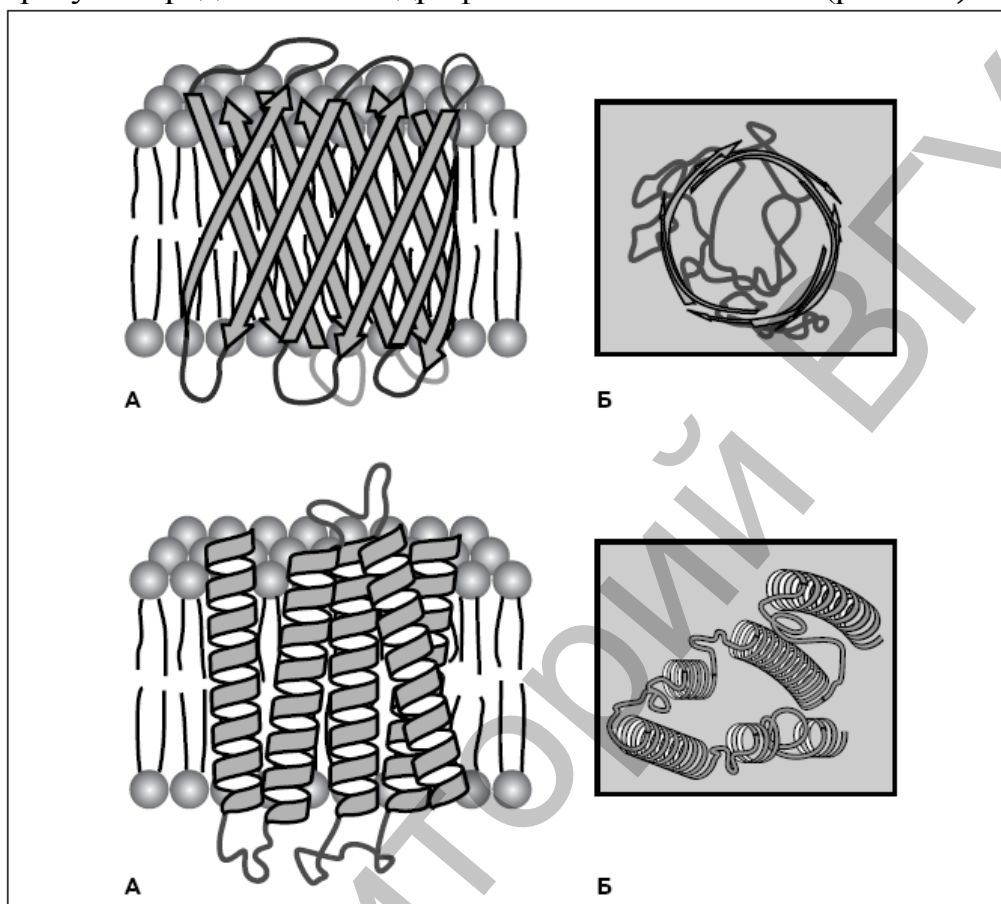


Рис. 7.8. Снизу – бактериородопсин (энергопреобразующий фотозависимый белок мембран); сверху – организация поры в мембране бактерии. А – вид сбоку, Б – вид сверху (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Белки, необходимые для формирования субклеточных компартментов (митохондрии, пероксисомы, ядра и др.) имеют специфические последовательности аминокислот, определяющие «адрес» их перемещения. Например, белки, используемые для построения пероксисом, на С-конце имеют последовательность сер-лиз-лей- COO^- ; при удалении этого фрагмента белок не будет встраиваться в структуру пероксисом. Белки, необходимые для образования митохондрий содержат в N-концевой части молекулы 15-35 аминокислотных остатков содержащих радикалы положительно заряженных аминокислот, а также серина и треонина. Белки, необходимые для формирования ядер, содержат внутреннюю последовательность лиз-лиз-лиз-арг-лиз. Есть специальные последовательности, определяющие выход белка из ядра. Обнаружен ядерный белок – α -кариоферин (α -импортин), обеспечивающий узнавание белков с такими последовательностями.

Характеристика мембранных белков:

1. *Периферические* белки связаны с гидрофильной областью интегральных белков или с полярными головками липидного бислоя мембраны силами электростатического взаимодействия или водородными связями. Периферические белки могут быть выделены без разрушения мембраны концентрированными солевыми растворами или изменением pH. Многие рецепторы для гормонов являются периферическими белками.

2. *Интегральные* белки погружены в мембрану на определенную глубину или пронизывают мембрану насквозь (прошивающие). Такие белки могут быть экстрагированы только при разрушении мембраны органическими растворителями или детергентами.

Трансмембранные белки могут в виде нескольких α -спиралей или одиночной α -спирали пересекать мембрану. При этом большая (гидрофильная) часть такого белка экспонирована в воду. Некоторые белки могут проникать только на расстояние одного монослоя мембраны.

Интегральные белки, подобно липидам, обладают амфипатическими свойствами и у них есть гидрофобные области, взаимодействующие с гидрофобными радикалами липидных молекул внутри бислоя, и гидрофильные, обращенные с обеих сторон мембраны к воде.

Если основные структурные особенности биологических мембран определяются свойствами их липидного бислоя, то специфические функции мембран – белками.

Мембранные белки можно разделить на две группы: *структурные* и *динамические белки*. Структурные белки поддерживают структуру всей мембраны. Это, как правило, периферические белки, выступающие в роли «молекулярного бандаж». Динамические белки непосредственно участвуют в процессах, происходящих на мембране. Выделяют три класса таких белков:

1) *транспортные* – участвующие в трансмембранном переносе веществ;

2) *каталитические* – это ферменты, интегрированные в мембрану и катализирующие происходящие там реакции;

3) *рецепторные* – это мембранные рецепторы, специфически связывающие такие соединения, как гормоны, нейромедиаторы, токсины, на наружной стороне мембраны, что служит сигналом для изменения метаболических процессов в мембране или внутри клетки.

Наиболее распространенный тип мембранных рецепторов – это рецепторы, построенные из полипептидной цепи 7 раз пересекающих мембрану (the seven-transmembrane-helix, 7TM) (рис. 7.9).

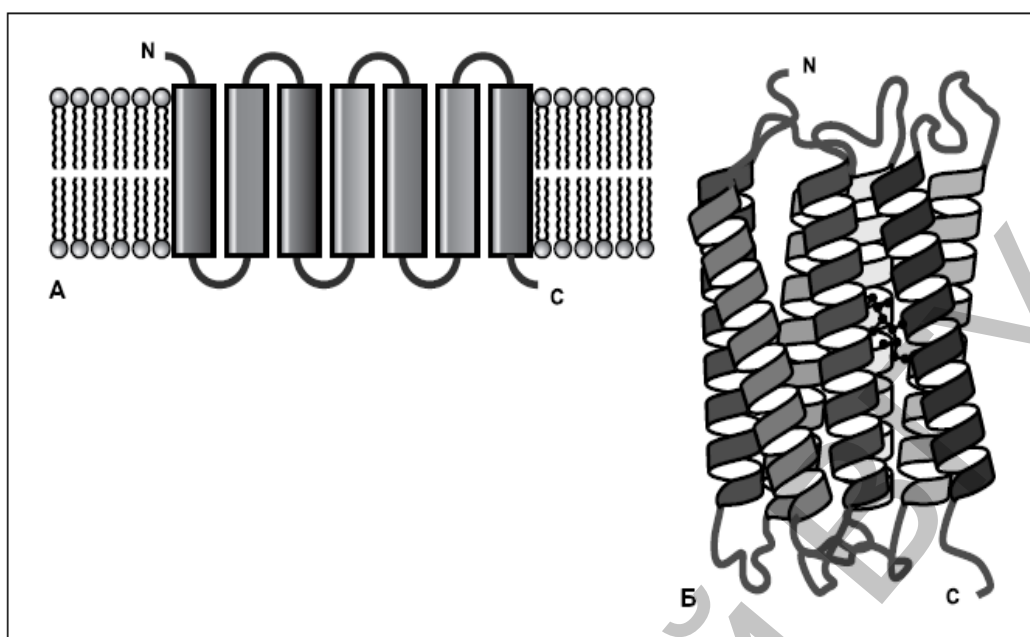


Рис. 7.9. 7ТМ-рецептор. А – полипептидная цепь рецептора семь раз пересекает мембрану. Б – трехмерная структура родопсина, 7ТМ-рецептора, принимающего участие в акте зрения (с рецептором связана воспринимающая фотон света молекула ретиналя) (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Согласно J.S.Gutkind (1998) эти рецепторы участвуют в восприятии запаха, вкуса, зрительных образов, в нейротрансмиссии, секреции гормонов, хемотаксисе, экзоцитозе, контроле артериального давления, эмбриогенезе, росте и дифференциации клеток, развитии, в вирусных инфекциях и канцерогенезе. Известно несколько тысяч таких рецепторов. Наиболее изученным рецептором является родопсин, который воспринимает кванты света. Примером рецепторов этого типа, воспринимающими химические сигналы, например гормон адреналин, являются β -адренорецепторы. По своему строению имеется сходство (гомология) между родопсином и β -адренорецепторами.

7.2.6. Углеводы мембран. В составе мембран углеводы находятся только в соединении с белками (гликопротеины и протеогликаны) и липидами (гликолипиды). В мембране гликозилировано около 10% всех белков и 5–25% липидов. Углеводные цепи белков колеблются по составу от 2-х членных структур до разветвленных 18-членных полисахаридов.

Функции углеводов:

- 1) определяют межклеточное взаимодействие;
- 2) участвуют в системе иммунитета (антигенные детерминанты групп крови);
- 3) входят в состав рецепторов.

7.2.7. Свойства мембран. Итак, подытожим основные свойства мембран:

1. *Текучесть (жидкостьность) мембраны.* Текучесть мембраны характеризуется способностью компонентов мембраны к движению. Текучесть мембраны определяется липидным составом, процентом полиненасыщенных жирных кислот и холестерина. Особое влияние на текучесть мембраны оказывает молекулы холестерина, погруженные в липидный бислой. Бактерии регулируют жидкостьность своих мембран числом двойных связей в цепях жирных кислот фосфолипидов. Например, отношение насыщенных к ненасыщенным жирным кислотам *E. coli* уменьшается от 1,6 до 1,0 при снижении температуры инкубации от 42°C до 27°C. У эукариотических клеток при температуре 37°C холестерол ограничивает текучесть мембраны, а при более низких температурах он, наоборот, способствует поддержанию их текучести, препятствуя слипанию углеводородных цепей. Текучесть влияет на функцию мембраны. При повышении текучести увеличивается проницаемость для воды и других гидрофильных молекул.

У животных и человека ненасыщенные жирнокислотные остатки глицерофосфолипидов и холестерол играют ключевую роль в поддержании жидкости мембран.

2. *Избирательная проницаемость.* Это свойство обеспечивает регуляцию транспорта в клетку необходимых молекул, а также удаления из клетки продуктов метаболизма, т.е. активный обмен клетки и ее органелл с окружающей средой. Избирательный транспорт необходим также для поддержания трансмембранного градиента ионов, служит основой всех биоэнергетических механизмов, определяет эффективность процессов рецепции, передачи нервного возбуждения и т.п.

3. *Асимметричность мембраны.* По химическому составу наружная поверхность мембран отличается от внутренней. Мембраны ассиметричны по липидному составу. Существует асимметрия расположения фосфолипидов в мембране. Фосфатидилхолин и сфингомиелины локализованы в наружном слое мембран, фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин – во внутреннем. Холестерол находится преимущественно в наружном слое. Белки в мембранах расположены также асимметрично (расположение периферических белков, различная степень погружения интегральных белков). Наиболее асимметрично распределены в плазматической мембране гликолипиды и гликопротеины. Углеводные части гликолипидов и гликопротеинов выходят на наружную поверхность, иногда образуя сплошное покрытие на поверхности клетки – *гликокаликс*.

4. *Динамичность мембран.* Молекулы белков и липидов с высокой скоростью двигаются в плоскости мембраны (*латеральная диффузия*). Они легко меняются местами со своими соседями в пределах одного монослоя примерно 10 раз в секунду. Перемещение мембранных белков в латеральной плоскости может быть ограничено вследствие притяжения между функционально связанными белками и образования кластеров, что в конечном счете приводит к их мозаичному распределению в липидном слое.

Перемещение мембранных белков визуализируют с помощью флуоресцентного микроскопа, используя технику возврата флуоресценции после фоторазрушения (*fluorescence recovery after photobleaching, FRAP*): 1) метят все компоненты поверхности клеток специфическими флуоресцентными хромофорами; 2) визуализируют малую область клеточной поверхности с помощью флуоресцентного микроскопа ($\sim 3 \text{ мкм}^2$); 3) флуоресцентные молекулы этой области разрушают с помощью очень интенсивного лазерного импульса; 4) исследуют время восстановления флуоресценции обработанного лазерным импульсом участка мембраны (рис. 7.10).

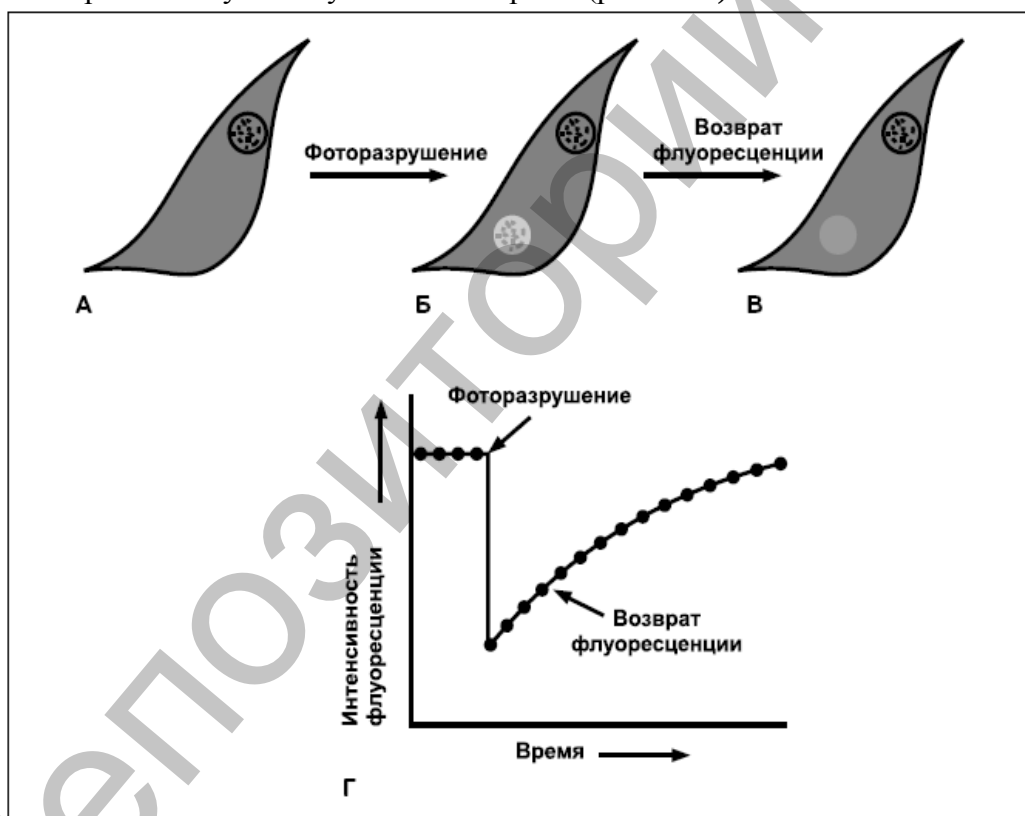


Рис. 7.10. Возвращение флуоресценции после фоторазрушения: А. Поверхность клетки флуоресцирует равномерно после мечения. 2. Часть поверхности обработана интенсивным лазерным импульсом (разрушены меченые молекулы). С. Флуоресценция восстанавливается за счет латеральной диффузии меченых молекул из соседних областей мембраны. D. Зависимость скорости восстановления флуоресценции от коэффициента диффузии мембраны (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Коэффициент диффузии липидов в разных мембранах примерно $1 \text{ мкм}^2/\text{с}$. Молекулы фосфолипидов могут перемещаться на расстояние 2 мкм в секунду. Следовательно, от одного конца бактерии к другому молекула фосфолипида перемещается за 1 секунду. Белки практически не диффундируют вдоль мембраны, например, коэффициент диффузии для весьма лабильного фоторецепторного белка родопсина не превышает $0,4 \text{ мкм}^2/\text{с}$, а для периферического мембранного белка фибронектина, взаимодействующего с внеклеточным матриксом, этот коэффициент меньше $10^{-4} \text{ мкм}^2/\text{с}$.

Кроме того, молекулы белков и липидов очень быстро вращаются вокруг своих продольных осей (*вращательная диффузия*).

Перескок липидных молекул из одного монослоя в другой (*поперечная диффузия*, flip-flop) осуществляется редко, а белки к такому перескоку вообще не способны. Причина исключительно медленного flip-flop заключается в его энергетической невыгодности, поскольку необходимо перенести полярную головку молекулы липида через гидрофобную область бислоя.

7.3. Модели строения мембран

С.Дж. Сингер и Л.Г. Никольсон в 1972 г. предложили «жидкостно-мозаичную модель» строения мембраны. Согласно этой модели мембрана представляет собой липидный бислой, в котором расположены глобулярные белки. Каждая молекула липидов расположена так, что ее неполярная углеводородная часть направлена внутрь бислоя, а полярные головки находятся на поверхности, контактируя с водой. По этой модели, мембрана представляет собой динамическую систему, в которой молекулы белка относительно свободно «плавают в липидном море в виде айсбергов». Прямые измерения показали, что белки движутся в сотни раз медленнее из-за переплетения углеводных цепей на поверхности мембраны (гликокаликс). Кроме того, компоненты мембраны с внутренней стороны связаны с системой белков цитоскаркаса.

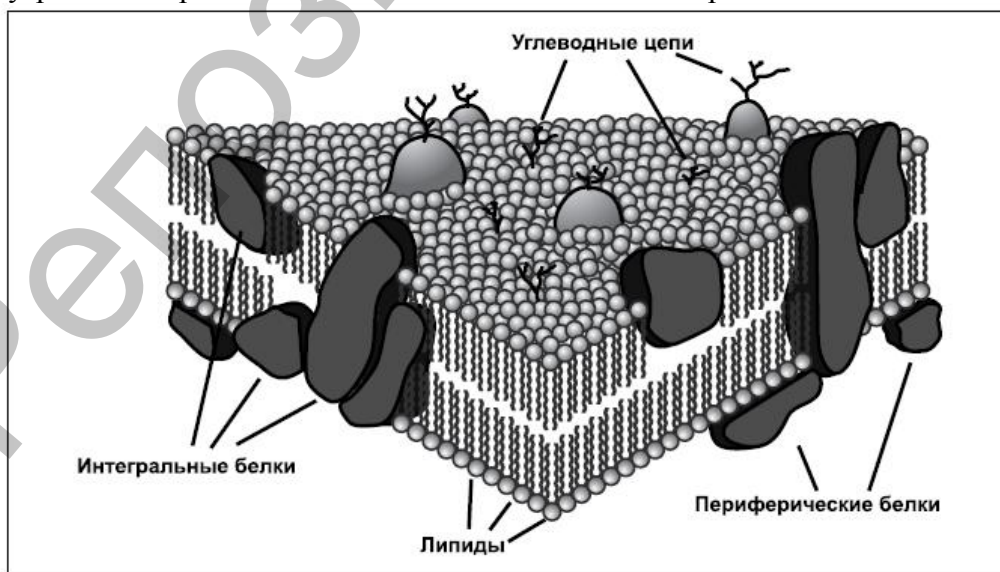


Рис. 7.11. Строение плазматической мембраны эукариотической клетки.

Немецкий ученый К. Зимонс в 1997 году выдвинул теорию «липидных рафтов», в рамках которой липидная мембрана рассматривается как динамичная, быстро изменяющаяся структура. Отдельные области мембраны организованы в домены, обогащенные холестерином, и имеют большую плотность, чем остальная часть мембраны. Липидные домены (рафты) способны свободно дрейфовать в мембране. С липидными доменами связаны некоторые белки. Таким образом, поверхность клеточной мембраны можно представить в виде жидкой мозаики со структурами типа доменов и рафтов (*жидко-мозаичная доменно-рафтовая модель* биологической мембраны).

Согласно белорусскому ученому С.В.Коневу, «мембрана описывается в виде непрерывного твердо-упругого белкового каркаса, ячейки которого заполнены липидным бислоем. Белковый каркас представляет собой единую энергетическую систему относительно слабых ионных, водородных, вандер-ваальсовых сил межпротомерного и внутрипротомерного взаимодействия, а часть интегральных белков не входит в состав каркаса и находится в трансляционно-свободном состоянии». Молекулы белков, которые связаны с цитокаркасом, малоподвижны. Те белки, которые с цитокаркасом не связаны, могут относительно свободно перемещаться в плоскости мембраны (рисунок 7.11). Это решетчато-мозаичная модель мембраны (*твердо-каркасная жидко-мозаичная модель*). Так в мембране эритроцитов интегральный анионпереносящий белок связан с белками цитокаркаса – спектрином, анкирином. При гемолизе эти связи нарушаются.

7.4. Механизмы мембранного транспорта

Липидные бислои в значительной степени непроницаемы для подавляющего большинства веществ, и поэтому перенос через липидную фазу требует значительных энергетических затрат.

Различают пассивный транспорт (диффузию), активный транспорт и везикулярный транспорт.

7.4.1. Пассивный транспорт – это перенос молекул по концентрационному или электрохимическому градиенту, т.е. он определяется только разностью концентраций переносимого вещества на противоположных сторонах мембраны или направлением электрического поля и осуществляется без затраты энергии АТФ. Возможны два типа диффузии: простая и облегченная (рис. 7.12).

1. Простая диффузия. Происходит без участия мембранного белка. Скорость простой диффузии хорошо описывается обычными законами диффузии для веществ, растворимых в липидном бислое. Скорость движения молекулы определяется концентрационным градиентом и растворимостью молекулы в липидах. Механизм диффузии водорастворимых веществ менее изучен. Перенос вещества через липидный бислой, например, таких соединений, как этанол, возможен через временные поры в мембране, образованные разрывами в липидном слое при движении мембранных липидов. В мембранах также существуют каналы, образованные

белками, через которые могут двигаться молекулы. По механизму простой диффузии осуществляется трансмембранный перенос газов (например, O_2 , CO_2 , N_2 , метан), некоторых простых органических ионов и ряда низкомолекулярных жирорастворимых соединений. Простая диффузия осуществляется не избирательно и отличается низкой скоростью. Транспорт воды через мембрану простой диффузией происходит очень медленно. В тканях, где необходим быстрый перенос воды (почки), вода диффундирует через специфические интегральные белки (аквапорины).

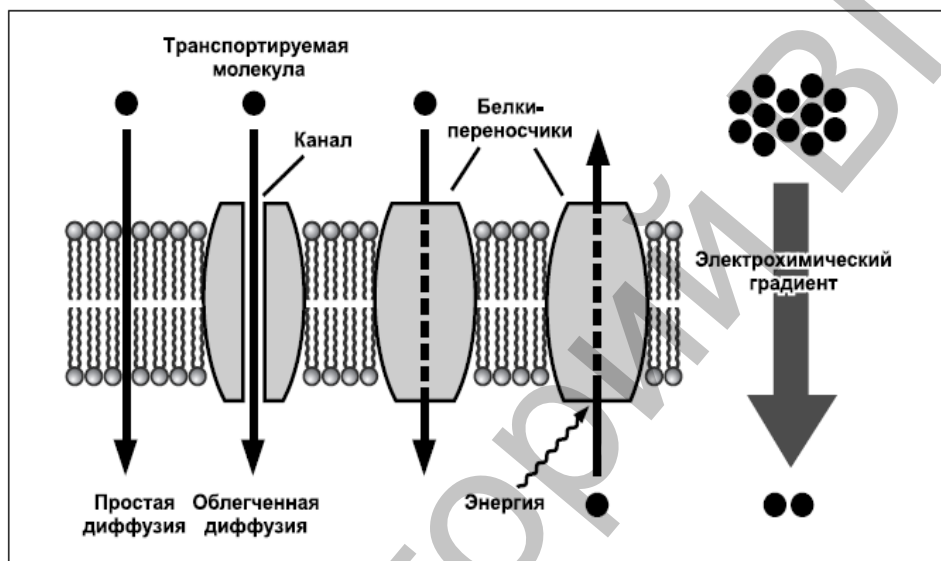


Рис. 7.12. Механизмы пассивного транспорта.

По С.Н.Черенкевичу и соавт. (2008) процесс диффузии веществ через мембрану, например в клетку, может быть разделен на несколько стадий: растворение вещества в мембране, диффузия через нее, вход вещества в клетку и накопление в клетке. Такая модель диффузии описывается теорией «растворения-диффузии», согласно которой молекулы растворенного вещества сначала растворяются в мембране, а затем диффундируют через нее. В рамках данной модели предполагается, что при стационарных условиях поток J_i одинаков по всей толщине мембраны и равен

$$J_i(t) = P_i \left(C_i^B(t) - C_i^C(t) \right), \quad (7.1)$$

где $C_i^B(t)$ – концентрация вещества i внутри клетки, $C_i^C(t)$ – концентрация вещества i снаружи клетки, а величина P_i , равная

$$P_i = \frac{D_i k_i}{d}, \quad (7.2)$$

называется коэффициентом проницаемости или просто проницаемостью. D_i – коэффициент диффузии молекул вещества i в растворе, d – толщина мембраны, k_i – коэффициент распределения вещества i .

Выражение (7.1) называется первым законом Фика для мембран и характеризует стационарный поток вещества через мембрану на макроскопическом уровне. Таким образом, транспорт вещества через мембрану по диф-

фузионному механизму идет в направлении, противоположном направлению градиента концентрации вещества. Такой тип транспорта через мембраны называется пассивной диффузией. Если P_i велико, то мембрана характеризуется высокой проницаемостью для растворенного вещества i . Если $P_i = 0$, то мембрана непроницаема для растворенного вещества i .

Водорастворимые молекулы характеризуются очень низким коэффициентом распределения в углеводородном интерьере липидных мембран. Например, для глюкозы $k_{\text{глю}} = 5 \cdot 10^{-10}$. Коэффициент диффузии глюкозы в мембране $D_{\text{глю}}$ примерно в 100 раз меньше, чем в воде, и равен $0,67 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$. Таким образом, проницаемость глюкозы через липидный бислой (для углеводородного слоя мембраны, толщиной 3 нм) будет равна:

$$P_{\text{глю}} = (5 \cdot 10^{-10}) \cdot (0,67 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}) / (3 \cdot 10^{-7} \text{ см}) \approx 10^{-10} \text{ см}/\text{с}.$$

Отсюда следует, что если в цитозоле клетки, для мембраны которой характерно такое же значение проницаемости, глюкоза отсутствует, а снаружи присутствует, то одинаковая концентрация глюкозы по обе стороны мембраны установится примерно через 100 дней. В отличие от водорастворимых веществ молекулы веществ, для которых характерна высокая растворимость в липидном бислое, имеют высокое значение коэффициента проницаемости через мембраны. Например, дыхательные газы кислород и углекислый газ имеют коэффициент распределения больше 1, поэтому их проницаемость примерно в 10^{10} раз больше, чем глюкозы. Следовательно, наличие мембраны для входа этих веществ в клетку или для выхода из нее практически значения не имеет.

2. Облегченная диффузия – движение молекул по градиенту концентрации с использованием специфических мембранных белков-переносчиков. Следовательно, облегченная диффузия – это диффузионный процесс, сопряженный с химической реакцией взаимодействия транспортируемого вещества с белком-переносчиком. Этот процесс специфичен и протекает с более высокой скоростью, чем простая диффузия. Скорость переноса определяется концентрационным градиентом через мембрану и количеством молекул переносчика.

Известны два типа мембранных транспортных белков: белки-переносчики, называемые *транслоказами* или *пермеазами*, и *каналообразующие* белки.

Для объяснения механизма облегченной диффузии используют модель «пинг-понг». В этой модели, переносчик существует в 2-х конформационных состояниях (рис. 7.13). В состоянии «понг» белок открыт на стороне высокой концентрации переносимого вещества и связывает это вещество. Затем происходит изменение конформации («пинг») и белок со связанным веществом открывается на сторону с низкой концентрацией переносимого вещества.

Транспортные белки имеют ряд свойств: обладают высокой специфичностью и имеют участки связывания для транспорти-

руемой молекулы; насыщаемы при высокой концентрации переносимого вещества; ингибируются конкурентными и неконкурентными ингибиторами.

Облегченная диффузия обычно характерна для водорастворимых веществ: углеводов, аминокислот, метаболически важных органических кислот, некоторых ионов. Путем облегченной диффузии осуществляется также транспорт стероидных гормонов, ряда жирорастворимых витаминов и других молекул этого класса. Практически направленные потоки веществ в клетку путем простой и облегченной диффузии никогда не прекращаются, поскольку вещества, поступившие в клетку, вовлекаются в метаболические превращения, а их убыль постоянно восполняется путем трансмембранного переноса по градиенту концентрации.

В организме человека содержится 12 белков – переносчиков глюкозы (GLUT1–GLUT12), последовательность аминокислот в которых высоко гомологична. Все белки содержат порядка 500 аминокислот и 12 пересекающих мембрану α -спиралей. Аминокислоты, расположенные в α -спиралях, преимущественно гидрофобны, однако несколько спиралей содержат аминокислотные остатки (например, серин, треонин, аспарагин и глутамин), боковые заместители которых образуют водородные связи с гидроксильными группами глюкозы. Эти остатки формируют места связывания глюкозы переносчиком у поверхности мембраны. GLUT1 – интегральный белок с молекулярным весом 45 кД. Он составляет 2% от общего количества белков мембран эритроцитов (С.Н.Черенкевич и соавт., 2008).

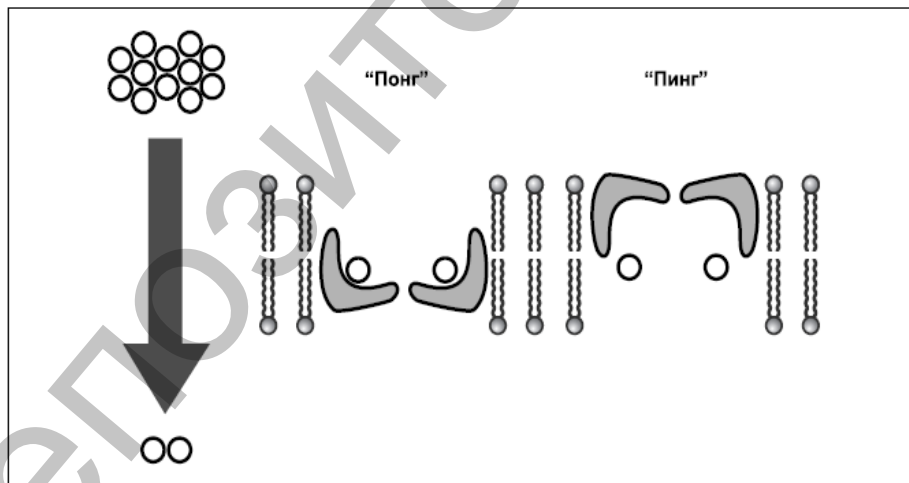


Рис. 7.13. Механизм «пинг-понг».

Акваторины (по Э.П. Титовец, 2007). В 2003 году была присуждена одна из самых «стремительных» Нобелевских премий Питеру Огрею (Peter Agre) за открытие аквапоринов – водных каналов. Примерно 15 лет до этого, изучая групповые резусные антигены мембран эритроцитов, группа П. Огрея случайно столкнулась с белком, который не окрашивался обычными красителями (Кумасси голубой), а выявлялся только с помощью серебрения. Оказалось, что в мембране одного эритроцита было до 200000 молекул этого

белка. Дальнейшие исследования показали, что этот белок является каналом для переноса воды, и он получил название AQP1 (aquaporin от лат. aqua – вода и porus – канал). В настоящее время у млекопитающих обнаружено 13 аквапоринов (AQP0- AQP12). Эти каналы в различных органах переносят воду, а некоторые из каналов – дополнительно глицерол и другие небольшие молекулы. Аквапорины образуют в мембране тетрамеры, мономеры которых представлены полипептидными цепочками, состоящими примерно из 270 аминокислот. Полипептидная цепочка мономера формирует 6 внутри-мембранных α -спиральных доменов. Пронизывая плазматическую мембрану 6 раз, она образует также 3 внеклеточных и 2 внутриклеточных петли, причем N- и C-концевые аминокислотные остатки остаются на цитозольной поверхности мембраны. Все мономеры аквапорина функционируют как независимые водные каналы. Транспорт воды через мономеры одинаково легко осуществляется в обоих направлениях. Общее направление водного потока определяется ориентацией осмотического или гидростатического градиента. Механизм переноса воды включает ориентирующий эффект аспарагина-76 и аспарагина-192. При участии водородных связей остатки этих аминокислот обеспечивают оптимальную структурную организацию молекул воды в узком пространстве тоннеля. В результате молекулы воды выстраиваются в ряд, заполняя весь тоннель, протяженность которого 2 нм. Аквапорины обратимо ингибируются соединениями ртути путем связывания цистеина-189. Аквапорины не способны транспортировать протоны.

Аквапорины вовлекаются в патогенетические механизмы развития ряда заболеваний. Повышение водной проницаемости гематоэнцефалического барьера за счет AQP4 (инсульт, травмы, инфекционные и онкологические заболевания) ведет к отеку мозга. При злокачественных глиомах, характеризующихся выраженным перифокальным отеком, повышена продукция AQP1 в эндотелии микрососудов опухоли. Аквапорин AQP9 обеспечивает перенос лактата из цитозоля в митохондрии, что ведет к снижению образования АТФ за счет разобщения дыхания и фосфорилирования. Различные аквапорины необходимы для восприятия света, звука, процессов пищеварения, мочеобразования и мочевыведения и других функций. Полагают, что аквапорины участвуют в запуске механизмов запрограммированной гибели клеток – апоптоза (AQP8 вызывает набухание митохондрий и выброс цитохрома c).

7.4.2. Активный транспорт – транспорт веществ против градиента концентрации (незаряженные частицы) или электрохимического градиента (для заряженных частиц), требующий затрат энергии. Выделяют два вида активного транспорта: 1) первичный активный транспорт использует энергию АТФ или окислительно-восстановительного потенциала; 2) при вторичном активном транспорте используют градиент ионов (H^+ , K^+ , Na^+ , и др.), созданный на мембране за счет работы системы первичного активного транспорта.

По С.Н. Черенкевичу и соавт. (2008), первичный активный транспорт через мембраны осуществляется ионными насосами (другие названия – ион-транспортирующие АТФазы и АТФазные насосы). Все ионные насосы можно разделить на четыре группы (семейства): АТФазы Р-типа, АТФазы F-типа, АТФазы V-типа и ABC-транспортёры.

АТФазы всех типов обеспечивают сохранение градиентов концентрации ионов Na^+ , K^+ , H^+ и Ca^{2+} через плазматические и внутриклеточные мембраны. Активный транспорт ионов через мембраны в клетках требует больших затрат энергии. Например, в нейронах и клетках печени на транспорт ионов расходуется свыше 25% АТФ, продуцируемой в клетках, а в эритроцитах – до 50%. Перекачка катионов через мембраны АТФазами Р-типа осуществляется во всех живых организмах (табл. 7.2).

Таблица 7.2. Семейство АТФаз Р-типа (по С.Н. Черенкевичу и соавт., 2008)

Название	Число субъединиц	Локализация	Число переносимых ионов	Функции
Na^+/K^+ -АТФаза	2	Плазматическая мембрана	3 Na^+ и 2 K^+	Генерация градиентов Na^+ , K^+
H^+/K^+ -АТФаза	2	Плазматическая мембрана желудка и почек	1 H^+ и 1 K^+	Желудочная и почечная секреция H^+
SERCA Ca-АТФаза	1	Саркоплазматический ретикулум, эндоплазматический ретикулум	2 Ca^{2+} и 2 H^+	Снижение концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле
PMCA Ca-АТФаза	1	Плазматическая мембрана	1 Ca^{2+} и 1 H^+	Снижение концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле

АТФазами Р-типа утилизируются высокоэнергетические ковалентные интермедиаты β -аспартилфосфата. АТФазы Р-типа также называются E_1E_2 -АТФазами из-за способа описания механизма их действия – считается, что при транспорте ионов через мембраны белки могут находиться в одном из двух конформационных состояний – E_1 или E_2 . Конформация трех наиболее известных насосов данного типа – Na^+/K^+ -АТФазы, H^+/K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы при транспорте ионов изменяется в результате их фосфорилирования за счет энергии АТФ.

Катионные насосы Р-типа состоят из одной или двух α -субъединиц и одной или двух β -субъединиц. Многие из этих насосов являются тетрамерами, содержащими две α -субъединицы и две меньшие по размерам β -субъединицы. Транспорт ионов обеспечивают α -субъединицы, при этом, по крайней мере, одна из α -субъединиц фосфорилируется. β -субъединицы участвуют только в регуляции транспорта ионов. Эукариотические АТФазы Р-типа, такие как Na^+/K^+ - и Ca^{2+} -АТФазы, имеют по 10 трансмембранных спиралей.

Чаще всего рассматривают три основных типа первичного активного транспорта:

1) Натрий-калиевый насос – Na,K^+ -аденозинтрифосфатаза (Na,K^+ -АТФ-аза) переносит ионы натрия из клетки, а калия – в клетку.

2) Кальциевый насос – Ca^{2+} -АТФ-аза, который транспортирует Ca^{2+} из клетки или цитозоля в саркоплазматический ретикулум.

3) H^+ -АТФ-аза – протонный насос, функционирующий в сопрягающих мембранах, в том числе в митохондриальной мембране.

При нарушении снабжения АТФ активный транспорт останавливается.

Примером первичного активного транспорта является транспорт K^+ и Na^+ при участии Na^+,K^+ -АТФ-азы. Клетка содержит низкую концентрацию Na^+ (в 10 раз ниже) и высокую концентрацию K^+ (в 30 раз выше), чем в окружающей среде. Поэтому считают, что Na^+ это внеклеточный катион, а K^+ – внутриклеточный катион. Na^+,K^+ -АТФ-азы обеспечивают выведение 3 ионов Na^+ из клетки в обмен на введение в клетку двух ионов K^+ против градиента концентрации с затратой 1 молекулы АТФ.

Na^+,K^+ -АТФ-аза была открыта в 1957 г. Й. Скоу во фракции плазматических мембран нервов краба. Затем она была обнаружена во всех исследованных клетках животных, особенно велико ее содержание в органах, осуществляющих солевой обмен (почки) или выполняющих электрическую работу (мозг, нервы).

Строение Na^+,K^+ -АТФ-азы. Это тетрамер $\alpha_2\beta_2$; м.м 270 кДа. Субъединица α (95 кДа) пронизывает мембрану насквозь и содержит на внутренней стороне участки связывания АТФ и Na^+ , а на внешней стороне – для K^+ и сердечных гликозидов. β -субъединицы (40 кДа) содержат углеводные группы, расположенные на наружной стороне плазматической мембраны. Она способствует правильной ориентации фермента в липидном бислое. Перенос ионов происходит за счет изменения конформации фермента при его фосфорилировании – дефосфорилировании за счет АТФ. В присутствии Na^+ активируется гидролиз АТФ и происходит фосфорилирование фермента, дефосфорилирование происходит в присутствии K^+ .

Описание химизма по этапам:

1) присоединение 3 Na^+ вызывает активацию АТФ-азы, т.е. происходит гидролиз АТФ;

2) фосфорилирование фермента;

3) изменение его конформации с открытием канала снаружи;

4) уменьшение сродства к Na^+ и присоединение K^+ приводит к дефосфорилированию фермента;

5) это изменяет конформацию фермента с открытием канала изнутри;

6) снижение сродства к K^+ и выход его в цитозоль и вновь присоединение АТФ и 3 Na^+ (сердечные гликозиды могут конкурировать с K^+ за места связывания и ингибируют Na^+,K^+ -АТФ-азы).

Неравнозначный перенос заряженных ионов (частиц) через мембрану вызывает ее поляризацию: появление «+» снаружи и «-» изнутри, поэтому Na^+ , K^+ насос называют электрогенным.

Создаваемый градиент Na^+ используется для *вторичного активного транспорта* глюкозы в клетки. Например, рассмотрим всасывание глюкозы из просвета кишечника.

1. Переносчик глюкозы обеспечивает транспорт глюкозы в цитозоль энтероцита за счет входа в клетку ионов Na^+ под действием электрохимического градиента (концентрация Na^+ высокая в просвете кишечника и низкая в цитозоле клеток).

2. Глюкоза из клетки переходит во внеклеточную жидкость по механизму облегченной диффузии. Скорость переноса глюкозы зависит от величины градиента Na^+ : она увеличивается при повышении разности концентраций Na^+ в просвете кишечника и цитозоле энтероцита.

3. Na^+ , K^+ -АТФаза поддерживает эту разность концентраций Na^+ за счет его откачки в межклеточное пространство в обмен на K^+ с затратой АТФ.

Итак, глюкоза переносится в клетки животных одновременно с ионами натрия. Вход натрия обеспечивает запасание свободной энергии переноса 2,2 ккал/моль (9,2 кДж/моль) при типичных характеристиках клетки (концентрация ионов натрия снаружи 143 ммоль, изнутри 14 ммоль и мембранный потенциал -50 мВ). Этой свободной энергии переноса достаточно для формирования 66-кратного градиента концентраций незаряженных молекул типа глюкозы и их переноса через мембрану.

В таблице 7.3 представлены виды транспорта через мембраны (по С.Н. Черенкевич и соавт., 2008).

Таблица 7.3. Сравнительная характеристика механизмов транспорта ионов и малых молекул через мембраны

Тип транспорта	Диффузия	Облегченная диффузия	Электро-диффузия	Первичный активный транспорт	Вторичный активный транспорт
Направление потока вещества	От высоких концентраций к низким	От высоких концентраций к низким	От высоких концентраций к низким	От низких концентраций к высоким	От низких концентраций к высоким
Транспортные системы	Нет	Переносчики	Каналы	Насосы	Обменники, котранспортеры
Насыщаемость	Нет	Да	Нет	Да	Да
Использование энергии АТФ	Нет	Нет	Нет	Да	Нет
Примеры веществ	O_2 , CO_2 , жирные кислоты	Глюкоза, аминокислоты	Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , вода	H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , липиды	Ионы и сахара, глюкоза и аминокислоты

АТФазы F-типа (или F_0F_1 -АТФазы) и АТФазы V-типа (V_0V_1 -АТФазы) (табл. 7.4) имеют подобную структуру. Их называют также насосами F- и V-класса, соответственно. Названные насосы содержат, по крайней мере, три типа трансмембранных субъединиц и пять типов полипептидов, которые формируют цитозольный домен. Все известные F- и V-насосы транспортируют протоны. АТФазы V-типа обычно поддерживают низкие значения pH в растительных вакуолях, в лизосомах и других закисленных везикулах в клетках животных, используя энергию, высвобождаемую при гидролизе АТФ, для перекачки протонов из эктоплазматической стороны мембраны в цитозоль. Насосы V-типа также присутствуют в плазматических мембранах клеток, специализированных для секреции протонов, таких как остеокласты, макрофаги.

Таблица 7.4. Семейства АТФаз F-типа и АТФаз V-типа (по С.Н. Черенкевич и соавт., 2008)

Насос	Субъединицы	Локализация	Субстрат	Функции
F_0F_1	8 или больше	Митохондрии, хлоропласты, Эубактерии, плазматические мембраны	H^+ (редко Na^+)	Синтез АТФ или АТФ-управляемый перенос H^+
V_0V_1	8 или больше	Эндоплазматические мембраны эукариотов	H^+ (редко, Na^+)	АТФ-управляемый перенос H^+ (редко, Na^+)

Насосы V-типа выполняют две функции. Во-первых, они закисляют все упомянутые выше компартменты. Кислые значения pH обеспечивают диссоциацию лиганда из комплекса с рецептором в эндосомах и активируют лизосомальные гидролазы, а также другие ферменты. Во-вторых, протонные градиенты через мембрану являются источником энергии для сопряженного с H^+ транспорта других веществ.

Согласно С.Н. Черенкевичу и соавт. (2008), ABC транспортеры формируют наибольшее по числу (свыше 100 различных транспортных белков) и наиболее разнообразное по структуре семейство АТФ-зависимых насосов (табл. 7.5). ABC – это аббревиатура термина «АТР-binding cassette» (АТФ-связывающая кассета), относящегося к АТФ-связывающей области транспортера. MRP (multidrug resistance-associated protein) – белок множественной лекарственной резистентности, играющий роль в выведении токсичных веществ, а также лекарств из клеток, в том числе определяющий устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим лекарствам. Транспортеры ТАР (transporters associated with antigen presentation) – класс ABC транспортеров, необходимых для инициирования иммунного отклика на чужеродные белки и медирующих транспорт антигенных пептидов из цитозоля в ЭР.

ABC транспортеры найдены во всех живых организмах. Различные члены этого семейства локализованы в плазматической мембране, ЭР, а также в

других органеллах. Каждый АВС транспортер является специфичным для одного или нескольких родственных субстратов, но все семейство имеет большое число субстратов, включая неорганические ионы, сахара, аминокислоты, сложные полисахариды, пептиды и даже белки. Специализированные члены семейства действуют как ионные каналы (например, CFTR, cystic fibrosis transmembrane regulator) или регулируют функции других мембранных белков, например, рецептора сульфонилмочевины. АВС транспортеры отличаются от других насосов по структуре и функциям. Они не продуцируют ионные градиенты.

Таблица 7.5. Транспортеры АВС (по С.Н.Черенкевич и соавт., 2008)

Насос	Число субъединиц	Локализация	Субстрат	Функции
MRP1 Р-гликопротеин	1	Плазматическая мембрана	лекарства	Секреция лекарств
CFTR	1	Плазматические мембраны дыхательного тракта паренхиматического эпителия	АТФ, Cl ⁻	Секреция Cl ⁻
TAP1, 2	2	Эндоплазматический ретикулум	Антигенные пептиды	Транспорт антигенных пептидов из цитоплазмы в ЭР
MRP2	1	Апикальная плазматическая мембрана клеток печени	Фосфатидилхолин	Фосфолипид флипаза, секреция желчи
STE6	1	Плазматическая мембрана дрожжей	Феромоны	Сигнализация

7.4.3. Виды переноса веществ через мембраны. Согласованный перенос двух веществ называют котранспортом: при симпорте имеет место перенос обоих веществ в одном направлении, а при антипорте – в противоположных направлениях (рис. 7.14).

Унипорт – движение одного типа молекул в одном направлении. Наиболее простой вид переноса какого-либо растворенного вещества с одной стороны мембраны на другую, осуществляемый по механизму простой или облегченной диффузии.

Котранспорт – вид транспорта, при котором перенос одного вещества зависит от переноса другого. Осуществляется с помощью транспортных белков, которые имеют центры связывания для переноса обоих веществ.

Симпорт – перенос вещества зависит от одновременного (или последовательного) переноса другого вещества в том же направлении.

Например, транспорт протонов и сахаров у бактерий, транспорт Na^+ и глюкозы у животных.

Антипорт – перенос одного вещества по градиенту концентрации приводит перемещению другого вещества, присоединенного к этому переносчику с другой сторон мембраны в противоположном направлении против градиента концентрации.

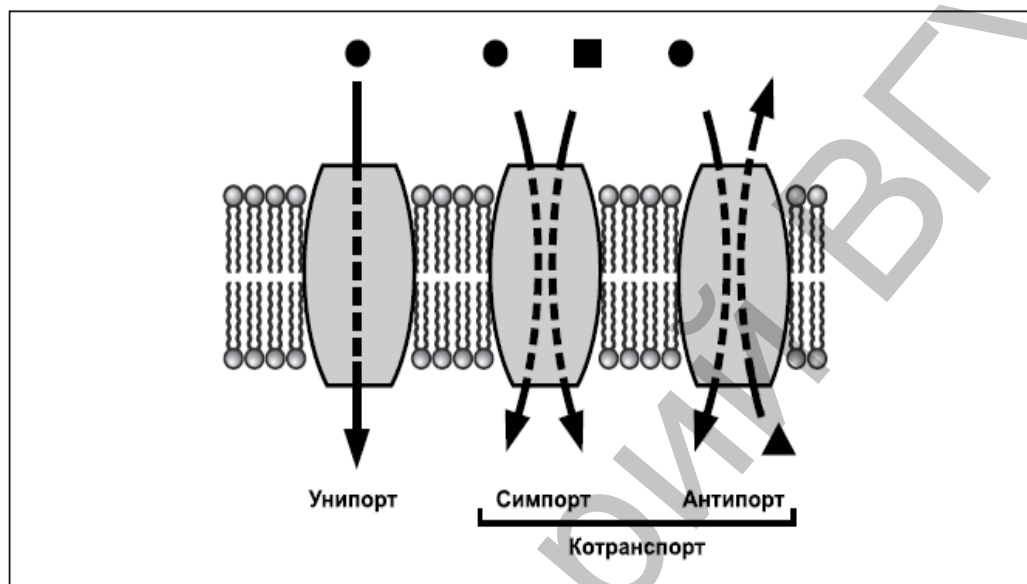


Рис. 7.14. Транспортные системы.

Натрий-кальциевый обменник в плазматических мембранах представляет собой антипорт, который использует электрохимический градиент Na^+ для выталкивания Ca^{2+} из клетки. Этот электрохимический градиент создает Na^+, K^+ -АТФ-аза. Концентрация ионов кальция внутри клетки строго контролируется, поскольку они являются вторичными посредниками ряда гормонов. Поэтому натрий-кальциевый обменник имеет более низкую аффинность к ионам кальция, чем Ca^{2+} -АТФ-аза, но мощность его намного выше (натрий-кальциевый обменник может удалить из цитозоля 2000 ионов кальция за секунду, высокоспецифичная Ca^{2+} -АТФ-аза – только 30).

Ион-селективные каналы являются механизмом транспорта неорганических ионов через мембрану. Ионные каналы определяют проницаемость мембраны для специфических ионов и, вместе с ионными насосами такими как Na^+, K^+ АТФ-аза, регулируют цитозольную концентрацию ионов и мембранный потенциал. В нейронах, быстрое изменение активности ионных каналов вызывает изменение мембранного потенциала (потенциала действия), который передает сигнал от одного конца нейрона к другому. В миоцитах, быстрое открытие Ca^{2+} каналов эндоплазматического ретикулума высвобождает Ca^{2+} , что вызывает сокращение мышц.

Ионные каналы отличаются от ионных переносчиков по меньшей мере 3 признаками. Во-первых, скорость потока через

каналы значительно выше, чем перенос с помощью переносчика – 10^7 - 10^8 ионов на канал в секунду, что близко к теоретическому максимуму скорости для неограниченной диффузии. Во-вторых, ионные каналы ненасыщаемы, их скорость не достигает максимума при высокой концентрации субстрата. В-третьих, они являются «воротами» – открывающимися или закрывающимися в ответ на некоторые внутриклеточные факторы.

7.4.4. Транспорт макромолекул (везикулярный транспорт). Крупные макромолекулы (белки, полисахариды и полинуклеотиды) даже крупные частицы могут как поглощаться, так и секретироваться. При их переносе происходит последовательное образование и слияние окруженных мембраной пузырьков (везикул), т.е. перенос веществ вместе с частью плазматической мембраны.

Фагоцитоз (от греч. *фагос* – есть, *цитос* – клетка) наблюдается в специальных клетках (макрофагах и гранулоцитах). При фагоцитозе происходит захват крупных молекул (вирусы, бактерии, клетки). *Пиноцитоз* (от греч. *пинос* – пить) характерен для всех клеток. Происходит захват жидкости или растворенных компонентов. Пиноцитоз бывает неизбирательный и селективный рецепторно-опосредованный. При *эндоцитозе* поглощенное вещество окружается небольшим участком мембраны, который вначале впячивается, а затем отщепляется, образуя внутриклеточный пузырек, содержащий захваченный клеткой материал. Большинство частиц, поглощенных при эндоцитозе, попадает затем в лизосомы, где они подвергаются деградации.

Интенсивность эндоцитоза зависит от типа клеток. Так, в клетке эпителия тонкого кишечника образуется до 1000 везикул в секунду, а в макрофагах в минуту образуется порядка 125 везикул. Расходуемая на образование внутриклеточных везикул плазматическая мембрана восстанавливается за счет слияния с везикулами в процессе экзоцитоза. В результате этих процессов плазматическая мембрана быстро обновляется. Так у макрофагов вся плазматическая мембрана заменяется за 30 минут, у фибробластов – за два часа (С.Н. Черенкевич и соавт., 2008).

Вещества, высвобождаемые путем экзоцитоза делят на 3 группы: 1) вещества, связывающиеся с клеточной поверхностью как периферические белки – антигены; 2) вещества, включающиеся во внеклеточный матрикс – коллаген, гликозаминогликаны; 3) вещества, входящие во внеклеточную среду, как сигнальные молекулы (инсулин, катехоламины, паратгормон) или ферменты (экзокринные железы, эктоферменты).

7.5. Состояние мембран и здоровье

1. Мутации рецептора к инсулину или переносчиков глюкозы приводит к развитию диабета, мутации ионных каналов – к патологии сердца и нервной системы.

2. Неблагоприятные факторы внешней среды способны инициировать процессы перекисидного окисления липидов мембран, что изменяет их свойства и ведет к развитию болезней.

3. Возраст, нарушения принципов здорового образа жизни (гипокинезия, избыточное потребление легко усвояемых углеводов, холестерина и насыщенных жирных кислот и др.) ведет к накоплению холестерина в мембранах, что снижает их жидкость и ведет к развитию заболеваний атеросклеротической природы.

4. Опухолевая трансформация клеток и инвазивность опухолей связаны с повышением жидкости мембран и приобретением клеток округлой формы.

5. Некоторые токсины действуют на ионные каналы. *Тетродотоксин* и *сакситоксин* являются ядами нервно-паралитического действия, которые действуют на Na^+ каналы мембран нейронов и нарушают образование потенциала. *Тетродотоксин* (tetrodotoxin) продуцируется рыбами различных морей и океанов. Наиболее опасной является рыба-собака, или тетродон, из семейства иглобрюховых (*Tetraodontidae*) отряда иглобрюхообразных (*Tetraodontiformes*). Тетродотоксин содержится в органах и тканях рыбы – печень, икра, молоки. В отличие от прочих рыбных ядов, тетродотоксин не относится к белкам. В Японии эта рыба, называемая фугу (*под Spheroides*), высоко ценится за ее вкусовые качества, но ее приготовление разрешено только в специализированных ресторанах и только поварами, прошедшими особую подготовку. Действие тетродотоксина в 10 раз сильнее действия знаменитого кураре, более чем в 400 раз – стрихнина, в 160 тыс. раз – кокаина. Благодаря своей способности избирательно блокировать передачу нервного импульса, тетродотоксин является превосходным обезболивающим средством. В растворимой форме тетродотоксин применяется в медицине как анальгетик при невралгиях, артритах и ревматизме. В Японии уже сейчас продают тетродотоксин в качестве болеутоляющего. На Востоке давно применяют этот яд для лечения астмы, головных болей, кашля, столбнячных судорог и даже некоторых стадий проказы. Антидот против тетродотоксина неизвестен. *Сакситоксин* (saxitoxin) продуцируется морскими динофлагеллятами *Gonyaulax*). Поступление с пищей устриц или крабов, которые питаются динофлагеллятами *Gonyaulax*, может быть фатальным. Сами устрицы или крабы не чувствительны к сакситоксину, но они накапливают его в мышцах, которые становятся опасными для остальных звеньев пищевой цепи.

Яд зеленой азиатской кобры, содержащий *дендротоксин* (dendrotoxin) ингибирует K^+ каналы. *Тубокурарин* (tubocurarine), активный компонент кураре (используется в качестве яда для стрел в Амазонке), и два токсина яда змей, *кобротоксин* (cobrotoxin, змеи *Naja naja atra*) и *бунгаротоксин* (bungarotoxin, змеи *Bungarus multicinctus*), блокируют рецепторы ацетилхолина и предотвращают открытие ионных каналов. Блокируя пере-

дачу сигналов от нервной системы к мышцам, эти токсины вызывают паралич и при высокой концентрации возможна смерть. Тубокурарин используется при оперативных вмешательствах и в травматологии, при которых требуется релаксация скелетных мышц на период более 1 ч.

Из растений наперстянка (*Digitalis purpurea*), ландыша, горицвета были получены стероидные гликозиды, способные в малых дозах усиливать работу сердца. Эти препараты дигиталиса впервые были применены в 1785 г. В. Витерингом. Гликозиды дигиталиса ингибируют Na^+, K^+ -АТФ-азу, что повышает концентрацию ионов натрия в цитозоле кардиомиоцитов. Ослабление натриевого градиента на мембране (натрий – внеклеточный катион) уменьшает выход кальция посредством натрий-кальциевого обмена. В результате повышается внутриклеточная концентрация ионов кальция, которые усиливают сокращение сердечной мышцы.

7.6. Мембраны или гели?

В 2000 году Джеральд Поллак выпустил книгу «Клетки, гели и движущие силы жизни: новый унифицированный подход к функционированию клетки». Эта книга бросает вызов традиционной мембранологии, то есть науке, согласно которой клетка является микроскопическим резервуаром с жидкостью, целостность которого поддерживается благодаря мембране. Мембрана обладает свойством полупроницаемости, а перенос веществ через мембрану осуществляется с помощью каналов и насосов. Повреждения мембраны – это путь к гибели клеток из-за потери растворенных в воде важнейших внутриклеточных компонентов. Вода рассматривается как универсальный растворитель.

Дж. Поллак утверждает, что роль мембран гипертрофирована; для объяснения новых фактов, связанных с трансмембранным переносом веществ, генерацией потенциалов, взаимодействием с лигандами и пр. строятся все более сложные схемы, зачастую уводящие от беспристрастных законов физики и химии. Дж. Поллак считает, что внутриклеточная вода связана с белками и напоминает гель. Такие представления согласуются с взглядами известных ученых прошлого века Альберта Сцент-Дьерди, Д.Н. Насонова. Физико-химическая природа геля объясняет основные функции клетки. Радикальные изменения структуры клеточного геля запускаются относительно малыми изменениями температуры, давления, pH, механического давления. Такие изменения называют фазовыми переходами (гель – золь) и на их основе можно унифицировать многие свойства клеток (секреция, транспорт веществ, деление, механическое движение и др.). Дж. Поллак задает вопрос, что позволило клетке на ранних этапах эволюции сохранить свою индивидуальность в отличной от нее среде? И вспоминает две точки зрения: первая – это гелеобразный комочек протоплазмы, не смешивающийся со средой и вторая – это водный раствор соединений, не смешивающихся с окружающей клетку водой, благодаря наличию на ее границе тонкой полупроницаемой мембраны, избирательно пропускающей вещества.

Судя по материалам текущей лекции, победила вторая точка зрения, а согласно представлениям Дж. Поллака и ряда его единомышленников предпочтительна первая точка зрения. На наш взгляд, истина где-то между обеими точками зрения, поэтому врачу и биологу необходимо считаться с обоими научно-методическими подходами при трактовке тех или иных свойств и функций клеток.

Глава 8. ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

Метаболизм (metabole – греч. изменение, превращение) – это совокупность процессов превращения веществ и энергии в организме, происходящих с участием ферментов. В наиболее употребительном значении термин «метаболизм» равнозначен «обмену веществ». В точном смысле «метаболизм» означает промежуточный обмен, т.е. превращение веществ внутри клеток с момента их поступления до образования конечных продуктов. Вещества, участвующие в метаболизме, называются метаболитами.

8.1. Функции метаболизма

1. Обеспечение организма энергией, полученной при расщеплении *богатых энергией пищевых веществ* или путем *преобразования энергии солнца*.

2. Превращение пищевых молекул в *предшественники*, которые используются в клетке для биосинтеза собственных макромолекул.

3. Сборка *макромолекулярных* (биополимеры) и *надмолекулярных структур* живого организма, т.е. пластическое и энергетическое поддержание его структуры.

4. Синтез и разрушение биомолекул, выполняющих специфические функции в организме (мембранные липиды, внутриклеточные посредники и пигменты).

Основные типы химических реакций в метаболизме представлены в таблице 8.1. Эти реакции носят ферментативный характер, поэтому классификация типов химических реакций совпадает с классификацией ферментов.

Таблица 8.1. Типы химических реакций в метаболизме

Тип реакции	Описание
Окисление-восстановление	Перенос электронов
Присоединение с использованием энергии гидролиза АТФ	Образование ковалентных связей (например, углерод-углерод)
Изомеризация	Изменения расположения атомов, ведущие к образованию изомеров
Перенос групп	Перенос функциональных групп от молекулы к молекуле
Гидролиз связей	Разрыв связей в присутствии воды
Добавление или удаление функциональных групп	Присоединение функциональных групп к двойным связям и удаление функциональных групп с образованием двойных связей

Ферментативная цепь химических реакций называется *метаболическим путем*. Метаболические пути связаны друг с другом общими метаболитами и образуют единую сетку реакций – *карту метаболизма*. В метаболическом пути продукты одной реакции становятся субстратом для следующей реакции. Большую роль в ферментативных реакциях метаболизма играют переносчики (табл. 8.2).

Таблица 8.2. Активные переносчики в метаболизме

Переносчик в активной форме	Переносимая группа	Витамин-предшественник
АТФ	Фосфорильная группа	
НАДН и НАДФН	Электроны	Ниацин
ФМНН ₂ , ФАДН ₂	Электроны	Витамин В ₂
КоА	Ацильные остатки	Пантотеновая кислота
Липоевая кислота	Ацильные остатки	
Тиаминпирофосфат	Альдегидная группа	Тиамин
Биотин	СО ₂	Витамин Н
Тетрагидрофолиевая кислота	Одноуглеродные группы	Фолиевая кислота
S-аденозилметионин	Метильная группа	
УДФ-глюкоза	Глюкоза	
Цитидиндифосфатдиацилглицерол	Фосфатидная кислота	
Нуклеозидтрифосфаты	Нуклеотиды	

Некоторые метаболические пути являются *линейными*, некоторые – *разветвленными*, позволяя получать несколько конечных продуктов из одного предшественника или превращать несколько исходных веществ в один продукт. Существуют *циклические* метаболические пути, в результате которых одно из веществ, вступающих в метаболический путь, регенерирует в серии последовательных реакций, которые превращают другое вещество, вступающее в метаболический путь в конечный продукт.

Метаболический ответ организма – совокупность биохимических реакций организма, скорости и направленности их протекания при воздействии какого-либо фактора.

По *форме усвояемого углерода* все живые организмы делятся на две группы:

1. *Автотрофные клетки* («сами себя питающие») усваивают CO_2 воздуха в процессе фотосинтеза и из него строят все свои органические вещества (фотосинтезирующие бактерии, зеленые растения).

2. *Гетеротрофные клетки* («питающиеся за счет других») получают углерод из сложных органических соединений (клетки высших животных и большинства микроорганизмов), т.е. они питаются продуктами жизнедеятельности других клеток.

В биосфере автотрофы и гетеротрофы являются участниками кругооборота углерода и кислорода между животным и растительным мирами: автотрофы используют атмосферный CO_2 для синтеза органических молекул и многие из них выделяют кислород из воды в результате этого процесса; гетеротрофы используют органические продукты автотрофов как источник питания и выделяют CO_2 и воду.

Все живые организмы нуждаются в азоте, который используется для синтеза аминокислот, нуклеотидов и других веществ. Растения в качестве источника азота используют аммиак или растворимые нитраты; позвоночные получают азот в форме аминокислот или других органических компонентов. Только некоторые организмы (цианобактерии и почвенные бактерии), которые живут на корнеплодах растений, способны фиксировать атмосферный азот и образовывать мочевины. Некоторые бактерии (нитрифицирующие бактерии) окисляют аммиак до нитритов и нитратов или превращают нитраты в N_2 . Таким образом, кругооборот углерода, кислорода и азота, в который вовлечены все живые организмы, зависит от баланса между активностью продуцента (автотрофы) и потребителя (гетеротрофы) в биосфере.

По *отношению к кислороду* гетеротрофы делятся на:

- 1) *аэробы* – требуют наличия кислорода для окисления веществ;
 - 2) *анаэробы* – для окисления питательных веществ кислород не требуется;
 - 3) *факультативные анаэробы* – существуют в кислородной и бескислородной среде;
 - 4) *облигатные анаэробы* – живут только в бескислородной среде.
- Большинство гетеротрофов – факультативные анаэробы, которые при наличии кислорода используют аэробные метаболические пути.

8.2. Регуляция метаболизма

Регуляция метаболизма необходима по следующим причинам:

1. Регуляция каждого метаболического пути обеспечивает синтез веществ, необходимых для сохранения структуры и функции клеток, в оптимальных количествах.

2. Регуляция процессов образования энергии в клетке обеспечивает контроль количества поступающих питательных веществ, необходимых для ее продукции.

3. В результате увеличения или уменьшения скорости специфических реакций, клетка относительно быстро реагирует на изменение условий окружающей среды (температуру, pH, ионный состав, концентрацию питательных веществ).

8.2.1. Основные механизмы регуляции метаболизма

Существуют следующие механизмы регуляции метаболизма: изменение активности ферментов, количества ферментов, проницаемости клеточных мембран.

1. Изменение *активности ферментов* – самый распространенный способ регуляции метаболизма. Регуляции подвержены «ключевые» ферменты, которые определяют скорость всего полиферментного процесса. Как правило, такие ферменты состоят из субъединиц – олигомерны. Активность фермента зависит от количества, доступности и химического строения субстрата катализируемой реакции, от условий протекания ферментативной реакции в клетке (рН, температуры и др.), от наличия эффекторов (активаторов, ингибиторов), от строения фермента (наличие химической модификации, доступности кофакторов) и др. Изменение активности ферментов играет принципиальную роль в регуляции метаболизма конечными продуктами (ретроингибирование) и реже первыми продуктами (форактивация).

2. Изменение *количества фермента* в клетке осуществляется путем индукции или репрессии генов, а также его протеолитической деградации в клетке. Ферменты, которые присутствуют в клетке в относительно постоянном количестве, называются *конститутивными*. Ферменты, количество которых резко изменяется в зависимости от метаболической ситуации, называются *адаптивными* или *индуцибельными*. Индуцибельные ферменты и их изоферменты чувствительны к протеолизу. Индукция или репрессия генов регулируется гормонами или другими субстратами.

3. Изменение *проницаемости мембран*, или точнее – изменение целого комплекса функций мембран (изменение скоростей потоков метаболитов, газов в клетку и из клетки; компартментализация метаболических процессов, изменение электрохимического потенциала, передача нервных импульсов, функционирование рецепторов др.). Эти три основных механизма лежат в основе действия гормонов.

В организме человека координация метаболизма осуществляется *нервной и эндокринной* системами. Нервная система обеспечивает быструю реакцию на изменение окружающей среды путем передачи информации в виде электрических сигналов. Отростки нервных клеток, достигнув соседних клеток или клеток-исполнителей, посредством секреции медиаторов в синапсы обеспечивают специфический ответ этих клеток. В эндокринной системе секретируются гормоны, которые поступают в кровь. Большинство гормонов изменяют метаболизм за счет влияния на активность или количество ферментов.

8.2.2. Фазы метаболизма

Метаболизм складывается из 2-х фаз – *катаболизм* и *анаболизм*.

Катаболизм – это *ферментативное расщепление* крупных пищевых или депонированных молекул (углеводов, липидов, белков) до более простых (лактат, H_2O , CO_2 , NH_3) с *выделением энергии* и запасанием ее в виде АТФ или восстановительных эквивалентов (НАДН, НАДФН, ФАДН₂). Катаболизм включает 3 стадии.

1 стадия – превращение полимеров в мономеры (крахмал и гликоген – в глюкозу, белки – в аминокислоты, триацилглицерол – в глицерин и жирные кислоты).

лы – в жирные кислоты и глицерол, нуклеиновые кислоты – в нуклеотиды и т.д.). Первая стадия превращения пищевых молекул протекает в желудочно-кишечном тракте и называется перевариванием.

2 стадия (специфические пути катаболизма) – мономеры превращаются в общие промежуточные продукты – пируват и ацетил-КоА;

3 стадия (общий путь катаболизма) – окисление ацетильной группы ацетил КоА до CO_2 и H_2O . 3 стадия катаболизма включает: 1) цикл трикарбоновых кислот, 2) цепи переноса электронов и 3) окислительное фосфорилирование.

Анаболизм – ферментативный синтез крупных полимерных молекул из простых предшественников с *затратой АТФ* или восстановительных эквивалентов НАДН, НАДФН и ФАДН₂.

Стадии анаболизма:

1 стадия – третья стадия катаболизма, т.е. цикл трикарбоновых кислот;

2 стадия – образование мономеров по реакциям, обратным реакциям катаболизма;

3 стадия – синтез полимеров из мономеров.

Амфиболические пути расположены в точках переключения метаболизма и связывают анаболизм и катаболизм.

Амфиболическим путем метаболизма является цикл трикарбоновых кислот.

Анаболизм и катаболизм не являются простым обращением реакций. Катаболические и анаболические пути должны отличаться хотя бы одной из ферментативных реакций, чтобы регулироваться независимо. Например, специфический путь распада глюкозы до лактата (анаэробный гликолиз) включает 11 реакций; обратный процесс – синтез глюкозы из лактата (глюконеогенез) включает 8 обратимых реакций и 3 дополнительные реакции с новыми наборами ферментов. Именно на этих стадиях за счет направленного изменения активности ферментов регулируются суммарные скорости распада и синтеза глюкозы. Кроме того, реакции катаболизма и анаболизма часто *разделены мембранами* и протекают в разных компартментах клеток. Например, распад жирных кислот протекает в митохондриях, а синтез – в цитозоле. Локализация специфических метаболических процессов в различных отсеках клеток облегчает независимую регуляцию этих процессов.

Метаболический статус (status – состояние на какой-либо момент времени) – взаимоотношение анаболических и катаболических процессов в организме на определенный момент времени.

8.3. Введение в биоэнергетику

Биоэнергетика, или *биохимическая термодинамика*, занимается изучением энергетических превращений, сопровождающих биохимические реакции.

Напомним, что изменение свободной энергии (ΔG) – это та часть изменения внутренней энергии системы, которая может превращаться в работу. Иначе говоря, это полезная энергия и выражается уравнением

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S,$$

где ΔH – изменение энтальпии (теплоты), T – абсолютная температура, ΔS – изменение энтропии. Энтропия служит мерой неупорядоченности, хаотичности системы и возрастает при самопроизвольных процессах.

Если значение ΔG отрицательное, то реакция протекает самопроизвольно и сопровождается уменьшением свободной энергии. Такие реакции называют *экзергоническими*. Если значение ΔG положительное, то реакция будет протекать только при поступлении свободной энергии извне; такая реакция называется *эндэргонической*. При ΔG равно нулю система находится в равновесии. Величина ΔG при стандартных условиях протекания химической реакции (концентрация веществ-участников 1,0 М, температура 25 °С, рН 7,0) обозначается ΔG^0 и называется стандартной свободной энергией реакции.

Зная величину ΔG^0 , можно вычислить константу равновесия реакции K'_{eq} , которая выражается отношением произведений равновесных концентраций продуктов реакции и исходных веществ (штрих означает, что константа равновесия отвечает рН 7,0). Для реакции $A+B \leftrightarrow C+D$ константа K'_{eq} вычисляется из концентраций компонентов реакции, измеренных в условиях равновесия, когда их концентрации перестали изменяться: $K'_{eq} = [C] \times [D] / [A] \times [B]$. Связь между величинами ΔG^0 и K'_{eq} описывается уравнением:

$$\Delta G^0 = -R \times T \times \ln K'_{eq} = -2,303 R \times T \times \log_{10} K'_{eq},$$

где R – газовая постоянная (8,315 кДж×моль⁻¹×К⁻¹), T – абсолютная температура в градусах Кельвина (298К=25 °С). При 25 °С $R \times T = 2,478$ кДж×моль⁻¹.

Если $\Delta G^0=0$, то $K'_{eq} = 1$. При увеличении значений ΔG^0 до +5,7; +11,4; +17,1 величины K'_{eq} будут соответственно уменьшаться 0,1; 0,01; 0,001. И, наоборот, при уменьшении значений ΔG^0 до -5,7; -11,4; -17,1 величины K'_{eq} будут соответственно увеличиваться до 10; 100; 1000.

Жизненно важные процессы в организме – реакции синтеза, мышечное сокращение, проведение нервного импульса, транспорт через мембраны – получают энергию путем химического сопряжения с окислительными реакциями, в результате которых

происходит высвобождение энергии. Т.е. эндэргонические реакции в организме сопряжены с экзэргоническими (рис. 8.1).

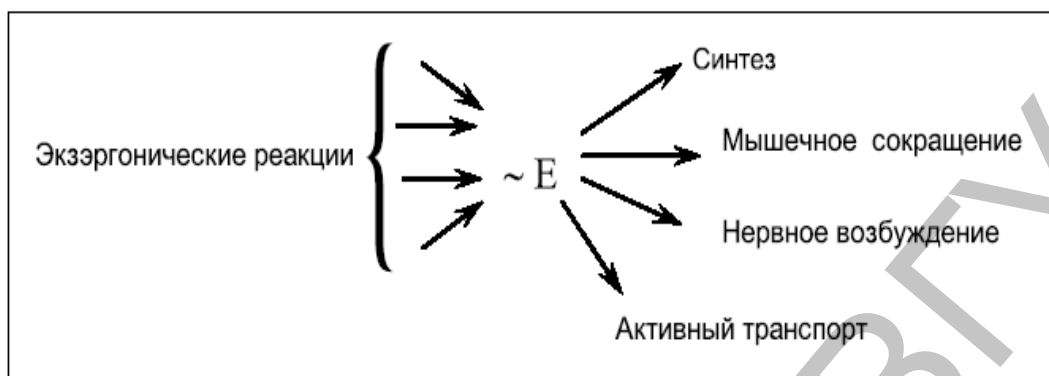


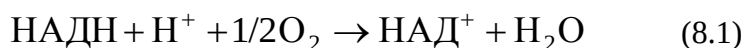
Рис. 8.1. Сопряжение экзэргонических процессов с эндэргоническими.

Для сопряжения эндэргонических реакций с экзэргоническими реакциями необходимы аккумуляторы энергии в организме, в которых запасается примерно 50% энергии.

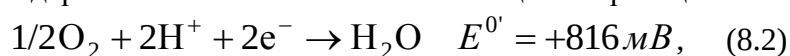
8.3.1. Аккумуляторы энергии в организме

1. *Внутренняя мембрана митохондрий* – это промежуточный аккумулятор энергии при получении АТФ. За счет энергии окисления веществ происходит «выталкивание» протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. В результате создается электрохимический потенциал (ЭХП) на внутренней мембране митохондрий. При разрядке мембраны энергия электрохимического потенциала трансформируется в энергию АТФ: $E_{\text{окисл.}} \rightarrow E_{\text{ЭХП}} \rightarrow E_{\text{АТФ}}$. Для реализации этого механизма внутренняя мембрана митохондрий содержит ферментативную цепь переноса электронов на кислород и АТФ-синтазу (протонзависимую синтазу АТФ).

Дыхательная цепь митохондрий (цепь переноса электронов) – это комплекс ферментов, катализирующих сопряженный с генерацией электрохимического градиента протонов процесс переноса электронов от восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) на кислород. То есть, дыхательная цепь катализирует реакцию



Из-за большой разности окислительно-восстановительных потенциалов акцептора (O_2) и донора (НАДН) электронов реакция (8.1) является высокоэкзэргонической. Рассчитаем энергию, выделяющуюся в этой реакции с использованием стандартных восстановительных потенциалов реакций



где $E^{0'}$ – обозначение стандартного восстановительного потенциала при рН 7,0. Значение разности редокс-потенциалов для реакции (8.1) составляет

+1136 мВ. Соотношение между свободной энергией Гиббса и редокс-потенциалом описывается выражением:

$$\Delta G^{0'} = -zF\Delta E^{0'}, \quad (8.4)$$

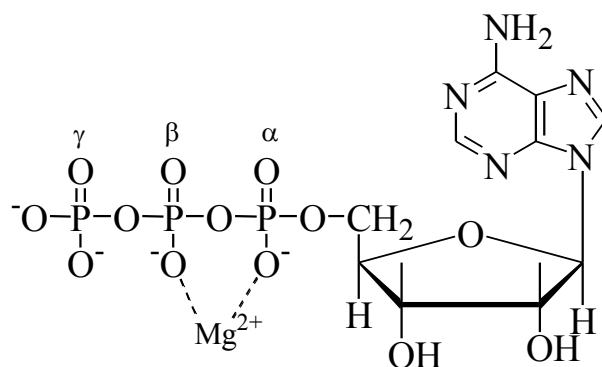
где $\Delta G^{0'}$ – изменение свободной энергии Гиббса при рН 7,0, z – число переносимых в редокс-реакции электронов, F – число Фарадея, $\Delta E^{0'}$ – разность редокс-потенциалов. В стандартных условиях для реакции (8.1) $\Delta G^{0'} = -219,2$ кДж/моль. Если бы реакция (8.1) протекала без участия ферментов, то выделение такого количества энергии привело бы к разрушению внутриклеточных структур. Фактически дыхательная цепь «разбирает» на части энергию реакции взаимодействия НАДН и кислорода, и проводит эту реакцию так, чтобы энергия запасалась при создании электрохимического градиента. Таким образом, ферменты дыхательной цепи не только увеличивают скорость химической реакции (многие окислительно-восстановительные реакции мгновенно протекают в водных растворах и без ферментов), но и обеспечивают последовательный перенос электронов от одного компонента дыхательной цепи к другому (С.Н.Черенкевич и соавт., 2008).

2. АТФ и другие макроэргические соединения. Материальным носителем свободной энергии в органических веществах являются химические связи между атомами. Обычным энергетическим уровнем возникновения или распада химической связи является $\sim 12,5$ кДж/моль. Однако имеется ряд молекул, при гидролизе связей которых выделяется более 21 кДж/моль энергии (табл. 8.3). К ним относятся соединения с макроэргической фосфоангидридной связью (АТФ), а также ацилфосфаты (ацетилфосфат, 1,3-бисфосфоглицерат), енол-фосфаты (фосфоенолпируват) и фосфогуанидины (фосфокреатин, фосфоаргинин).

Таблица 8.3. Стандартная свободная энергия гидролиза некоторых фосфорилированных соединений

Соединение	$\Delta G^{0'}$ (кДж/моль)
Фосфоенолпируват	-61,9
1,3-Бисфосфоглицерат	-49,4
Ацетил-фосфат	-43,1
Фосфокреатин	-43,1
Пирофосфат (PP _н)	-33,5
АТФ (→АМФ+PP_н)	-32,2
АТФ (→АДФ+P_н)	-30,5
Глюкозо-1-фосфат	-20,9
Фруктозо-6-фосфат	-13,8
Глюкозо-6-фосфат	-13,8
Глицерол-3-фосфат	-9,2

Основным макроэргическим соединением в организме человека является АТФ.



В АТФ цепочка из трех фосфатных остатков связана с 5'-ОН группой аденозина. Фосфатные (фосфорильные) группы обозначаются как α , β и γ . Два остатка фосфорной кислоты соединены между собой фосфоангидридными связями, а α -остаток фосфорной кислоты – фосфоэфирной связью. При гидролизе АТФ в стандартных условиях выделяется -30,5 кДж/моль энергии. При физиологических значениях рН АТФ несет четыре отрицательных заряда. Одной из причин относительной нестабильности фосфоангидридных связей является сильное отталкивание отрицательно заряженных атомов кислорода, которое ослабевает при гидролитическом отщеплении концевой фосфатной группы. Поэтому такие реакции являются высоко экзергоническими. В клетках АТФ находится в комплексе с ионами Mg^{2+} или Mn^{2+} , координационно связанными с α - и β -фосфатом, что увеличивает изменение свободной энергии при гидролизе АТФ до 52,2 кДж/моль.

Центральное место в приведенной шкале (табл. 8.3) занимает цикл $АТФ \leftrightarrow АДФ + Р_n$. Это позволяет АТФ быть как универсальным аккумулятором, так и универсальным источником энергии для живых организмов.

В клетках теплокровных АТФ как универсальный аккумулятор энергии возникает двумя путями:

1) аккумулирует энергию более энергоемких соединений, стоящих выше АТФ в термодинамической шкале без участия O_2 – *субстратное фосфорилирование*: $S \sim P + АДФ \rightarrow S + АТФ$;

2) аккумулирует энергию электрохимического потенциала при разрядке внутренней мембраны митохондрии – *окислительное фосфорилирование*.

АТФ является универсальным источником энергии для совершения основных видов работы клетки (передача наследственной информации, мышечное сокращение, трансмембранный перенос веществ, биосинтезы): 1) $АТФ + H_2O \rightarrow АДФ + Р_n$; 2) $АТФ + H_2O \rightarrow АМФ + РР_n$.

Во время интенсивных упражнений скорость использования АТФ может достигать 0,5 кг/мин. Использование АТФ при работе (рис. 8.2).

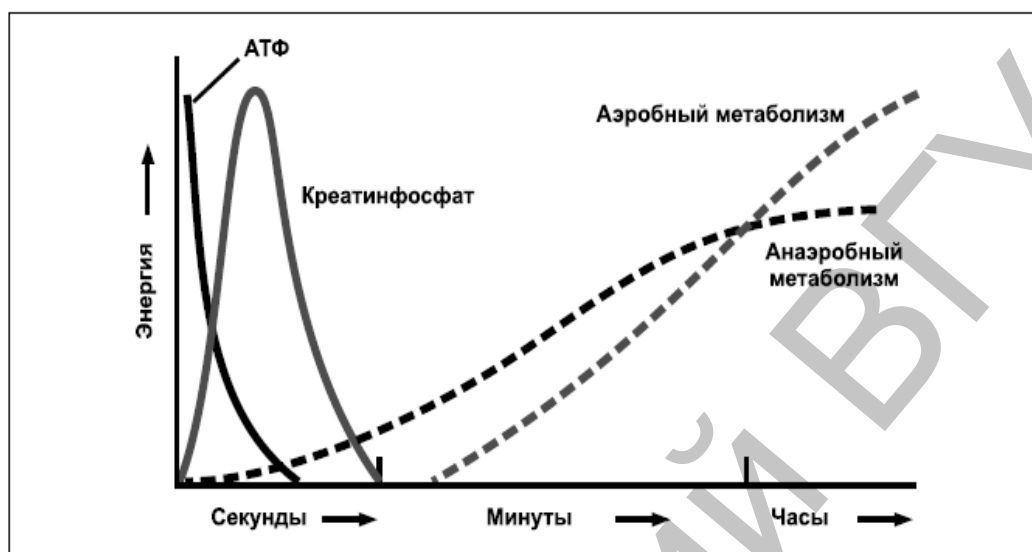


Рис. 8.2. Источники АТФ в процессе физической нагрузки (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

В первые секунды физические упражнения обеспечиваются энергией гидролиза АТФ и креатинфосфата. АТФ способна регенерироваться в метаболических путях. АТФ – это немедленный источник энергии для работающих клеток. В типичной клетке молекула АТФ потребляется в течение минуты после ее образования. Общее количество АТФ в организме человека около 100 г. Обмен АТФ весьма интенсивный. Например, человек в состоянии покоя потребляет за сутки 40 кг АТФ. В процессе 2-х часового бега расходуется 60 кг АТФ. При более длительных нагрузках необходимое количество АТФ образуется в анаэробных и аэробных метаболических процессах. *Образование АТФ является основной целью реакций катаболизма.*

Если ферментативная реакция термодинамически невыгодна, то она может осуществиться при сопряжении с реакцией гидролиза АТФ. Гидролиз молекулы АТФ изменяет равновесное отношение субстратов и продуктов в сопряженной реакции в 10^8 раз.

Для количественной оценки энергетического состояния клетки используют показатель – *энергетический заряд*. Многие реакции метаболизма контролируются энергетическим обеспечением клеток, который контролируется энергетическим зарядом клетки. Энергетический заряд может колебаться от 0 (все АМФ) до 1 (все АТФ). Согласно Д.Аткинсону, образующие АТФ ката-

болические пути ингибируются высоким энергетическим зарядом клетки, а утилизирующие АТФ анаболические пути стимулируются высоким энергетическим зарядом клетки. Оба пути функционируют одинаково при энергетическом заряде, близком к 0,9 (точка перекреста на рисунке 8.3). Следовательно, энергетический заряд, подобно рН, является буферным регулятором метаболизма (соотношения катаболизма и анаболизма). В большинстве клеток энергетический заряд колеблется в пределах 0,80–0,95.

$$\text{Энергетический заряд} = \frac{[\text{АТФ}] + 1/2[\text{АДФ}]}{[\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АМФ}]}$$

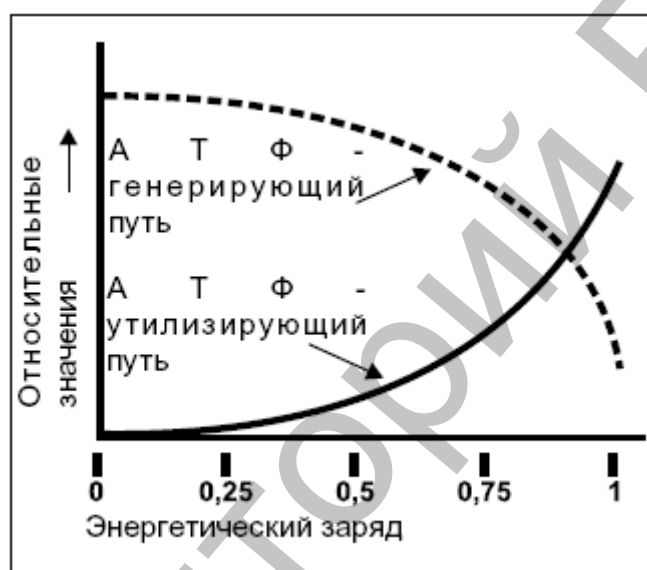


Рис. 8.3. Регуляция метаболизма энергетическим зарядом клетки.

Подписи: по оси абсцисс – Относительные значения; по оси абсцисс – Энергетический заряд. Внутри графика сверху вниз: АТФ-генерирующие пути; АТФ-утилизирующие пути

Дополнительным индексом энергетического статуса является *потенциал фосфорилирования*, который зависит от концентрации неорганического фосфата и используется при фосфорилировании-дефосфорилировании ферментов, связанных с резервированием или использованием краткосрочного резерва энергии – гликогена.

$$\text{Потенциал фосфорилирования} = [\text{АТФ}] / [\text{АДФ}] \times [\text{Рнеорг.}]$$

К макроэргическим соединениям относят также нуклеозидтрифосфаты, которые обеспечивают энергией ряд биосинтезов: УТФ – углеводов; ЦТФ – липидов; ГТФ – белков. В биоэнергетике мышц важное место занимает креатинфосфат.

3. $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный. Это специальный аккумулятор с высокой энергией, который используется в клетке (цитозоль) для биосинтезов.

$R-CH_3 + НАДФН_2 + O_2 \rightarrow R-CH_2OH + H_2O + НАДФ^+$ (здесь показано создание ОН-группы в молекуле).

8.3.2. Фазы извлечения энергии из питательных веществ

Освобождение энергии в живой клетке осуществляется постепенно, благодаря этому на различных этапах ее выделения она может аккумулироваться в удобной для клетки химической форме в виде АТФ.

Различают три фазы, которые совпадают со стадиями катаболизма.

Первая фаза – подготовительная. На этой стадии происходит распад полимеров до мономеров в желудочно-кишечном тракте или внутри клеток. Освобождается до 1% энергии субстратов, которая рассеивается в виде тепла.

Вторая фаза – распад полимеров до общих промежуточных продуктов. Для нее характерно частичное (до 20%) освобождение энергии, заключенной в исходных субстратах. Часть этой энергии аккумулируется в фосфатных связях АТФ, а часть рассеивается в виде тепла.

Третья фаза – распад веществ до CO_2 и H_2O с участием кислорода. Примерно 80% всей энергии химических связей веществ освобождается в данной фазе, которая сосредотачивается в фосфатных связях АТФ.

8.4. Введение в биохимию питания и пищеварения

8.4.1. Компоненты пищи

Человек и животные являются гетеротрофами, т.е. получают питательные вещества и энергию извне в виде органических соединений.

Выделяют *основные компоненты* пищи – белки, липиды, углеводы, и *минорные* компоненты – витамины и микроэлементы. Соотношение основных компонентов в пище должно составлять 1:1:4, т.е. 100 г белков, 100 г липидов и 400 г углеводов. Энергетическая ценность 1 г белков – 4,1 ккал (17,2 кДж), 1 г жиров – 9,3 ккал (39 кДж), 1 г углеводов – 4,1 ккал (17,9 кДж). Эти компоненты определяют *энергетическую ценность* пищи и их соотношение в зависимости от выполняемой работы может временно изменяться. Одной из причин злоупотребления алкоголем является достаточно высокая энергетическая ценность этанола: при окислении 1 г этого спирта освобождается 7,1 ккал (29,7 кДж).

Биологическая ценность пищи определяется ее компонентами, не способными синтезироваться в организме. Из 100 г белков 50% должны составлять белки *животного происхождения*, так как в них содержатся незаменимые аминокислоты. Из 100 г жиров – 25% растительные масла, так как в них находятся *полиненасыщенные жирные кислоты* (линолевая, линоленовая), которые не синтезируются в организме. Из 400 г углеводов 30 г должно приходиться на клетчатку, необходимую для перистальтики кишечника. Витамины сохраняют свою роль как внутриклеточные регуляторы метаболизма, но высшие животные и человек утратили способность к их биосинтезу в процессе эволюции. Например, для жизнедеятельности *E.coli* достаточно глюкозы и органических солей, а для человека необходимо, чтобы в пище содержалось как минимум 12 витаминов.

В настоящее время для коррекции структуры питания широко применяются биологически активные добавки к пище (БАД). БАД – это концентраты натуральных или идентичных натуральным биологически активных веществ, предназначенные для непосредственного приема или введения в состав пищевых продуктов. В соответствии с действующим законодательством, БАД относятся к пищевым продуктам, а не к лекарственным средствам. В Российской Федерации выделяют три группы БАД:

1. *Нутрицевтики* – природные компоненты пищи, такие как витамины или их близкие предшественники (например, β -каротины), полиненасыщенные жирные кислоты семейства ω (омега)-3, ω -6, некоторые моно- и дисахариды; пищевые волокна (целлюлоза, пектины) и др., предназначенные для коррекции химического состава пищи человека.

2. *Парафармацевтики* – это БАД, применяемые для профилактики, вспомогательной терапии и поддержки в физиологических границах функциональной активности органов и систем.

3. *Эубиотики (или пробиотики)* – это БАД, в состав которых входят живые микроорганизмы и (или) их метаболиты, оказывающие нормализующее воздействие на состав и биологическую активность микрофлоры пищеварительного тракта.

Глава 9. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ЦЕПЬ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Перенос фосфатной группы на АДФ с образованием АТФ является важнейшей реакцией биоэнергетики. Важным источником энергии для этой реакции является перенос электронов при окислительно-восстановительных реакциях. Эти реакции включают потерю электронов одной молекулой, которая окисляется, и получение электронов другой молекулой, которая восстанавливается. Движение электронов при окислительно-восстановительных

реакциях является необходимым для выполнения любого вида работы. У нефотосинтезирующих организмов источником электронов являются восстановленные компоненты (пища); у фотосинтезирующих организмов донором электронов являются химические молекулы, которые переходят в возбужденное состояние под действием света.

Путь движения электронов в метаболизме сложен. Электроны движутся от различных метаболитов к специальным переносчикам электронов; переносчики затем отдают электроны акцепторам, обладающим высоким сродством, что сопровождается выделением энергии. Клетки содержат различные молекулярные преобразователи энергии, которые превращают энергию транспорта электронов в полезную работу.

9.1. Пути потребления кислорода (биологическое окисление)

В основе биологического окисления лежат *окислительно-восстановительные процессы, определяемые переносом электронов*. Вещество *окисляется, если теряет электроны* или одновременно электроны и протоны (водородные атомы, дегидрирование) или присоединяет кислород (оксигенирование). Противоположные превращения – восстановление.

Способность молекул отдавать электроны другой молекуле определяется *окислительно-восстановительным потенциалом* (редокс-потенциалом, E^0 , или ОВП). Редокс-потенциал определяют путем измерения электродвижущей силы в вольтах. В качестве стандарта принят редокс-потенциал реакции при рН 7,0: $\text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$, равный -0,42 В. Чем меньше потенциал окислительно-восстановительной системы, тем легче она отдает электроны и в большей степени является восстановителем. Чем выше потенциал системы, тем сильнее выражены ее окислительные свойства, т.е. способность принимать электроны. *Это правило лежит в основе последовательности расположения промежуточных переносчиков электронов от водородов субстратов до кислорода.*

Редокс-потенциалы E^0 связаны с изменением свободной энергии ΔG^0 уравнением Нернста: $\Delta E^0 = -\Delta G^0 / nF$, где n – число перенесенных в реакции электронов, F – постоянная Фарадея ($96,5 \text{ кДж} \times \text{В}^{-1} \times \text{моль}^{-1}$), ΔE^0 – разность редокс-потенциалов электронно-донорной и электронно-акцепторной пар. Промежуточные переносчики электронов располагаются так, что ΔE^0 постоянно уменьшается, а редокс-потенциал, соответственно возраста-

ет. Таким образом, на каждом этапе передачи электрона соседнему по цепи переносчику *высвобождается свободная энергия*.

9.1.1. Редокс-потенциал (по Г.Г.Мартинovich, С.Н.Черенкевич, 2007). Стандартные редокс-потенциалы участников основных биохимических реакций при $pH\ 7,0$ располагаются в диапазоне от -420 мВ ($2H^+/H_2$) до $+820\text{ мВ}$ (O_2/H_2O). Эти значения можно рассматривать как два крайних состояния воды при стандартных условиях: предельная оксигенация с $E = +820\text{ мВ}$ и деоксигенация с предельным насыщением газообразным водородом с $E = -420\text{ мВ}$. Стандартные восстановительные потенциалы некоторых участников биохимических реакций в организме представлены в табл. 9.1. Восстановители или вещества, являющиеся донорами электронов в биологических системах, имеют высокое отрицательное значение восстановительного потенциала. Окислители или акцепторы электронов имеют высокие положительные значения восстановительного потенциала.

Установление величины восстановительного потенциала редокс-реакции позволяет определить преимущественное направление переноса электронов между участниками реакции. В любой окислительно-восстановительной реакции участвует две пары веществ. Например, в реакции $CoQ\dot{-} + O_2 \rightarrow CoQ + \dot{O}_2^-$ первая редокс-пара состоит из восстановленной формы $-CoQ\dot{-}$ (анион-радикала семихинона) и окисленной формы CoQ (убихинона), вторая редокс-пара состоит из восстановленной формы $-\dot{O}_2^-$ и окисленной формы O_2 .

Таблица 9.1. Редокс-пары и их стандартные восстановительные потенциалы (при $pH\ 7,0$)

Редокс-пара	E^0 (мВ)
$\dot{O}H, H^+/H_2O$	+2180
$\dot{O}H/NO^-$	+1900
$O_3, H^+/H\dot{O}_3$	+1800
$R\dot{O}, H^+/ROH$	+1600
$NO^+/N\dot{O}$	+1200
$O_3/\dot{O}_3^-$	+1040
$RO\dot{O}, H^+/ROOH$	+1000
$\dot{O}_2^-, 2H^+/H_2O_2$	+940
$G\dot{S}, H^+/GSH$	+900
$O_2, 2H^+/H_2O$	+820
$T\dot{O}, H^+/TOH$	+500
$H_2O_2, H^+/H_2O, \dot{O}H$	+320
$A\dot{K}, H^+/AK$	+282

Редокс-пара	E^0 (мВ)
CoQ, 2H ⁺ /CoQH ₂	+100
ДАК, Н ⁺ /АК	+58
CoQ/CoQ ^{•-}	-40
O ₂ /O ₂ ^{•-}	-137
ДАК/АК	-174
GSSG/2GSH	-240
НАД ⁺ /НАДН	-320
НАДФ ⁺ /НАДФН	-320
2H ⁺ /H ₂	-420

Стандартное значение редокс-потенциала для пары – CoQ/Co CoQ^{•-} при pH 7,0 составляет –40 мВ. Стандартное значение редокс-потенциала для пары O₂/O₂^{•-} при pH 7,0 составляет –137 мВ. Значение разности редокс-потенциалов ($\Delta E = E^0$ кислорода – E^0 убихинона = –97 мВ < 0) между этими двумя редокс-парами указывает на то, что при стандартных условиях в соответствии с вышеприведенным уравнением будет протекать обратная реакция, т. е. перенос электронов будет происходить с кислорода на убихинон.

Анализ уравнения Нернста указывает на то, что изменение концентрации окисленной или восстановленной форм участников окислительно-восстановительных реакций может существенно изменить скорость и направление переноса электронов. Следует отметить, что знание значений восстановительных потенциалов позволяет предсказать направление переноса электронов в системах только при стандартных условиях. Редокс-потенциал представляет собой меру свободной энергии реакции окисления-восстановления для любой замкнутой окислительно-восстановительной системы, находящейся в состоянии равновесия.

Живой организм принципиально отличается от такой системы. В организме протекают не отдельные, изолированные окислительно-восстановительные реакции, которые рассматриваются в классической физической химии, а существует система таких реакций. Однако, хотя организм и является открытой системой, поскольку он постоянно обменивается веществом и энергией с окружающей средой, по ряду показателей он характеризуется постоянством ряда своих свойств во времени, т. е. находится в стационарном состоянии.

При изучении окислительных процессов в клетках целесообразно придерживаться следующей схемы использования кислорода (табл. 9.2).

Здесь рассматриваются три основных пути: 1) окисление субстрата путем дегидрирования с переносом двух атомов водорода на атом кислорода с образованием H₂O (энергия окисления аккумулируется в форме АТФ, на этот процесс расходуется более 90% кислорода) или молекулу кислорода с образованием H₂O₂; 2) присоединение атома кислорода с образованием гидроксильной

группы (повышение растворимости субстрата) или молекулы кислорода (метаболизм и обезвреживание устойчивых ароматических молекул); 3) образование кислородных свободных радикалов, служащих как для защиты внутренней среды организма от чужеродных макромолекул, так и для повреждения мембран в механизмах окислительного стресса.

Таблица 9.2 Основные пути использования кислорода в клетках

ОКИСЛЕНИЕ СУБСТРАТА (R)				
Дегидрирование		Оксигенирование		Свободно-радикальное окисление
-2H	-2H	+½ O ₂	+O ₂	O ₂ ^{·-} HO· NO· ONOO- озон
на ½ O ₂	на O ₂			
H ₂ O	H ₂ O ₂	R-OH	RO ₂	
Тканевое дыхание	Простые окислительные системы	Моноксигенный путь	Диоксигенный путь	
АТФ	Обезвреживание	Обезвреживание	Разрыв ароматических колец	
	Тепло	Тепло		

В биохимии и клеточной биологии под *тканевым (клеточным) дыханием* понимают молекулярные процессы, в результате которых происходит поглощение клеткой кислорода и выделение углекислого газа. Клеточное дыхание включает 3 стадии. На первой стадии органические молекулы – глюкоза, жирные кислоты и некоторые аминокислоты – окисляются с образованием ацетил-КоА. На второй стадии ацетил-КоА вступает в ЦТК, где его ацетильная группа ферментативно окисляется до CO₂ и выделяется HS-КоА. Энергия, высвобождающаяся при окислении, накапливается в восстановленных переносчиках электронов НАДН и ФАДН₂. На третьей стадии электроны переносятся к O₂, как конечному акцептору, через цепь переносчиков электронов, которая называется дыхательная цепь или цепь переноса электронов (ЦПЭ). При переносе электронов по дыхательной цепи выделяется большое количество энергии, которая используется для синтеза АТФ путем окислительного фосфорилирования.

Процесс тканевого дыхания оценивают с помощью дыхательного коэффициента:

$$RQ = \text{число молей образованного CO}_2 / \text{число молей поглощенного O}_2.$$

Этот показатель позволяет оценить тип топливных молекул, используемых организмом: при полном окислении углеводов дыхательный коэффициент равен 1, белков – 0,80, жиров – 0,71; при смешанном питании величина $RQ=0,85$. Газометрическим методом Варбурга изучают тканевое дыхание в срезах органов: при окислении углеводных субстратов коэффициент CO_2/O_2 стремится к 1, а при окислении липидных субстратов – 0,4-0,7.

ЦПЭ встроена во внутреннюю мембрану митохондрий. Электроны перемещаются по цепи от более электроотрицательных компонентов к более электроположительному кислороду: от НАДН (-0,32 В) до кислорода (+0,82 В).

ЦПЭ – это универсальный конвейер по переносу электронов от субстратов окисления к кислороду, построенный в соответствии с градиентом окислительно-восстановительного потенциала. Главные компоненты дыхательной цепи расположены в порядке возрастания их окислительно-восстановительного потенциала. В процессе переноса электронов по градиенту окислительно-восстановительного потенциала высвобождается свободная энергия.

9.2. Строение митохондрий

Митохондрии являются органеллами клеток (рис. 9.1). Наружная мембрана проницаема для многих малых молекул и ионов, поскольку содержит много митохондриальных поринов – белков с молекулярной массой 30-35 кДа (называются также VDAC). Электрозависимые анионные каналы VDAC регулируют поток анионов (фосфаты, хлориды, органические анионы и адениловые нуклеотиды) через мембрану. Внутренняя мембрана митохондрий не проницаема для большинства ионов и полярных молекул. Имеется ряд специальных переносчиков для АТФ, пирувата и цитрата через внутреннюю мембрану митохондрий (рис. 9.2). Во внутренней мембране митохондрий выделяют матриксную (N) поверхность и цитозольную (P) поверхность.

Митохондрии содержат собственную кольцевую ДНК, которая кодирует синтез ряда РНК и белков. Человеческая митохондриальная ДНК содержит 16569 пар оснований и кодирует 13 белков цепей переноса электронов. Митохондрии также содержат также ряд белков, которые кодируются ядерной ДНК.

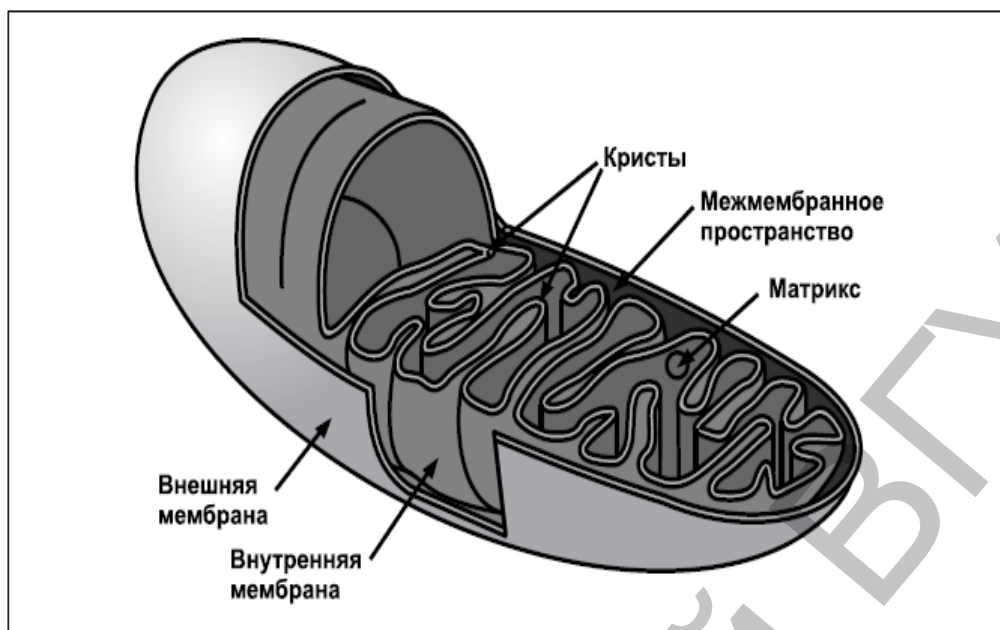


Рис. 9.1. Строение митохондрии.

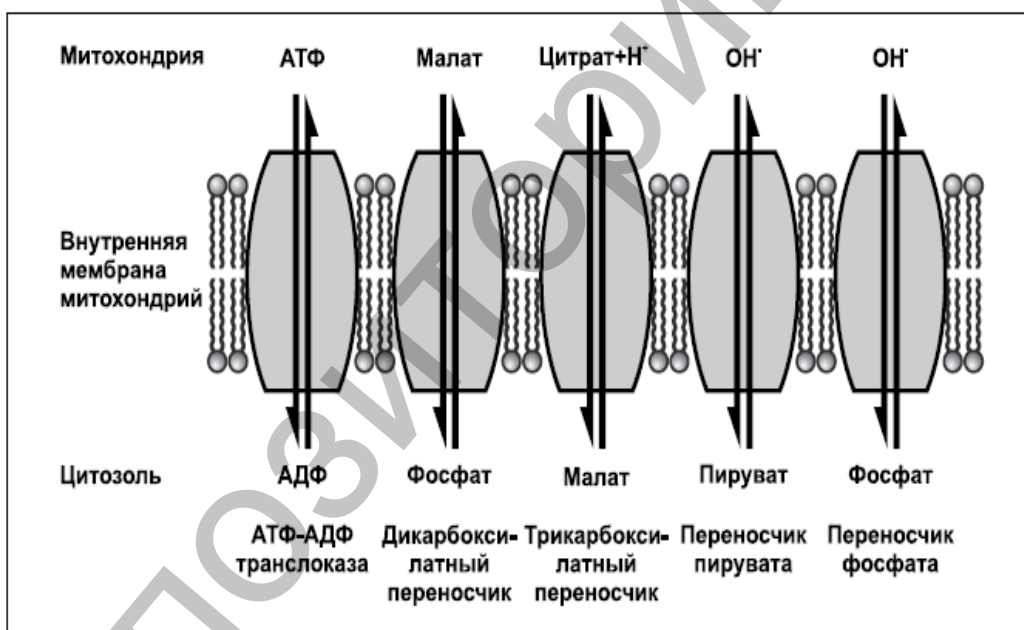


Рис. 9.2. Транспортёры веществ через внутреннюю мембрану митохондрий (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002).

Существует мнение, что реально в клетках существует *митохондриальный ретикулум*, посредством которого формируется одна гигантская разветвленная митохондрия. При электронномикроскопическом анализе клеток выявляется общепринятая картина отдельных митохондрий, получаемая в результате поперечных срезов разветвленной структуры митохондрии. При гомогенизировании тканей выделяются отдельные митохондрии как результат замыкания разрушенных мембранных структур митохондрии. Единая для клетки мембранная структура митохондрии может служить для транс-

порта энергии в любые отделы клетки. Такие митохондрии обнаружены, например, в мышцах.

Представим информацию о классической функциональной компартиментализации митохондрий:

1. Внешняя мембрана МХ отграничивает внутреннее пространство; проницаема для O_2 и ряда низкомолекулярных веществ. Содержит ферменты метаболизма липидов и моноаминов.

2. Межмембранное пространство (ММП) содержит аденилаткиназу ($АТФ + АМФ \leftrightarrow 2 АДФ$) и ферменты фосфорилирования АДФ, не связанные с дыхательными цепями.

3. Внутренняя мембрана митохондрий (ВМП): 20-25% от всех белков составляют ферменты цепей переноса протонов и электронов и окислительного фосфорилирования. Проницаема лишь для малых молекул (O_2 , мочевины) и содержит специфические трансмембранные переносчики.

4. Матрикс содержит ферменты цикла трикарбоновых кислот, β -окисления жирных кислот (*основные поставщики субстратов окисления*). Здесь находят ферменты автономного митохондриального синтеза ДНК, РНК, белков и др.

9.3. Компоненты дыхательной цепи

Митохондриальная дыхательная цепь состоит из серии последовательных переносчиков электронов, большинство из которых являются интегральными белками с простетическими группами, способными принимать и отдавать один или два электрона. Различают три типа переноса электронов: 1) прямой перенос электронов, например, за счет восстановления Fe^{3+} в Fe^{2+} ; 2) перенос атомов водорода (H^+ и e^-); 3) перенос гидрид-иона ($:H^-$), который содержит два электрона.

Электроны для дыхательной цепи образуются в результате действия ферментов *дегидрогеназ* – *пиридинзависимых дегидрогеназ* и *флавиновых ферментов*, которые собирают электроны от субстратов катаболических путей и аккумулируют их в универсальных акцепторах электронов – никотинамидных нуклеотидах ($НАД^+$ или $НАДФ^+$) или флавиновых нуклеотидах (ФМН или ФАД).

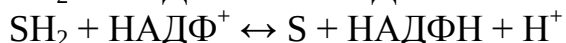
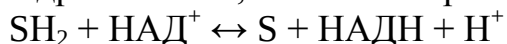
9.3.1. Пиридинзависимые дегидрогеназы

1. Пиридинзависимые дегидрогеназы – сложные ферменты, у которых в качестве кофактора выступает $НАД^+$ или $НАДФ^+$.

2. $НАД^+$ или $НАДФ^+$ являются водорастворимыми коферментами, которые *свободно диссоциируют* от апофермента. Их специфичность определяется апоферментом.

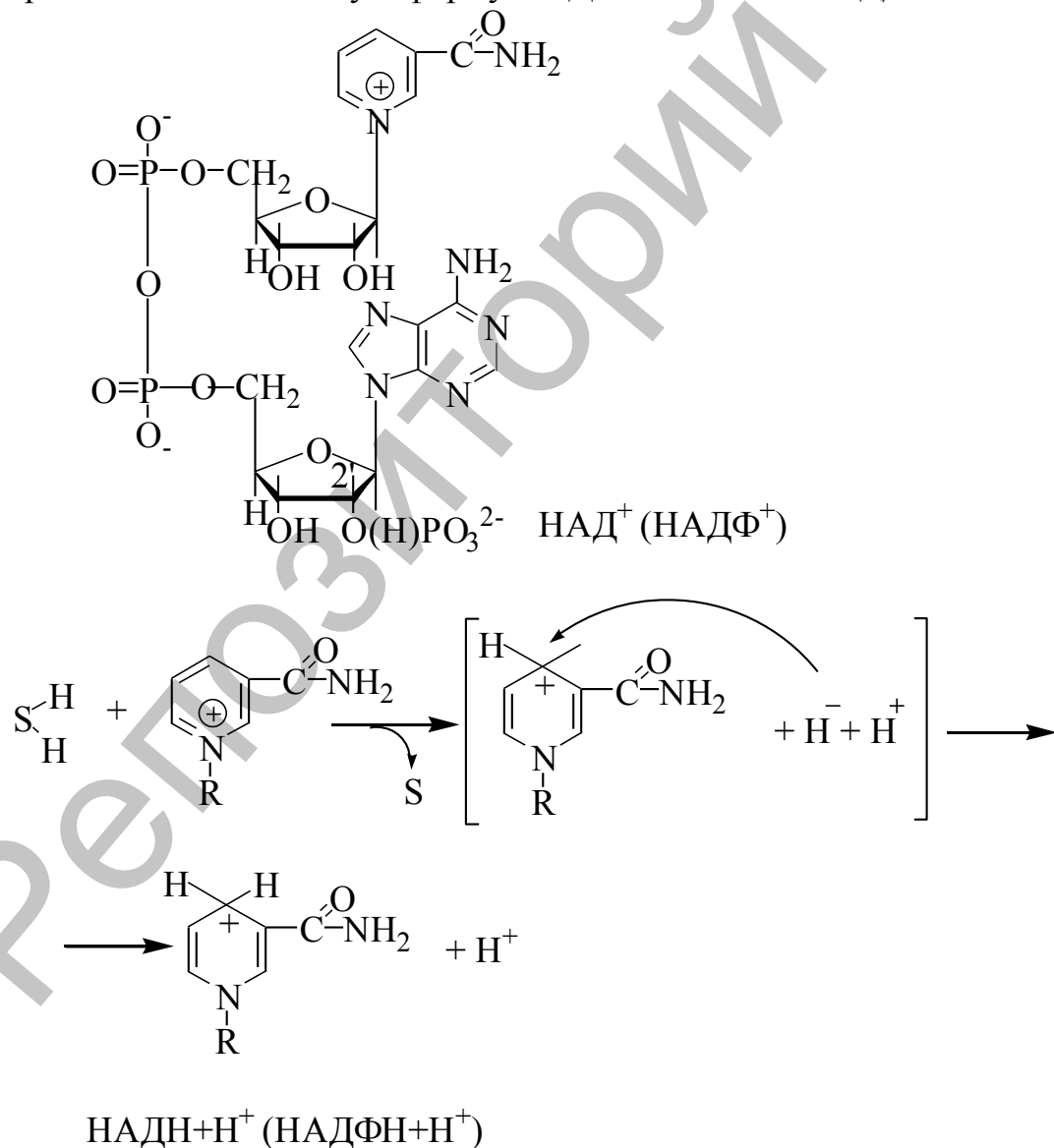
3. Ферменты локализованы в *матриксе митохондрий и цитозоле*. Для некоторых из них имеются митохондриальные и цитозольные изоферменты.

4. Уравнение реакции, катализируемой пиридинзависимыми дегидрогеназами, можно изобразить следующим образом:

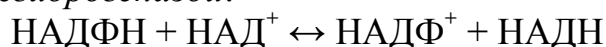


5. Активной частью НАД^+ (НАДФ^+) является никотинамидное кольцо (*витамин РР*, *ниацин*), которое в окисленном состоянии является ароматическим и имеет положительный заряд (поэтому окисленная форма кофермента обозначается НАД^+ (НАДФ^+), хотя суммарный заряд отрицательный).

6. Под действием пиридинзависимых дегидрогеназ от субстрата отщепляется 2 атома водорода. В пара-положение (по отношению к атому азота) никотинамидного кольца переносится протон и 2 электрона (гидрид-ион, H^-). Второй протон остается в среде. Восстановленную форму НАД^+ обозначают $\text{НАДН} + \text{H}^+$.



7. НАД^+ может получать восстановительные эквиваленты от субстратов, которые окисляются НАДФ-зависимыми дегидрогеназами в реакции, катализируемой *никотинамиднуклеотид-трансгидрогеназой*:



8. Суммарная концентрация $\text{НАД}^+ + \text{НАДН}$ в тканях составляет около 10^{-5} моль, $\text{НАДФ}^+ + \text{НАДФН}$ в 10 раз меньше. В большинстве клеток и тканей отношение $\text{НАД}^+ / \text{НАДН}$ является высоким, что способствует окислению субстратов и переносу гидрид-иона к НАД^+ . В то же время, количество НАДФН превышает количество окисленной формы, что обеспечивает перенос гидрид-иона от НАДФН к субстрату.

Метаболическая роль коферментов: НАД^+ используется в окислении, которое является частью катаболических процессов, НАДФН используется как восстановитель в анаболических реакциях (биосинтезы, обезвреживание).

Некоторые ферменты могут использовать оба кофермента, но большинство ферментов имеют один из пиридинзависимых коферментов.

9. НАДН и НАДФН не проходят через внутреннюю мембрану митохондрий, но могут передавать электроны в митохондрию через специальные механизмы.

9.3.2. Флавиновые ферменты (флавопротеины)

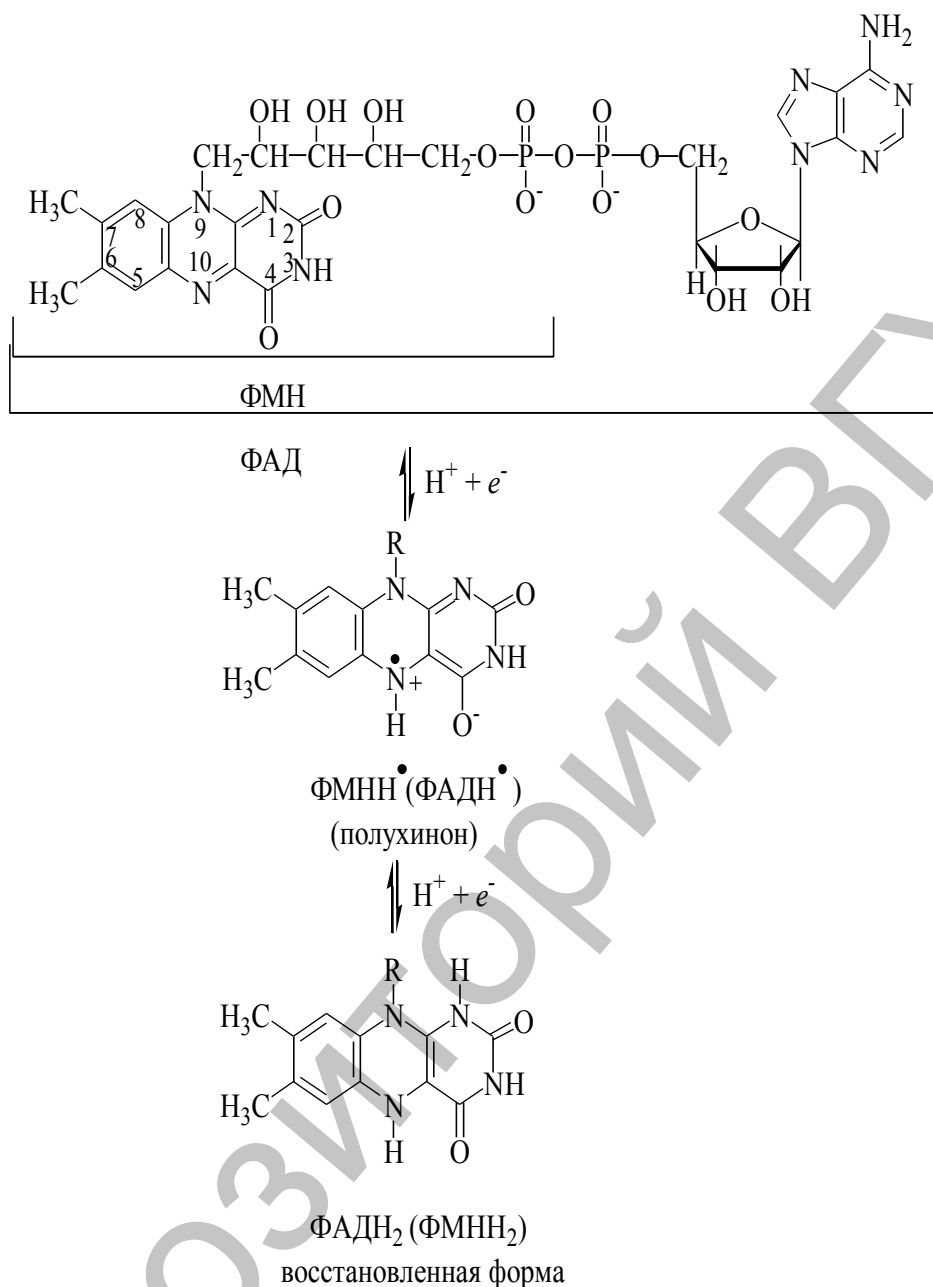
1. Флавопротеины содержат очень прочно, связанный нуклеотид – флавинмоноклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД). ФМН – нуклеотид, который состоит из 6,7-диметилизоаллоксазина, спирта рибитола и остатка фосфорной кислоты. ФАД – ФМН + аденозинмонофосфат.

2. Окисленный флавиновый нуклеотид принимает один электрон (атом водорода) с образованием семихинона (полухинона), или два электрона (атома водорода) с образованием ФМНН₂ или ФАДН₂.

3. Присоединение электронов (атомов водорода) происходит к 1 и 10 атомам азота 6,7-диметилизоаллоксазина.

4. Поскольку флавопротеины участвуют в одно- или двух-электронном транспорте, они являются посредниками между реакциями, в которых передаются два электрона (дегидрирование), и реакциями, в которых принимается только один электрон (например, восстановление хинона в гидрохинон).

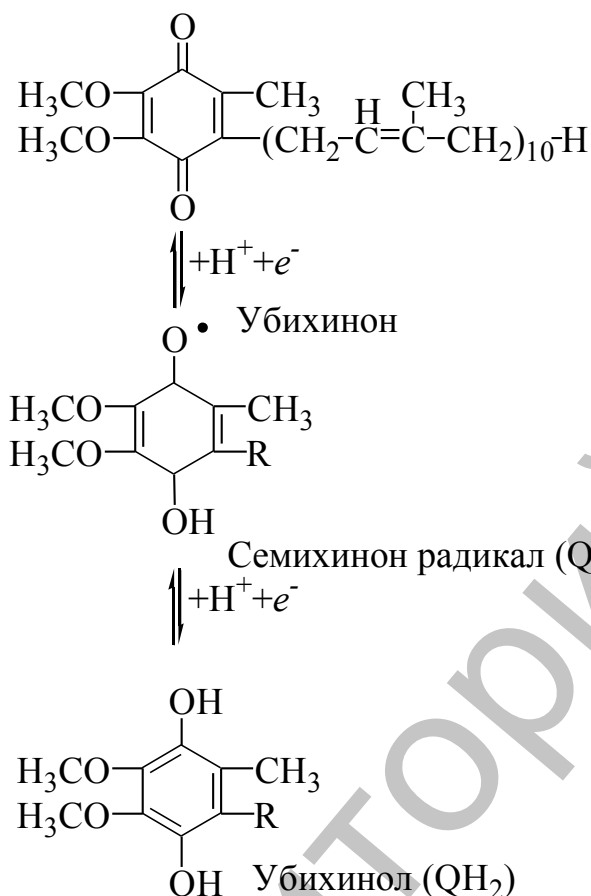
5. ФАД-зависимые дегидрогензы являются первичными акцепторами электронов и окисляют сукцинат или ацил-КоА; ФМН-зависимая дегидрогеназа входит в состав НАДН-дегидрогеназы и окисляет НАДН.



9.3.3. Убихинон (кофермент Q). Название убихинон произошло из-за его повсеместного распространения в биологических системах.

1. Кофермент Q – хиноновое производное с длинным изопреноидным хвостом. Число изопреновых единиц в коферменте Q зависит от вида живых организмов. У млекопитающих его наиболее распространенная форма содержит *10 изопреновых единиц* и обозначается как *Q₁₀*. Изопреновый хвост обуславливает высокую степень неполярности кофермента Q, которая способствует его быстрой диффузии в липидном бислое внутренней мембраны митохондрий. Поэтому убихинон выполняет роль посредника в переносе восстановительных эквивалентов между другими менее

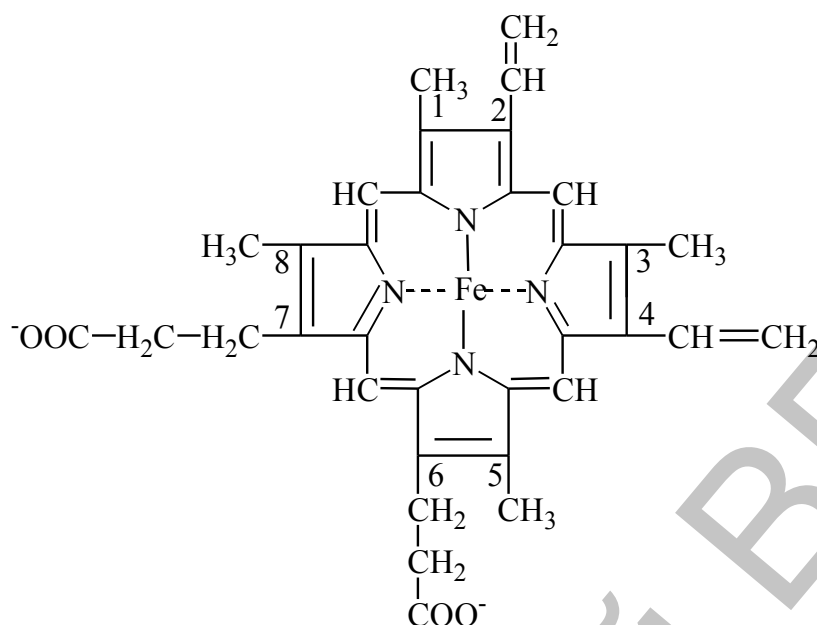
2. Убихинон может присоединять один или два электрона и превращаться в *семихинон радикал* (QH[•]) или *убихинол* (QH₂), соответственно.



4. После кофермента Q следует *одноэлектронный* перенос, в котором участвует система цитохромов.

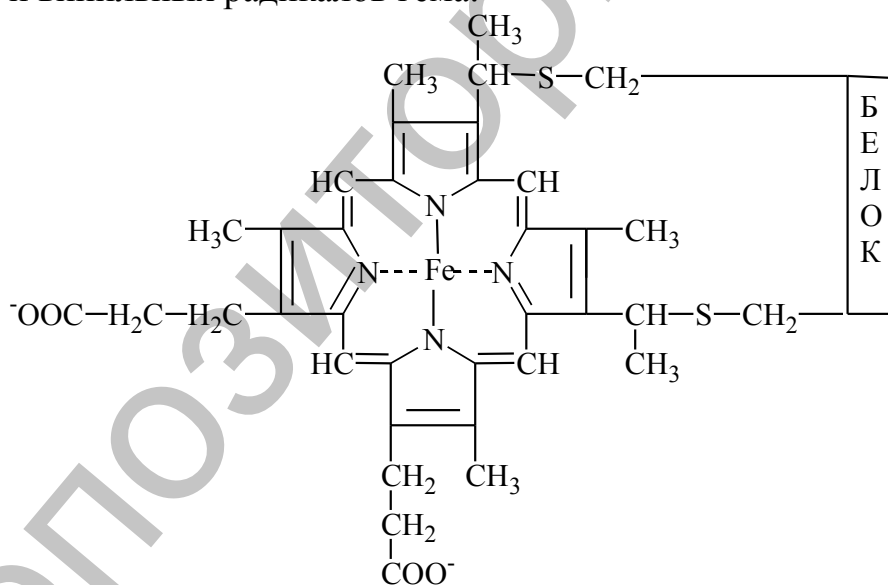
1. Различают 5 типов цитохромов: b , c , c_1 , a и a_3 . Указанные цитохромы отличаются по структуре и свойствам. Все цитохромы – белки, у которых простетической группой является гем. Гем – комплекс тетрапиррольного порфирина и железа.

2. Простетической группой цитохромов b , c_1 и c является железосодержащий протопорфирин IX, который также служит простетической группой в миоглобине, гемоглобине и каталазе.



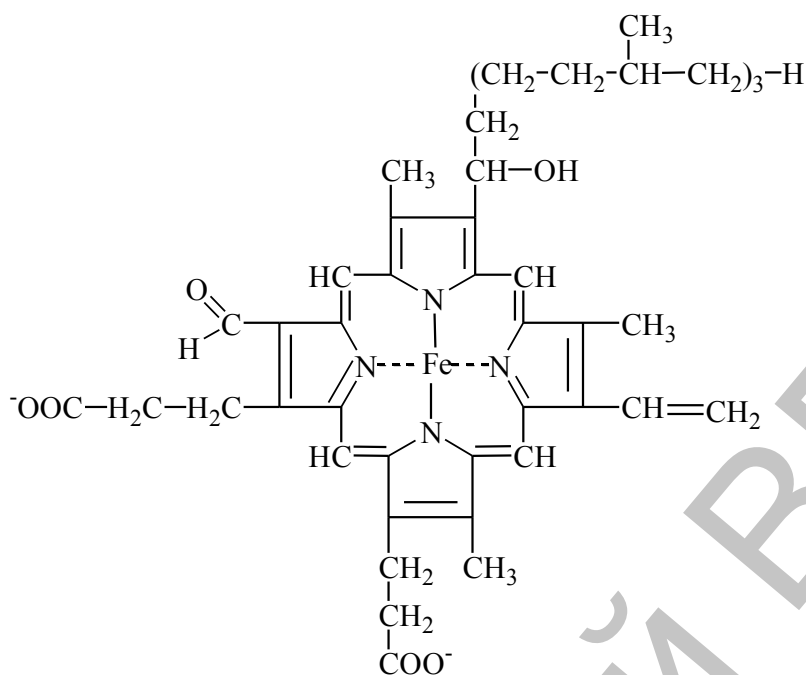
Гем *b*

3. Гем цитохромов *c* и *c*₁, в отличие от цитохрома *b*, ковалентно связан с белковой частью за счет образования тиоэфирных связей между сульфгидрильными группами остатков цистеина и винильных радикалов гема.



Гем *c*

4. Цитохромы *a* и *a*₃ имеют иную простетическую группу, которая отличается от цитохромов *c* и *c*₁: (1) в 8-м положении вместо метильной группы находится формильная группа; (2) во 2-м положении вместо винильной группы находится углеводородная цепь фарнезила (C₁₅); (3) гем присоединен к белку нековалентной связью.



Гем *a*

5. Суммарно отличия в строении гемов цитохромов представлены в таблице 9.3.

Таблица 9.3. Строение гемов у различных цитохромов

Тип	Заместители
Гем <i>a</i>	$R_2 = -\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2\text{-фарнезил}$ $R_4 = -\text{CH}=\text{CH}_2$ $R_8 = -\text{CHO}$
Гем <i>b</i>	$R_2 = -\text{CH}=\text{CH}_2$ $R_4 = -\text{CH}=\text{CH}_2$ $R_8 = -\text{CH}_3$
Гем <i>c</i>	$R_2 = -\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-S-R'}$ $R_4 = -\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-S-R'}$ $R_8 = -\text{CH}_3$

6. Цитохромы *a* и *b* являются *интегральными белками* внутренней мембраны митохондрий, цитохром *c* является растворимым протеином который связан силами электростатического взаимодействия с наружной стороной внутренней мембраны митохондрий.

7. Перенос электронов цитохромами осуществляется за счет *изменения валентности атома Fe* ($\text{Fe}^{3+} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$).

9.3.5. Железо-серные (FeS) белки. FeS-белки содержат атомы Fe, которые не входят в состав гема (негемовое железо). Внутри железо-серных белков находятся FeS кластеры (центры). Известно несколько типов FeS кластеров. FeS кластеры содержат

один или несколько атомов железа, связанных с SH-группами остатков цистеина или неорганическим кислотолabileм сульфидным ионом. Наиболее простой тип FeS кластера содержит один атом железа, координационно связанный с сульфгидрильными группами остатков цистеина (cys) белка (рис. 9.3 а). Второго типа, обозначаемый [2FeS-2S], содержит 2 атома железа и 2 неорганических сульфида и 4 остатка цистеина (cys) (рис. 9.1б). Третьего типа, [4Fe-4S], содержит 4 атома железа, 4 неорганических сульфида и 4 остатка цистеина (cys) (рис. 3.1).

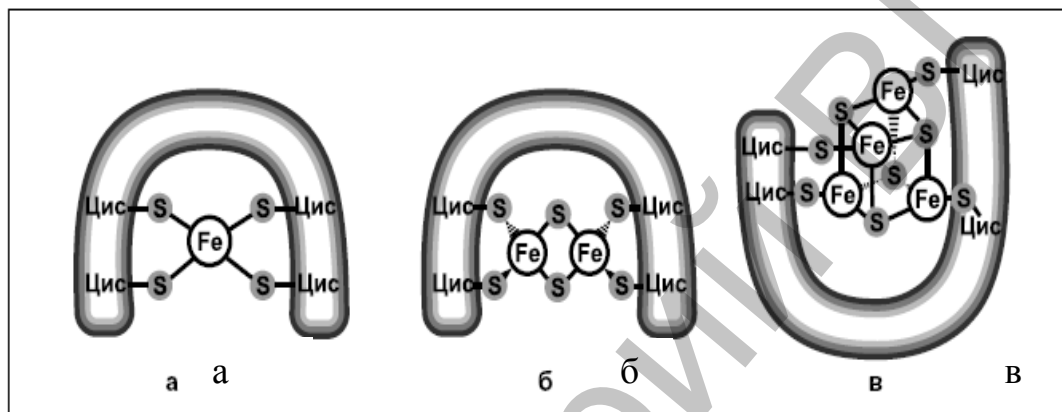


Рис. 9.3. Железо-серные кластеры (центры) [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

Rieske FeS-белки являются разновидностью FeS белков, в которых атом Fe связан координационными связями с двумя остатками гистидина.

Окислительно-восстановительный потенциал FeS-белков колеблется от -0,65 В до +0,45 В в зависимости от структуры белковой части.

Перенос электронов в FeS кластерах осуществляется за счет изменения валентности железа $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+}$.

9.4. Организация цепи переноса электронов

Переносчики электронов в дыхательной цепи организованы в надмолекулярные комплексы. Обработка внутренней мембраны митохондрий детергентом позволяет выделить четыре комплекса, каждый из которых катализирует перенос электронов от одной части цепи к другой (таблица 9.4).

Комплекс I и II катализирует перенос электронов от различных доноров электронов: комплекс I – от НАДН, комплекс II – от сукцината; комплекс III переносит электроны от убихинона к цитохрому *c*, комплекс IV переносит электроны от цитохрома *c* на O_2 .

Таблица 9.4. Комплексы митохондриальной цепи переноса электронов

Ферментативный комплекс	Молекулярная масса (кДа)	Число субъединиц	Простетические группы
I НАДН-дегидрогеназа (НАДН-КоQ-оксидоредуктаза)	850	42 (14)	ФМН, FeS
II Сукцинатдегидрогеназа	140	5	ФАД, FeS
III Убихинон:цитохром c-оксидоредуктаза (цитохром bc ₁ комплекс)	250	11	Гемы, FeS
Цитохром c*	13	1	Гем
IV Цитохромоксидаза (цитохром c-оксидаза)	160	13 (3-4)	Гемы, Cu _A , Cu _B

Примечание: цитохром c не входит в состав комплекса; цитохром c является растворимым белком и перемещается между комплексами III и IV.

9.4.1. Комплекс I (НАДН-дегидрогеназа) катализирует перенос электронов от НАДН к коферменту Q (КоQ). На рис. 9.4 представлена взаимосвязь между комплексами I, II и убихиноном.

1. Комплекс представляет собой фермент, состоящий из 42 полипептидных цепей, связан с внутренней мембраной митохондрии и пересекает ее поперечном направлении (рис. 9.5).

2. Простетическими группами являются ФМН-содержащий флавопротеин и шесть FeS-центров.

3. Комплекс I катализирует 2 сопряженных процесса: 1) экзергонический транспорт к убихинону гидрид-иона от НАДН и протона из матрикса ($\text{НАДН} + \text{H}^+ + \text{Q} \rightarrow \text{НАД}^+ + \text{QH}_2$) и 2) эндергонический перенос 4-х протонов из матрикса в межмембранное пространство.

4. Комплекс I катализирует перенос гидрид-иона от НАДН к ФМН, от которого $2 e^-$ движутся через ряд FeS-центров к FeS-белку N-2 в матриксной части комплекса. От N-2 электроны переносятся к убихинону на мембранной части комплекса с образованием QH_2 .

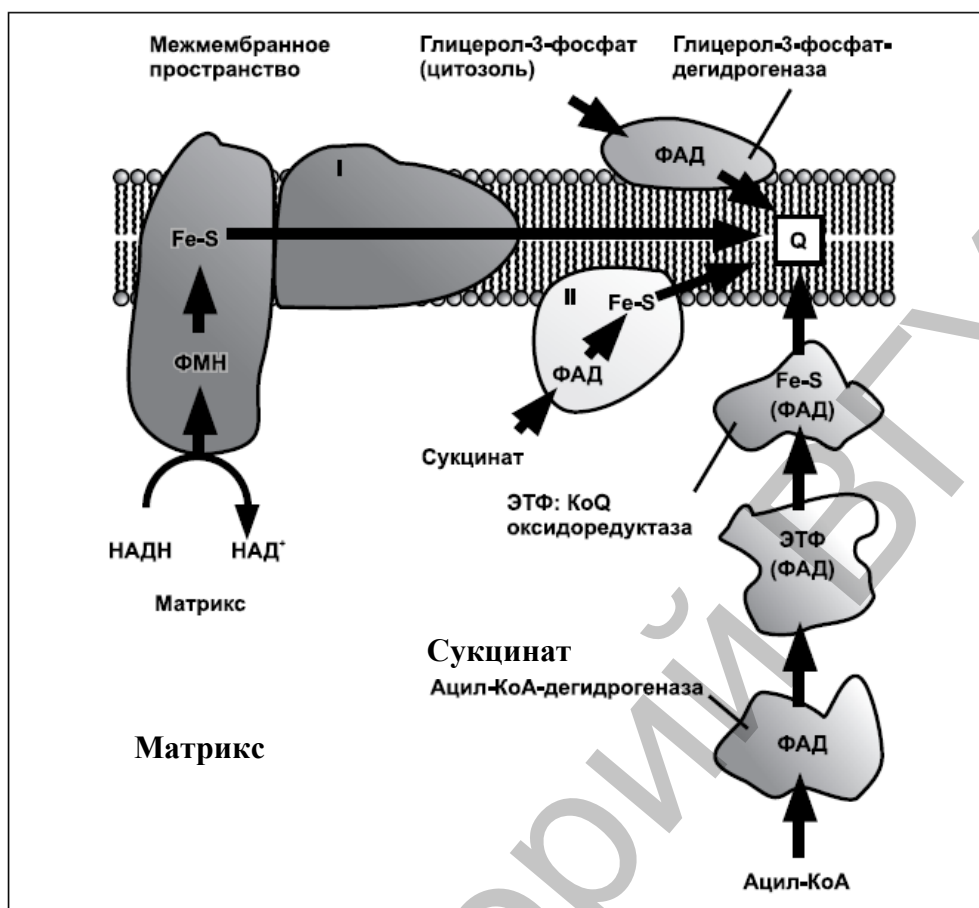


Рис. 9.4. Движение электронов от НАДН, сукцината, ацил-КоА и глицерол-3-фосфата к убихинону [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

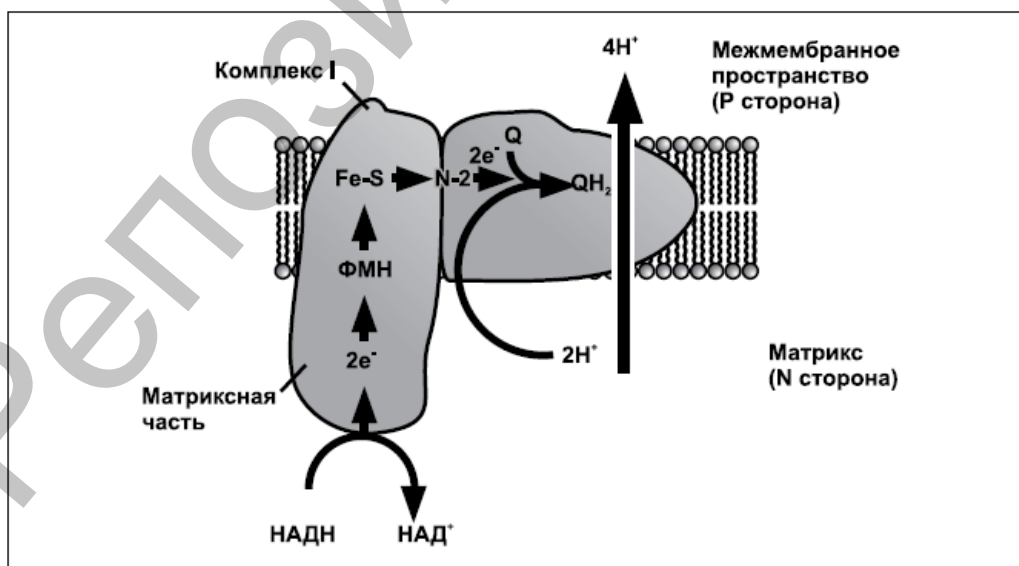


Рис. 9.5. НАДН-КоQ-редуктаза [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

5. Движение протонов в межмембранное пространство приводит к образованию *электрохимического потенциала* на внутренней мембране митохондрий, который накапливает энергию, высвобождаемую при переносе электронов. При этом наружная сторона мембраны, обращенная к межмембранному пространству, заряжается положительно, а внутренняя сторона, обращенная к матриксу, отрицательно.

6. Суммарное уравнение реакции, которое показывает локализацию протонов можно записать следующим образом:

$\text{НАДН} + 5 \text{H}^+_{\text{N}} + \text{Q} \rightarrow \text{НАД}^+ + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+_{\text{P}}$, где N (negative) – отрицательно заряженная сторона мембраны (матрикс), P (positive) – положительно заряженная сторона внутренней мембраны митохондрий (межмембранное пространство)

7. Убихинол (QH_2) диффундирует во внутренней мембране митохондрий от комплекса I к комплексу III, где окисляется до Q.

С помощью электронной микроскопии установлено, что НАДН-дегидрогеназа состоит из 2-х частей (имеет L-образную форму). Гидрофобный горизонтальный фрагмент находится в толщине липидного бислоя и содержит субъединицы, которые кодируются митохондриальной ДНК. Вертикальный фрагмент содержит периферические мембранные белки и обращен к матриксу митохондрий. НАДН связывается с вертикальным фрагментом и переносит электроны на ФМН. Затем электроны перемещаются внутри вертикального фрагмента через три $[\text{4Fe-4S}]$ центра на прочно связанный КоQ. Пара электронов от КоQ переносится на $[\text{2Fe-2S}]$ центры и на мобильный КоQ гидрофобного слоя мембраны.

9.4.2. Комплекс II (сукцинатдегидрогеназа):

1. Сукцинатдегидрогеназа (комплекс II) является интегральным белком, связанным с внутренней мембраной митохондрий и окисляет сукцинат (янтарную кислоту из ЦТК).

2. Простетические группы: ФАД, FeS-центры с четырьмя атомами Fe. Электроны транспортируются от сукцината (промежуточный продукт ЦТК) к ФАД, затем через FeS-центры к убихинону (рис.9.4). Выталкивания протонов в межмембранное пространство не происходит, поскольку изменение свободной энергии незначительно.

3. Другие субстраты для митохондриальных дегидрогеназ отдают электроны в дыхательную цепь на уровне убихинона, но не через комплекс II (рис. 9.4).

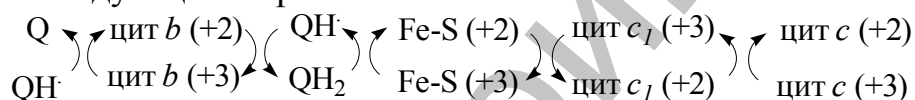
4. Ацил-КоА (активная форма жирной кислоты) окисляется ФАД-зависимой дегидрогеназой (*ацил-КоА-дегидрогеназой*), которая передает электроны на электронтранспортный флавопротеин (ЭТФ), ЭТФ: убихинол оксидоредуктазу и в дыхательную цепь на убихинон.

5. Глицерол-3-фосфат, образующийся при распаде триацилглицеролов или восстановлении диоксиацетонфосфата при гликолизе, окисляется ферментом *глицерол-3-фосфатдегидрогеназой*, который локализован на наружной стороне внутренней мембраны митохондрий и передает электроны в дыхательную цепь на убихинон.

6. QH_2 , образующийся в результате этих реакций, окисляется комплексом III.

9.4.3. Комплекс III (цитохром bc_1 комплекс, убихинон:цитохром c -оксидоредуктаза) переносит электроны от восстановленного кофермента Q (убихинола) к цитохрому c , который является водорастворимой молекулой и локализован в межмембранном пространстве, и одновременно транспортирует протоны из матрикса в межмембранное пространство. Убихинол-цитохром c -оксидоредуктаза содержит 2 типа цитохромов b и c и Fe-S белки.

Механизм переноса электронов в комплексе можно представить следующим образом:



Основываясь на структуре комплекса III и детальном исследовании восстановительных реакций, была предложена модель, объясняющая транспорт электронов и протонов через этот комплекс – Q цикл.

Комплекс III представляет собой димер, состоящий из 2-х идентичных мономеров, каждый из которых включает 11 субъединиц (рис. 9.6). Димерная структура необходима для функционирования комплекса III.

1. *Структура мономера.* Функциональное ядро состоит из 3-х субъединиц: цитохром b с двумя гемами (b_H и b_L), Rieske FeS белок с 2Fe-2S центрами и цитохром c_1 с гемом. Гемы цитохрома b имеют различное сродство к электронам из-за различной структуры полипептидной цепи, которая их окружает. Гем b_L , который локализован возле цитозольной стороны внутренней мембраны митохондрий, имеет низкое сродство к электрону по сравнению с гемом b_H , который находится в мембране со стороны матрикса.

2. *Функциональная единица.* Цитохром c_1 и Rieske FeS-белок защищены от P стороны и взаимодействуют с цитохромом c (не является частью функционального комплекса) в межмембранном пространстве. Комплекс имеет два различных сайта для связывания убихинона – Q_N и Q_P , которые являются сайтами действия ингибиторов окислительного фосфорилирования. *Антимицин A*, который блокирует движение электронов от

гема b_H к Q , связывается с Q_N и закрывает гем b_H на матриксной стороне мембраны. *Миксотиазол*, который предотвращает движение электронов от QH_2 к Rieske FeS-белку, связывается с Q_P вблизи 2Fe-2S центра и гемом b_L на P стороне мембраны.

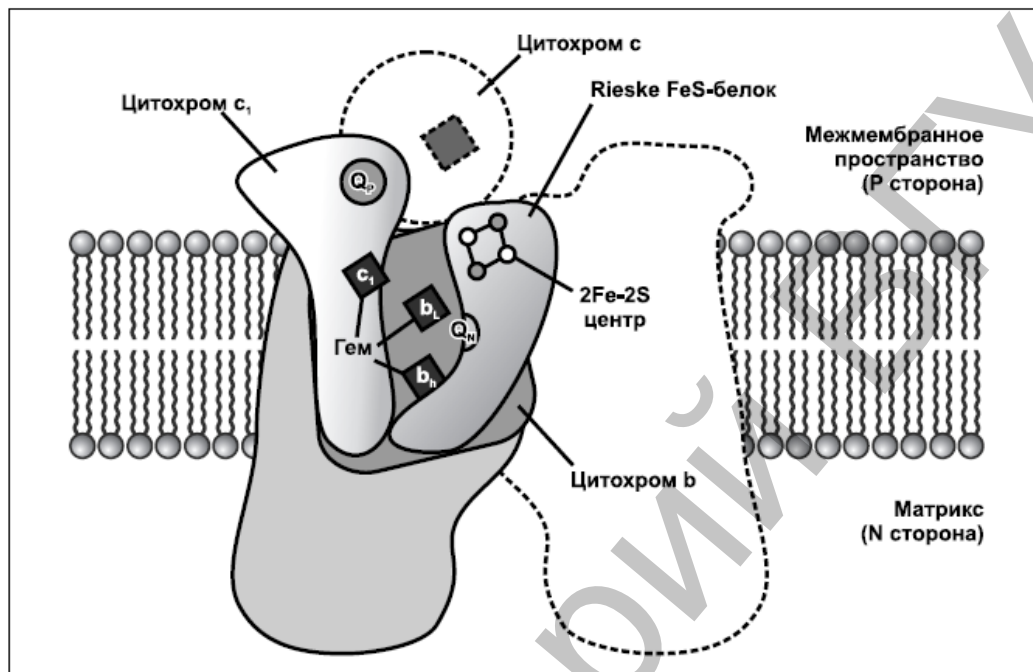


Рис. 9.6. Цитохром bc_1 комплекс (комплекс III) [D.L. Nelson, M.M. Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

3. Взаимодействие между мономерами формирует два кармана, каждый из которых содержит Q_P сайт от одного мономера и Q_N сайт другого мономера.

Механизм переноса электронов в III комплексе достаточно сложный (схема, рис. 9.7).

Убихинол переносит один из 2-х электронов на FeS-центр редуктазы. Этот электрон затем переносится на цитохромы c_1 и c , который забирает электрон от комплекса. Этот одноэлектронный перенос превращает убихинол (QH_2) в семихинон анион ($Q^{\cdot-}$). $Q^{\cdot-}$ переносит электрон к b_L и превращается в Q . Гем b_L восстанавливает b_H , который затем восстанавливает прочно связанный KoQ возле цитозольной стороны мембраны и превращает его в $Q^{\cdot-}$. На этой стадии только один из электронов переносится на цитохром c .

Затем вторая молекула QH_2 взаимодействует с комплексом аналогично описанному выше механизму (рис. 9.8). Один из электронов переносится к FeS кластеру и на цитохромы c_1 и c . Второй электрон переносится на цитохромы b_L , b_H и восстанавливает $Q^{\cdot-}$ (Q -цикл). Таким образом, в результате полного цикла две молекулы QH_2 окисляются с образованием двух молекул Q и одна молекула Q восстанавливается до QH_2 . Значение такого механизма заключается в переносе 2-х электронов от одной молекулы QH_2 к двум молекулам цитохрома c .

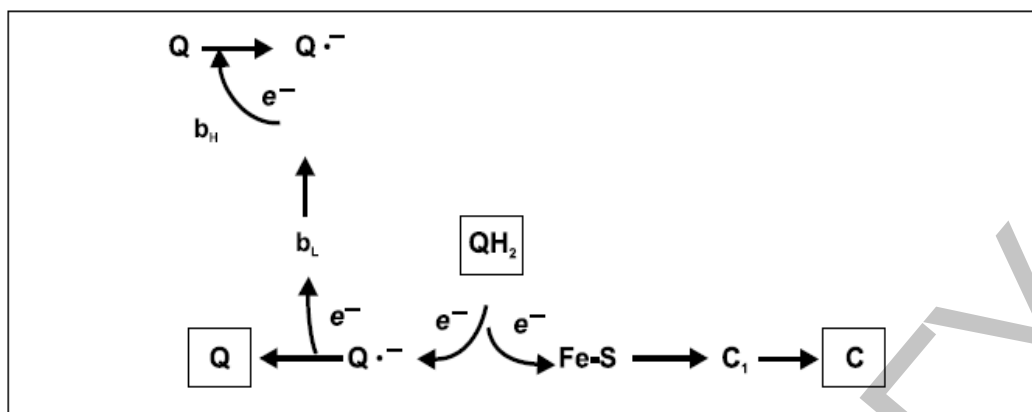


Рис. 9.7. Механизм переноса электронов в комплексе III (первая стадия).

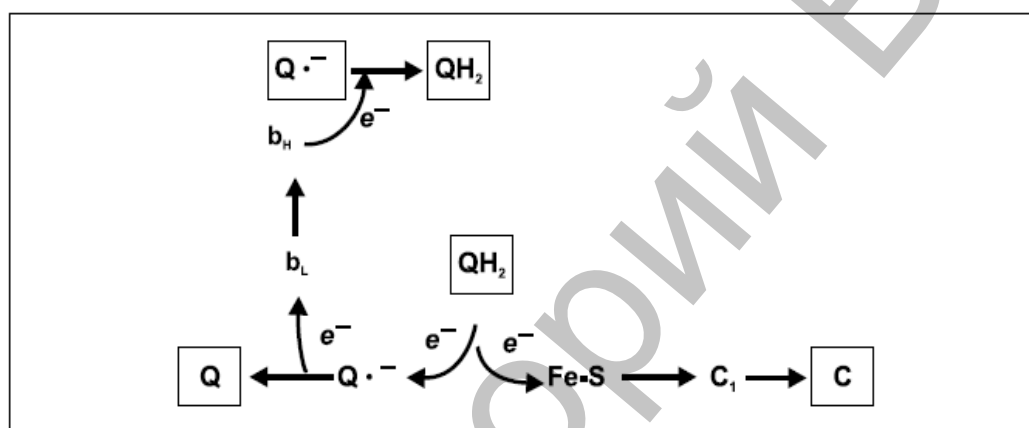
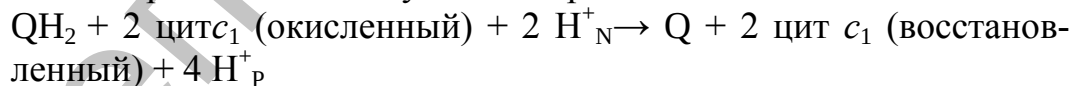


Рис. 9.8. Механизм переноса электронов в комплексе III (вторая стадия).

На Р стороне мембраны 2 молекулы QH_2 окисляются до Q в Q_P сайте, высвобождая 4 протона в межмембранное пространство. Каждая молекула QH_2 отдает один электрон (через Rieske Fe-S-центр) к цитохрому c_1 и один электрон (через цитохром b) к молекуле Q на Q_N сайте, восстанавливая его в две стадии до QH_2 . В процессе восстановления используется 2H^+ из матрикса. Этот процесс называется Q-цикл (рис. 9.9).

Суммарное уравнение восстановительных реакций Q цикла можно представить следующим образом:



Q цикл обеспечивает связь между переносчиком двух электронов убихиноном и одноэлектронными переносчиками цитохромами (b, c_1 и c) и объясняет выталкивание 4-х протонов в межмембранное пространство на каждую пару электронов, транспортируемых через комплекс к цитохрому c. Несмотря на то, что путь электронов через этот участок дыхательной цепи сложный, суммарный эффект переноса достаточно простой: QH_2 окисляется до Q и две молекулы цитохрома c восстанавливаются.

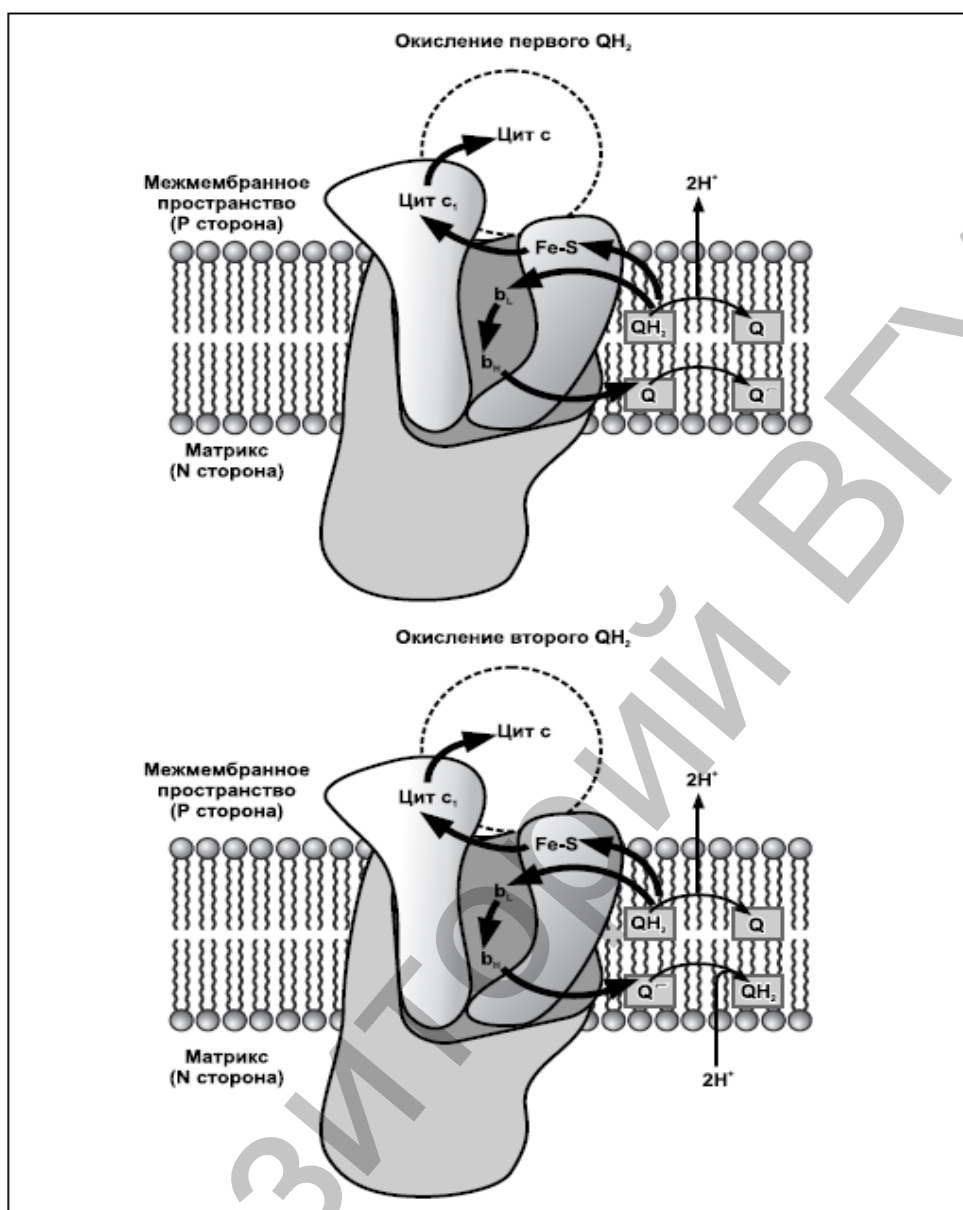
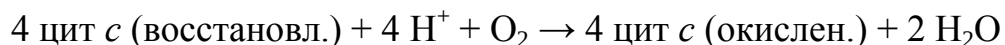


Рис. 9.9. Q цикл [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

Цитохром с является растворимым белком межмембранного пространства. После принятия электрона от комплекса III, цитохром с движется к комплексу IV и отдает электроны к атому меди этого комплекса.

9.4.4. Комплекс IV (цитохром с-оксидаза, цитохромоксидаза) катализирует перенос электронов от цитохрома с к молекулярному кислороду, как конечному акцептору. Для полного восстановления кислорода до H₂O необходимо 4 электрона и 4H⁺.



Комплекс IV представляет собой большой фермент (13 субъединиц, м.м. 204 000 Да) внутренней мембраны митохондрий. Известно, что 3 субъединицы кодируются митохондриальной ДНК. Содержит две молекулы гема *a* и *a*₃ и два иона меди (Cu_A и Cu_B), которые принимают электрон и восстанавливаются ($\text{Cu}^{2+} \leftrightarrow \text{Cu}^{1+}$) (рис. 9.10).

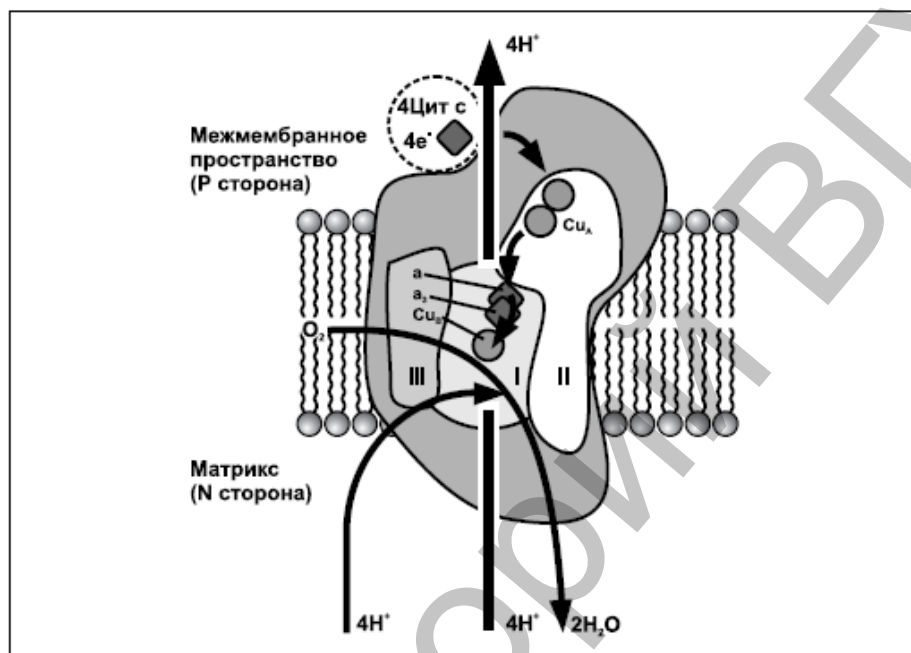
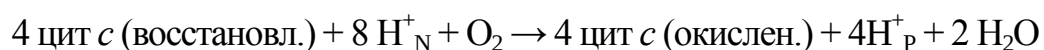


Рис. 9.10. Движение электронов через комплекс IV [D.L. Nelson, M.M. Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

Электроны передаются: цитохром *c* → Cu_A → Fe гема *a* → Fe гема *a*₃ – Cu_B. Гем *a*₃ вместе с атомом меди Cu_B образует «бинуклеарный центр», с которым связывается кислород. Кислород остается связанным между планарной структурой гема *a*₃ и Cu_B до полного восстановления. Это препятствует образованию токсичных свободных радикалов.

Для каждых 4-х электронов, проходящих через комплекс, фермент использует 4 «субстратных» H⁺ из матрикса (N сторона), превращая кислород в H₂O. Энергия восстановительной реакции используется для выталкивания в межмембранное пространство (P сторона) одного H⁺ на каждый транспортируемый электрон.

Суммарное уравнение, катализируемое комплексом IV можно представить следующим образом:



К 6-й координационной связи железа цитохрома *a* может присоединиться HCN, H₂S, CO. При этом валентность железа (Fe³⁺) становится постоянной и поток электронов прекращается. Это механизм действия дыхательных ядов.

9.4.5. Суммарная схема движения электронов и протонов через дыхательную цепь ферментов. Итак, общую схему движения электронов и протонов через 4 комплекса дыхательной цепи можно представить следующим образом (рис. 9.11):

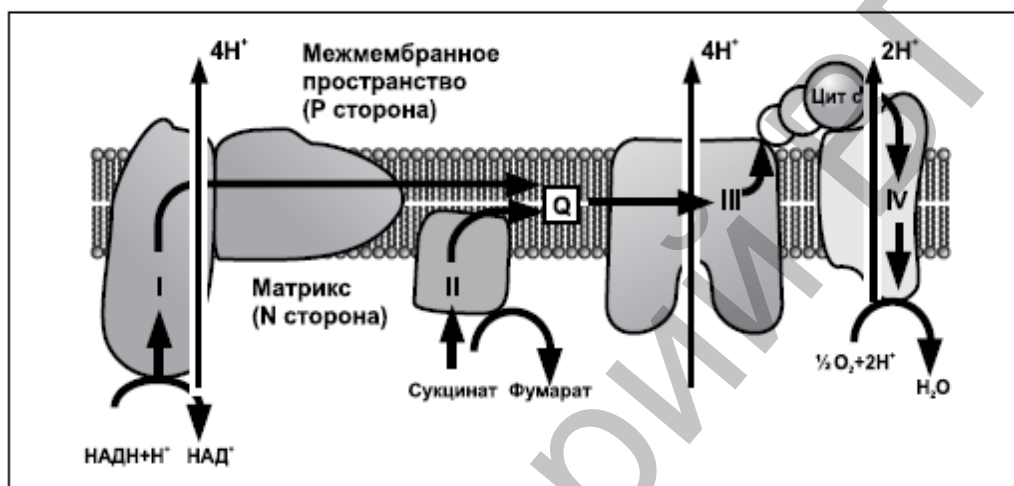


Рис. 9.11. Суммарная схема движения электронов через дыхательную цепь ферментов [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

Электроны поступают к Q через комплексы I и II. QH₂ является подвижным переносчиком электронов и протонов. QH₂ отдает электроны комплексу III, который передает их другому мобильному переносчику – цитохрому *c*. Комплекс IV транспортирует электроны от восстановленного цитохрома *c* к O₂. Движение электронов через комплексы I, III и IV сопровождается выталкиванием протонов из матрикса в межмембранное пространство. Окисление высших жирных кислот также поставляет электроны в дыхательную цепь ферментов через Q (см. рис. 9.4).

Мутации НАДН-КоQ редуктазы, которая кодируется митохондриальной ДНК, вызывают наследственную зрительную нейропатию Лебера, наследуемую по материнской линии форму слепоты. Мутации гена приводят к нарушению использования НАДН или блокируют перенос электронов к КоQ. Нейропатия является одним из многочисленных митохондриальных заболеваний, которые выявлены в настоящее время. Органы и ткани, функционирование которых зависит от окислительного фосфорилирования и продукции энергии, такие как, нервная система и сердце, наиболее уязвимы к мутациям митохондриальной ДНК. Митохондриальные мутации могут способствовать развитию возрастных и дегенеративных процессов.

Глава 10. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

10.1. Определение окислительного фосфорилирования

Синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, сопряженный с переносом протонов и электронов по дыхательной цепи от субстратов к кислороду, называется *окислительным фосфорилированием*.

Энергия окисления, достаточная для образования молекулы АТФ выделяется в дыхательных цепях в следующих участках: 1) НАДН-дегидрогеназа; 2) убихинон:цитохром *c*-оксидоредуктаза; 3) цитохром *c*-оксидаза. На этих стадиях изменения ОВП превышают 0,22 В, что достаточно для образования макроэргической связи АТФ ($>30,2$ кДж/моль). Уменьшение свободной энергии, сопровождающее перенос протонов и электронов на кислород в результате одного дегидрирования, составляет примерно 220 кДж/моль. При этом на синтез АТФ в полной дыхательной цепи может быть израсходовано $30,2 \cdot 3 = 90,6$ кДж/моль. Отсюда КПД ЦПЭ около 40%. Остальная энергия рассеивается в виде тепла (поддержание температуры тела).

10.2. Механизм окислительного фосфорилирования

Известны три основных гипотезы окислительного фосфорилирования

1. *Механохимическая, или конформационная* (Грин, Бойер, 60-е гг. XX в.). В процессе переноса протонов и электронов изменяется конформация белков-ферментов. Они переходят в новое богатое энергией состояние, а затем при возвращении в исходную конформацию отдают энергию для синтеза АТФ. Гипотеза частично подтверждена: $\text{Еокисл.} \rightarrow \text{Еконформ. сдвигов} \rightarrow \text{Е}_{\text{АТФ}}$.

2. *Гипотеза химического сопряжения* (Липман, Слейтер, Ленинджер, 30–40-е гг. XX в.). В сопряжении дыхания и фосфорилирования участвуют сопрягающие вещества, например вещество X. Вещество «X» акцептирует протоны и электроны от первого фермента в пункте сопряжения, взаимодействует с H_3PO_4 . В момент отдачи протонов и электронов второму ферменту пункта сопряжения связь становится макроэргической. Далее макроэрг передается на АДФ с образованием АТФ. До настоящего времени не выделены сопрягающие вещества.

3. *Хемиосмотическая гипотеза П.Митчелла (1961)*. В 1961 году Питер Митчелл предположил, что синтез АТФ сопряжен с протонным градиентом поперек внутренней мембраны

митохондрий. Согласно его модели, перенос электронов вдоль компонентов дыхательных цепей внутренней мембраны митохондрий обеспечивает перенос протонов через (поперек) внутреннюю мембрану митохондрий на ее цитозольную сторону. В результате на внутренней мембране митохондрий формировался электрохимический градиент. Эта идея П.Митчела была названа хемиосмотической гипотезой. Установлено, что величина рН снаружи мембраны была на 1,4 единицы ниже, чем на внутренней поверхности мембраны, а мембранный потенциал составил 0,14 В. Этот потенциал соответствовал свободной энергии 5,2 ккал (21,8 кДж) на моль протонов.

Согласно С.Н. Черенкевичу и соавт. (2008), расчет величины энергии, запасаемой в электрохимическом градиенте протонов производится с использованием уравнения:

$$DG = nD\mu, \quad (10.1)$$

где n – количество вещества (в молях) в системе, $D\mu$ – изменение электрохимического потенциала. Электрохимический потенциал системы (μ) определяется на основе уравнения

$$\mu = \mu_0 + RT \ln C + zFj, \quad (10.2)$$

где μ_0 – стандартный химический потенциал.

Таблица 10.1. Редокс-пары и стандартные редокс-потенциалы ($T=25^\circ\text{C}$ и $\text{pH } 7,0$) (по С.Н.Черенкевичу и соавт., 2008)

Редокс-пара	Полуреакция	E^0 (В)
НАД ⁺ /НАДН	$\text{НАД}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{НАДН}$	-0,320
ФМН/ФМНН ₂	$\text{ФМН} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{ФМНН}_2$	-0,300
ФАД/ФАДН ₂	$\text{ФАД} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{ФАДН}_2$	-0,219
фумарат/ сукцинат	$\text{фумарат} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{сукцинат}$	+0,031
убихинон/ убихинол	$\text{CoQ} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{CoQH}_2$	+0,045
цитохром b (ок/вост)	$\text{Cyt } b(\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt } b(\text{Fe}^{2+})$	+0,077
цитохром c_1 (ок/вост)	$\text{Cyt } c_1(\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt } c_1(\text{Fe}^{2+})$	+0,23
Цитохром c (ок/вост)	$\text{Cyt } c(\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt } c(\text{Fe}^{2+})$	+0,25
Цитохром a (ок/вост)	$\text{Cyt } a(\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt } a(\text{Fe}^{2+})$	+0,29
Цитохром a_3 (ок/вост)	$\text{Cyt } a_3(\text{Fe}^{3+}) + \text{e}^- \rightarrow \text{Cyt } a_3(\text{Fe}^{2+})$	+0,55
$\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	+0,816

Электрохимический потенциал протона, для которого заряд $z = +1$, будет

$$\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = \mu_0 + RT \ln[\text{H}^+] + F\phi. \quad (10.3)$$

Перейдем к десятичному логарифму в выражении (10.3)

$$\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = \mu_0 + 2,3RT \log_{10}[\text{H}^+] + F\phi. \quad (10.4)$$

Используя определение рН, преобразуем выражение (6.11) в выражение

$$\tilde{\mu}_{H^+} = \mu_0 - 2,3RT(\text{pH}) + F\varphi. \quad (10.5)$$

Определим величину разности электрохимического потенциала для протона через митохондриальную мембрану

$$\Delta\tilde{\mu}_{H^+} = 2,3RT \log_{10} \frac{[H_P^+]}{[H_N^+]} + F(\varphi_P - \varphi_N), \quad (10.6)$$

$$\Delta\tilde{\mu}_{H^+} = F\Delta\varphi - 2,3RT(\Delta\text{pH}). \quad (10.7)$$

Матрикс митохондрий является более щелочной средой ($\text{pH}_N \approx 8,0$), чем межмембранное пространство ($\text{pH}_P \approx 7,25$), т.е. ΔpH составляет 0,75 единиц. Если принять разность потенциалов $\Delta\varphi$ равной 160 мВ получим, что согласно (10.7) изменение свободной энергии при переносе одного моля протонов составляет около 20 кДж/моль. Поскольку при окислении 1 моля НАДН переносится 10 молей протонов, суммарное изменение свободной энергии составит 200 кДж/моль. Таким образом, эффективность работы дыхательной цепи такова, что около 90% энергии, высвобождаемой при окислении молекулы НАДН, трансформируется в энергию электрохимического потенциала протонов.

Единицей измерения электрохимического потенциала является *джоуль*. Для перевода величины разности электрохимического потенциала в вольты ее необходимо разделить на число Фарадея. Полученное частное Питер Митчел, создатель хемиосмотической теории, по аналогии с электрон-движущей силой предложил называть *протондвижущей силой*

$$\Delta p = \frac{\Delta\tilde{\mu}_{H^+}}{F} = \Delta\varphi - \frac{2,3RT}{F}(\Delta\text{pH}). \quad (10.8)$$

При движении под действием протондвижущей силы протоны способны совершать работу. Энергия, запасенная в разности электрохимических потенциалов протонов, используется для транспорта пирувата и фосфата внутрь митохондрий. Однако основная часть запасенной на внутренней мембране митохондрий энергии с помощью фермента H^+ -АТФ-синтазы трансформируется в энергию химических связей молекулы АТФ.

По современным представлениям дыхание и фосфорилирование связаны между собой *электрохимическим потенциалом* (ЭХП) на внутренней мембране митохондрий (рис. 10.1). Для объяснения необходимы следующие понятия: а) внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для H^+ и OH^- ; б) во внутреннюю мембрану митохондрий вмонтирована АТФ-синтаза (*комплекс V*), катализирующая обратимую реакцию: $АТФ + H_2O \leftrightarrow АДФ + P_n$. АТФ-синтаза состоит из следующих компонентов: F_o (oligomycin-sensitive) – гидрофобный сегмент из 13 полипептидных цепей, связанный с внутренней мембраной митохондрий; F_o – это протонный канал, по которому в норме через мембрану могут перемещаться только протоны; F_1 (первый фактор, который был определен как необходимый для окислительного фосфорилирования) – периферический мембранный белок (сопрягающий фактор), катализирующий синтез АТФ при перемещении прото-

нов; в) синтез АТФ осуществляется при перемещении протонов через АТФ-синтазу в направлении от ММП (межмембранное пространство) к матриксу.

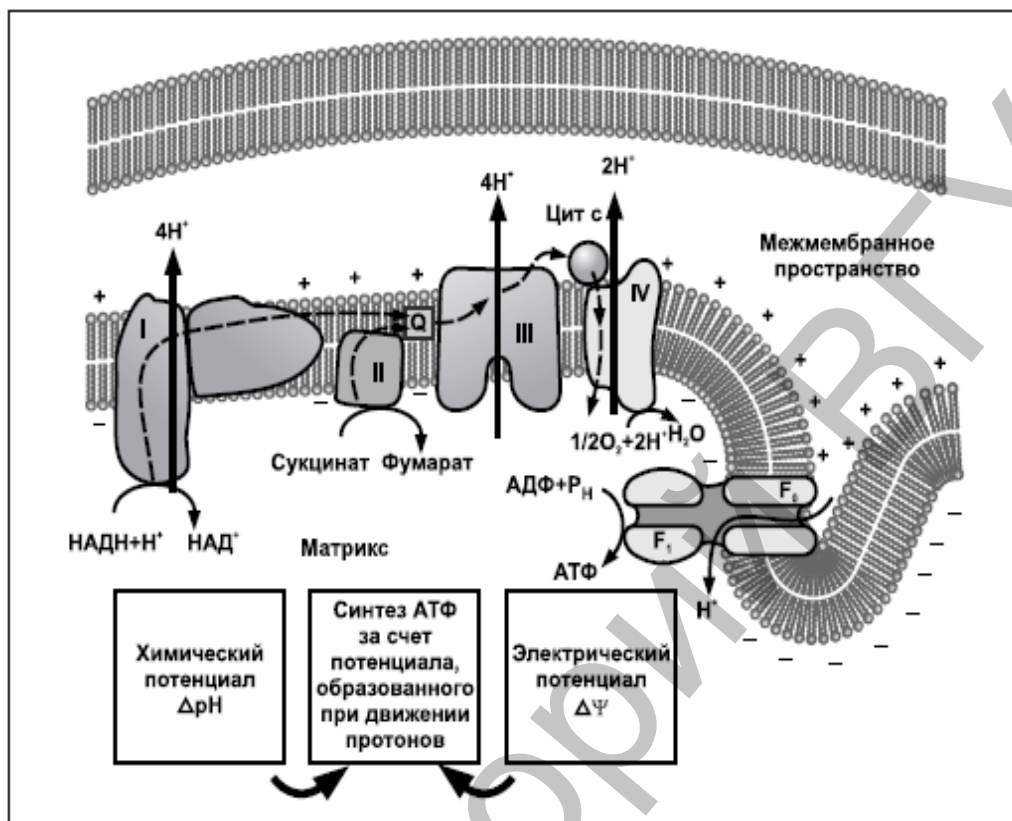


Рис. 10.1. Хемиосмотическая теория Митчелла [D.L. Nelson, M.M. Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

Суть окислительного фосфорилирования: за счет энергии переноса электронов в ЦПЭ ($E_{\text{ОКИСЛЕНИЯ}}$) происходит движение протонов через мембрану в ММП и создается электрохимический потенциал ($E_{\text{ЭХП}}$). При возвращении протонов назад через АТФ-синтазу энергия ЭХП трансформируется в энергию АТФ – $E_{\text{АТФ}}$.

Итак, упрощая вышеизложенное, заключим:



НАДН-дегидрогеназа, убихинон:цитохром *c*-оксидоредуктаза и цитохром *c*-оксидаза выталкивают протоны в межмембранное пространство. Протоны берутся из H_2O матрикса или за счет конформационных изменений в ферментах. Со стороны матрикса на мембране будет преобладать отрицательный заряд (избыток OH^-), а со стороны ММП положительный (за счет H^+). Возникает электрохимический потенциал (ЭХП), который состоит из двух компонентов: химического (разности концентраций ионов H^+) и электрического (разности электрических потенциалов): $\Delta\mu\text{H}^+ = \Delta\phi + \Delta p\text{H}$. Эта величина измерена, она равна

~0,14 В. При обратном токе протонов через канал АТФ-синтазы (разрядка мембраны) синтезируется АТФ.

10.2.1. Структура АТФ-синтазы. Митохондриальный F_1 компонент состоит из 9 субъединиц пяти типов: $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$. β -субъединицы имеют один каталитический сайт для синтеза АТФ. Головка каталитического F_1 компонента представляет собой сферу высотой 8 нм и шириной 10 нм, состоящей из α и β -субъединиц, расположенных подобно долькам апельсина (рис. 10.2). Полипептиды, которые образуют стебель F_1 , расположены асимметрично: один домен γ -субъединицы образует центральный ствол, который проходит через F_1 ; второй домен γ -субъединицы связан с одной из трех β -субъединиц, которая обозначается β -«пустая». Хотя аминокислотная последовательность 3-х β -субъединиц идентична, они отличаются по конформации и поэтому γ -субъединица может связываться только с одной из β -субъединиц. Конформации β -субъединиц обозначаются, как β -АТФ, β -АДФ и β -«пустая», показывая, какие нуклеотиды с ними связаны в данный момент. Это важно для механизма действия комплекса.

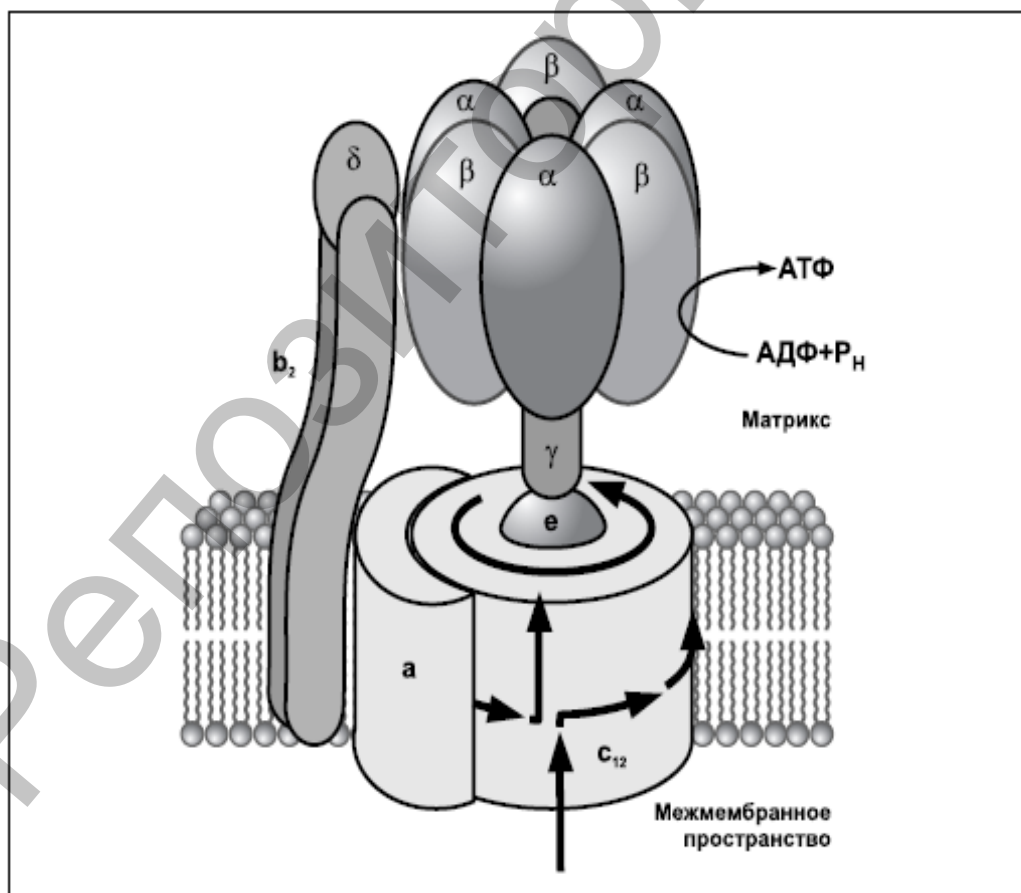


Рис. 10.2. Структура F_0F_1 комплекса [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

F_0 компонент образует протонный канал и состоит из субъединиц 3-х типов a , b и c в соотношении ab_2c_{10-12} (рис.10.2). c -Субъединица представляет собой небольшой (м.м. 8000), гидрофобный полипептид, состоящий из 2-х трансмембранных спиралей, локализованных почти полностью в мембране с небольшой петлей, выступающей из матриксной стороны мембраны. Кристаллическая структура F_0F_1 у дрожжей, установленная в 1999 г., показала, что трансмембранные спирали c -субъединицы строго перпендикулярны плоскости мембраны и формируют два концентрических круга: внутренний круг образован N-концевыми участками каждой c -субъединицы, внешний круг – C-концевыми участками спирали. ϵ и γ -субъединицы F_1 связаны с цилиндром, образованным c -субъединицами, формируя своеобразный «ствол» структуры. Отметим, что b субъединицы F_0 связаны с α и β -субъединицами F_1 , обеспечивая их ориентацию относительно мембраны. При движении протонов через F_0 из межмембранного пространства в матрикс цилиндр и ствол поворачиваются и β -субъединицы F_1 изменяют конформацию, поскольку γ -субъединица связывается с каждой из них при повороте.

10.2.2. Механизм синтеза АТФ. Механизм синтеза АТФ был предложен Р. Воуег и включает 3 стадии, в результате которых происходит изменение конформации β -субъединицы: 1) β -субъединица находится в β -АДФ конформации и связана с АДФ и P_n ; 2) субъединица изменяет конформацию, способствующим образованию β -АТФ формы, которая прочно связывает и стабилизирует АТФ; 3) субъединица меняет конформацию на β -«пустая», которая имеет низкое сродство к АТФ и вновь синтезированная молекула освобождается с поверхности фермента. Следующий цикл начинается, когда β -субъединица снова переходит в конформацию β -АДФ и связывает АДФ и P_n .

Механизм синтеза АТФ представлен на рис. 10.3. F_1 комплекс имеет 3 центра для связывания с адениловыми нуклеотидами, один на каждую пару $\alpha\beta$ -субъединиц. В данный момент один из этих центров находится в β -АТФ конформации (связан прочно с АТФ), второй центр находится в β -АДФ конформации и третий центр пустой (β -«пустая» конформация). Конформационные изменения происходят при движении протонов через F_0 компонент АТФ-синтазы. Движение протонов через F_0 канал вызывает поворот центрального ствола γ -субъединицы, которая перпендикулярна плоскости мембраны, вокруг оси на 120° . γ -Субъединица проходит через центр $\alpha_3\beta_3$ -сфероида, который ориентирован неподвижно относительно поверхности мембраны b_2 и δ -субъединицами. Этот вызывает кооперативные конформа-

ционные изменения, при которых β -АТФ центр превращается в конформацию « β -пустая» и АТФ диссоциирует; β -АДФ центр превращается в β -АТФ конформацию, которая обеспечивает реакцию АДФ+Р_н с образованием АТФ; β -пустой центр превращается в β -АДФ центр, который связывает АДФ и Р_н. Таким образом, полный поворот γ -субъединицы вызывает прохождение каждой β -субъединицы через все возможные конформационные состояния и за один поворот головки синтезируется 3 молекулы АТФ.

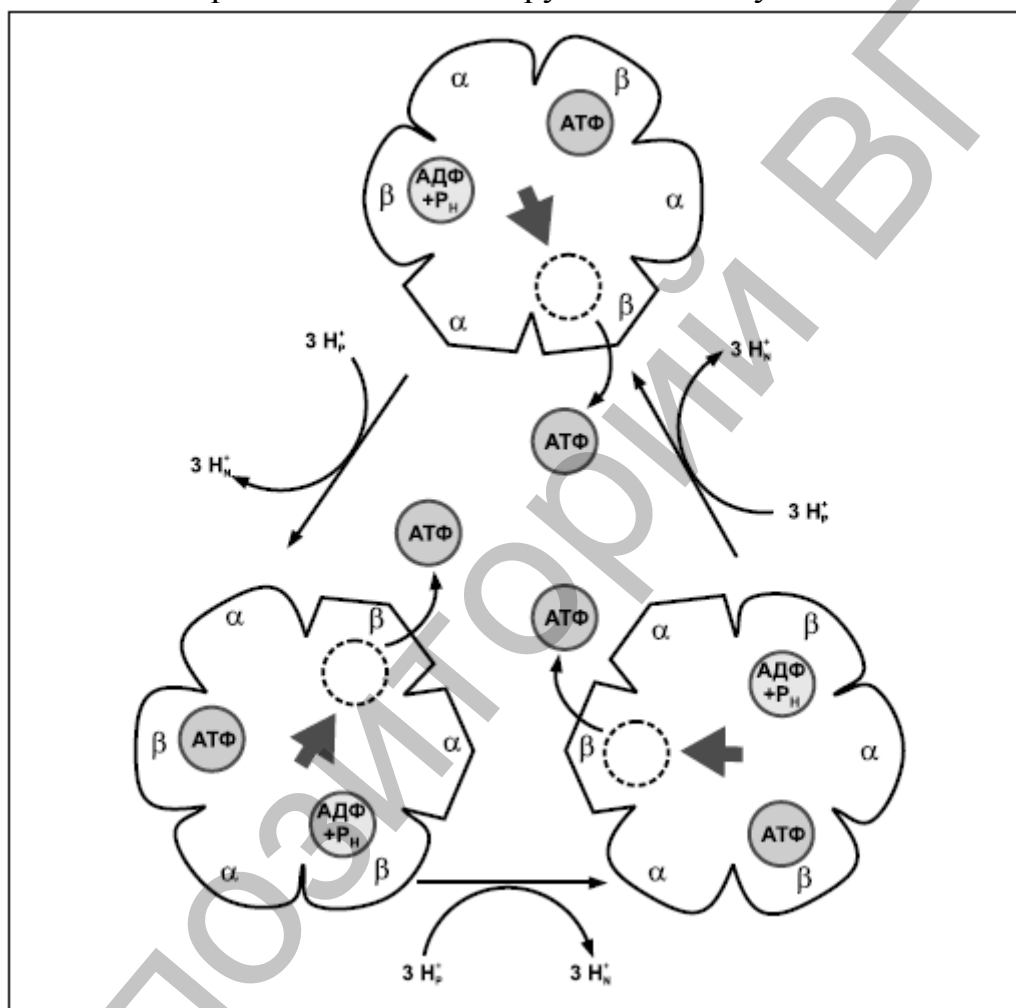


Рис. 10.3. Механизм синтеза АТФ [D.L. Nelson, M.M. Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

10.2.3. Роль протонного градиента в активном транспорте.

Для синтеза АТФ используется энергия протонного потенциала на мембране митохондрий. Однако эта энергия используется также для процессов обмена АТФ матрикса на АДФ цитозоля. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для заряженных молекул, но в ней находятся две специфические системы транспорта АДФ и Р_н в матрикс и АТФ из матрикса в цитозоль.

Адениннуклеотидтранслоказа (интегральный белок внутренней мембраны) (рис. 10.4) связывает АДФ^{3-} в межмембранном пространстве и транспортирует его в матрикс в обмен на молекулу АТФ^{4-} , одновременно транспортируемую из матрикса. Поскольку при этом транспорте перемещаются 4 отрицательных заряда наружу и три внутрь, образуется электрохимический трансмембранный градиент, который заряжает матрикс отрицательно. Электрохимический градиент обеспечивает обмен АТФ - АДФ . Транслоказа специфически ингибируется *атрактилозидом* – токсическим гликозидом, выделяемым чертополохом. Если транспорт АДФ и АТФ ингибируется, цитозольный АТФ не может синтезироваться из АДФ .

Второй транспортной системой, необходимой для окислительного фосфорилирования является *фосфаттранслоказа* (рис. 10.4), которая обеспечивает симпорт H_2PO_4^- и одного H^+ в матрикс. Этот процесс обеспечивает образование протонного градиента.

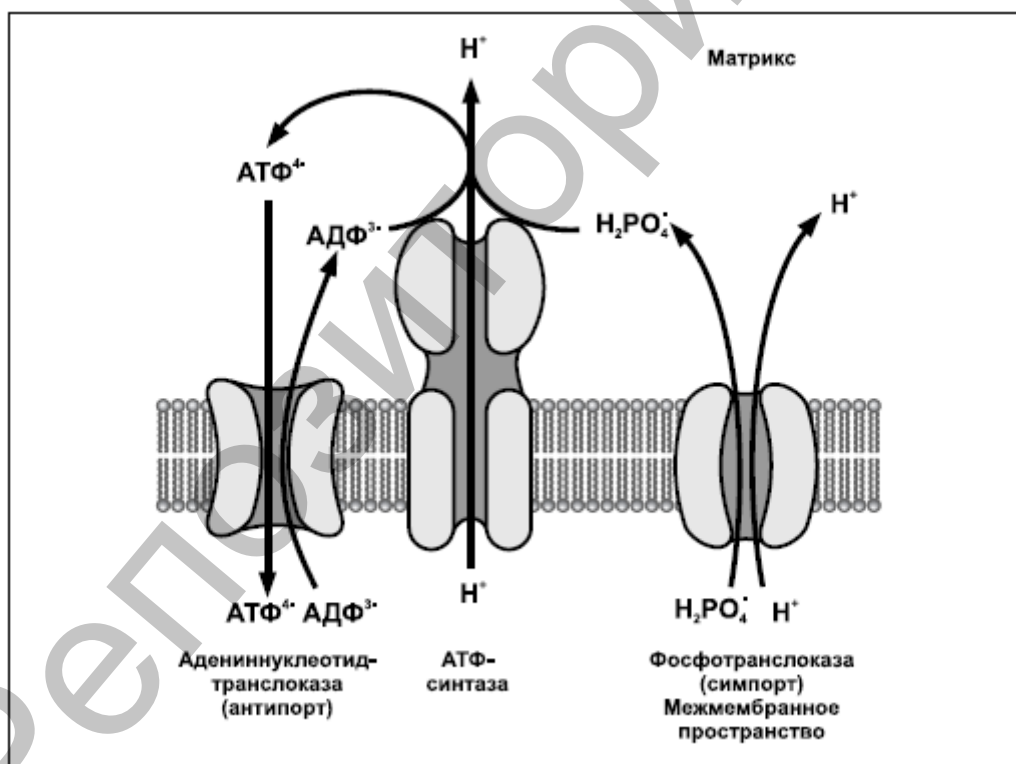


Рис. 10.4. Адениннуклеотидтранслоказа и фосфаттранслоказа [D.L. Nelson, M.M.Cox Lehninger Principles of biochemistry. – 3rd ed. – 2000. – p. 1152].

10.2.4. Количественная оценка окислительного фосфорилирования. Для количественного выражения окислительного фосфорилирования введен *коэффициент окислительного фосфорилирования*, который представляет собой отношение числа мо-

лекул неорганического фосфата, перешедших в состав АТФ в процессе дыхания, на каждый поглощенный атом кислорода.

Возникает вопрос, какое количество протонов необходимо для синтеза 1 молекулы АТФ? Количество протонов, выталкиваемых в межмембранное пространство равно 10 H^+ для НАДН и 6 H^+ для сукцината. Большинство исследователей считают, что для синтеза 1 молекулы АТФ необходимо 4 H^+ , один из которых используется для транспорта Рн, АТФ и АДФ через митохондриальную мембрану. Следовательно, коэффициент Р/О равен 2,5 ($10/4$) для НАДН и 1,5 ($6/4$) для сукцината. Считают, что примерно 2,5 молекулы цитозольной АТФ образуется в процессе переноса пары электронов от НАДН на O_2 . Для электронов, поступающих от убухинон-цитохром-с-оксидоредуктазы, равно как и от сукцината или цитозольного НАДН, образуется 1,5 молекулы АТФ на пару электронов.

Итак, поток двух электронов через НАДН-КоQ-оксидоредуктазу, КоQ-цитохром-с-оксидоредуктазу и цитохром-с-оксидазу обеспечивает синтез 1, 1 и 0,5 молекул АТФ, соответственно.

Образуется 2,5 молекулы АТФ при окислении молекулы НАДН и 1,5 молекулы АТФ при окислении молекулы ФАДН₂.

АТФ, образованная в результате окислительного фосфорилирования в митохондриях, обменивается на немитохондриальную АДФ с помощью специальных белков *транслоказ* (транслоказы составляют до 6% от всех белков внутренней мембраны митохондрий).

10.3. Дыхательный контроль и нарушения клеточного дыхания

Дыхательный контроль – это регуляция скорости переноса электронов по дыхательной цепи *отношением АТФ/АДФ*. Чем меньше это отношение (преобладает АДФ), тем интенсивнее идет дыхание (это обеспечивает реакцию $\text{АДФ} + \text{Рн} \rightarrow \text{АТФ}$). Это видно по увеличению потребления кислорода митохондриями после добавки АДФ (эксперименты Чанса) или по усиленному дыханию бегущего человека.

10.3.1. Ингибиторы дыхания

Вещества, прекращающие поток электронов по дыхательной цепи ферментов, называют ингибиторами дыхания.

1. Ингибиторы транспорта электронов от НАДН к коферменту Q: *ротенон* (инсектицид), *барбитураты* (амобарбитал, се-

кобарбитал), *пирицидин* (антибиотик). Предотвращают генерирование протонного градиента в комплексе I. В то же время указанные ингибиторы не нарушают окисление сукцината.

2. *Антимицин А* тормозит поток электронов от КоQ к цитохрому с, предотвращая синтез АТФ, сопряженный с генерированием протонного градиента в комплексе III. Этот блок можно обойти добавлением *аскорбиновой кислоты*, которая непосредственно восстанавливает цитохром с.

3. Транспорт электронов может быть блокирован между цитохромоксидазным комплексом и кислородом под действием CN^- , N_3^- и CO . В присутствии этих ингибиторов из-за прекращения тока электронов не происходит фосфорилирования, сопряженного с генерированием протонного градиента в комплексе IV.

4. Олигомицин и дициклогексилкарбодиимид (DCCD) предотвращают поток протонов через АТФ-синтазу.

5. АТФ-АДФ-транслоказа специфически ингибируется очень низкими концентрациями *атрактилозида* (растительный гликозид) или *бонкрековой кислоты* (антибиотик). Атрактилозид связывается с транслоказой на цитозольной поверхности мембраны, а бонкрековая кислота – на стороне матрикса. Блокада транслоказы ведет к остановке окислительного фосфорилирования.

10.3.2. Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования. Возникает при повышении проницаемости мембраны митохондрий для протонов в любом месте, а не только в канале АТФ-синтазы. При этом не создается электрохимический потенциал и энергия окисления рассеивается в виде тепла. Так действуют ионофоры (*2,4-динитрофенол*, *валиномицин* и др.). Они переносят обратно протоны через мембрану, выравнивая градиенты pH и мембранного потенциала. Лекарственные препараты (*аминобарбитал*), продукты *жизнедеятельности микроорганизмов*, избыток *тироидных гормонов* (вызывают накопление ненасыщенных жирных кислот, являющихся ионофорами) и др. приводят к разобщению дыхания и фосфорилирования, обеспечивая гипертермию.

На разобщении дыхания и фосфорилирования базируется терморегуляторная функция тканевого дыхания. Тканевое дыхание, протекающее в митохондриях и не сопровождающееся образованием макроэргов, называют *свободным или нефосфорилирующим окислением*.

Природным разобщающим агентом является *термогенин*, протонный канал в митохондриях бурых жировых клеток. Бурый жир обнаружен у новорожденных и животных, впадающих в зимнюю спячку, и служит для теплообразования. При охлаждении организма норадреналин активирует гормонзависимую липа-

зу. Благодаря активному липолизу в организме образуется большое количество свободных жирных кислот, которые распадаются в результате β -окисления и в дыхательной цепи. Так как жирные кислоты одновременно открывают протонный канал термогенина, их распад не зависит от наличия АДФ, т.е. протекает с максимальной скоростью и генерирует энергию в форме тепла.

10.3.3. Гипоэнергетические состояния возникают при нарушении:

1) поступления субстратов для дегидрирования (на всех этапах от пищи до матрикса митохондрий);

2) поступления O_2 в митохондрии (на всех этапах дыхания, связывания кислорода с гемоглобином, транспорта и пр.);

3) мембран митохондрий, композиции липидного бислоя и ферментативных ансамблей внутренней мембраны митохондрий.

Напомним, что предложено вычислять *энергетическое состояние клетки*, вычисляя «заполнение» системы АТФ-АДФ-АМФ макроэргами. Если все три компонента представлены АТФ, то система энергетически полностью заполнена и ее энергетический заряд равен 1,0. Если же система представлена только АМФ, то ее энергетический заряд равен 0. Энергетический заряд клетки является важной величиной, определяющей соотношение катаболических и анаболических процессов в ней. В тканях животных важную регуляторную роль выполняет величина отношения АТФ/АДФ.

В сутки человек потребляет в среднем 27 моль кислорода. Основное его количество (примерно 25 моль) используется в митохондриях в ЦПЭ. Следовательно, ежедневно синтезируется 125 моль АТФ, или 62 кг (при расчете использован коэффициент $P/O = 2,5$, т.е. среднее значение коэффициента фосфорилирования). Масса всей АТФ, содержащейся в организме, составляет примерно 20-30 г. Следовательно, каждая молекула АТФ за сутки 2500 раз проходит процесс гидролиза и синтеза.

10.4. Окислительные системы, не связанные с запасанием энергии

Для всех этих окислительных систем характерно выделение энергии в виде тепла.

10.4.1. Пероксидазный путь. Другой тип дегидрирования субстратов, заключающийся в переносе двух атомов водорода на молекулу кислорода, называется пероксидазным: $RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$. Энергия окисления выделяется в виде тепла. Это *простые*

окислительные системы, представленные ФМН- и ФАД-содержащими ферментами, а также металлопротеинами. Они более широко распространены в растительных клетках, чем в клетках животных и человека. В клетке около 80% этих ферментов сосредоточено в пероксисомах, кроме того, они встречаются в мембранах, граничащих с цитозолем. Так происходит окисление альдегидов, аминов, L- и D-аминокислот, пуринов и др. Некоторые из названных веществ являются токсическими. В лейкоцитах, гистиоцитах и других клетках, способных к фагоцитозу, пероксидазный путь окисления субстратов очень активен. Образующаяся H_2O_2 используется для обезвреживания болезнетворных бактерий и распада инфекционного материала, поглощенного клетками. Однако избыточное накопление перекиси водорода токсично, особенно для нефагоцитирующих клеток. Накопление пероксидов и генерация свободных радикалов может приводить к повреждению мембран (рак, атеросклероз).

Для предотвращения повреждающего действия пероксидов служат две ферментативные системы. Первая – фермент *пероксидаза*, простетической группой которой является протогем. Ферменты этого типа широко представлены у растений, а также встречаются в молоке, лейкоцитах, тромбоцитах и тканях, продуцирующих эйкозаноиды: $H_2O_2 + RNH_2 \rightarrow 2H_2O + R$, где RNH_2 – аскорбиновая кислота, хиноны, цитохром С, глутатион. В эритроцитах и некоторых других тканях присутствует глутатионпероксидаза, содержащая Se в качестве простетической группы. Этот фермент защищает мембраны и гемоглобин от окисления пероксидами. Второй фермент – *каталаза*, являющийся гемопротеином (4 гема): $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$. Эта реакция напоминает пероксидазную, только вместо RNH_2 используется H_2O_2 . Каталазу находят в крови, костном мозге, слизистых оболочках, печени, почках, т.е. в клетках, где происходит интенсивное окисление с образованием H_2O_2 .

10.4.2. Оксигеназный путь. Оксигеназы – это ферменты, катализирующие включение атома или молекулы кислорода в субстрат окисления. Служат для синтеза и деградации различных метаболитов. Оксигеназы представлены двумя типами ферментов.

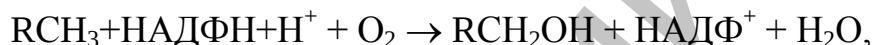
Монооксигеназы (оксигеназы со смешанной функцией, гидроксилазы, микросомальное окисление) катализируют присоединение одного атома кислорода к молекуле субстрата. При этом возникает *гидроксильная группа*, повышается растворимость вещества и проявляются новые фармакологические свойства. Для работы монооксигеназной системы необходимы следующие основные компоненты: неполярный субстрат $R-CH_3$; кислород

O=O; дополнительный субстрат НАДФН+Н⁺ – донор атомов водорода; цитохром Р-450.

Связанный с СО цитохром Р-450 имеет максимум поглощения при 450 нм (отсюда название – *цит Р-450*). Выполняет две функции: 1) связывание субстрата гидроксилирования; 2) на цит Р-450 происходит активация молекулярного кислорода.

Монооксигеназный путь окисления локализован в мембранах эндоплазматического ретикулума (после разрушения клеток эти мембраны замыкаются в микросферы – микросомы). Микросомальное окисление представляет короткую цепь, включающую НАДФ, ФАД, Fe₂S₂ – белки (адриноксин), цитохромы Р-450, b₅. В общем виде микросомальное окисление неполярных ксенобиотиков (лекарств) осуществляется с помощью *гидроксилазного цикла*.

Процесс микросомального гидроксилирования можно представить следующим уравнением:



где RCH₃ – окисляемый субстрат.

Следует отметить, что окисление органических соединений в микросомальных монооксигеназных реакциях, в отличие от реакций митохондриального окисления, как правило, не решает никаких энергетических задач, а *выполняет защитную (детоксикационную)* и пластическую функции. Окисленные продукты могут быть использованы в качестве пластического материала или сразу же удаляются из организма.

Весь каталитический процесс микросомального окисления может быть разбит на 6 основных стадий.

1. Вещество, подвергающееся биотрансформации (RCH₃), на этой стадии взаимодействует с окисленной формой цитохрома Р-450 (Fe³⁺) с образованием фермент-субстратного комплекса RCH₃ – Р-450 (Fe³⁺). Трехвалентное железо не может связывать кислород.

2. НАДФН+Н⁺ передает 2 атома водорода на ФАД. ФАД восстанавливается в ФАДН₂.

3. С помощью FeS белков происходит разделение потоков протонов и электронов. 1-й электрон связывается с комплексом RCH₃ – Р-450 (Fe³⁺) и переводит его в RCH₃ – Р-450 (Fe²⁺).

4. Восстановленный фермент-субстратный комплекс взаимодействует с молекулярным кислородом с образованием тройного оксигенированного фермент-субстратного комплекса RCH₃-Р-450 (Fe²⁺) – O₂.

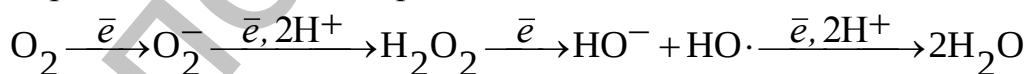
5. Происходит восстановление кислорода за счет второго электрона и превращение его в свободный радикал. $\text{RCH}_3\text{-P-450} (\text{Fe}^{2+}) - \text{O}_2 \cdot^-$.

6. Стадия характеризуется внутримолекулярными превращениями восстановленного тройного комплекса и его распадом с высвобождением воды и гидроксированного субстрата (RCH_2OH). При этом цитохром P-450 переходит в исходную форму, готовую к взаимодействию со следующей молекулой субстрата.

В митохондриях содержится монооксигеназная система, локализованная на внутренней стороне внутренней мембраны митохондрий, которая выполняет биосинтетическую функцию, т.е. введение OH-групп при биосинтезе стероидных гормонов (кора надпочечников, семенники, яичники, плацента), холестерина, при образовании кальцитриола (витамин Д₃) из 25-гидроксиколекальциферола в почках и при синтезе желчных кислот в печени.

10.4.3. Диоксигеназный путь. Включение двух атомов кислорода в молекулу субстрата $\text{R} + \text{O}_2 \rightarrow \text{RO}_2$ катализируется ферментами диоксигеназами. Этот путь служит для превращения молекул, содержащих ароматические кольца, например, гомогентизиновую кислоту. Одной из биологически важных диоксигеназных реакций является разделение молекулы β-каротина на 2 молекулы ретиналя (одна из форм витамина А).

10.4.4. Свободно-радикальное окисление. Под свободными радикалами понимают молекулу или ее часть, имеющую *неспаренный электрон на молекулярной или на внешней атомной орбите*. Появление неспаренного электрона – реализация у молекулы свободной валентности. Свободные радикалы реакционно-активны и вступают в химические реакции для приобретения недостающего электрона. Полное восстановление O_2 до H_2O требует присоединения 4 электронов: $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$.



При неполном восстановлении (т.е. присоединении 1, 2 или 3e^-) образуются свободно-радикальные формы кислорода: $\text{O}_2 \cdot^-$ – супероксидный анион-радикал; $\text{HO} \cdot$ – гидроксильный радикал ($\text{RO} \cdot$ – алкоксильный радикал), $\cdot\text{O}_2\text{H}$ – гидропероксильный радикал.

К реактивным формам кислорода относят оксид азота ($\text{NO} \cdot$), пероксинитрит (ONOO^-) и озон. По L.Flohe и H.Budde (2006) в клеточной биологии под свободными радикалами понимают малые высоко реактивные O-, N-, S- и C-центровые радикалы, которые участвуют в *оксидативном* или *нитросативном стрессе*. Нитросативный стресс характеризуется суперпродукци-

ей $\text{NO}\cdot$, который часто усугубляет эффекты избыточной продукции супероксидного аниона.

Супероксидный радикал может возникать в процессе биохимических реакций (окисление с помощью флавопротеинов, в цепях монооксигеназных реакций и др.).

Свободные радикалы иницируют цепные реакции. Если в реакцию вступают ненасыщенные жирные кислоты, то говорят о пероксидном окислении липидов (ПОЛ). Этот процесс важен для развития патологических состояний, связанных с повреждением мембран. Схема цепных реакций:

1. Инициация при действии $\text{R}\cdot$, металлов, излучений:
 $\text{X}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{R}\cdot + \text{XH}$.

2. Удлинение, разветвление: $\text{R}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}\cdot$ (пероксидный радикал). $\text{ROO}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{R}\cdot + \text{ROOH}$ (гидроперекись) и т.д.

3. Терминация (обрыв цепи): $\text{ROO}\cdot + \text{R}_1\cdot \rightarrow \text{ROOR}_1$; $\text{R}\cdot + \text{R}_1\cdot \rightarrow \text{RR}_1$.

Применительно к фрагменту ненасыщенной жирной кислоты можно показать ранние, средние и поздние продукты пероксидного окисления. Во всех полиненасыщенных жирных кислотах присутствует дивинилметановая структура, которая легко вступает в реакцию отрыва протона, сопровождающуюся образованием свободного радикала. Ранние продукты ПОЛ – диеновые конъюгаты; средние продукты ПОЛ – гидроперекиси; конечный продукт ПОЛ – малоновый диальдегид. Эти процессы лежат в основе повреждения мембран клеток.

Для лабораторной диагностики ряда патологических состояний перспективно определение в выдыхаемом воздухе этана, который выделяется при окислении ω_3 -жирных кислот, например, α -линоленовой 18:3, $\Delta^{9,12,15}$, а также пентана – при окислении ω_6 -жирных кислот, например, линолевой 18:2, $\Delta^{9,12}$ или арахидоновой 20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$.

Свободнорадикальные процессы лежат в основе биохимических механизмов неспецифической резистентности организма, определяемой специальными клетками тканей и крови.

Патологии, связанные с повреждениями свободно-радикального генеза: атерогенез, бронхит, эмфизема, болезнь Паркинсона, мышечная дистрофия Дюшена, рак шейки матки, алкогольное повреждение печени, диабет, острое повреждение почек, синдром Дауна, цереброваскулярные заболевания, ишемия, реперфузионные нарушения.

10.4.5. Антиоксидантная защита. Сдерживание процессов свободно-радикального окисления осуществляется с помощью неферментативных и ферментативных механизмов.

1. *Неферментативная защита* включает: комплексоны, связывающие металлы (этилендиаминотетрауксусная кислота); в водной фазе – витамин С, ураты, ароматические амины, SH-соединения; в липидной фазе – жирорастворимые витамины А (β-каротин), Е, гормоны стероидной природы, тироксин.

2. *Ферментативная защита* включает фермент супероксиддисмутазу (в цитозоле, ядрах и лизосомах простетическая группа – Cu^{2+} , Zn^{2+} , в митохондриях и у бактерий – Mn^{2+}) $\dot{\text{O}}_2^- + \dot{\text{O}}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$. Перекись водорода обезвреживается в каталазной или пероксидазной (чаще глутатионпероксидазной) реакциях. Активатор реакции – Se. В продукты питания добавляют антиоксидантные добавки: β-каротин, α-токоферол, ВНА – бутиловый гидроксианизол, ВНТ – бутиловый гидрокситолуен. Для профилактики радиационных поражений используют комплексы витаминов А, Е, С и β-каротин, Е, С.

Глава 11. СВЕТ В БИОЛОГИИ

Свет является одним из видов электромагнитного излучения и обладает свойствами как волн, так и частиц (фотонов). Энергия фотона обычно характеризуется частотой соответствующего излучения (или обратной величиной – длиной волны в вакууме. Некоторые характеристики света представлены в табл. 11.1.

Таблица 11.1. Некоторые свойства света

Скорость света в вакууме	$c=2,998 \times 10^8 \text{ м} \times \text{с}^{-1}$
Скорость света в среде	$c'=c/n$, где n – показатель преломления
Волновое число	$\bar{\nu}=1/\lambda$; $\bar{\nu}$ (в см^{-1})= $10^7/\lambda$ (в нм); $1 \text{ см}^{-1}=1$ кейзер
Частота	$\nu=c/\lambda=c\bar{\nu}$; ν (в Гц)= $2,998 \times 10^{10} \bar{\nu}$ (в см^{-1}) в вакууме
Энергия кванта	$E=h\nu=hc\bar{\nu}$; E (в Дж)= $1,986 \times 10^{-23} \bar{\nu}$ (в см^{-1}) E (в эВ)= $1,240 \times 10^{-4} \bar{\nu}$ (в см^{-1})
Энергия эйнштейна	$E=Nh\nu=Nhc\bar{\nu}=6,023 \times 10^{23} hc\bar{\nu}$ E (в Дж)= $11,961 \bar{\nu}$ (в см^{-1}) E (в ккал)= $2,859 \bar{\nu} \times 10^{-3}$ (в см^{-1})

Примечание: h – постоянная Планка $6,626 \times 10^{-34} \text{ Дж} \times \text{с}^{-1}$; энергия одного Эйнштейна (т.е. одного «моля» света ($6,023 \times 10^{23}$ квантов) – энергия, выражаемая в кДж на Эйнштейн, равна $11961 \bar{\nu}$ (в см^{-1} , в вакууме).

На рисунке 11.1 в логарифмическом масштабе изображен участок электромагнитных волн.

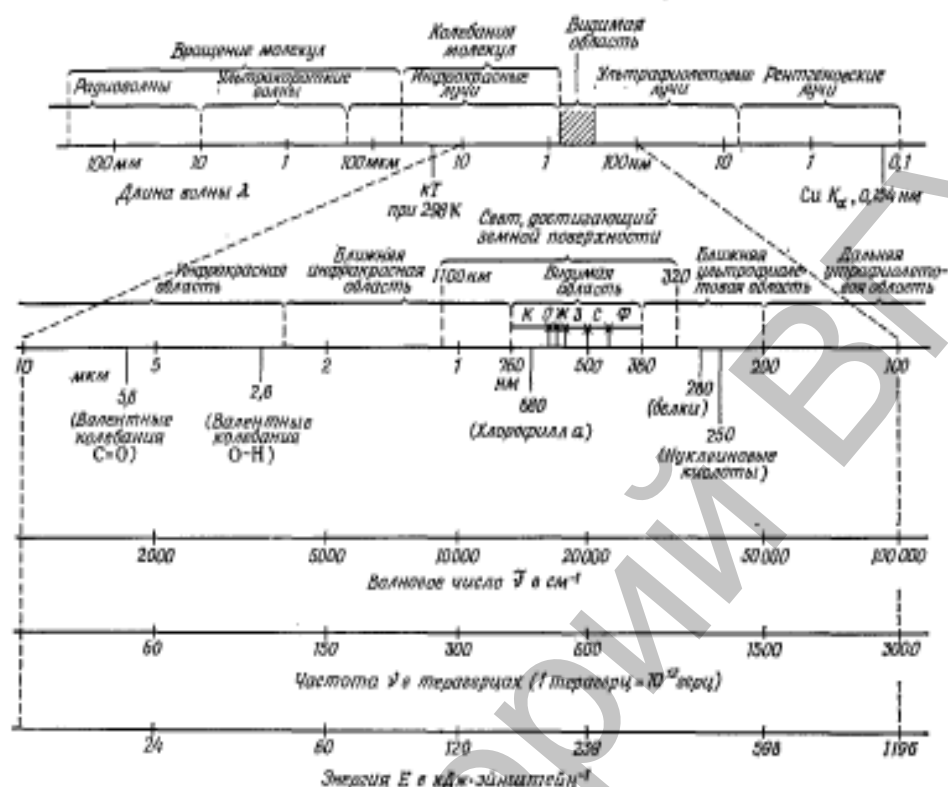


Рис. 11.1. Участок шкалы электромагнитных волн.

Буквы Ф, С, З, Ж, и К над областью, соответствующей видимому свету, обозначают различные цвета. Отметка CuK α отвечает длине волны рентгеновских лучей, широко используемых в рентгеноструктурном анализе белков и других органических материалов.

Свет достигающий поверхности земли, занимает узкий интервал от 320 до 1100 нм. Глаз человека воспринимает свет в интервале 380-760 нм.

11.1. Фотосинтез

Фотосинтез – это совокупность процессов, в ходе которых солнечная энергия запасается в виде химических связей органических соединений, синтезируемых из неорганических веществ. В процессе фотосинтеза на земле запасается 10^{17} ккал ($4,18 \times 10^{17}$ кДж) свободной энергии, что соответствует ассимиляции более чем 10^{10} тонн углерода в углеводы и другие органические молекулы.

Фотосинтез состоит из двух фаз: *световой* (фотофизический и фотохимический этапы) и *темновой*.

Световая фаза: свет + $12 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 12 \text{ НАДФН} + 18 \text{ АТФ} + 6 \text{ O}_2$

Темновая фаза: $12 \text{ НАДФН} + 18 \text{ АТФ} + 6 \text{ CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ H}_2\text{O}$

Фотосинтез происходит в клетках эукариот (высшие зеленые растения и низшие их формы – зеленые, бурые и красные водоросли) и одноклеточных (эвгленовые, динофлагелляты и диатомовые водоросли), а также в клетках прокариот (сине-зеленые водоросли, зеленые и пурпурные бактерии). Примерно половина фотосинтеза на Земле осуществляется высшими зелеными растениями, а остальная половина – главным образом одноклеточными водорослями.

В. Эллиот и Д. Эллиот, считая появление фотосинтеза самым важным событием с момента возникновения жизни, дали ему следующее определение. *«Фотосинтез – это биологический процесс, осуществляющий кругооборот электронов. Он имеет несколько явных преимуществ:*

- неисчерпаемость источника энергии – солнца;*
- неисчерпаемость донора электронов – воды;*
- выделяющийся кислород является неисчерпаемым резервуаром для стока электронов, позволяющим осуществлять высвобождение энергии из высокоэнергетических электронов пищевых молекул».*

У бактерий фотосинтезирующие структуры представлены мезосомами – впячивания клеточной мембраны с образованием пластинчатых органоидов. *Хроматофоры* – это изолированные из разрушенных бактерий мезосомы. У эукариот имеются специализированные органеллы для осуществления фотосинтеза – *хлоропласты* (рис. 11.2). Считают, что хлоропласты – это далекие потомки прокариотических фотосинтезирующих одноклеточных организмов, вступивших в симбиоз с эукариотическими клетками.

Подобно митохондриям, хлоропласты способны делиться в собственном ритме (содержат необходимые для деления ДНК, РНК и аппарат синтеза белка). Хлоропласты крупнее митохондрий: их длина 3–10 мкм, диаметр 0,2–2,0 мкм. В клетках высших растений содержится несколько десятков хлоропластов. Помимо хлоропластов, в них имеются и *митохондрии*, которые обеспечивают клетки энергией в темноте за счет дыхания. По структуре хлоропласты напоминают строение митохондрий: они окружены двумя мембранами – наружной и внутренней. Внутренняя мембрана уложена в виде стопок уплощенных пузырьковидных дисков – *ламеллы*. Уплощенные пузырьки ламелл называют *тилакоидами* (замкнутая полость с поперечником 15 нм); внутри тилакоида – внутритилакоидное пространство (thylakoid lumen). Тилакоиды уложены поперек хлоропласта стопками, называемыми *грана-*

ми. В клетке высших растений содержится до 50 гран, которые соединены между собой мембранными перемычками. Водная среда между гранами является *стромой* хлоропласта. В гране от 10 до 20 тилакоидов. Элементарной структурной и функциональной фотосинтетической единицей мембран тилакоидов, содержащей аппарат улавливания и трансформации солнечной энергии, является *квантосома* (величина около 17,5 нм, м.м. порядка 2 млн Да).

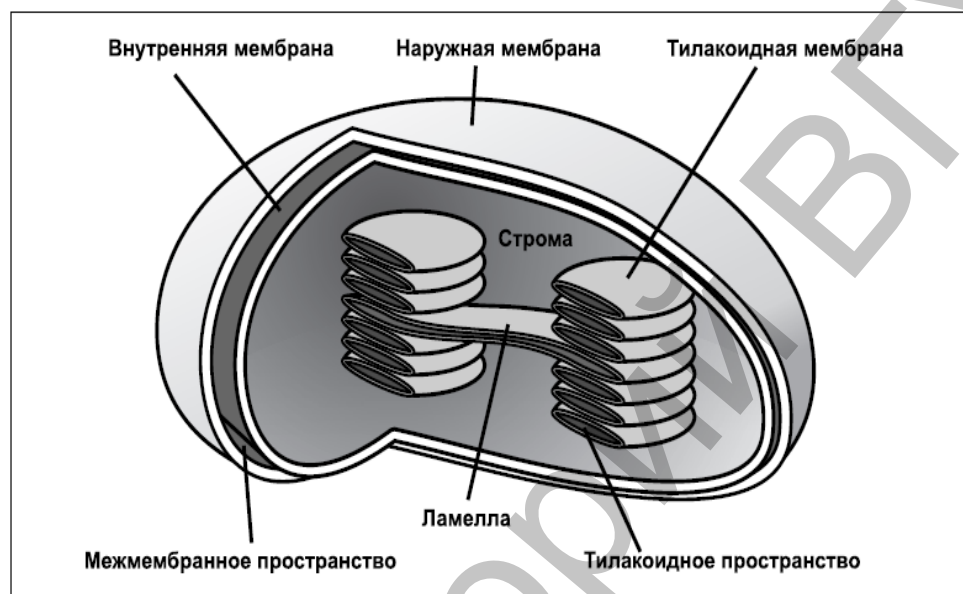


Рис. 11.2 Строение хлоропласта.

В ламеллярной системе протекают световые процессы фотосинтеза, в строме – темновые ферментативные реакции, связанные с фиксацией CO_2 (рис. 11.2). Транспорт веществ через внутреннюю мембрану хлоропласта осуществляется с помощью *транслоказ*, например, перенос АТФ в обмен на АДФ.

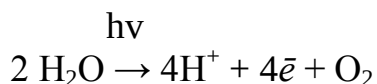
11.2. Фазы фотосинтеза

Световая фаза фотосинтеза протекает в квантосомах мембран тилакоидов, а темновая – в строме хлоропласта.

Световая фаза протекает на свету. На этой стадии энергия света трансформируется в химическую энергию АТФ, а относительно бедные энергией электроны воды переходят в богатые энергией электроны НАДФН. Побочным веществом, образующимся в ходе световой стадии, является кислород.

Световая фаза включает три процесса:

1. Начальной реакцией является фотофизический процесс восприятия квантов солнечной энергии и фотохимический процесс окислительного расщепления воды – *фотоокисления*:



2. Энергия электронов воды используется специализированной мембранной системой для фосфорилирования АДФ и образования АТФ в системе *фотосинтетического фосфорилирования*.

3. Часть энергии электронов восстанавливает НАДФ⁺ в реакции фотовосстановления:



Продукты световой фазы (АТФ и НАДФН) используются в темновой стадии, где происходит восстановительный синтез глюкозы из СО₂. Без световой стадии темновая стадия невозможна.

11.3. Пигменты фотосинтеза

К пигментам фотосинтеза относятся: зеленые – *хлорофиллы a, b, c, d*; желтые, красные, пурпурные – *каротиноиды*, а также красные и синие – *фикобилины*.

1. Все фотосинтезирующие организмы содержат хлорофиллы – зеленые магний-порфириновые пигменты. Известно свыше 10 видов хлорофиллов, различающихся природой химических групп, присоединенных к пиррольным структурам порфиринового ядра, окраской, распространением среди живых организмов. В молекуле хлорофилла *a*, присутствующего в хлоропластах всех клеток зеленых растений, содержится четыре замещенных пиррольных кольца. Пятое, непиррольное кольцо, представлено остатком малоновой кислоты, этерифицированной метиловым спиртом. Длинная изопреноидная боковая цепь в молекуле хлорофилла *a* представляет собой остаток спирта фитола, присоединенного сложноэфирной связью к карбоксильной группе пропионовой кислоты в кольце IV. Четыре центральных атома азота в молекуле хлорофилла *a* координационно связаны с ионом Mg²⁺.

В фотосинтезирующих клетках высших растений всегда присутствуют хлорофиллы двух типов. Один из них – хлорофилл *a*, а второй представлен у многих видов хлорофиллом *b*, отличающимся от хлорофилла *a* тем, что вместо метильной группы в кольце II в нем содержится альдегидная группа. Атом Mg способствует образованию агрегатов молекул хлорофилла, что облегчает улавливание света. Длинная гидрофобная боковая цепь служит не только для закрепления молекул хлорофилла в липидном бислое, но и для придания им определенной ориентации.

У всех зеленых растений содержатся хлорофиллы *a* и *b*, в диатомовых водорослях – хлорофилл *c*, в красных водорослях – хлорофилл *d*. Все хлорофиллы являются фоторецепторами, так как интен-

сивно поглощают видимый свет (в спектрах поглощения имеются четыре полосы – три в красно-желтой и одна в синей областях).

2. Среди вспомогательных пигментов наиболее распространен β -каротин – изопреноидное соединение, которое служит у животных предшественником витамина А, и желтый каротиноид *ксантофилл*. Каротиноиды поглощают свет в ином диапазоне длин волн, передают поглощенную энергию на молекулы хлорофилла и поэтому функционируют как световые рецепторы, дополняющие хлорофиллы. Каротиноиды предохраняют молекулы хлорофилла от разрушения в процессе фотоокисления.

3. Фикобилины (*фикоэритрины*, *фикоцианины*), построенные из линейно связанных четырех пиррольных структур, поглощают энергию в зеленой и желтой областях спектра и передают ее на хлорофилл.

11.4. Характеристика фотосистем

Светопоглощающие пигменты тилакоидных мембран собраны в функциональные ансамбли, которые называются *фотосистемами*. Различают фотосистемы I и II. Все пигментные молекулы фотосистем поглощают фотоны, но только одна молекула в каждом ансамбле обладает способностью превращать световую энергию в химическую. Эта специализированная трансформирующая энергию пигментная молекула представляет собой молекулу хлорофилла *a*, соединенную с особым белком и называется *фотохимическим реакционным центром*. Все прочие пигментные молекулы в фотосистеме называются *светособирающими* или *антенными* молекулами. Их функция заключается в поглощении световой энергии. Эту энергию они затем передают реакционным центрам, в которых и происходит фотохимический акт. Функции реакционных центров выполняют пигмент P_{700} , поглощающий свет с длиной волны 700 нм и пигмент P_{680} , поглощающий свет с длиной волны 680 нм. На долю этих фотохимически активных форм хлорофилла приходится 1/400 часть общего количества хлорофилла в клетке. Энергетический уровень возбужденного состояния P_{700} и P_{680} ниже, чем у других хлорофиллов-фоторецепторов, поэтому они способны забирать поглощенную энергию фотонов от фоторецепторов в виде экситонов. При поглощении этой энергии пигменты-реакционные центры теряют электроны.

Функциональная единица фотосистемы I содержит около 100 молекул хлорофилла *a* и 50 молекул каротиноидов и одну молекулу пигмента P_{700} . Фотосистема II включает 200 молекул хлорофилла *a*, 200 молекул хлорофилла *b*, фикобиллины или ксантофиллы и одну молекулу пигмента P_{680} .

11.5. Механизм световой стадии фотосинтеза

При поглощении кванта света фотосборщиками фотосистемы I, происходит их возбуждение и энергия возбуждения в виде экситонов передается на реакционный центр фотосистемы – пигмент P_{700} . Окислительно-восстановительный потенциал пигмента P_{700} в невозбужденном состоянии равен +0,4 В. При поглощении экситонов, P_{700} переходит в возбужденное состояние, что сопровождается изменением окислительно-восстановительного потенциала до -0,60 В (т.е. изменение потенциала на 1,0 В). В результате один из электронов этой фотосистемы приобретает большое количество энергии, покидает реакционный центр и переходит через *ферредоксин связанный*, *ферредоксин свободный*, *НАДФ-редуктазу* на молекулу *НАДФ* с величиной ОВП – 0,32 В. Два электрона транспортируются двумя молекулами ферредоксина.

Но так как пигмент P_{700} отдал электрон, у него образовалась «электронная дырка», подлежащая восстановлению. В заполнении «электронной дырки» принимает участие фотосистема II.

При попадании света экситоны поглощаются пигментом P_{680} , который переходит в возбужденное состояние. Это сопровождается изменением ОВП от + 1,0 В (в темноте, основное состояние) до – 0,06 В (в возбужденном состоянии). В итоге электрон перемещается от пигмента P_{680} к пигменту P_{700} (ОВП = + 0,46 В) с целью заполнения «электронной дырки» через цепь переносчиков: прочно *связанный пластохинон* → *подвижный пластохинон* → *цитохром b_{559}* → *цитохром b_{552}* → *пластоцианин (Cu)* → *окисленная форма P_{700}* . В результате у пигмента P_{680} возникает «электронная дырка», которая заполняется за счет электронов воды (ОВП воды + 0,82 В, а ОВП окисленного пигмента P_{680} + 1,0 В). При *фотолизе воды* выделяется кислород и протоны. Эти протоны присоединяются к НАДФ, принявшему 2 электрона от возбужденного пигмента P_{700} .

Перенос электронов идет против градиента ОВП за счет энергии света. Такой перенос электронов, сопряженный с восстановлением НАДФ, носит название *нециклического переноса*. Возможен циклический перенос электронов: *пигмент P_{700}* → *цитохром b_{563}* → *цитохром c_{552}* → *пластоцианин* → P_{700} .

11.5.1. Механизм фотосинтетического фосфорилирования

При циклическом и нециклическом путях переноса электронов происходит высвобождение энергии, которая аккумулируется в АТФ. Этот процесс называется *фотосинтетическим фосфорилированием*; при циклическом переносе происходит

циклическое фосфорилирование, при нециклическом – нециклическое.

1. При переносе электронов на пигмент P_{700} в мембране тилакоида из стромы хлоропласта внутрь тилакоида переносятся протоны.

2. Внутри тилакоида происходит фотолиз воды и накапливаются протоны.

3. В результате на мембране тилакоида создается электрохимический потенциал, величиной 0,25 В.

4. Протоны выходят из тилакоида в строму хлоропласта через протонный канал (CF_0) АТФ-синтазы. При возвращении протонов через протонный канал и сопрягающую часть АТФ-синтазы (CF_1) синтезируется АТФ. В строме хлоропласта вышедшие протоны и электроны от пигмента P_{700} восстанавливают НАДФ.

CF_1 состоит из пяти субъединиц. Каждая CF_1 содержит три $\alpha\beta$ димера, которые вместе образуют 3 каталитических сайта. Каждый димер может связать АДФ и фосфат с образованием АТФ. Каждый из димеров отличается по аффинности к нуклеотидам; при возвращении протонов из тилакоида в строму хлоропласта через канал CF_0 изменяется конформация одного из сопрягающих сайтов CF_1 субъединицы АТФ-синтазы, что обеспечивает синтез и освобождение молекулы АТФ. Согласно одной из моделей, предполагается, что перенос протонов через CF_0 вызывает вращение CF_1 для оптимизации образования АТФ.

Отличия фотосинтетического фосфорилирования от окислительного фосфорилирования в митохондриях: 1) в тилакоидах направление переноса протонов и электронов через мембрану противоположно направлению его в митохондриальной мембране; 2) внутри тилакоида сконцентрирован положительный заряд из-за накопления протонов, а на внешней стороне мембраны тилакоида концентрируется относительный отрицательный заряд; 3) основная доля электрохимического потенциала создается за счет градиента pH ; 4) протоны выталкиваются из внутритилакоидного пространства наружу через протон-зависимую АТФ-синтазу.

Подводя итог вышеизложенному, приведем современные представления о световой фазе фотосинтеза представлены на рис. 11.3.

Фотосистема II использует энергию света для окисления воды (фотолиз H_2O) и восстановления пластохинона (PQH_2). В этот процесс вовлечен марганец (компонент окисляющего воду комплекса) и более 26 белков (33, 23, 17, D2, D1 и другие), феофитин a (Pheo), хиноны (Q_A и Q_B), цитохром b_{559} . Электроны от P_{680} переносятся поперек мембраны тилакоида к Q_B (каждая молекула аккумулирует 2 электрона); Q_B отделяется от комплекса фотосистемы II и мигрирует к b_6/f комплексу. Фотосистема I катализирует перенос электрона от пластоцианина (PC) к ферредоксину (F_x) и затем к НАДФ. Фотосистема I состоит из 13 индивидуальных белков и 100 молекул хлорофилла a . Считают, что фотосистема I включает 2 цепи переносчиков элек-

тронов между P_{700} и F_x . Показано, что P_{700} является димером и между P_{700} и F_x находятся 4 молекулы хлорофилла a .

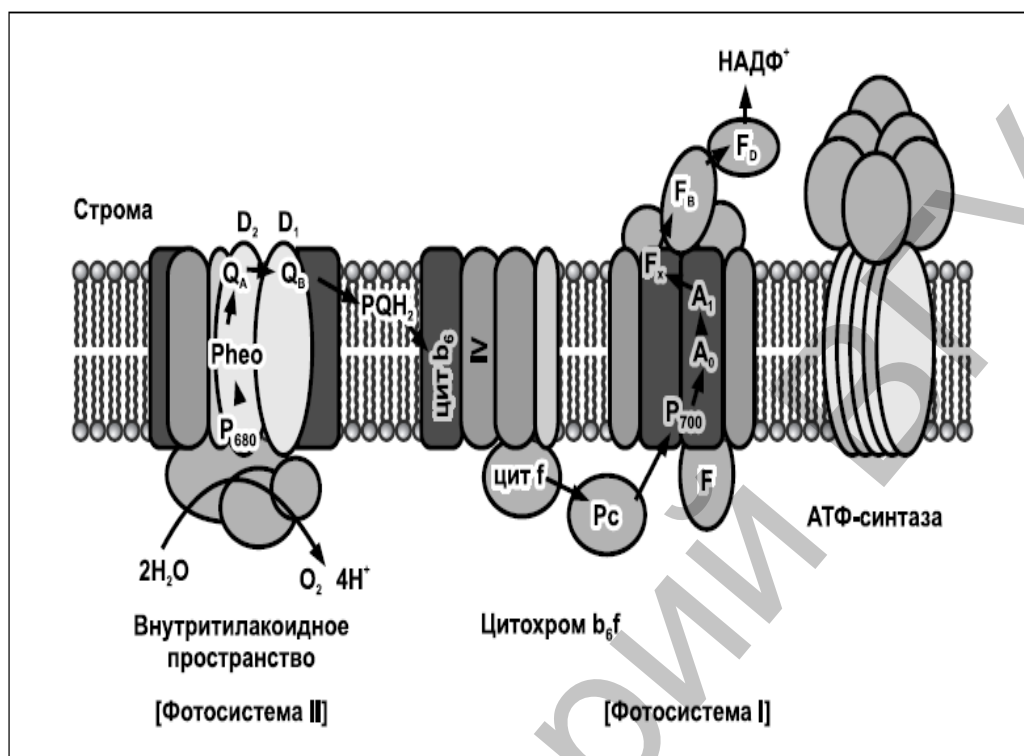
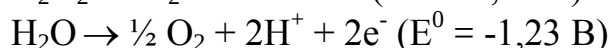
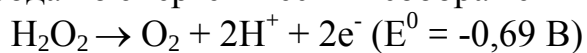


Рис. 11.3. Современная Z-схема вызванного светом переноса электронов в мембране тилакоида (по Andreu N. Weber. Encyclopedia of Life Science, 2001, Nature Publishing Group).

Итак, в одном акте световой фазы образуются 12 молекул НАДФН, 18 молекул АТФ и 6 молекул кислорода.

В последние десятилетия разрабатывается гипотеза, согласно которой источником кислорода в световой фазе фотосинтеза может быть *пероксид водорода* (Г.Г. Комиссаров, 2008). В природной воде всегда присутствует устойчивые молекулы пероксида водорода в концентрации 10^{-6} М. В процессе транспирации (испарение воды растениями) в листьях увеличивается концентрация H_2O_2 . Полагают, что если в фотосинтетической системе есть два потенциальных источника кислорода (вода и пероксид водорода), то предпочтительным источником будет пероксид водорода по энергетическим соображениям:



11.6. Темновая фаза фотосинтеза

Продукты световой стадии АТФ и НАДФН₂, образующиеся в строме хлоропласта, используются для синтеза глюкозы из СО₂. Ассимиляция диоксида углерода представляет циклический процесс, который называется *циклом Кальвина*, который состоит из трех стадий – карбоксилирование, восстановление и регенерация.

Синтезированные на свету АТФ и НАДФН используются для связывания СО₂ и восстановления его до углеводов. СО₂ присоединяется к рибулозо-1,5-бисфосфату при участии фермента рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа (Rubisko, КФ 4.1.1.39), который локализован на внешней поверхности мембран тилакоидов.

Фермент составляет 1/6 часть всех белков хлоропласта и 50% от растворимых белков листьев С₃ растений. Он характеризуется молекулярной массой 550 кДа и состоит из 8 идентичных больших и 8 идентичных малых субъединиц; активный центр фермента локализуется в каждой большой субъединице. Это наиболее распространенный белок на Земле. Высокая концентрация фермента определяется его низкой каталитической активностью. Число оборотов фермента ниже в 10³-10⁵ раз по сравнению с другими ферментами, например, дегидрогеназами. Концентрация активных центров Rubisko около 4 ммоль/л, а концентрация субстрата реакции СО₂ составляет 10 мкмоль/л, что создает необычную ситуацию, когда концентрация активных центров существенно превышает концентрацию субстрата.

Фермент катализирует реакции *карбоксилирования* с образованием двух молекул 3-фосфоглицерата и *оксигенации* с образованием молекулы 3-фосфоглицерата и молекулы 2-фосфогликолата (токсический для растения продукт) (рис. 11.4).

Специфическая фосфатаза превращает фосфогликолат в гликолат, который переносится в пероксисомы (иногда называют микротельцами). Гликолат окисляется в глиоксилат гликолатоксидазой, имеющей в качестве простетической группы ФМН. Образованная перекись водорода разрушается до Н₂О и О₂ каталазой. В процессе трансаминирования из глиоксилата образуется глицин. Две молекулы глицина могут образовать молекулу серина, потенциального предшественника глюкозы, с освобождением СО₂ и NH₄⁺. Аммоний, используемый в синтезе азотсодержащих молекул, резервируется в процессе глутаматсинтазной реакции. Этот путь возвращает в метаболизм три из четырех углеродных атомов двух молекул гликолата. Один углеродный атом теряется в виде СО₂. Поскольку этот процесс включает потребление кислорода и выделение углекислоты, его называют *фотореспирацией*. Фотореспирация расточительна из-за превращения органического углерода в углекислоту без продукции АТФ, НАДФН или других богатых энергией молекул. Этот путь присутствует в тропических растениях, т.к. оксигеназная активность быстрее увеличивается, чем карбоксилазная активность, при повышении температуры. В процессе эволюции фермент *Rubisco* сохранился в основном для карбоксилирования.

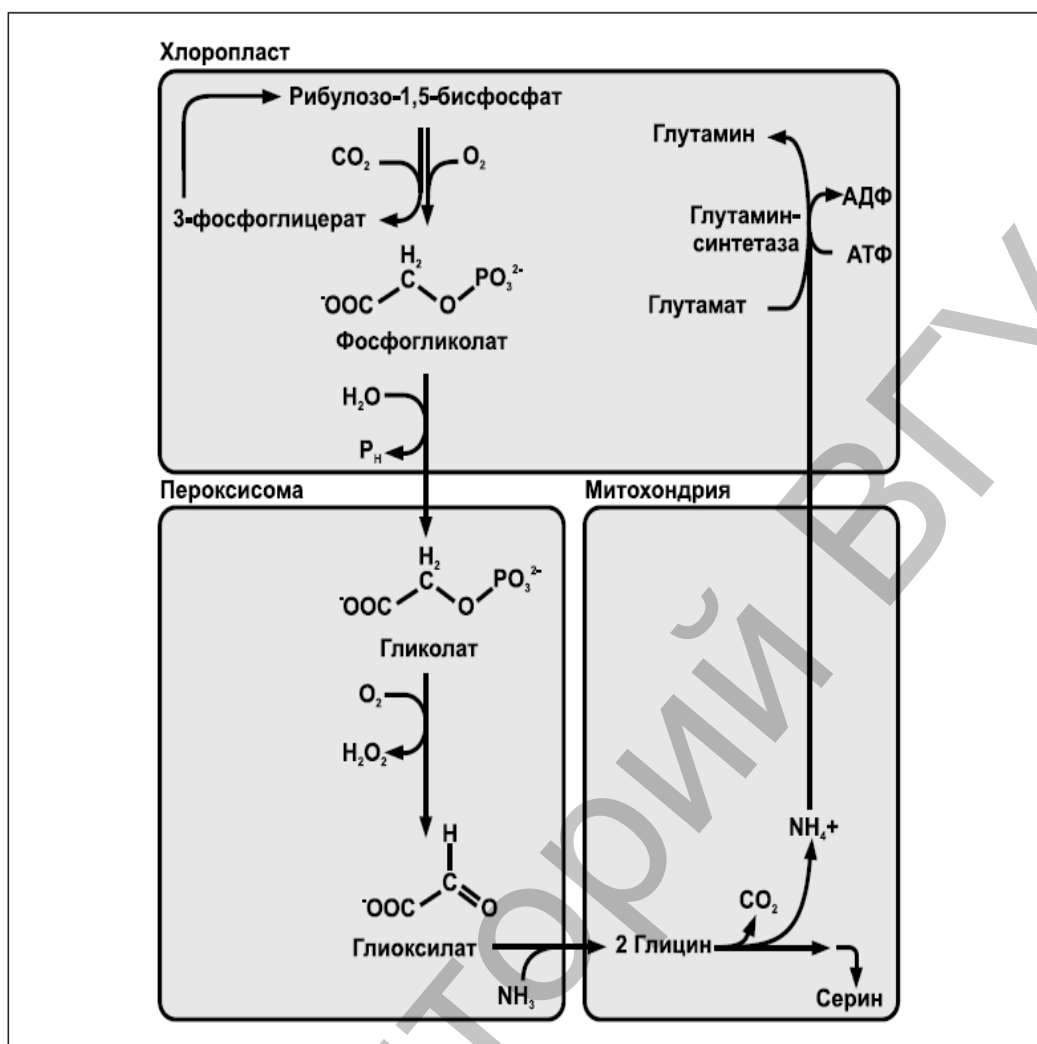
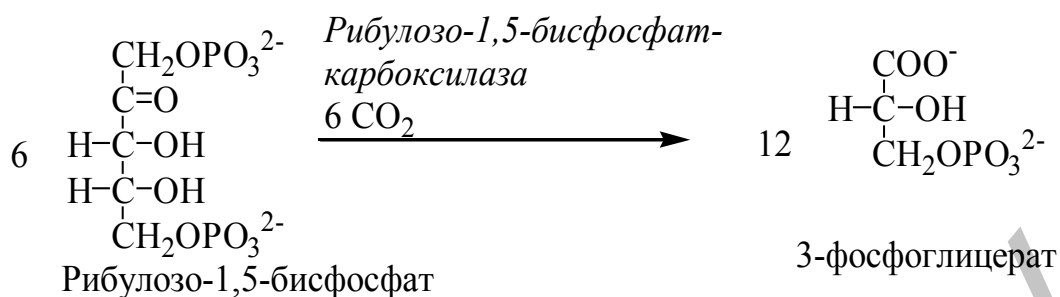


Рис. 11.4. Фотореспирационные реакции. Фосфогликолат образуется как продукт оксигеназной реакции в хлоропласте. После дефосфорилирования гликолат транспортируется в пероксисомы, где он превращается в глиоксилат и затем в глицин. В митохондриях две молекулы глицина превращаются в серин.

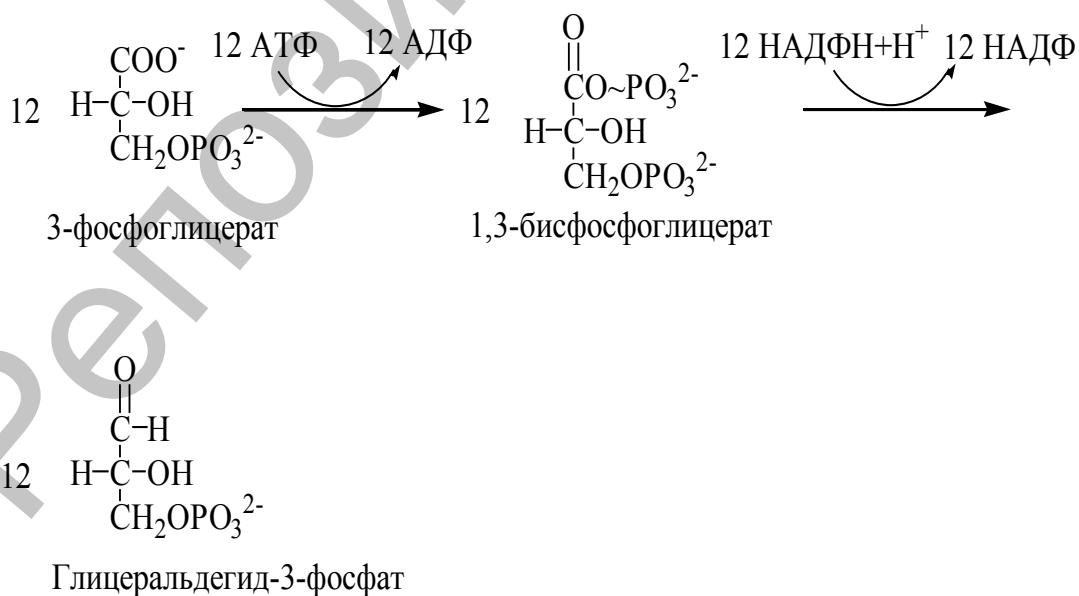
Аффинность фермента существенно отличается для двух субстратов: K_m для CO_2 составляет 9 мкмоль/л, а K_m для O_2 составляет 535 мкмоль/л. Однако концентрация кислорода в атмосфере – 21%, а CO_2 – 0,0316%; в процессе фотосинтеза в листе при 25 °С отношение оксигенирования к карбоксилированию находится в пределах 1:4 – 1:2. Фиксация 1 молекулы CO_2 требует расходования 3 молекул АТФ и 2 молекул НАДФН, в то время как реакция оксигенирования требует 5 молекул АТФ и 3 молекул НАДФН. Считают, что Rubisco может фиксировать одну молекулу кислорода на каждые три молекулы углекислого газа.

По классической схеме присоединение CO_2 к рибулозо-1,5-бисфосфату под действием фермента рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы ведет к образованию 3-фосфоглицерата.



Далее 3-фосфоглицерат восстанавливается с помощью НАДФН и АТФ до глицеральдегид-3-фосфат. Восстановление 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты в глицеральдегид-3-фосфат катализирует фермент НАДФ-зависимая глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа.

Дальнейшие стадии приводят к образованию молекулы глюкозы и 6 молекул рибулозо-5-фосфата, на фосфорилирование которых затрачивается еще 6 молекул АТФ. Таким образом, регенерируются все 6 молекул рибулозо-1,5-бисфосфата. В итоге на каждую молекулу CO_2 расходуется 2 НАДФН и 3 АТФ. *Первичным продуктом* при ассимиляции CO_2 является *3-фосфоглицериновая кислота*, а другие органические вещества являются продуктами ее преобразований. Пять из каждых шести молекул 3-фосфоглицериновой кислоты используется в стадии регенерации, а одна молекула в листе растения либо экспортируется в цитозоль для синтеза сахарозы, либо в хлоропласте вступает в реакции синтеза крахмала.



Итак, современная трактовка фотосинтеза представлена на рис. 11.5.

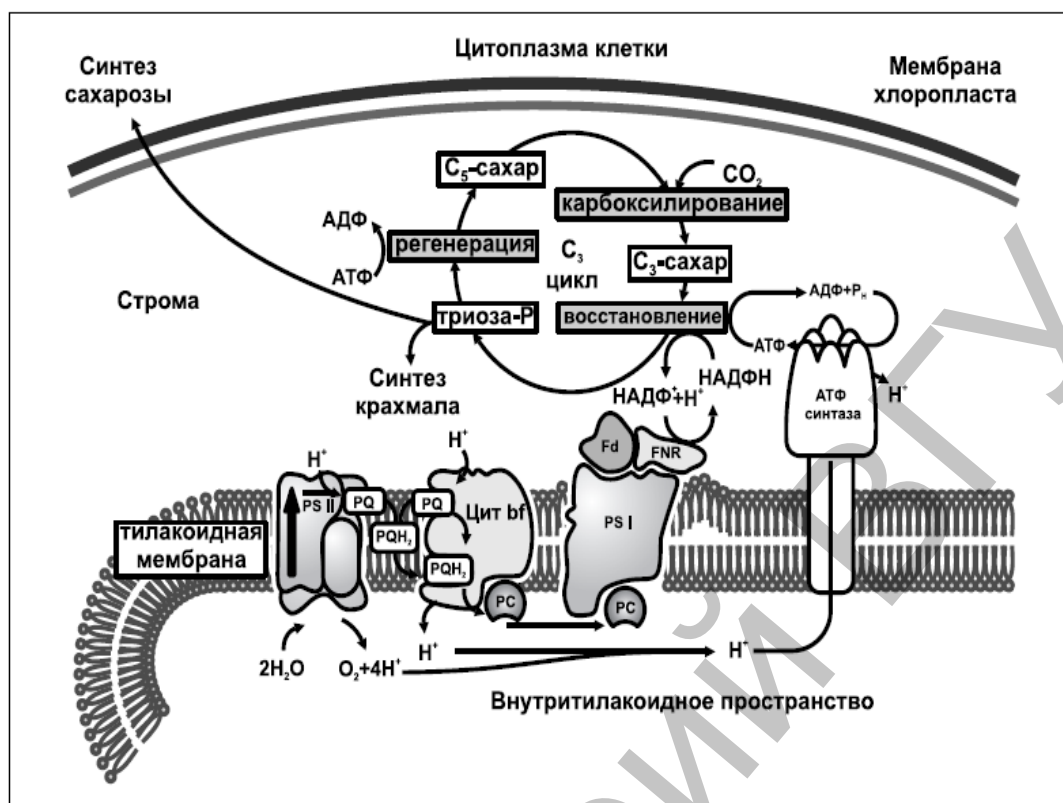


Рис. 11.5. Схема фотосинтеза в хлоропластах (по Donald R. Encyclopedia of Life Science, 2001, Nature Publishing Group).

Рисунок иллюстрирует концепцию, согласно которой вызванный светом поток электронов через белковые комплексы фотосистем II и I (PSII, PSI) сопряжен с аккумуляцией протонов во внутритилакоидном пространстве (Thylakoid lumen), возвращение которых через АТФ синтазу (ATP synthase) ведет к образованию АТФ (ATP). Дополнительно энергия поглощенного света в тилакоидной мембране аккумулируется при образовании НАДФН. Фотосинтетическое восстановление углерода идет в три стадии в строме хлоропласта (Chloroplast stroma) 1) карбоксилирование – CO_2 ковалентно связывается с углеродным скелетом; 2) восстановление – энергия АТФ и НАДФН используется для образования простого углевода; 3) регенерация – энергия АТФ используется для регенерации углеродного скелета для карбоксилирования.

Согласно Z-схеме, перенос одного электрона через эту систему требует затраты энергии двух квантов света. Таким образом, для образования одной молекулы НАДФН необходимо 4 кванта, а на каждый акт включения CO_2 в состав углевода – 8 квантов (Д.Мецлер, 1980). Обычно не учитывают, что свет несет с собой не только энергию, но и энтропию. Важным следствием этого является тот факт, что для совершения химической работы может быть использовано лишь 78% энергии солнечного света с длиной волны 700 нм.

11.7. Зрение

Ретиналь участвует в *акте зрения*. В наружном слое сетчатки глаза располагаются 120 млн палочек (обеспечивают черно-белое зрение за счет наличия родопсина) и 4–6 млн колбочек (отвечают за цветное зрение, поскольку содержат сине-, зелено- и красночувствительные зрительные пигменты). Квант света поглощает молекула родопсина, которая содержит акцептор кванта света – *цис-ретиаль*, две олигосахаридные цепочки и водонерастворимый мембранный белок – *опсин* (348 аминокислотных остатков). В родопсине 11-*цис-ретиаль* связан с *лизином-296* опсина. При восприятии кванта света происходит превращение 11-*цис-ретиаля* в 11-*транс-ретиаль*. Этот процесс фотоизомеризации происходит в течение 100-200 фемтосекунд ($1 \text{ фс} = 10^{-15} \text{ с}$). Далее следует каскадный процесс усиления принятого светового сигнала в 100000 раз. Для этого: 1) в течение миллисекунд происходят последовательные превращения родопсин $\rightarrow$ фотородопсин $\rightarrow$ батородопсин $\rightarrow$ люмиродопсин $\rightarrow$ метародопсин I $\rightarrow$ метародопсин II; 2) одна молекула метародопсина II активирует 200 молекул трансдуцина (ГТФ-связывающий белок, G-белок); 3) каждая активированная молекула трансдуцина активирует одну молекулу фосфодиэстеразы; 4) каждая молекула фосфодиэстеразы превращает до 1000 молекул цГМФ в ГМФ; 5) падение концентрации цГМФ ведет к закрытию специфических ионных каналов в клеточной мембране, через которые в темноте в цитозоль поступали ионы натрия и кальция; 6) в результате прекращения входа ионов на клеточной мембране фоторецепторных клеток палочек и колбочек увеличивается электрический потенциал (гиперполяризация); 7) гиперполяризация служит физиологическим ответом фоторецепторной клетки на поглощение молекулой родопсина кванта света. Далее возникший биоэлектрический сигнал через 2 синапса сетчатки по зрительному нерву отправляется в мозг для анализа (М.А.Островский, 2008). Для повторного восприятия (т.е. в темноте) *транс-ретиаль* восстанавливается *алкогольдегидрогеназой* в *транс-ретинол* (здесь возможны потери витамина А). *Транс-ретинол* изомеризуется в *цис-ретинол* (здесь возможно восполнение убыли витамина А). *Цис-ретинол* окисляется в *цис-ретиаль*, который, соединяясь с опсином, образует родопсин. Система светоощущения готова к восприятию следующего кванта света.

11.8. Бактериородопсин

Галофильные бактерии (*Halobacterium halobium*) содержат в мембранах бактериородопсин – ретинальсодержащий белок (см. рис. 7.8). Такие мембраны называют пурпурными и они составляют до 50% поверхности клеток. Они выполняют роль протонных насосов, которые под действием света выкачивают протоны из клеток. Таким путем клетке поставляется энергия, необходимая для выполнения функций, включая транспорт ионов и синтез АТФ. На долю бактериородопсина с м.м. 26000 Да приходится до 75% массы всей мембраны. Он представляет собой глобулярный белок; длина глобулы 4,5 нм. Каждая пептидная цепь свернута в 7 плотно упакованных спиралей, параллельных длинной оси молекулы и приблизительно перпендикулярных плоскости мембраны.

11.9. Другие типы световых реакций

Фототаксис – движение или ориентация по отношению к источнику света. *Фототропизм* – растения тянутся к источнику света. *Циркадные* и *циркадианные ритмы* – устанавливаются благодаря периодичности освещения. От характера освещенности зависят прорастание семян и цветение растений.

В 1951 г. обнаружено, что освещение красным светом (максимум 660 нм) находящихся в темноте растений индуцирует прорастание семян, развитие листьев, цветение растений. Этот эффект полностью подавляется вспышкой дальнего красного света (730 нм). Причиной описанного явления является хромопротеин *фитохром*, который является «молекулярным триггером» обратимо переходит из состояния P_R в состояние P_{FR} . Фитохром имеет м.м. около 120 кДа, но может расщепляться протеолитическими ферментами на фоточувствительные фрагменты. Его хромофором оказался тетрапиррол с открытой цепью, родственник фикоцианобилина.

Известно множество биологических ответных реакций на свет в диапазоне длин волн 400-500 нм (синий свет). Роль фоторецепторов обычно выполняют каротиноиды и флавины. В растениях происходит фотохимический распад флавинов с образованием люмихрома.

Биолюминесценция – испускание живыми организмами видимого света. Свет, испускаемый светляками, имеет длину волны около 560 нм (17900 см^{-1}) и энергию $214 \text{ кДж} \times \text{эйнштейн}^{-1}$. Эта энергия больше, чем дает расщепление АТФ или окисление НАДН. Такая энергия возникает в процессе *хемилюминесценции*. Она наблюдается при использовании кислорода в качестве окислителя в неферментативных процессах: медленное окисление спир-

тов, альдегидов и многих азотсодержащих соединений сопровождается испусканием видимого света; в процессах образования свободных радикалов. При рекомбинации последних высвобождается достаточно энергии, чтобы могла произойти люминесценция в видимой области. В 1887 году Р.Дюбуа получил из светящихся моллюсков два экстракта используя холодную и горячую воду, соответственно. Если к экстракту, полученному холодной водой (*люцифераза*), добавить термостабильное соединение, экстрагируемое горячей водой (*люциферин*), то наблюдается испускание света. Эти термины Р.Дюбуа сохранились до настоящего времени.

Люциферины образуют семейство соединений (рис. 11.6). Люциферин светляков представляет собой карбоновую кислоту, которая активируется в ходе реакции, идущей с участием АТФ, с превращением в *люцифериладенилат*. Это соединение в присутствии кислорода и люциферазы испускает свет.

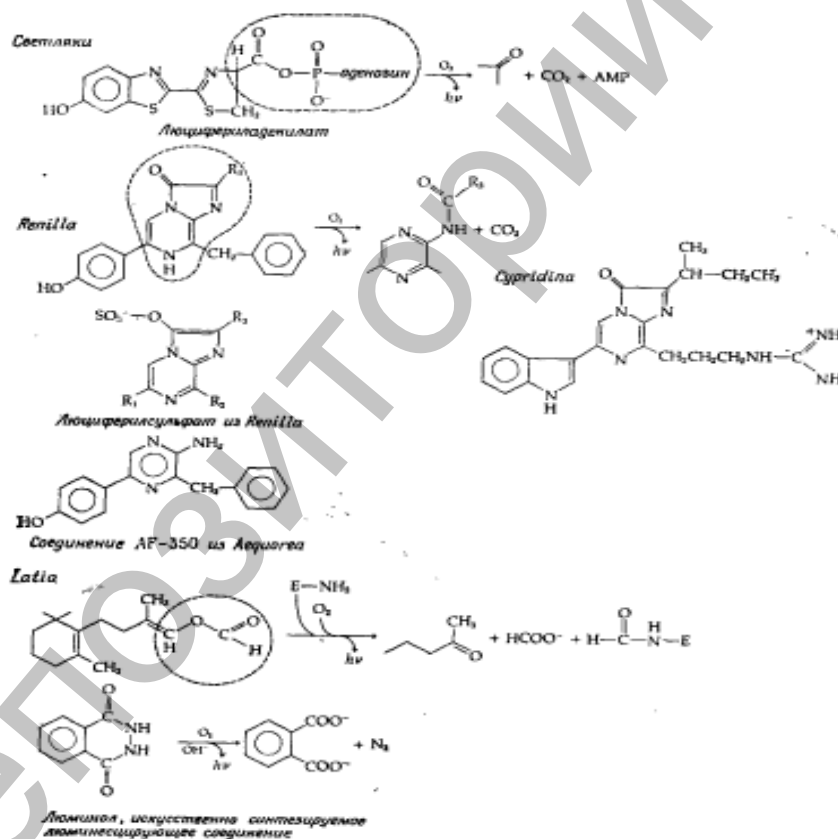


Рис. 11.6. Структура люциферинов из светящихся организмов. Приведены авторские формулы «активированных» молекул, «готовых» к реакции с кислородом. Соединение AF-350 является продуктом расщепления светящегося белка экворина, активируемого ионами кальция (из. Д. Мецлер, 1980).

У *Renilla reniformis* (кишечнополостное) люциферин находится в виде люциферилсульфата. Превращение этого соединения в активный люциферин осуществляется в результате переноса сульфурильной группы на аденозин-3',5'-дифосфат с образова-

нием 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфата. Другой интересной особенностью биolumинесценции у этого организма является присутствие в клетках, испускающих свет, особого зеленого флуоресцирующего белка. В отсутствие этого белка испускается синий свет (488 нм), а в его присутствии – свет в узкой спектральной полосе (509 нм). По-видимому, при этом происходит эффективный перенос энергии между двумя хромофорами.

При описании механизма действия большинства люцифераз предполагается, что кислород реагирует с атомом углерода, который затем включается в состав карбонильной группы продукта.

Большое внимание привлекли к себе биolumинесцентные системы медузы *Aequorea* и родственных кишечнополостных. Эти медузы содержат *фотобелок*, испускающий свет в присутствии ионов кальция (экворин). За флуоресценцию отвечает трипептид в центре белка *сер-тир-гли* при спонтанном разворачивании и окислении. Такое свойство белка медузы нашло широкое применение при исследовании нативного состояния белков различных клеток в медицине.

Глава 12. ПРАКТИКУМ

12.1. Единицы Энергии и работы и значения некоторых физических постоянных (по Д. Мецлер, 1980)

Джоуль, единица энергии в системе СИ

1 Дж = 1 кг × м² × с⁻² = 1 Н × м (ньютон-метр) = 1 Вт × с (ватт-секунда) = 1 Кл × В (кулон-вольт)

Термохимическая калория 1 кал = 4,184 Дж

Большая калория 1 Кал = 1 ккал = 4,184 кДж

Работа, которую необходимо совершить, чтобы поднять груз весом 1 кг на высоту 1 м (над уровнем моря) = 9,807 Дж

Свободная энергия гидролиза 1 моля АТФ при рН 7 и миллимолярных концентрациях = -12,48 ккал = -52,2 кДж

Работа, которую необходимо совершить для повышения концентрации вещества в 1000 раз (например, от 10⁻⁶ до 10⁻³ М) = 4,09 ккал = 17,1 кДж

Число Авогадро – число частиц в одном моле вещества
N = 6,0220 × 10²³ моль⁻¹

Число Фарадея 1F = 96485 Кл × моль⁻¹

Кулон 1 Кл = 1 А × с (ампер-секунда) = 6,241 × 10¹⁸ (элементарных зарядов)

Постоянная Больцмана k = 1,3807 × 10⁻²³ Дж × град⁻¹

Газовая постоянная $R=N \times k$ $R=8,3144$ Дж $\times$ град $^{-1} \times$ моль $^{-1}$
 $=1,9872$ кал $\times$ град $^{-1} \times$ моль $^{-1}=0,08206$ л $\times$ атм $\times$ град $^{-1} \times$ моль $^{-1}$; при 25°
 $RT=2,479$ кДж $\times$ моль $^{-1}$

Единица измерения температуры, градус Кельвина, К;
 $0^{\circ}\text{C}=273,16\text{K}$

$$\lg x=2,3026 \ln x$$

12.2. Общие принципы работы с ферментами

Большинство ферментов – это лабильные белки. Поэтому при выделении очистке белков все операции следует проводить при 2-4°C, а фракционирование органическими растворителями – при температуре <0°C. Все реагенты следует готовить на бидистиллированной воде.

Для выделения каждого белка (в том числе и фермента, требуется своя последовательность этапов (схема выделения и очистки белка, таблица 12.1). Успешность выделения белков контролируется на каждом этапе путем определения специфической активности белка и SDS-PAGE анализа. Обычно на каждом этапе оценивают: 1) количество общего белка; 2) общую активность белка (если выделяют фермент, то активность фермента); 3) специфическую активность (общая активность/общее количество белка); 4) выход продукта – на каждом этапе в % от общей активности гомогената; 5) степень очистки – повышение специфической активности на каждом этапе по отношению к специфической активности исходного гомогената.

Высаливание – фракционирование солями, чаще всего сульфатом аммония. Растворимость сульфата аммония мало изменяется в области температуры от 0 до 30°C. Концентрацию сульфата аммония в растворе выражают десятичной дробью (полное насыщение при этом принимают равным 1,0) или в процентах насыщения. Насыщенный раствор имеет 100%-ное насыщение.

Количество сульфата аммония (в г), которое необходимо добавить при 20°C для получения заданной степени насыщения, рассчитывают по формуле:

$$X = 0,533V(C_2-C_1)/1-0,3 \times C_2,$$

где V – объем исходного раствора с концентрацией сульфата аммония, равной C_1 насыщения; C_2 – требуемая степень насыщения. Концентрация соли в данном случае выражается десятичной дробью.

Таблица 12.1. Схема выделения белка-фермента (Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Biochemistry. N-Y: W.H.Freeman and Company, 2002)

Этап	Общий белок (мг)	Общая активность (Ед)	Специфическая активность (Ед/мг)	Выход, %	Степень очистки
1. Гомогенат	15000	150000	10	100	1
2. Высаливание	4600	138000	30	92	3
3. Ионообменная хроматография	1278	115500	90	77	9
4. Гельхроматография	68,8	75000	1100	50	110
5. Аффинная хроматография	1,75	52500	30000	35	3000

Количество сульфата аммония в граммах, которое нужно добавить к 1 л раствора при 20°C, чтобы из раствора с молярностью M_1 получился раствор с молярностью M_2 , рассчитывается по формуле:

$$X = 533(M_2 - M_1)/4,05 - 0,3 M_2.$$

В обоих случаях принимают, что сульфат аммония при 100%-ном насыщении соответствует 4,05М раствору.

Наряду с вышеприведенными формулами можно использовать номограмму (рис. 12.1).

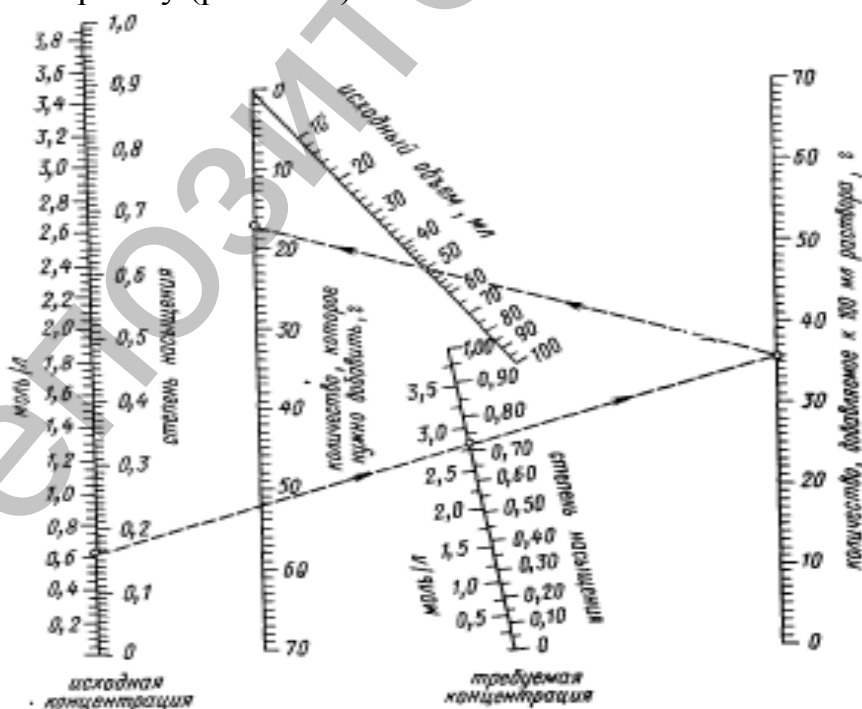


Рис. 12.1. Номограмма, позволяющая определять количество сульфата аммония, необходимого при получении раствора нужной концентрации при 0°C.

При фракционировании насыщенным раствором сульфата аммония добавляемый его объем находят по формуле:

$$V = V_0(C_2 - C_1) / (1 - D_2),$$

где C_1 – исходная, а C_2 – требуемая степень насыщения ферментного раствора сульфатом аммония, выраженные десятичной дробью; V_0 – исходный объем ферментного раствора.

12.3. Кинетика ферментативного катализа

Ниже представлены типичные графики, анализируемые при оценке кинетики ферментативного катализа.

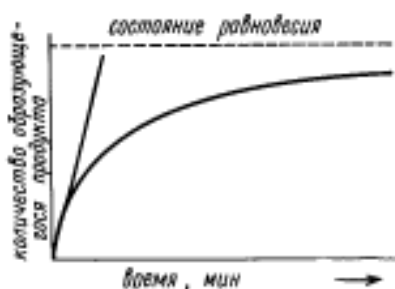


Рис. 12.2. Ход ферментативной реакции во времени. Скорость реакции в любой момент времени определяется как тангенс угла наклона касательной к кривой. Начальная скорость – это тангенс угла наклона касательной к кривой в нулевой точке.

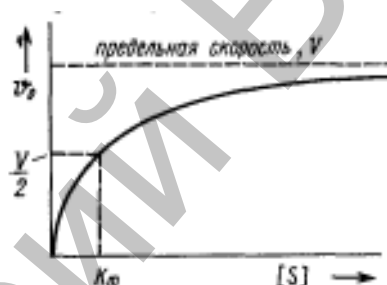


Рис. 12.3. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации субстрата.

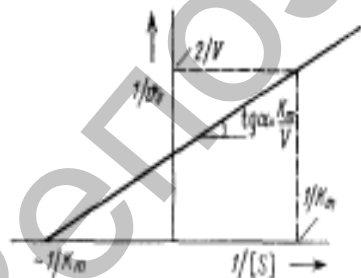


Рис. 12.4. График Лайнуивера-Берка. Определение величины константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции (K_m и V_{max}).

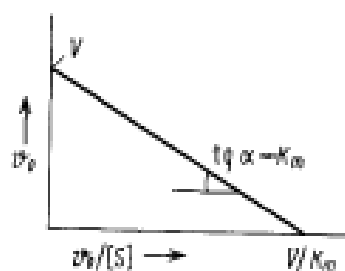


Рис. 12.5. График Иди-Хофста. Определение величины константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции (K_m и V_{max}).

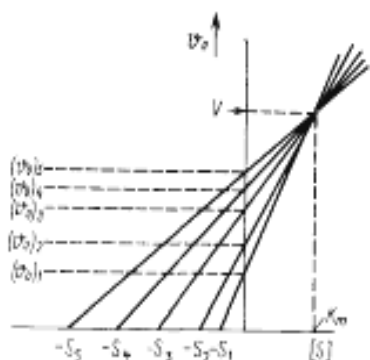


Рис. 12.6. Прямой линейный график Эйзенделя и Корниш-Боудена. Определение величин K_m и V_{max} .

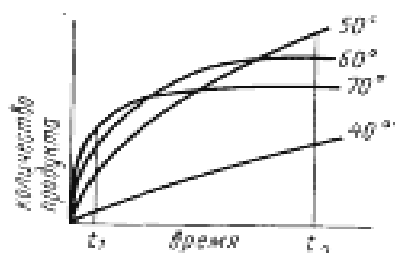


Рис. 12.7. Кривые хода ферментативной реакции при различных значениях температуры. Чем короче время инкубации, тем выше кажущийся температурный оптимум.

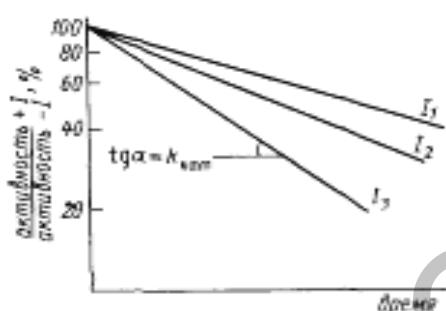


Рис. 12.8. Графическое определение кажущихся констант скорости инактивации для необратимого ингибитора ($I_3 > I_2 > I_1$) методом Китца и Вильсона.

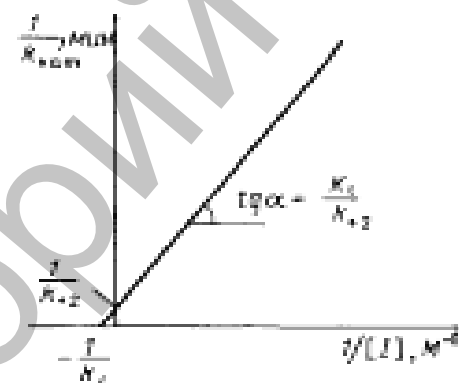


Рис. 12.9. График зависимости кажущихся констант скорости инактивации от концентрации ингибитора в двойных обратных координатах.

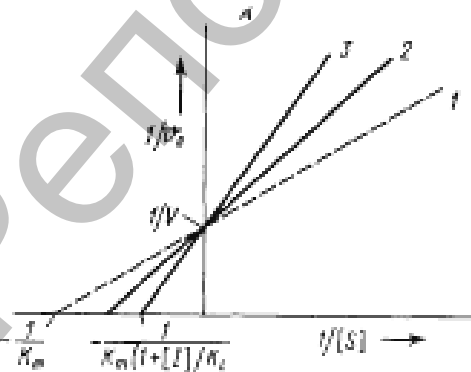


Рис. 12.10. А – график Лайнуивера-Берка для конкурентного ингибирования (1 – без ингибитора, 2 и 3 – в присутствии ингибитора).

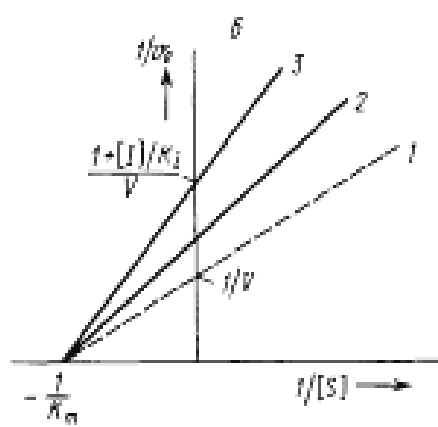


Рис. 12.11. Б – график Лайнуивера-Берка для неконкурентного ингибирования (1 – без ингибитора, 2 и 3 – в присутствии ингибитора).

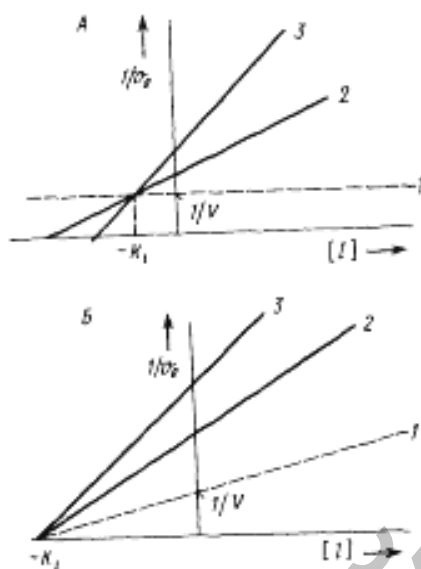


Рис. 12.11. Графическое определение констант ингибирования для конкурентного (А) и неконкурентного (Б) ингибиторов методом Диксона. 1, 2 и 3 – разные концентрации субстрата.

12.4. Лабораторная работа «Определение времени затухания флуоресценции»

Цель: освоить метод измерения времени затухания флуоресценции.

Оборудование: автоматизированный модульный информационно-измерительный комплекс для спектрально-кинетического люминесцентного анализа в экспериментальной физике и биологии «Универон».

Реактивы: раствор рибофлавина.

Принцип метода

Работа спектрофлуориметра основывается на регистрации (за большое число реализаций функций) изменения интенсивности нестационарного потока фотонов от исследуемого образца, ослабленного до уровня, при котором возможно различение в потоке отдельных квантов излучения люминесценции. Возбуждение процесса люминесценции при этом осуществляется газоразрядным импульсным источником света, а регистрация функций изменения интенсивности выполняется методом многоканального статистического временного анализа эквивалентного случайного потока электрических сигналов. Преобразуется оптическое излучение в электрические сигналы при помощи фотоэлектронного умножителя, работающего в режиме регистрации единичных фотонов.

Комплекс состоит из трех основных функционально законченных частей: оптической подсистемы (ОП), крѐйта электронной системы (КС) и управляющей персональной вычислительной машины (ПЭВМ). Первая из них обеспечивает возбуждение исследуемого образца излучением заданного спектрального состава, выделение в требуемом спектральном интервале потока фотонов люминесценции и преобразование его в поток электрических импульсов с эквивалентной статистической структурой. Кюветное отделение для прибора разработано на основе зеркальной оптики. Вторая система выполняет анализ распределений временных интервалов между импульсами возбуждения и электрическими импульсами, вызванными фотонами люминесценции, а также управление ОП по командам с ПЭВМ. ПЭВМ управляет электронным и оптическим оборудованием, производит анализ данных, поступающих с КС, накопление, отображение и сохранение экспериментальных данных в нужной форме. Связь КС с ПЭВМ осуществляется через последовательный асинхронный интерфейс.

Внимание! Во избежание выхода из строя фотоэлектронного умножителя следует предотвращать возможность его засветки внешним излучением!

Ход работы

1. Настройка прибора. Непосредственно выбор режимов функционирования прибора и ввод параметров настройки выполняется в процессе диалога с пользователем, который реализуется при помощи многоуровневой иерархической системы меню.

Программное обеспечение спектрофлуориметра состоит из двух основных частей: общесистемного программного обеспечения и оригинального программного обеспечения. К общесистемному программному обеспечению относится дисковая операционная система семейства Windows, предназначенная для управления аппаратно-программными средствами ПЭВМ и использующая удобный оконный интерфейс.

Оригинальное программное обеспечение представляет собой непосредственно разработанную для спектрофлуориметра программу T_metr. Программа T_metr включает в себя комплекс процедур, необходимых для решения различных измерительно-вычислительных задач в конкретных экспериментальных условиях и обслуживания аппаратных средств спектрофлуориметра. Структурно их можно разделить на 4 группы:

- 1) комплекс процедур настройки спектрофлуориметра на требуемый режим работы;
- 2) процедуры управления экспериментальным и измерительным оборудованием;

3) процедуры обработки данных измерений и восстановления кривых затухания флуоресценции;

4) процедуры вывода результатов и другой вспомогательной информации в графической и текстовой формах на экран дисплея ПЭВМ, дисковый накопитель, либо на принтер.

При первом запуске программы T_metr необходимо произвести настройку монохроматоров спектрофлуориметра в начальное положение. Для этого следует выбрать в меню «Сервис» опцию «Привязка». При последующих запусках программа будет автоматически считывать (при закрытии записывать) текущее положение монохроматоров из файла «T_metr.ini».

Частота импульсов, поступающих как от ФЭУ, так и от возбуждающей импульсной лампы, будет выводиться в отдельном окне на экране дисплея, после нажатия на кнопку «Интенсиметр».

2. Регистрация и обработка данных. Для регистрации возбуждения необходимо выбрать в меню «Кинетика» соответствующую опцию, а в появившемся окне задать спектральные параметры и максимум накопления, после чего нажать на кнопку «ОК». Регистрация начинается автоматически после установки монохроматоров на заданные длины волн. Следует иметь в виду, что процесс установки монохроматоров возможно прервать, нажав на кнопку «Стоп», но это вызовет необходимость повторной установки монохроматоров в начальное положение.

Если в процессе регистрации возникает необходимость в получении информации о частоте импульсов, поступающих от импульсной лампы, надо прервать регистрацию, нажав на кнопку «Стоп». Для продолжения регистрации необходимо нажать на кнопку «Продолжить».

Зарегистрированные кривые затухания $\psi(t)$ представляют собой свертку функции затухания люминесценции $f(t)$ и функции возбуждения $\phi(t)$. Для восстановления закона затухания флуоресценции необходимо нажать на кнопку «Вычисление» и в появившемся окне нажать кнопку «Пуск». В случае неудовлетворительного совпадения экспериментальной (красной) и рассчитанной (синей) свертки закона затухания с функцией возбуждения $\phi(t)$ можно воспользоваться автоматической корректировкой (кнопка «Корректировка»).

ПРОГРАММНЫЕ ВОПРОСЫ ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ

1. Уравнение состояния идеального газа – уравнение Менделеева – Клапейрона.
2. Основное уравнение МКТ. Постоянная Больцмана.
3. Внутренняя энергия вещества.
4. Теплопроводность, закон Фурье.
5. Работа в термодинамике. Первый закон термодинамики. Работа при изопроцессах.
6. Энтропия. Второй закон термодинамики.
7. Термодинамический потенциал – внутренняя энергия.
8. Термодинамический потенциал – энтальпия.
9. Термодинамический потенциал – свободная энергия Гельмгольца.
10. Термодинамический потенциал – свободная энергия Гиббса.
11. Максимальная полезная работа. Условие существования равновесного состояния термодинамической системы. Направление химических реакций.
12. Свойства химического потенциала. Условие существования равновесного состояния в открытой системе.
13. Стационарное состояние. Второе начало термодинамики для линейных необратимых процессов.
14. Условия химической и биологической эволюции. Стационарное состояние. Теорема Пригожина.
15. Основы нелинейной неравновесной термодинамики. Универсальный критерий эволюции Гленсдорфа – Пригожина.
16. Скорость и порядок химических реакций.
17. Теории химической кинетики.
18. Сходства и различия между ферментами и химическими катализаторами.
19. Классификация и номенклатура ферментов.
20. Структурно-функциональная организация ферментов.
21. Механизм действия ферментов.
22. Кинетика ферментативных реакций.
23. Регуляция активности ферментов.
24. Единицы измерения активности ферментов.
25. Выделение и очистка ферментов.
26. Применение ферментов.
27. Химические компоненты мембран.
28. Свойства мембран. Липосомы. Протеоллипосомы.
29. Пассивный транспорт.
30. Облегченная диффузия.
31. Первичный активный транспорт. Типы АТФ-аз.
32. Вторичный активный транспорт.
33. Везикулярный транспорт.
34. Катаболизм и анаболизм.
35. Макроэргические соединения и энергетический заряд клетки.
36. Фазы извлечения энергии при катаболизме.
37. Пути использования кислорода в организме.
38. Окислительно-восстановительный потенциал и его роль в цепи переноса электронов.
39. Структурно-функциональная организация митохондрий, субстраты окисления.
40. Пиридин-зависимые дегидрогеназы.
41. НАДН-дегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, ацил-КоА-дегидрогеназа.
42. Убихинон и его роль.
43. Одноэлектронный перенос цепью цитохромов.
44. Железосерные белки, их роль в цепи переноса электронов.
45. Основные ферментативные комплексы цепи переноса электронов.
46. Типы фосфорилирования АДФ.
47. Гипотезы окислительного фосфорилирования АДФ.
48. Хемиосмотическая гипотеза П.Митчела.
49. Формирование электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрий.
50. Строение и функционирование H^+ -АТФ-азы (АТФ-синтазы).
51. Механизм синтеза АТФ в V ферментативном комплексе.
52. Адениннуклеотидтранслоказа и фосфаттранслоказа, их роль.
53. Ингибирование и разобщение дыхания и фосфорилирования.
54. Количественная оценка окислительного фосфорилирования и дыхательный контроль.
55. Окислительные системы, не связанные с аккумулярованием энергии.
56. Свободнорадикальное окисление.
57. Энергетическая ценность аэробного гликолиза, анаэробного гликолиза.
58. Энергетическая ценность бета-окисления жирных кислот и глицерола.
59. Фотосинтез. Фазы фотосинтеза.
60. Взаимодействие света с биологическими объектами. Биоллюминесценция.