



воды, т. е. для нейтральной среды,  $pH = 7$ . Соответственно для кислот  $pH < 7$ , а для оснований  $pH > 7$ .

Биологические электролиты обычно слабые, т. е. они мало диссоциированы. Рассмотрим диссоциацию некоторой кислоты  $HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$ . Константа диссоциации, т. е. константа равновесия  $K$ , этой реакции равна

$$K = a_{H^+} a_{A^-} / a_{HA}, \quad (2.2)$$

где  $a_{H^+} = a_A$  и  $a_{HA}$  — активности соответствующих веществ в растворе.

Активность — эффективная концентрация в реальном растворе, в котором молекулы взаимодействуют. Активность пропорциональна молярной концентрации:

$$a = \gamma c;$$

$\gamma$  — коэффициент активности. В растворах, близких к идеальным,  $\gamma \approx 1$ ,  $a \approx c$ . Поэтому

$$[H^+]^2 = K [HA], \quad (2.3)$$

и, обозначив  $pK = -\lg K$ , имеем

$$pH = 1/2 (pK - \lg [HA]). \quad (2.4)$$

Степень ионизации слабой кислоты в воде есть

$$\alpha = \frac{[A^-]}{[A^-] + [HA]} \approx \frac{[H^+]}{[HA]} = \sqrt{\frac{K}{[HA]}}. \quad (2.5)$$

Степень диссоциации или сила кислоты растет с  $K$ , т. е. убывает с ростом  $pK$ , сила основания убывает с ростом  $K$ , т. е. растет с  $pK$ . Условие  $[A^-] = [H^+]$  справедливо лишь для нейтрального раствора. Вообще говоря,

$$pH = pK \pm \lg \frac{a_A}{a_{HA}} \quad (2.6)$$

или (в идеальном растворе)

$$pH = pK \pm \lg \frac{\alpha}{1 - \alpha}. \quad (2.7)$$

Знак плюс отвечает кислоте, знак минус — основанию, для которого

$$\alpha = \frac{[HA]}{[A^-] + [HA]}, \quad (2.8)$$

что соответствует обратной реакции  $A^- + H^+ \rightleftharpoons HA$ , где  $A^-$  — основание.

В неидеальном растворе активности отличны от концентраций. Имеем

$$pH = pK + \lg \frac{\gamma_A}{\gamma_{HA}} \pm \lg \frac{\alpha}{1 - \alpha}. \quad (2.9)$$

Неидеальность раствора электролита определяется взаимодействием ионов друг с другом и с молекулами растворителя. При достаточно высокой концентрации ионов каждый из них окружен *ионной атмосферой* — ионами противоположного знака.

*Теория Дебая — Хюккеля*, исходящая из классической статистической механики и электростатики, позволяет определить свободную энергию взаимодействия ионов в растворе. Рассматривается система, состоящая из центрального иона и окружающей его атмосферы противоположных. Свободная энергия взаимодействия, приходящаяся на единицу объема раствора,

$$G = -\kappa^2 \kappa T / 12\pi, \quad (2.10)$$

где  $\kappa$  — постоянная Больцмана,  $T$  — температура, а  $\kappa$  — параметр Дебая — Хюккеля, называемый радиусом ионной атмосферы, но имеющий размерность, обратную длине. Параметр  $\kappa$  выражается через заряды ионов  $e_i$  и их число в единице объема  $n_i$ :

$$\kappa^2 = \frac{4\pi}{\epsilon \kappa T} \sum_i e_i^2 n_i, \quad (2.11)$$

где  $\epsilon$  — диэлектрическая проницаемость растворителя; суммирование производится по всем сортам ионов  $i$ . Коэффициент активности  $\gamma_i$  данного сорта ионов находится из изменения свободной энергии при удалении иона из раствора

$$\frac{\partial G}{\partial n_i} = -\frac{e_i^2 \kappa}{2\epsilon} = -\frac{|e| z_i^2 \kappa}{2\epsilon} = \kappa T \ln \gamma_i, \quad (2.12)$$

где  $|e|$  — абсолютное значение заряда электрона,  $z_i$  — валентность иона. Имеем

$$\ln \gamma_i = -\frac{1}{2} \frac{e^2 z_i^2 \kappa}{\epsilon \kappa T} = -\frac{|e|^3 z_i^2 (2\pi)^{1/2}}{(\epsilon \kappa T)^{3/2}} I^{1/2}. \quad (2.13)$$

Здесь  $I$  — так называемая *ионная сила* раствора

$$I = \frac{1}{2} \sum_i n_i z_i^2. \quad (2.14)$$

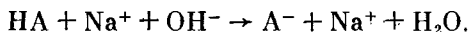
Размерность  $I$  обратна размерности объема. Ионная сила характеризует общее число ионных зарядов в единице объема, независимо от их знаков. Ионная сила и величины рН и рК — важнейшие характеристики ионного раствора.

Таким образом, коэффициент активности ионов данного сорта зависит от концентрации ионов всех сортов.

Теория Дебая — Хюккеля справедлива для сильных электролитов. Аминокислоты — слабые электролиты. Однако при больших ионных силах коэффициенты активности аминокислот различны от единицы. При малых ионных силах  $\gamma_A \approx \gamma_{HA} \approx 1$  и (ср. (2.9))

$$\text{pH} \approx \text{pK} \pm \lg \frac{\alpha}{1 - \alpha}. \quad (2.15)$$

При титровании слабой кислоты сильным основанием, скажем, NaOH, идет реакция



Следовательно,  $[A^-] \approx [Na^+]$ . Степень ионизации  $\alpha$  равна отношению концентраций сильного и слабого электролитов:

$$\alpha = \frac{[A^-]}{[A^-] + [HA]} \approx \frac{[Na^+]}{[HA]} \quad (2.16)$$

Определение  $\alpha$ , рН и, следовательно, рК производится путем титрования кислоты щелочью или основания кислотой. Для грубых определений применяются химические индикаторы, для точных — потенциометрические методы, основанные на регистрации потенциала на электроде, опущенном в раствор. Потенциал меняется при титровании. Для определения рН пользуются стеклянным электродом. Этот электрод и электрод сравнения (обычно каломельный) помещаются в раствор с известной концентрацией исследуемого вещества. Разность потенциалов при надлежащей градуировке измеряется непосредственно в единицах рН.

Т а б л и ц а 2.2. Электрохимические константы аминокислот

Аминокислота	рК <sub>1</sub>	рК <sub>2</sub>	рК <sub>3</sub>	рН <sub>i</sub>
Глицин	2,35	9,78		6,1
Аланин	2,34	9,87		6,1
Валин	2,32	9,62		6,0
Лейцин	2,36	9,60		6,0
Серин	2,21	9,15		5,7
Пролин	1,99	10,60		6,3
Триптофан	2,38	9,39		5,9
Аспарагиновая кислота	2,09	3,87(COO <sup>-</sup> )	9,82(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	3,0
Глутаминовая кислота	2,19	4,28(COO <sup>-</sup> )	9,66(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	3,2
Тирозин	2,20	9,11(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	10,1(O <sup>-</sup> )	5,7
Цистеин	1,96	8,18(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	10,28(S <sup>-</sup> )	5,1
Аргинин	2,02	9,04(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	12,48(гуанидин)	10,8
Лизин	2,18	8,95(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	10,53(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	9,7
Гистидин	1,77	6,10(имидазол)	9,18(NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	7,6

Аминокислоты — амфотерные электролиты, характеризуемые двумя значениями рК, отвечающими титрованию кислотных групп COO<sup>-</sup> щелочью (рК<sub>1</sub>) и титрованию основных групп N<sup>+</sup>H<sub>3</sub> кислотой (рК<sub>2</sub>). В табл. 2.2 приведены некоторые значения рК<sub>1</sub>, рК<sub>2</sub>, рК<sub>3</sub> (для аминокислот с ионогенными радикалами), а также рН<sub>i</sub>, отвечающие *изоэлектрической точке*. Если аминокислота заряжена положительно, она движется к катоду, если отрицательно — к аноду. В *изоэлектрической точке* молекула амфотерного электролита нейтральна и не участвует в электро-

проводности. Имеем для нейтральных аминокислот

$$pH_i = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2). \quad (2.17)$$

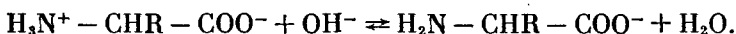
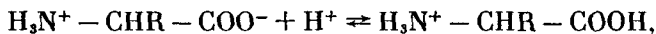
Изучение электрохимических свойств аминокислот доказывает их дипольное строение (с. 25). Теплоты реакций ионизации органических кислот



малы, они имеют порядок величины 4 кДж/моль. Для реакций диссоциации замещенных ионов аммония

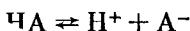


теплоты велики — порядка 50 кДж/моль. Аминокислоты в кислом растворе характеризуются теплотами ионизации от 5,5 до 8,8 кДж/моль, в щелочном — от 42 до 55 кДж/моль. Следовательно, идут реакции



Другими доказательствами дипольного строения аминокислот являются сильное повышение  $\epsilon$  при их растворении в воде, большие плотности и высокие температуры плавления твердых аминокислот, что определяется сильным электростатическим взаимодействием.

При работе с биологическими веществами следует поддерживать постоянные значения pH. Стабилизация pH достигается с помощью *буферных растворов*. В присутствии нейтральных солей диссоциация слабых кислот и оснований не зависит от разбавления. Рассмотрим раствор слабой кислоты HA и ее натриевой соли NaA. Константа равновесия реакции



равна

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}, \quad (2.18)$$

и, так как  $[A^-] = [H^+]$ ,

$$[H^+] = \sqrt{K[HA]}. \quad (2.19)$$

В присутствии соли NaA, диссоциированной гораздо сильнее кислоты,  $[A^-] \approx [NaA]$ . Следовательно,

$$K = \frac{[H^+][NaA]}{[HA]} \quad (2.20)$$

и

$$[H^+] = K \frac{[HA]}{[NaA]}; \quad (2.24)$$

$[H^+]$  и, значит, pH зависят от отношения концентраций кислоты и соли, но не от степени разведения. Так, в растворе 0,1 N ук-

сусной кислоты и 0,1 N уксуснокислого натрия в воде  $pH = 4,628$ . При десятикратном разведении раствора  $pH = 4,670$ , при стократном  $pH = 4,73$ . При добавлении к 1 л воды  $1 \text{ см}^3$  0,01 N HCl  $pH$  уменьшается с 7 до 5. При добавлении того же количества HCl к указанному раствору  $pH$  убывает с 4,628 до 4,540. Наряду с ацетатными, применяются фосфатные и другие буферы.

## § 2.4. Состав и первичная структура белков

Макромолекулы белков состоят из одной или нескольких полипептидных цепей, построенных из аминокислотных остатков. На одном, N-конце цепи находится  $NH_2$ -группа, на другом, C-конце — группа  $COOH$ . Характерные молекулярные массы

(м. м.) отдельных полипептидных цепей в белках порядка 20 000, что соответствует 150—180 остаткам (средняя м. м. аминокислотного остатка равна 120). Молекулы, содержащие менее 100 остатков, принято называть не белками, а полипептидами. Таковы некоторые гормоны.

Пептидная связь  $-CO-NH-$ , соединяющая аминокислотные остатки в белках, имеет специфическое плоское строение, как это было установлено методом рентгеноструктурного анализа (Полинг и Кори).

Все четыре атома связи лежат в одной плоскости (рис. 2.1). Связь  $N-C$  укорочена по сравнению с таковой в алифатических аминах  $R-NH_2$ , где ее длина равна 0,147 нм. Это укорочение, равно как и плоское расположение связей, свидетельствует о сопряжении связей  $N-C$  и  $C=O$ , о перекрывании их электронных оболочек, сопровождаемом сдвигом электронной плотности от N к C. Это можно изобразить вкладом структуры

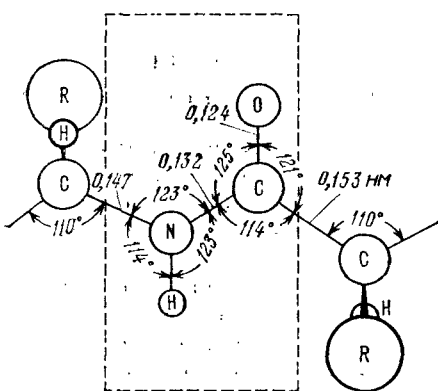
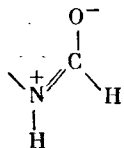


Рис. 2.1. Пептидная связь



т. е. связь  $N-C$  частично двойная, связь  $C=O$  частично одинарная.

Аминокислотный состав белка устанавливается в настоящее время автоматическими приборами. Белок расщепляется на аминокислоты в результате гидролиза — реакции, обратной поликон-