

## **Лекция: «РАСТВОРЫ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ».**

*Ассистент Сидоренко Л.М.*

### **ПЛАН ЛЕКЦИИ.**

1. Понятие о растворах высокомолекулярных соединений (ВМС). Биополимеры.
2. Сравнительная характеристика растворов высокомолекулярных соединений, истинных и коллоидных растворов.
3. Краткая структура белка.
4. Белки, как высокомолекулярные электролиты. Изoeлектрическая точка белка и методы ее определения.
5. Устойчивость растворов высокомолекулярных соединений. Методы осаждения биополимеров: высаливание, коацервация и их биологическое значение.
6. Вязкость растворов ВМС. Вязкость крови.
7. Коллоидно-осмотическое давление в растворах ВМС. Мембранное равновесие Доннана.
8. Набухание и растворение ВМС. Механизм набухания. Факторы, влияющие на набухание. Биологическое значение набухания.
9. Застудневание растворов ВМС. Факторы, влияющие на застудневание. Тиксотропия. Синерезис. Биологическое значение этих процессов.

### **1. ПОНЯТИЕ О РАСТВОРАХ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ (ВМС). БИОПОЛИМЕРЫ.**

Высокомолекулярные соединения (ВМС) – это вещества с большой молекулярной массой порядка  $10^4 - 10^6$  а.е.м. Макромолекулы построены из большого числа повторяющихся звеньев.

ВМС (или полимеры) получают в результате полимеризации или поликонденсации. Все полимеры делятся на природные (белки, нуклеиновые кислоты и др.), синтетические (нейлон, полиэтилен и др.) и искусственные, которые получают в результате химической обработки природных полимеров (например, целлофан, нитроклетчатка и др.)

Синтетические полимеры находят широкое применение в медицине (аппарат «искусственная почка», плазма крови, эндопротезирование и много др.).

Биополимеры являются структурной основой всех живых организмов. К ним относятся, прежде всего нуклеиновые кислоты, белки и их производные: нуклепротеиды, гликопротеиды, липопротеиды и т.д., а также гликоген. Эти соединения являются основным строительным материалом для протоплазмы и ядерного вещества клеток и содержатся во многих биологических жидкостях.

Нуклеиновые кислоты являются полимерами, содержащими от десятков до сотен тысяч нуклеотидов. Они являются важнейшим классом биополимеров, выполняя генетические функции и определяя весь ход развития живого организма.

Полисахариды (крахмал, гликоген и др.) являются полимерами глюкозы. Они выполняют структурную функцию и являются запасной формой питательных веществ.

Белки являются природными полимерами, которые образуются в результате реакции поликонденсации аминокислот.

Значение белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и их производных чрезвычайно велико, оно подробно рассматривается в курсе биохимии.

## **2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСТВОРОВ ВМС. ИСТИННЫХ И КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ.**

Высокомолекулярные соединения образуют растворы, обладающие свойствами как коллоидных так и истинных растворов.

*Свойства растворов ВМС, характерные для коллоидных растворов:*

- размер частиц (молекул ВМС) соответствует размеру коллоидных частиц ( $10^{-7} - 10^{-9}$  м);
- растворы ВМС не проходят через полупроницаемые мембраны;
- явление светорассеивания (размытый конус Тиндаля);
- способность к коагуляции;
- медленно диффундируют.

*Свойства растворов ВМС, характерные для истинных растворов:*

- гомогенность;
- термодинамическая устойчивость;
- самопроизвольность образования (растворяются в определенных жидкостях, не требуя стабилизаторов);
- обратимость коагуляции.

ВМС имеют и специфические свойства – они набухают, их растворы обладают высокой вязкостью и способностью желатинироваться. По современной классификации растворы ВМС относят к гомогенным растворам, имеющим ряд свойств коллоидов и специфические свойства.

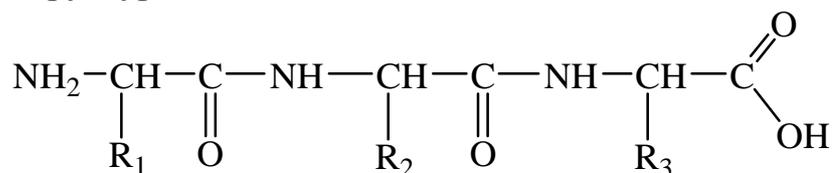
## **3. КРАТКАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА.**

Белки бывают простые и сложные. Простой белок – продукт поликонденсации 20  $\alpha$ -аминокислот. Сложные белки состоят из простого белка и небелковых компонентов.

Различают 4 структуры белка.

**Первичная структура белка** – это последовательность аминокислот в полипептидной цепи, связанных ковалентной пептидной связью.

Структура полипептидной цепи:



**Вторичная структура белка** является пространственной структурой, образуется за счет ближнего взаимодействия водородных и дисульфидных связей. Это приводит к образованию  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур.

**Третичная структура белка** образуется за счет дальнего взаимодействия между макромолекулами. Это межмолекулярные, гидрофобные взаимодействия, а также водородные связи. Каждый белок имеет свою специфическую структуру, называемую конформацией.

**Четвертичная структура белка** образуется из двух и более полипептидных цепей (например, гемоглобин). Объединение таких субъединиц происходит за счет водородных, дисульфидных, гидрофобных связей, сил Ван-дер-Ваальса.

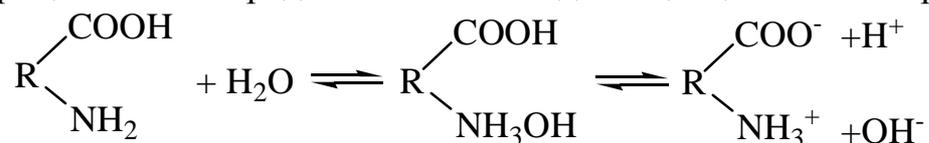
Все **белки** подразделяются на **глобулярные и фибриллярные**.

**Глобулярные белки** имеют сферическую или эллипсоидную форму, например гемоглобин. Глобулярный белок может содержать неаминокислотный фрагмент – простетическую группу. В гемоглобине – гем.

**Фибриллярные белки** содержат одну или более полипептидных цепей, молекулы их вытянуты, длина во много раз превышает диаметр. Это структурные белки соединительных, эластичных и сократительных тканей, белки волос и кожи.

#### 4. БЕЛКИ КАК ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ЭЛЕКТРОЛИТЫ. ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ТОЧКА БЕЛКА И МЕТОДЫ ЕЁ ОПРЕДЕЛЕНИЯ.

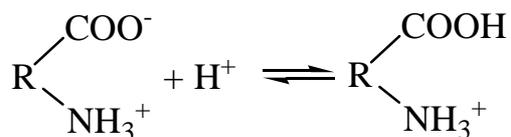
Молекула белка имеет электрический заряд, обусловленный диссоциацией ионогенных групп ( $-\text{COOH}$ ) и ( $-\text{NH}_2$ ): эти группы принадлежат концевым аминокислотам, а также дикарбоновым и диаминовым аминокислотам, расположенным в середине полипептидной цепи. В результате диссоциации образуется биполярный ион (амфион), имеющий положительный и отрицательный заряд. Схематически диссоциацию можно представить так:



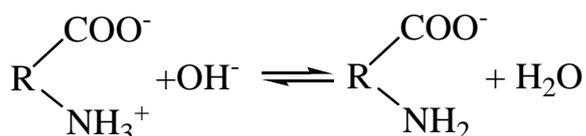
Преобладание в молекуле белка групп  $-\text{COOH}$  сообщает ему отрицательный заряд, белок проявляет свойства слабой кислоты. Преобладание групп  $-\text{NH}_2$  сообщает белку положительный заряд и основные свойства.

В зависимости от реакции среды молекула белка заряжается следующим образом:

а) в кислой среде – положительно:



б) в щелочной среде – отрицательно:



Таким образом, заряд белка зависит от реакции среды, соотношения количества карбоксильных групп и степени их диссоциации.

Биполярный ион или амфион принято называть цвиттер-ионом.

**Значение рН**, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии, т.е. в состоянии, при котором число положительных и отрицательных зарядов одинаково, **общий заряд равен нулю**, называется **изоэлектрической точкой белка (ИЭТ)**.

Изоэлектрическая точка является важной характеристикой белков. Каждый белок имеет свою индивидуальную ИЭТ.

Существуют следующие **методы ее определения**:

1. По электрофоретической подвижности. При проведении электрофореза белок при значении рН, равном ИЭТ, не перемещается в электрическом поле.
2. По степени коагуляции (высаливания). В ИЭТ наблюдается наибольшее помутнение раствора и белок выпадает в осадок.
3. По скорости желатинирования. Желатинирование (или застудневание) происходит быстрее всего в ИЭТ.
4. По величине набухания. Наименьшее набухание белка происходит в пробирке, где рН ближе к ИЭТ.

## **5. УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТВОРОВ ВМС. МЕТОДЫ ОСАЖДЕНИЯ БИОПОЛИМЕРОВ: ВЫСАЛИВАНИЕ, КОАЦЕРВАЦИЯ. ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ.**

Основным фактором термодинамической устойчивости растворов биополимеров (ВМС) является их высокая гидрофильность, которая обусловлена наличием таких гидрофильных групп, как – **NH<sub>2</sub>**, – **COOH**, – **OH**, – **SH**, – **CO – NH** –, **пептидные связи и др.**

В результате вокруг макромолекулы образуется монослой растворителя, называемый сольватной или гидратной оболочкой. Дополнительным фактором устойчивости является наличие заряда на молекуле белка, обусловленное ионогенными группами. Растворы ВМС самопроизвольно не осаждаются.

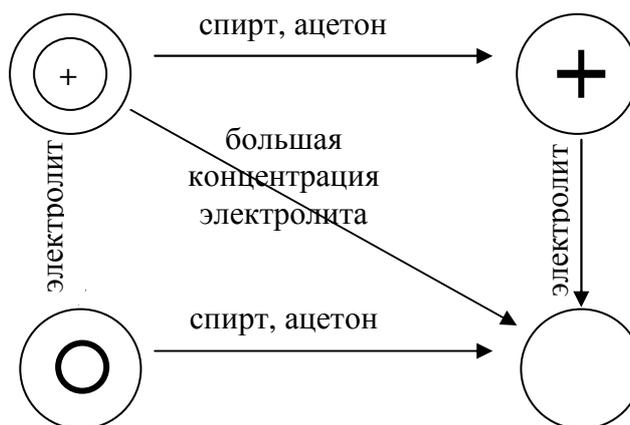
Чтобы лишить высокомолекулярные частицы устойчивости, необходимо удалить гидратную оболочку и снять электрический заряд.

Одним из методов осаждения белков является высаливание.

**ВЫСАЛИВАНИЕ:**

Высаливание – это процесс осаждения белков с помощью концентрированных растворов солей. Для высаливания чаще всего используют соли  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , фосфаты.

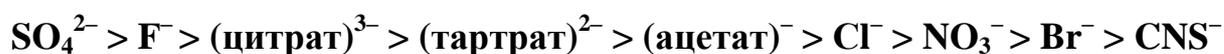
Высаливание наиболее эффективно в ИЭТ белка, что и используется для её определения. Учитывая механизм осаждающего действия электролитов и других водоотнимающих средств, немецкий биохимик Кройт предложил общую схему высаливания.

**Схема высаливания по Кройту.**

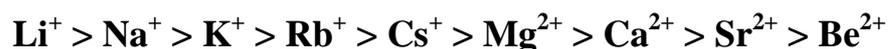
Из схемы видно, что необходимо удалить гидратную оболочку (спиртом или ацетоном) и снять заряд электролитом. Последовательность этих действий не имеет значения. Для осаждения многих белков достаточно большой концентрации одного электролита, особенно сульфатов, которые обеспечивают снятие и заряда, и дегидратацию частицы.

Высаливающее действие электролитов зависит от способности их ионов гидратироваться. Ученый Гофмейстер установил последовательность высаливающего действия анионов и катионов.

Лиотропный ряд анионов:



Лиотропный ряд катионов:



Процесс высаливания используется для приготовления некоторых лечебных сывороток и противокорревого  $\alpha$ -глобулина, а также для разделения белков на фракции при биологических исследованиях.

### КОАЦЕРВАЦИЯ:

При снижении растворимости в растворах ВМС наблюдается коацервация – слияние гидратных оболочек нескольких частиц без объединения самих частиц.

Схема коацервации:



Капли или слои, образующиеся в результате коацервации, называются коацервантами. В теории происхождения жизни на Земле, разработанной академиком А.И. Опариным, большое значение придается возникновению белковых коацервантов из белковых молекул.

## **6. ВЯЗКОСТЬ РАСТВОРОВ ВМС. ВЯЗКОСТЬ КРОВИ.**

Одним из особых свойств растворов ВМС является вязкость. Вязкость (внутреннее трение) – мера сопротивления среды движению.

Растворы ВМС не подчиняются основным законам вязкого течения – законам Ньютона и Пуазейля, обнаруживая так называемую аномальную вязкость. Вязкость растворов ВМС очень высока в сравнении с растворами низкомолекулярных веществ. Большая вязкость растворов ВМС обусловлена их высокой гидрофильностью, макромолекулы прочно связаны с молекулами растворителя. На вязкость также влияет форма молекул. Если длинные макромолекулы расположены перпендикулярно потоку, то эффект сопротивления наибольший, если вдоль потока – сопротивление наименьшее. При увеличении давления частицы ориентируются вдоль потока и вязкость уменьшается. В более концентрированных растворах полимеров образуются пространственные структурные сетки, увеличивающие вязкость растворов.

Вязкость растворов ВМС зависит от концентрации раствора. Для низкомолекулярных веществ эта зависимость выражается уравнением Эйнштейна:  $\eta = \eta_0 (1 + \alpha C)$ , где  $\eta$  – вязкость раствора,  $\eta_0$  – вязкость растворителя,  $\alpha$  – коэффициент, зависящий от формы частиц,  $C$  – концентрация раствора полимера. Увеличение вязкости, связанное с изменением концентрации при растворении полимера характеризуют удельной вязкостью:

$$\eta_{уд.} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0}$$

Штаудингер установил следующую зависимость удельной вязкости от молекулярной массы полимера:

$$\eta_{уд.} = K M C$$

**K** - константа, характерная для полимергомологического ряда,

**M** – молекулярная масса,

**C** – концентрация вещества в растворе.

Уравнение Штаудингера используют для определения молекулярной массы биополимеров. Вязкость растворов белков зависит от величины рН. Наименьшей вязкостью растворы белков обладают в области изоэлектрической

точки, так как макромолекулы свернуты в плотные клубки, оказывающие наименьшее сопротивление течению жидкости.

### ВЯЗКОСТЬ КРОВИ.

Вязкость воды при  $t^{\circ} = 20^{\circ}\text{C}$  составляет  $1 \text{ мПа} \times \text{с}$ , а вязкость крови в норме –  $4\text{-}5 \text{ мПа} \times \text{с}$ . При различных патологиях значения вязкости крови могут изменяться от  $1,7$  до  $22,9 \text{ мПа} \times \text{с}$ . Неоднородность структуры крови, специфика строения и разветвления кровеносных сосудов приводит к сложному распределению вязкости крови, движущейся по сосудистой системе. Вязкость крови зависит от многих факторов: температуры, наличия тромбоцитов и белых кровяных телец (не только при патологии).

Вязкость увеличивается при сгущении крови, т.е. при потере воды.

У больных с хроническими формами ишемической болезни сердца вязкость крови повышена, при физических нагрузках она уменьшается.

В последние годы в медицинской практике измерение вязкости крови используется для изучения ее реологических свойств при тяжелых интоксикациях.

Для измерения вязкости используют специальные приборы – вискозиметры.

## **7. КОЛЛОИДНО-ОСМОТИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ В РАСТВОРАХ ВМС, МЕМБРАННОЕ РАВНОВЕСИЕ ДОННАНА.**

Осмотическое давление, как свойство коллигативное, зависит от числа частиц в единице объема системы. Осмотическое давление в растворах собственно коллоидов очень низкое, так как низкая концентрация частиц в растворе из-за их большого размера в сравнении с молекулами.

Так, осмотическое давление 1% раствора сахарозы равно  $79,46 \text{ кПа}$ , а 1% раствор золя сульфида мышьяка –  $0,0034 \text{ кПа}$ . Осмотическое давление в растворах белков и других высокомолекулярных соединений значительно выше, чем в коллоидах. Так, 1% раствор желатины имеет давление, равное  $1,02 \text{ кПа}$ . Для очень разбавленных растворов полимеров осмотическое давление подчиняется уравнению Вант-Гоффа:

$$P = \frac{C}{M} RT$$

С повышением концентрации осмотическое давление полимеров подчиняется более сложному уравнению:

$$P = \frac{C}{M} RT + KC^2$$

где,  $C$  – массовая концентрация ВМС,  $M$  – молекулярная масса,  $K$  – константа, зависящая от свойств растворителя. Данное уравнение используется для определения молекулярной массы полимеров.

Осмотическое давление в растворах белков оказывает существенное влияние на ряд процессов в организме. Часть осмотического давления крови, обусловленная белками, называется онкотическим давлением. Оно невелико и составляет  $0,5\%$  ( $3,5\text{-}3,9 \text{ кПа}$ ) от общего осмотического давления крови.

Онкотическое давление играет определённую роль в жизнедеятельности организма. При отклонении его от нормы возникают отёки. При понижении белка в крови вследствие голодания или потери белка с мочой при заболевании почек возникает разница онкотического давления в крови и в соединительной ткани, вода из русла крови попадает в соединительную ткань и образуются отеки.

Изучение осмотических свойств организма показало, что внутри клетки осмотическое давление всегда выше, чем во внеклеточной жидкости.

Присутствие в организме солей белков, отделенных мембраной от растворов электролитов приводит к перераспределению электролитов и, таким образом, влияет на осмотическое давление по обе стороны мембраны. Перераспределение электролитов подчиняется выведенному Доннаном уравнением мембранного равновесия:

$$X = \frac{C_{\text{вн.}}^2}{C_{\text{кл.}} + 2C_{\text{вн.}}}$$

где  $X$  - количество ионов, перешедших в клетку,

$C_{\text{вн.}}$  - концентрация ионов во внеклеточной жидкости,

$C_{\text{кл.}}$  - концентрация ионов в клетке.

Анализ уравнения показывает:

1. Если до начала перераспределения  $C_{\text{вн.}} \gg C_{\text{кл.}}$ , то в знаменателе уравнения можно пренебречь слагаемым  $C_{\text{кл.}}$ . Тогда получим:

$$X = \frac{C_{\text{вн.}}^2}{2C_{\text{вн.}}} = \frac{C_{\text{вн.}}}{2}$$

т.е. во внутрь клетки переходит половина ионов из внешней среды.

2. Если до начала перераспределения  $C_{\text{кл.}} \gg C_{\text{вн.}}$ , то числитель будет малой величиной, а  $X$  ещё меньше. И в этом случае внутрь клетки перейдет какое-то количество ионов, зависящее от соотношения  $C_{\text{кл.}}$  и  $C_{\text{вн.}}$ .
3. Если  $C_{\text{кл.}} = C_{\text{вн.}}$ , то уравнение имеет вид

$$X = \frac{C_{\text{вн.}}^2}{C_{\text{кл.}} + 2C_{\text{вн.}}} = \frac{C_{\text{вн.}}}{3}$$

В этом случае перейдет в клетку третья часть ионов из внешнего раствора.

Таким образом, внутри клетки количество ионов всегда больше, чем снаружи. Этим объясняется повышенное осмотическое давление клетки по сравнению с давлением окружающей клетки жидкости. Это обстоятельство поддерживает тургор клеток.

Эффект Доннана (т.е. неравномерное распределение электролитов между клетками и омывающей их жидкостью) оказывает большое влияние на жизнедеятельность клеток, на величину биопотенциалов, распределение электролитов и пр. наряду с физиологическими механизмами.

## 8. НАБУХАНИЕ И РАСТВОРЕНИЕ ВМС. МЕХАНИЗМ НАБУХАНИЯ. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА НАБУХАНИЕ. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАБУХАНИЯ.

Процесс растворения ВМС является самопроизвольным, но проходит через стадию набухания. **Набухание** – это увеличение объема полимера в результате избирательного поглощения низкомолекулярного растворителя. Этот процесс характеризуется **степенью набухания ( $\alpha$ )**:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0}$$

где  $m_0$  – масса полимера до набухания,  $m$  – масса полимера после набухания.

Теория растворов ВМС рассматривает набухание и растворение полимеров как процесс смешения двух жидкостей. Молекулы низкомолекулярного растворителя проникают в полимер, раздвигают звенья цепи и ослабляют межмолекулярное взаимодействие, поэтому полимер увеличивается в массе и объеме. Процесс набухания проходит в две стадии. Первая стадия – поглощение небольшого количества растворителя, которое идет на образование сольватной оболочки. На I стадии выделяется теплота, называемая теплотой набухания. На I стадии происходит уменьшение суммарного объема полимера и растворителя. Растворитель в сольватной оболочке изменяет свои физико-химические свойства (плотность, температура замерзания и др.). На II стадии поглощается много жидкости без выделения тепла. На этой стадии наблюдается увеличение объема системы, которое может заканчиваться полным растворением.

Набухание может быть ограниченным и неограниченным.

**Неограниченное набухание** – это набухание, заканчивающееся полным растворением. Процесс сопровождается увеличением энтропии системы.

**Ограниченное набухание** – это набухание, не переходящее в растворение. Оно заканчивается образованием эластичного студня.

Примером неограниченного набухания являются альбумины, желатина в горячей воде. Ограниченно набухает желатина в воде при комнатной температуре.

На процесс набухания влияют ряд факторов: температура, рН среды, наличие электролитов. В области ИЭТ белка набухание минимальное. Температура ускоряет процесс набухания.

По влиянию на процесс набухания белков анионы располагаются в лиотропный ряд:  $\text{CNS}^- > \text{I}^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{ClO}_4^- > \text{SO}_4^{2-}$

Процесс набухания играет важную роль в физиологии организма. Соединительная ткань способна вследствие набухания воспринимать излишек воды или отдавать его клеткам и крови, т.е. является регулятором водного обмена между кровью и клетками.

## 9. ЗАСТУДНЕВАНИЕ РАСТВОРОВ ВМС. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЗАСТУДНЕВАНИЕ. ТИКСОТРОПИЯ. СИНЕРЕЗИС. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭТИХ ПРОЦЕССОВ.

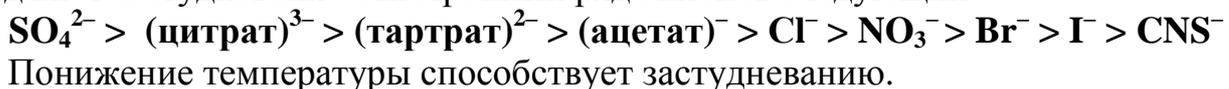
Большинство растворов ВМС, таких как агар-агар, желатина, а также коллоидные растворы типа гидроксида железа ( III) или кремниевые кислоты, способны при определенных условиях переходить в твердое состояние без видимого разделения фаз. Этот процесс носит название застудневание или желатинирование. А продукты, образовавшиеся в результате этих процессов, называются студнями или гелями.

Студни или гели – это дисперсные системы, у которых частицы дисперсной фазы не движутся свободно, а связаны между собой, т.е. это золи, потерявшие агрегативную устойчивость, но сохранившие кинетическую устойчивость.

Гели могут быть естественного и искусственного происхождения. К числу естественных относятся цитоплазма живых клеток, кожа, хрусталик глаза и т.д. Искусственные гели можно приготовить из желатины, агар-агара, каучука. Многие продукты питания представляют собой студни (хлеб, сыр, джемы и т.д.).

Причиной застудневания является возникновение связей между молекулами ВМС. Связи могут быть гидрофобные, водородные, ионные. Они зависят от природы вещества и условий застудневания. Застудневание можно определить как процесс образования и упрочнения пространственной сетки. Наличие у студней пространственной сетки подтверждается результатами исследования скорости диффузии. В студнях невысоких концентраций диффузия низкомолекулярных веществ происходит почти с такой же скоростью, как и в чистом растворителе. С увеличением концентрации студня скорость диффузии уменьшается. На этих свойствах основано приготовление полупроницаемых мембран, используемых для диализа. Диффузия в гелях и студнях лежит в основе разделения молекул по размеру – гель-фильтрация.

Процесс застудневания зависит от следующих факторов: формы и природы ВМС, концентрации, температуры, наличия электролитов, рН среды. Лучше всего застудневание происходит в ИЭТ. Ионы, увеличивающие набухание, замедляют застудневание. Лиотропный ряд анионов следующий:



Студни под влиянием механических воздействий способны разжижаться, переходить в золи, а затем при хранении снова застудневать. Такое явление получило название тиксотропии. Тиксотропия – одно из доказательств того, что структурообразование в гелях происходит за счет межмолекулярных взаимодействий.

Застудневание системы, происходящее самопроизвольно, не всегда является конечной стадией. Студни со временем меняют свои свойства, т.е. стареют. Происходит разделение студня на две фазы: уплотнённый гель и разведённый золь. Этот процесс называется синерезисом. Структурная сетка

геля стягивается и выжимает из себя растворитель. У белков синерезис зависит от рН и активнее всего в ИЭТ.

Биологическое значение процессов старения студней очень важно, так как при этом происходит их уплотнение, что отражается на проницаемости клеточных мембран и цитоплазмы. Снижение проницаемости нарушает обмен веществ между клеткой и окружающей средой. Появление у тканей с увеличением возраста организма таких качеств, как большая жесткость и меньшая эластичность, объясняется процессами синерезиса и дегидратации.

Список литературы:

1. Равич-Щербо, В.В.Новиков «Физическая и коллоидная химия» - Высшая школа, 1975, Москва.
2. Садовнича Л.П., В.Г.Хухрянский, А.Я. Цыганенко «Биофизическая химия», Вища школа – 1986, Киев.
3. А.С. Мороз, Д.Д.Луцевич, Л.П. Яворська, «Нова книга», Винница, 2006.