

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Н.Г.  
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Р.В. Сеницына

**Основы кинетики биохимических процессов**

САРАТОВ  
2014

## Содержание

<b>Предисловие</b>	<b>3</b>
<b>Введение</b>	<b>6</b>
<b>Глава 1. Основные понятия и закономерности</b>	<b>9</b>
<b>Глава 2. Влияние температуры</b>	<b>17</b>
<b>Заключение</b>	<b>27</b>
<b>Контрольные вопросы</b>	<b>28</b>
<b>Примеры решения задач</b>	<b>30</b>
<b>Задачи для самостоятельного решения</b>	<b>38</b>
<b>Ответы к задачам</b>	<b>41</b>
<b>Рекомендуемая литературы</b>	<b>42</b>

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского

## Предисловие

В последние годы биохимия развивалась очень быстрыми темпами, чему способствовало совершенствование идеологии познания живой материи, а также применение новых и весьма эффективных методов исследования. Особенно возрос интерес к изучению кинетики биохимических процессов.

Это связано, в первую очередь, с тем, что хотя теория элементарного акта далека от совершенства, математический аппарат формальной кинетики вполне строг и приводит к однозначным результатам. Кроме того, результаты кинетических экспериментов часто удаётся поставить в чёткое соответствие с другими параметрами реагирующих систем и получить законченное описание того или иного сложного биохимического процесса. Для объяснения результатов обычно предлагаются гипотезы, не противоречащие всей совокупности имеющихся экспериментальных данных. Затем осуществляется проверка выдвинутой гипотезы уже на других объектах и в других условиях. Для практических нужд такого подхода часто бывает вполне достаточно. Особый интерес представляет изучение кинетики ферментативного катализа, которое в сочетании с другими методами (например, меченых атомов) часто помогает проникнуть в тайны механизма действия ферментов, значение которых в процессах жизнедеятельности переоценить невозможно. Катализируя около 3000 реакций обмена, они вовлечены в процессы дыхания, зрения, мышечное сокращение, свёртывание крови, транспорт веществ, обезвреживание токсичных и чужеродных соединений, нейротрансмиссию. Действуя в мягких условиях живых организмов (низкие температуры, нормальное атмосферное давление, pH, близкое к нейтральному), ферменты способны ускорять реакции в  $10^6$ - $10^{12}$  раз. Кроме того, они обладают высокой специфичностью действия, как по субстрату, так и по типу превращения, а также способны к регуляции.

Благодаря этим уникальным свойствам ферментов реакции в клетке не перепутываются, а образуют строго определённые метаболические пути.

Учебное пособие “Основы кинетики биохимических процессов” предназначено для студентов-магистров, обучающихся по направлению “Физика” (профиль “Медицинская физика”) на дневном отделении факультета нано- и биомедицинских технологий СГУ, которые в течение 9-го учебного семестра изучают “Кинетику ферментативного катализа”. Необходимость написания этого пособия обусловлена тем, что резко изменилось соотношение учебных часов: значительно уменьшилось количество лекционных часов и увеличилось число часов, выделенных для самостоятельной работы (18 лекционных, 36 семинарских и 54 часа самостоятельной работы). В настоящее время учебника по ферментативной кинетике нет. В некоторых монографиях встречаются лишь небольшие кинетические разделы.

В основу данного учебного пособия положены материалы лекций, практических занятий по кинетике ферментативных процессов, а также ценные сведения, полученные во время консультаций с сотрудниками кафедры химической кинетики МГУ.

Учебное пособие написано с таким расчётом, что его изучение может начать человек, неискушенный в кинетических тонкостях. Пособие содержит две теоретические главы, контрольные вопросы для проверки знаний, подробные примеры решения задач, а также задачи для самостоятельного решения с ответами и указаниями. Практически весь материал для примеров и задач взят из научной периодики и содержит реальные данные, относящиеся к тем или иным конкретным биохимическим процессам.

Для успешного овладения основами кинетики необходимо придерживаться следующих методических рекомендаций:

- твердо усвоить основные понятия и закономерности;
- ответить на все контрольные вопросы (в случае затруднения обратиться к рекомендуемой в конце пособия литературе);

- прежде чем приступить к решению задач, следует попробовать самостоятельно найти решения примеров. Если попытка закончится неудачно, начать постепенно разбирать решения, приведенные в пособии, пытаясь предугадать каждый последующий шаг.

Следует отметить, что примеры, материал которых заимствован из современных исследований, и их подробные решения, являются по существу примерами анализа оригинальных работ и позволяют глубже проникнуть в некоторые особенности обработки данных кинетического эксперимента. Поэтому в настоящее время, когда значение кинетических методов чрезвычайно возросло, данное пособие может оказаться весьма полезным не только студентам, но и научным работникам, занимающимся современными проблемами медицинской и биологической физики в применении к процессам, протекающим в живой материи.

## Введение

Прежде чем начать изучение того или иного процесса, надо знать, возможен ли он в данных условиях. На этот вопрос отвечает термодинамика. С её помощью можно даже определить выход целевого продукта. Но вот, когда мы получим этот разрешенный целевой продукт, термодинамика не знает. Вопрос о скоростях процесса решает другая наука – кинетика. Она помогает нам влиять на скорость процесса, ускоряя или, наоборот, замедляя его, проникать в тайны механизма процесса. Однако, следует помнить, что никакой катализатор не может способствовать большему выходу продукта, то есть не может сдвинуть термодинамическое равновесие. Мы получим то же самое количество нужного продукта, только быстрее.

Кинетика состоит из двух самостоятельных частей: эксперимента и теории. Сначала следует провести эксперимент и найти зависимость скорости процесса от концентрации реагентов. Желательно также знать, как зависит скорость от продуктов реакции, так как некоторые из них могут быть ингибиторами или, наоборот, катализаторами процесса. Значительное влияние на скорость могут оказать концентрации молекул, непосредственно не участвующих в реакции (например, ионы металлов, соли  $[H^+]$ )? А также материал и форма реактора. Можно экспериментально определить влияние температуры, давления и других переменных параметров.

Так в 70-е годы 18 века английский химик Джозеф Пристли случайно обнаружил, что растения производят кислород только на свету. С этого момента началось изучение фотосинтеза и фотохимических реакций.

Также случайно в 1926 г. сотрудники Государственного физико-технического рентгеновского института (г. Ленинград) Юлий Харитон и Зинаида Вальта обнаружили, что реакция между фосфором и кислородом не идет пока давление кислорода мало. Но стоит только добавить аргон (который ни с чем в реакцию не вступает) – и фосфор вспыхивает!

Позднее этот эффект смог объяснить академик Н.Н. Семенов в своей знаменитой монографии “Цепные реакции” (Ленинград: Госхимтехиздат, 1934. – 555 с.). С него начала свое развитие новая наука – физическая химия. В 1956 г. автор теории разветвленных цепных реакций стал первым ученым Советского Союза, получившим Нобелевскую премию. Человечество, наконец, проникло в тайну самого завораживающего процесса. Стало ясно, почему огонь возникает, почему гаснет, что происходит с пламенем. Получили ясную физическую интерпретацию многие впервые открытые явления, свойственные цепным разветвленным процессам: явления нижнего и верхнего пределов воспламенения, своеобразная форма области цепного воспламенения горючих газов в виде “полуострова” в координатах давление-температура, особенности действия инертных газов и размеров реакционного сосуда на нижний предел воспламенения, влияние активных примесей с стенок реактора.

Таким образом, после экспериментального установления особенностей влияния различных переменных на скорость процесса, следующим шагом является объяснение этих эффектов на молекулярном уровне. Это уже теоретическая часть кинетики.

С кинетическими исследованиями связаны важнейшие направления современных знаний, создание новых и усовершенствование существующих процессов, технологий и аппаратуры. Реальные процессы осложняются в связи с передачей тепла, сопровождающего реакции, транспортом реагентов в зону реакции, влиянием продуктов и др. Эти проблемы исследует макрокинетика. Вместе с тем, многие уравнения, описывающие протекание во времени химических реакций, пригодны и для рассмотрения ряда физических процессов (распада радиоактивных ядер, деления ядерного горючего), а также для количественной характеристики развития ферментативных и других биохимических и биологических процессов (рост тканей, развитие лучевого поражения, кинетические критерии эффективности лечения и др.). Поэтому, методы химической кинетики

широко используются в медицине, биологии, экологии, фармакологии и т.д. Таким образом, можно говорить, об общей формальной кинетике, частным случаем которой является кинетика химических реакций. Эти аналогии очень удобны для практического использования, но всегда следует помнить о принципиальных различиях в природе рассматриваемых явлений.

В живых системах скорости химических процессов весьма различны. Например, процесс передачи нервного импульса происходит в сотые доли секунды, а процессы усвоения пищи требуют несколько часов. Сбалансированность скоростей множества химических реакций позволяет живым организмам регулировать метаболизм и поддерживать состояние гомеостаза. Нарушение сбалансированности скоростей отдельных процессов вызывает различные патологические изменения.

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского



## Глава 1. Основные понятия и закономерности

По условиям протекания химические реакции подразделяют на **гомогенные**, протекающие в пределах одной фазы, и **гетерогенные**, протекающие на границе раздела фаз. Сложные реакции, в которых одни стадии гомогенные, а другие гетерогенные, называются **гомогенно-гетерогенными**. Иногда, также вводят понятие **гомофазных** реакций, все компоненты которых находятся в одной фазе, и **гетерофазных**, в которых компоненты образуют более чем одну фазу. Причем понятия гомо- и гетерофазности не зависят от понятий гомо- и гетерогенности.

В кинетике очень важно различать такие понятия, как **стехиометрия** процесса и **механизм** процесса. Стехиометрическое уравнение реакции в общем виде можно записать следующим образом:

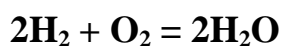


где  $a_i$  – стехиометрические коэффициенты исходных веществ  $A_i$ ;

$b_j$  - стехиометрические коэффициенты продуктов реакции  $B_j$ .

Видно, что стехиометрия процесса показывает, сколько молей каждого реагента необходимо для образования каждого моля продукта. Причем имеет значение только соотношение молей.

Например, в стехиометрических уравнениях



соотношение компонентов  $[\text{H}_2]:[\text{O}_2]:[\text{H}_2\text{O}] = 2:1:2$  одно и то же. Следовательно, оба они являются правильными.

Одним из основных параметров химической реакции является **скорость**, которая определяется количеством молей прореагировавшего вещества в единицу времени в единице объёма, или, что то же самое, изменением концентрации вещества в единицу времени. То есть выражение для средней скорости  $v_{\text{ср}}$  за промежуток времени  $\Delta t$  имеет вид:

$$v_{cp} = -\frac{1}{V} \frac{\Delta N_A}{\Delta t} = -\frac{\Delta N_A / V}{\Delta t} = -\frac{\Delta [A]}{\Delta t},$$

где  $V$  – объём реактора в литрах;

$N_A$  – количество молей реагента  $A$ ;

$[A]$  – концентрация реагента  $A$  в молях на литр ( $M = \text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ).

В этом случае средняя скорость  $v_{cp}$  будет иметь размерность  $M \cdot c^{-1}$ , то есть концентрация в единицу времени.

Если в реакции участвует несколько веществ, то вводится понятие скорости реакции по компоненту. **Кинетическая кривая**, отражающая изменение концентрации какого-либо вещества со временем, для исходного вещества будет нисходящей, а для продукта восходящей. Истинная скорость по компоненту в данный момент времени равна тангенсу угла наклона касательной к соответствующей кинетической кривой этого компонента, или

пределу средней скорости при  $\Delta t \rightarrow 0$ , то есть:  $v = -\frac{d[A]}{dt}$ .

Таким образом, истинная скорость является более объективной характеристикой, но она не очень удобна для сравнения скоростей различных реакций между собой вследствие её изменчивости во времени.

Стандартно принято, что для стехиометрического уравнения (1) скорость гомогенной гомофазной реакции по компонентам записывается следующим образом:

$$v = -\frac{1}{a_i} \frac{d[A_i]}{dt} = \frac{1}{b_j} \frac{d[B_j]}{dt} \quad (2)$$

где  $[A_i]$  и  $[B_j]$  – текущие концентрации исходных веществ и продуктов реакции (некоторые авторы записывают их в круглых скобках ( $A_i$ ) и ( $B_j$ ) или  $C_{A_i}$  и  $C_{B_j}$ ).

Из уравнения (2) видно, что скорость реакции, записанная с учётом стехиометрических коэффициентов, одна и та же для любого компонента

реакции. К тому же она всегда положительна, так как в выражении (2) учтено, что для исчезающих веществ  $d[A_i] < 0$ , а для продуктов  $d[B_j] > 0$ .

Ускорять или замедлять реакцию могут ионы металлов,  $[H^+]$ , добавление солей и других веществ. Скорость реакции может также сильно зависеть от материала и формы реактора или, например, от освещения. Объяснение влияния этих многочисленных факторов на скорость должно даваться на молекулярном уровне.

**Механизмом** реакции называют совокупность стадий, составляющих данный процесс. Реакции по механизму подразделяются на **простые** (или **элементарные**) реакции, протекающие в одну стадию, и **сложные**, протекающие в несколько стадий. Таким образом, механизм реакции это одно или более уравнений, показывающих какие молекулы реагируют между собой и какие связи разрываются или образуются. То есть механизмом можно считать теоретическое объяснение процесса. Для одной и той же стехиометрии, отражающей только количественную характеристику процесса в целом, можно предложить несколько механизмов. Правильным на данном этапе считается тот, который не противоречит всей совокупности экспериментальных фактов. Кинетический метод в совокупности с другими, например методом меченных атомов, позволяет ответить на вопрос о том, какой из предложенных механизмов является наиболее вероятным.

Например, долгое время считалось, что термический распад этана идёт в одну стадию с образованием одинакового количества парных продуктов, то есть  $C_2H_6 \rightarrow H_2 + C_2H_4$ . После того, как в продуктах крекинга этана обнаружили метан, был предложен радикально-цепной механизм термического распада этана:

1.  $C_2H_6 \rightarrow 2CH_3$  – реакция зарождения цепи
2.  $CH_3 + C_2H_6 \rightarrow CH_4 + C_2H_5$  – вторичная реакция
3.  $C_2H_5 \rightarrow H + C_2H_4$
4.  $H + C_2H_6 \rightarrow H_2 + C_2H_5$
5.  $H + C_2H_5 \rightarrow C_2H_6$



В предложенном механизме вторичная реакция объясняет выход метана, реакции развития цепи (3, 4) объясняют выход основных парных продуктов крекинга – молекулярного водорода и этилена, реакции обрыва цепи (5-8) объясняют выход небольшого количества одиночных продуктов. Каждый шаг этого процесса представляет собой элементарную реакцию. Вышеприведённый радикально-цепной механизм был подтвержден с помощью метода меченых атомов.

Стадии сложных процессов могут протекать параллельно, последовательно друг за другом, последовательно-параллельно и циклически. В соответствии с этим реакции подразделяют на **параллельные, последовательные, последовательно-параллельные** и **циклические**. В механизме сложного многостадийного радикально-цепного процесса термического распада этана формально наблюдаются сразу все стадии.

В сложных реакциях **скорости** отдельных стадий **могут резко отличаться** друг от друга. В таких случаях скорость процесса в целом определяется скоростью **лимитирующей стадии**.

Если реагент А превращается в продукты  $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_2$  и т.д. в параллельных стадиях, то лимитирующей будет самая быстрая стадия, скорость которой значительно превышает скорость других стадий. Если же реагент А участвует в последовательной реакции  $\text{A} \rightarrow \text{B} \rightarrow \text{C} \rightarrow \text{D}$ , то лимитирующей стадией будет самая медленная стадия.

Для того чтобы реакция пошла, реагенты должны обладать энергией, необходимой для разрушения ковалентных связей исходных веществ. Поэтому увеличение их концентрации, приводящее к увеличению частоты столкновений, должно способствовать увеличению скорости реакции.

В основе химической кинетики как учения о скоростях химических превращений лежит закон скорости, который часто называют законом

действующих масс, а иногда вторым (основным) постулатом о скорости. Первым постулатом о скорости в соответствующей классификации выступает выражение (2).

Согласно закону действующих масс скорость гомогенной реакции при постоянной температуре имеет вид:

$$v = k \prod_i [A_i]^{n_i} \quad (3)$$

где  $[A_i]$  – текущие концентрации реагентов  $A_i$ ;

$n_i$  – порядок по  $i$ -ому реагенту;

$\sum_i n_i = n$  – общий (суммарный) порядок реакции;

$k$  ( $k_n$ )<sup>1</sup> - константа скорости реакции порядка  $n$ .

Таким образом, **порядком по** тому или иному **компоненту** называется **степень**, в которую надо возвести концентрацию данного реагента в кинетическом уравнении (3) сложной реакции, чтобы вычисленная по этому уравнению скорость была равна скорости, найденной экспериментально. То есть **порядок реакции по реагенту является** для данной реакции **кинетическим параметром**. Сумма показателей всех компонентов есть **общий порядок реакции  $n$** .

Закон действующих масс (3) можно сформулировать следующим образом: **скорость гомогенного процесса при данной температуре равна константе скорости реакции общего  $n$ -го порядка, умноженной на произведение текущих концентраций реагентов в степенях, равных порядкам по этим отдельным компонентам**.

**Константа скорости** реакции является индивидуальной характеристикой реакции. Её значение зависит от природы реагирующих веществ, температуры системы и наличия в ней катализатора. Значение

---

<sup>1</sup> Часто в (3) константу скорости первого порядка обозначают  $k_1$ , второго -  $k_2$ , третьего -  $k_3$ . Однако, при обработке механизма сложного процесса  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  и т.д. это константы скоростей первой, второй, третьей и т.д. стадий, которые могут быть самых разных порядков.

константы  $k$  для данных условий не зависит от концентраций реагентов. Поэтому **константа** скорости остаётся неизменной в течение реакции и **является её фундаментальным кинетическим параметром**. Значение константы скорости реакции численно равно скорости реакции при концентрациях реагентов, равных 1 моль/л, то есть 1 М.

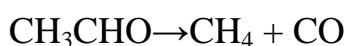
Из второго постулата химической кинетики (3) видно, что константы скорости для реакций различных порядков будут иметь разные размерности. Единицы измерения для константы скорости реакции нулевого порядка концентрация  $\times$  время<sup>-1</sup> (например, М $\cdot$ с<sup>-1</sup>), для константы первого порядка – время<sup>-1</sup>, второго порядка – концентрация<sup>-1</sup>  $\times$  время<sup>-1</sup>, третьего порядка – концентрация<sup>-2</sup>  $\times$  время<sup>-1</sup>.

Первое количественное изучение скорости было предпринято на биологическом материале. В 1850 г. немецкий химик Л. Вильгельми обнаружил, что гидролиз раствора сахарозы до глюкозы и фруктозы происходит с постепенно замедляющейся скоростью, всегда пропорциональной концентрации остающейся в растворе сахарозы.

Обычно порядки по компонентам  $n_i$  являются целыми числами, или нулем ( $[A_i]^0=1$ ). Однако, встречаются и дробные порядки. Следует помнить, что **порядки можно определить только из кинетических экспериментов** (используя закон скорости) и лишь в частных случаях для простых гомогенных гомофазных реакций порядки по компонентам могут совпадать со стехиометрическими коэффициентами реагентов, то есть  $n_i=a_i$ .

В общем случае простая зависимость между стехиометрией (1) и законом скорости (3) отсутствует.

Например, для процесса со стехиометрическим уравнением



выражение для скорости имеет вид:

$$v = k[\text{CH}_3\text{CHO}]^{3/2}.$$

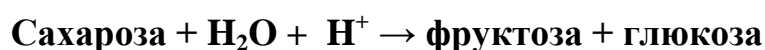
Дробный порядок, в первую очередь, говорит о том, что реакция имеет сложный механизм, то есть протекает в несколько элементарных стадий.

**Кинетическая классификация** реакций проводится **согласно общему порядку** (например, реакции первого порядка или второго порядка). Однако, реакции различают также **по числу частиц, участвующих в элементарном акте: мономолекулярные, бимолекулярные, тримолекулярные**. Реакции, требующие встречи в элементарном акте более трёх частиц, маловероятны. Ясно, что мономолекулярные реакции будут первого порядка. Но далеко не всегда реакции, имеющие общий первый порядок, являются мономолекулярными. Их в этом случае часто называют псевдомономолекулярными. Это могут быть, например, простые реакции, подчиняющиеся кинетике первого порядка, в элементарном акте которых участвует не одна частица, а больше. Общий первый порядок может иметь также сложный процесс, лимитирующая стадия которого является реакцией первого порядка.

В качестве примера можно привести процесс разложения  $N_2O_5$ , подчиняющийся кинетике первого порядка. Стехиометрическое уравнение процесса распада ( $2N_2O_5 = 4NO_2 + O_2$ ) не соответствует наблюдаемому порядку. Данный процесс включает несколько стадий, одна из которых, лимитирующая, первого порядка. Предполагается, что это первая реакция сложного процесса, представляющего собой мономолекулярный распад  $N_2O_5$ . Аналогичная картина может наблюдаться и с псевдобимолекулярными реакциями.

Следует заметить, что если концентрация какого-либо компонента не изменяется в ходе процесса (или её изменением можно пренебречь), то этот компонент обычно исключается из выражения скорости (3).

Так для реакции



полное выражение для скорости должно иметь вид:

$$v = k[\text{Сахароза}][\text{H}_2\text{O}][\text{H}^+].$$

Однако, вода является растворителем и присутствует в избытке, поэтому изменением концентрации  $H_2O$  можно пренебречь и считать её

постоянной. Концентрация  $H^+$  также в ходе реакции постоянна, так как это катализатор процесса. Таким образом, в выражение для скорости будет входить только концентрация димера сахарозы, то есть  $v = k[\text{сахароза}]$ . Кинетический порядок этой реакции будет первый, точнее псевдопервый. Если данная реакция протекает при различных концентрациях  $H^+$  или при добавлении инертного растворителя, она может иметь первый порядок по  $[H^+]$  и по растворителю. Таким образом, общий порядок реакции может оказаться, например, вторым.

Определить константу скорости реакции можно только экспериментально, изучая кинетику реакции и составляя по полученным данным её кинетическое уравнение. Ещё раз заметим, что кинетическое уравнение реакции в общем случае нельзя предсказать по виду стехиометрического уравнения. Поэтому вначале при постоянной температуре экспериментально устанавливается зависимость скорости реакции от концентрации каждого реагента в отдельности. При этом концентрации всех других реагентов должны оставаться постоянными (что обычно обеспечивается их большим избытком в реакционной среде).

Для определения концентрации интересующего реагента в любой момент времени, как правило, используют методы титрования, потенциометрии, хроматографии и другие, выбирая из них такой, чтобы значения измеряемой с помощью этого метода характеристики чётко зависело от концентрации данного компонента. Затем по полученным экспериментальным данным составляют кинетическое уравнение (3) для изучаемой реакции.

Существуют различные методы определения порядков по компонентам  $n_i$  и общего порядка реакции  $n$ , а также констант скоростей различных порядков, основанные на выражении закона (3).

Зная закон скорости, можно не только определить фундаментальные параметры реакции (константу скорости и порядок по компоненту) и решить вопрос о механизме процесса, но и сделать многие практические выводы.



Например, можно определить время, достоверно гарантирующее инактивацию вирусов, предназначенных для иммунизации людей.

## Глава 2. Влияние температуры

Повышение температуры процесса (так же как и увеличение концентрации реагентов) увеличивает число столкновений молекул, а также способствует возрастанию энергии столкновений. Поэтому оно должно привести к росту скорости процесса.

В большинстве случаев опыт показывает, что с увеличением температуры на каждые 10 К скорость обычной химической реакции возрастает примерно в 2-4 раза (правило Я. Вант-Гоффа). Отклонение от этого правила наблюдается для гетерогенных реакций, так как их скорость мало изменяется с температурой, и для биохимических реакций, в которых повышение температуры сказывается очень сильно.

Согласно правилу Вант-Гоффа влияние температуры на скорость реакции часто приближенно характеризуют **температурным коэффициентом**

$$\alpha = \frac{v_2(T+10)}{v_1(T)}, \quad (4)$$

которому можно придать и другой математический вид:

$$v_2 = v_1 \alpha^{10^{\frac{T_2 - T_1}{10}}}, \quad (5)$$

где  $v_1$  и  $v_2$  – скорости реакций при температурах  $T_1$  и  $T_2$  соответственно.

Для ферментативных реакций температурный коэффициент часто достигает значений  $\alpha = 7-9$ . Поэтому колебание температуры тела человека в пределах даже 1 °С сильно сказывается на его самочувствии.

В настоящее время не является удивительным, когда обнаруживаются реакции с отрицательным температурным коэффициентом, то есть реакции, которые замедляются при более высокой температуре. В биологии это общее явление. Только некоторые организмы могут длительно выдерживать

температуры выше 50 °С. Затем начинаются структурные изменения, и дальнейшее увеличение температуры вызывает полное прекращение всех реакций, катализируемых ферментами.

Однако, в последнее время обнаружены термофильные организмы, живущие при температуре 100 °С или выше (в горячих глубоководных разломах). При этом происходят процессы, аналогичные коагуляции белка яичного альбумина в процессе варки, и при высоких температурах они протекают быстрее.

Влияние температуры на скорость реакции связано с изменением константы скорости реакции. Поэтому выражение (5) можно также записать в виде:

$$k_2 = k_1 \alpha^{T_2 - T_1 / 10}, \quad (6)$$

где  $k_1$  и  $k_2$  – константы скорости реакций при температурах  $T_1$  и  $T_2$  соответственно.

Ещё в 19 веке наблюдения многих учёных показали, что для большинства реакций существует линейная зависимость между логарифмом константы скорости и обратной температурой ( $T^{-1}$ ).

В 1889 г. шведский учёный Сванте Аррениус предложил эмпирическое уравнение:

$$k = A e^{-E_a/RT}, \quad (7)$$

где  $k$  – константа скорости реакции при температуре  $T$ ;

$A$  – предэкспоненциальный множитель (коэффициент Аррениуса), учитывающий частоту столкновений ориентированных особым образом молекул;

$R = 8,314$  Дж/(моль·К) – универсальная газовая постоянная;

$E_a$  – энергия активации реакции, размерность которой (Дж/моль) определяется размерностью  $R$ .

Это эмпирическое уравнение хорошо подходит для описания поведения многих химических систем и даже сложных биологических

процессов. Например, по данным К.Дж. Ляйдлера линейная зависимость логарифма константы скорости

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (8)$$

наблюдается даже для частоты чириканья древесного сверчка при различных температурах (рис. 1.1).

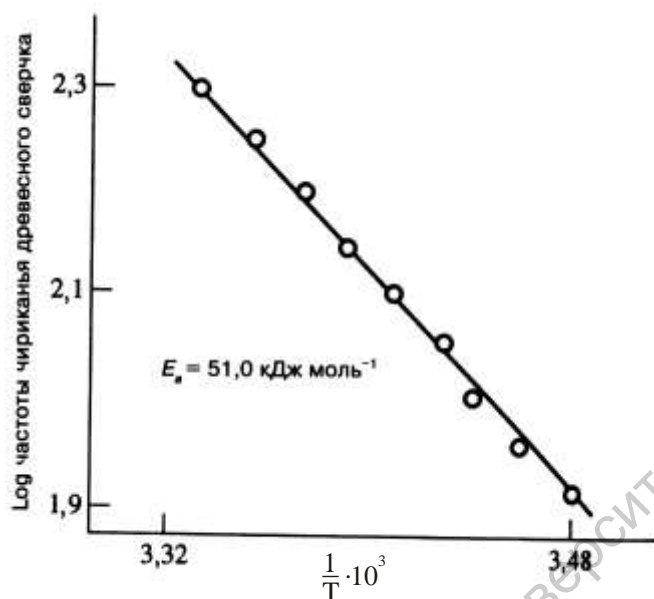


Рис. 1. График Аррениуса частоты чириканья древесного сверчка при различных температурах

Обычным способом нахождения значения энергии активации является построение зависимости Аррениуса ( $\ln k$  от  $1/T$ ).

Из уравнения (8) следует, что энергию активации  $E_a$  можно найти, определив тангенс угла наклона прямой  $\left(-\frac{E_a}{R}\right)$  к оси

$\frac{1}{T}$ , а  $\ln A$  равен отрезку, который отсекает эта прямая на оси  $\ln k$ .

Линейность графика в координатах Аррениуса, приведённая на рис. 1. свидетельствует о том, что сложный многостадийный биологический процесс управляется стадией, которая лимитирует скорость всего процесса и имеет энергию активации  $E_a = 51 \text{ кДж/моль}$ . При изменении температуры от 285 К (12,22 °С) до 300 К (27,22 °С) (в эксперименте от 54 °F до 81 °F) частота чириканья изменялась более чем в 2 раза. Энергия активации определялась в данном графике по тангенсу угла наклона прямой к оси  $(1/T) \cdot 10^3$ , равному

$$-\frac{E}{2,3R}$$

Значение энергии активации можно определить также менее точно, измерив константы скорости реакции при двух различных температурах по одному из следующих уравнений:

$$E_a = R(\ln k_2 - \ln k_1) / \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \quad (9)$$

$$E_a = 2,3R \frac{T_1 T_2}{T_2 - T_1} \lg \frac{k_2}{k_1} \quad (10)$$

где  $k_1$  и  $k_2$  – константы скорости реакций при температурах  $T_1$  и  $T_2$  соответственно.

Вычислив  $E_a$  одним из приведенных выше методов, можно затем найти константу скорости изучаемой реакции при любой температуре.

Из уравнения (7) видно, что чем больше энергия активации, тем меньше константа скорости и скорость реакции.

Так как в узком температурном интервале  $A$  и  $E_a$  можно считать величинами постоянными, то температурная зависимость логарифма константы скорости будет иметь вид:

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2} \quad (11)$$

Из выражения (11) следует, что если энергия активации низкая, то скорость слабо зависит от температуры, и, наоборот, при высокой энергии активации температурная зависимость сильная.

Высокие энергии активации делают практически невозможными многие разрешённые термодинамикой реакции. Большинство из окружающих нас веществ находится в термодинамически неустойчивом состоянии, и только наличие барьера активации препятствует их превращению в другие вещества.

Энергия активации зависит от природы реагирующих веществ, а также пути протекания реакции и не зависит от температуры, если с её изменением

не изменился механизм реакции. Опытным путем установлено, что для реакций, идущих с участием радикалов и ионов, при  $T=298\text{ K}$  энергиям активации  $E_a < 50\text{ кДж/моль}$  соответствуют довольно большие скорости. Для реакций с  $E_a > 100\text{ кДж/моль}$  скорости при температуре  $298\text{ K}$  неизмеримо малы.

Источники активации реагентов могут быть различными. В зависимости от того, в какой форме подводится к системе необходимая для реакции энергия (теплота, свет, электрический ток, излучение, плазма, высокие и сверхвысокие давления, ударные волны) они подразделяются на термические, фотохимические, электрохимические, радиационнохимические и др. При подводе энергии к системе происходит её перераспределение между частицами и увеличивается доля активных веществ, имеющих энергию, необходимую для данного взаимодействия.

В качестве примера активации светом иногда приводят процесс зрения. Известно, что свет в видимой и ближней ультрафиолетовой области, поглощаемый пигментом глаза родопсином, вызывает последовательность фотохимических реакций. Принципиальная функция фотона в этом сложном процессе заключается в преодолении барьера активации.

Сильное влияние температуры на скорость химических реакций объясняет теория активных столкновений, согласно которой к акту химического взаимодействия приводят только те столкновения, в которых участвуют частицы, обладающие энергией, необходимой для данного взаимодействия (энергией активации). К тому же частицы при соударении должны быть определённым образом сориентированными относительно друг друга.

Квантовохимическое объяснение реакционной способности основано на теории переходного состояния (которое ранее называли активированным комплексом АК). Это простейший и исторически первый вариант статистической теории химических реакций. Теория переходного состояния (АК) основана на трёх предположениях, или трёх аксиомах:

1. Переход химической системы из начального состояния в конечное связан с образованием переходного состояния.
2. Существует термодинамическое равновесие между реагентами химической реакции и переходным состоянием.
3. Скорость химической реакции зависит от времени жизни переходного состояния (АК).

Можно качественно, без использования строгой теории, оценить время жизни переходного состояния. Действительно, так как элементарный акт химической реакции осуществляется на микроуровне, в его описании должна присутствовать константа Планка  $h = 6,6262 \cdot 10^{-34}$  Дж·с, размерность которой **энергия** × **время**. Результат химической реакции фиксируется на макроуровне, поэтому обязательно должна быть связь между микро и макро, то есть в описании должна быть константа Больцмана  $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23}$  Дж/К, размерность которой **энергия** / **температура**. Экспериментально установлено ускорение большинства химических реакций при повышении температуры. Таким образом, время жизни переходного состояния тем меньше, чем выше температура. Сопоставив единицы измерения констант  $h$ ,  $k_B$  и температуры  $T$ , получим единственно возможное соотношение для времени жизни переходного состояния с размерностью времени, которое при стандартной температуре 25 °С равно:

$$\tau = \frac{h}{k_B T} = \frac{6,6262 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}}{1,38 \cdot 10^{-23} \text{ Дж} / \text{К} \cdot 298 \text{ К}} = 1,6 \cdot 10^{-13} \text{ с}.$$

Видно, что время жизни не зависит от участвующих в реакции реагентов и конечных продуктов реакции, то есть для любой реакции величина  $\tau$  одна и та же. Поэтому многие учёные рассматривают время жизни переходного состояния  $\tau$  как своеобразную **фундаментальную химическую константу**.

В рассматриваемой концепции **переходное состояние** между исходными и конечными веществами представляет собой **нестабильную промежуточную структуру, существующую в течение всего лишь**

нескольких молекулярных колебаний. Оно соответствует энергетическому максимуму между двумя стабильными состояниями, имеющими минимальную энергию.

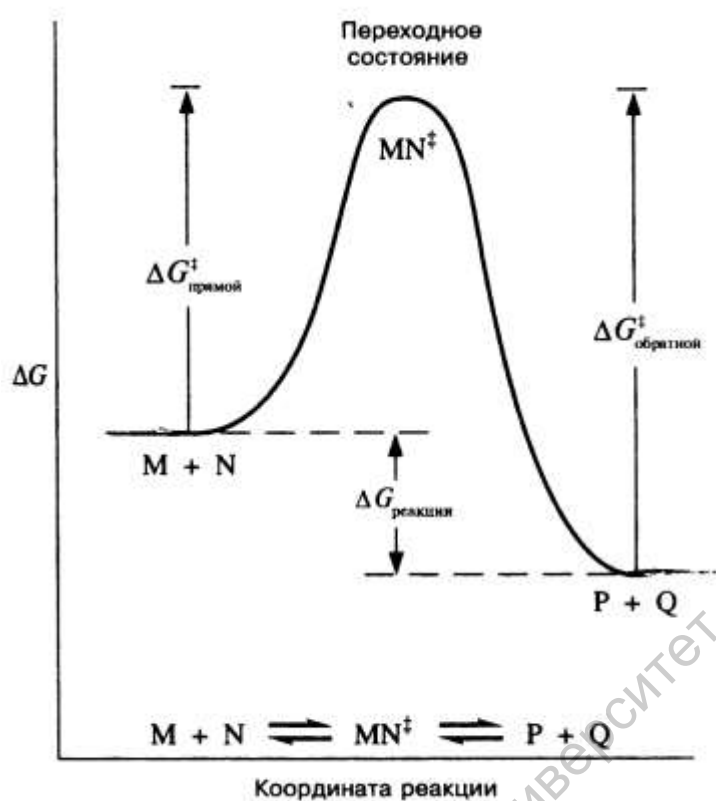


Рис. 2. Ход реакции по теории переходного состояния

**Энергией активации** реакции  $E_a$  называют энергию, которая равна разности энергий переходного состояния и исходных веществ. Графически эта величина, соответствует величине энергетического барьера (рис. 2). Другими словами,  $E_a$  это энергия, которую в расчёте на 1 моль надо сообщить исходным веществам для их активации, чтобы преодолеть этот барьер.

Зависимость константы скорости от температуры  $T$  даёт также уравнение для переходного состояния, предложенное Эйрингом в 1935 г, согласно которому

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{\Delta S^\ddagger/R} e^{-\Delta H^\ddagger/RT} = A e^{-\Delta H^\ddagger/RT} = A e^{-E_a/RT}, \quad (12)$$

где  $k_B$  – постоянная Больцмана;

$h$  – постоянная Планка;

$R$  – универсальная газовая постоянная;

$\Delta H^\ddagger$  - энтальпия активации, равная разности энтальпий в расчёте на моль между активированным комплексом и реагентами, каждый из которых находится в стандартном состоянии;

$\Delta S^\ddagger$  - энтропия активации, которая может быть выражена через  $A$ :

$$\Delta S^\ddagger = R \ln \frac{Ah}{k_B T} \quad (13)$$

$E_a$  – энергия активации, которая в теории переходного состояния (или активированного комплекса) приравнивается энтальпии активации  $\Delta H^\ddagger$ .

Константу скорости также представляют уравнением

$$k = \frac{RT}{N_A h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT} = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT}, \quad (14)$$

где  $R/N_A = k_B$ , а  $\Delta G^\ddagger$  - энергия активации (разность энергий Гиббса между переходным состоянием и реагентами в их стандартных состояниях), которая может быть также представлена уравнением:

$$\Delta G^\ddagger = RT \left( \ln \frac{k}{T} - \ln \frac{R}{N_A h} \right) = -RT \ln K^\ddagger, \quad (15)$$

где  $K^\ddagger$  - константа равновесия образования переходного комплекса.

Для объяснения результатов опытов иногда трудно объединить концепцию переходного состояния с механизмом реакции. Проверкой правильности той или иной гипотезы всегда должны служить экспериментальные результаты, полученные для различных объектов в различных условиях.

Скорость химической реакции может резко возрасти в присутствии катализатора, который образует с реагентами промежуточные реакционноспособные соединения. В отличие от обычных химических катализаторов, которые просто понижают  $E_a$  за счёт образования с реагентами принципиально иного переходного состояния (рис. 3), биологические катализаторы меняют профиль реакции, делая его гораздо сложнее (рис. 4).

Фермент разбивает высокий энергетический барьер на несколько более мелких. Огромную роль в ферментативном катализе играет образование



фермент-субстратного комплекса ES (первый локальный минимум). В этом случае реагирующие частицы оказываются сближенными и сориентированными до начала собственно реакции.

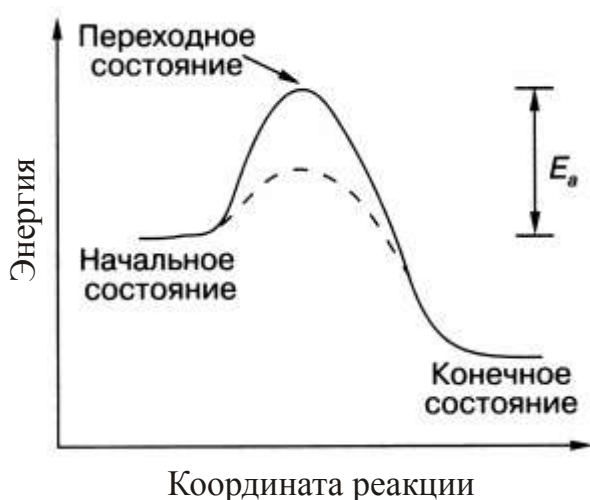


Рис. 3. Изменение энергии в ходе химической реакции. Катализатор понижает  $E_a$  (пунктирная линия)

Рис. 4. Энергетический профиль ферментативной реакции. Фермент разбивает энергетический барьер на несколько более мелких

Первый энергетический барьер характеризует неизбежные энергетические потери при сближении и ориентации молекул субстрата S и фермента E, связанные с затормаживанием их поступательного и вращательного движений. Комплекс ES через переходное состояние (второй энергетический барьер, соответствующий энергии активации  $E_a$  ферментативной реакции) превращается в комплекс фермент-продукты EP (второй локальный минимум), а затем происходит высвобождение продуктов.

Таким образом, ферменты, как и другие химические катализаторы, понижают энергию активации  $E_a$ . Ускоряя реакцию, ферменты не расходуются в ходе процесса и не претерпевают необратимых изменений. Они также не могут изменить состояние равновесия химической реакции, так как ускоряют и прямую, и обратную реакции в равной степени.

Вместе с тем ферменты характеризуются рядом **особых свойств**:

- **высокой эффективностью** действия (ускоряют реакции в  $10^6$ - $10^{12}$  раз);

- **высокой специфичностью** (как субстратной, так и специфичностью пути превращения), благодаря которой реакции в клетке не перепутываются, а образуют строго определённые метаболические пути;

- **мягкими условиями действия** ( $\sim 37$  °С, нормальное атмосферное давление, близкое к нейтральному рН);

- **способностью к регуляции**.

Очень высокая каталитическая активность ферментов обеспечивается функционированием специального участка – сложноорганизованного активного центра, в состав которого входят аминокислотные остатки, часто весьма удалённые друг от друга в первичной полипептидной последовательности. Более того, в состав активных центров многих ферментов входят и непосредственно участвуют в катализе ионы металлов (например, цинка или железа).

Образование фермент-субстратного комплекса является очень эффективным ещё и потому, что различные участки молекул субстрата оказываются связанными с группами активного центра фермента пусть слабыми, но многочисленными взаимодействиями. Это и водородные связи, и гидрофобные, и ионные взаимодействия, и очень слабые ван-дер-ваальсовы силы. В результате такого многоточечного взаимодействия фермента с субстратом и происходит правильная ориентация и сближение реагирующих групп в активном центре, а также перевод реакции во внутримолекулярный режим до начала протекания собственно химической реакции и образования переходного состояния.

К тому же следует отметить, что фермент (и в частности его активный центр) это не некое застывшее образование. В ходе взаимодействия с субстратом и химической реакции в молекуле фермента могут происходить структурные (конформационные) изменения, которые в некоторых случаях удаётся зафиксировать. Аналогичные изменения, направленные на то, чтобы

способствовать образованию переходного состояния, могут происходить и в молекуле субстрата. Движущей силой реакции является стабилизация переходного состояния.

### **Заключение**

В учебном пособии “Основы кинетики биохимических процессов” даны основы формальной кинетики, без которых невозможно дальнейшее понимание механизма ферментативного катализа и огромного спектра процессов, протекающих в живых организмах.

Рассмотрены основные понятия химической кинетики, кинетические классификации и основные постулаты. Особое внимание уделено закону действующих масс и кинетическим параметрам реакции – порядку по реагенту и константе скорости. Подчёркивается важность знания точных размерностей используемых величин, которые являются основным критерием правильности полученных закономерностей.

Подробно рассмотрено влияние температуры на скорость процесса: правило Вант-Гоффа, уравнение Аррениуса и уравнение Эйринга. Особое внимание уделено таким вопросам как температурный коэффициент и энергия активации процесса.

Дается квантовохимическое объяснение реакционной способности, основанное на теории переходного состояния. Оценивается время жизни активированного комплекса, которое рассматривается как своеобразная фундаментальная химическая константа.

Подробно рассматриваются особенности действия ферментов. Сравниваются энергетические профили реакций с химическим катализатором и ферментом.

Основные закономерности, изложенные в теоретической части (после предварительного усвоения студентами), позволяют рассмотреть целый ряд примеров и задач, представленных далее.

## КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Может ли кинетика ответить на вопрос о возможности протекания процесса в данных условиях?
2. Что такое скорость?
3. Может ли катализатор сдвинуть термодинамическое равновесие?
4. Какие проблемы исследует макрокинетика.
5. Для рассмотрения каких процессов пригодны уравнения формальной химической кинетики?
6. Как сказывается природа рассматриваемых явлений на специфике кинетических исследований?
7. Что позволяет живым организмам поддерживать состояние гомеостаза?
8. Охарактеризуйте гомогенные, гетерогенные и гомогенно-гетерогенные процессы.
9. Какие процессы называются гомофазными, гетерофазными?
10. Запишите стехиометрическое уравнение процесса в общем виде.
11. Что представляет собой кинетическая кривая?
12. Как найти истинную скорость по компоненту в какой-то момент времени, используя вид кинетической кривой данного компонента?
13. Что понимается под механизмом процесса?
14. Привести примеры последовательных, параллельных, последовательно-параллельных и циклических процессов.
15. Какая стадия называется лимитирующей?
16. Записать первый постулат химической кинетики.
17. Записать второй (основной) постулат химической кинетики.
18. Что такое порядок по компоненту?
19. Что понимают под общим порядком реакции?
20. Сформулируйте закон действующих масс.
21. От чего зависит значение константы скорости?
22. Почему константу скорости называют фундаментальным кинетическим параметром?
23. Привести значения размерностей констант скоростей реакций нулевого, I, II и III порядков.
24. Какие методы определения порядка реакции Вам известны?
25. Является ли порядок реакции по компоненту кинетическим параметром?
26. Как подразделяются реакции, если признаком классификации является общий порядок?
27. Какие реакции называют мономолекулярными, бимолекулярными, тримолекулярными?
28. Приведите примеры псевдомономолекулярных реакций.
29. Какие экспериментальные методы используются для определения концентрации интересующего компонента?

30. Как можно использовать закон действующих масс для определения порядков по компонентам?
31. Как определяется константа скорости реакции?
32. Как обычно изменяется скорость химической реакции при увеличении температуры на 10 К?
33. Как влияет повышение температуры на биохимические реакции?
34. Дайте определение температурному коэффициенту.
35. Запишите правило Вант-Гоффа через константу скорости.
36. Каких значений может достигать температурный коэффициент для ферментативных реакций?
37. Чем можно объяснить тот факт, что иногда с повышением температуры скорость биохимических реакций начинает падать?
38. Запишите эмпирическое уравнение Аррениуса для зависимости константы скорости от температуры.
39. Может ли уравнение Аррениуса описывать температурную зависимость сложных биологических процессов?
40. Дайте определение энергии активации.
41. В каких координатах наблюдается линейная температурная зависимость?
42. Какие методы определения энергии активации Вам известны (графический; аналитический)?
43. Запишите формулы для энергии активации, найденные с помощью уравнения Аррениуса.
44. Как связана скорость процесса с его энергией активации?
45. Как зависит температурный коэффициент константы скорости от энергии активации?
46. От чего зависит энергия активации того или иного процесса?
47. Какие источники активации реагентов Вам известны?
48. Сформулируйте три аксиомы теории переходного состояния.
49. Оцените время жизни активированного комплекса (переходного состояния).
50. Как связана величина энергетического барьера реакции со стандартным изменением энергии Гиббса?
51. Привести зависимость константы скорости от температуры, предложенную Эйрингом.
52. Чем объясняются более высокие эффективности ферментов по сравнению с другими химическими катализаторами?
53. Может ли использование ферментов привести к большому выходу целевого продукта?
54. Перечислить свойства ферментов, отличающие их от других химических катализаторов.
55. Как Вы представляете состав и строение активных центров ферментов?
56. Как происходит образование фермент-субстратного комплекса?
57. Что Вам известно о конформационных изменениях участников ферментативных процессов?

## Примеры решения задач

**Пример 1.** В элементарном акте реакции участвуют две частицы реагента А, из которых образуется одна частица продукта В. Написать стехиометрическое уравнение реакции. Используя первый и второй постулаты о скорости, записать дифференциальные уравнения для реагента А и продукта В, если известно, что порядок реакции второй. Сравнить эти уравнения и проанализировать.

Решение. В данном случае имеет место реакция:  $2A \xrightarrow{k} B$ . Её стехиометрическое уравнение  $2A=B$ . Дифференциальное уравнение для

реагента А:  $-\frac{1}{2} \frac{d[A]}{dt} = k[A]^2$ , а для продукта В:  $\frac{d[B]}{dt} = k[A]^2$ . Видно, что

скорости по различным компонентам, записанные с применением первого постулата в левой части уравнений, одинаковы. Первое дифференциальное уравнение сразу легко интегрируется. Видно, что концентрация реагента А со временем убывает в 2 раза быстрее, чем увеличивается концентрация продукта В. Таким образом, тангенс угла наклона касательной к кинетической кривой реагента А в координатах  $([A], t)$  будет больше, чем тангенс угла наклона к кинетической кривой зависимости концентрации продукта В от времени. Кинетическая кривая для А будет нисходящая, а для продукта В – восходящая. Так как концентрация реагента  $[A]$  убывает по

ходу реакции, то  $\left| \frac{d[A]}{dt} \right|$  убывает (но отрицательно) и  $\frac{d^2[A]}{dt^2} > 0$ . Таким

образом, кинетические кривые расходования исходного вещества независимо от порядка реакции всегда спадают и обращены выпуклостью вниз.

Аналогично  $\frac{d[B]}{dt}$  уменьшается во времени, но положительно и  $\frac{d^2[B]}{dt^2} < 0$ .

Поэтому кинетическая кривая накопления продукта имеет восходящий вид и обращена выпуклостью вверх.

**Пример 2.** Значения начальных скоростей реакции 2-фенил-4,4-диметил-2-оксазолин-5-она ( $A_1$ ) с этиловым эфиром аланина ( $A_2$ ), соответствующие начальным концентрациям реагентов, следующие:

№ п/п	$v_0 \cdot 10^7$ , М/с	$[A_1]_0 \cdot 10^3$ , М	$[A_2]_0 \cdot 10^3$ , М
1	4,06	2,15	15,10
2	4,20	10,00	3,36
3	12,10	6,38	15,10
4	36,80	10,00	29,40

Найти порядок реакции по каждому компоненту.

Решение. При определении порядков реакции по компонентам из уравнения (3) на практике можно использовать либо одну полную кинетическую кривую, либо начальные участки серии кинетических кривых (то есть находить начальные скорости, соответствующие различным начальным концентрациям). Уравнение для начальной скорости данной реакции имеет вид:  $v_0 = k [A_1]_0^{n_1} [A_2]_0^{n_2}$ .

Логарифмируя это выражение, получим:

$$\ln v_0 = \ln k + n_1 \ln [A_1]_0 + n_2 \ln [A_2]_0, \quad (16)$$

где  $k$ , а также  $n_1$  и  $n_2$  – постоянные величины. Изолирую по очереди компоненты реакции, можно найти  $n_1$  и  $n_2$ . Для этого сначала в уравнение (16) подставим данные 1-го и 3-го экспериментов и, вычитая из 3-го уравнения 1-ое, получим:  $\ln v_{03} - \ln v_{01} = n_1 \ln [A_1]_{03} - n_1 \ln [A_1]_{01}$ . Откуда

$$n_1 = \frac{\ln v_{03} / v_{01}}{\ln [A_1]_{03} / [A_1]_{01}} = \frac{\ln 12,10 / 4,06}{\ln 6,38 / 2,15} \approx 1. \text{ Аналогично, изолируя первый}$$

компонент, для 4-го и 2-го экспериментов получим  $n_2 = \frac{\ln 36,80 / 4,20}{\ln 29,40 / 3,36} \approx 1$

**Пример 3.** Найти значения энергий активации, если при переходе от 25 до 35 °С константа скорости возрастает: а) в 2 раза, б) в 3 раза, в) в 5 раз, г) в 10 раз.

Решение. Найдем связь энергии активации с температурным коэффициентом, используя формулу (6). 
$$\frac{k_2}{k_1} = \alpha \frac{T_2 - T_1}{10} = \frac{e^{-E_a/RT_2}}{e^{-E_a/RT_1}} = e^{R \frac{T_2 - T_1}{T_1 T_2}}$$

Логарифмируя это выражение, получим связь энергии активации с температурным коэффициентом:

$$E_a = \frac{RT_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \alpha \frac{T_2 - T_1}{10} \quad (17)$$

Формулу (17) можно также получить из формулы (9), подставив в неё (6). В частном случае, когда  $T_2 = T_1 + 10$  К,

$$E_a = 0,1 \text{ К}^{-1} \cdot RT_1 (T_1 + 10) \cdot \ln \alpha \quad (18)$$

Подставляя в (18) различные значения  $\alpha$ , получим:

- а)  $E_a = 0,1 \text{ К}^{-1} \cdot 8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}) \cdot 298 \text{ К} \cdot 308 \text{ К} \cdot \ln 2 = 52,894 \text{ кДж}/\text{моль}$ ;
- б)  $E_a = 0,1 \text{ К}^{-1} \cdot 8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}) \cdot 298 \text{ К} \cdot 308 \text{ К} \cdot \ln 3 = 83,834 \text{ кДж}/\text{моль}$ ;
- в)  $E_a = 0,1 \text{ К}^{-1} \cdot 8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}) \cdot 298 \text{ К} \cdot 308 \text{ К} \cdot \ln 5 = 122,815 \text{ кДж}/\text{моль}$ ;
- г)  $E_a = 0,1 \text{ К}^{-1} \cdot 8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}) \cdot 298 \text{ К} \cdot 308 \text{ К} \cdot \ln 10 = 175,708 \text{ кДж}/\text{моль}$ .

**Пример 4.** Показать, что энергия активации и энтальпия активации химической реакции связаны соотношением  $E_a = \Delta H^\ddagger + RT$ .

Решение. Прологарифмируем выражения (7) и (12), а затем продифференцируем по температуре.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}; \quad \frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{RT^2}$$

$$\ln k = \ln \frac{k_B}{h} + \ln T + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT}; \quad \frac{d \ln k}{dT} = \frac{1}{T} + \frac{\Delta H^\ddagger}{RT^2} = \frac{RT + \Delta H^\ddagger}{RT^2}$$

Приравнявая полученные выражения, находим  $E_a = \Delta H^\ddagger + RT$ . Видно, что численные значения эмпирической энергии активации  $E_a$  и стандартной энтальпии активации  $\Delta H^\ddagger$  отличаются на  $RT$ , что при  $T = 298$  К составляет величину  $RT = 8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К}) \cdot 298 \text{ К} = 2477,572 \text{ Дж}/\text{моль} = 2,48 \text{ кДж}/\text{моль}$  (0,59 ккал/моль).

**Пример 5.** Разложение мочевины в 0,1 М HCl происходит по уравнению реакции  $\text{NH}_2\text{CONH}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{NH}_4^+ + \text{CO}_3^{2-}$ . Измерена



константа скорости этой реакции первого порядка  $k_1 = 0,713 \cdot 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$  при температуре 334,15 К и  $k_2 = 2,77 \cdot 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$  при температуре 344,35 К.

Рассчитать энергию активации  $E_a$ , предэкспоненциальный множитель Аррениуса  $A$  и константу скорости при стандартной температуре 25 °С.

Решение. Для нахождения  $E_a$  воспользуемся формулами (9) или (10)

$$E_a = R \frac{T_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{k_2}{k_1} = 8,314 \frac{\text{Дж}}{\text{моль} \cdot \text{К}} \cdot \frac{334,15 \text{ К} \cdot 344,35 \text{ К}}{344,35 \text{ К} - 334,15 \text{ К}} \cdot \ln \frac{2,77}{0,713} =$$

$$= 127282,88 \frac{\text{Дж}}{\text{моль}} = 127,283 \frac{\text{кДж}}{\text{моль}}$$

Предэкспоненциальный множитель можно вычислить, используя найденное значение  $E_a$ , например, из формулы (8). Подставляя  $k_1 = 0,713 \cdot 10^{-5} \text{ мин}^{-1} = 1,1880 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ , находим:

$$\ln A = \ln k_1 + \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T_1} = \ln 1,188 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1} + \frac{127,283 \text{ кДж/моль}}{8,314 \cdot 10^{-3} \text{ кДж/моль} \cdot \text{К} \cdot 334,15 \text{ К}} =$$

$$= -15,94 + 45,81 = 29,87; A = 9,389 \cdot 10^{12} \text{ с}^{-1}.$$

То же самое значение  $\ln A$  можно получить, используя  $k_2 = 2,77 \cdot 10^{-5} \text{ мин}^{-1} = 4,617 \cdot 10^{-7} \text{ с}^{-1}$ .

Используя полученные значения  $E_a$  и  $\ln A$ , находим константу скорости при температуре 25 °С из формулы (8):

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} = 29,87 - \frac{127282,88 \text{ Дж/моль}}{8,314 \text{ Дж/моль} \cdot \text{К} \cdot 298,15 \text{ К}} =$$

$$= -21,478; k = 4,7005 \cdot 10^{-10} \text{ с}^{-1}.$$

Константа найдена в размерности  $\text{с}^{-1}$  для того, чтобы её можно было использовать в формуле (12) вместе с  $E_a \approx \Delta H^\ddagger$  (см. пример 4) для нахождения, например,  $\Delta S^\ddagger$  (см. формулу 13).

**Пример 6.** Считая, что переходное состояние является молекулой, существующей в течение всего лишь нескольких молекулярных колебаний, получить формулы (12) и (14), используя рис. 2.

Решение. Согласно теории переходного состояния каждая элементарная реакция  $M + N \xrightarrow{k} P$  переписывается как  $M + N \xrightleftharpoons{K^\ddagger} MN^\ddagger \xrightarrow{k^\ddagger} P$ , где  $K^\ddagger = \frac{[MN^\ddagger]}{[M] \cdot [N]}$  - константа равновесия

между переходным состоянием и реагентами  $M$  и  $N$ , а  $k^\ddagger$  - универсальная константа скорости, удовлетворяющая уравнению  $dP/dt = k^\ddagger \cdot [MN^\ddagger] = k^\ddagger \cdot K^\ddagger \cdot [M] \cdot [N]$ . Концентрацию переходного состояния  $[MN^\ddagger]$  экспериментально измерить невозможно. Однако,  $K^\ddagger$  и  $k^\ddagger$  могут быть соотнесены с концентрациями реагентов и измеряемыми скоростями.

Экспериментальная скорость  $dP/dt = k \cdot [M] \cdot [N]$ . Сравнивая два последних выражения для скорости образования продукта, получим соотношение для связи экспериментальной константы скорости  $k$  со свойствами переходного состояния  $k = k^\ddagger \cdot K^\ddagger$ . Но любая константа равновесия связана со стандартной энергией Гиббса для реакции соотношением  $\Delta G^\ddagger = -RT \ln K^\ddagger$  (из которого  $K^\ddagger = e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$ ), а теория переходного состояния показывает, что универсальная константа скорости  $k^\ddagger = k_B T / h$ . Таким образом, получаем из уравнения (14)  $k = k^\ddagger \cdot K^\ddagger = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$ , которое обычно используется для определения  $\Delta G^\ddagger$  по результатам измерения константы скорости. Стандартным для определения энергии Гиббса является измерение константы скорости в  $s^{-1}$  для сопоставления с константой Планка (при этом концентрация обычно измеряется в М).

Определив из (14)  $\Delta G^\ddagger$  прямой и  $\Delta G^\ddagger$  обратной реакций, можно найти разность энергий Гиббса продуктов и реагентов (см. рис. 2):

$$\Delta G_{\text{реакции}} = \Delta G_{\text{прямой}}^\ddagger - \Delta G_{\text{обратной}}^\ddagger$$

Так как при постоянной температуре  $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$ , то (14) можно переписать следующим образом:  $k = \frac{k_B T}{h} e^{\Delta S^\ddagger / R} e^{-\Delta H^\ddagger / RT}$  (12). Из этого выражения видно, что теория переходного состояния предсказывает

несколько иную, чем у Аррениуса температурную зависимость ( $E_a = \Delta H^\ddagger + RT$  см. пример 4). Однако, в основном температурная зависимость в обоих случаях носит экспоненциальный характер.

**Пример 7.** Константа скорости реакции равна  $100 \text{ мин}^{-1}$ . Определить значение стандартной энергии активации реакции Гиббса  $\Delta G^\ddagger$ .

Решение. Для определения  $\Delta G^\ddagger$  по результатам измерения константы скорости по формуле (14) следует помнить, что размерность константы должна быть  $\text{с}^{-1}$ , то есть  $k=100 \text{ мин}^{-1}=1,66666 \text{ с}^{-1}\approx 1,7 \text{ с}^{-1}$ .

$$\Delta G^\ddagger = RT \ln \frac{k_B T}{hk} = 8,314 \frac{\text{Дж}}{\text{моль} \cdot \text{К}} \cdot 298 \text{ К} \cdot \ln \frac{1,38 \cdot 10^{-23} \text{ Дж/К} \cdot 298 \text{ К}}{6,62 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с} \cdot 1,7 \text{ с}^{-1}} = 71715,75 \text{ Дж/моль} = 71,716 \text{ кДж/моль}.$$

**Пример 8.** При изучении кислотного гидролиза бензоилимидазола получена следующая температурная зависимость константы скорости гидролиза в 32,5 %-ной серной кислоте:

t, °C	15,54	25,00	34,53	44,92
k, мин <sup>-1</sup>	0,138	0,312	0,638	1,220

Значение стандартной энтальпии активации  $\Delta H^\ddagger$ , вычисленной из графика

линейной зависимости  $\ln \frac{k}{T} = \text{const} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT}$ , равно  $55,176 \text{ кДж/моль}$ .

Вычислить значение свободной энергии активации реакции Гиббса  $\Delta G^\ddagger$  при  $25 \text{ °C}$  и значение стандартной энтропии активации  $\Delta S^\ddagger$ .

Решение. Используя формулу 14 (см. пример 7), можно найти  $\Delta G^\ddagger$ , подставляя константу скорости гидролиза при температуре  $25 \text{ °C}$ , переведённую в секунды, то есть  $k=0,312 \text{ мин}^{-1}=0,0052 \text{ с}^{-1}$ . Получим  $\Delta G^\ddagger=86011,56 \text{ Дж/моль}=86,012 \text{ кДж/моль}$ .

Стандартная энтропия активации находится из формулы

$$\Delta S^\ddagger = \frac{\Delta H^\ddagger - \Delta G^\ddagger}{T} = \frac{55,176 \text{ кДж/моль} - 86,012 \text{ кДж/моль}}{298,15 \text{ К}} = -103 \frac{\text{Дж}}{\text{К}}.$$

**Пример 9.** В 1970 г. (Гольдштейн Б.Н. и др.) была показана возможность обмена водорода на тритий в химотрипсиногене после обратимого развертывания молекулы белка.



Зависимости констант скоростей отдельной стадии этой реакции от температуры приведены в следующей таблице:

t, °C	$k_1 \cdot 10^4, \text{c}^{-1}$	$k_{-1} \cdot 10^3, \text{c}^{-1}$	$k_2 \cdot 10^3, \text{c}^{-1}$
25	0,0398	2,5	1,5
30	0,631	8,0	2,6
35	6,31	16,0	5,1
40	44,6	20,0	8,8

На основании данных таблицы вычислить величину эффективной энергии активации реакции.

Решение. Пусть А – нативный белок, а В – развёрнутый белок. Тогда скорость реакции обмена водорода на тритий  $v = k_2[B]$ . Из таблицы видно, что  $k_{-1}$  и  $k_2$  значительно превышают  $k_1$ . Следовательно, можно предположить, что концентрация развёрнутого белка [В] при малых глубинах превращения находится в стационарном состоянии. Поэтому можно считать, что сумма скоростей образования и превращения В равна нулю:  $dV/dt = k_1[A] - k_{-1}[B] - k_2[B] = 0$ , откуда  $[B] = k_1[A]/(k_{-1}+k_2)$ . Подставляя в это выражение [А], найденное из уравнения материального баланса  $[A]_0 = [A] + [B]$ , получим  $[B] = k_1[A]_0/(k_1+k_{-1}+k_2)$ .

Таким образом, скорость обмена водорода на тритий имеет вид:

$$v = k_2 \frac{B}{-} = \frac{k_1 k_2}{k_1 + k_{-1} + k_2} \frac{A}{-} = k_{эфф} \frac{A}{-}$$

Используя экспериментальные значения констант отдельных стадий, вычислим  $k_{эфф} = \frac{k_1 k_2}{k_1 + k_{-1} + k_2}$  для четырёх температур. Затем из графика в координатах Аррениуса ( $\ln k_{эфф}$ ,  $1/T$ ) найдём эффективную энергию

активации  $E_{эфф} = R \cdot \text{tg} \varphi$  из тангенса угла наклона прямой. Необходимые для вычисления  $E_{эфф}$  значения обратных температур и натуральных логарифмов  $k_{эфф}$  приведены в следующей таблице:

Т, К	$(1/T) \cdot 10^3, \text{K}^{-1}$	$k_{эфф}, \text{с}^{-1}$	$\ln k_{эфф}$
298,15	3,354	$1,987 \cdot 10^{-6}$	-13,129
303,15	3,298	$1,539 \cdot 10^{-5}$	-11,082
308,15	3,245	$1,481 \cdot 10^{-4}$	-8,818
313,15	3,193	$1,180 \cdot 10^{-3}$	-6,742

Эффективная энергия активации, вычисленная по крайним температурам (298,15 и 313,15 К), равна:

$$E_{эфф} = R \text{tg} \varphi = 8,314 \frac{\text{Дж}}{\text{моль} \cdot \text{К}} \cdot \frac{-6,742 - (-13,129)}{0,161 \cdot 10^{-3} \text{К}^{-1}} = 329,823 \frac{\text{кДж}}{\text{моль}}$$

Более точное значение эффективной энергии активации, вычисленное из графика Аррениуса, равно 330,67 кДж/моль.

Саратовский государственный университет имени Г. Чернышевского

### Задачи для самостоятельного решения

1. Начальные скорости, соответствующие различным начальным концентрациям реагента А, следующие:

$v_0 \cdot 10^4, \text{ М/с}$	9,20	1,05
$A_0 \cdot 10^2, \text{ М}$	7,35	0,84

Определить порядок реакции.

2. Определить порядок реакции по следующим экспериментальным данным для начальных скоростей реакции, соответствующих различным начальным концентрациям реагента А:

$v_0 \cdot 10^5, \text{ М/с}$	17,49	2,02
$A_0 \cdot 10^3, \text{ М}$	6,35	2,14

3. Скорость денатурации яичного альбумина (процесс, происходящий при варке яиц) возрастает примерно в 50 раз при повышении температуры от 45 до 55 °С. Найти энергию активации процесса денатурации альбумина.

4. Найти температурный коэффициент реакции  $\alpha$ , если известно, что при повышении температуры от 25 до 100 °С скорость возросла в 14847 раз.

5. Вычислить энергию активации биологического процесса, связанного с частотой чирикания древесного сверчка, используя необходимые величины, приведённые на рис. 1.

6. Определить энергию активации реакции, если известно, что для  $1/T_1=1,08 \cdot 10^{-3} \text{ К}^{-1}$  и для  $1/T_2=1,17 \cdot 10^{-3} \text{ К}^{-1}$  соответственно  $\lg k_1=-0,5$ , а  $\lg k_2=-1,5$ .

7. Температурная зависимость константы скорости гидролиза реагента А следующая:

Т, К	298,15	303,15	307,65	312,15	321,15	330,15
$k \cdot 10^4, \text{ с}^{-1}$	0,40	0,75	0,95	1,48	3,03	7,72

Вычислить значение энергии активации гидролиза вещества А.

8. Какое максимальное количество актов в секунду возможно в реакции, имеющей нулевую энергию активации и протекающей при температуре 25 °С.

9. Температурная зависимость константы скорости реакции гидразина с малахитовым зелёным следующая:

t, °С	7,0	14,8	23,8	30,0	38,4
k, М <sup>-1</sup> ·мин <sup>-1</sup>	1060	1580	2480	3750	4680

Условия опыта: рН=11,0; ионная сила 1,0 М (KCl); концентрация красителя 5·10<sup>-6</sup> М. Вычислить значение стандартной энтальпии активации ΔH<sup>‡</sup> данной реакции. Указание: из (12) получить k/T и построить график прямой в координатах (ln k/T, (1/T)·10<sup>3</sup>), тангенс угла наклона которой равен -ΔH<sup>‡</sup>/R.

10. Используя результаты задачи 9, вычислить значения стандартной энтропии активации ΔS<sup>‡</sup> реакции гидразина с малахитовым зелёным. Указание: для определения ΔG<sup>‡</sup> по формуле (14) найти k при температуре 298,15 К (см. пример 7). Затем, используя значения ΔH<sup>‡</sup>=33,27 кДж/моль, найденное в задаче 9, определить ΔS<sup>‡</sup> (см. пример 8).

11. Используя данные примера 5, найти энтальпию активации ΔH<sup>‡</sup> процесса разложения мочевины. Ответ проанализировать и сравнить с ответом примера 4. Указание: для использования данных примера 5 получить из формулы (12) соотношение  $\frac{k_2 T_1}{k_1 T_2} = e^{\frac{\Delta H^\ddagger}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)}$ .

12. Используя значения константы скорости реакции разложения мочевины при T=298,15 К (4,7005·10<sup>-10</sup> с<sup>-1</sup>), найденное в примере 5, вычислить значения стандартной энергии активации Гиббса ΔG<sup>‡</sup>.

13. Используя результаты примера 5 и задач 11, 12, вычислить стандартную энтропию активации ΔS<sup>‡</sup> процесса разложения мочевины.

14. Щелочная денатурация белков, приведённых ниже, характеризуется следующими значениями энтальпии и энтропии активации:

№ п/п	Белок	ΔH <sup>‡</sup> , ккал/моль	ΔS <sup>‡</sup> , кал/моль (э.е.)
1	Оксигемоглобин человека	7,6	-39

2	Оксигемоглобин крысы	15,1	-17
3	Гемоглобин крысы	12,2	-27
4	Оксигемоглобин кролика	18,5	-8
5	Гемоглобин кролика	16,9	-13
6	Оксигемоглобин быка	21,0	-6

Найти значения констант скоростей денатурации при 25 °С.

15 Линейная зависимость между изменениями стандартной энтальпии активации и стандартной энтропии активации в реакционных сериях встречается довольно часто. Соотношение  $\Delta H^\ddagger = \Delta G^\ddagger + T\Delta S^\ddagger$  называют изокинетической зависимостью. Найти изокинетическую температуру (то есть температуру, при которой совпадают значения  $\Delta G^\ddagger$ ), используя  $\Delta H^\ddagger$  и  $\Delta S^\ddagger$  для серии белков задачи 14. Указание: видно, что если в какой-то реакционной серии значения  $\Delta G^\ddagger$  при температуре Т совпадают для всех членов ряда, то график в координатах ( $\Delta H^\ddagger$ ,  $\Delta S^\ddagger$ ) будет иметь вид прямой линии, тангенс угла наклона которой равен Т.

16. Константы скорости щелочной денатурации (рН=11,9) бычьего гемоглобина при 2 и 28 °С равны соответственно  $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ с}^{-1}$  и  $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ . Рассчитать значения стандартных энтальпии и энтропии активации процесса денатурации. Указание: используя формулу для  $\Delta H^\ddagger$  из указания к задаче 11, найти стандартную энтальпию. Затем по этой же формуле, зная  $\Delta H^\ddagger$ , вычислить значение константы скорости реакции при температуре 25 °С и найти  $\Delta G^\ddagger$  (см. пример 7). И, наконец, определить  $\Delta S^\ddagger$  (см. пример 8).

17. Энергия активации реакции  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$  в отсутствие катализатора  $(E_a)_0 = 70 \text{ кДж/моль}$ . В присутствии гетерогенного платинового катализатора  $(E_a)_{\text{Pt}} = 45 \text{ кДж/моль}$ , а если применяется фермент каталаза, то  $(E_a)_{\text{кат}} = 7 \text{ кДж/моль}$ . Определить отношение скоростей этих реакций при температуре 300 К.



## Ответы к задачам

1.  $n=1$
2.  $n=2$
3.  $E_a=339,589$  кДж/моль
4.  $\alpha=3,855$
5.  $E_a=51,0$  кДж/моль
6.  $E_a=212,47$  кДж/моль
7.  $E_a=73,15$  кДж/моль
8.  $0,625 \cdot 10^{13} \text{ с}^{-1}$
9.  $\Delta H^\ddagger=33,27$  кДж/моль
10.  $\Delta S^\ddagger=-101,49$  Дж/К
11.  $\Delta H^\ddagger=124,463$  кДж/моль
12.  $\Delta G^\ddagger=126,217$  кДж/моль
13.  $\Delta S^\ddagger=-5,88$  Дж/К
14. 1)  $4,97 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$ ; 2)  $1,0 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$ ; 3)  $8,61 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ ;  
4)  $3,02 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ ; 5)  $3,31 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$ ; 6)  $1,2 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$
15.  $T_{\text{изокин}} \approx 373 \text{ К}$
16.  $\Delta H^\ddagger=50,16$  кДж/моль;  $\Delta S^\ddagger=-150$  Дж/К
17.  $v_{\text{Pт}}/v_0=2,25 \cdot 10^4$ ;  $v_{\text{кат}}/v_0=9,32 \cdot 10^{10}$

## Рекомендуемая литература

1. Джаксон М.Б. Молекулярная и клеточная биофизика / М.Б. Джаксон; пер. с англ. под ред. А.П. Савицкого, А.И. Журавлева. - М.: Мир, БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. - 551 с.
2. Паничев С.А. Органический катализ: учеб. пособие / С.А. Паничев, Л.П. Паничева; ГОУ ВПО Тюм. гос. ун-т. - Тюмень: Изд-во Тюмен. гос. ун-та, 2007. – 122 с.
3. Березов Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. - 3-е изд., стер. - М.: Медицина, 2008. - 703 с.
4. Комов В.П. Биохимия: учебник / В.П. Комов, В.Н. Шведова. - 2-е изд., испр. - М.: Дрофа, 2006. - 638с.
5. Биохимия: учеб. для вузов / под ред. Е.С. Северина. – 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2006. – 779 с.
6. Эмануэль Н.М. Курс химической кинетики: учеб. пособие / Н.М. Эмануэль, Д.Г. Кнорре. – М.: Высш. шк., 1984. – 463 с.
7. Березин И.В. Биокинетика / И.В. Березин, С.Д. Варфоломеев. – М.: Наука, 1979. – 311 с.
8. Чанг О. Физическая химия с приложениями к биологическим системам / О. Чанг. – М.: Мир, 1980. – 662 с.

Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского