



# Методика расчета энергетической ценности питательных сред на основе стехиометрических закономерностей процесса биологического окисления

Хохлова О.Б.<sup>1</sup> • Кузнецова Е.Д.<sup>1</sup> • Сапожникова Н.Г.<sup>1</sup>

Предлагаемая методика расчета энергетической ценности питательных сред использует стехиометрические закономерности реакций биологического окисления в клетке и позволяет оценить пищевую ценность органических субстратов на основе их элементного состава. В третьей стадии катаболизма, универсальном пути биологического окисления органических соединений, являющихся питательными субстратами, участвуют три элемента-органогена: углерод, водород и кислород. Их содержание в составе органического соединения (пищевого субстрата) позволяет рассчитать количество энергии, превращенной в работу в процессе метаболизма клетки. Идея расчета энергетической ценности пищевого субстрата опирается на принцип энергетического сопряжения, согласно которому в клетке полезная энергия пищевых субстратов аккумулируется

в макроэргических связях аденозинтрифосфата (АТФ), образованных за счет биологического окисления данного субстрата. При расчете пищевой ценности органических субстратов традиционно используется величина энергии абиотического окисления. Доля полезной энергии, превращенной в работу, в данном случае не рассматривается. Проблема применения данного подхода в том, что количество АТФ рассчитано только для нескольких универсальных метаболитов, путь окисления которых известен (пировиноградная кислота, уксусная кислота). Предложенная нами методика опирается на стехиометрические закономерности и позволяет рассчитать количество АТФ по элементному составу соединений или массовым долям углерода, водорода и кислорода. Результаты расчета энергии биологического окисления по нашей методике совпадают с данными

литературы для метаболитов процесса биологического окисления в цикле трикарбонных кислот. Представленная методика, опираясь на состав соединений, позволяет рассчитать энергетическую ценность для любого пищевого субстрата или питательной среды, содержащей самые разнообразные органические соединения, в том числе и в случае, когда их метаболический путь биологического окисления неизвестен и расчет биоэнергетической ценности не представляется возможным.

**Ключевые слова:** аденозинтрифосфат (АТФ), стехиометрические соотношения, биологическое окисление, энергетическое сопряжение, метаболиты, глюкоза, пируват

doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-159-162

**П**итательные среды для микроорганизмов, а также пищевые продукты более высокоорганизованных биологических структур, включая человека, являются органическими соединениями, содержащими солнечную энергию, аккумулированную в процессе фотосинтеза, и служат источником энергии для гетеротрофов. Требования, предъявляемые к микробным питательным средам, помимо прочих условий (содержание воды и элементов питания, кислотность среды, окислительно-восстановительный потенциал) должны учитывать энергетическую ценность субстрата как источника питания [1–3]. Если критерии содержания минеральных элементов достаточно просто определить по элементному составу самих микроорганизмов, то подбор органических соединений может вызывать затруднение [1, 2]. Во-первых, органические соединения при нешироком разнообразии качественного состава, включающего основные элементы-органолены, обнаруживают бесконечное разнообразие строения и количественного состава. Во-вторых,

они содержат различное количество энергии, необходимой для гетеротрофов, к которым, в частности, относятся патогенные микроорганизмы [1, 2]. Именно поэтому при подборе органических компонентов для питательных сред целесообразно учитывать не только вещественный состав органической компоненты, но и ее энергетический потенциал. Классический подход для оценки энергии, аккумулированной в органическом веществе субстрата, базируется на расчете теплоты реакции полного абиотического окисления (сгорания) органического вещества до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . На этом процессе построены все расчеты энергетической ценности для микробных сред, а также пищевого рациона человека. Однако данный подход не учитывает различия между биологическим и абиотическим окислением. Так, при стандартных условиях теплота сгорания глюкозы составляет  $\Delta G = 2816$  кДж/моль, а при полном биологическом окислении в клетке в макроэргических связях аденозинтрифосфата (АТФ) аккумулируется всего  $\Delta G = 1098$  кДж/моль, остальное рассеивается в виде тепла [4]. Таким



**Хохлова Ольга**

**Борисовна** – д-р с.-х. наук, доцент кафедры биологической и общей химии<sup>1</sup>

✉ 150014, г. Ярославль, проспект Толбухина, 6–103, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (915) 988 16 37.  
E-mail: obxoxlova@mail.ru

**Кузнецова Елена**

**Дмитриевна** – канд. хим. наук, доцент кафедры биологической и общей химии<sup>1</sup>

**Сапожникова Наталья**

**Гапдрашитовна** – канд. хим. наук, старший преподаватель кафедры биологической и общей химии<sup>1</sup>

образом, клеткой в свободную энергию, способную совершать работу, трансформируется менее 40% потенциальной энергии, аккумулированной в глюкозе.

Это явление давно известно – еще в середине XX века были открыты биоэнергетические закономерности трансформации энергии в клетке (А.Н. Бах, Г. Кребс, В.А. Энгельгардт, В.И. Палладин, С.Е. Северин, В.П. Скулачев и др.). На их основе был сформулирован принцип энергетического сопряжения, согласно которому в клетке все процессы с затратой энергии идут за счет энергии экзотермических, а точнее, экзергонических реакций. Экзергоническими называют реакции биологического окисления, идущие с выделением энергии. Основная часть энергии выделяется на третьей стадии катаболизма, включающей окислительное декарбоксилирование пирувата и цикл трикарбоновых кислот. Этот путь является общим для гетеротрофов, использующих энергию органических субстратов. Перенос энергии от одних процессов к другим осуществляется через универсального посредника АТФ, в концевой ангидридной связи которого аккумулируется примерно 30,5 кДж/моль [4]. Следовательно, рассчитав количество АТФ, которое образуется в организме за счет полного биологического окисления органического субстрата до углекислого газа, можно рассчитать биоэнергетическую ценность данного соединения. А значит, критерием энергетической ценности данного питательного субстрата может служить количество АТФ [4–6]. Из этого следует, что питательная ценность органического субстрата, рассчитанная через энергию абиотического окисления, не может служить объективным показателем его энергетической ценности. Тем не менее сегодня при расчете питательной или энергетической ценности любого пищевого продукта (в том числе питательных сред) по-прежнему используют энергетические расчеты абиотического окисления. Проблема в том, что количество АТФ, которое может быть образовано в результате полного биологического окисления субстрата, получено только для основных метаболитов, поскольку пути их трансформации в клетке хорошо изучены. Многообразие же органических соединений, как и метаболических путей микроорганизмов, затрудняет такую оценку.

С нашей точки зрения, эти расчеты можно максимально унифицировать, если использовать законы стехиометрии, лежащие в основе любых химических превращений (количественное соотношение всех элементов до и после превращения должно быть неизменным). Исходя из элементного состава любого органического соединения,

рассчитывается количество АТФ, которое может синтезироваться в клетке в результате полного окисления данного соединения. Количество биогенной энергии напрямую зависит от содержания и соотношения элементов-органогенов: водорода, углерода и кислорода [4]. На данной стадии катаболизма участвуют только эти три элемента. Их содержание рассчитывается исходя из общего состава соединения, куда входят и другие элементы, в том числе азот. Классические расчеты энергии биологического окисления основных метаболитов хорошо известны, для углеводов они опираются на реакции гликолиза (аэробное окисление глюкозы до пирувата), окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетата и полное окисление ацетата в цикле трикарбоновых кислот до  $\text{CO}_2$ . Полученная в этих процессах энергия в виде «горячих» электронов передается в дыхательную цепь, где используется в конечном итоге для синтеза АТФ. Энергия двух электронов идет на синтез не более трех молекул АТФ [4, 6–8]. Следует учитывать, что в клетке все ферментативные реакции окисления сопровождаются снятием не только электронов, но и протонов ( $\text{H}^+$ ) с окисляемого субстрата ( $2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ ). За основу расчетов мы взяли следующее соотношение: снятие двух протонов и двух электронов с субстрата в процессе биологического окисления обеспечивает энергию для синтеза трех молекул АТФ [4, 8].

Все вышесказанное позволяет рассчитать количество АТФ, синтезируемого за счет энергии биологического окисления, на основе стехиометрических закономерностей данных реакций по количеству элементного водорода в органическом соединении. Однако рассчитать количество АТФ только на основе количества водорода в составе органической молекулы невозможно. В процессах биологического окисления участвуют протоны, полученные не только из органического субстрата, но и из воды, которая является метаболитом в данных процессах и служит источником кислорода для превращения органического углерода в  $\text{CO}_2$ . На образование  $\text{CO}_2$  в процессах биологического окисления идет не молекулярный кислород воздуха, как в процессе горения, а элементный кислород, входящий в состав органического (питательно-го) субстрата, и элементный кислород воды [4, 7, 8]. С помощью стехиометрии можно рассчитать количество воды, необходимой для полного окисления органического соединения, по количеству углерода в органическом субстрате и соответственно по количеству  $\text{CO}_2$ , выделившегося в процессе биологического окисления. Таким образом, количество воды напрямую зависит от содержания элементного кислорода в органическом субстрате.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России; 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5, Российская Федерация



Например, метан  $\text{CH}_4$  первоначально окисляется до  $\text{CH}_3\text{OH}$ , в процессе участвует одна молекула  $\text{H}_2\text{O}$ , при этом происходит снятие  $2\bar{e}$ , одного протона от субстрата и второго протона от молекулы воды. Передача двух протонов и электронов в цепь дыхания обеспечивает образование трех молекул АТФ [4, 7, 8]. Согласно стехиометрии то же количество всех составляющих, выраженное в молях, эквивалентно энергии 91,5 кДж/моль. При полном окислении метанола до  $\text{CO}_2$  количество протонов равно 8, количество АТФ – 12, количество биогенной энергии – 366 кДж/моль. Для всех универсальных метаболитов заключительной стадии катаболизма, энергия биологического окисления которых известна и пути биологического окисления хорошо изучены, расчеты, проведенные по предложенной методике, совпадают с данными литературы. Так, биологическое окисление основного энергетического метаболита – глюкозы – до пирувата в процессе аэробного гликолиза предоставляет энергию для синтеза 6 молекул АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. Далее идет окислительное декарбоксилирование пирувата до ацетата с выделением энергии для 3 молекул АТФ (2 молекулы пирувата – 6 АТФ). В цикле трикарбоновых кислот идет полное окисление ацетата до  $\text{CO}_2$ , выделяется энергия для синтеза 15 молекул АТФ как в процессе окислительного, так и субстратного фосфорилирования (2 молекулы ацетата, соответственно, эквивалентны 30 АТФ). Следовательно, при полном биологическом окислении глюкозы выделяется энергия, аккумулированная в конечных макроэнергетических связях 36 молекул АТФ [4, 7, 8].

Расчет энергии полного биологического окисления глюкозы по предложенной методике сводится к следующей схеме: в процессе полного биологического окисления глюкозы  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  образуется 6  $\text{CO}_2$ . Для этого требуется 12 атомов кислорода, 6 из которых предоставляет глюкоза, а остальные 6 – вода. В результате выделяется  $24\text{H}$  ( $\text{H}^+ + \bar{e}$ ). Каждая пара водорода ( $\text{H}^+ + \bar{e}$ ) предоставляет энергию для синтеза 3 молекул АТФ.  $24\text{H}$  (12 пар) = 36 АТФ = 1098 кДж/моль. Расчет энергии для ацетата дает 12 АТФ, для пирувата – 15 АТФ. Это полностью соответствует приведенным выше данным литературы.

Предлагаемая методика позволяет только на основе элементного состава органического субстрата, без изучения путей биологического окисления, рассчитать биоэнергетическую ценность любого органического соединения. Методику расчета, если известен элементный состав конкретного соединения, можно свести к алгоритму, представленному в таблице.

Состав органической молекулы	$\text{C}_m\text{H}_n\text{O}_z^*$
Количество углекислого газа, образованного в результате полного биологического окисления углерода молекулы	$m \text{ CO}_2$
Количество атомов кислорода, необходимое для окисления углерода	$2m$
Количество воды как источника кислорода, недостающего для окисления углерода	$(2m - z) \text{ H}_2\text{O}$
Суммарное количество атомов водорода, полученное в результате полного окисления углерода, эквивалентно количеству электронов – источника энергии для синтеза АТФ ( $1\text{H}^+ = 1\bar{e}$ )	$(n + 4m - 2z) \text{ H}$
Количество АТФ, синтезированное за счет данного количества энергии водорода	$3(n + 4m - 2z) / 2$ АТФ

Алгоритм расчета энергии органической молекулы, аккумулирующейся в аденозинтрифосфате, в процессе биологического окисления

АТФ – аденозинтрифосфат

\*  $m, n, z$  – количество атомов углерода, водорода и кислорода в молекуле соответственно

В конечном итоге расчет сводится к следующей стехиометрической формуле:

$$E = 183C + 45,75H - 91,5O \quad (\text{кДж/моль}) \quad (1),$$

где  $C, H$  и  $O$  – атомные доли или индексы элементов углерода, водорода и кислорода в молекуле органического субстрата.

Если известны массовые доли элементов в веществе, то формула приобретает следующий вид:

$$E = \frac{(15,25C + 45,75H - 5,71875O)}{(C + H + O)} \quad (\text{кДж/г}) \quad (2),$$

где  $C, H, O$  – массовые доли элементов углерода, водорода и кислорода в веществе (%).

Таким образом, предлагаемая методика и проведенный анализ данных литературы позволяют использовать для оценки энергетической ценности питательных сред и пищевых продуктов расчет биогенной энергии через количество АТФ, которое может синтезироваться клеткой за счет энергии полного биологического окисления данного субстрата. На основе стехиометрических закономерностей химических реакций можно рассчитать количество АТФ для любого питательного органического субстрата, включающего в свой состав элементы-органогены – углерод, водород и кислород. Новизна методики заключается в том, что в стехиометрических расчетах помимо элементного водорода органического субстрата учитывается элементный водород метаболической воды, необходимой для полного окисления субстрата. Предложенная методика реализуется в представленных формулах (1, 2), по которым, зная элементный состав органического субстрата, можно рассчитать его пищевую ценность для гетеротрофных микроорганизмов. Безусловно, данная методика



имеет ряд ограничений. Так, расчет энергии проводится для стандартных условий (давление, температура, концентрация) и при их изменении количество энергии будет меняться. Не каждый путь протонов и электронов в дыхательной цепи

соответствует стехиометрии  $2H^+ + 2e^- / 3 \text{ATP}$ . Однако при всех ограничениях предложенная методика позволяет достаточно легко и точно рассчитать полезную энергию пищевых субстратов на основе их элементного состава. ☺

## Литература

1. Герхардт Ф, ред. Методы общей бактериологии. В 3 т. Пер. с англ. М.: Мир; 1983.
2. Поляк МС, Сухаревич ВИ, Сухаревич МЭ. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2008. 352 с.
3. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов. Методические

указания. Томск: Изд-во Томского политехнического университета; 2015. 19 с.

4. Ленинджер А. Основы биохимии. В 3 т. Пер. с англ. Т. 2. М.: Мир; 1985. 368 с.
5. Скулачев ВП. Аккумуляция энергии в клетке. М.: Наука; 1969. 440 с.

6. Энгельгардт ВА. Познание явлений жизни. М.: Наука; 1984. 304 с.

7. Ленгелер Й, Дрeвс Г, Шлегель Г, ред. Современная микробиология. Прокариоты. Пер. с англ. Т. 1. М.: Мир; 2005. 656 с.
8. Северин ЕС, ред. Биохимия. 5-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. 768 с.

## References

1. Gerhardt P, editor. Manual of methods for general bacteriology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1981. 316 p.
2. Polyak MS, Sukharevich VI, Sukharevich ME. Culture media for medical and sanitary microbiology. Saint Petersburg: ELBI-SPb; 2008. 352 p. Russian.

3. Preparation of culture media and pathogen cultivation: procedural guidelines. Tomsk: Tomsk Polytechnic University; 2015. 19 p. Russian.

4. Lehninger A. Short course in biochemistry. New York: Worth Publishers; 1973. 420 p.
5. Skulachev VP. Energy accumulation in the cell. Moscow: Nauka; 1969. 440 p. Russian.

6. Engelgardt VA. The gnosis of life events. Moscow: Nauka; 1984. 304 p. Russian.

7. Lengeler J, Drews G, Schlegel H, editors. Biology of prokaryotes. Oxford: Blackwell Science; 1999. 328 p.
8. Severin ES, editor. Biochemistry. 5<sup>th</sup> edition. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. 768 p. Russian.

## The method for calculation of the energy density of culture media based on stoichiometrical patterns of the biological oxidative process

Khokhlova O.B.<sup>1</sup> • Kuznetsova E.D.<sup>1</sup> • Sapozhnikova N.G.<sup>1</sup>

The proposed method for calculation of the energy value of culture media is based on stoichiometric properties of biological oxidative reactions in the cell and allows for assessment of the nutritional value of organic substrates with consideration of their elemental composition. Three organogen elements (carbon, hydrogen and oxygen) participate in the third stage of catabolism, which is the universal way of biological oxidation of organic nutritive substrate compounds. Their content in the composition of an organic compound (or food substrate) allows for calculation of the amount of energy converted into work during cellular metabolism. The idea to calculate the energy value of a food substrate is based on the principle of energetic conjugation, according to which the useful energy of food substrates within the cell is accumulated in the energy-rich adenosine triphosphate (ATP) bonds formed by biological oxidation of the substrate. Calculation of the energy values of organic substrate is traditionally based on the energy of the abiotic oxidation. The proportion of the useful energy converted into work is not considered in this case. The inherent problem of this

approach is that the amount of ATP has been calculated only for several universal metabolites with known oxidative pathways, such as pyruvate and acetate. The proposed method is based on stoichiometric patterns and makes it possible to calculate the amount of ATP from the elemental composition of compounds and the mass fractions of carbon, hydrogen and oxygen. The results of calculation of biological oxidation energy obtained by this method coincide with the published data on biological oxidation metabolites in the citric acid cycle. The presented method, based on the composition of the compounds, allows for calculation of the energy value of any food substrate or culture medium containing a variety of organic compounds, including the case when their metabolic pathway of biological oxidation is unknown and the calculation of the bioenergetic value seems impossible.

**Key words:** adenosine triphosphate (ATP), stoichiometric ratio, biological oxidation, energetic conjugation, metabolite, glucose, pyruvate

doi: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-159-162

**Khokhlova Ol'ga B.** – PhD, Dr. Agr. Sci., Associate Professor, Chair of Biological and General Chemistry<sup>1</sup>  
✉ 6–103 Tolbukhina prospekt, Yaroslavl, 150014, Russian Federation. Tel.: +7 (915) 988 16 37.  
E-mail: obxoxlova@mail.ru

**Kuznetsova Elena D.** – PhD (in Chemistry), Associate Professor, Chair of Biological and General Chemistry<sup>1</sup>

**Sapozhnikova Natal'ya G.** – PhD (in Chemistry), Senior Lecturer, Chair of Biological and General Chemistry<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Yaroslavl State Medical University;  
5 Revolyutsionnaya ul., Yaroslavl, 150000, Russian Federation