

UNIVERZITET U NOVOM SADU

TEHNOLOŠKI FAKULTET

DOKTORSKA DISERTACIJA

TEMPERATURNI EFEKTI NA REAKCIJE DEGRADACIJE I
KONDENZACIJE AMINOKISELINA

MR SONJA M. DJILAS

NOVI SAD, 1987.

S mnogo poštovanja zahvaljujem se Dr Božidaru Lj. Miliću, vanrednom profesoru Tehnološkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, koji mi je kao mentor savetima i sugestijama pomogao u definisanju i izradi doktorske disertacije.

Iskreno se zahvaljujem Dr Miroslavu V. Piletiću i Dr Stevanu Dj. Lajšiću, redovnim profesorima Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, na savetima pri izradi ove doktorske disertacije.

Zahvaljujem se, takodje, Dr Pavlu I. Premoviću, vanrednom profesoru Filozofskog fakulteta, Odeljenja za hemiju, u Nišu, Dr Slobodanu Kaporu, naučnom savetniku "INPEP"-a u Zemunu, kao i Dr Gizeli Lomić i Dr Radmili Marinković-Nedučin, docentima Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, na savetima i pomoći pri izradi dela eksperimentanog rada.

Posebno se zahvaljujem Samoupravnoj interesnoj zajednici za naučni rad SAP Vojvodine na materijalnoj pomoći, ukazanoj pri izradi ove doktorske disertacije.

SADRŽAJ

1.0.0. UVOD	1
2.0.0. OPŠTI DEO	3
2.1.0. Teorijski aspekti nuklearne fizike	3
2.1.1. Nuklearna energija	3
2.1.2. Nuklearna reakcija	3
2.1.3. Kinetika reakcije	25
2.1.4. Faktori uticaja	25

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije radjen je u laboratorijama Tehnološkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, u laboratorijama za spektroskopiju Filozofskog fakulteta, Odeljenja za hemiju, u Nišu i laboratorijama Instituta za primenu nuklearne energije u Zemunu.

3.0.0. EKSPERIMENTALNI DEO	40
3.1.0. Osnovni podaci	42
3.2.0. Osnovni podaci	43
3.3.0. Osnovni podaci	43
3.4.0. Osnovni podaci	44
3.4.1. Osnovni podaci	44
3.4.2. Osnovni podaci	45

SADRŽAJ

1.0.0. U V O D -----	1
2.0.0. OPŠTI DEO -----	3
2.1.0. Toplotno razlaganje aminokiselina -----	3
2.1.1. Proizvodni toplotnog razlaganja aminokiseline -----	3
2.1.2. Razmatranje mehanizma reakcije toplotnog razlaganja aminokise- lina -----	13
2.1.3. Kinetika reakcije toplotnog razlaganja aminokiselina -----	20
2.2.0. Elektron spin rezonantno ispitivanje slobodnih radikala -----	22
2.2.1. Ponašanje slobodnih radikala u magnetnom polju -----	23
2.2.2. Elektron spin rezonancija -----	25
2.2.3. Osnovne karakteristike ESR spektara -----	26
2.2.4. Pojavljivanje slobodnih radikala u aminokiselinama -----	32
2.3.0. Termijska analiza -----	36
2.3.1. Termijska analiza aminokiselina -	37
2.3.2. Odredjivanje kinetičkih parameta- ra reakcije pirolize aminokise- lina termijskom analizom -----	37
3.0.0. EKSPERIMENTALNI DEO -----	42
3.1.0. Izbor aminokiselina -----	42
3.2.0. Piroliza aminokiselina -----	43
3.3.0. Hidroliza priolizata aminokiselina -----	43
3.4.0. Upotrebljene metode u eksperimentalnom radu -----	44
3.4.1. ESR spektroskopija -----	44
3.4.2. Infracrvena (IR) spektroskopija -	46

3.4.3. Hromatografija na tankom sloju ----	46
3.4.4. Termijska analiza -----	47
3.4.5. Piroliza - gasna hromatografija ---	48
4.0.0. REZULTATI I DISKUSIJA -----	49
4.1.0. Nastajanje slobodnih radikala pirolizom aminokiselina -----	49
4.1.1. Elektron spin rezonantna spektro- skopska analiza slobodnih radikala pirolizata aminokiselina -----	49
4.1.2. Odredjivanje strukture reakcionih proizvoda pirolize aminokiselina, nastalih iz slobodnoradikalskih vrsta -----	91
4.2.0. Termijska analiza aminokiselina -----	101
4.2.1. Rezultati diferencijalne skening kalorimetrijske (DSC) analize aminokiselina -----	101
4.2.2. Rezultati termogravimetrijske (TG) analize aminokiselina -----	106
4.2.3. Odredjivanje kinetičkih parametara reakcije toplotnog razlaganja ami- nokiselina različitim numeričkim metodama -----	112
4.3.0. Gasno-hromatografska analiza pirolizata aminokiselina -----	119
5.0.0. ZAKLJUČAK -----	126
6.0.0. LITERATURA -----	131

1.0.0. U V O D

Tehnološki procesi pripreme i prerade hrane obuhvataju temperaturne tretmane, koji utiču na promenu sastava i hranjivu vrednost prehrambenih proizvoda, na razvijanje konstituenata arome i na stvaranje vrlo nepoželjnih mutagenih i kancerogenih supstanci. Ovakva kompleksnost hemijskih procesa koji se odigravaju tokom temperaturnog tretmana i nastojanje brojnih naučnih istraživača i institucija da se dobije što bolji prehrambeni proizvod, neminovno su doveli do istraživanja reakcija toplotnog razlaganja jedinjenja koja se nalaze u gotovo svim prehrambenim proizvodima, odnosno do istraživanja toplotnog razlaganja najvažnijih od njih, odnosno do temperaturne degradacije aminokiselina.

Ispitivanja iz ove oblasti započeta su 1962. godine radovima Hurd-a i Simon-a (1), a naročito su intenzivirana u poslednjih petnaest godina. Zbog kompleksnosti reakcija temperaturnog razlaganja aminokiselina, uslovljenih brojnim varijabilnostima eksperimentalnih uslova, još uvek se malo zna o mehanizmima ovih reakcija. Većina saopštenih istraživanja se zasniva na identifikaciji proizvoda toplotnog razlaganja aminokiselina u različitim eksperimentalnim uslovima i nesumnjivo daje doprinose utvrdjivanju hemizama reakcija nastajanja nekih konstituenata arome, mutagenih i kancerogenih supstanci.

Najnovija istraživanja ukazuju da razlaganje aminokiselina pod uticajem temperature obuhvata niz reakcija: dekarboksilaciju, dekarbonilaciju, deaminaciju i kondenzaciju, reakcije različite u reakcionim brzinama i mehanizmima stvaranja brojnih jedinjenja. Ovakva kompleksnost reakci-

je toplotnog razlaganja aminokiselina ukazuje na potrebu da se ova reakcija ispita savremenim analitičkim organsko-hemijskim i fizičko-hemijskim metodama.

Cilj ovog rada je da se pomoću elektron spin rezonantne spektroskopije, infracrvene spektroskopije, gasne hromatografije, diferencijalne skening kalorimetrijske i termogravimetrijske analize ispita uticaj temperature na reakcije degradacije i kondenzacije prostih monoaminomonokarbonskih, monoanimodikarbonskih i diaminomonokarbonskih kiselina. Dobiveni rezultati ispitivanja bi se mogli iskoristiti za razjašnjavanje mehanizma i odredjivanje kinetike reakcije pirolize ispitivanih aminokiselina pod odredjenim eksperimentalnim uslovima.

2.1.0. TOPLIŠNO RAZLOŽENJE

U literaturi postoji nekoliko vrsta opšte metode za određivanje toplištne razloživosti. Najčešće se koristi metoda koja se temelji na određivanju količine ugljika koji se oslobodi pri razlaganju uz pomoć kisika. Ova metoda je vrlo precizna i omogućuje određivanje toplištne razloživosti uz pomoć jednostavnih mjerenja. U ovom radu opisane su različite metode za određivanje toplištne razloživosti i njihove prednosti i nedostaci. Također su opisane i metode za određivanje toplištne razloživosti uz pomoć određivanja količine ugljika koji se oslobodi pri razlaganju uz pomoć kisika. Ove metode su vrlo precizne i omogućuju određivanje toplištne razloživosti uz pomoć jednostavnih mjerenja.

2.1.1. VROŠTINA I TOPLIŠNO RAZLOŽENJE

U ovom poglavlju opisane su metode za određivanje toplištne razloživosti uz pomoć određivanja količine ugljika koji se oslobodi pri razlaganju uz pomoć kisika. Ove metode su vrlo precizne i omogućuju određivanje toplištne razloživosti uz pomoć jednostavnih mjerenja. Također su opisane i metode za određivanje toplištne razloživosti uz pomoć određivanja količine ugljika koji se oslobodi pri razlaganju uz pomoć kisika. Ove metode su vrlo precizne i omogućuju određivanje toplištne razloživosti uz pomoć jednostavnih mjerenja.

2.0.0. OPŠTI DEO

U ovom poglavlju opisane su metode za određivanje toplištne razloživosti uz pomoć određivanja količine ugljika koji se oslobodi pri razlaganju uz pomoć kisika. Ove metode su vrlo precizne i omogućuju određivanje toplištne razloživosti uz pomoć jednostavnih mjerenja.

2.1.0. TOPLOTNO RAZLAGANJE AMINOKISELINA

U literaturi postoje podaci o proučavanju toplotnog razlaganja mnogih prostih aminokiselina, kao što su glicin, alanin, aminobuterna kiselina, valin, leucin, lizin (2-9), aminokiselina koje sadrže sumpor (10-12), aromatičnih aminokiselina (13) i oksiaminokiselina (14, 15). Pirolizom navedenih aminokiselina nastaje niz glavnih i sporednih proizvoda kao što su CO_2 , CO , NH_3 , ugljovodonici, primarni i sekundarni amini, imini, aldehidi, ketoni, pirol, piridini, piperidini, pirolidoni, laktoni, što ukazuje da toplotno razlaganje aminokiselina obuhvata reakcije dekarboksilacije, dekarbonilacije, deaminacije i kondenzacije.

2.1.1. PROIZVODI TOPLOTNOG RAZLAGANJA AMINOKISELINA

Higman i Schlotzhauer su ispitali proizvode pirolize glicina i prolina (8). Zagrevanjem aminokiselina na 1013 K u struji azota i gasno-hromatografskom analizom dobijenih pirolizata, autori su utvrdili da su proizvodi pirolize glicina benzen, pirol, toluen, benzonitril, inden, o-tolunitril, m-tolunitril, naftalen, indol, fluoren, piridin i α -pikolin. Pirolizom prolina, pod navedenim eksperimentalnim uslovima, formirani su benzen, pirol, toluen, benzonitril, o-tolunitril, m-tolunitril, indol, piridin, α -pikolin, β - i ili γ -pikolin, anilin, kvinolin i izokvinolin. Od svih navedenih jedinjenja pirol i indol su dobijeni u najvećem prinosu (57,1%, odnosno 36,6%). Do sličnog zaključka su došli i Patterson i saradnici (16, 17), ispitujući pirolizat triptofana.

Kombinovanom tehnikom pirolize - gasne hromatografije - masene spektrometrije Simmonds i saradnici (4) su ispitivali toplotno razlaganje glicina, alanina, valina, leucina,

TABLICA 1. Relativne koncentracije proizvoda pirolize monoaminomonokarbonskih kiselina prema Simmonds-u i sar. u %, u odnosu na ukupni pirolizat

Proizvodi pirolize	Glicin	Alanin	Valin	Leucin	Izoleucin	β -Alanin
CO ₂	39,8	43,2	27,9	30,8	31,2	5,1
NH ₃	20,5	13,5	12,5	11,6	6,9	18,1
H ₂ O	22,7	17,0	5,3	8,8	11,2	41,7
HCN	1,6	0,4				
C-CN	12,3	1,6	0,1	3,3	1,4	1,6
C-C-CN	0,7	0,5	0,2	< 0,1	1,8	0,6
C=C-CN		1,2		< 0,1	0,4	12,1
C-C-CN C			2,7		1,1	
C=C-CN C			0,9	13,6		
C-C-C-CN C					4,3	
C-C-C-CN C				0,8		
C-C-C-C-CN C					1,7	

TABLICA 1 - nastavak

Proizvodi pirolize	Glicin	Alanin	Valin	Leucin	Izoleucin	β -Alanin
C-NH ₂	0,5					
C-C-NH ₂		17,3				0,3
C-C-C-NH ₂ C			21,7			
C-C-C-C-NH ₂ C				21,0		
C-C-C-C-NH ₂ C					19,3	
C-C-NH ₂ O	0,8					
C-C-C-NH ₂ O		0,4				
C-C-C-NH ₂ O						2,2
CH ₃ OH	0,3					
CH ₃ CHO		< 0,1				
C-C-CHO C						1,9

TABLICA 1 - nastavak

Proizvodi pirolize	Glicin	Alanin	Valin	Leucin	Izoleucin	β -Alanin
$\begin{matrix} \text{C-C-C-CHO} \\ \\ \text{C} \end{matrix}$				< 0,1		
$\begin{matrix} \text{C-C-C-CHO} \\ \\ \text{C} \end{matrix}$					0,7	
C=C-COOH						17,8
C-C=N-C-C		3,4				
$\begin{matrix} \text{C-C-C=N-C-C-C} \\ \\ \text{C} \end{matrix}$			13,8			
$\begin{matrix} \text{C-C-C-C=N-C-C-C-C} \\ \\ \text{C} \end{matrix}$				7,8		
$\begin{matrix} \text{C-C-C-C=N-C-C-C-C} \\ \\ \text{C} \end{matrix}$					11,8	
CH ₄	0,6	0,8	0,2	0,4	0,3	< 0,1
C=C	< 0,1	0,3	< 0,1	< 0,1	1,0	< 0,1
C-C	< 0,1	0,2	< 0,1	< 0,1	2,3	< 0,1
C-C=C		< 0,1	0,6	0,4	0,6	< 0,1
C-C-C		< 0,1	0,5	0,2	< 0,1	< 0,1

TABLICA 1 - nastavak

Proizvodi pirolize	Glicin	Alanin	Valin	Leucin	Izoleucin	β -Alanin
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}=\text{C} \\ \\ \text{C} \end{array}$			0,6	0,5		
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \\ \text{C} \end{array}$			0,1	0,3	0,7	
$\text{C}-\text{C}=\text{C}-\text{C}$					1,0	
$\text{C}-\text{C}-\text{C}=\text{C}$				0,4		
$\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}$						
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C}=\text{C} \\ \\ \text{C} \end{array}$					0,9	
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C}=\text{C} \\ \\ \text{C} \end{array}$					0,9	
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \\ \text{C} \end{array}$				< 0,1	< 0,1	
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \\ \text{O} \end{array}$	< 0,1	< 0,1	< 0,1			
$\begin{array}{c} \text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C} \\ \\ \text{O} \end{array}$			0,1			

izoleucina i β -alanina na temperaturi od 773 K u toku 10 s. Rezultati navedenih ispitivanja prikazani su u tablici 1.

Na osnovu rezultata saopštenih u tablici 1, autori su ukazali da se, sa mogućim izuzetkom glicina, aminokiseline alifatične serije razlažu zajedničkim reakcionim putem. Primarno razlaganje je jedna dekarboksilacija kojom nastaje amin kao glavni proizvod. Naredno razlaganje vodi formiranju nitrila i N-alkilaldimina, koji su važni sekundarni proizvodi.

Takodje je ispitana piroliza (773 K; 10 s) velikog broja strukturno različitih aminokiselina da bi se utvrdio efekat geometrijske izomerije na mehanizme i raspodelu proizvoda toplotnog razlaganja (6, 7). Proizvodi pirolize, identifikovani GC i MS metodom analize, u pirolizatu α -aminokiselina saopšteni su u tablici 2, β -aminokiselina u tablici 3, a γ -, δ - i ϵ -aminokiselina u tablici 4.

Rezultati GC-MS ispitivanja pirolizata aminokiselina, saopšteni u tablici 2, tablici 3 i tablici 4 (6, 7) ukazuju da prva faza razlaganja alifatičnih aminokiselina uključuje reakcije dekarboksilacije i kondenzacije, a β -aminokiseline deaminacijom gube NH_3 dajući nezasićene kiseline. α -Aminokiseline sadrže α -alkil supstituente koji podležu novoj SN reakciji gubeći NH_3 i formirajući međuproizvod, α -laktone, koji se dalje dekarboksiluje dajući keton. γ - i δ -Aminokiseline daju 2-pirolidon i 2-piperidon, kao glavni proizvod pirolize. ϵ -Aminokiselina, tokom stvaranja nekog laktama, daje nekoliko amina i nitrila kraćih lanaca.

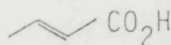
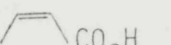
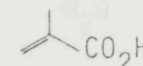
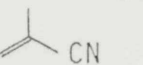
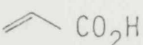
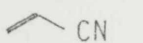



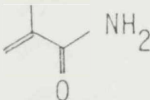
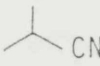
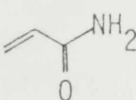
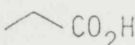
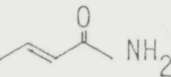
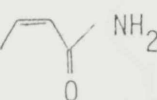
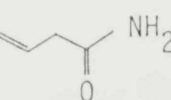
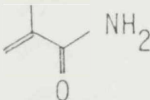
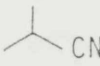
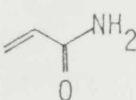
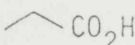



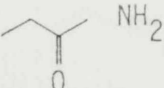


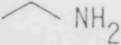
Lien i Nawar (5) su ispitali proizvode pirolize valina, leucina i izoleucina na temperaturama od 453 do 473 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s. Utvrdjeni su sledeći proizvodi: NH_3 , CO_2 i CO kod sve tri aminokiseline. Zatim, kod valina: propan, propen, izobutan, izobutilen, aceton, izobutiraldehid, izobutilamin, N-izobutiliden-izobutilamin i diizobutilamin;

TABLICA 2 - Proizvodi toplotnog razlaganja α -aminokiselina zagrevanih na 773 K u toku 10 s, prema Ratcliff-u i sar.

Prinos*	Alanin	α -Aminobuterna kiselina	Norvalin
A	CO ₂	CO ₂	CO ₂
	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
B	CH ₃ CN		
	DKP	DKP	DKP
	NH ₃	NH ₃	NH ₃
C	C ₂ H ₄	C ₂ H ₄	
	C ₂ H ₆	C ₂ H ₆	
		CH ₃ CN	
	CH ₃ CHO		
D	CO	CH ₄	CO
	CH ₄	CO	CH ₄
	CH ₃ NH ₂	CH ₃ CN	C ₂ H ₄
			C ₂ H ₆
			CH ₃ CN

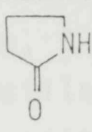
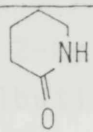
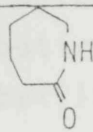


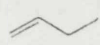


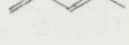



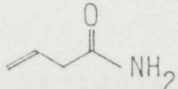


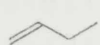













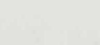

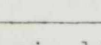
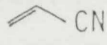
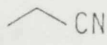


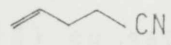

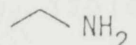



*) Prinosi (u % u odnosu na ukupni pirolizat): A, 20% ili više; B, 5-20%; C, 0,5-5%; D, 0,05-0,5%.

TABLICA 3. Proizvodi toplotnog razlaganja β -aminokiselina zagrevanih na 773 K u toku 10 s, prema Ratcliff-u i sar.

Prinos*	β -Aminobuterna kiselina	β -Aminoizobuterna kiselina	β -Alanin
A	NH ₃  	NH ₃ H ₂ O  	H ₂ O NH ₃  
B	CO ₂ H ₂ O   	CO ₂  	CO ₂  
C	  	CO ₂  	CO ₂  
D	C ₂ H ₄  CH ₃ CO ₂ H	C ₂ H ₄ C ₂ H ₆  	C ₂ H ₄ C ₂ H ₆     CH ₃ CN

* Prinosi (u % u odnosu na ukupni pirolizat): A, 20% ili više; B, 5-20%; C, 0,5-5%; D, 0,05-0,5%.

TABLICA 4. Proizvodi toplotnog razlaganja γ -, δ - i ϵ -aminokiselina zagrevanih na 773 K u toku 10 s, prema Ratcliff-u i sar.

Prinos*	γ -Aminobuterna kiselina	δ -Aminovalerijanska kiselina	ϵ -Aminoheksanska kis.
A	 H ₂ O	 H ₂ O	 CO CO ₂ NH ₃ C ₂ H ₄       
B			
C	   CO CO ₂ NH ₃	                  	CH ₃ CN          

*) Prinosi (u % u odnosu na ukupni pirolizat): A, 20% ili više; B, 5-20%; C, 0,5-5%.

kod leucina: izobuten, izobutilen, izopentan, 3-metil-1-buten, aceton, izobutiraldehid, izovaleraldehid, izobutilamin, izoamilamin, N-izobutiliden-izoamilamin, N-izoamiliden-izoamilamin i diizoamilamin; i kod izoleucina: butan, buten, izopentan, 2-metil-1-buten, 2-butanon, 2-metilbutiraldehid, 2-metilbutilamin, N-(2-metilbutiliden)-2-metilbutilamin i bis-(2-metilbutil)amin.

Pirolizom lizina na 573 K Winter i Arbo (2) su utvrdili amonijak, etilamin, dietilamin, trietilamin i tributilamin. Johnson i Kang (3) su iz pirolizata iste aminokiseline, dobivenog zagrevanjem na 973 K, izolovali i cijanovodonik.

U pirolizatu lizina, dobijenom zagrevanjem na 523 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, identifikovani su sledeći proizvodi toplotnog razlaganja: piperidin, tetrahidropiperidin, piridin, 2-metilpiridin, N-acetilpirolidon, 2-aminopiridin, 2-pirolidon, 2-piperidon, 2-oksoheksametiletlenimin, N-metil-N-propil-lizopropenilamin, cikloheksanon, 2-metilpirol, 2,5-dimetilpiridin, 2,4-dimetilpiridin, N-etilacetamid, 2-propilpiridin, 3-etilpiridin, zatim piridin jedinjenja molekulske mase 135 i 149 i N-butilacetamid (9). Od navedenih jedinjenja u glavne proizvode izdvajaju se laktami, 2-piperidon, 2-pirolidon i 2-kaprolaktam.

Fujimaki i saradnici (10) i Kato i saradnici (13) su saopštili da nekoliko monoaminokiselina prilikom pirolize daju nove aminokiseline; cistin se degradira u alanin, izoleucin i metionin a fenilalanin u glicin.

Na osnovu svih navedenih saopštenja o proizvodima toplotnog razlaganja aminokiselina, može se zaključiti da se pirolizati aminokiselina medjusobno razlikuju po tipu i količini proizvoda, što je posledica različite strukture aminokiseline ali i različitih uslova pirolize, jer, na primer, prisustvo amina kao glavnog fragmenta u jednom ispitivanju (2) i njegova odsutnost u drugom ispitivanju (18) može biti samo posledica različitih uslova pirolize.

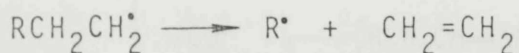
2.1.2. RAZMATRANJE MEHANIZMA REAKCIJE TOPLOTNOG RAZLAGANJA AMINOKISELINA

Ispitivanjem proizvoda koji nastaju toplotnim razlaganjem aminokiselina, mnogi autori su pokušavali da objasne mehanizam nastajanja nekih proizvoda pirolize aminokiselina (5, 7, 9, 10, 11, 16, 17).

Simmonds i saradnici (4) su prvi prepostavili opšti mehanizam toplotnog razlaganja monoaminomonokarbonskih kiselina, ispitujući pirolizate glicina, α - i β -alanina, valina, leucina i izoleucina, dobivene zagrevanjem na 773 K u toku 10 s. Na slici 1 prikazan je niz reakcija koji bi mogao provizorno da prikaže formiranje glavnih proizvoda toplotnog razlaganja alifatičnih monoaminomonokarbonskih kiselina.

Autori smatraju da postoje četiri primarne reakcije (slika 1) kojima se aminokiseline razlažu. Dekarboksilacija je glavni put razlaganja koji se zapaža po prinosu CO_2 i formiranju amina kao glavnih reakcionih proizvoda.

Drugi način nastajanja proizvoda pirolize ukazuje na homolizu C-C veze, u položaju α -u odnosu na amino grupu, uz nastajanje alkil radikala. Najverovatnije je, da razlaganjem alkil radikala dolazi do stvaranja alkena i vodonik radikala, ili nekog drugog alkil radikala:

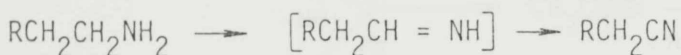


Tako propen, izobuten i njima slični alkani nastaju iz valina, leucina i izoleucina. Višak alkena može da nastane i kao rezultat heterolitičkog procesa koji vodi formiranju ovih proizvoda.

Deaminacija se pojavljuje kao treći način razlaganja, po svoj prilici putem raskidanja C-N veze, dajući amino radikal. Medjutim, primećeno je da amonijak može da bude i proizvod sekundarne reakcije, pa njegovo nastajanje kao deo primarnog razlaganja može da bude manje značajno.

Četvrti način razlaganja uključuje gubitak jednog ili više molekula vode, praćen reakcijama kondenzacije, kojima se formiraju dipeptidi ili diektopiperazini.

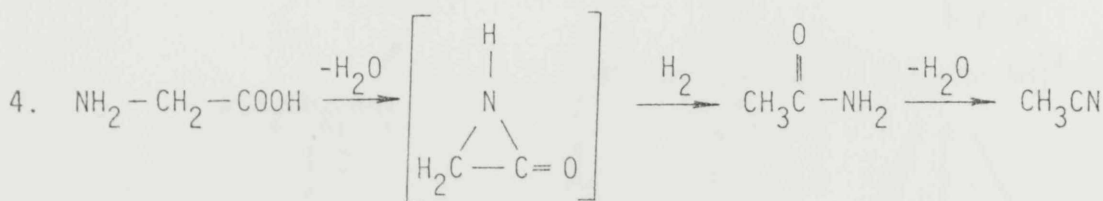
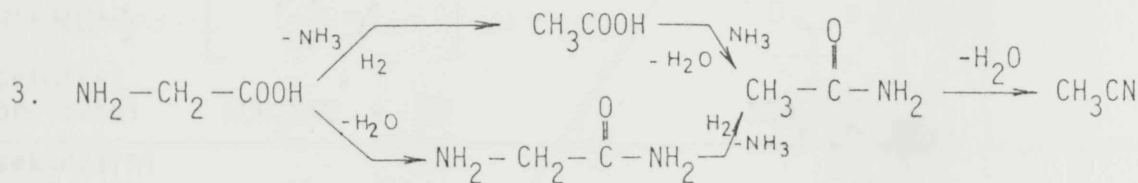
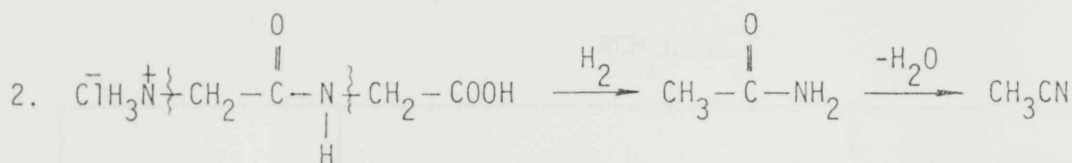
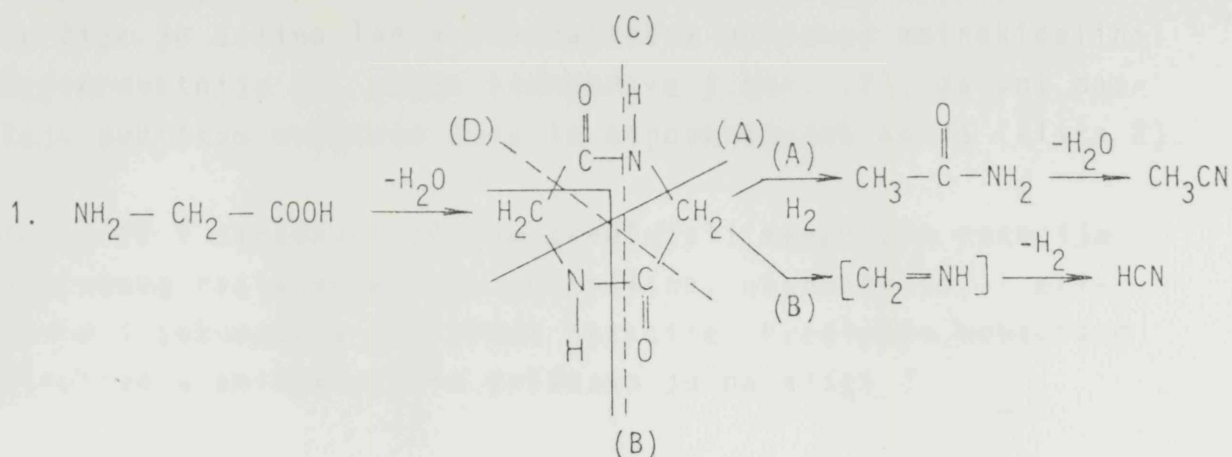
Nastali glavni proizvodi pirolize alifatičnih aminokiselina, amini, mogu da se fragmentiraju i da dalje reaguju, što potvrđuje prisustvo sekundarnih proizvoda reakcije. Svaki amin može da se postupno razloži uz gubitak dva molekula vodonika gradeći odgovarajući nitril, preko medjuproizvoda, imina (18, 19):



Gotovo sve aminokiseline daju N-alkilaldimine kao značajne proizvode pirolize, a koji verovatno nastaju iz prekursora imina, reakcijama kondenzacije (20), kako je prikazano na slici 1. Gubitkom vodonika iz primarnog amina nastaje intermedijerno imin koji može dalje da reaguje sa aminom, reakcijom transalkidizacije (21) ili sa vodom, dajući aldehid koji kasnije podleže reakciji kondenzacije sa aminom.

Simmonds i sar. (4) su saopštili rezultate istraživanja proizvoda pirolize glicina i postavili moguć put nastajanja amida (slika 2).

Najverovatniji put nastajanja amida obuhvata razlaganje diektopiperazina, preko preseka označenog sa A. Capanje diektopiperazina preko preseka B obuhvata dehidrataciju koja vodi formiranju drugih proizvoda, na primer HCN. Alternativni put ove reakcije bio bi preko dipeptida. Treća mogućnost uključuje adiciju vodonika i oduzimanje amonijaka, što

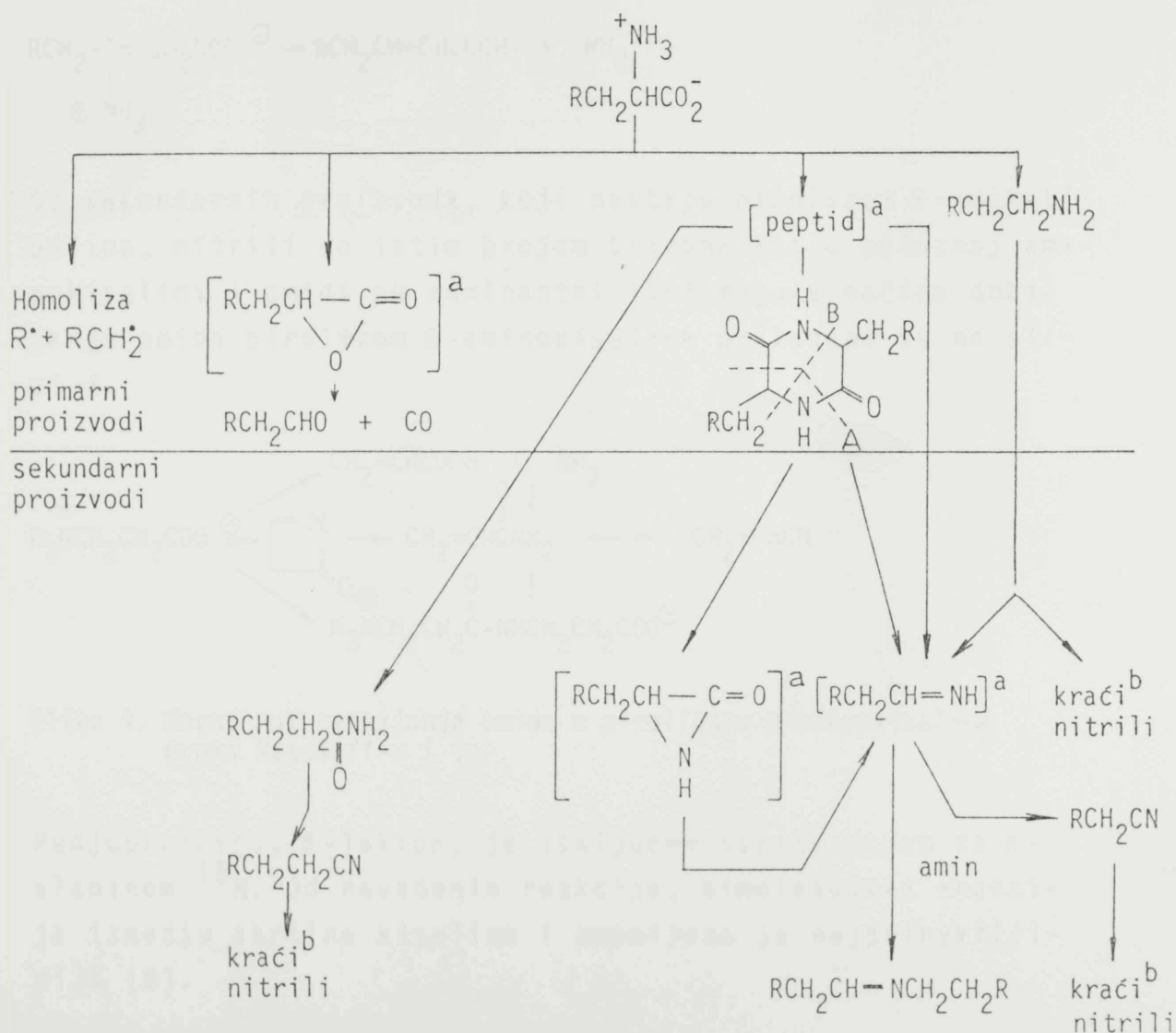


Slika 2. Mogući put nastajanja amida u pirolizatu glicina, prema Simmonds-u i sar.

je mala verovatnoća, jer kiseli međuproizvod nije bilo moguće detektovati u reakcionoj smeši a duži lanac amida bi mogao biti rezultat kondenzacije između drugih amina i kiselih međuproizvoda. Takođe, vrlo je moguće da amidi nastaju istovremeno i razlaganjem diektopiperazina i cikličnog α -laktona.

Od posebnog interesa je da se razjasni put nastajanja nitrila čija je dužina lanca ekvivalentna polaznoj aminokiselini. Najverovatnije je, prema Simmonds-u i sar. (4), da oni nastaju gubitkom molekula vode iz odgovarajućih amida (slika 2).

Ratcliff i saradnici (6) su predložili mehanizam reakcije toplotnog razlaganja α -aminokiselina, obuhvatajući i primarne i sekundarne proizvode reakcije. Predloženi mehanizam pirolize α -aminokiselina prikazan je na slici 3.



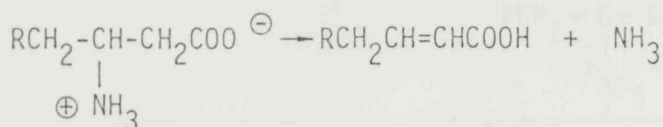
Slika 3. Mogući mehanizam toplotnog razlaganja α -aminokiselina, prema Ratcliff-u i sar.

a) Jedinjenja za koja se smatra da nisu nadjena, ali je izveden zaključak na osnovu drugih informacija

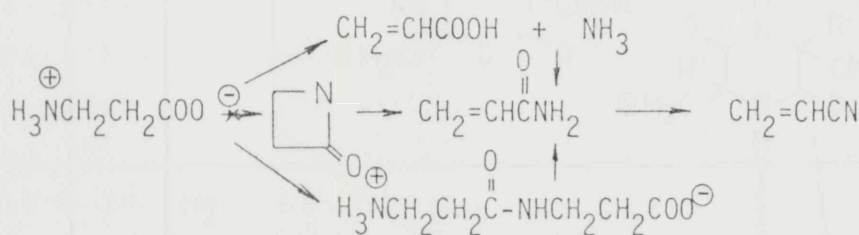
b) Jedinjenja koja rezultuju iz niza homoliza, naročito za duži niz prekursora

Jednostavna dekarboksilacija je, pouzdano se može zaključiti, glavni proces koji se odvija. Takodje, vrlo značajno je formiranje peptida i diketopiperazina, koji su uglavnom odgovorni za formiranje sekundarnih proizvoda.

Isti autori su takodje saopštili da je deaminacija glavni proces razlaganja β -aminokiselina. β -Aminokiseline razlaganjem daju nezasićene kiseline i amonijak kao glavne proizvode (6):



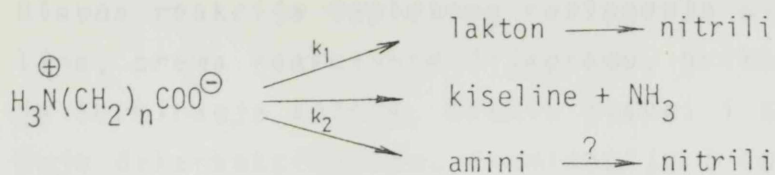
Od sekundarnih proizvoda, koji nastaju pirolizom β -aminokiselina, nitrili sa istim brojem C-atoma kao u polaznoj aminokiselini i amidi su dominantni. Tri moguća načina dobijanja amida pirolizom β -aminokiselina prikazana su na slici 4.



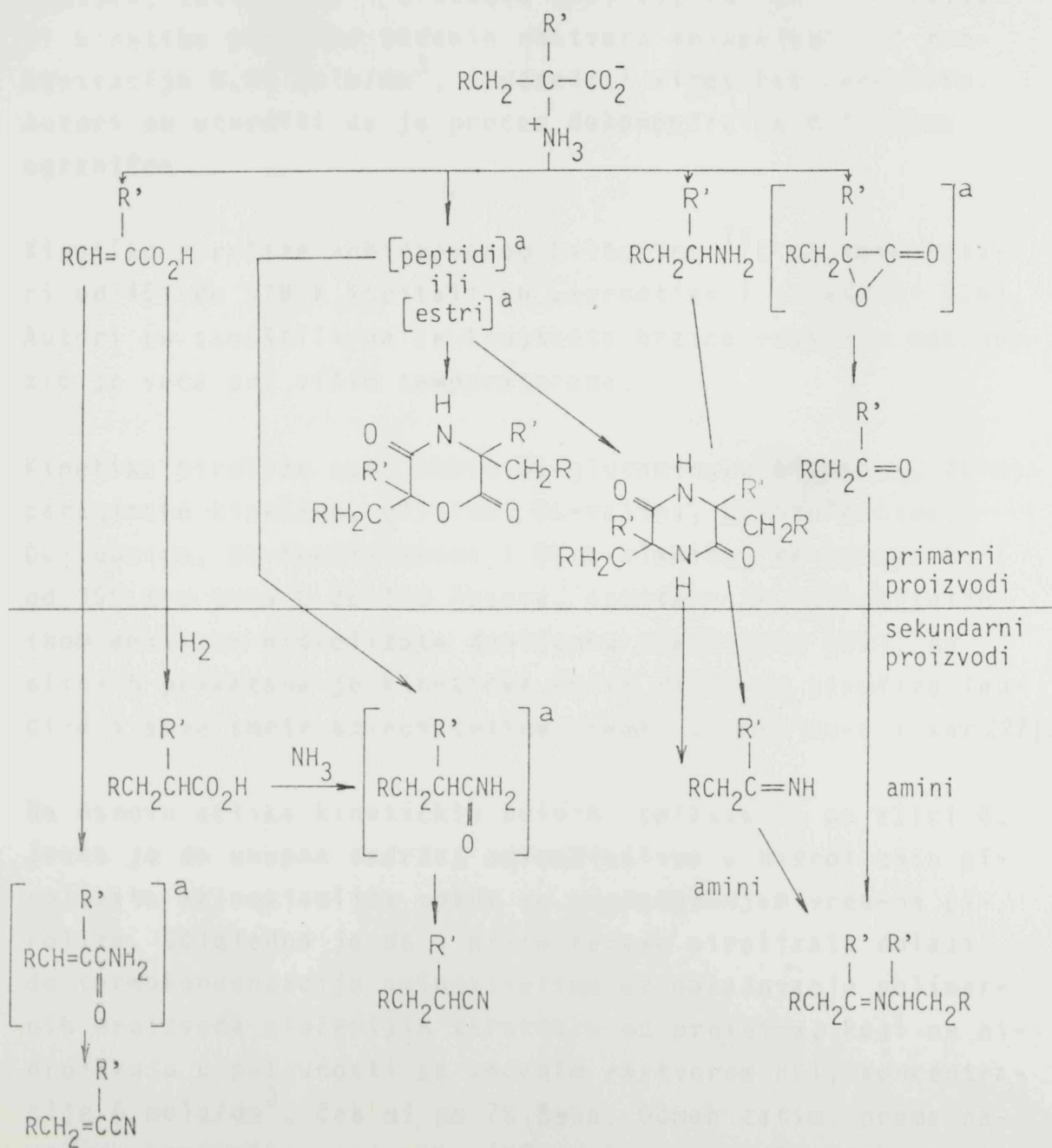
Slika 4. Moguć put nastajanja amida u pirolizatu β -aminokiselina prema Ratcliff-u i sar.

Medjuproizvod, β -lakton, je isključen ispitivanjem sa β -alaninom ^{15}N . Od navedenih reakcija, bimolekulska reakcija izmedju akrilne kiseline i amonijaka je najprihvatljivija (6).

Put toplotnog razlaganja γ -, δ - i ϵ -aminokiselina može se prikazati sledećom reakcionom shemom (6):



Ratcliff i saradnici (6) su takodje predložili moguć put toplotnog razlaganja α -metil- α -aminokiseline (slika 5).



Slika 5. Moguć put toplotnog razlaganja α -metil- α -aminokiseline, prema Ratcliff-u i saradnicima.

Glavna reakcija toplotnog razlaganja α -metil- α -aminokiselina, prema reakcionom dijagramu, prikazanom na slici 5, je formiranje ketona. Ostali glavni i sporedni putevi uključuju dekarboksilaciju, deaminaciju i kondenzaciju.

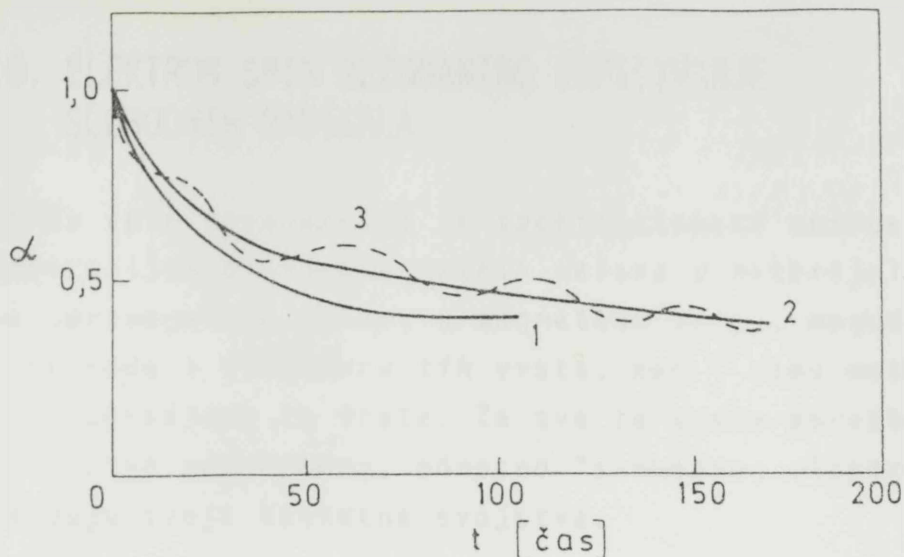
2.1.3. KINETIKA REAKCIJE TOPLOTNOG RAZLAGANJA AMINOKISELINA

Abelson, Vallentyne i Drozdova (22, 23, 24, 25) su ispitali kinetiku pirolize vodenih rastvora aminokiselina, koncentracije $0,01 \text{ mola/dm}^3$, i odredili kinetičke parametre. Autori su utvrdili da je proces dekompozicije difuziono ograničen.

Kinetiku pirolize anhidrovanog L-leucina ^{14}C na temperaturi od 451 do 578 K ispitali su Lavrent'ev i saradnici (26). Autori su saopštili da je konstanta brzine reakcije dekompozicije veća pri višim temperaturama.

Kinetika pirolize suve smeše DL-glutaminske kiseline, DL-asparaginske kiseline, glicina, DL-valina, DL-izoleucina, DL-leucina, DL-fenilalanina i DL- β -alanina, na temperaturi od 350 K u toku 0 do 170 časova, ispitana je aminokiselinskom analizom hidrolizata dobijenog pirolizata (27). Na slici 6 prikazana je kinetička kriva reakcije pirolize leucina i suve smeše aminokiselina prema Lavrent'ev-u i sar. (27).

Na osnovu oblika kinetičkih krivih, prikazanih na slici 6, jasno je da ukupan sadržaj aminokiselina u hidrolizatu pirolizata aminokiselina opada sa produžavanjem vremena pirolize. Očigledno je da u prvim fazama pirolizata dolazi do termokondenzacije aminokiselina uz obrazovanje polimernih proizvoda složenijih struktura od proteina, koji ne hidrolizuju u potpunosti sa vodenim rastvorom HCl, koncentracije 6 mola/dm^3 , čak ni za 72 časa. Odmah zatim, prema navodima Lavrent'ev-a i sar. (27) dolazi do delimične pirolitičke depolimerizacije sintetisanih polimera, bilo uz odcepljenje aminokiselina, ili kidanjem odredjenih veza u



Slika 6. Zavisnost sadržaja aminokiselina (α) u hidrolizatu pirolizata dobijenog zagrevanjem na 350 K od vremena pirolize, (t);
1 - u pirolizatu leucina nakon 24-časovne hidrolize;
2 - u pirolizatu leucina nakon 72-časovne hidrolize;
3 - hipotetična kriva karakteristična za kinetiku pirolize u smeši aminokiselina prema Lavrent'ev-u i sar.

molekulu, što omogućava oslobađanje aminokiselina nakon 72-časovne hidrolize. Proizvodi termodestrukcije polimera ponovo učestvuju u sintezi, količina aminokiselina u hidrolizatu se smanjuje, a zatim dolazi do depolimerizacije. Tako se proces ponavlja više puta, pa je zato moguće pretpostaviti oscilatorni karakter oko osnovne krive uz postepeno smanjenje amplitude (kriva 3).

2.2.0. ELEKTRON SPIN REZONANTNO ISPITIVANJE SLOBODNIH RADIKALA

Elektron spin rezonancija je spektroskopska metoda kojom je adsorpcijom elektromagnetnih talasa u materijalima koji imaju paramagnetne vrste, u magnetnom polju, moguće proučavati prirodu i strukturu tih vrsta, kao i samu materiju u koju su ugrađene te vrste. Za sve te vrste karakteristično je prisustvo nesparenog, odnosno "slobodnog elektrona", kojim duguju svoja magnetna svojstva.

Prva primena elektron spin rezonancije (ESR) ili paramagnetne rezonancije (EPR) i prvo tumačenje ESR spektra datiraju iz 1945. godine i pripisuju se E.Zavojskom, koji je protumačio ESR spektar $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ soli, dok su prvu koncepciju ESR spektroskopije dali fizičari holandske škole sa C.J. Gorterom, nekih desetak godina ranije, ispitivanjem ponašanja elektron - spinova čvrstih kristalnih supstanci pri vrlo niskim temperaturama (28, 29, 30).

Nagli razvoj mikrotalasne tehnike posle 1945. godine i istraživanja fizičara Clarendon Laboratory, Oxford, uticali su da ispitivanja iz ove oblasti prevazidju teorijska razmatranja i postanu aplikativna.

ESR metoda je primenjiva za sve paramagnetne sisteme koji imaju zbirni elektron spinski moment različit od 0. Ovu metodu karakteriše velika osetljivost (moguće je detektovati koncentracije do 10^{-5} mola/dm³), mala masa ispitivane materije (do 0,1 g) i nedestruktivnost paramagnetne materije (31-44).

2.2.1. PONAŠANJE SLOBODNIH RADIKALA U MAGNETNOM POLJU

Mogućnost za dokazivanje slobodnih radikala vezana je za njihove magnetne osobine. Magnetne osobine radikala definišu se merenjem magnetne susceptibilnosti:

$$\chi = \frac{I}{H} \quad (1)$$

gde je:

I - magnetizacija jedinice zapremine, a

H - jačina magnetnog polja.

Paramagnetne supstance imaju $\chi > 0$. Paramagnetizam potiče od spina nesparenih elektrona čiji su spinski i ugaoni momenti u interakciji sa poljem. Orientacijom magnetnih momenata u polju uspostavlja se statička raspodela za sve moguće z-komponente i orientacija magnetnih polja zavisi od temperature, jer je njihovoj orientaciji suprotstavljeno haotično toplotno kretanje atoma (45). Zato se kod slobodnih radikala promena magnetne susceptibilnosti opisuje Curie-Weiss-ovim zakonom:

$$\chi = N\mu^2/k \cdot (T-\theta) \quad (2)$$

gde je:

N - Avogadro-ov broj,

μ - magnetni momenat,

k - Boltzman-ova konstanta,

R - apsolutna temperatura, i

θ - Curie-ova temperatura.

Kada se magnetni dipolni momenat stavi u statičko magnetno polje \vec{H} on prouzrokuje precesiju oko tog polja sa ugaonom brzinom:

$$\omega_L = -\gamma H \quad (3)$$

gde je:

γ - žiromagnetni odnos, a

ω_L - ugaona brzina koja se naziva Larmor-ova frekvencija.

Takva precesija proizvodi oscilatorni magnetni moment u ravni normalnoj na polje \vec{H} . Ako se primeni promenljivo magnetno polje $H_1 \cos \omega t$, gde je $\vec{H}_1 \ll \vec{H}$ i $\vec{H}_1 \perp \vec{H}$, tada dolazi do interakcije izmedju komponenti dipolnog magnetnog momenta i tog polja. Ta interakcija će imati znatan efekat na promenu energije dipola samo u slučaju kada frekvencija promenljivog polja \vec{H}_1 ima vrednosti koje su u uskom intervalu ω_L . Kada je $\omega = \omega_L$ ispunjen je uslov rezonancije, odnosno postoji mogućnost promene energije dipola. Ova pojava izmene energije naziva se magnetnom rezonancijom. Kvantnomehanički pristup ovom problemu može se definisati Schrödinger-ovom jednačinom za sistem u magnetnom polju (46):

$$\kappa \psi_i = E_i \psi_i \quad (4)$$

gde je:

ψ_i - talasna funkcija stanja sistema,

κ - Hamiltonijan ili operator energije za sistem, a

E_i - svojstvena vrednost stanja i .

Rešenjem Schrödinger-ove jednačine dobija se izraz za energiju:

$$E_M = -\gamma H M \quad (5)$$

gde je:

M - magnetni kvantni broj koji može poprimiti vrednosti $-J, -J+1, \dots, +J$.

Vidi se da cepanje energetske nivoa, tzv. Zeeman-ovo cepanje, zavisi od jačine magnetnog polja u iznosu faktora γ . Zeeman-ova energija E_M kvantizirana je u skladu sa kvantiziranjem komponente momenta \vec{J} u smeru polja \vec{H}_1 . Za paramagnetnu česticu koja je kvantizirana kvantnim brojem J u konstantnom magnetnom polju energetski nivo se cepa na $2J+1$ nivoa koji su medjusobno odvojeni razlikom energije ΔE (46):

$$\Delta E = \gamma \cdot \hbar H \quad (6)$$

gde je:

\hbar - veličina definisana izrazom $h/2\pi$, pri čemu je h Planck-ova konstanta.

U visokofrekventnom magnetnom polju \vec{H}_1 koje je normalno na konstantno magnetno polje \vec{H} , tako da je:

$$\hbar \omega = \Delta E \quad (7)$$

dolazi do prelaza izmedju susednih nivoa saglasno pravilu izbora $\Delta M = \pm 1$, odnosno do magnetne rezonancije. Ako dipolni momenat potiče od elektrona onda se govori o spinskoj rezonanciji (ESR), a ako potiče od atomskih jezgara govori se o nuklearnoj magnetnoj rezonanciji (NMR).

2.2.2. ELEKTRON SPIN REZONANCIJA (ESR)

Elektron spin rezonancija (ESR) se bazira na Zeeman-ovom efektu koji je posledica interakcije spina elektrona i spina jezgra sa spoljašnjim magnetnim poljem. Energija te interakcije data je izrazom:

$$E_z = -\mu H = -(\mu_e^z + \mu_N^z) \cdot \vec{H} \quad (8)$$

gde su:

μ_e^z i μ_N^z - spinski magnetni momenti elektrona i jezgra u pravcu z-ose i izraženi su u jedinicama \hbar .

Saglasno pravilu izbora sa ESR spektroskopiju ($\Delta M_I = 0$ i $\Delta M_S = \pm 1$) energetska razlika izmedju dva nivoa izmedju kojih je dozvoljen prelaz biće:

$$\Delta E = g_e \beta_e H \quad (9)$$

gde je:

g_e - spektroskopski faktor cepanja i u slučaju "slobodnog" elektrona ima vrednost 2,00232,

β_e - Bohr-ov magneton, definisan izrazom $e\hbar/2m_e$, pri čemu su e i m_e naelektrisanje i masa elektrona.

Ako se na to stalno magnetno polje primeni visokofrekventno magnetno polje takve frekvencije ν_r da je:

$$\Delta E = h \nu_r = g_e \beta_e H \quad (10)$$

doći će do prelaza između susjednih Zeeman-ovih nivoa uz odgovarajuću promenu spina elektrona. Jednačina (10) daje poznati uslov elektron spin rezonancije. Za složeniji slučaj kada pored spinskog ugaonog momenta postoji i orbitalni ugaoni moment, rezonantni uslov glasi:

$$\Delta E = h \nu_r = g \beta_e H \quad (11)$$

gde se sada zbog orbitalnog doprinosa, g-vrednost razlikuje od vrednosti g_e za slobodan elektron iz jednačine (10).

2.2.3. OSNOVNE KARAKTERISTIKE ESR SPEKTARA

Najjednostavniji oblik ESR spektra je jedna simetrična linija koja nastaje kao rezultat superpozicije velikog broja linija, što uslovljava relativnu nedefinisanost takvog spektra (25). Osnovne karakteristike ove simetrične ili "singletne" linije su:

- intenzitet linije ESR spektra,
- širina linije ESR spektra,
- oblik linije ESR spektra, i
- položaj linije ESR spektra.

Intenzitet linije ESR spektra

Prisustvo nesparenog elektrona uzrokuje apsorpciju mikrotalasnog zračenja i veličina te apsorpcije je proporcionalna razlici u energiji populacije između dva nivoa. Mikrotalasna snaga koju apsorbuje uzorak proporcionalna je broju kvanta energije koji se apsorbuju u sekundi i jednaka je verovatnoći prelaza i broju spinova u nižem nivou, i energiji h svakog kvanta. Ako postoji N spinova, prema Boltzman-ovoj distirubiciji postoji $N \Delta E / 2kT$ dodatnih spi-

nova. Verovatnoća prelaza između dva nivoa kvantnomehnički je definisana sledećim izrazom:

$$W = \pi^2 (g\beta)^2 H_1^2 f(\nu - \nu_0) / h^2 \quad (12)$$

gde je:

H_1 - intenzitet mikrotalasnog polja $H_1 \cos 2\pi\nu t$,
 $f(\nu - \nu_0)$ - normalizovan oblik krive, funkcija koja određuje raspodelu rezonancije oko ν_0 .

Apsorbovana snaga je funkcija frekvencije:

$$P(\nu) = N\pi^2 (g\beta)^2 H_1^2 \nu \nu_0 f(\nu - \nu_0) / 2kT \quad (13)$$

gde je:

ν_0 - rezonantna frekvencija, a
 N - ukupan broj spinova.

Apsorbovana snaga po jedinici zapremine uzorka je:

$$P = \pi \nu \chi'' H_1^2 \quad (14)$$

gde je:

χ'' - susceptibilnost uzorka.

Izlazni signal napona koji daje linearni detektor ESR spektrometra proporcionalan je:

$$\eta Q_0 \chi'' (P_0)^{1/2} \quad (15)$$

gde je:

η - faktor koji određuje odnos između zapremine uzorka i zapremine šupljine ako je ista raspodela polja,
 Q_0 - vrednost koja je određena za šupljinu,
 P_0 - mikrotalasna snaga koja stiže do šupljine.

Kombinacijom gornjih jednačina dobija se da je signal proporcionalan:

$$I \approx \frac{N_0 g^2 \nu_0 \nu Q_0 (P_0)^{1/2}}{\Gamma \Delta \nu} \quad (16)$$

gde je:

N_0 - ukupni broj spinova po jedinici zapremine.

Maksimalna amplituda signala se dobija kada je $\nu = \nu_0$ i određena je poluširinom $\Delta\nu$ na poluvisini apsorpcione linije. Na datoj vrednosti frekvencije i temperature razlika u populaciji između dva nivoa ostaje konstanta i zato je veličina apsorbovane mikrotalasne snage proporcionalna ukupnom broju nesparenih elektrona u uzorku. Integralni intenzitet apsorpcione linije može se uzeti kao mera koncentracije nesparenih elektrona koji su prisutni u uzorku (47).

Širina linije ESR spektra

Širina linije direktno zavisi od cepanja energetske nivoa koji su zauzeti nesparenim elektronima. Merenje širine linije daje nam informaciju o veličini interakcije koju trpi nespareni elektron i uzrokuje da se njegova energija cepa. Rezonantna linija koja nastaje od nesparenih elektrona u uzorku nema konačan oblik koji bi se mogao pretpostaviti na osnovu energetske nivoa za slobodan elektron. Linija ima izvestan oblik funkcije $f(\nu - \nu_0)$ koja se karakteriše poluširinom na poluvisini amplitude, $\Delta\nu$. Širenje linije nastaje zbog ograničenog vremena života spinskog stanja, zbog spin-rešetka relaksacionih procesa i malih energetske razlika koje nastaju od fluktuacije lokalnih polja.

Vreme života čestica može se odrediti na osnovu Heisenberg-ovog principa neodređenosti, $\Delta E \Delta t \approx h/2\pi$, odnosno ako sistem ima vreme života Δt njegovi energetske nivoi mogu biti određeni sa tačnošću ΔE . U jedinicama frekvencije prirodna širina linije određena je sa $\Delta E = h\Delta\nu$, nesigurnost rezonantne frekvencije odgovara poluširini linije:

$$\Delta\nu = \frac{1}{2\pi\Delta t} \approx \frac{1}{2\pi T} \quad (17)$$

gde je:

T - relaksaciono vreme koje karakteriše širinu linije.

Postoje dva tipa procesa relaksacije, spin-rešetka i spin-spin, sa odgovarajućim vremenima relaksacije T_1 i T_2 , tako da je:

$$\Delta\nu = 1/T_1 + 1/T_2 \quad (18)$$

Relaksacijom spin-rešetka obuhvaćeni su procesi u kojima elektronski spinovi predaju svoju energiju molekuli kroz spin-orbitalnu interakciju. Ako je ova interakcija jaka elektroni u gornjem nivou ostaju kratko vreme i Zeeman-ovi nivoi će se cepati po energiji i spin-rešetka relaksaciono vreme T_1 je kratko. U tom slučaju spin-rešetka interakcija je glavni faktor koji određuje širinu linije (48).

Za organske slobodne radikale konstanta spin-orbitalne interakcije je mala, cepanje energetskih nivoa je veliko pa je veliko i spin-rešetka relaksaciono vreme T_1 , tako da ono ne određuje širinu linije. Medjutim, veliko vreme T_1 može uzrokovati izvesno proširenje linije kroz efekat saturacije, jer je u tom slučaju mala brzina uspostavljanja Maxwell-Boltzman-ove raspodele po Zeeman-ovim nivoima, pa su već male gustine upadne mikrotalasne snage dovoljno velike da indukuju prelaze prema gore sa brzinom većom od brzine uspostavljanja ravnoteže.

Glavni uticaj na širinu linije kod slobodnih radikala daju spin-spin interakcije koje sadrže sve mehanizme kojima spin može izmenjivati energiju sa drugim spinovima a da je ne vraća rešetki ili sistemu kao celini (49). Takve interakcije ne pomažu uspostavljanju termičke ravnoteže ali proširuju linije direktnim dejstvom spinova jednog na drugi ili zbog kraćeg vremena života spinskog stanja (50). Glavne interakcije ovoga tipa su dipol-dipol interakcije. Elektronski spin koji se nalazi u gornjem Zeeman-ovom nivou može se dipolnom interakcijom vratiti u osnovno stanje ali s tim da drugi spin preuzme energiju pobude. Energija apsorbovana na ovaj način nekim spinom predaje se čitavom spinskom siste-

mu, a ograničava se vreme života spina u pobudjenom stanju (smanjuje se vreme relaksacije T_2) što prema izrazu (18) vodi povećanju širine linije. Ovo proširenje tumači se stvaranjem lokalnih polja H_{lok} , koje spin (magnetni dipol $\vec{\mu}$) stvara na mestima drugih spinova. Proširenje linije usled spin-spin interakcije moguće je umanjiti smanjivanjem koncentracije slobodnih radikala. Istog tipa je i dipolna interakcija nesparenog elektrona sa jezgrom. Ako su konstante hiperfine strukture male nastaje nerazlučena hiperfina struktura.

Drugi tip širenja linije ESR spektra je nehomogeno širenje koje može nastati zbog različitih statičkih magnetnih polja na različitim elektronima, što je uzrokovano nehomogenošću spoljašnjeg magnetnog polja (49).

Oblik linije ESR spektra

Oblik ESR linije odredjen je vrstom interakcije izmedju spinskog sistema i njegove okoline. U homogenim sistemima, gde je proces relaksacije kontrolisan spin-rešetka interakcijama, mikrotalasna energija koju sistem apsorbuje raspodeljuje se tako da je spinski sistem u termičkoj ravnoteži u rezonanciji i teorija predvidja linije Lorentzian-ovog oblika. U nehomogenom spinskom sistemu pojedini elektroni mogu biti u različitim lokalnim poljima tako da rezonancija nije istovremena za sve spinove. Ako su spin-spin interakcije lagane u poredjenju sa relaksacijama rešetke, spinski sistem neće dostići termičku ravnotežu i apsorpciona linija ima Gaussian-ov oblik. Evidentne su razlike izmedju ova dva oblika ESR linija. Lorentzian-ova linija je oštrija, uža je funkcija prema centru linije a krajevi sporije opadaju nego kog Gaussian-ove linije. Praktično ova dva oblika linija mogu se odmah razlikovati na osnovu "opadanja" krajeva linija (51). Eksperimentalni oblik linije je negde izmedju ova dva teorijska tipa. Tačan oblik linije odredjen je mehanizmima koji šire spektralnu liniju. Kombinacije homogenog i

nehomogenog mehanizma širenja često daju liniju koja ima oblik između ova dva teorijska tipa. Mehanizmi koji uzrokuju homogeno širenje linije su dipol-dipol interakcije između spinova, izmena spinova, interakcije spina sa magnetnim poljem, prelazi elektrona, spin-rešetka relaksacija, hemijske izmene i dinamičke dipolarne interakcije sa susednim elektronima ili jezgrima. Ovi mehanizmi daju linije Lorentzianovog oblika.

Nehomogeno širenje linije nastaje zbog razlike u statičkom magnetnom polju na različitim elektronima u uzorku, što može biti uzrokovano nehomogenošću spoljašnjeg magnetnog polja, nerazlučenom hiperfinom strukturom i statičkom anizotropnom dipolarnom i orbitalnom interakcijom kod haotično orijentisanih sistema. Ovi mehanizmi daju linije koje su Gaussianovog oblika.

Položaj linije ESR spektra

Položaj linije ESR spektra određuje g-vrednost, koja se naziva spektroskopski faktor cepanja i daje odnos veličine magnetnog momenta i orbitalnog momenta jednog elektrona. U slučaju slobodnog elektrona bez uticaja spoljašnjeg magnetnog ili električnog polja g-vrednost može biti izvedena direktno iz kvantnih brojeva L, S i J primenom Landé-ove formule:

$$g = 1 + \frac{J(J+1) + S(S+1) - L(L+1)}{2J(J+1)} \quad (19)$$

gde su:

- S - kvantni broj spinskog momenta,
- L - kvantni broj orbitalnog ugaonog momenta,
- J - kvantni broj ukupnog ugaonog momenta.

Za slobodan elektron $S = 1/2$, $L = 0$ i $J = 1/2$ i g-vrednost iznosi 2. Primenom relativističke teorije Dirac je izračunao tačnu g-vrednost, koja iznosi $g_e = 2,00232$.

Kod velikog broja organskih slobodnih radikala, gde se ne-sporeni elektron nalazi u delokalizovanim molekulskim orbitalama ili u orbitalama bez orbitalnog kretanja, g-vrednost ima vrednost blisku onoj za slobodan elektron.

g-Vrednost je nezavisna od pravca magnetnog polja jedino u izotropskim sistemima kao što su slobodni radikali u nisko viskoznim tečnostima ili neorganski radikali, gde se joni metala nalaze u sistemima visoke simetrije. U navedenim slučajevima prosečna vrednost orbitalnog ugaonog momenta jednaka je nuli.

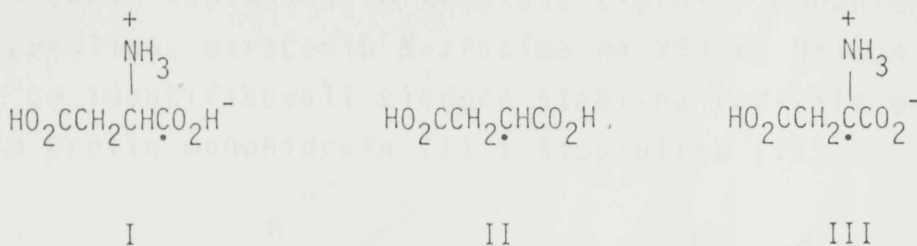
Orbitale elektrona nisu izotropne, ali su orijentisane prema susednom atomu. Ako je polje orijentisano u različitim pravcima, onda je pomeranje linija orbitala različito što uslovljava da je g-vrednost anizotropna. Ova veličina je tenzor drugoga reda, što znači da magnetni momenat zajedno sa spinom nije neophodno paralelan sa ukupnim momentom spina. Kada jedan kristal rotira u magnetnom polju, položaj linija spektra se može znatno pomeriti ako postoji jaka spin-orbitalna interakcija. U tečnostima, pomeranje linija je veoma brzo, tako da jedino prosečne g-vrednosti mogu biti detektovane. U takvim slučajevima g-vrednost može biti smatrana kao izotropna vrednost.

2.2.4. POJAVLJIVANJE SLOBODNIH RADIKALA U AMINOKISELINAMA

Renner i Reichelt (62) 1973. godine ispitujući mutagenost mleka u prahu ozračenog γ -zracima, su saopštili da γ -ozračeno mleko u prahu sadrži visoke koncentracije slobodnih radikala neispitanih osobina. Szent-Gyorgyi (63) saopštava da postoji veza između kancera i slobodnih radikala u proteinima. Imoto (54, 55) podržava mišljenje da postoji relacija između kancerogeneze i slobodnih radikala. Kosige i saradnici (56) 1978. godine saopštavaju da pirolizati L-lizina, L-triptofana i L-fenilalanina sadrže mutagene proizvode složenije strukture od slobodnih radikala.

Uchiyama i Uchiyama (57) ESR spektroskopskom metodom analize su utvrdili da zagrevanje i γ -ozračivanje prehrambenih proizvoda "Kamamboko" i "Japanese" (vrste peciva sa ribom) uzrokuju formiranje slobodnih radikala ($g = 2,0030 \sim 2,0049$), čiji intenzitet raste sa porastom temperature i doze γ -zraka. Veća koncentracija radikala je bila prisutna u proteinskim frakcijama "Kamamboko".

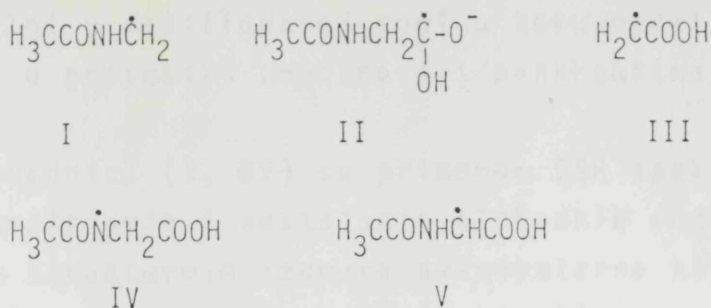
ESR ispitivanjem γ -ozračenih kristala L-asparaginske kiseline Ogawa i saradnici (58) su 1980. godine utvrdili da je inicijalni radikal I formiran ozračivanjem γ -zracima na 77 K, radikal II na 140 K, a radikal III na 200 K:



Istovremeno Fumio i saradnici (59) su saopštili da γ -ozračeni vodeni rastvori glicina i alanina u prisustvu spin trapa (nosača radikala) Me_3CNO_2 daju stabilne spin adukte. Glicin daje spin adukte $\text{Me}_3\text{N}(\text{O}\cdot)\text{CH}_2\text{CO}_2^-$ i $\text{Me}_3\text{N}(\text{O}\cdot)\text{CH}(\overset{+}{\text{NH}}_3)\text{CO}_2^-$ a alanin $\text{Me}_3\text{N}(\text{O}\cdot)\text{CHMeCO}_2^-$ i $\text{Me}_3\text{N}(\text{O}\cdot)\text{CH}_2\text{CH}(\overset{+}{\text{NH}}_3)\text{CO}_2^-$.

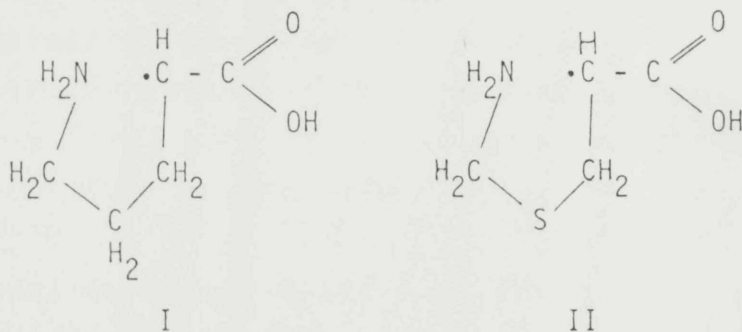
Miyagawa i saradnici (60), Piazza i saradnici (61), Mangiaracina (62), Saxebol i saradnici (63) i Chacko i saradnici (64), ESR i ENDOR ispitivanjem X-ozračenih kristala N-acetilglicina, su utvrdili da se na sobnoj temperaturi X-ozračivanjem N-acetilglicina stvara stabilan radikal $\text{CH}_3\text{CONH}\dot{\text{C}}\text{HCOOH}$.

ESR ispitivanjem X-ozračenih kristala N-acetilglicina na temperaturama od 170 do 250 K Sinclair i saradnici (65) su utvrdili da su inicijalni radikali I i II formirani ozračivanjem X-zracima na 181 K, radikali III i IV na 200 K a radikal V na 250 K:



Paul i Fischer (66) su utvrdili da se X-ozračivanjem kristala N-acetilglicina na 77 K formiraju sledeći stabilni radikali: $\text{H}_3\text{CCONH}\dot{\text{C}}\text{H}_2$ i $\text{H}_3\text{CCONHCH}_2\dot{\text{C}}(\text{OH})\text{O}^-$.

ESR i ENDOR ispitivanjem kristala L-prolin monohidrata i L-tioprolina, ozračenih X-zracima na 293 K, Nelson i Taylor (67) su identifikovali sledeće stabilne radikale u X-ozračenim prolin monohidratu (I) i tioprolinu (II):



Uchiyama i Uchiyama (68) su ispitivali osobine slobodnih radikala u pirolizatima kazeina i L-lizina. Autori su saopštili da ESR intenziteti, odnosno koncentracije slobodnih radikala ($g = 2,0042 \sim 2,0053$) rastu sa vremenom zagrevanja. U pirolizatu L-lizina (473 K; $1,2 \cdot 10^3$ s) frakcija nerastvor- na u vodi i organskim rastvaračima imala je najveću koncentraciju slobodnih radikala, oko 48% u odnosu na ukupnu. Vodeni ekstrakt je sadržavao oko 15,8% a metanolni ekstrakt oko 7,8% od ukupne koncentracije slobodnih radikala u inicijalnom pirolizatu L-lizina. U ekstraktu hloroforma nije registrovano prisustvo slobodnih radikala. Pirolizom kazeina

(423 K; $7,2 \cdot 10^3$ s) formirani su slobodni radikali koji su bili stabilni u destilovanoj vodi u toku nedelju dana i nepromenjeni u prisustvu pepsina ili pankreatina.

Milić i saradnici (7, 69) su primenom ESR spektrometrije ispitali nastajanje i nestajanje slobodnih radikala u pirolizatima strukturnih izomera aminobuterne kiseline. Zagrevanjem 2-, 3- i 4-aminobuterne kiseline u atmosferi helijuma, na 473, 573, 673, 773 i 873 K, tokom reakcionog perioda od $0,3 \cdot 10^3$ do $0,4 \cdot 10^3$ s, i frakcionisanjem ukupnih proizvoda pirolize sa vodom, etanolom i n-heksanom, autori su utvrdili, na osnovu oblika i intenziteta linija ESR spektara ispitivanih uzoraka, da položaj amino grupe u molekulu aminokiseline utiče na put formiranja slobodnih radikala.

2.3.0. TERMIJSKA ANALIZA

Termička razgradnja čvrstih materijala je vrlo složen proces, praćen razgradnjom jednih i formiranjem drugih jedinjenja, destrukcijom početne kristalne rešetke, formiranjem novih centara kristalizacije i njihovim rastom, adsorpcijom i desorpcijom gasnih proizvoda, prenosom toplote i drugim elementarnim procesima. Ovako složene kinetičke procese je moguće proučavati termijskom analizom.

Prvi radovi koji se mogu svrstati u oblast termijske analize su radovi Rudberg-a (70), koji je 1829. godine opisao metod za odredjivanje krive hladjenja u zavisnosti od temperature i vremena. Prva primena termijske analize za odredjivanje kinetičkih parametara, odnosno brzine hemijske reakcije, datira verovatno iz 1911. godine i pripisuje se Bruylants-u (71), koji je izučavao izomerizaciju butilbromida u tercijarni butilbromid.

Nagli razvoj termijske tehnike i istraživanja Kujirai-a i Akahira-e (72, 73) uticali su na brz razvoj neizotermskih metoda termijske analize.

Termijska analiza se zasniva na posmatranju i odredjivanju prirode promena koje se dešavaju na ispitivanom materijalu, a funkcija su temperature. U zavisnosti od načina kojim se promena meri, razradjene su posebne tehnike analize, i to termogravimetrijska analiza (TGA), diferencijalna skening kalorimetrija (DSC) i druge (71, 74, 75, 76).

Termogravimetrijskom analizom prati se promena mase uzorka u zavisnosti od temperature, a diferencijalnom skening kalorimetrijom prati se promena toplotnog sadržaja (entalpija) uzorka u zavisnosti od temperature.

Termogravimetrijska analiza se primenjuje za utvrđivanje hemijskog sastava uzorka, za praćenje termičke stabilnosti uzorka, za izračunavanje kinetičkih parametara različitih hemijskih procesa, kao i praćenje termičke razgradnje različitih materijala.

Diferencijalna skening kalorimetrijska analiza se koristi za određivanje faznog prelaza materijala, tačke ostakljavanja i stepena čistoće materijala, zatim za određivanje toplote reakcije, toplote kristalizacije, toplote stvaranja, toplote isparavanja itd. DSC analiza je posebno pogodna za izračunavanje kinetičkih parametara različitih hemijskih reakcija.

2.3.1. TERMIJSKA ANALIZA AMINOKISELINA

Termijska analiza je tek u najnovije vreme primenjena za ispitivanje termičke stabilnosti proteina i aminokiselina. Bernal i Jelen (74) su, koristeći DSC, odredili termičku stabilnost proteina surutke. Wu i saradnici (75) su pomoću DSC analize ispitivali uticaj temperature na smešu skroba i proteina ribe i utvrdili fizičko-hemijske promene polimernog sistema, odnosno denaturaciju proteina i gelatizaciju skroba. Milić i saradnici (7) su saopštili, na osnovu DSC i GC analiza strukturnih izomera aminobuterne kiseline, da struktura aminokiselina, u uslovima pirolize, bitno utiče na tok reakcija dekarboksilacije, deaminacije i kondenzacije.

2.3.2. ODREĐJIVANJE KINETIČKIH PARAMETARA REAKCIJE PIROLIZE AMINOKISELINA TERMIJSKOM ANALIZOM

Hemijska kinetika se bavi ispitivanjem brzina i mehanizma hemijskih reakcija. Ova ispitivanja su od velikog značaja pošto se njima dolazi do podataka o prirodi sistema, načinu uspostavljanja i raskidanja veza, stabilnosti, energiji, strukturi složenijih jedinjenja, prenosu mase i toplote (76).

Danas je razvijeno više metoda za interpretaciju podataka dobijenih termijskom analizom. Primena ovih metoda je ograničena tipom termijske analize i prirodom materijala koji se ispituje (77).

Metode koje mogu da se koriste za interpretaciju podataka DSC i TGA pirolizata aminokiselina, sa ciljem odredjivanja bitnih kinetičkih parametara, su:

- metoda Kissinger-a,
- metoda Freeman-a i Carroll-a, i
- metoda Horowitz-a i Metzger-a.

Metoda Kissinger-a

Ovu metodu primenili su Perkin i saradnici (78) za odredjivanje kinetičkih parametara reakcije termičke razgradnje fenolnih smola i MacCallum (79) za odredjivanje kinetike sinteze polimetilakrilata, polivinilacetata i l-butilacetata.

Metoda Kissinger-a (80) pogodna je za odredjivanje energije aktivacije, Arrhenius-ove konstante i konstante brzine reakcije a spada u metode koje se zasnivaju na ispitivanju uzoraka u dinamičkim uslovima rada.

Da bi se izvršila interpretacija podataka termijske analize Kissinger-ovom metodom, potrebno je snimiti DSC krive uzoraka na nekoliko različitih brzina zagrevanja i pratiti zavisnost brzine zagrevanja, β , i temperature, T, u obliku:

$$\log (\beta / T^2) = f(1/T) \quad (20)$$

Najčešće je ova zavisnost linearna.

Izračunavanje vrednosti energije aktivacije zasnovana je na relaciji:

$$-\frac{E}{R} = \frac{d(\log \beta/T^2)}{d(1/T)} \quad (21)$$

gde je:

$$\frac{d(\log \beta/T^2)}{d(1/T)} - \text{nagib prave koja je prikazana relacijom (20),}$$

R - gasna konstanta (8,314 J/mol K).

Nagib prave se odredjuje pomoću niza vrednosti temperatura pika, T, odnosno 1/T, očitanih sa krivih snimljenih odabranim brzinama zagrevanja.

Arrhenius-ova konstanta se odredjuje na osnovu izraza:

$$A = \frac{E \cdot e^{E/RT}}{RT^2} \quad |\text{min}^{-1}| \quad (22)$$

korišćenjem poznate ili prethodno izračunate energije aktivacije. Sledeći korak predstavlja izračunavanje konstante brzine reakcije:

$$k = A \cdot e^{-E/RT} \quad |\text{min}^{-1}| \quad (23)$$

Metoda Freeman-a i Carroll-a

Freeman-Carroll-ovu metodu primenili su Fond i Chen (82,82) za odredjivanje kinetičkih parametara pirolize ugljena i amonijumcijanata.

Ova metoda se koristi za odredjivanje energije aktivacije i reda reakcije (71, 83, 84). Može da se primeni na krive snimljene i na DSC i na TGA uredjaju. Osnovu ove metode čini relacija:

$$\frac{\Delta \log (d\alpha/dt)}{\Delta \log (1-\alpha)} = n - \frac{E}{2,303 R} \cdot \frac{\Delta 1/T}{\Delta \log (1-\alpha)} \quad (24)$$

gde je:

n - red reakcije,

α - konverzija,

Δ - razlika logaritama dve susedne tačke na krivoj.

Za obradu podataka sa DSC krive, s obzirom da se prati promena toplotnog sadržaja uzorka, dH/dt , Freeman-Carroll-ova jednačina (24), u ovom slučaju glasi:

$$\frac{\Delta \log dH/dt}{\Delta \log (H_T - H)} = \frac{-E}{2,303 R} \cdot \frac{\Delta 1/T}{\Delta \log (H_T - H)} + n \quad (25)$$

gde je:

dH_T/dt - ukupna promena toplotnog sadržaja uzorka,

dH/dt - promena toplotnog sadržaja uzorka na temperaturi T .

Freeman-Carroll-ova metoda primenjena na TGA krivu predstavljena je u sledećem obliku:

$$\frac{\Delta \log dW/dt}{\Delta \log W_r} = \frac{-E}{2,303 R} \cdot \frac{\Delta 1/T}{\Delta \log W_r} + n \quad (26)$$

gde je:

$W_r = W_c - W$, pri čemu je:

W_c - maksimalni gubitak mase uzorka,

W - gubitak mase na temperaturi T ,

$\frac{dW}{dT}$ - promena mase sa vremenom, prikazana na DTG krivoj.

Relacije (25) i (26) predstavljaju jednačine prave sa nagibom $-E/2,303 R$ i odsečkom na ordinati, jednakom redu reakcije.

Metoda Horowitz-a i Metzger-a

Ova metoda daje mogućnost određivanja kinetičkih parametara interpretacijom podataka sa TGA krive. Autori su pokazali (85) da termička razgradnja čvrstih supstanci u određenom vremenskom intervalu ($T - T_s$) ide po sledećoj relaciji:

$$1 - C^{1-n} = (1 - n) \cdot e^{-E \theta / RT_s^2} \quad (27)$$

a za $n = 1$ dobija se:

$$\ln (1/C) = e^{-E \theta / RT_s^2} \quad (28)$$

gde je:

C - koncentracija čvrste supstance u nekoj tački krive izražena u molskim frakcijama,

T_s - temperatura maksimuma razgradnje,

$\theta = T - T_s$.

Ova metoda je najviše primenjivana u slučajevima reakcije pirolize organskih jedinjenja (81, 82, 85, 86).

3.1.0. IZBOR AMINOKISELINA

Da bi se dobile informacije o uticaju temperature, položaja metil, odnosno amino grupe na reakcije stvaranja slobodnih radikala i toplotnog razlaganja monoaminomonokarbonskih kiselina, odabrane su sledeće aminokiseline opšte formule $C_6H_{13}NO_2$:

- DL - norleucin,
- DL - leucin,
- DL - izoleucin i
- DL - ϵ - aminokapronska kiselina.

Uticaj temperature, broja i položaja karboksilnih, odnosno amino grupa na stvaranje slobodnih radikala i reakcije toplotnog razlaganja aminokiselina, praćen je kod sledećih monoaminodikarbonskih i diaminomonokarbonskih kiselina:

- DL - asparaginska kiselina,
- DL - glutaminska kiselina i
- DL - lizin.

Reagenski i hemikalije, upotrebljeni u ovom radu, bili su analitičke čistoće. Upotrebljene aminokiseline su dobivene od Cyclo Chemicals Division, Travenol Inc., New York. Ostale hemikalije su bile proizvodnje Merck, Darmstadt.

3.2.0. PIROLIZA AMINOKISELINA

Pirolizati DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokaprinske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina su dobijeni zagrevanjem $5 \cdot 10^{-3}$ mola svake od aminokiselina, u kvarcnoj tubi, na 473, 523, 573, 623, 673, 723, 773, 823 i 873 K, tokom reakcionog perioda od $1,2 \cdot 10^2$ do $1,08 \cdot 10^4$ s, pri normalnom pritisku od 101,3 KPa i pri pritisku od $1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa (u vakuumu).

ESR spektroskopska analiza pirolizata aminokiselina radjena je na sobnoj temperaturi od 293 K, nakon $6,00 \cdot 10^2$, $4,32 \cdot 10^4$ i $2,16 \cdot 10^5$ s od prestanka reakcije pirolize.

3.3.0. HIDROLIZA PIROLIZATA AMINOKISELINA

Hidroliza pirolizata DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokaprinske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina, dobijenih zagrevanjem $5 \cdot 10^{-3}$ mola svake od aminokiseline na temperaturi od 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, ispranih sa destilovanom vodom na vodenom kupatilu na 358 K do potpunog uklanjanja eventualno prisutnih slobodnih aminokiselina, izvršena je vodenim rastvorom HCl (6 mola/dm^3) na temperaturi od 378 K u toku $8,64 \cdot 10^4$ s.

Hidrolizati pirolizata aminokiselina su analizirani hromatografijom na tankom sloju. Aminokiseline koje su poslužile kao standardi su rastvorene u vodenom rastvoru HCl, koncentracije $0,1 \text{ mola/dm}^3$. Koncentracija svake od aminokiselina u navedenom rastvoru je iznosila $2,0 \cdot 10^{-2} \text{ mola/dm}^3$.

3.4.0. UPOTREBLJENE METODE U EKSPERIMENTALNOM RADU

3.4.1. ESR SPEKTROSKOPIJA

ESR spektralna odredjivanja slobodnih radikala pirolizata aminokiselina vršena su ESR spektrometrom Bruker 200 D, sa sledećim karakteristikama:

- ukupan opseg merenja:	10 mT
- vremenska konstanta:	1,0 s
- amplituda modulacije:	$1,0 \cdot 10^{-1}$ mT
- snaga mikrotalasnog područja:	16 mV
- fiksirano polje podešavanja:	346 mT
- vremenski opseg merenja:	500 s
- frekvencija modulacije:	100 KHz
- frekvencija mikrotalasa:	9,515 GHz
- temperatura merenja:	293 K

Osnovne karakteristike ESR spektara definisane su g-vrednostima, širinom linije, ΔH_{p-p} , intenzitetom linije, h_{p-p} , integralnim intenzitetom, I, i oblikom linije spektra.

g-Vrednosti su odredjene relativnim merenjima pomaka polja ΔH . Kao interni standard pri ovim analizama korišćen je 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), čija g-vrednost iznosi $g_s = 2,0036 \pm 0,0002$ a ne menja se u opsegu frekvencija od 9 do 36 GHz.

Fino sprášeni kristali DPPH su osušeni na 353 K u toku $7,2 \cdot 10^3$ s, zatim je analizirana priroda slobodnih radikala, pod istim rezonantnim uslovima, uzorka, DPPH i uzorka, odnosno DPPH. Iz dobijenih spektara odredjeno je mikrotalasnorezonantno polje H_0 za DPPH i pomak polja ΔH , koji predstavlja pomak polja u rezonanciji za uzorak i DPPH. g-Vrednost uzorka (g_u) izračunata je u odnosu na poznatu g-vrednost DPPH (g_s) sledećim izrazom:

$$g_u = g_s (1 \pm \Delta H/H_0) \quad (29)$$

U jednačini (29) ΔH ima negativnu, odnosno pozitivnu, vrednost kada se mikrotalasno rezonantno polje nalazi na nižim, odnosno višim vrednostima polja u odnosu na polje DPPH.

Širina linije ESR spektra, ΔH_{p-p} , određena je kao razlika (u mT) između maksimuma i minimuma na derivacionom spektru i predstavlja širinu apsorpcione krive na mestu gde je maksimalni nagib.

Intenzitet linije, h_{p-p} , određen je visinom minimalne i maksimalne tačke na spektru. Integralni intenzitet spektra definisan je sledećim izrazom:

$$I = k \cdot h_{p-p} (\Delta H_{p-p})^2 \quad (30)$$

gde je:

- k - konstanta proporcionalnosti, čija vrednost zavisi od prirode paramagnetne materije,
- h_{p-p} - visina signala,
- ΔH_{p-p} - širina signala.

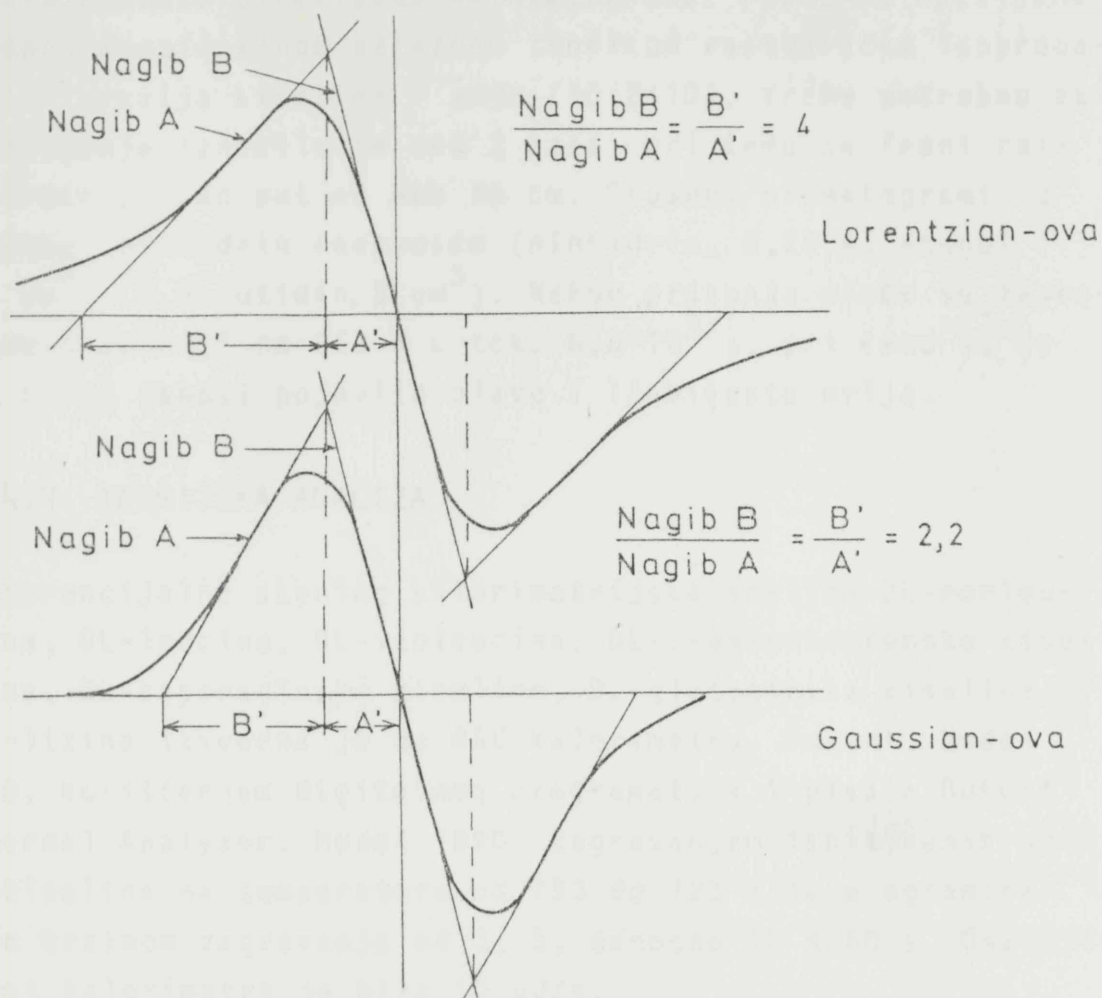
Da bi se izbegao uticaj konstante proporcionalnosti k , u izrazu (30), određene su relativne vrednosti integralnih intenziteta. Relativne vrednosti integralnih intenziteta se izvode postupkom normiranja, prema sledećem izrazu:

$$N_I = \frac{I_T}{I_{min}} = \frac{(h_{p-p})_T \cdot (\Delta H_{p-p})_T^2}{(h_{p-p})_{min} \cdot (\Delta H_{p-p})_{min}^2} \quad (31)$$

gde je:

- N_I - normirana vrednost integralnog intenziteta,
- I_T - integralni intenzitet signala na temperaturi T ,
- I_{min} - integralni intenzitet signala na najnižoj temperaturi T_{min} .

Oblik linije ESR spektra odredjen je metodom "nagiba" (50) prikazanom na slici 7.



Slika 7. Odredjivanje oblika ESR linije metodom "nagiba" (50).

3.4.2. INFRACRVENA (IR) SPEKTROSKOPIJA

IR spektri pirolizata ispitivanih aminokiselina dobijeni su KBr disk tehnikom na Unicam SP 1100 Infrared Spectrophotometer-u, Unicam Lab.Inc., Cambridge.

3.4.3. HROMATOGRAFIJA NA TANKOM SLOJU

Kvalitativno odredjivanje aminokiselina, prisutnih u hidrolizatima pirolizata aminokiselina, radjeno je na tankom sloju mikrokristalinične celuloze (10 g mikrokristalinične ce-

luloze u 50 cm³ destilovane vode). Na tanak sloj naneto je 3 μdm³ rastvora standarda aminokiseline (2,0 x 10⁻² mol/dm³) i hidrolizata pirolizata aminokiselina. Ploče su razvijene jednodimenzionalnom uzlaznom tehnikom rastvaračem izopropanol - mravlja kiselina - voda (40:2:10). Vreme potrebno za razvijanje iznosilo je oko 2 časa, pri čemu je front rastvarača prešao put od oko 15 cm. Osušeni hromatogrami su prskani ninhidrin reagensom (ninhidrin, 0,25 g, etanol 95 cm³ i 2,4-lutidin, 5 cm³). Nakon prskanja ploče su zagrevane u sušnici na 353 K u toku 6,0·10² s, pri čemu su se na beloj osnovi pojavile plave i ljubičaste mrlje.

3.4.4. TERMIJSKA ANALIZA

Diferencijalna skening kalorimetrijska analiza DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL-ε-aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina izvedena je na DSC kalorimetru, DuPont, Model 910, korišćenjem digitalnog programatora i pisača DuPont Thermal Analyzer, Model 1090, zagrevanjem ispitivanih aminokiselina na temperaturu od 293 do 723 K sa programiranom brzinom zagrevanja od 3, 5, odnosno 10 K/60 s. Osetljivost kalorimetra je bila 10 μJ/s.

Termogravimetrijska merenja svake od navedenih aminokiselina izvedena su na TGA DuPont, Model 951, uz upotrebu digitalnog programatora i pisača DuPont Thermal Analyzer, Model 1090, na temperaturama od 293 do 723 K sa programiranom brzinom zagrevanja od 10 K/60 s. Osetljivost termovage je bila 1 μg.

3.4.5. PIROLIZA - GASNA HROMATOGRAFIJA

Piroliza - gasno-hromatografska analiza DL-asparaginske, DL-glutaminske i DL- ϵ -aminokaprinske kiseline radjena je direktnim sistemom (on line) izmedju Chemical Data System (CDS) Pyroprobe 150 i gasnog hromatografa Hewlett Packard 5840, sa kompjuterskim izvodom.

Piroliza aminokiselina radjena je pod sledećim uslovima:

- količina uzorka: $2,0 \cdot 10^{-5}$ mola
- start/program: 373 K; $7,2 \cdot 10^3$ s; izotermno;
- temperatura pirolize: 473, 623, 773 odnosno 873 K;
- vreme dostizanja temperature pirolize (ramp): 20 s;
- vreme pirolize: $1,2 \cdot 10^2$ s.

Hromatografsko razdvajanje pirolizata aminokiselina vršeno je gasnim hromatografom sa sledećim karakteristikama:

- kolona: 2,1336 m \cdot 3,17 mm, proizvedena od nerđajućeg čelika,
- punjenje kolone: OV-17, 3% na Chromosorb-u W, prečnika čestica od 0,15 do 0,18 mm,
- radna temperatura/program: 243 K; $4,2 \cdot 10^2$ s, izotermno
- brzina zagrevanja: 4K/60 s,
- krajnja temperatura/program: 533 K; $3,0 \cdot 10^2$ s; izotermno,
- gas nosač: helijum,
- protok gasa nosača: $30 \text{ cm}^3/60 \text{ s}$,
- detektor: plameno jonizacioni (FID).

RASTAVANJE NERAZNOVNOVAJNEGA PIRROLIZIRANOG AMINOKISELINA

1.1. ELEKTRONSKI SPIN REZONANTNA SPEKTROSKOPIJA ANALIZA ELEKTRONSKIH RADIKALA IZOLIRANA AMINOKISELINA

Fenolna radikalna slobodna radikalna (SR) je poznata vrsta vrsta, koja nose na radikalnim, unutrašnjim orbitalama i na vanjskim orbitalama elektrona koji sadrže nesparene elektrone. Oni su poznati kao radikalni vrsta, koja su vrlo reaktivna i selektivna u reagovanju sa drugim i molekularnim vrstama, uslovljena su svojom strukturom i karakteristikama svoje aktivne grupe. Sve ove interakcije elektrona sa drugim vrstama, kao i grupama, mogu biti vrlo važne u određivanju reakcije radikalne vrste. U ovom radu, opisane su metode i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta, kao i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta, kao i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta.

U ovom radu, opisane su metode i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta, kao i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta, kao i procedure za određivanje elektronske strukture radikalnih vrsta.

4.0.0. REZULTATI I DISKUSIJA

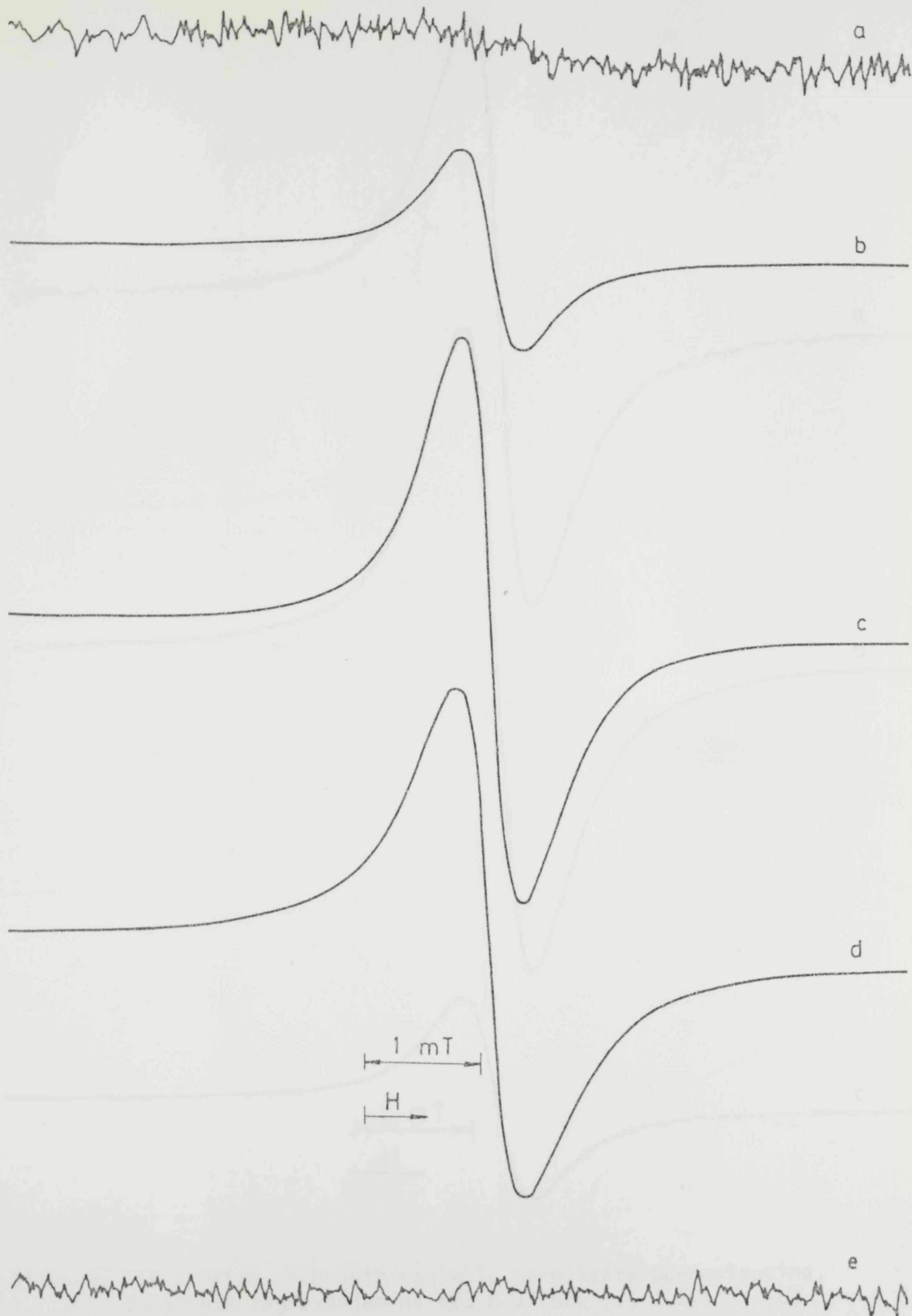
Rezultati i diskusija su prikazani u nastavku ovog rada.

4.1.0. NASTAJANJE SLOBODNIH RADIKALA PIROLIZOM AMINOKISELINA

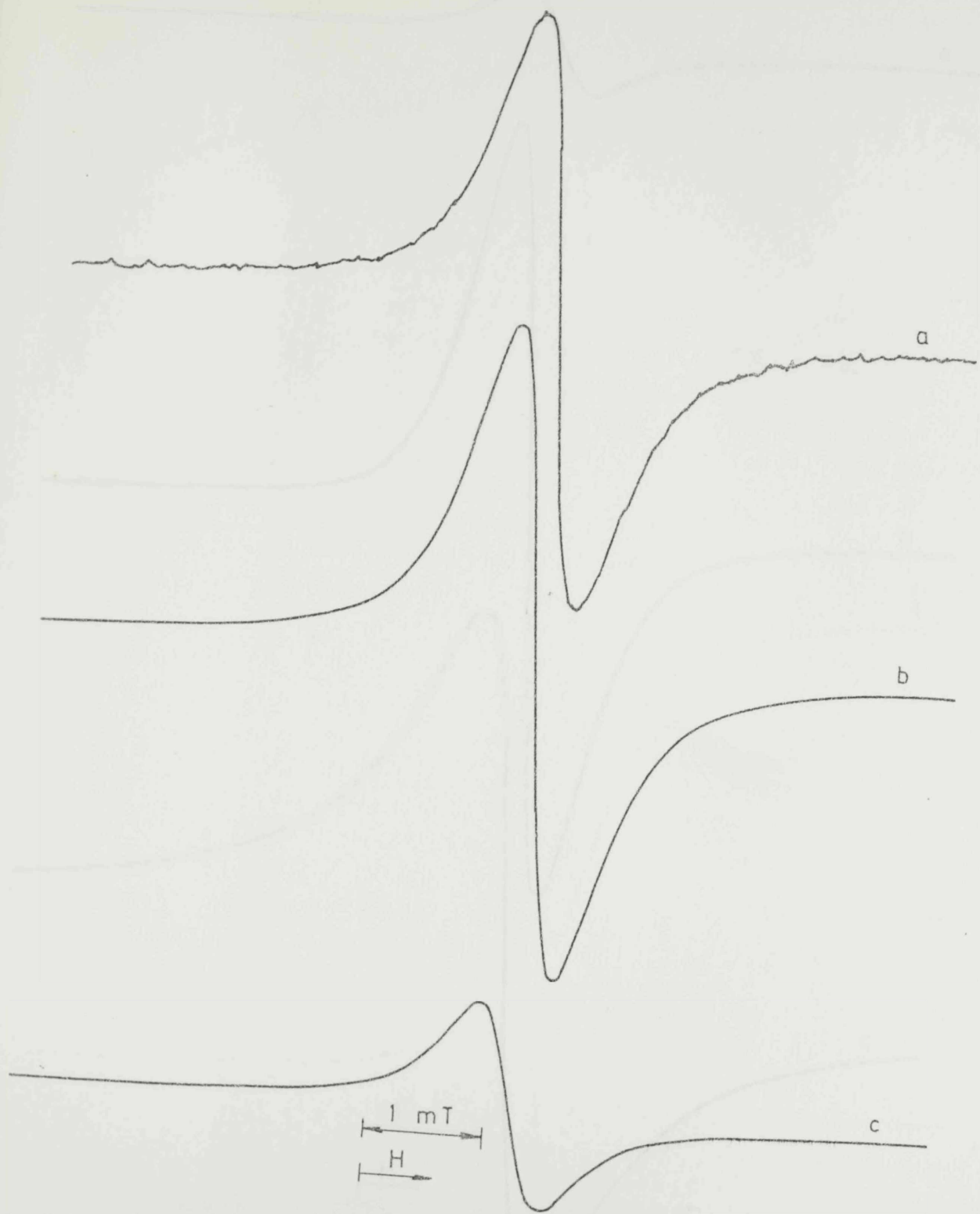
4.1.1. ELEKTRON SPIN REZONANTNA SPEKTROSKOPSKA ANALIZA SLOBODNIH RADIKALA PIROLIZATA AMINOKISELINA

Fenomen elektron spin rezonancije (ESR) je posledica istih vrednosti mase, naelektrisanja, unutrašnjeg orbitalnog i magnetnog momenta elektrona koji sadrže nesparene spinove, što uslovljava njihovu visokopotencijalnu osetljivost i selektivnost u reagovanju sa atomima i molekulima, koja je uslovljena hemijskom strukturom i karakteristikama veze atoma i atomskih grupa. Ovakva interakcija elektrona sa atomima i atomskim grupama omogućuje elektron spin rezonanciji primenu kod odredjivanja hemijske kinetike oksido-redukcionih procesa, zatim kod ispitivanja talasnih funkcija nesparenog elektrona i proučavanja prirode slobodnih radikala. S obzirom da reakcije toplotnog razlaganja organskih jedinjenja obuhvataju i reakcije slobodnih radikala, ESR spektroskopija je odabrana za proučavanje procesa pirolize aminokiselina.

Upotrebom ESR tehnike praćena je reakcija nastajanja i nestajanja paramagnetičnih struktura, slobodnih radikala u aminokiselinama: DL-norleucin, DL-leucin, DL-izoleucin, DL- ϵ -aminokapronska kiselina, DL-asparaginska kiselina, DL-glutaminska kiselina i DL-lizin, pod dejstvom toplotne energije. Na slikama 8-21 prikazani su ESR spektri slobodnih radikala formiranih pirolizom ispitivanih monoaminomonokarbonskih, monoaminodikarbonskih i diaminomonokarbonskih kiselina.

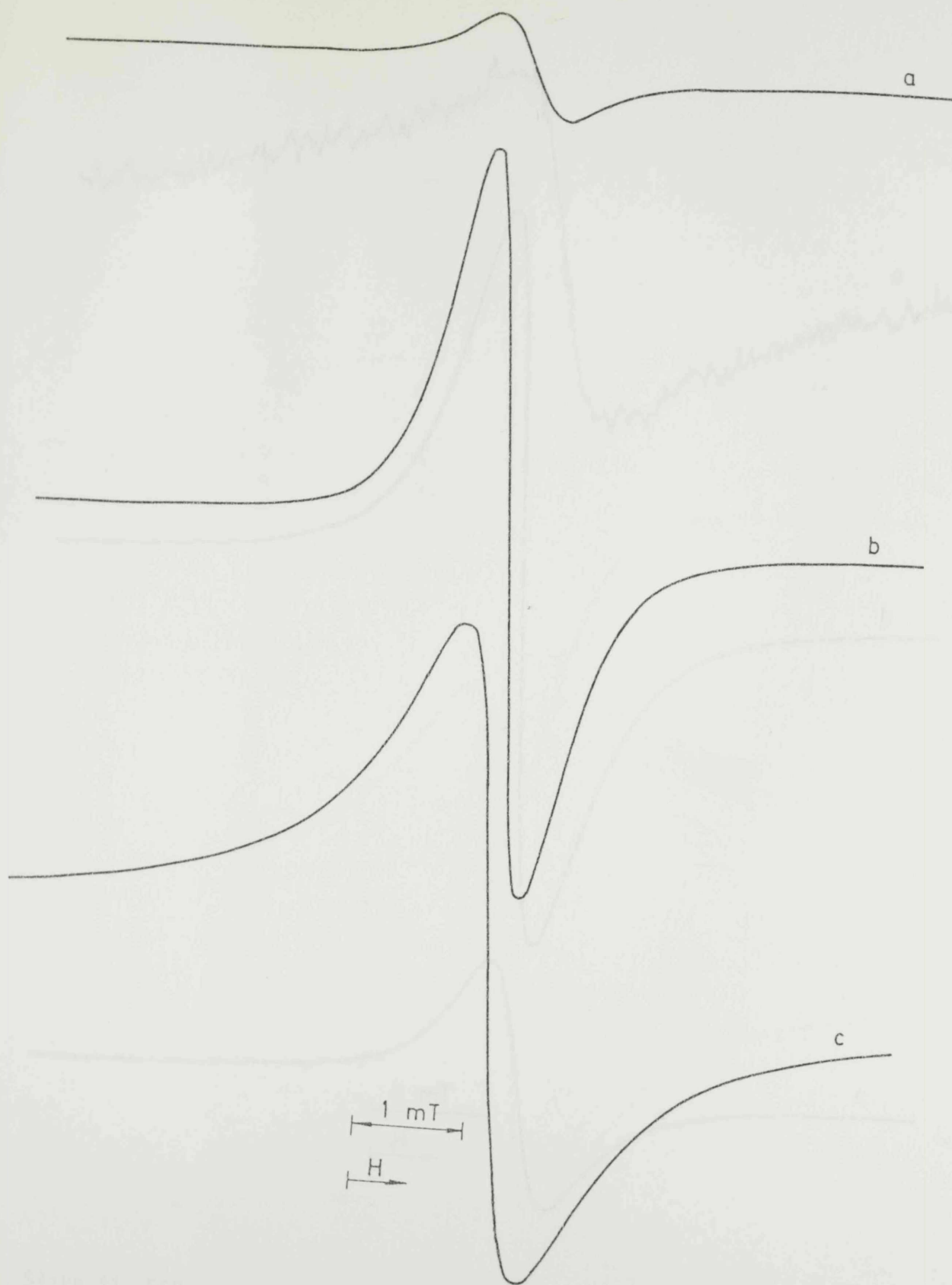


Slika 8. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-norleucina, dobijenih zagrevanjem na (a) 473 K, (b) 523 K, (c) 623 K, (d) 673 K, odnosno (e) 873 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.

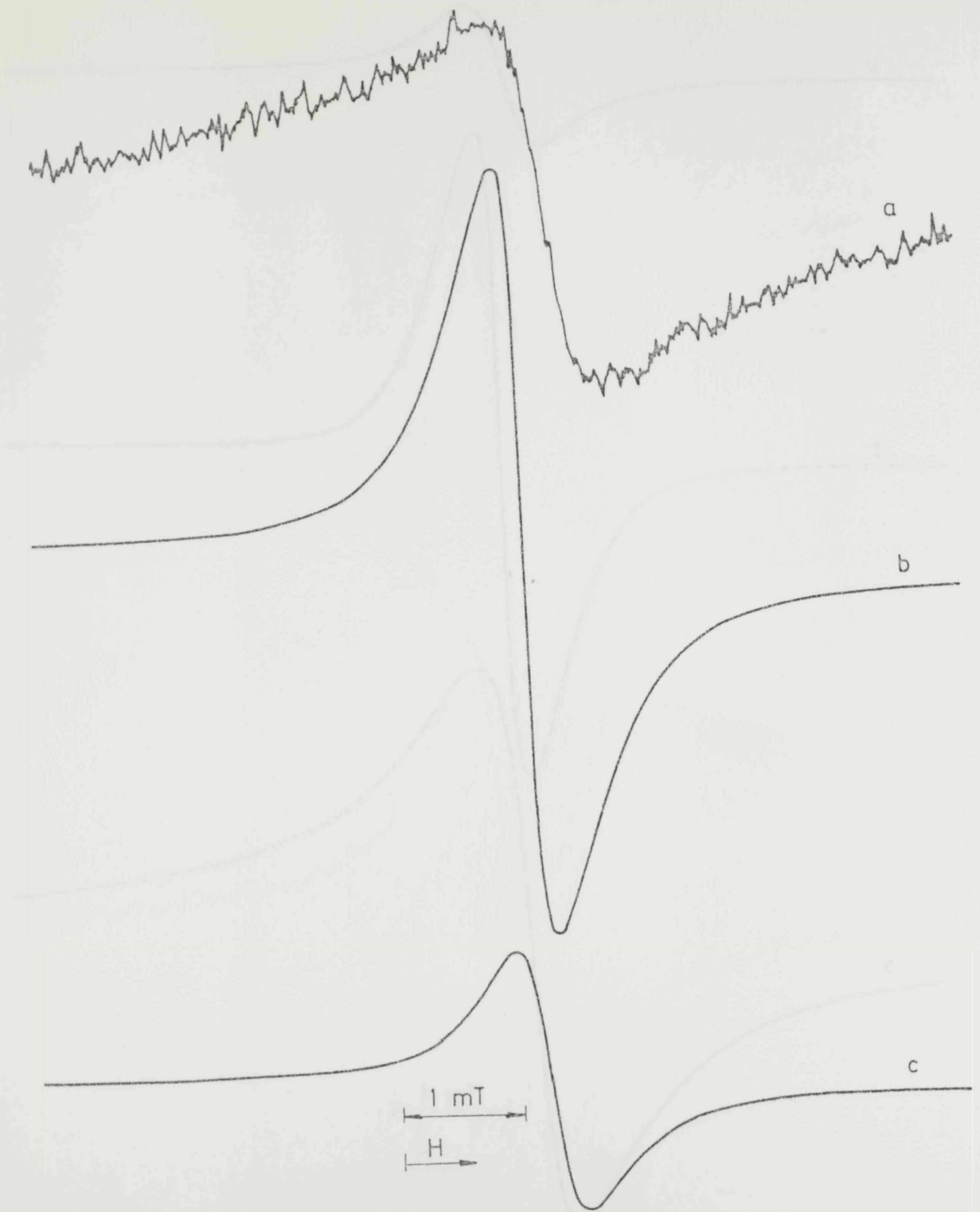


Slika 9. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-norleucina, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $1,2 \cdot 10^3$, (b) $2,4 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.

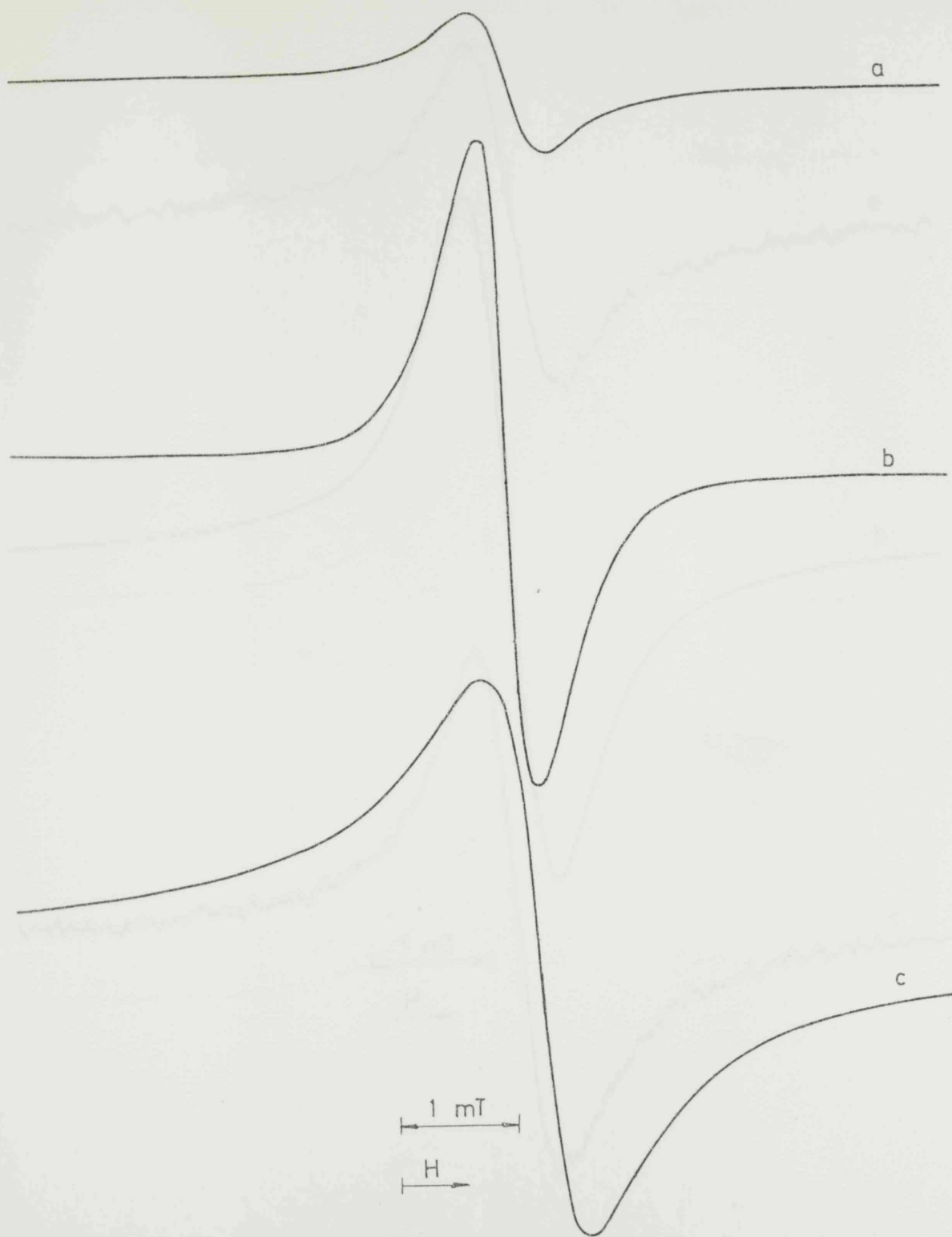
Slika 10. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-norleucina, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $1,2 \cdot 10^3$, (b) $2,4 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.



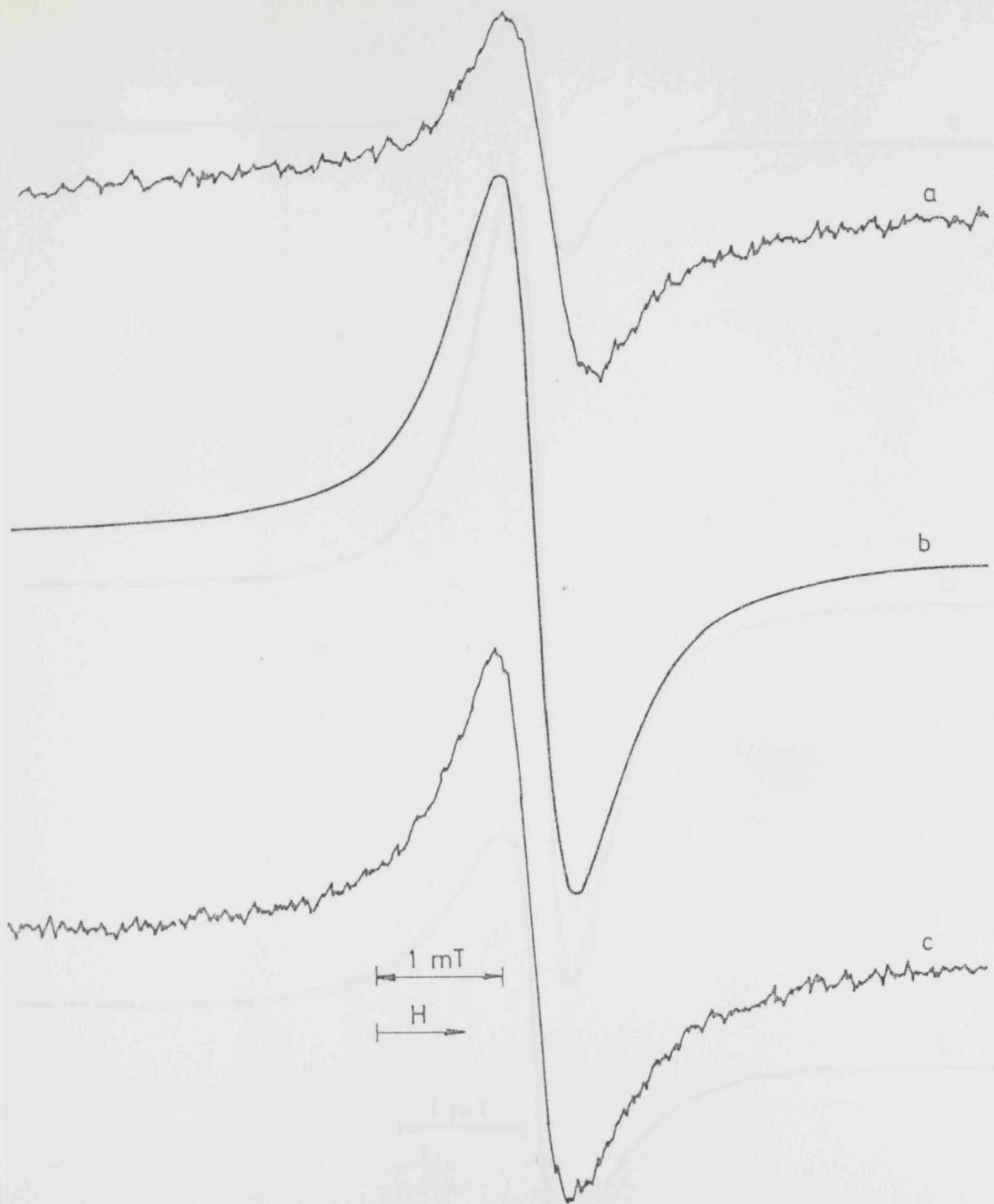
Slika 10. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-leucina, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 573 K, odnosno (c) 723 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



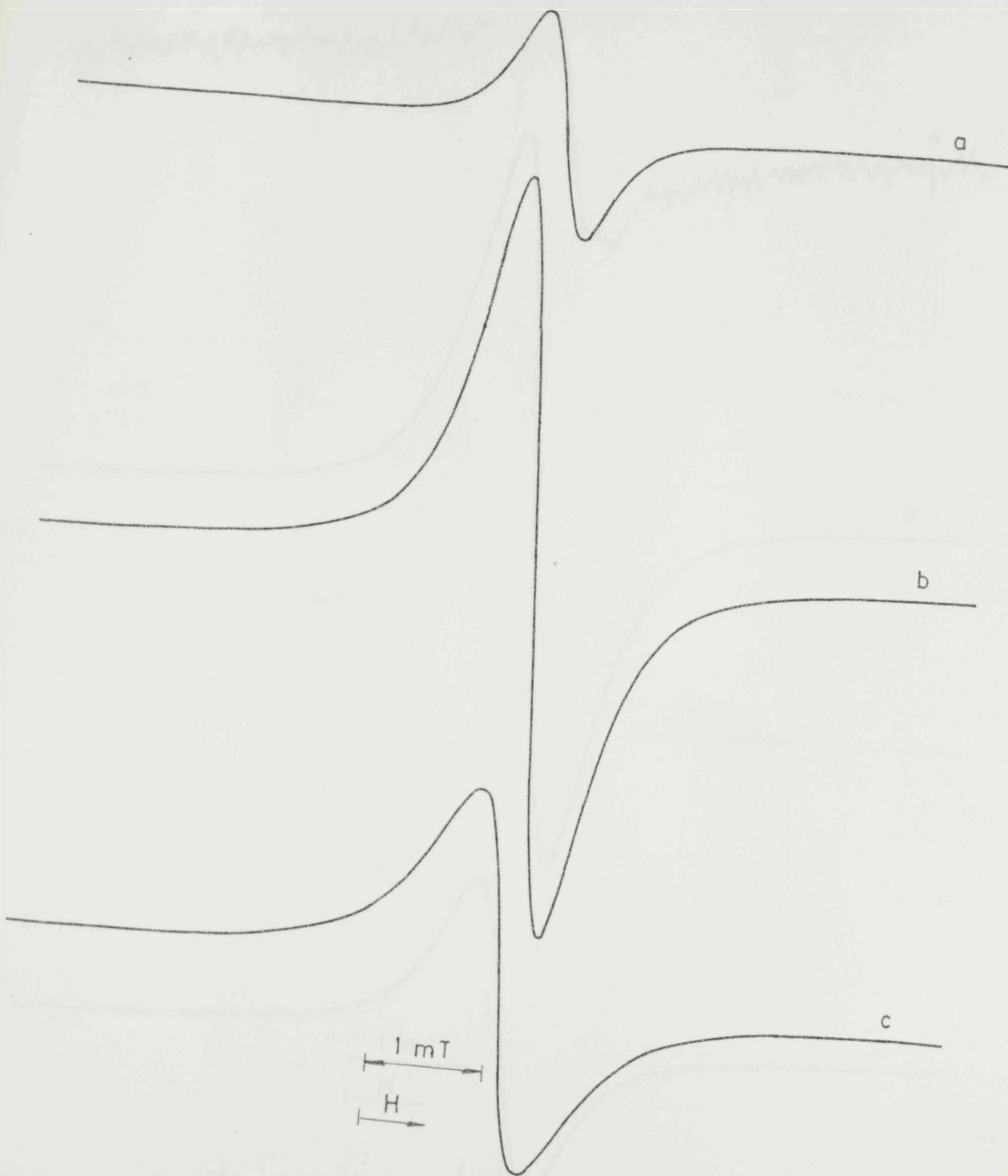
Slika 11. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-leucina, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $7,2 \cdot 10^2$, (b) $3,0 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.



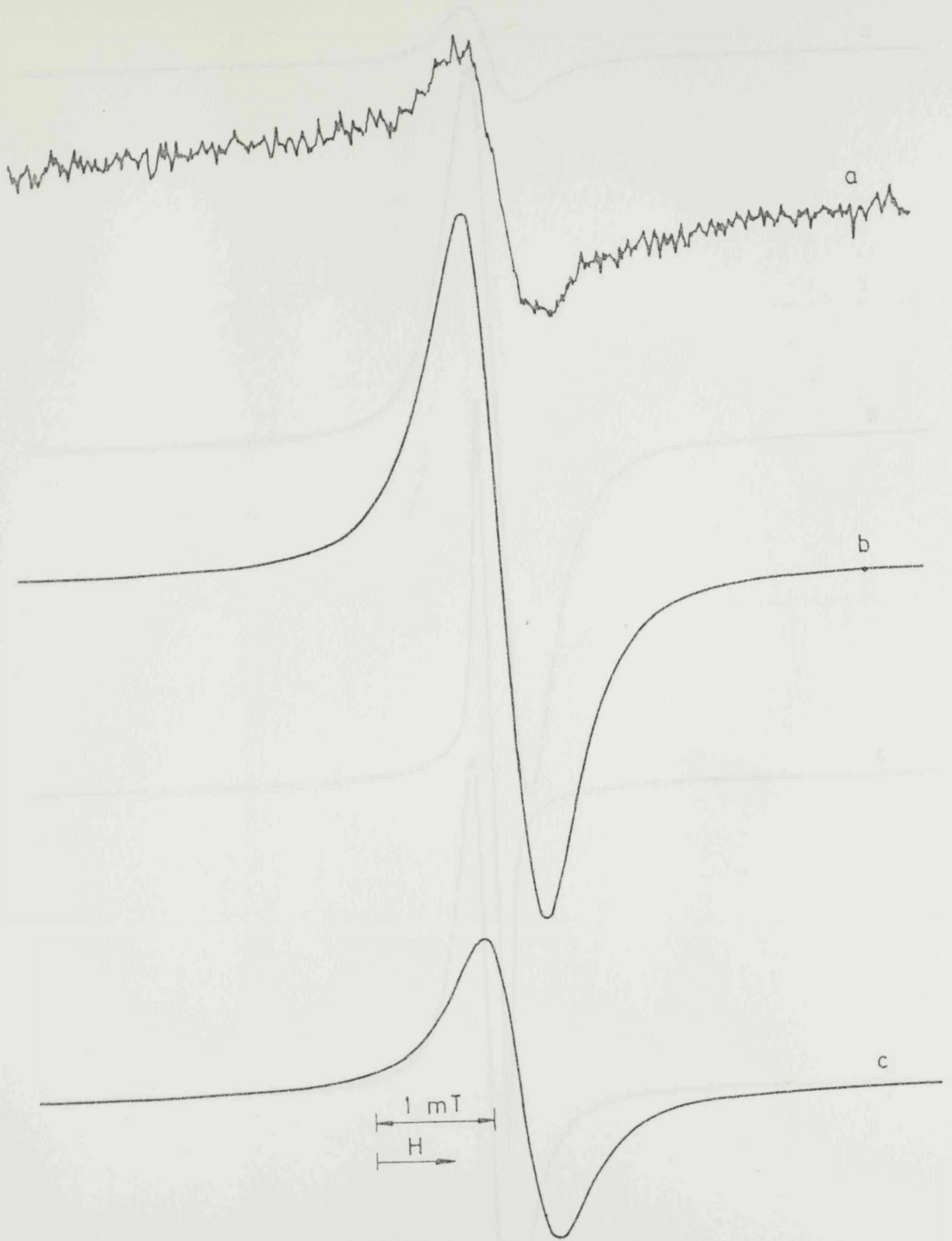
Slika 12. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-izoleucina, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 573 K, odnosno (c) 723 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



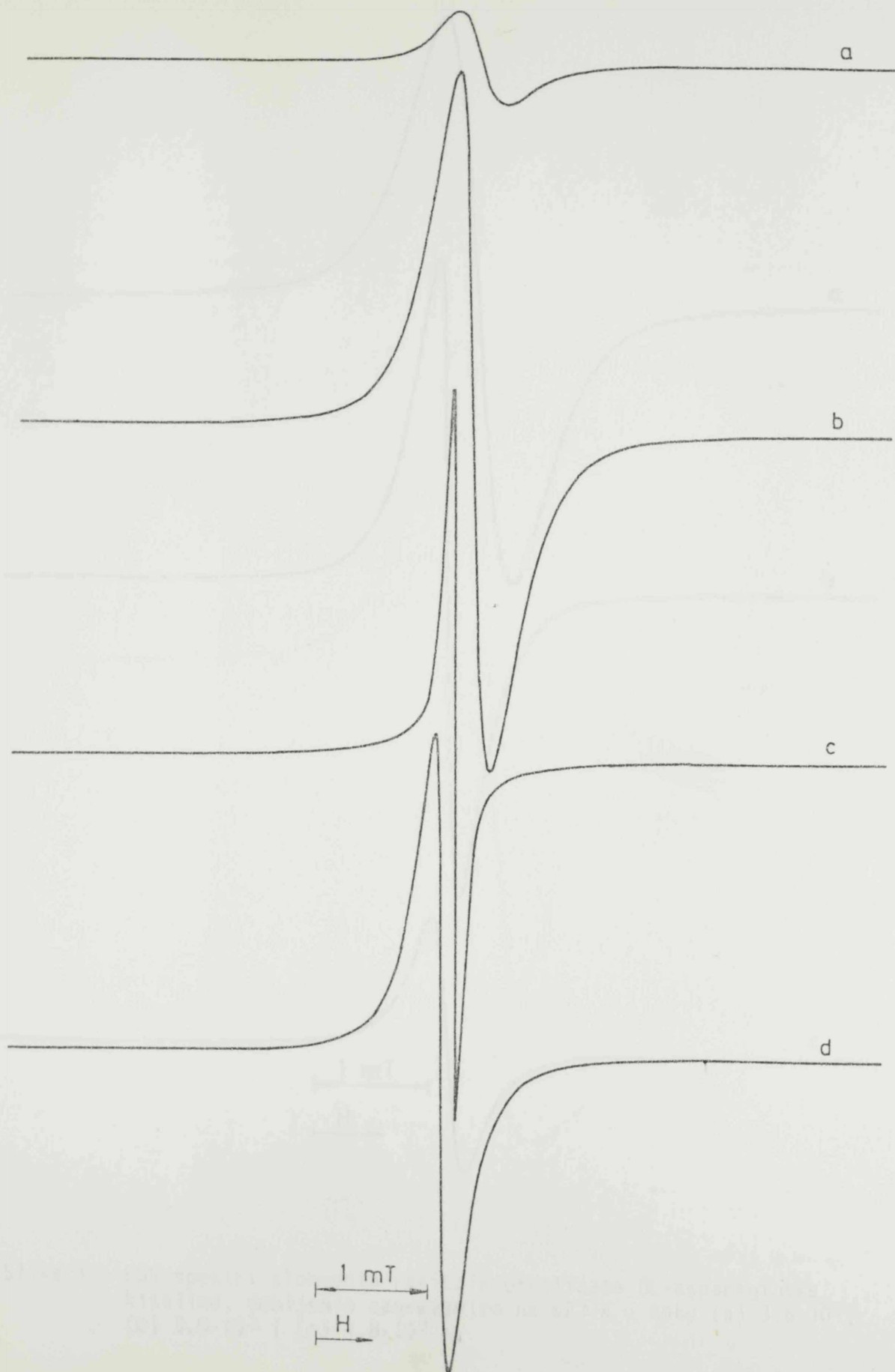
Slika 13. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-izoleucina, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $1,2 \cdot 10^3$, (b) $2,4 \cdot 10^3$ i (c) $1,08 \cdot 10^4$ s.



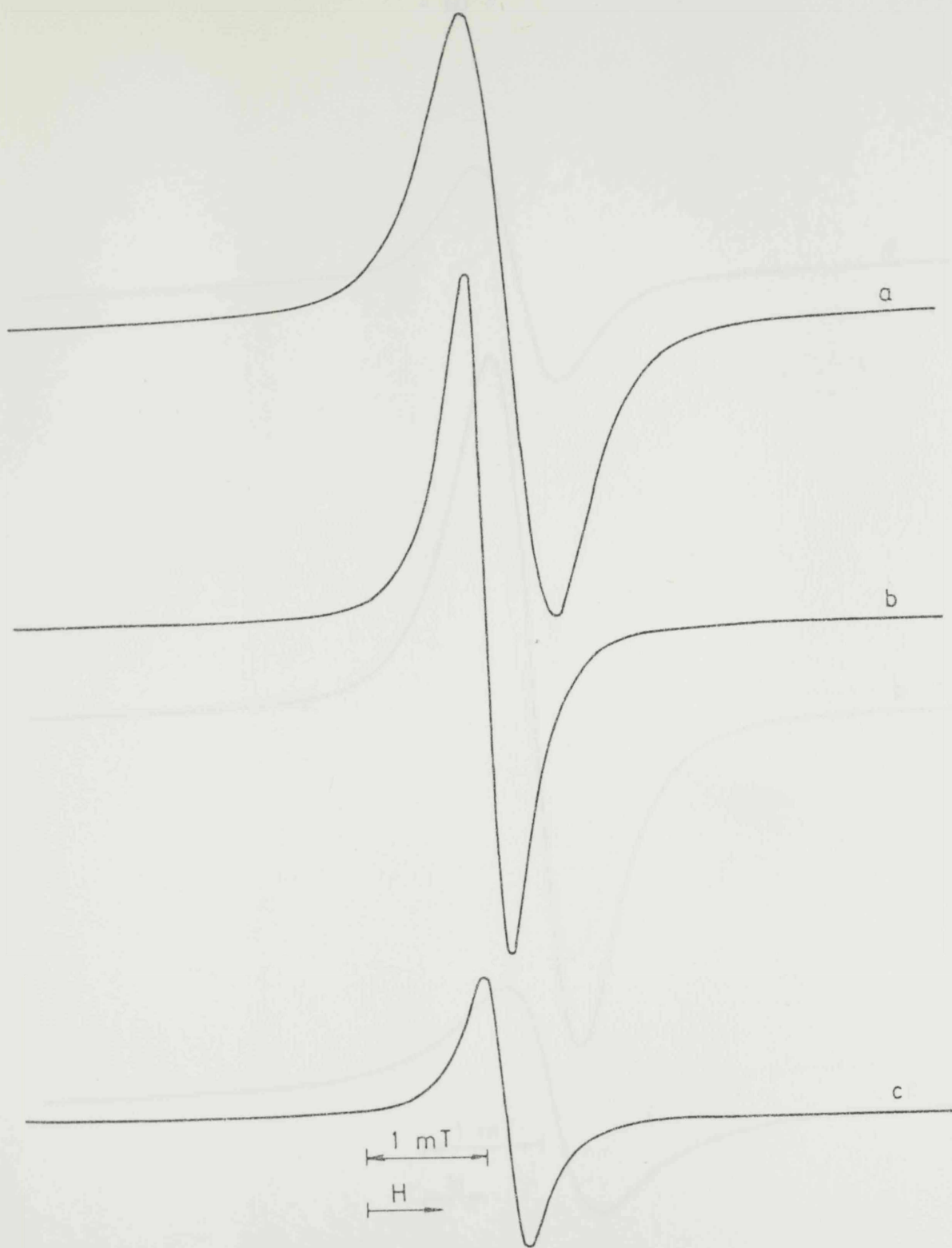
Slika 14. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL- ϵ -aminokapronske kiseline, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 623 K, odnosno (c) 673 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



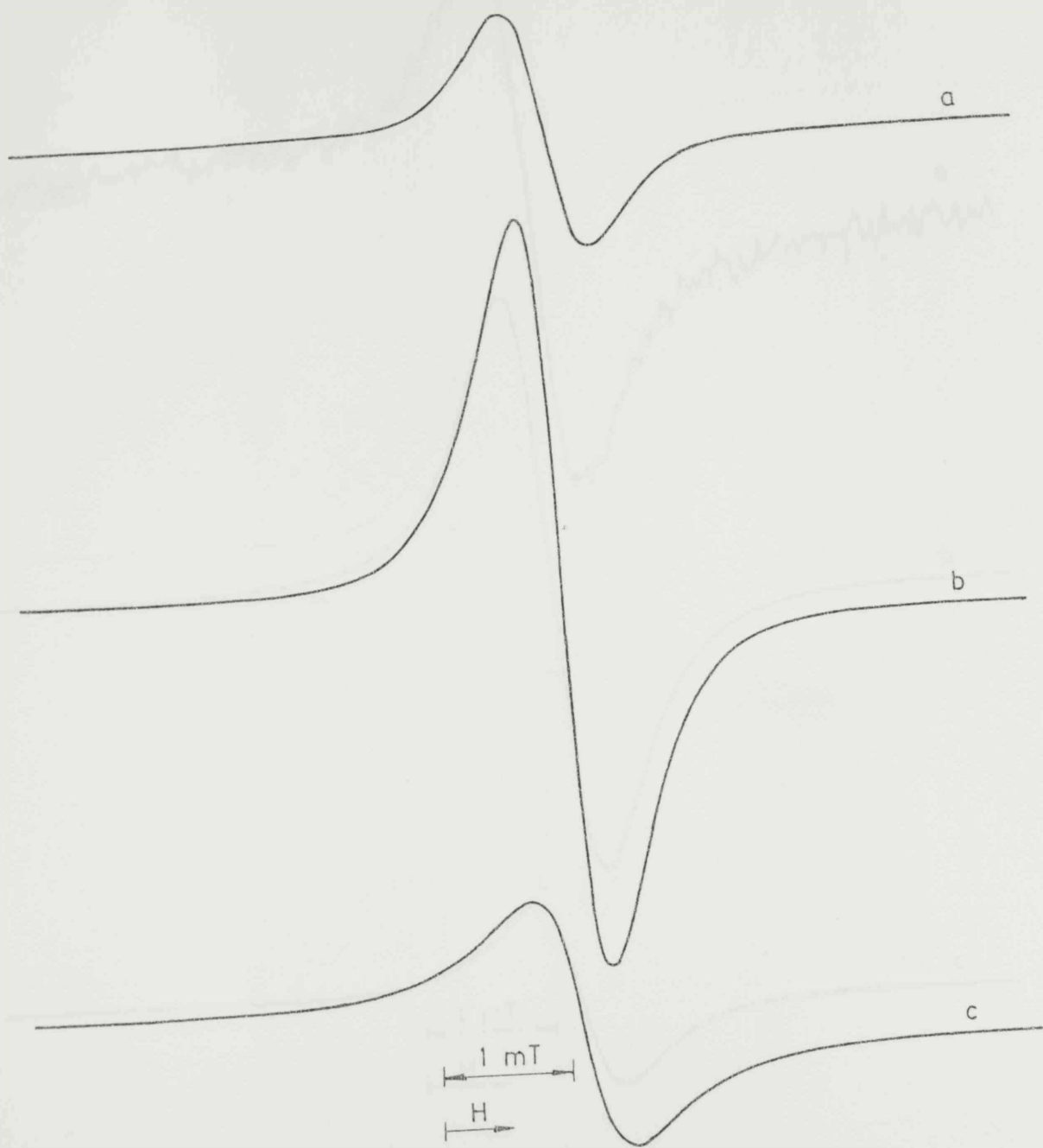
Slika 15. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL- ϵ -aminokapronske kiseline, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $3,6 \cdot 10^2$, (b) $2,4 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.



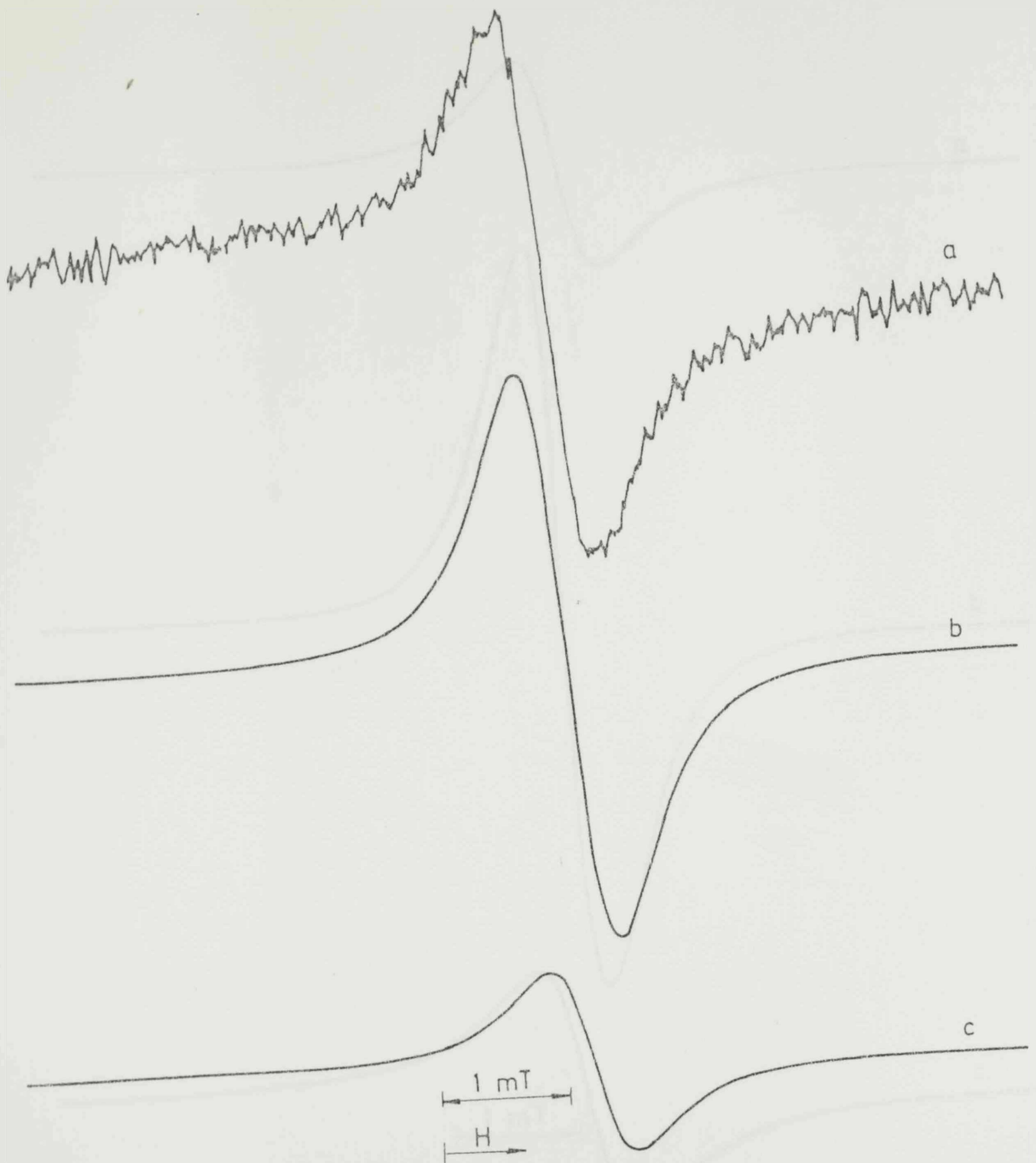
Slika 16. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 623 K, (c) 673 K, odnosno (d) 723 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



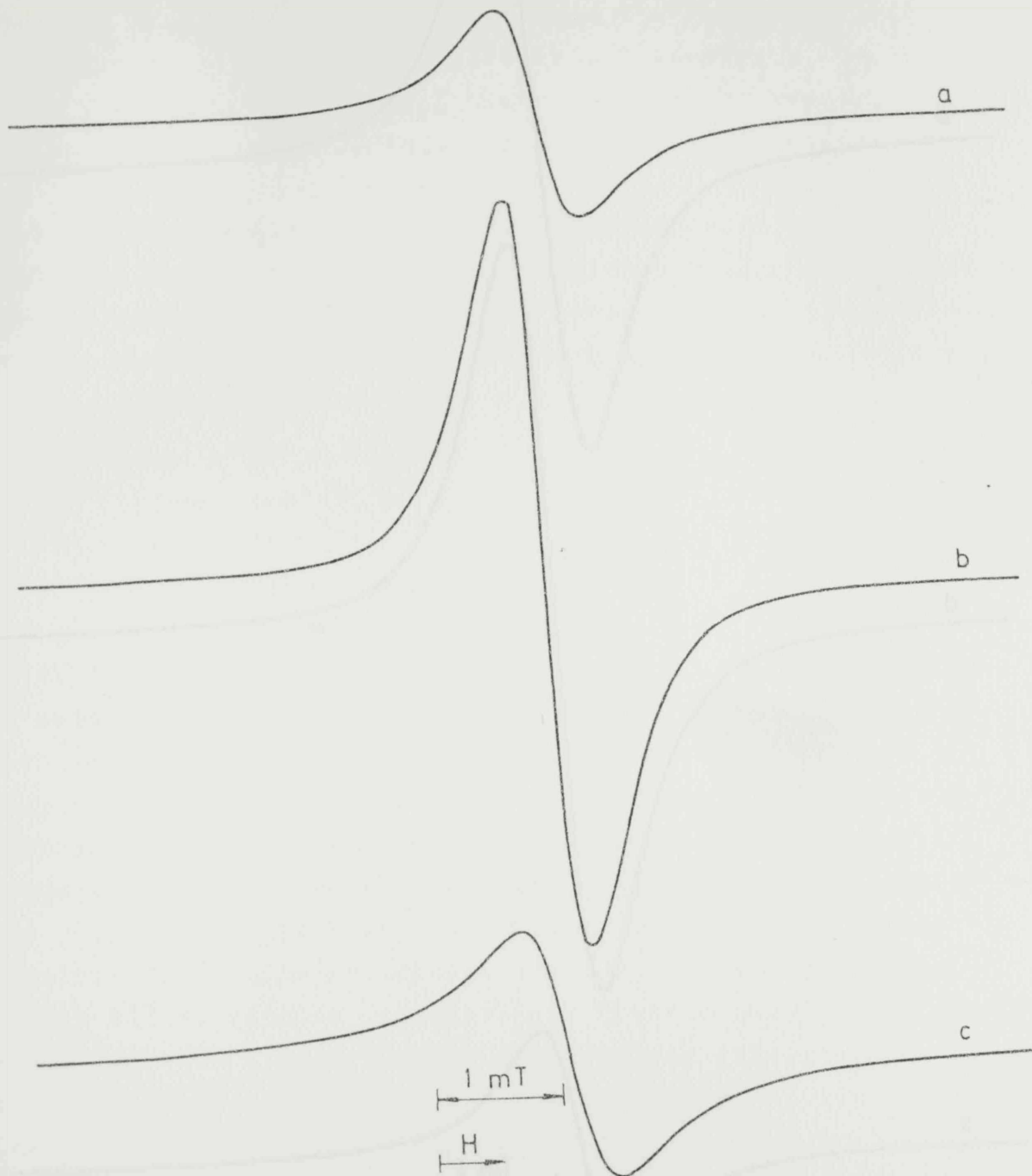
Slika 17. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $3,6 \cdot 10^2$, (b) $3,0 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.



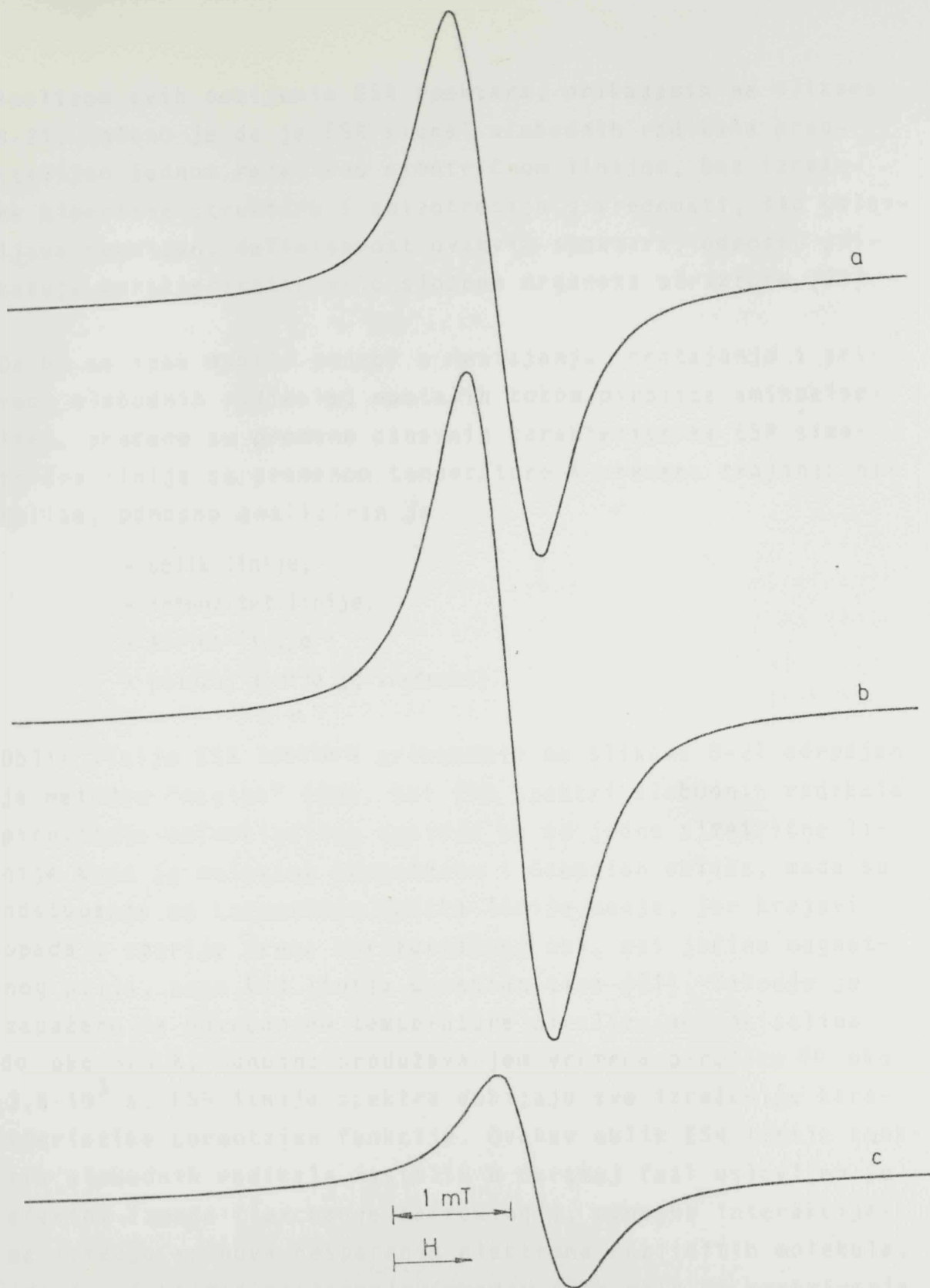
Slika 18. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-glutaminske kiseline, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 623 K, odnosno (c) 723 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



Slika 19. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-glutaminske kiseline, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $1,2 \cdot 10^2$, (b) $2,4 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.



Slika 20. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-lizina, dobijenih zagrevanjem na (a) 523 K, (b) 623 K, odnosno (d) 723 K, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s.



Slika 21. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-lizina, dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku (a) $1,8 \cdot 10^3$, (b) $3,0 \cdot 10^3$ i (c) $4,8 \cdot 10^3$ s.

Analizom svih dobijenih ESR spektara, prikazanih na slikama 8-21, uočeno je da je ESR signal slobodnih radikala predstavljen jednom relativno simetričnom linijom, bez izražene hiperfine strukture i anizotropije g-vrednosti, što uslovljava nepotpunu definisanost ovakvih spektara, odnosno prikazuje karakteristike vrlo složene organske strukture (25).

Da bi se ipak dobili podaci o nastajanju, nestajanju i prirodi slobodnih radikala, nastalih tokom pirolize aminokiselina, praćene su promene osnovnih karakteristika ESR simetrične linije sa promenom temperature i vremena trajanja pirolize, odnosno analiziran je:

- oblik linije,
- intenzitet linije,
- širina linije i
- položaj linije (g-vrednost).

Oblik linije ESR spektara prikazanih na slikama 8-21 odredjen je metodom "nagiba" (50). Svi ESR spektri slobodnih radikala pirolizata aminokiselina sastoje se od jedne simetrične linije koja je mešavina Lorentzian i Gaussian oblika, mada su odstupanja od Lorentzian oblika linije manja, jer krajevi opadaju sporije prema horizontalnoj osi, osi jačine magnetnog polja, nego kod linija Gaussian tipa (51). Takodje je zapaženo da povećanjem temperature pirolize aminokiselina do oko 623 K, odnosno produžavanjem vremena pirolize do oko $3,6 \cdot 10^3$ s, ESR linije spektra dobijaju sve izraženije karakteristike Lorentzian funkcije. Ovakav oblik ESR linije spektra slobodnih radikala nastalih u čvrstoj fazi uslovljen je efektom izmene ("exchange narrowing"), odnosno interakcijama izmedju spinova nesparenih elektrona različitih molekula, gde je efektivno rastojanje izmedju njih malo, a prekrivanje elektronskih gustina veliko (87, 88, 89).

U okviru ispitivanja intenziteta ESR linije spektra praćena je promena intenziteta ESR signala, koji je proporcionalan

koncentraciji slobodnih radikala, odnosno koncentraciji spina u ispitivanim uzorcima pirolizata aminokiselina, u zavisnosti od temperature i vremena trajanja pirolize.

Zavisnost intenziteta ESR signala slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina praćena je u temperaturnom intervalu od 473 do 873 K. U tablicama 5-11 prikazani su rezultati odredjivanja zavisnosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, za DL-norleucin, DL-leucin, DL-izoleucin, DL- ϵ -aminokapronsku kiselinu, DL-asparaginsku kiselinu, DL-glutaminsku kiselinu i DL-lizin.

Na slikama 22-28 grafićki je prikazana zavisnost normiranih vrednosti integralnih intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize i zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena trajanja pirolize, za sve ispitivane aminokiseline.

TABLICA 5. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih

TABLICA 5. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T, za DL-norleucin

T [K]	* h_{p-p} [mm]	N_I
473	0,0	0,00
523	6,5	1,00
573	39,0	6,00
623	145,0	25,05
673	130,0	27,72
723	21,0	6,98
773	7,9	3,02
823	2,3	0,92
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojaćanju signala (gain) od 10^4 .

TABLICA 6. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T , za DL-leucin

T K	$*h_{p-p}$ mm	N_I
473	0,0	0,00
523	4,5	1,00
573	31,0	6,92
623	172,0	43,14
673	178,0	55,10
723	27,2	13,13
773	12,3	6,72
823	5,3	3,04
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $1,6 \cdot 10^4$.

TABLICA 7. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T , za DL-izoleucin

T K	$*h_{p-p}$ mm	N_I
473	0,0	0,00
523	7,0	1,00
573	32,0	4,57
623	120,8	20,42
673	174,0	32,73
723	27,8	8,93
773	12,9	4,51
823	5,4	2,02
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $2 \cdot 10^4$.

TABLICA 8. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T, za DL- ϵ -aminokapronsku kiselinu

T [K]	* h_{p-p} [mm]	N_I
473	0,0	0,00
523	22,8	1,00
573	103,0	4,87
623	187,0	10,91
673	94,0	8,80
723	9,8	1,54
773	2,3	0,70
823	1,4	0,31
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $8 \cdot 10^3$ p-p,

TABLICA 9. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T, za DL-asparaginsku kiselinu

T [K]	* h_{p-p} [mm]	N_I
473	0,0	0,00
523	6,5	1,00
573	29,7	8,08
623	93,0	13,66
673	169,0	13,82
723	194,0	2,65
773	5,2	0,80
823	1,0	0,30
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $8 \cdot 10^2$ p-p,

TABLICA 10. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T, za DL-glutaminsku kiselinu

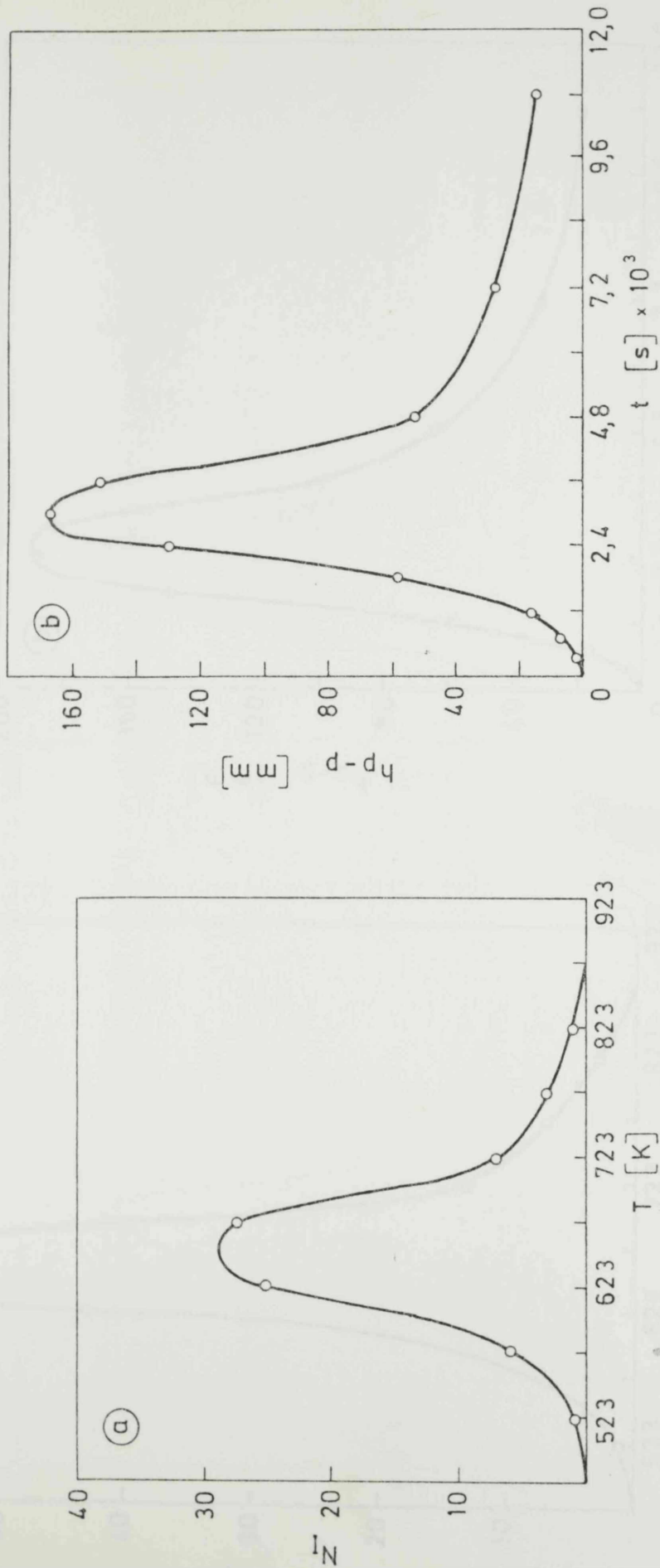
T K	* h_{p-p} mm	N_I
473	0,0	0,00
523	56,0	1,00
573	112,5	2,11
623	218,9	4,12
673	217,6	3,68
723	72,9	1,67
773	27,7	0,71
823	6,7	0,20
873	0,0	0,00

*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $3,2 \cdot 10^3$

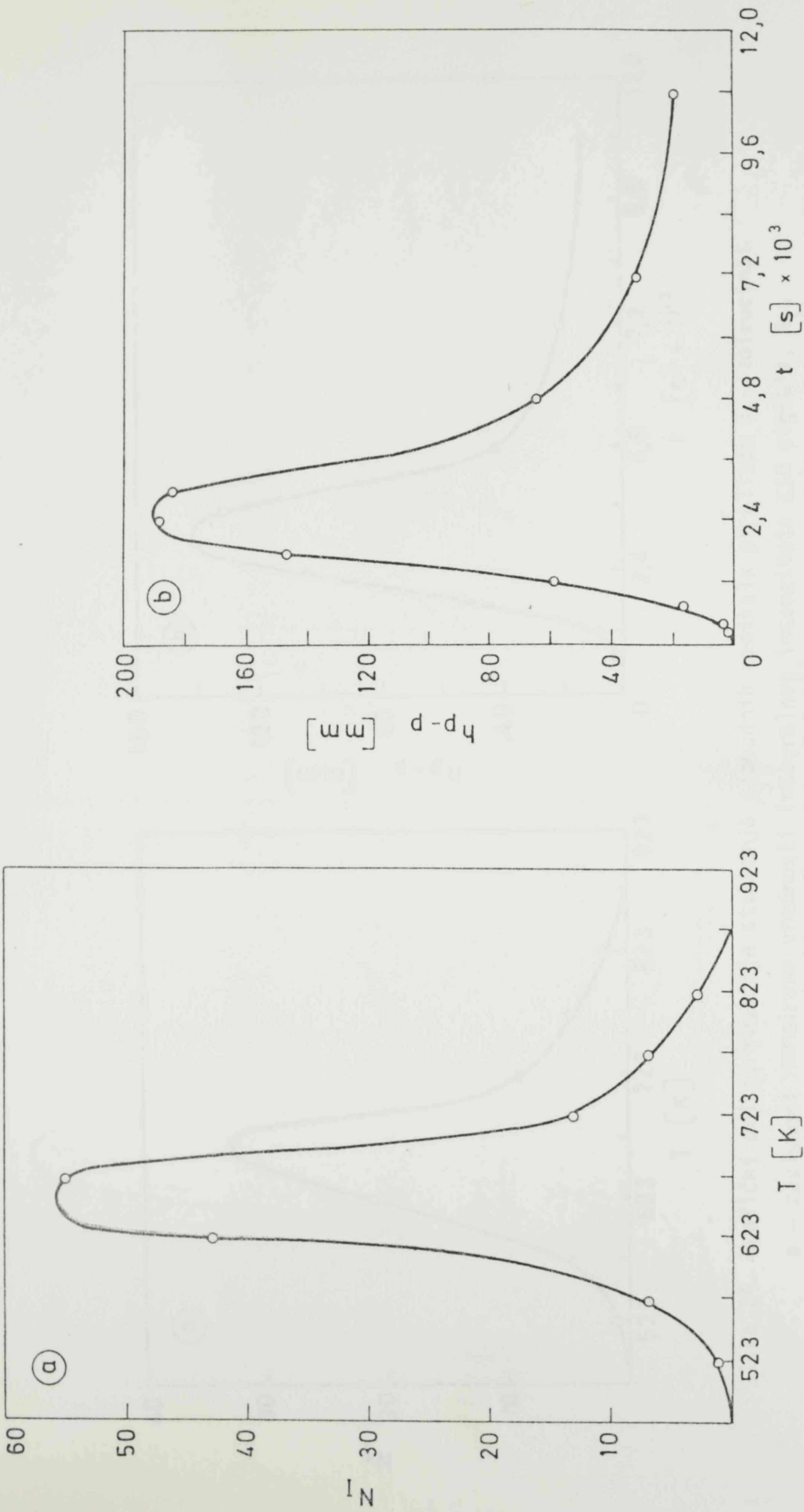
TABLICA 11. Zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , i normiranih vrednosti integralnih intenziteta, N_I , od temperature pirolize, T, za DL-lizin

T K	* h_{p-p} mm	N_I
473	0,0	0,00
523	6,3	1,00
573	21,9	3,20
623	87,4	12,52
673	141,6	20,30
723	45,6	8,80
773	15,7	3,50
823	4,4	1,10
873	0,0	0,00

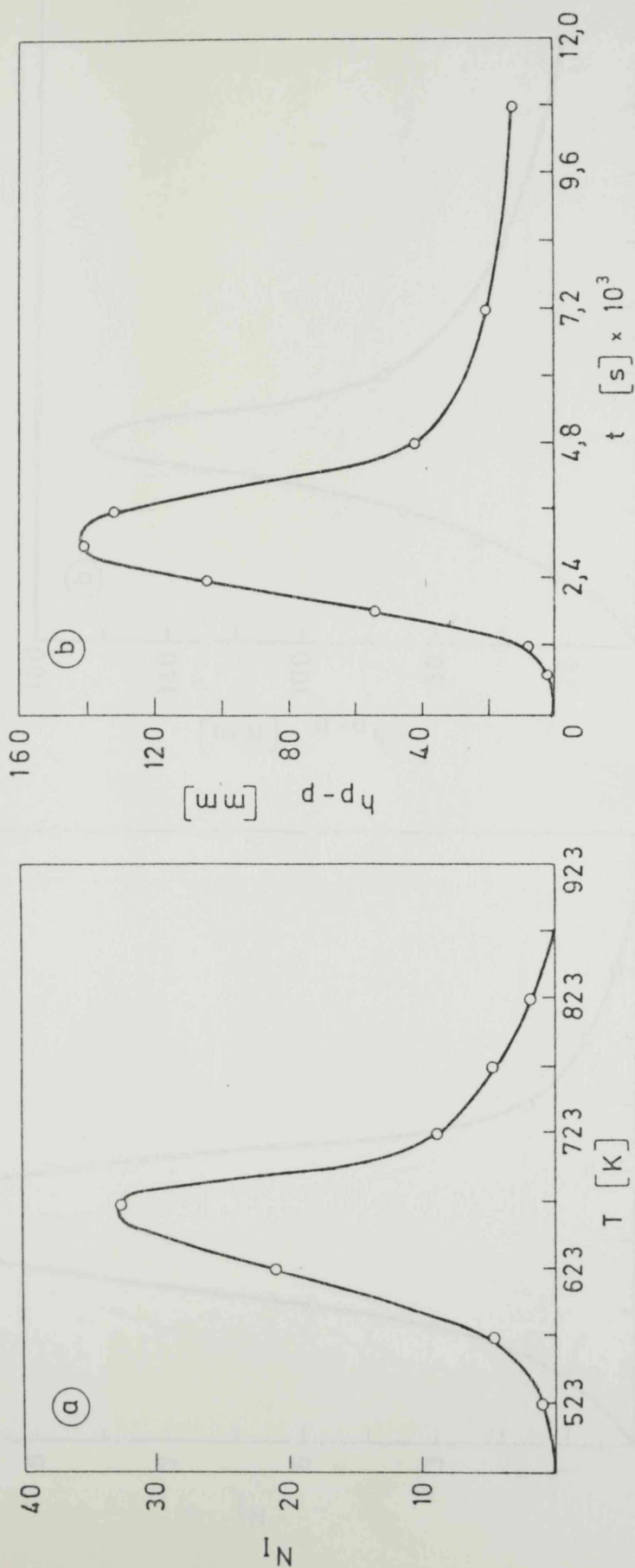
*) Navedene vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , odredjene su pri pojačanju signala od $3,2 \cdot 10^3$



Slika 22. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-norleucina
a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, t , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s;
b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K. (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $5 \cdot 10^4$)



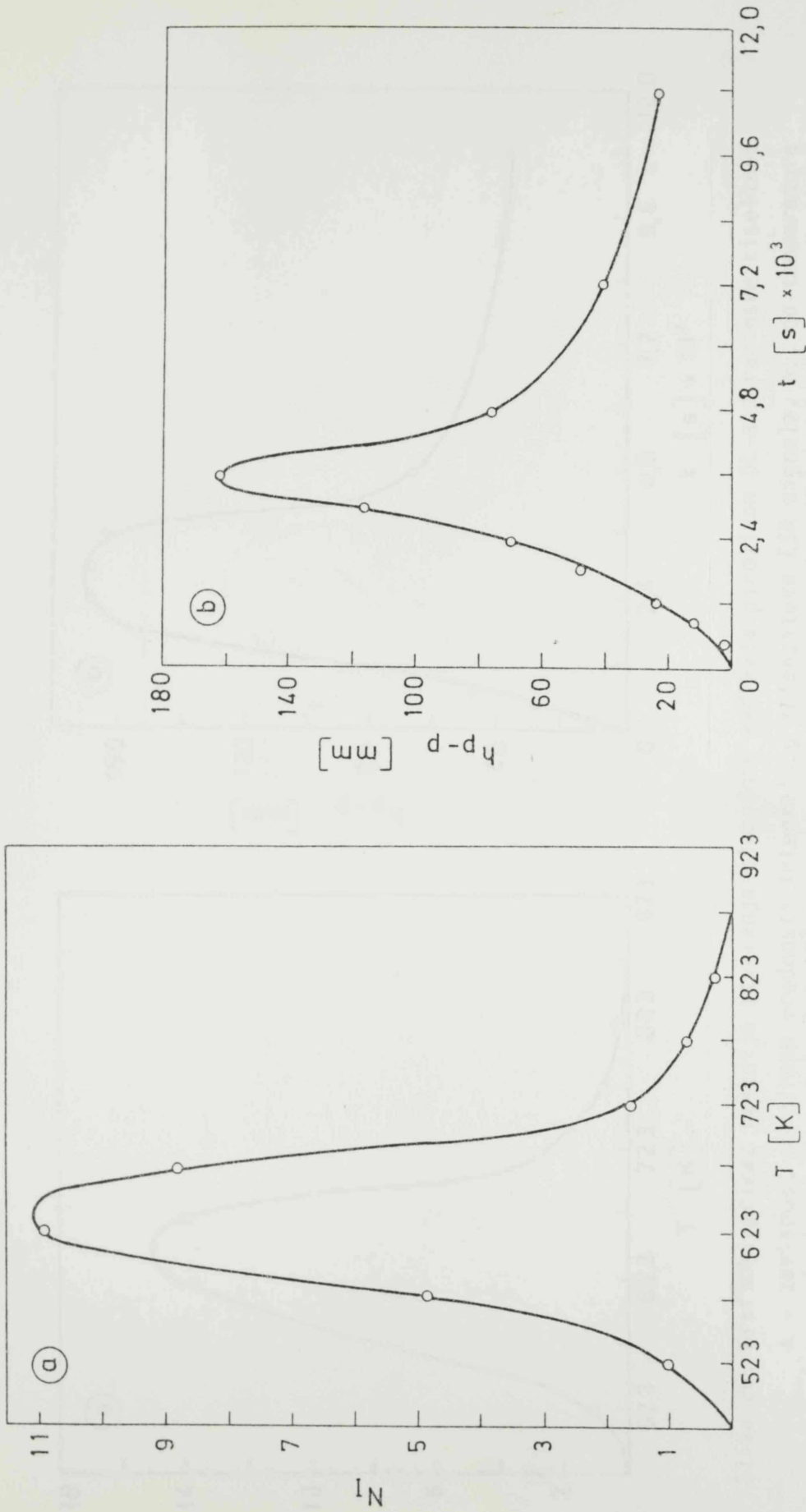
Slika 23. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-leucina:
 a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s,
 b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K.
 (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $8 \cdot 10^4$)



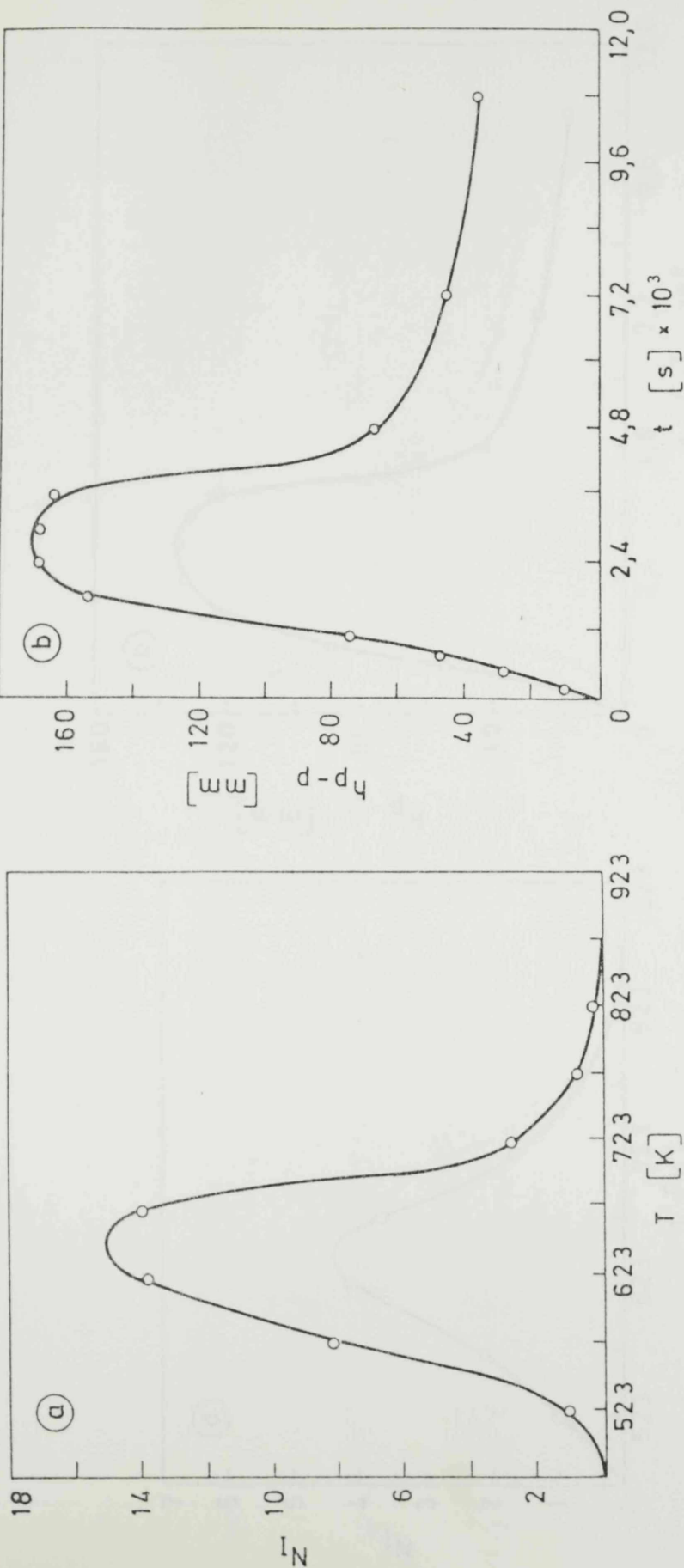
Slika 24. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-izoleucina:

a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s;

b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K. (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od 10^5)



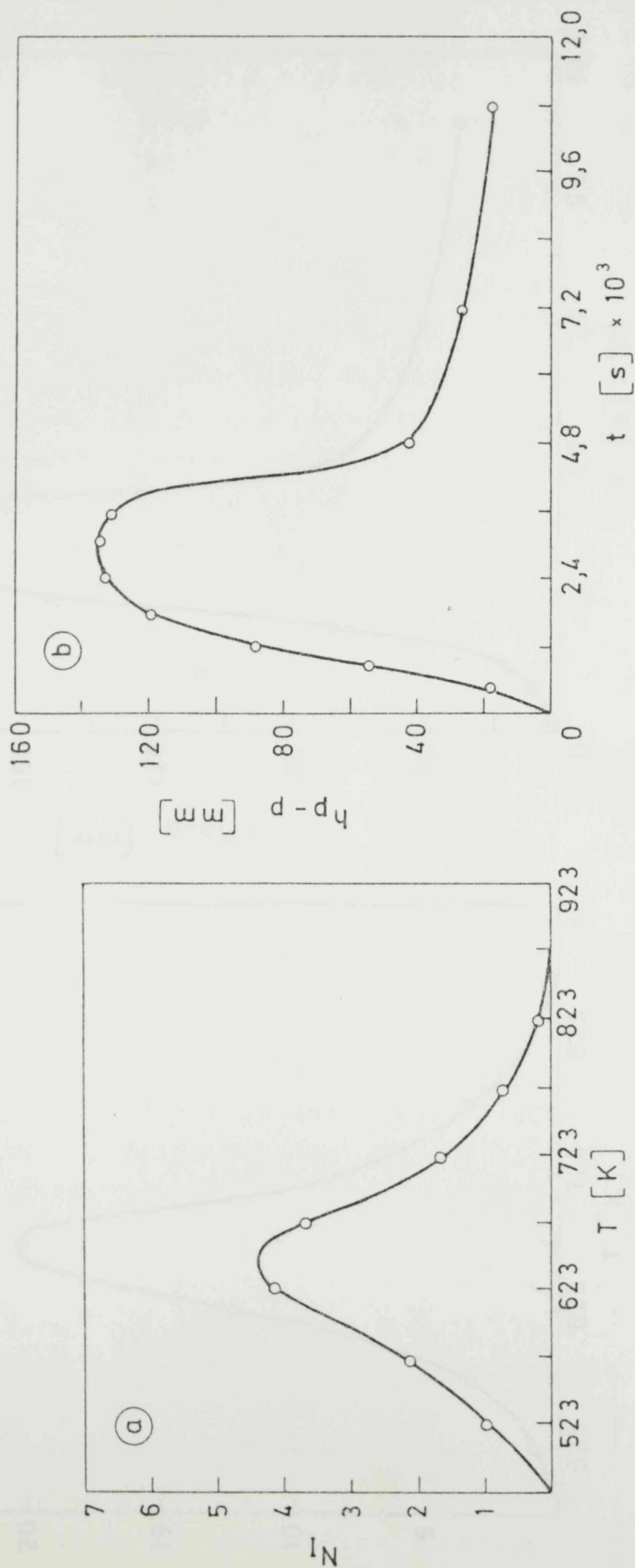
Slika 25. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL- ϵ -aminokaprnske kiseline:
a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, I_N , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s,
b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K.
(h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $2,5 \cdot 10^4$)



Slika 26. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-asparaginske kiseline:

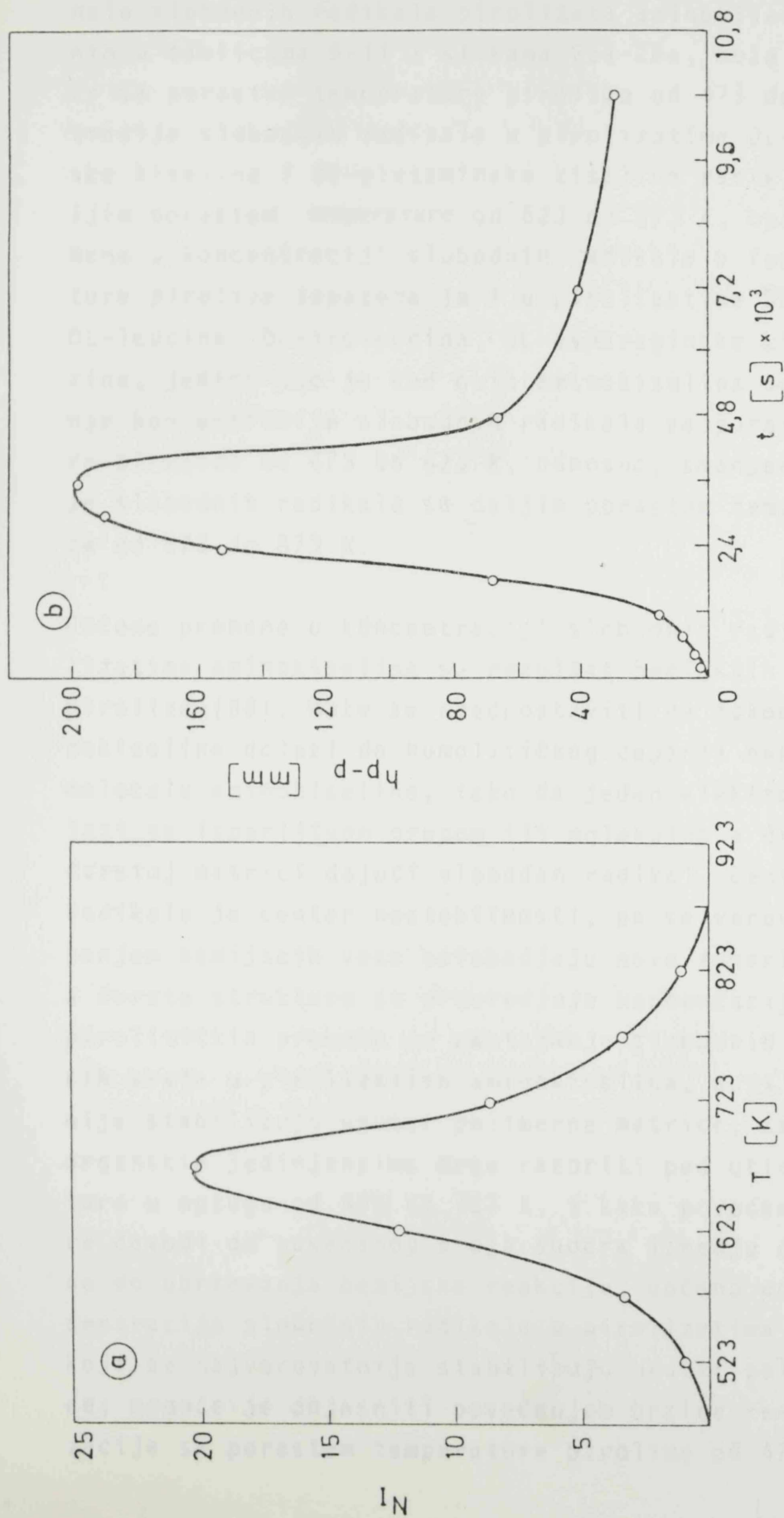
a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s;

b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K. (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $1,25 \cdot 10^3$).



Slika 27. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-glutaminske kiseline:

- a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s;
- b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K. (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $5 \cdot 10^3$)



Slika 28. Grafički prikaz reakcije stvaranja slobodnih radikala pirolizom DL-lizina:

a - zavisnost normirane vrednosti integralnog intenziteta ESR signala, N_I , od temperature pirolize, T , u toku $3,6 \cdot 10^3$ s;

b - zavisnost intenziteta ESR signala, h_{p-p} , od vremena pirolize, t , na 623 K. (h_{p-p} vrednosti su određene pri pojačanju signala od $8 \cdot 10^3$)

Na osnovu rezultata ispitivanja intenziteta linije ESR signala slobodnih radikala pirolizata aminokiselina, saopštenih u tablicama 5-11 i slikama 22a-28a, može se zaključiti da sa porastom temperature pirolize od 473 do 623 K koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima DL- ϵ -aminokapronske kiseline i DL-glutaminske kiseline raste, a zatim sa daljim porastom temperature od 623 do 873 K, opada. Slična promena u koncentraciji slobodnih radikala u funkciji temperature pirolize zapažena je i u pirolizatima DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL-asparaginske kiseline i DL-lizina, jedino što je kod ovih aminokiselina uočeno povećavanje koncentracije slobodnih radikala sa porastom temperature pirolize od 473 do 673 K, odnosno, smanjenje koncentracije slobodnih radikala sa daljim porastom temperature pirolize od 673 do 873 K.

Uočene promene u koncentraciji slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina su rezultat hemijskih promena tokom pirolize (88). Može se pretpostaviti da tokom pirolize aminokiselina dolazi do homolitičkog cepanja neke od veza u molekulu aminokiseline, tako da jedan elektron iz veze odlazi sa isparljivom grupom ili molekulom a drugi ostaje u čvrstoj matrici dajući slobodan radikal. Centar slobodnog radikala je centar nestabilnosti, pa se verovatno daljim cepanjem hemijskih veza oslobadjaju nove isparljive materije a čvrsta struktura se preuredjuje kondenzacijom. Rezultat pirolitičkih promena je nastajanje slobodnih radikala raznih vrsta u pirolizatima aminokiselina, koji se najverovatnije stabilizuju unutar polimerne matrice. Kako se veze u organskim jedinjenjima mogu razoriti pod uticajem temperature u opsegu od 473 do 723 K, i kako povećanje temperature dovodi do povećanog broja sudara između čestica, odnosno do ubrzavanja hemijske reakcije, uočeno povećanje koncentracije slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, koji se najverovatnije stabilizuju unutar polimerne matrice, moguće je objasniti povećanjem brzine reakcije kondenzacije sa porastom temperature pirolize od 473 do 623 K,

odnosno do 673 K. Smanjenje koncentracije slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina sa porastom temperature pirolize od 623 do 873 K, odnosno 673 do 873 K, moguće je objasniti procesom depolimerizacije polimernih struktura slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, odnosno povećanjem brzine reakcije depolimerizacije sa daljim povećanjem temperature pirolize (27). Odsustvo slobodnih radikala u pirolizatima svih ispitivanih aminokiselina, dobijenih zagrevanjem na 873 K, najverovatnije je posledica kompletne depolimerizacije polimernih struktura slobodnih radikala pirolizovanih aminokiselina i nastajanja stabilnih molekula kao krajnjih reakcionih proizvoda pirolize, sigurno manjih molekulskih masa i različite strukture.

Rezultati ispitivanja uticaja vremena trajanja pirolize na intenzitet ESR signala slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, grafički prikazani na slikama 22b-28b, ukazuju da sa porastom vremena pirolize od 0 do $3,0 \cdot 10^3$ s koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima DL-norleucina, DL-leucina i DL-izoleucina raste, a zatim produžavanjem vremena pirolize od $3,0 \cdot 10^3$ do $10,8 \cdot 10^3$ s opada. Koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima DL- ϵ -aminokaprinske kiseline i DL-lizina raste sa vremenom pirolize od 0 do $3,6 \cdot 10^3$ s, a zatim produžavanjem vremena pirolize od $3,6 \cdot 10^3$ do $10,8 \cdot 10^3$ s, takodje opada. Analizom promena vrednosti intenziteta ESR signala slobodnih radikala u pirolizatima DL-asparaginske kiseline i DL-glutaminske kiseline sa vremenom pirolize, uočeno je da sa porastom vremena pirolize od 0 do $2,4 \cdot 10^3$ s koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima ovih aminokiselina raste, zatim produžavanjem vremena pirolize od $2,4 \cdot 10^3$ do $3,6 \cdot 10^3$ s se znatno ne menja, a daljim produžavanjem vremena pirolize od $3,6 \cdot 10^3$ do $10,8 \cdot 10^3$ s opada.

S obzirom na navedenu pretpostavku o nastajanju slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, uočene promene u koncentraciji slobodnih radikala u zavisnosti od vremena

trajanja pirolize najverovatnije su posledica dužine trajanja reakcija koje se tokom pirolize odvijaju, odnosno reakcije homolitičkog razlaganja C-C veza koje se odvijaju uz oslobadjanje isparljivih grupa ili molekula, reakcije kondenzacije i depolimerizacije. Povećanje koncentracije slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina sa produžavanjem vremena pirolize do $3,0 \cdot 10^3$, odnosno $3,6 \cdot 10^3$ s može se objasniti produžavanjem reakcije homolitičkog razlaganja C-C veza i reakcije kondenzacije. Smanjenje koncentracije slobodnih radikala, uočeno daljim produžavanjem vremena pirolize do $10,8 \cdot 10^3$ s, najverovatnije je posledica produžavanja reakcije depolimerizacije polimernih struktura, unutar kojih su stabilizovani slobodni radikali (27).

Da bi se sagledao uticaj položaja metil grupe i uticaj broja i položaja amino i karboksilnih grupa na reakcije stvaranja slobodnih radikala aminokiselina, u tablici 12 prikazane su vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , slobodnih radikala pirolizovanih aminokiselina na temperaturi od 623 K u toku $3,0 \cdot 10^3$ s, određene pri pojačanju signala od $1,25 \cdot 10^3$.

TABLICA 12. Vrednosti intenziteta ESR signala, h_{p-p} , slobodnih radikala pirolizata aminokiselina (623 K; $3,0 \cdot 10^3$ s), određene pri pojačanju signala od $1,25 \cdot 10^3$

Aminokiselina	h_{p-p} mm
DL-norleucin	4,1
DL-leucin	2,9
DL-izoleucin	1,7
DL-ε-aminokapronska kiselina	8,1
DL-asparaginska kiselina	168,0
DL-glutaminska kiselina	32,7
DL-lizin	31,1

Poredjenjem vrednosti intenziteta ESR signala slobodnih radikala pirolizata aminokiselina, saopštenih u tablici 12,

uočene su znatne razlike u intenzitetima ESR signala, odnosno u koncentracijama slobodnih radikala, koje su svakako posledica različite strukture ispitivanih aminokiselina.

Znatno veća koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima monoaminodikarbonskih i diaminomonokarbonskih kiselina u odnosu na koncentraciju slobodnih radikala u pirolizatima monoaminomonokarbonskih kiselina je najverovatnije posledica prisustva jednog heteroatoma, kiseonika odnosno azota, više u molekulima monoaminodikarbonskih, odnosno diaminomonokarbonskih kiselina, na kojem može da se lokalizuje ili delimično lokalizuje slobodan elektron, što omogućava nastajanje novih slobodnih radikala različite strukture. Oko dva puta veća koncentracija slobodnih radikala u pirolizatu DL- ϵ -aminokaprnske kiseline u odnosu na koncentraciju slobodnih radikala u pirolizatu DL-norleucina je najverovatnije posledica manje izražene interakcije između ϵ -amino grupe i karboksilne grupe u molekulu DL- ϵ -aminokaprnske kiseline nego između α -amino grupe i karboksilne grupe u molekulu DL-norleucina, kao i različitog broja i prostornog rasporeda α -protona koji mogu da stupe u magnetnu interakciju sa elektronima lokalizovanim ili delimično lokalizovanim u π -orbitali. Analizom vrednosti intenziteta ESR signala slobodnih radikala pirolizata strukturnih izomera, DL-norleucina, u kome su C-atomi povezani u normalnom nizu, i DL-leucina i DL-izoleucina, koji sadrže račvasti niz C-atoma u kojem je metil grupa vezana za γ -C-atom, odnosno za β -C-atom, uočeno je da je koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima strukturnih izomera sa račvastim nizom nešto manja nego u pirolizatu aminokiselina sa normalnim nizom C-atoma i da sa povećavanjem rastojanja metil grupe od amino grupe koncentracija slobodnih radikala raste, što je moguće objasniti različitom stabilnošću nastalih slobodnih radikala, uslovljenom brojem i položajem α -protona, koji mogu da stupe u magnetnu interakciju sa elektronima u π -orbitali. Znatno veća koncentracija slobodnih radikala u pirolizatu DL-asparaginske kiseline, kod koje je druga karboksilna grupa vezana za β -C-atom, u

odnosu na koncentraciju slobodnih radikala u pirolizatu DL-glutaminske kiseline, u kojoj je druga karboksilna grupa vezana za γ -C-atom, najverovatnije je posledica olakšanog homolitičkog razlaganja C-C veze u molekulu ove aminokiseline, uslovljenog većom blizinom dveju karboksilnih grupa.

Rezultati ispitivanja zavisnosti širine linije ESR spektara ΔH_{p-p} , slobodnih radikala aminokiselina od temperature pirolize, T, u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, odnosno od vremena trajanja pirolize, t, na 623 K, prikazani su u tablicama 13 i 14.

Kod sistema kao što su pirolizati aminokiselina, u kojima tačna priroda nesparenih elektrona nije jasno uočena, verovatno su mehanizmi širenja linije ESR signala potpuno različiti nego kod paramagnetičnih jona u kristalnoj rešetki, za koje je teorija širine i oblika linije prvobitno razvijena. Proučavanjem ESR parametara pirolizata aminokiselina utvrđeno je da preovladava mehanizam širenja ESR linije, kao što je dipolarna interakcija za koju su po teoriji predviđene određene vrednosti širine linije od 0,4 do 1,0 mT. Za linije tačno Lorentzian-ovog oblika po teoriji Jackson-a i Wynne-Jones-a širina linije je jednaka $0,577/T_2$, gde je T_2 spin-spin relaksaciono vreme (90). Pošto za ispitivane slobodne radikale pirolizata aminokiselina linije ESR spektara nisu tačno Lorentzian-ovog oblika, a nisu ni potpuno identične po obliku, male razlike u širini linija mogu nastati i zbog razlike u obliku linija, a ne samo zbog razlike u procesima relaksacije.

Jedno od mogućih objašnjenja uočene razlike u širini linija ESR spektara slobodnih radikala nastalih u pirolizatima ispitivanih aminokiselina (tablice 13 i 14) je da su širine rezonantnih linija rezultat spin-spin interakcija između elektrona i α -protona u molekulu aminokiseline. Hiperfina struktura spektara izostaje zato što su slobodni radikali veoma složene strukture (25).

TABLICA 13. Zavisnost širine linije ESR spektra, ΔH_{p-p} , slobodnih radikala pirolizata aminokiselina od temperature pirolize, T, u toku $3,6 \times 10^3$ s

Aminokiselina	ΔH_{p-p} mT		Temperatura pirolize T K						
	473	523	573	623	673	723	773	823	873
DL-norleucin	0,000	0,570	0,570	0,604	0,671	0,838	0,894	0,922	0,000
DL-leucin	0,000	0,570	0,570	0,604	0,671	0,838	0,890	0,921	0,000
DL-izoleucin	0,000	0,570	0,570	0,604	0,654	0,855	0,892	0,922	0,000
DL- ϵ -aminokapronska kiselina	0,000	0,436	0,503	0,503	0,637	0,822	0,972	0,994	0,000
DL-asparaginska kiselina	0,000	0,403	0,403	0,300	0,285	0,117	0,402	0,509	0,000
DL-glutaminska kiselina	0,000	0,620	0,637	0,637	0,701	0,704	0,742	0,803	0,000
DL-lizin	0,000	0,637	0,601	0,601	0,604	0,704	0,754	0,799	0,000

TABLICA 14. Zavisnost širine linije ESR spektra, ΔH_{p-p} , slobodnih radikala pirolizata aminokiselina od vremena pirolize, t, na 623 K

Aminokiselina	Vreme pirolize t · 10 ³ s											
	0,12	0,36	0,72	1,20	1,80	2,40	3,00	3,60	4,80	7,20	10,80	
DL-norleucin	0,000	1,170	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604
DL-leucin	0,000	1,107	0,906	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604
DL-izoleucin	0,000	0,930	0,671	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604	0,604
DL-ε-aminokaprinska kiselina	0,000	0,704	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503	0,503
DL-asparaginska kiselina	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-glutaminska kiselina	0,700	0,670	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637	0,637
DL-lizin	0,780	0,670	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601	0,601

Takodje je utvrđeno da jaki mehanizmi sužavanja linija, kao što su efekat izmene ili delokalizacija, mogu potpuno prevagnuti nad procesom širenja linije. Suženje linije ESR signala slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina naročito je izraženo kod DL-asparaginske kiseline (ΔH_{p-p} iznosi 0,117 mT) i rezultat je smanjenja spin-spin interakcija između elektrona i α -protona i preovladavanja efekta izmene ili delokalizacije ("delocalization narrowing"), koji su posledica velike koncentracije spinova u pirolizatu ove aminokiseline (50, 87, 91, 92).

Analizom rezultata odredjivanja zavisnosti širine linije ESR spektara slobodnih radikala ispitivanih aminokiselina od temperature pirolize, saopštenih u tablici 13, utvrđeno je da sa porastom temperature pirolize širina linije ESR signala slobodnih radikala pirolizata DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokapronske kiseline i DL-glutaminske kiseline postepeno raste. Uočeni porast širine linije ESR spektra slobodnih radikala pirolizata aminokiselina nastaje zbog povećavanja spin-spin interakcija između elektrona i α -protona sa porastom temperature pirolize (87).

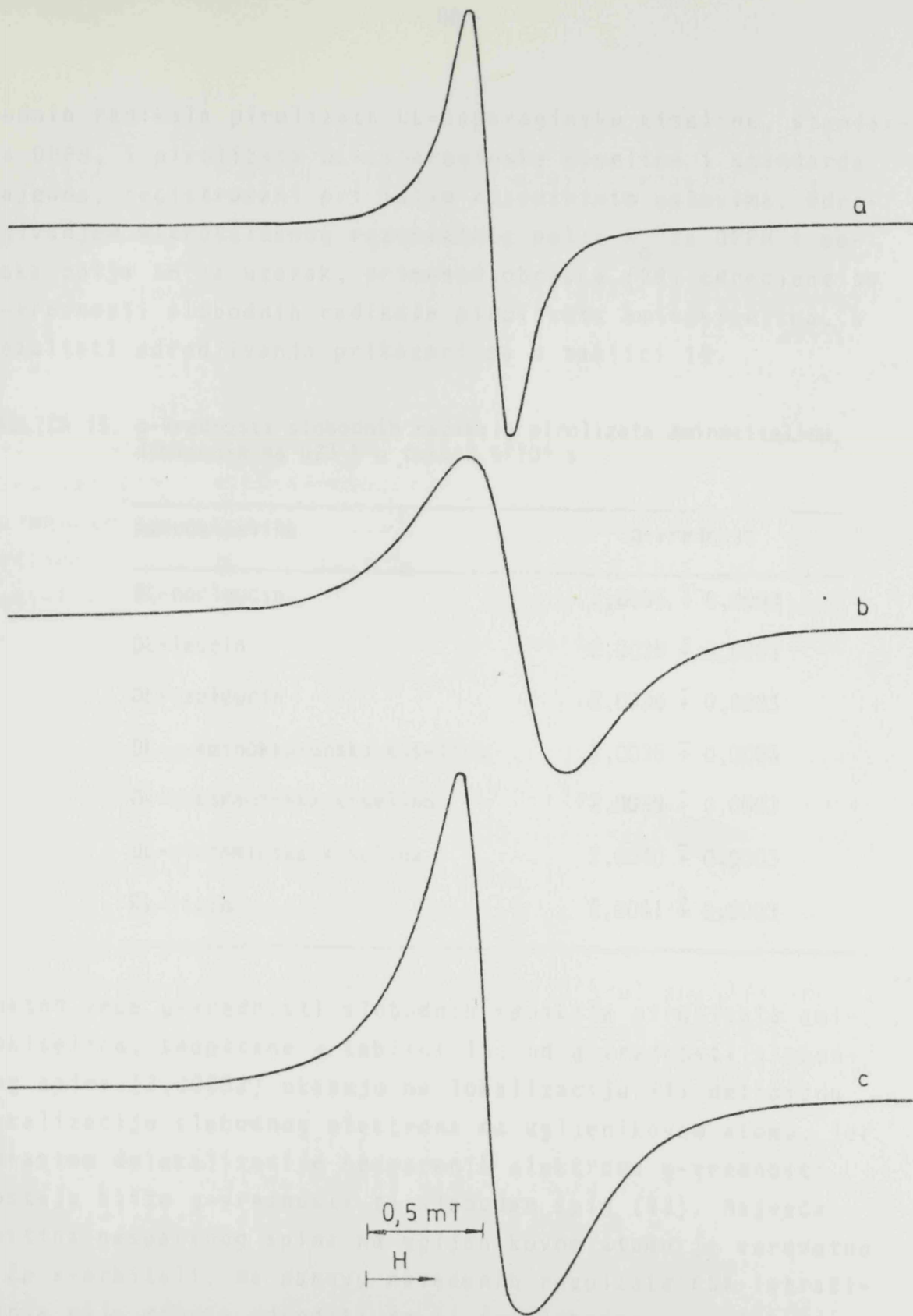
Ispitivanjem zavisnosti širine linije ESR spektara slobodnih radikala pirolizata DL-lizina od temperature pirolize, uočeno je da sa porastom temperature pirolize od 523 do 623 K širina linije opada od 0,636 do 0,601 mT, a zatim sa porastom temperature od 623 do 823 K raste od 0,601 do 0,799 mT. Navedene promene širine linije ESR spektara i ovde su najverovatnije rezultat malih promena spin-spin interakcija između elektrona i α -protona. Porastom temperature pirolize od 523 do 623 K, zbog velike koncentracije spinova, neznatno se smanjuju spin-spin interakcije, čime se spin-spin relaksaciono vreme T_2 malo produžava, što prema izrazu (18) vodi smanjenju širine ESR linije. Daljim porastom temperature pirolize od 623 do 823 K spin-spin interakcija se postepeno povećava, spin-spin relaksaciono vreme T_2 se skraćuje, pa širina linije raste (50, 87).

Analizom rezultata ispitivanja širine linije ESR spektara pirolizata DL-asparaginske kiseline takodje je uočeno da sa porastom temperature pirolize od 523 do 723 K širina linije opada od 0,403 do 0,117 mT, a sa daljim porastom temperature od 723 do 823 K ona raste od 0,117 do 0,509 mT. Medjutim, ovde je uočeno da je širina linije ESR spektara slobodnih radikala dobijenih pirolizom na 523, 573, 773 i 823 K rezultat preovladavanja spin-spin interakcija između elektrona i α -protona, a kod ESR spektara slobodnih radikala dobijenih pirolizom na 623, 673 i 723 K širina linije je rezultat preovladavanja efekta izmene ili delokalizacije, kojom se stabilizuje gornji Zeeman-ov nivo i znatno produžava spin-spin relaksaciono vreme T_2 (50, 87, 91,92).

Rezultati ispitivanja zavisnosti širine linije ESR spektara ΔH_{p-p} , slobodnih radikala pirolizata aminokiselina od vremena trajanja pirolize na 623 K, prikazani u tablici 14, ukazuju da vreme trajanja pirolize ne utiče na širinu linije ESR signala, pošto se kod svih ispitivanih pirolizata aminokiselina širina linije ESR spektra ne menja u toku pirolize od $0,72 \cdot 10^3$ do $10,8 \cdot 10^3$ s, što je i očekivano, s obzirom da proces relaksacije ne zavisi od vremena trajanja reakcije (48).

Za dalje odredjivanje prirode i strukture slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina potrebno je odrediti g-vrednost, koja je osetljiva na hemijsku okolinu nesparenog elektrona.

Odredjivanje g-vrednosti slobodnih radikala nastalih pirolizom DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glumatiinske kiseline i DL-lizina na temperaturi od 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, vršeno je u odnosu na standard, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) čija apsolutna g-vrednost iznosi $2,0036 \pm 0,0002$. Na slici 29 prikazani su ESR spektri slo-



Slika 29. ESR spektri slobodnih radikala: (a) pirolizata DL-asparaginske kiseline dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, (b) standarda DPPH i (c) pirolizata DL-asparaginske kiseline i DPPH zajedno, registrovani pri istim rezonantnim uslovima

bodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline, standarda DPPH, i pirolizata DL-asparaginske kiseline i standarda zajedno, registrovani pri istim rezonantnim uslovima. Određivanjem mikrotalasnog rezonantnog polja H_0 za DPPH i pomaka polja ΔH za uzorak, primenom obrasca (29) određene su g-vrednosti slobodnih radikala pirolizata aminokiselina, a rezultati određivanja prikazani su u tablici 15.

TABLICA 15. g-Vrednosti slobodnih radikala pirolizata aminokiselina, dobijenih na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s

Aminokiselina	g-vrednost
DL-norleucin	$2,0036 \pm 0,0003$
DL-leucin	$2,0036 \pm 0,0003$
DL-izoleucin	$2,0036 \pm 0,0003$
DL- ϵ -aminokapronska kiselina	$2,0036 \pm 0,0003$
DL-asparaginska kiselina	$2,0039 \pm 0,0003$
DL-glutaminska kiselina	$2,0040 \pm 0,0003$
DL-lizin	$2,0041 \pm 0,0003$

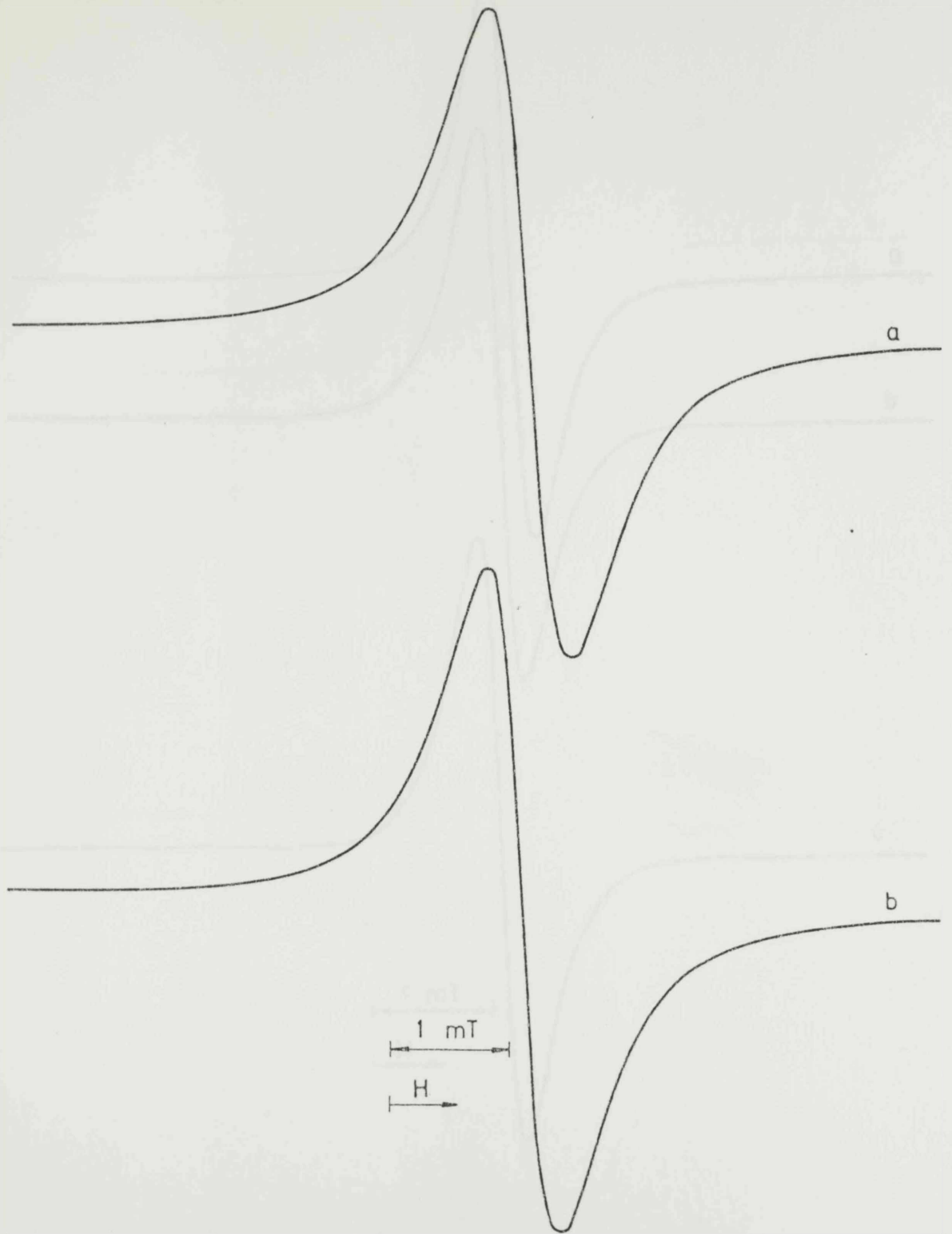
Znatno veće g-vrednosti slobodnih radikala pirolizata aminokiselina, saopštene u tablici 15, od g-vrednosti slobodnog spina (2,00232) ukazuju na lokalizaciju ili delimičnu lokalizaciju slobodnog elektrona na ugljenikovom atomu, jer porastom delokalizacije nesparenih elektrona g-vrednosti postaju bliže g-vrednosti za slobodan spin (93). Najveća gustina nesparenog spina na ugljenikovom atomu je verovatno u 2p π -orbitali. Na osnovu navedenih rezultata ESR istraživanja nije moguće odrediti da li je slobodan spin lokalizovan ili delimično lokalizovan na ugljenikovom atomu karbonilne ili metilen grupe ili na ugljenikovom atomu za koji je vezana amino grupa. Navedene g-vrednosti slobodnih radikala pirolizata aminokiselina ne isključuju mogućnost loka-

lizacije slobodnog spina na kiseonikovom i azotovom atomu (59-66), pa se može pretpostaviti da pirolizom aminokiselina nastaju alkil ili supstituisani alkil, peroksid i azot radikali.

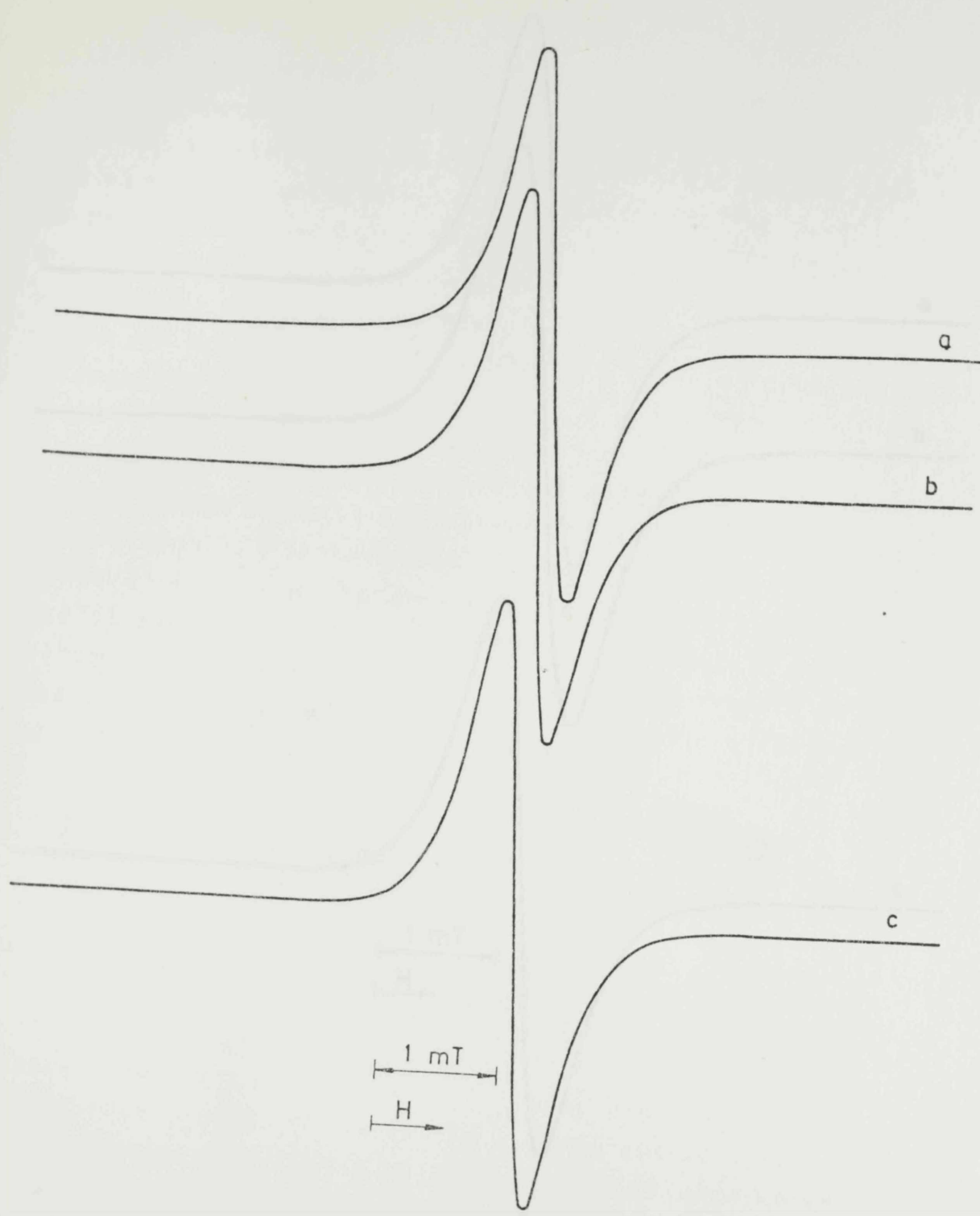
Veće g-vrednosti slobodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina u odnosu na g-vrednosti slobodnih radikala DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina i DL- ϵ -aminokapronske kiseline pripisuju se većem sadržaju heteroatoma, kiseonika i azota, u monoamino-dikarbonskim i diaminomonokarbonskim kiselinama, u odnosu na monoaminomonokarbonske kiseline. Neznatne razlike u g-vrednostima slobodnih radikala DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina su očekivane pošto radikali sa azotom imaju g-vrednosti slične radikalima koji sadrže kiseonik (92).

Ispitivanje uticaja kiseonika na stabilnost slobodnih radikala u pirolizatima DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina, vršeno je poredjenjem rezultata ESR spektroskopske analize pirolizata dobijenih zagrevanjem pri normalnom pritisku (101,3 KPa) i pri smanjenom pritisku ($1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa, u vakuumu). Analizom ESR spektara slobodnih radikala ispitivanih pirolizata aminokiselina (slika 30) utvrđeno je da se oblik i širina linija ESR signala ne menjaju kod ESR spektara slobodnih radikala dobijenih u vakuumu u odnosu na oblik i širinu linija koje su određene za slobodne radikale pirolizata dobijenih pri normalnom pritisku. Navedeni rezultati ukazuju da kiseonik ne utiče na oblik i širinu linija ESR signala slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, što znači da je slobodan radikal zaštićen unutar polimerne matrice (94).

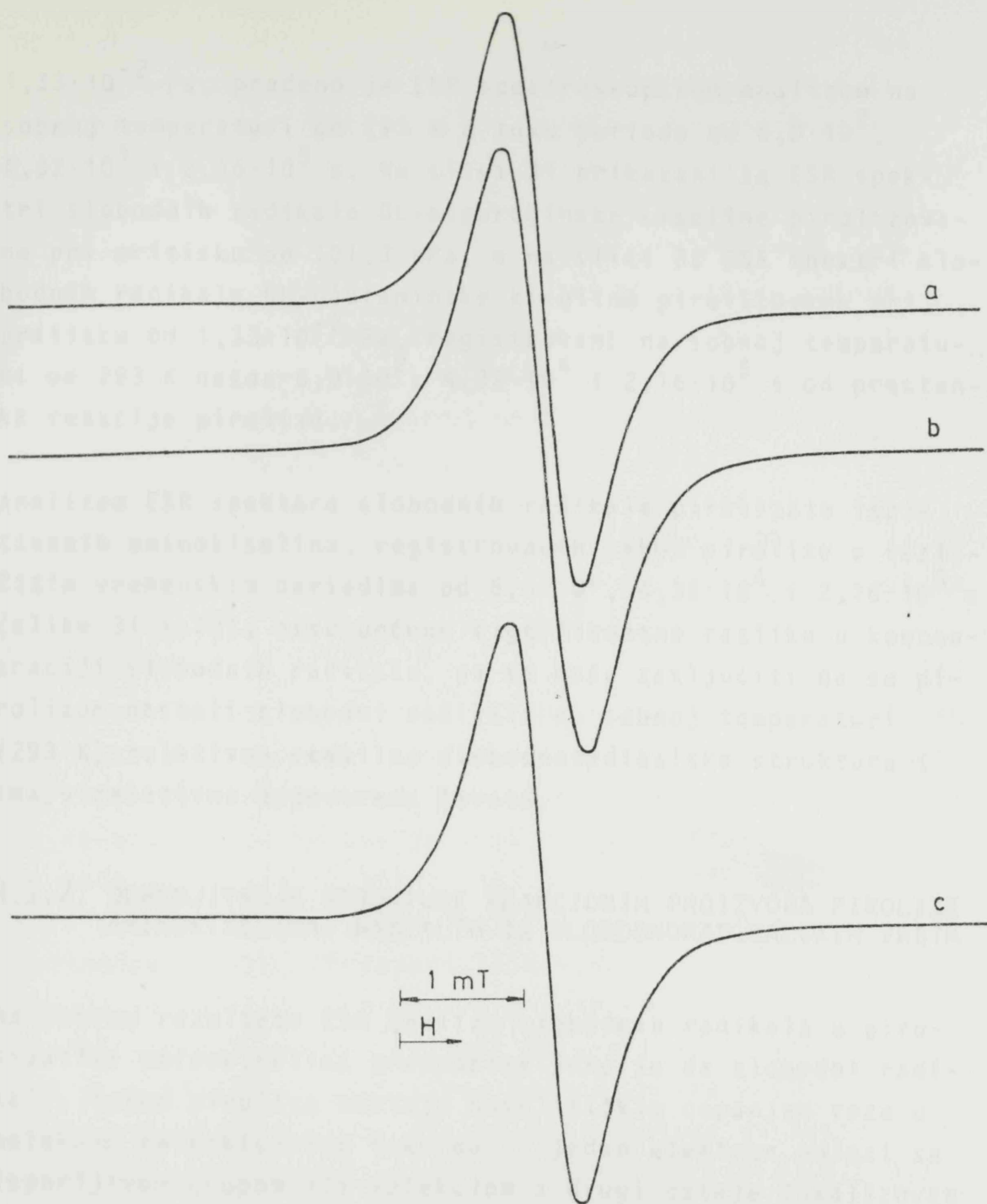
Ispitivanje vremena života slobodnih radikala pirolizata aminokiselina dobijenih zagrevanjem na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s pri normalnom pritisku od 101,3 KPa i pri pritisku od



Slika 30. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-lizina dobijenih na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s (a) pri normalnom pritisku od 101,3 KPa i (b) pri pritisku od $1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa.



Slika 31. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenih na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, pri pritisku od 101,3 kPa, registrovani na 293 K nakon (a) $6,0 \cdot 10^2$, (b) $4,32 \cdot 10^4$ i (c) $2,16 \cdot 10^5$ s od prestanka reakcije pirolize



Slika 32. ESR spektri slobodnih radikala pirolizata DL-glutaminske kiseline, dobijenih na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, pri pritisku od $1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa, registrovani na 293 K nakon (a) $6,0 \cdot 10^2$, (b) $4,32 \cdot 10^4$ i (c) $2,16 \cdot 10^5$ s od prestanka reakcije pirolize

$1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa, praćeno je ESR spektroskopskom analizom na sobnoj temperaturi od 293 K u toku perioda od $6,0 \cdot 10^2$, $4,32 \cdot 10^4$ i $2,16 \cdot 10^5$ s. Na slici 31 prikazani su ESR spektri slobodnih radikala DL-asparaginske kiseline pirolizovane pri pritisku od 101,3 KPa, a na slici 32 ESR spektri slobodnih radikala DL-glutaminske kiseline pirolizovane pri pritisku od $1,33 \cdot 10^{-2}$ Pa, registrovani na sobnoj temperaturi od 293 K nakon $6,0 \cdot 10^2$, $4,32 \cdot 10^4$ i $2,16 \cdot 10^5$ s od prestanka reakcije pirolize.

Analizom ESR spektara slobodnih radikala pirolizata ispitivanih aminokiselina, registrovanih nakon pirolize u različitim vremenskim periodima od $6,0 \cdot 10^2$, $4,32 \cdot 10^4$ i $2,16 \cdot 10^5$ s (slike 31 i 32), nisu uočene signifikantne razlike u koncentraciji slobodnih radikala, pa se može zaključiti da su pirolizom nastali slobodni radikali na sobnoj temperaturi (293 K) relativno stabilne slobodnoradikalne strukture i imaju relativno dugo vreme života.

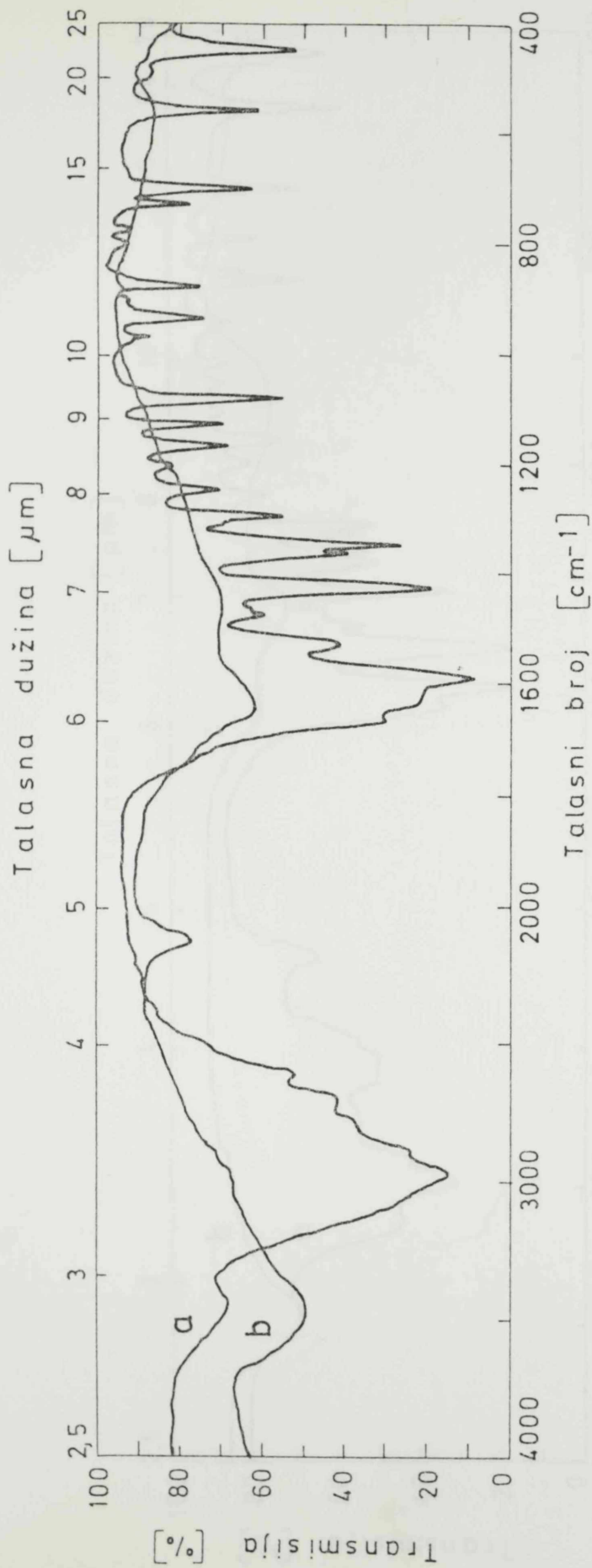
4.1.2. ODREĐIVANJE STRUKTURE REAKCIONIH PROIZVODA PIROLIZE AMINOKISELINA, NASTALIH IZ SLOBODNORADIKALSKIH VRSTA

Na osnovu rezultata ESR analize slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina pretpostavljeno je da slobodni radikali, tokom pirolize nastaju homolitičkim cepanjem veze u molekulu aminokiseline tako da jedan elektron odlazi sa isparljivom grupom ili molekulom a drugi ostaje lokalizovan ili delimično lokalizovan na ugljenikovom, kiseonikovom, ili azotovom atomu u čvrstoj matrici koja se preuredjuje kondenzacijom. ESR signali slobodnih radikala, nastalih pirolizom aminokiselina, ne pružaju mogućnost određivanja njihove strukture, jer su predstavljeni simetričnom linijom bez hiperfine strukture i anizotropije g-vrednosti. Da bi se na neki način potvrdila navedena pretpostavka o nastajanju i prirodi slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina, izvršeno je određivanje strukture proizvoda pirolize infra-crvenom spektroskopskom analizom pirolizata DL-norleucina,

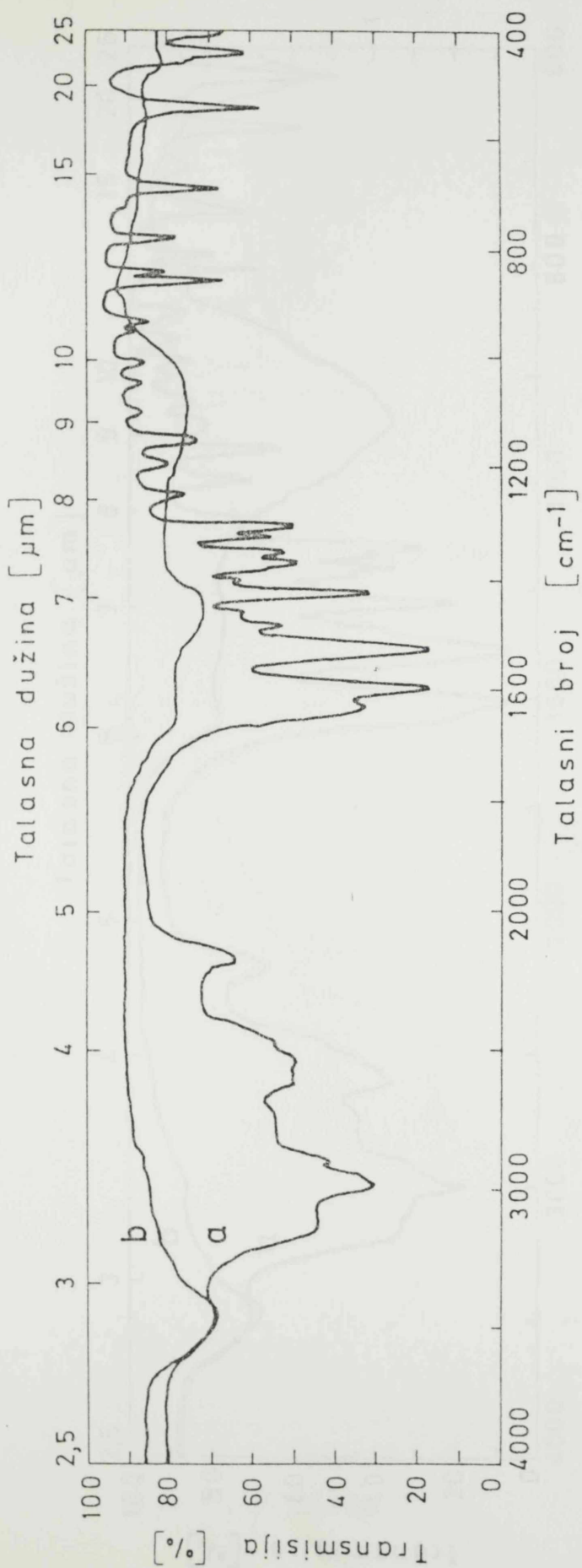
DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina. Infracrveni (IR) spektri termički ne tretiranih i pirolizovanih aminokiselina na temperaturi od 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s, prikazani su na slikama 33-39. Usporedjivanjem IR spektara aminokiselina i IR spektara pirolizata aminokiselina uočeno je da u IR spektrima pirolizata aminokiselina nedostaju apsorpcione trake COO^- asimetrične valencione vibracije u oblasti od 1560 cm^{-1} ($6,4 \mu$) do 1600 cm^{-1} ($6,25 \mu$) i simetrične vibracije u blizini 1400 cm^{-1} ($7,05 \mu$), zatim intenzivna apsorpciona traka na približno 3000 cm^{-1} ($3,33 \mu$) kao i dve apsorpcione trake simetričnih i asimetričnih valencionih vibracija u oblasti od 1500 cm^{-1} ($6,67 \mu$) do 1600 cm^{-1} ($6,25 \mu$) koje potiču od NH_3^+ -grupe, a zapažena je CONH_2 amidna traka na približno 1650 cm^{-1} ($6,06 \mu$).

Rezultati infracrvene spektroskopske analize pirolizata aminokiselina ukazuju da se tokom pirolize aminokiselina odvija reakcija dehidrokondenzacije, odnosno da prekursori proizvoda reakcija koje se odvijaju uz nastajanje slobodnih radikala vode kondenzaciji aminokiselina uz eliminaciju vode. Struktura glavnog proizvoda je zbog toga pretpostavljena kao kod poliaminokiselina. Pretpostavljena struktura reakcionog proizvoda je potvrđena hromatografskom analizom, razdvajanjem hidrolizovanih (vodeni rastvor HCl, koncentracije 6 mola/dm^3 ; 378 K; $8,64 \cdot 10^4$ s) pirolizata aminokiselina (623 K; $3,6 \cdot 10^3$ s) na tankom sloju mikrokristalinične celuloze sa smešom rastvarača izopropanol-mravlja kiselina-voda (40:2:10). Rezultati TLC analize prikazani su na slici 40.

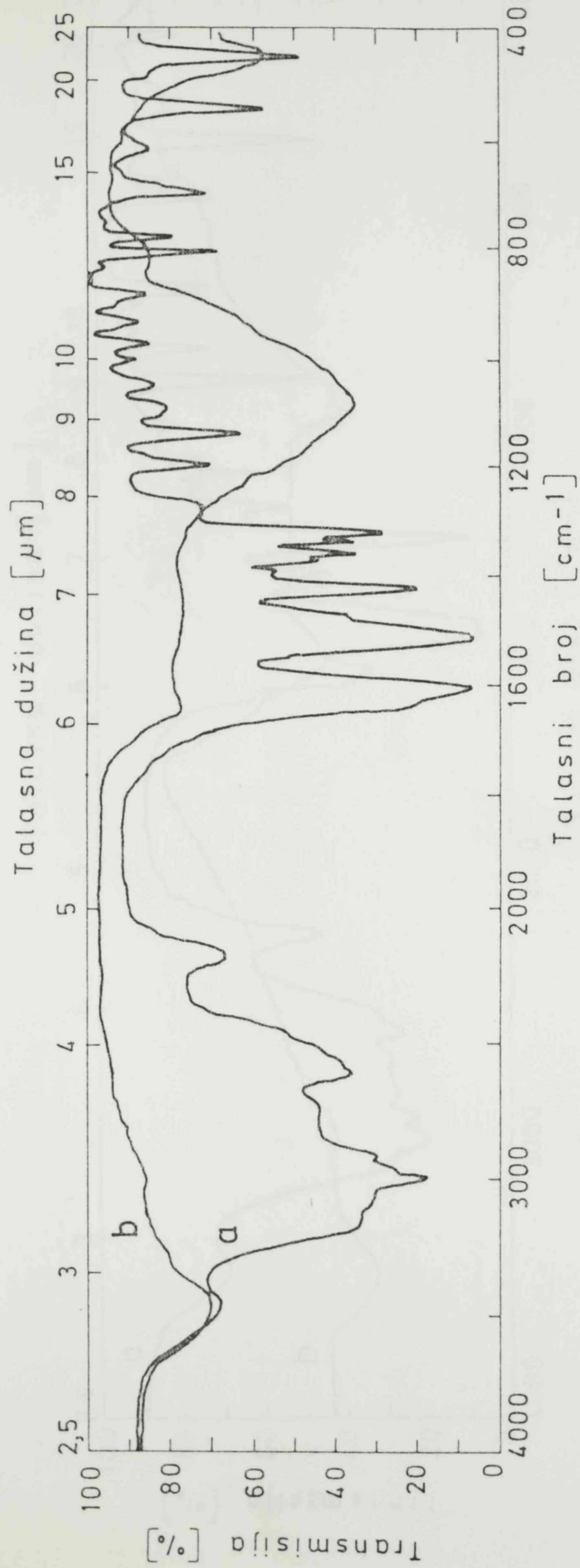
Uvodjenjem gasovitih proizvoda pirolize ispitivanih aminokiselina u Ba(OH)_2 i Nessler-ov reagens utvrđeno je prisustvo CO_2 i NH_3 . Nastajanje ugljendioksida i amonijaka, kao reakcionih proizvoda tokom pirolize aminokiselina, ukazuje da slobodnoradikalne vrste, kao međuproizvodi, mogu nastati ne samo dehidrokondenzacijom već i deaminacijom i oksidacijom (68). Slobodni radikali, nastali na ovaj način,



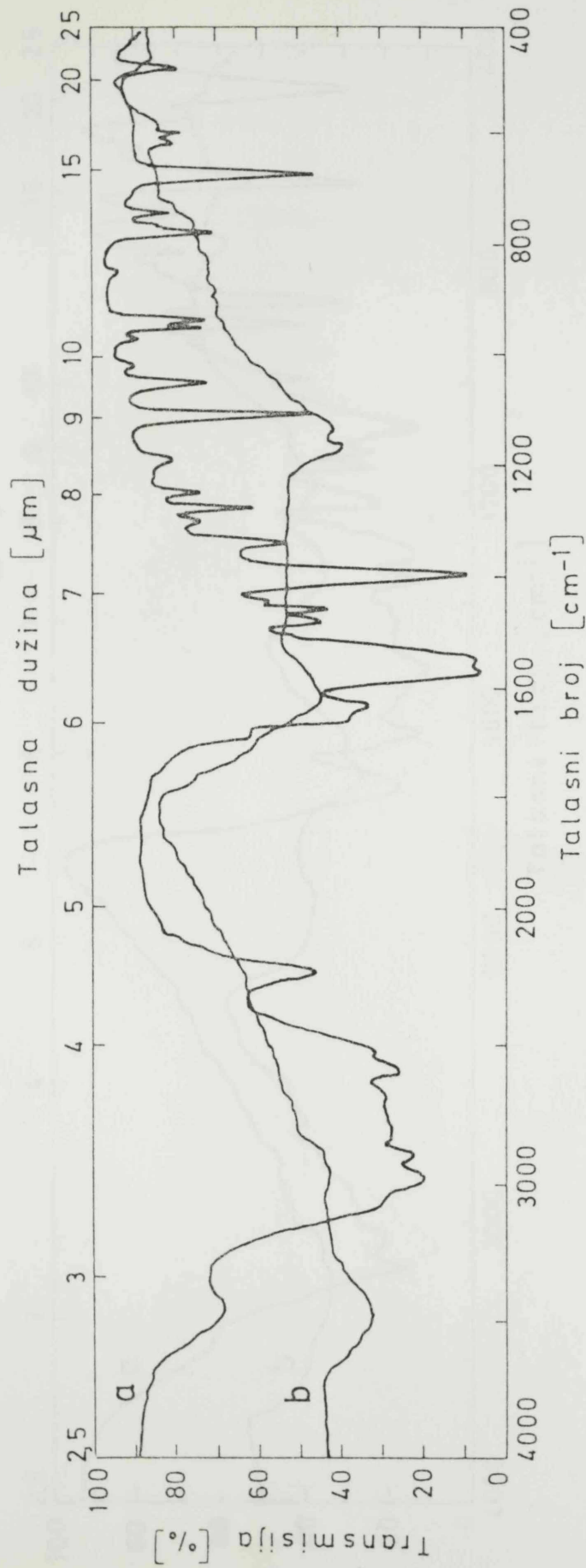
Slika 33. Infracrveni spektri (a) DL-norleucina i (b) pirolizata DL-norleucina, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s



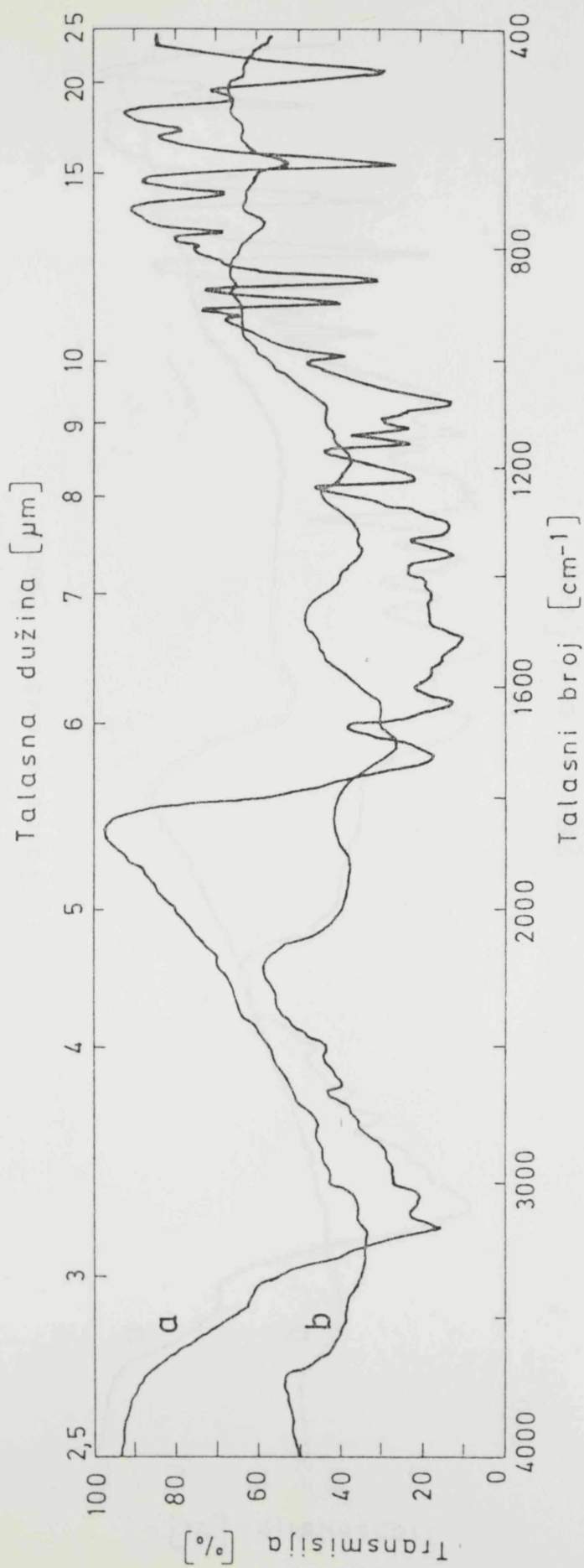
Slika 34. Infracrveni spektri (a) DL-leucina i (b) pirolizata DL-leucina, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s



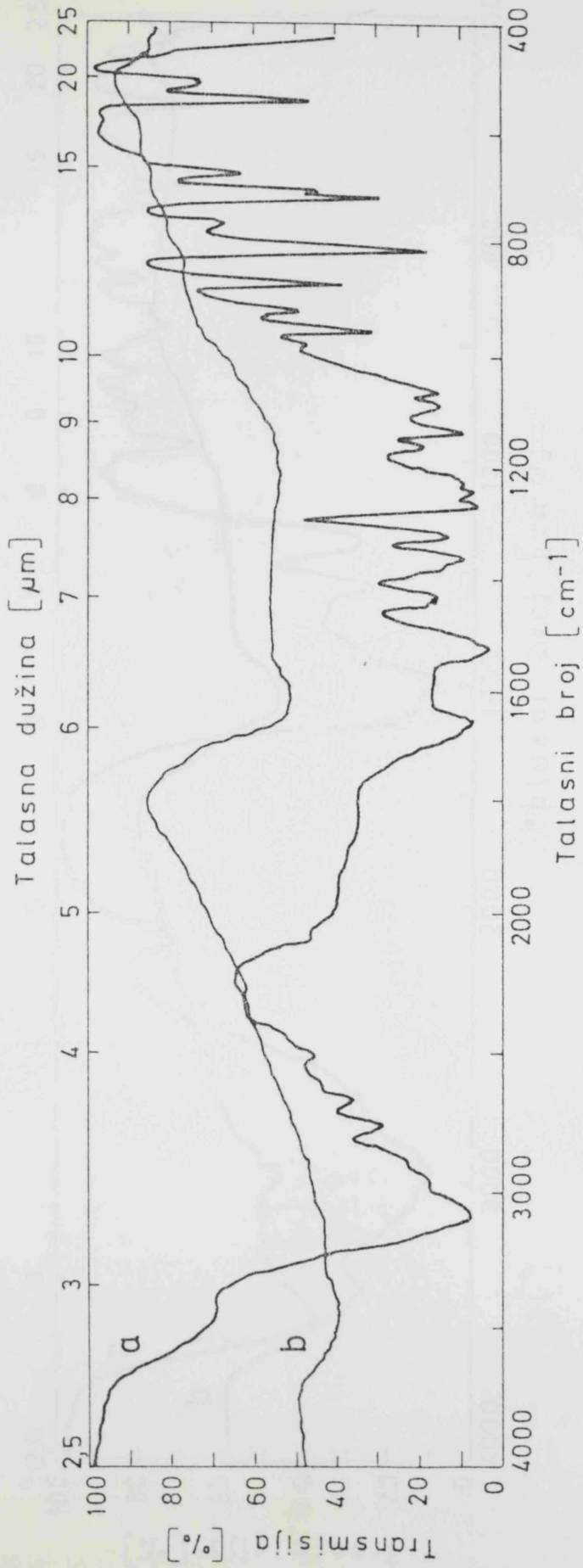
Slika 35. Infracrveni spektri (a) DL-izoleucina i (b) pirolizata DL-izoleucina, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s



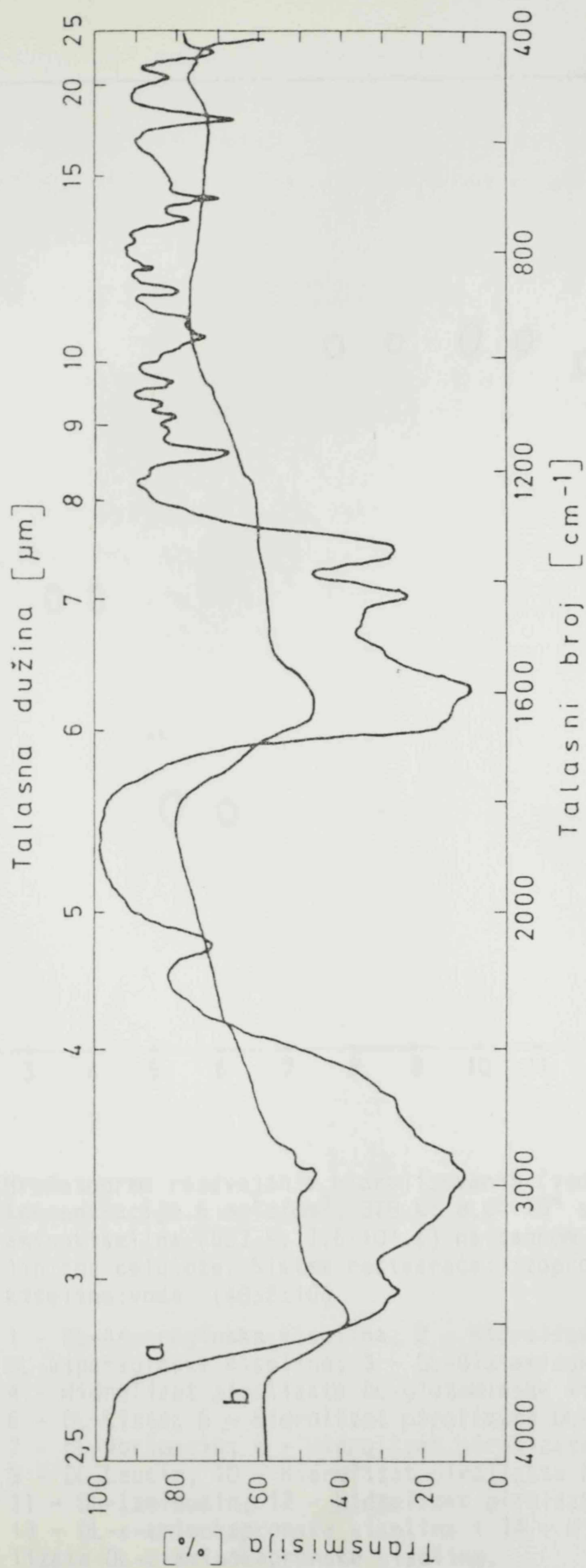
Slika 36. Infracrveni spektri (a) DL-ε-aminokaproonske kiseline i (b) pirolizata DL-ε-aminokaproonske kiseline, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s



Slika 37. Infracrveni spektri (a) DL-asparaginske kiseline i (b) pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s

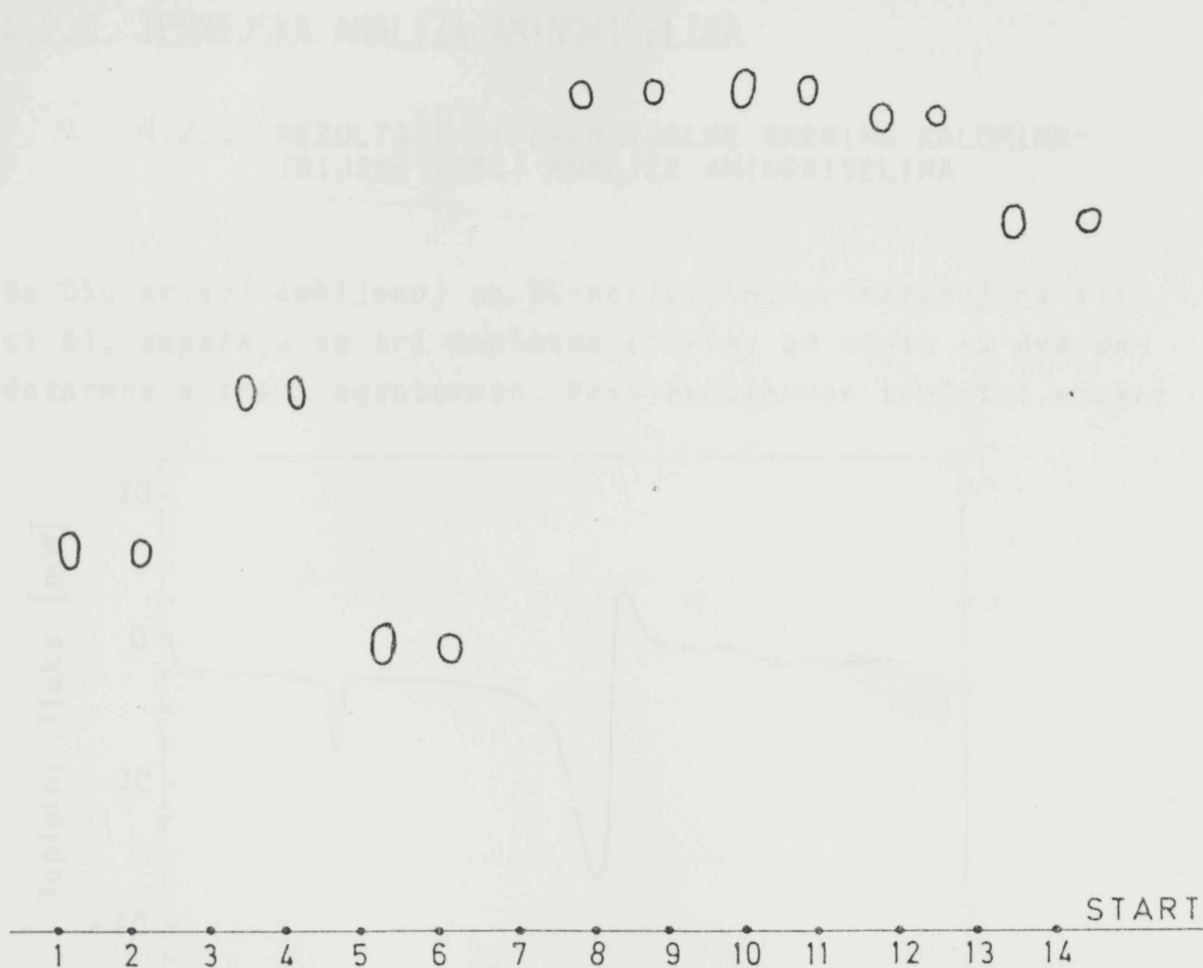


Slika 38. Infracrveni spektri (a) DL-glutaminske kiseline i (b) pirolizata DL-glutaminske kiseline, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s



Slika 39. Infracrveni spektri (a) DL-lizina i (b) pirolizata DL-lizina, dobijenog na 623 K u toku $3,6 \cdot 10^3$ s

FRONT



Slika 40. Hromatogram razdvajanja hidrolizovanih (vodeni rastvor HCl, koncentracije 6 mola/dm³; 378 K; 8,64·10⁴ s) pirolizata aminokiselina (623 K; 3,6·10³ s) na tankom sloju mikrokristalinične celuloze. Sistem rastvarača: izopropanol:mravlja kiselina:voda (40:2:10)

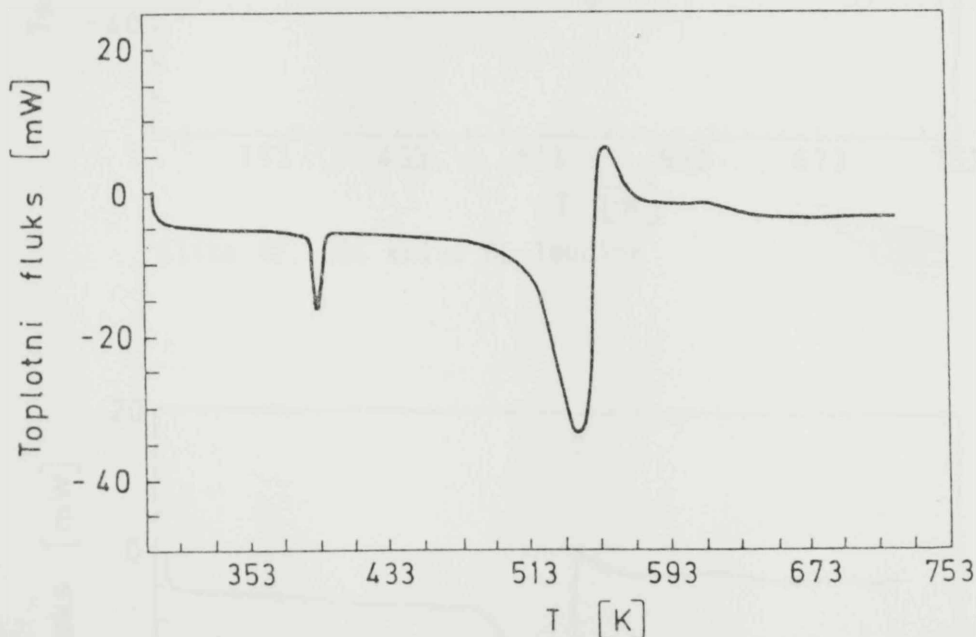
- 1 - DL-Asparaginska kiselina; 2 - Hidrolizat pirolizata DL-asparaginske kiseline; 3 - DL-Glutaminska kiselina;
- 4 - Hidrolizat pirolizata DL-glutaminske kiseline;
- 5 - DL-Lizin; 6 - Hidrolizat pirolizata DL-lizina;
- 7 - DL-Norleucin; 8 - Hidrolizat pirolizata DL-norleucina;
- 9 - DL-Leucin; 10 - Hidrolizat pirolizata DL-norleucina;
- 11 - DL-Izoleucin; 12 - Hidrolizat pirolizata DL-izoleucina;
- 13 - DL-ε-aminokapronska kiselina i 14 - Hidrolizat pirolizata DL-ε-aminokapronske kiseline.

koji uključuju ugljenik i peroksid radikale, se najverovatnije stabilizuju dajući kompleksne proizvode, protenoide i heteropolimere tipa huminskih kiselina ili melamina, koje je u pirolizatima aminokiselina identifikovao Lavrent'ev (26).

4.2.0. TERMIJSKA ANALIZA AMINOKISELINA

4.2.1. REZULTATI DIFERENCIJALNE SKENING KALORIMETRIJSKE (DSC) ANALIZE AMINOKISELINA

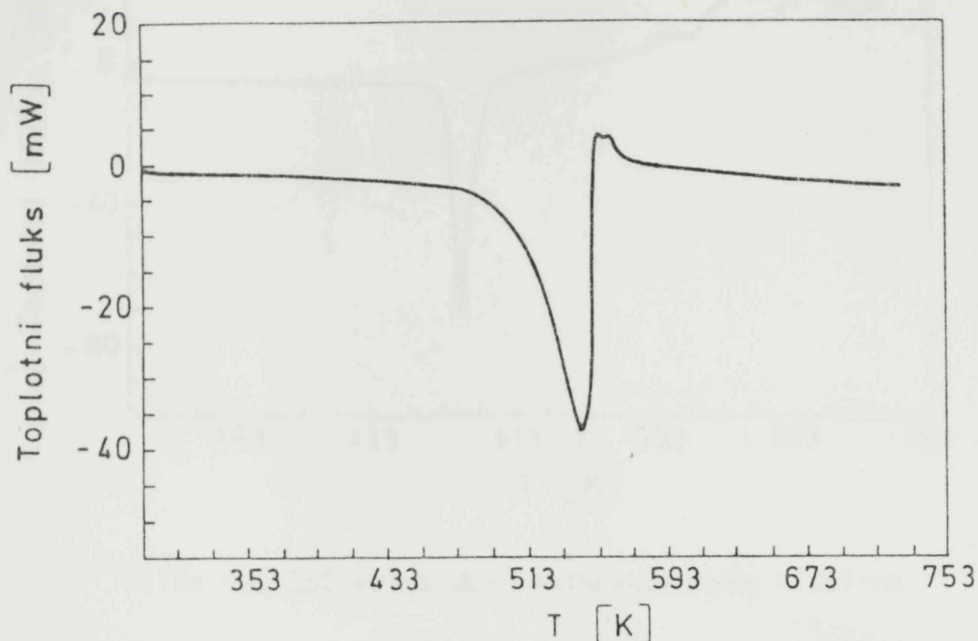
Na DSC krivoj dobijenoj za DL-norleucin, prikazanoj na slici 41, zapažaju se tri toplotna efekta, od kojih su dva endotermna a treći egzoterman. Prvi endoterman toplotni efekat



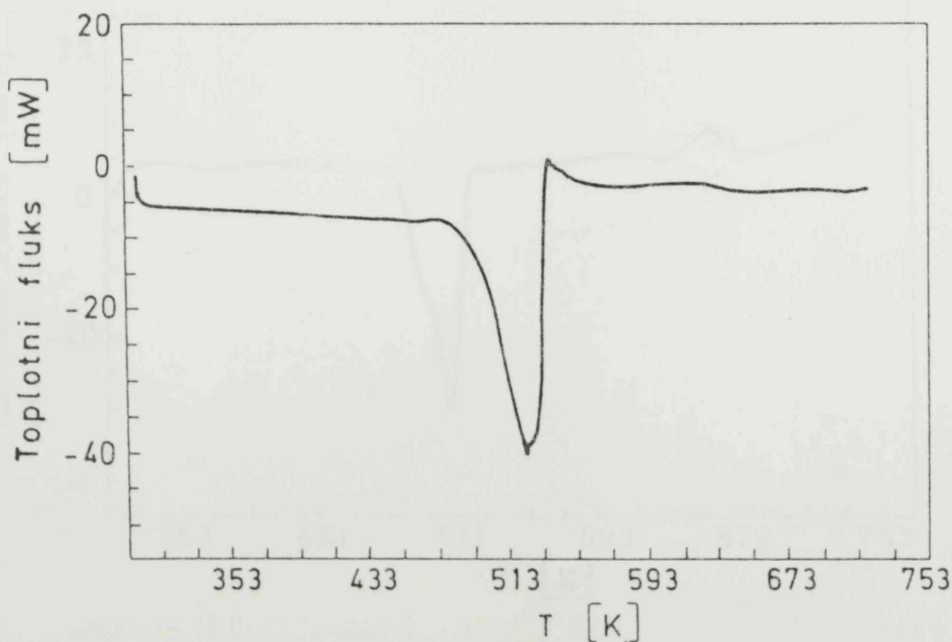
Slika 41. DSC kriva DL-norleucina

započinje na 388,55 K a DSC kriva dostiže svoj prvi minimum na 391,25 K. Ovaj efekat se pripisuje reverzibilnoj strukturnoj transformaciji DL-norleucina u D(+)-norleucin ili D(-)-norleucin. Drugi endoterman toplotni efekat započinje na 511 K a svoj minimum dostiže na 541 K i pripisuje se parcijalnoj sublimaciji i razlaganju ove aminokiseline (95).

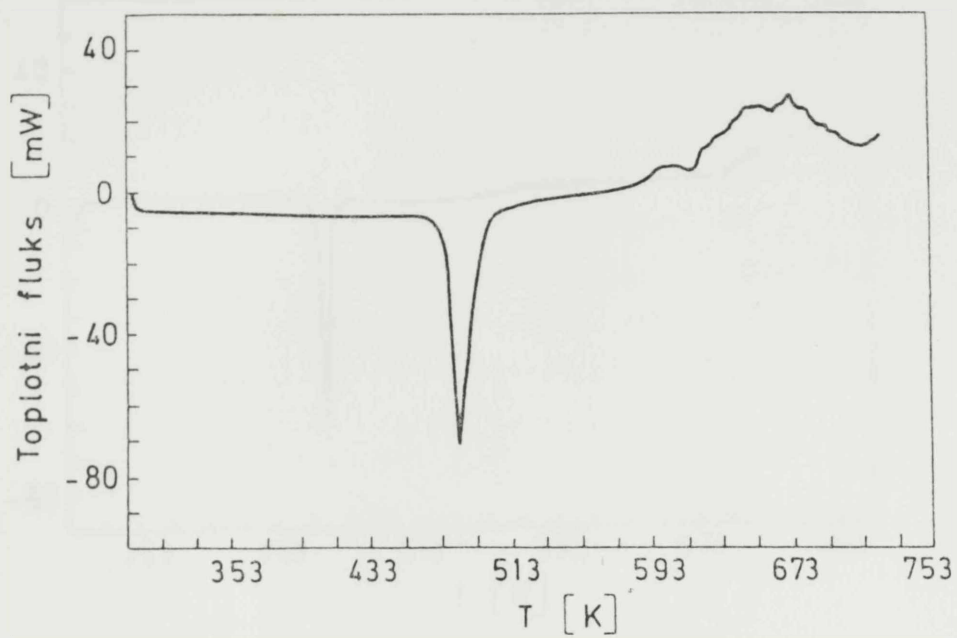
Treći toplotni efekat se nadovezuje na drugi i zapaža se kao maksimum na temperaturi od 557 K. Ovaj egzoterman toplotni efekat ukazuje na složenost mehanizma procesa toplotnog razlaganja DL-norleucina, koji se odvija uz stvaranje medjuproizvoda i njihovu razgradnju, što izaziva poseban toplotni efekat.



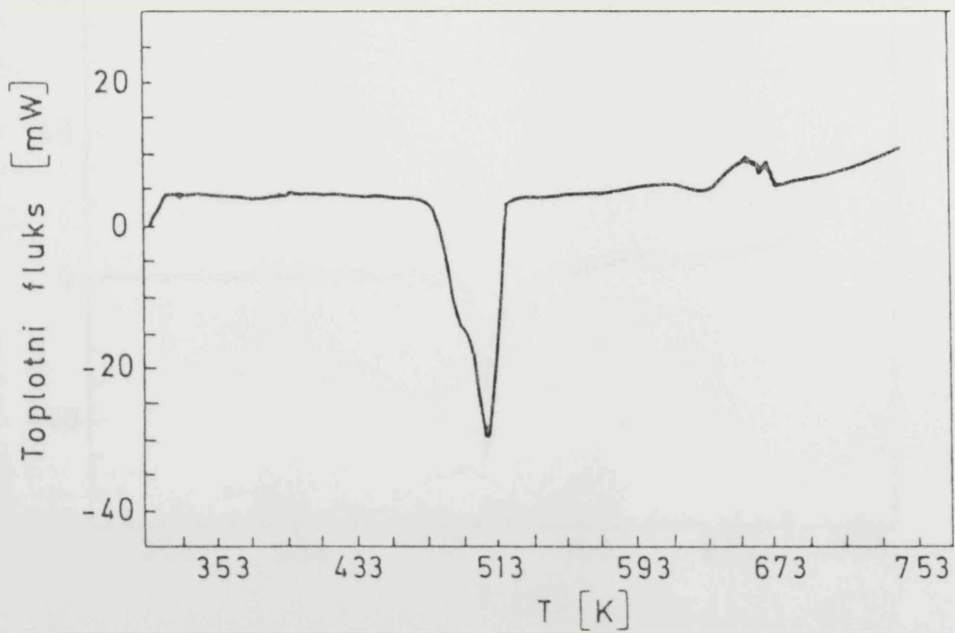
Slika 42. DSC kriva DL-leucina



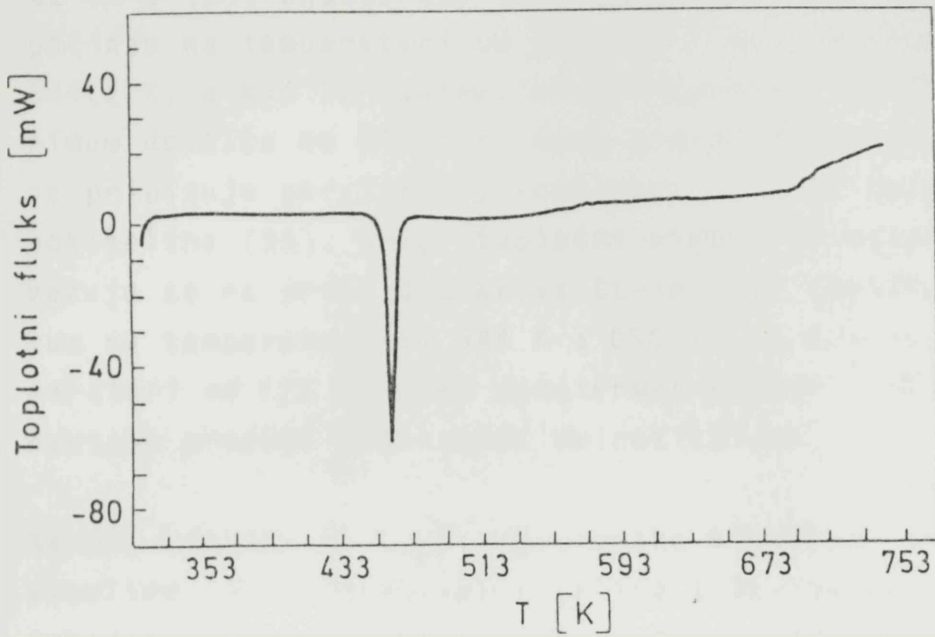
Slika 43. DSC kriva DL-izoleucina



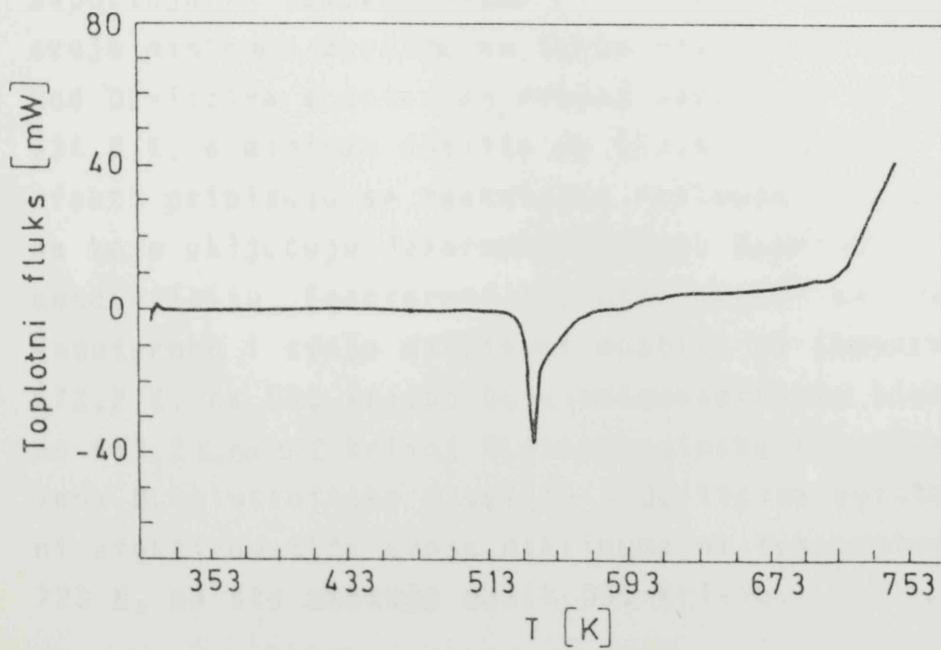
Slika 44. DSC kriva DL-ε-aminokaproinske kiseline



Slika 45. DSC kriva DL-asparaginske kiseline



Slika 46. DSC kriva DL-glutaminske kiseline



Slika 47. DSC kriva DL-lizina

Na DSC krivama DL-leucina i DL-izoleucina mogu se razlikovati dva toplotna efekta i to endoterman i egzoterman (slike 42 i 43). Endoterman toplotni efekat kod DL-leucina započinje na temperaturi od 508,6 K i svoj minimum dostiže na 544,2 K, a kod DL-izoleucina on započinje na 491,7 K a minimum dostiže na 523,6 K. Ovaj endoterman toplotni efekat se pripisuje parcijalnoj sublimaciji i razlaganju ovih aminokiselina (95). Drugi toplotni efekat je egzoterman i nadovezuje se na prvi. DSC kriva DL-leucina dostiže svoj maksimum na temperaturi od 544 K a DSC kriva DL-izoleucina na temperaturi od 523 K. Ovaj egzoterman efekat izaziva složen mehanizam procesa razlaganja aminokiselina.

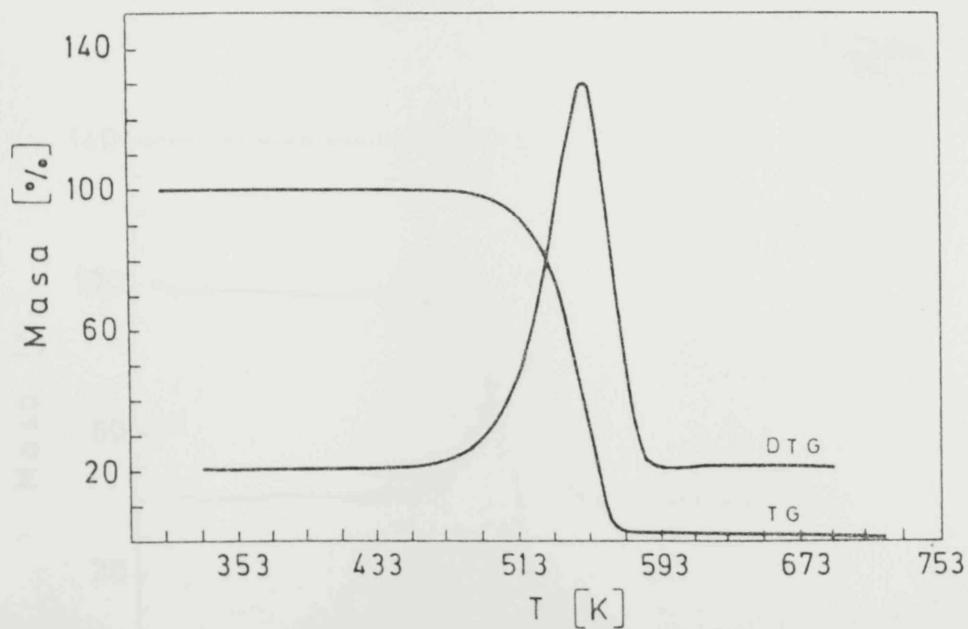
Na DSC krivama DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina (slike 44-47) takodje su uočena dva toplotna efekta, endoterman i egzoterman, koji se nadovezuju jedan na drugi. Endoterman toplotni efekat kod DL- ϵ -aminokapronske kiseline započinje na temperaturi od 476,1 K, a svoj minimum dostiže na 482,8 K. Kod DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline ovi efekti započinju na temperaturama od 484,8 K, odnosno 455,2 K, a svoje minimume dostižu na temperaturama od 507,5 i 460,8 K. Kod DL-lizina endoterman efekat započinje na temperaturi od 534,8 K, a minimum dostiže na 539,8 K. Navedeni endotermni efekti pripisuju se reakcijama razlaganja ovih aminokiselina koje uključuju dekarboksilaciju, deaminaciju i dehidro-kondenzaciju. Egzotermni toplotni efekti se nadovezuju na endotermne i svoje maksimume dostižu na temperaturama od 672,2 K, na DSC krivoj DL- ϵ -aminokapronske kiseline, odnosno 669,2 K, na DSC krivoj DL-asparaginske kiseline. Na DSC krivama DL-glutaminske kiseline i DL-lizina egzotermni toplotni efekti dostižu svoje maksimume na temperaturama višim od 723 K, na šta ukazuje oblik DSC krivih.

Na osnovu rezultata DSC analize ispitivanih aminokiselina može se zaključiti da toplotno razlaganje aminokiselina zapo-

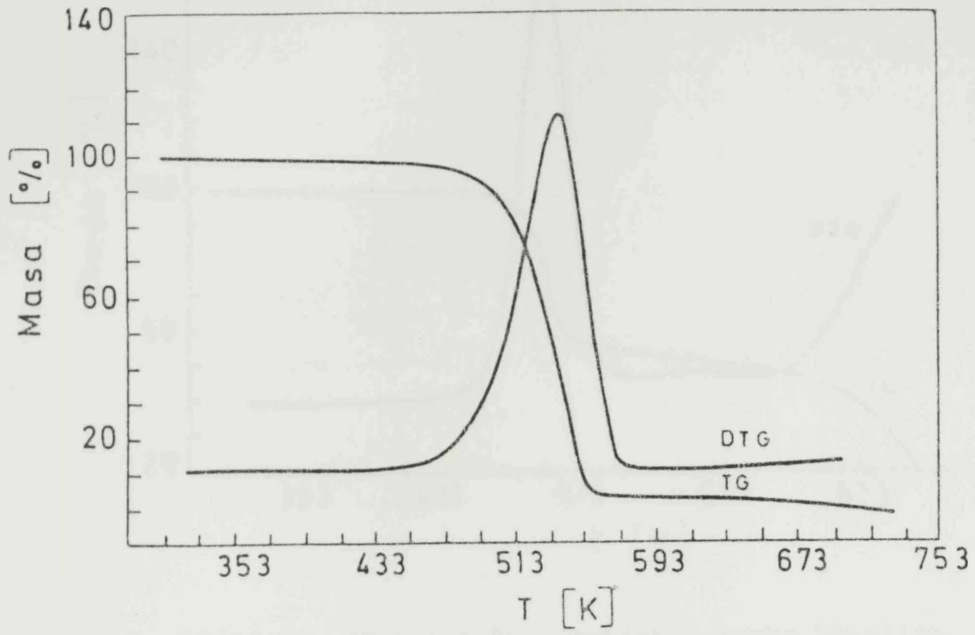
činje na temperaturi od 455 do 511 K i ne završava se na temperaturi od 723 K. Toplotno razlaganje aminokiselina praćeno je endotermnim i egzotermnim toplotnim efektima, koji se nadovezuju jedan na drugi, i ukazuju na složen mehanizam procesa razlaganja, koji uključuje reakcije dekarboksilacije, deaminacije, kondenzacije i depolimerizacije (4, 27).

4.2.2. REZULTATI TERMOGRAVIMETRIJSKE (TG) ANALIZE AMINOKISELINA

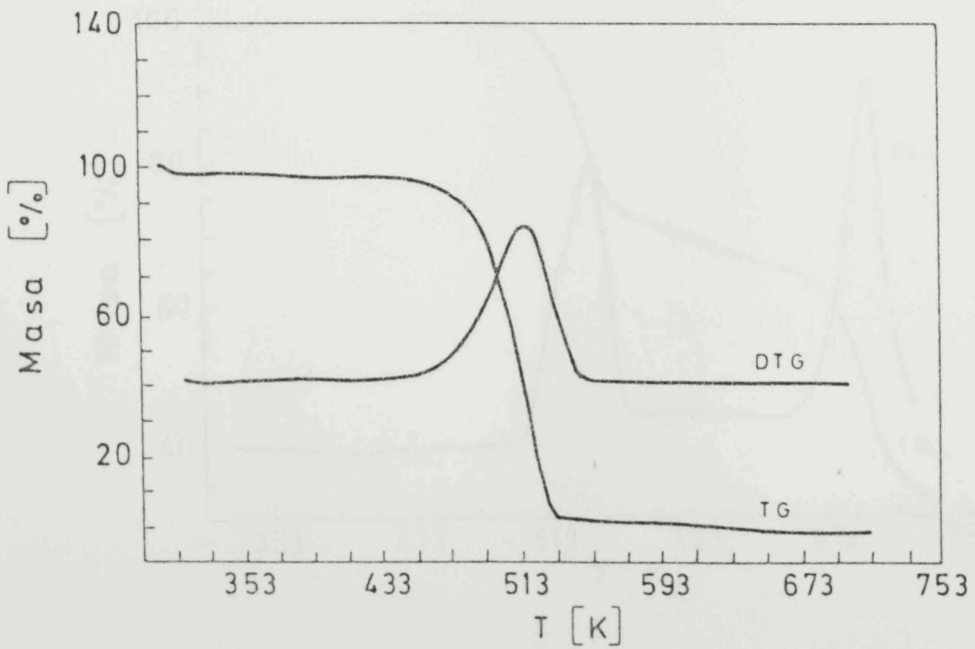
TG dijagrami DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina, koji prikazuju promenu mase od temperature zagrevanja u intervalu od 293 do 723 K, prikazani su na slikama 48-54.



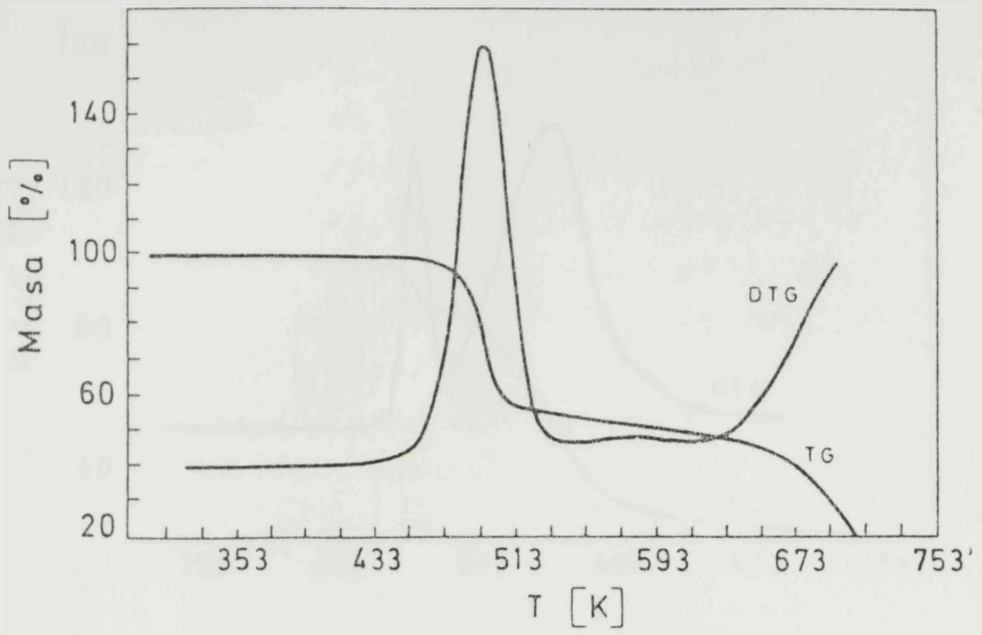
Slika 48. TG kriva DL-norleucina



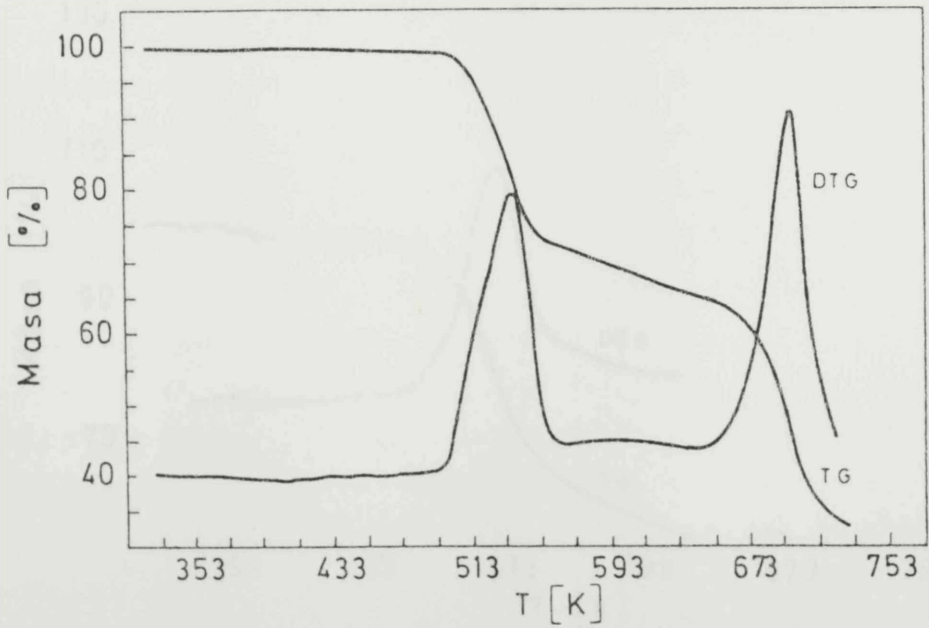
Slika 49. TG kriva DL-leucina



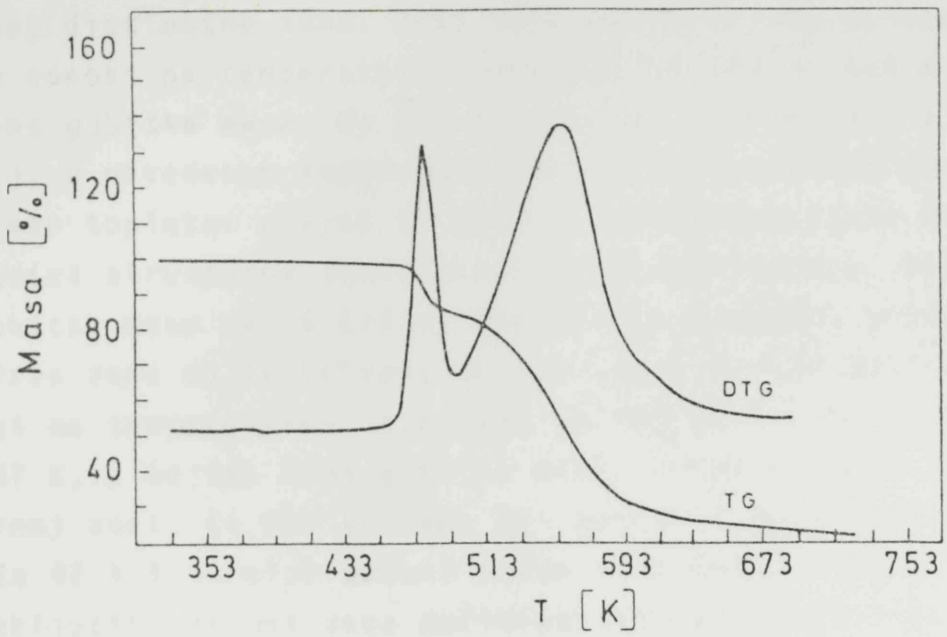
Slika 50. TG kriva DL-izoleucina



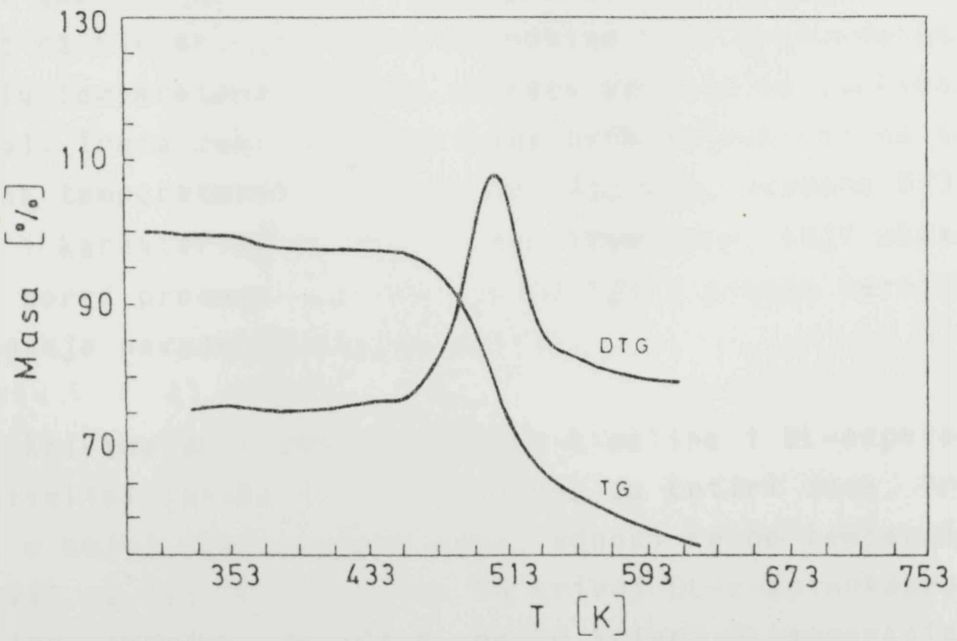
Slika 51. TG kriva DL-ε-aminokaproinske kiseline



Slika 52. TG kriva DL-asparaginske kiseline



Slika 53. TG kriva DL-glutaminske kiseline



Slika 54. TG kriva DL-lizina

Na TG dijagramima DL-norleucina, DL-leucina i DL-izoleucina (slike 48-50) uočeno je da se TG krive odlikuju sa tri odvojene, distinktnne zone. Prva zona na TG krivoj DL-norleucina se odnosi na temperaturni interval od 293 do 468 K u kome nema gubitka mase. Na DSC krivoj ove aminokiseline (slika 41), u navedenom temperaturnom intervalu, uočen je endoterman toplotni efekat za koji je predpostavljeno da je posledica strukturne transformacije DL-norleucina. Neuočeni gubitak mase na TG krivoj potvrđuje navedenu predpostavku. Prva zona na TG krivama DL-leucina i DL-izoleucina se odnosi na temperaturne intervale od 293 do 457 K, i od 293 do 447 K, u kojima nema gubitka mase. Pošto u prvoj temperaturnoj zoni, na DSC krivama DL-leucina i DL-izoleucina (slike 42 i 43), nisu uočeni nikakvi toplotni efekti, može se zaključiti da ova zona definiše termičku stabilnost ovih aminokiselina. Druga zona na TG krivama DL-norleucina, DL-leucina i DL-izoleucina obuhvata temperaturne intervale od 468 do 565 K, od 457 do 553 K, odnosno od 447 do 533 K i karakteriše se naglim gubitkom mase od 98% od ukupne mase. Ovakav gubitak mase potvrđuje predpostavku da toplotni efekat na DSC krivama istih aminokiselina, u navedenom intervalu temperatura, pripada procesu parcijalne sublimacije (95). Treća zona na TG krivama ovih aminokiselina se odnosi na temperaturni interval od 565, 553, odnosno 533 K do 723 K i karakteriše se sporim gubitkom mase, koji ukazuje da se pored procesa sublimacije odvija i proces termičkog razlaganja navedenih aminokiselina.

Na TG krivama DL- ϵ -aminokapronske kiseline i DL-asparaginske kiseline (slike 51 i 52) uočene su četiri zone. Prva zona, u kojoj nema promene mase, odnosi se na temperaturni interval od 293 do 443 K, na TG krivoj DL- ϵ -aminokapronske kiseline, odnosno, do 503 K, na TG krivoj DL-asparaginske kiseline. Druga zona na TG krivoj DL- ϵ -aminokapronske kiseline započinje na temperaturi od 443 K a završava se na 573 K i karakteriše je nagli gubitak mase od 43% od ukupne

mase. Na TG krivoj DL-asparaginske kiseline druga zona započinje na temperaturi od 503 K a završava se na 563 K i karakteriše je pad mase od 28% od ukupne mase. Treća zona se odnosi na temperaturni interval od 537 do 638 K, odnosno od 563 do 673 K, u kome je pad mase lagani i iznosi 16%, odnosno 13% od ukupne mase DL- ϵ -aminokapronske kiseline, odnosno DL-asparaginske kiseline. Četvrta zona, u kojoj je uočen ponovo nagliji pad mase, na TG krivoj DL- ϵ -aminokapronske kiseline započinje na 638 K, a na TG krivoj DL-asparaginske kiseline na 673 K, ali se kod obe aminokiseline ne završava na temperaturi od 723 K, do koje je vršena TG analiza, na šta ukazuje oblik TG krive.

Na TG dijagramu DL-glutaminske kiseline (slika 53) uočljivo je da se TG kriva odlikuje sa pet zona. Prva zona se odnosi na temperaturni interval od 293 do 453 K u kome nema pada mase. Druga zona se odnosi na temperaturni interval od 453 do 489 K i karakteriše se naglim padom mase od 14% od ukupne mase. Treća zona započinje na temperaturi od 489 K a završava se na temperaturi od 521 K i karakteriše se laganim padom mase od 8% od ukupne mase. Za četvrtu zonu, koja se odnosi na interval temperature od 521 do 634 K, karakterističan je nagliji pad mase u iznosu od 54% od ukupne mase. Peta zona se odnosi na temperaturni interval od 634 do 723 K u kome nema znatne promene mase.

Na osnovu rezultata TG analize DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline može se zaključiti da prva zona na TG krivama, koja se odnosi na temperaturni interval u kome nema promene mase, definiše termičku stabilnost ovih aminokiselina. Druga, treća i četvrta zona na istim TG krivama ukazuju da se toplotno razlaganje aminokiselina odigrava u višestepenim mehanizmima reakcija degradacija i kondenzacija, pri čemu se temperaturne granice za svaku fazu delimično preklapaju a pad mase nije ravnomeran. Peta zona na TG krivoj DL-glutaminske kiseline, koju karak-

teriše neznatna promena mase, ukazuje na završetak pirolitičkog procesa aminokiseline.

Na TG krivoj DL-lizina (slika 54) uočeno je četiri odvojene zone. Prva zona se odnosi na temperaturni interval od 293 do 455 K u kome nema promene mase i definiše termičku stabilnost ove aminokiseline. Za drugu i treću zonu, koje se delimično preklapaju i odnose na temperaturni interval od 455 do 563 K, odnosno od 563 do 698 K, karakterističan je nerasvomen pad mase od 55%, odnosno od 17% od ukupne mase. Četvrta zona, koju karakteriše dalji pad mase, započinje na temperaturi od 698 K, ali se ne završava na 723 K, do koje je vršena TG analiza, na šta ukazuje oblik TG krive. Poslednje tri zone ukazuju da je toplotno razlaganje DL-lizina veoma kompleksan proces, koji se ne završava na 723 K, a koji se odvija uz stvaranje međuproizvoda kao i njihovu razgradnju.

4.2.3. ODREĐIVANJE KINETIČKIH PARAMETARA REAKCIJE TOPLOTNOG RAZLAGANJA AMINOKISELINA RAZLIČITIM NUMERIČKIM METODAMA

Pri odredjivanju kinetičkih parametara metodama Kissinger-a, Freeman-Carroll-a i Horowitz-Metzger-a interpretiran je samo endoterman proces toplotnog razlaganja DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina. Kinetički parametri reakcije toplotnog razlaganja DL-norleucina, DL-leucina i DL-izoleucina nisu odredjivani pošto je DSC i TG analizom utvrđeno da se kod ovih aminokiselina, u uslovima u kojima je radjenja termička analiza, odigrava proces parcijalne sublimacije, kao dominantan proces (95). Primena navedenih metoda na izračunavanje kinetičkih parametara iz podataka dobivenih DSC i TG analizama biće detaljno prikazana na primeru procesa toplotnog razlaganja DL-asparaginske kiseline.

U slučaju primene Kissinger-ove metode na izračunavanje kinetičkih parametara reakcija prvoga reda, dobivenih DSC analizom potrebno je definisati linearnu zavisnost brzine zagrevanja, β , od temperature pika, T . Ova zavisnost je određena relacijom (20) a dobiveni rezultati su prikazani u tablici 16.

TABLICA 16. Zavisnost logaritma brzine zagrevanja i recipročne vrednosti kvadrata temperature za DL-asparaginsku kiselinu

β [o/min]	T [K]	β/T^2	$y = \log \beta/T^2$	$x = 1/T$
2,97	503,05	$1,174 \cdot 10^{-5}$	-4,9305	$1,988 \cdot 10^{-3}$
4,93	507,65	$1,913 \cdot 10^{-5}$	-4,7183	$1,969 \cdot 10^{-3}$
9,81	516,85	$3,672 \cdot 10^{-5}$	-4,4350	$1,935 \cdot 10^{-3}$

Na osnovu izračunatih vrednosti za x i y , iz tablice 16, moguće je konstruisati pravu koja predstavlja grafičku interpretaciju jednačine (20). Nagib ove prave, vrednost a , i odsečak na ordinati, vrednost b , određeni su metodom najmanjih kvadrata: $a = -9,0695 \cdot 10^3$ i $b = 12,959$. Uvodjenjem ovih vrednosti jednačina (20) dobija oblik (20*):

$$\log \left(\frac{\beta}{T^2} \right) = a \frac{1}{T} + b = -9,0695 \cdot 10^3 \frac{1}{T} + 12,959 \quad (20^*)$$

što omogućuje izračunavanje energije aktivacije, E , pomoću relacije (21):

$$E = -2,19 \cdot a \cdot R = 165,134 \text{ [KJ/mol]}$$

Na osnovu izračunate vrednosti energije aktivacije, E , moguće je, pomoću relacije (22), odrediti Arrhenius-ovu konstantu, A :

$$A = \frac{\beta \cdot E \cdot e^{E/RT}}{RT^2} = 3,569 \cdot 10^{16} \text{ | min}^{-1} \text{ |}$$

Konstanta brzine reakcije, k , toplotnog razlaganja DL-asparaginske kiseline na temperaturi od 516,85 K određena je izrazom (23) i iznosi:

$$k = A \cdot e^{-E/RT} = 0,7293 \text{ [min}^{-1}\text{]}$$

Primena Freeman-Carroll-ove metode zasniva se na rezultati-
ma dobijenim TG analizom i definisana je relacijom (26), ko-
ja predstavlja jednačinu prave čiji nagib, vrednost a , odre-
djuje energiju aktivacije, E . Radi određivanja veličine
ovog nagiba potrebno je odrediti tablicu zavisnosti za vred-
nosti x i y , odnosno:

$$x = \frac{\Delta \frac{1}{T}}{\Delta \log w_r} ; \quad y = \frac{\Delta \log \frac{dw}{dt}}{\Delta \log w_r}$$

Vrednosti potrebne za definisanje medjusobne zavisnosti ve-
ličina x i y dobivaju se analizom TG i DTG krive gde su mak-
simalni gubitak mase, veličina w_c , i gubitak mase na tempe-
raturi T , veličina w , dobiveni analizom TG krive, a vrednos-
ti dw/dt sa DTG krive za istu temperaturu T , s tim što je
vrednost za veličinu w_r određena razlikom vrednosti $w_c - w$.
U tablici 17 prikazani su podaci dobijeni analizom TG i DTG
dijagrama uzorka DL-asparaginske kiseline.

Na osnovu vrednosti za x i y iz tablice 17, izračunat je
nagib prave, vrednost a , metodom najmanjih kvadrata i do-
bivena je vrednost $a = -6,9118 \cdot 10^3$. Ovako dobivenu vred-
nost veličine nagiba prave moguće je iskoristiti za određi-
vanje energije aktivacije, E , izrazom:

$$E = -2,303 \cdot R \cdot a = 132,343 \text{ [KJ/mol]}$$

Odsečak na ordinati, vrednost b , jednak je redu reakcije, n :

$$b = n = \bar{y} - a \cdot \bar{x} = 0,98$$

TABLICA 17. Izračunate vrednosti x i y za uzorak DL-asparaginske kiseline, za veličinu maksimalnog gubitka mase w_c od 27,5%

T K	$\frac{1}{T} \left \frac{1}{K} \right \cdot 10^3$	$\Delta \frac{1}{T} \cdot 10^3$	w	w_r	$\log w_r$	$\Delta \log w_r$	$\frac{dw}{dt}$	$\log \frac{dw}{dt}$	$\Delta \log \frac{dw}{dt}$	x	y
503	1,99	0,4	1,0	26,5	1,4232	0,0430	2,4	0,3802	-0,2108	0,9296	-4,9000
513	1,95	0,04	3,5	24,0	1,3802	0,1015	3,9	0,5911	-0,1798	0,3942	-1,7720
523	1,91	0,04	8,5	19,0	1,2787	0,1996	5,9	0,7708	-0,1212	0,2004	-0,6075
533	1,87	0,03	15,5	12,0	1,0792	0,4259	7,8	0,8921	0,0792	0,0704	0,1859
543	1,84	0,03	23,0	4,5	0,6532	0,6532	6,5	0,8129	0,4327	0,0459	0,6624
553	1,81		26,5	1,0	0,0000		2,4	0,3802			

*) Vrednosti x i y su određene izrazima: $x = \frac{\Delta \frac{1}{T}}{\Delta \log w_r}$; $y = \frac{\Delta \log \frac{dw}{dt}}{\Delta \log w_r}$

Primena Horowitz-Metzger-ove metode na izračunavanje kinetičkih veličina iz podataka dobijenih TG analizom, najviše je primenjivana u slučajevima reakcije pirolize. Primena ove metode se zasniva na relaciji (28) koja, modifikovana na reakcije prvoga reda gde svi proizvodi nisu isparljivi i gde ukupan broj molova nije konstantan, glasi:

$$\ln \ln \frac{w_0 - w_t^f}{w - w_t^f} = \frac{E \cdot \theta}{R \cdot T_s^2} \quad (28^*)$$

gde je:

w_0 - inicijalna masa,

w_t^f - krajnja masa,

w - masa na temperaturi T ,

T_s - referentna temperatura definisana izrazom

$$\frac{w - w_t^f}{w_0 - w_t^f} = \frac{1}{e};$$

θ - veličina koja definiše odstupanje referentne temperature T_s od temperature T , određena izrazom

$$T = T_s + \theta$$

E - energija aktivacije i

R - gasna konstanta.

Navedena relacija (28*) predstavlja jednačinu prave čiji nagib, veličina a , određuje energiju aktivacije, E . Radi određivanja ovog nagiba neophodno je odrediti veličine x i y a zatim njihovu zavisnost:

$$x = \theta$$

od

$$y = \ln \ln \frac{w_0 - w_t^f}{w - w_t^f}$$

U tablici 18 prikazane su vrednosti x i y za uzorak DL-asparaginske kiseline.

TABLICA 18. Izračunate vrednosti x i y , za DL-asparaginsku kiselinu, za veličinu krajnje mase w_t^f od 73% i temperaturu T_s od 533 K

T [K]	w [%]	$x = \theta$	$\frac{w_0 - w_t^f}{w - w_t^f}$	$y = \ln \ln \frac{w_0 - w_t^f}{w - w_t^f}$
513	96,5	-20,6	1,148	-1,974
523	92,4	-10,6	1,384	-1,122
533	84,4	- 0,6	2,347	-0,158
543	77,0	9,4	6,750	0,646
547	75,0	13,4	13,512	0,956

Na osnovu vrednosti veličina x i y iz tablice 18, izračunat je nagib prave, veličina a , metodom najmanjih kvadrata i dobijena je vrednost $a = 6,568 \cdot 10^{-2}$. Ovako dobijen nagib, veličine a , se koristi za odredjivanje energije aktivacije, prema izrazu:

$$E = a \cdot R \cdot T_s^2 = 155,136 \text{ [KJ/mol]}$$

Vrednosti kinetičkih veličina, izračunatih za proces toplotnog razlaganja, DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina, korišćenjem navedenih metoda, prikazane su u tablici 19.

Dobijene vrednosti energije aktivacije, E , za reakciju toplotnog razlaganja za DL- ϵ -aminokapronsku kiselinu, DL-asparaginsku kiselinu, DL-glutaminsku kiselinu i DL-lizin (tablica 19), izračunate metodama Kissinger-a i Freeman-Carroll-a i Horowitz-Metzger-a, pokazuju relativno dobro slaganje, izuzev nešto većeg odstupanja veličine, E , energije aktivacije odredjene Freeman-Carroll-ovom metodom. Upoređivanjem vrednosti energije aktivacije za proces toplotnog razlaganja pojedinih aminokiselina može se zaključiti da je za toplotno razlaganje diaminomonokarbonskih kiselina

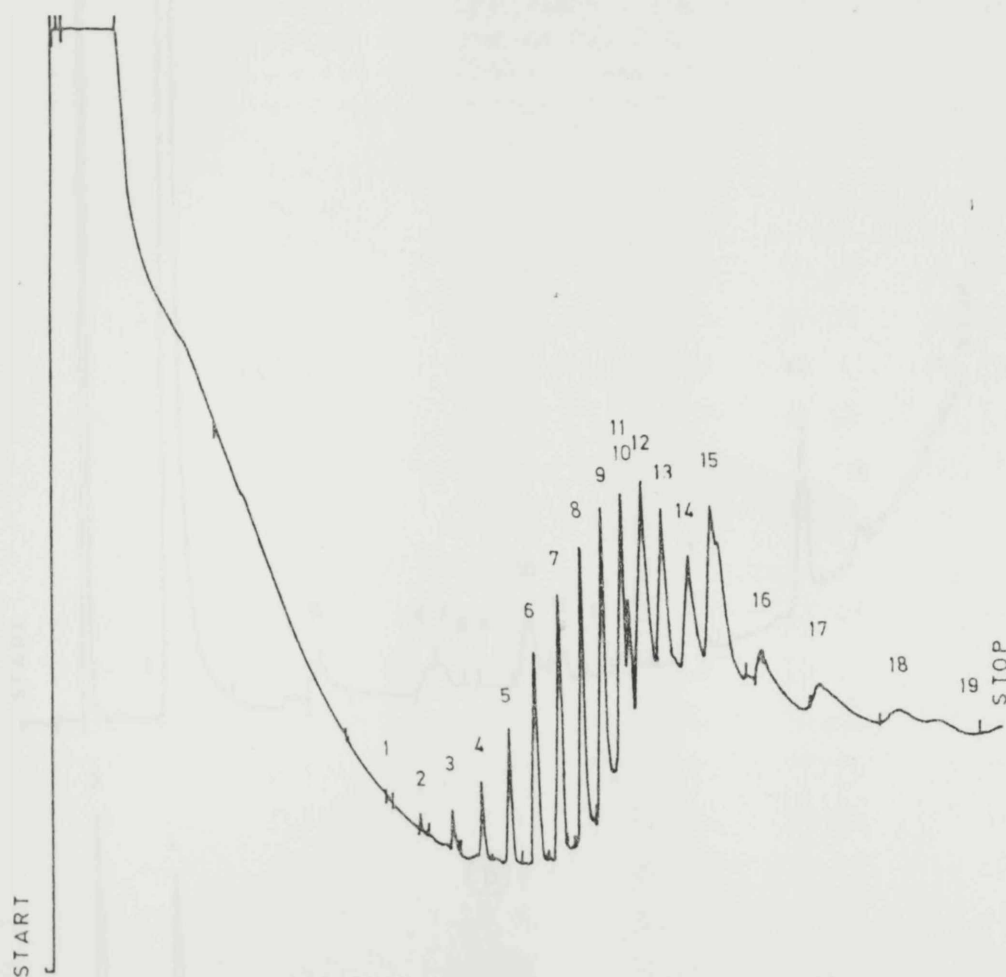
TABLICA 19. Vrednosti energije aktivacije, E, Arrhenius-ove konstante, A, konstante brzine reakcije, k, i reda reakcije, n, toplotnog razlaganja aminokiselina

	Metoda:		Kissinger		Frreman-Carroll		Horowitz-Metzger	
	E KJ/mol	A min ⁻¹	k min ⁻¹	E KJ/mol	n	E KJ/mol	E KJ/mol	
DL-ε-aminokapronska kiselina	144,367	1,572 · 10 ¹⁵	0,706	128,921	1,02	139,451		
DL-asparaginska kiselina	165,134	3,569 · 10 ¹⁶	0,729	132,343	0,98	155,136		
DL-glutaminska kiselina	147,185	2,172 · 10 ¹⁶	0,794	130,572	0,99	140,398		
DL-lizin	463,470	6,177 · 10 ⁴⁴	1,849	437,251	1,01	454,273		

potrebna znatno veća energija aktivacije. Freeman-Carroll-ovom metodom utvrđeno je da je reakcija toplotnog razlaganja aminokiselina, koja obuhvata samo endoterman proces, reakcija prvoga reda. Kissinger-ovom metodom, koja može da se primeni samo na reakcije prvoga reda, određene su vrednosti Arrhenius-ove konstante, A , i konstante brzine, k , reakcije toplotnog razlaganja aminokiselina. Vrednosti Arrhenius-ove konstante, A , i konstante brzine reakcije, k , toplotnog razlaganja DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline, saopštene u tablici 19, su relativno bliske i znatno su manje od vrednosti izračunatih za proces toplotnog razlaganja DL-lizina. Iako je, prema literaturnim navodima (27), ispitivana kinetika procesa toplotnog razlaganja smeše aminokiselina metodom aminokiselinske analize hidrolizata dobijenog pirolizata, nema objavljenih podataka o vrednostima kinetičkih parametara za proces toplotnog razlaganja aminokiselina.

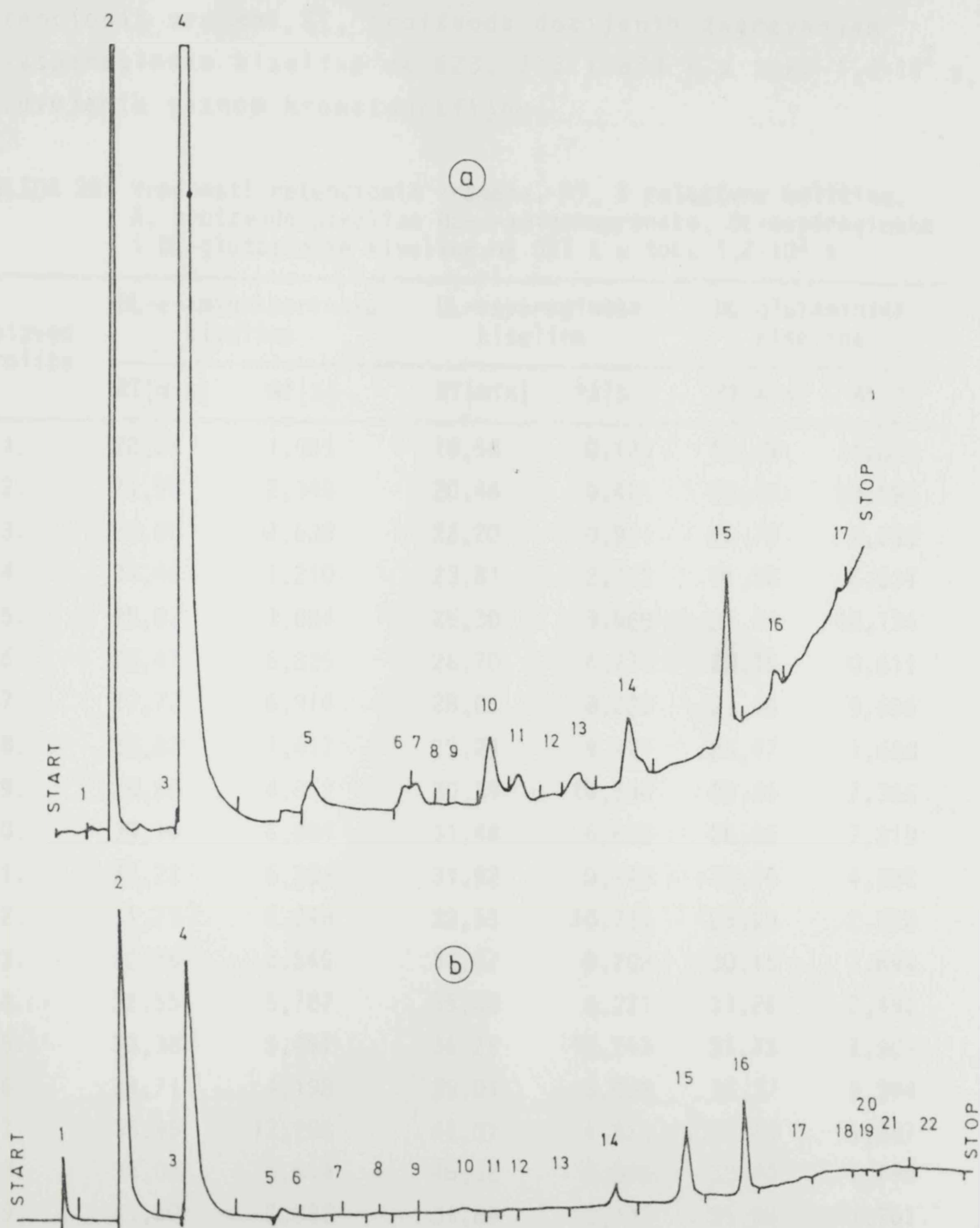
4.3.0. GASNO-HROMATOGRAFSKA ANALIZA PIROLIZATA AMINOKISELINA

Upotrebom kombinovane tehnike piroliza - gasna hromatografija praćen je uticaj temperature, u intervalu od 473 do 873 K, na toplotno razlaganje DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline. Na slikama 55 i 56 prikazani su gasni hromatogrami pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobivenih zagrevanjem na 623, 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s.



Slika 55. Gasni hromatogram pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenog zagrevanjem na 623 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s.

Slika 55. Gasni hromatogram pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenog zagrevanjem na (a) 773 K i (b) 573 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s.



Slika 56. Gasni hromatogrami pirolizata DL-asparaginske kiseline, dobijenih zagrevanjem na (a) 773 K i (b) 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s.

U tablici 20 prikazane su vrednosti retencionih vremena, RT, i relativne količine, A, proizvoda dobijenih zagrevanjem DL- ϵ -aminokaprnske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline na 623 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, a u tablici 21 vrednosti retencionih vremena, RT, proizvoda dobijenih zagrevanjem DL-asparaginske kiseline na 623, 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, razdvojenih gasnom hromatografijom.

TABLICA 20. Vrednosti retencionih vremena, RT, i relativne količine, A, proizvoda pirolize DL- ϵ -aminokaprnske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline na 623 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s

Proizvod pirolize	DL- ϵ -aminokaprnska kiselina		DL-asparaginska kiselina		DL-glutaminska kiselina	
	RT min	A* %	RT min	*A %	RT min	A* %
1.	20,26	1,055	18,58	0,129	18,19	11,873
2.	21,98	2,348	20,46	0,421	20,19	10,595
3.	23,58	2,538	22,20	0,951	20,79	7,299
4.	24,46	1,210	23,81	2,022	21,58	5,531
5.	25,07	3,884	25,30	3,969	21,94	10,171
6.	26,47	6,825	26,70	6,273	23,15	0,611
7.	27,77	6,914	28,01	8,028	23,56	9,696
8.	28,82	1,417	29,24	9,427	24,47	1,688
9.	28,99	4,862	30,39	10,396	25,05	7,365
10.	30,14	6,084	31,48	6,622	26,45	7,219
11.	31,22	6,303	31,92	0,749	27,76	4,282
12.	31,71	5,248	32,53	10,723	28,99	2,872
13.	32,26	2,645	33,67	6,208	30,15	7,694
14.	32,55	5,787	35,02	6,221	31,26	2,492
15.	33,38	5,491	36,26	15,243	31,73	2,901
16.	34,71	4,198	39,01	3,004	32,27	0,994
17.	35,95	12,298	42,07	4,821	32,53	1,987
18.	38,08	0,854	46,32	6,666	33,40	0,796
19.	41,50	2,888	51,84	0,137	35,98	1,761
20.	45,52	1,524			48,26	2,579
21.	48,41	10,616				

*)A-Količina proizvoda, u %, u odnosu na ukupni pirolizat.

TABLICA 21. Vrednosti retencionih vremena, RT, proizvoda pirolize DL-asparaginske kiseline na 623, 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s

Proizvod pirolize	Retenciono vreme, RT [min]		
	Temperatura pirolize [K]		
	623	773	873
1.	18,58	2,01	3,16
2.	20,46	3,47	6,69
3.	22,20	7,65	10,56
4.	23,81	7,81	10,91
5.	25,30	15,91	16,53
6.	26,70	21,82	16,77
7.	28,01	22,64	20,49
8.	29,24	24,07	22,52
9.	30,39	25,10	25,06
10.	31,48	27,33	28,66
11.	31,92	29,11	30,19
12.	32,53	31,09	31,51
13.	33,67	33,00	34,74
14.	35,02	36,09	37,96
15.	36,26	42,17	42,55
16.	39,01	45,36	46,08
17.	42,07	49,22	49,86
18.	46,32		52,05
19.	51,84		53,58
20.			53,94
21.			55,38
22.			57,49

Hromatografisanjem pirolizata DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline, dobijenih zagrevanjem na 473 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, kao i pirolizata DL- ϵ -aminokapronske i DL-glutaminske kiseline, dobijenih zagrevanjem

na 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, pod uslovima navedenim u Eksperimentalnom delu ovog rada, nije izvršeno razdvajanje proizvoda pirolize.

Na osnovu rezultata GC analize, prikazanih u tablici 20, utvrđeno je da pirolizom DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske, odnosno DL-glutaminske kiseline na 623 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, nastaje 21, 19 odnosno 20 proizvoda u različitim prinosima. Navedeni rezultati nedvosmisleno ukazuju da broj i prinos proizvoda nastalih pirolizom aminokiselina zavisi od prirode aminokiseline i u saglasnosti su sa ispitivanjima Simmonds-a i saradnika (4), Lien-a i Nawar-a (5), Ratcliff-a i saradnika (6), Higman-a i saradnika (8) i Milića i saradnika (69).

GC analizom pirolizata DL-asparaginske kiseline (slike 55 i 56 i tablica 21) utvrđeno je da zagrevanjem ove aminokiseline u toku $1,2 \cdot 10^2$ s na 623 K nastaje 19, na 773 K 17, a na 873 K 22 proizvoda. Kompjuterskom obradom podataka dobijenih GC analizom, odnosno retencionih vremena i površine pikova proizvoda pirolize DL-asparaginske kiseline, dobijenih zagrevanjem na 623, 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, utvrđeno je da su jedino proizvodi označeni sa 7 i 8 (tablica 21) prisutni u pirolizatima dobijenim zagrevanjem na svim navedenim temperaturama, a proizvod označen sa 6 je prisutan u pirolizatima dobijenim zagrevanjem na 623 i 873 K. Relativne količine navedenih proizvoda pirolize DL-asparaginske kiseline prikazane su u tablici 22.

Uočene promene relativnih količina proizvoda 6, 7 i 8, dobijenih pirolizom DL-asparaginske kiseline na 623, 773 i 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, prikazanih u tablici 22, su posledica reakcija degradacije i kondenzacije navedenih proizvoda na temperaturama od 773 i 873 K.

TABLICA 22. Relativne količine, A, proizvoda dobijenih pirolizom DL-asparaginske kiseline u toku $1,2 \cdot 10^2$ s na 623, 773 i 873 K

Proizvod pirolize	Relativne količine, A* %		
	623 K	773 K	874 K
6	6,273	-	0,006
7	8,028	0,010	0,005
8	9,247	0,002	0,002

*) A - količina proizvoda u % u odnosu na ukupni pirolizat.

Na osnovu navedenih rezultata GC analize pirolizata DL- ϵ -aminokapronske, DL-asparaginske i DL-glutaminske kiseline, dobijenih zagrevanjem na temperaturama od 473 do 873 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, kao i ispitivanja Simmonds-a i saradnika (4), Lien-a i Nawar-a (5), Ratcliff-a i saradnika (6), Higman-a i saradnika (8) i Milića i saradnika (69), može se zaključiti da mehanizam i brzina reakcije toplotnog razlaganja aminokiselina, odnosno struktura, broj i prinos proizvoda toplotnog razlaganja aminokiselina, zavise kako od strukture aminokiseline tako i od temperature pirolize.

5.0.0. ZAKLJUČAK

ESR spektroskopskom analizom utvrđeno je prisustvo slobodnih radikala u pirolizatima DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -aminokaprinske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina.

ESR signali slobodnih radikala pirolizata ispitivanih aminokiselina su predstavljeni relativno simetričnom linijom, bez izražene hiperfine strukture i anizotropije g-vrednosti.

Oblik linije ESR spektara je mešavina Lorentzian i Gaussian oblika, mada su odstupanja od Lorentzian oblika linije manja. Povećavanjem temperature pirolize do 623 K, odnosno produžavanjem vremena pirolize do $3,6 \cdot 10^3$ s, ESR linije spektra dobijaju sve izraženije karakteristike Lorentzian funkcije. Ovakav oblik linije ESR spektra slobodnih radikala, nastalih u čvrstoj fazi, uslovljen je efektom izmene.

Intenzitet ESR signala, koji je proporcionalan koncentraciji slobodnih radikala nastalih pirolizom aminokiselina, raste sa porastom temperature pirolize od 473 do 623 K, a zatim daljim porastom temperature pirolize do 873 K, opada.

Intenzitet ESR signala slobodnih radikala raste sa produžavanjem vremena pirolize od 0 do $3,6 \cdot 10^3$ s, a zatim daljim produžavanjem vremena do $10,8 \cdot 10^3$ s, opada.

Promene u intenzitetu ESR signala slobodnih radikala, nastalih pirolizom aminokiselina, u funkciji temperature, odnosno dužine trajanja pirolize, posledica su promena brzine i dužine trajanja hemijskih procesa tokom pirolize, ko-

ji uključuju homolitičko cepanje veza u molekulu aminokiselina, pri čemu jedan elektron iz veze stabilizacijom daje isparljivo jedinjenje, dok drugi elektron ostaje u čvrstoj matrici formirajući slobodan radikal. Dalji tok uključuje reakciju kondenzacije, kojom se čvrsta matrica preuredjuje gradeći polimerne strukture unutar kojih se slobodni radikali stabilizuju, kao i reakciju depolimerizacije, kojom nastaju krajnji stabilni reakcioni proizvodi, sigurno manjih molekulskih masa i različite strukture.

Intenzitet ESR signala, odnosno koncentracija slobodnih radikala u pirolizatu aminokiseline, zavisi od strukture aminokiseline. Koncentracija slobodnih radikala u pirolizatima aminokiselina raste sa povećanjem broja amino i karboksilnih grupa u molekulu aminokiseline. U pirolizatima monoaminomonokarbonskih kiselina koncentracija slobodnih radikala raste sa znatnim udaljavanjem amino grupe od karboksilne grupe u molekulu aminokiseline. Kod strukturnih izomera α -monoaminomonokarbonskih kiselina koji sadrže metil grupu u račvastom nizu, sa povećavanjem rastojanja između metil i amino grupe u molekulu, koncentracija slobodnih radikala, u uslovima pirolize, raste. U pirolizatima monoaminodikarbonskih kiselina koncentracija slobodnih radikala se povećava sa smanjenjem rastojanja između karboksilnih grupa u molekulu aminokiseline.

Širina linije ESR signala slobodnih radikala nastalih pirolizom DL-norleucina, DL-leucina, DL-izoleucina, DL- ϵ -amino-kaprinske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina uslovljena je dipolarnom interakcijom. Uočene razlike u širini linije ESR spektra slobodnih radikala u pirolizatima ovih aminokiselina nastaju usled spin-spin interakcija između elektrona i α -protona u molekulu aminokiseline. Suženje linije ESR signala jedino je bilo izraženo kod ESR spektra slobodnih radikala pirolizata DL-asparaginske kiseline i rezultat je smanjenja spin-spin interakcija između elektro-

na i α -protona i preovladavanja efekta izmene ili delokalizacije, koji su posledica velike koncentracije spinova u pirolizatu ove aminokiseline.

g-Vrednosti slobodnih radikala pirolizata aminokiselina iznose od $2,0036 \pm 0,0003$ do $2,0041 \pm 0,0003$ i ukazuju na lokalizaciju ili delimičnu lokalizaciju slobodnog elektrona na ugljenikovom, kiseonikovom ili azotovom atomu, pa se može pretpostaviti da pirolizom aminokiselina nastaju alkil, supstituisani alkil, peroksid i azot radikali.

Relativna stabilnost slobodnih radikala na uticaj kiseonika i relativno dugo vreme života ukazuju na slabu reaktivnost slobodnoradikalskih struktura nastalih pirolizom aminokiselina, kao i moguću stabilizaciju slobodnih radikala mezomernim efektom, odnosno premeštanje nesparenog elektrona na druga jezgra u blizini.

IR spektroskopskom analizom pirolizata aminokiselina i TLC analizom hidrolizovanih pirolizata aminokiselina utvrđeno je da se tokom pirolize aminokiselina odvija reakcija dehidrokondenzacije. Struktura nastalog proizvoda je, pretpostavlja se, slična strukturi poliaminokiselina.

Nastajanje ugljendioksida i amonijaka, kao reakcionih proizvoda, tokom pirolize aminokiselina, ukazuje da slobodnoradikalске vrste mogu nastati ne samo dehidrokondenzacijom već i deaminacijom i oksidacijom. Slobodni radikali, nastali na ovaj način, se najverovatnije stabilizuju dajući kompleksne proizvode protenoide i heteropolimere, tipa huminskih kiselina ili melamina.

DSC i TG analizom utvrđena je termijska stabilnost ispitivanih aminokiselina. DL-norleucin je termički stabilan do 388 K, DL-leucin do 508 K, DL-izoleucin do 491 K, DL- ϵ -ami-

nokapronska kiselina do 476 K, DL-asparaginska kiselina do 484 K, DL-glutaminska kiselina do 455 K i DL-lizin do 534 K.

DSC i TG analizom DL-norleucina, DL-leucina i DL-izoleucina utvrđeno je, na osnovu endotermnih i egzotermnih toplotnih efekata i pada mase, da se tokom zagrevanja navedenih amino-kiselina odigrava i proces parcijalne sublimacije i proces razlaganja pri čemu je proces parcijalne sublimacije dominantan.

DSC i TG analizom DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina utvrđeno je da je toplotno razlaganje praćeno endotermnim i egzotermnim toplotnim efektima, koji se nadovezuju jedan na drugi, odnosno neravnomernim padom mase, što ukazuje na složen mehanizam procesa razlaganja aminokiselina koji uključuje reakcije dekarboksilacije, deaminacije i kondenzacije.

Iz podataka dobijenih DSC i TG analizama, primenom metoda Kissinger-a, Freeman-Carroll-a i Horowitz-Metzger-a određeni su kinetički parametri endoternog procesa razlaganja DL- ϵ -aminokapronske kiseline, DL-asparaginske kiseline, DL-glutaminske kiseline i DL-lizina.

Vrednosti energije aktivacije, E , izračunate navedenim metodama, za endoterman proces toplotnog razlaganja, za DL- ϵ -aminokapronsku kiselinu iznose od 128,921 do 144,367 KJ/molu; za DL-asparaginsku kiselinu od 132,343 do 165,134 KJ/molu; za DL-glutaminsku kiselinu od 130,572 do 147,185 KJ/molu i za DL-lizin od 437,251 do 463,470 KJ/molu. Vrednosti Arrhenius-ove konstante, A , konstante brzine reakcije, k , i reda reakcije, n , za isti proces, za DL- ϵ -aminokapronsku kiselinu iznose: $A = 1,572 \cdot 10^{15} \text{ min}^{-1}$; $k = 0,706 \text{ min}^{-1}$ i $n = 1,02$; za DL-asparaginsku kiselinu: $A = 3,569 \cdot 10^{16} \text{ min}^{-1}$; $k = 0,729 \text{ min}^{-1}$ i $n = 0,98$; za DL-glutaminsku kiselinu: $A = 2,172 \cdot 10^{16} \text{ min}^{-1}$; $k = 0,794 \text{ min}^{-1}$ i $n = 0,99$; i za DL-lizin: $A = 6,177 \cdot 10^{44} \text{ min}^{-1}$; $k = 1,849 \text{ min}^{-1}$ i $n = 1,01$.

Gasno-hromatografska analiza pirolizata aminokiselina ukazuje da struktura, broj i prinos proizvoda nastalih pirolizom aminokiselina zavise od temperature pirolize. Na osnovu rezultata dobijenih navedenom metodom analize, utvrđeno je da pirolizom DL-ε-aminokapronske kiseline, odnosno DL-glutaminske kiseline, na 623 K u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, nastaje 21, odnosno 20 proizvoda u različitim prinosima. Pirolizom DL-asparaginske kiseline u toku $1,2 \cdot 10^2$ s, na 623 K nastaje 19 proizvoda, na 773 K nastaje 17 proizvoda, od kojih su samo tri utvrđena u pirolizatima dobijenim pirolizom na 623, odnosno 873 K, a pirolizom na 873 K nastaje 22 proizvoda, od kojih su samo tri utvrđena u pirolizatu dobijenom na 623 K, a dva u pirolizatu dobijenom na 773 K.

6.0.0. L I T E R A T U R A

1. Hurd, C.D., Simon, J.I.,
Amer. Chem. Soc. 84, 5419 (1962)
2. Winter, L.N., Arbo, P.W.,
J. Gas Chromatogr. 2, 1-6 (1964)
3. Johnson, W.R., Kang, J.C.,
J. Org. Chem. 36, 189-192 (1971)
4. Simmonds, P.G., Medley, E.E., Ratcliff, M.A., Shulman, G.P.,
Anal. Chem. 44, 2060-2066 (1974)
5. Lien, Y.C., Nawar, W.W.,
Food Sci. 39, 914-916 (1974)
6. Ratcliff, M.A., Medley, E.E., Simmonds, P.G.,
J. Org. Chem. 39, 1481-1490 (1974)
7. Milić, B.Lj., Vlaović, Dj.S., Djilas, S.M.,
ESR Spectral Study of Free Radical Formation in
Amino Acid Pyrolysates.
8th World Chromatography and 6th World Spectroscopy
Conference, Bad Hofgastein (Austrija), May 13-14
(1985)
8. Higman, E.B., Schmeltz, I., Schlotzhauer, W.S.,
J. Agric. Food Chem. 18, 4 (1970)
9. Breitbart, D.J., Nawar, W.W.,
J. Agric. Food Chem. 27, 3 (1979)
10. Fujimaki, M., Kato, S., Kurata, T.,
Agric. Biol. Chem. 33, 1144-1151 (1969)
11. Kato, S., Kurata, T., Ishiguro, S., Fujimaki, M.,
Agric. Biol. Chem. 37, 1759-1761 (1973)
12. Shu, C.K., Hagedorn, M.L., Mookherjee, B.D., Ho, C.T.,
J. Agric. Food Chem. 33, 438-442, (1985)

13. Kato,S., Kurata,T., Ishitsuka,R., Fujimaki,M.,
Agric.Biol.Chem. 34, 1826-1832 (1970)
14. Kato,S., Kurata,T., Fujimaki,M.,
Agric.Biol.Chem.35, 2106-2112 (1971)
15. Wang,P., Odell,G.V.,
J.Agric.Food Chem. 21, 868-870 (1973)
16. Patterson,J.M., Tsamastyros,A., Smith,W.T.,
J.Heterocycl.Chem. 5, 727 (1968)
17. Patterson,J.M., Baedecker,M.L., Musik,R., Smith,W.T.,
Tobacco Sci. 13, 26 (1969)
18. Vollmin,J., Kriemler,P., Omura,I., Seibl,J., Simon,W.,
Microchem.J. 11, 73 (1966).
19. Hurd,C.D.,
Pyrolysis of Carbon Compounds,
The Chemical Catalog, Co. New York, N.Y., 290 (1929)
20. Fisher,M., Djerassi,C.,
Chem.Ber. 99, 1541 (1966)
21. Smith,P.A.S.,
Open Chain Nitrogen Compounds,
Benjamin,W.A., New York, N.Y., 301 (1954)
22. Abelson,P.H.,
Research in Geochemistry,
N.Y., 79 (1959)
23. Vallentyne, J.R.,
Geochim.et Cosmochim. Acta 28, 157 (1964)
24. Vallentyne,J.R.,
Ibid 32, 12, 1353 (1968)
25. Drozdova,T.V.,
Geohimija aminokislot,M., "Nauka" (1977)
26. Lavrent'ev,G.A., Strigunkova,T.E., Egorov,I.A.,
Akad.Nauk SSSR, 248 (6), 1474-1478 (1979)
27. Lavrent'ev,G.A., Timoschchenko,A.S., Strigunkova,T.F.,
Egorov,I.A.,
Dokl.Akad.Nauk SSSR, 251 (2), 486-489 (1980)

28. Wertz, J.E., Bolton, J.R.,
"Electron Spin Resonance",
McGraw-Hill Company, New York (1972)
29. Atherton, N.M.,
"Electron Spin Resonance",
John Wiley and Sons Inc., New York (1973)
30. Hedvig, P.,
"Experimental Quantum Chemistry",
Akadémiai Kiado, Budapest (1975)
31. Carrington, A., Mc Lachlan, A.D.,
"Introduction to Magnetic Resonance",
Harper and Row, Publ., New York (1967)
32. Gilbert, B.C.,
Essays. Chem. 4, 61 (1972)
33. Hey, D.J., Waters, W.A.,
Chem. Ber. 21, 169 (1937)
34. Nonhebel, D.C., Tedder, J.M., Walton, J.C.,
"Radicals",
Cambridge Univ. Press., Cambridge (1979)
35. Davies, D.J., Parrott, M.J.,
"Free Radicals in Organic Synthesis"
36. Walling, C.L.,
"Free Radical in solution",
John Wiley and Sons, Inc., New York (1958)
37. Dolgoplosk, B.A., Tinjakova, E.I.,
"Generirovanie svobodnijak radikalov i ih reakciji"
Nauka, Moskva (1982)
38. Sealy, R.C.,
Electron Spin Reson. 4, 144 (1977)
39. Ohnishi, S.I., Ikedo, Y., Sugimoto, S.I., Nitta, J.,
J. Polym. Sci. 57, 503 (1969)
40. "ES Series User's Manual"
Bruker Analyt. Mess. GMBH (1983)

41. Nonhebel, D.C., Walton, J.C.,
"Free-radical Chemistry",
At the University Press, Cambridge (1974)
42. Freed, J.H.,
Annual Review of Physical Chemistry 29, 265 (1972)
43. Symons, M.C.R.,
Annual Review of Physical Chemistry 20, 219 (1969)
44. Heslop, R.B., Jones, K.,
Inorganic Chemistry, Elsevier Publ.Comp.,
Amsterdam (1976)
45. Fedders, P.A., Kommandeur, J.,
J. Chem. Phys. 52, 2014 (1970)
46. Orton, J.W.,
"Electronic Paramagnetic Resonance",
Iliffe Books Ltd., London (1968)
47. Premović, P.I.,
Magistarska teza, Beograd (1971).
48. Stankevič, I.V., Tomolin, O.P.,
Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. himi 11, 2515 (1973)
49. Alger, R.S.,
"Electron Paramagnetic Resonance: Techniques and
Applications"
Interscience Publ., New York, London (1968)
50. Ingram, D.E.J.,
"Biological and Biochemical Application of Electron
Spin Resonance",
Adam Hilger Ltd., London (1969)
51. Petrakis, L.,
J. Chem. Educ. 44, 432 (1967)
52. Renner, H.W., Reichelt, D.,
Zentralbl. Veterinärmed. Reine B. 20, 648 (1973)
53. Szent-Györgyi, A.,
Chem. Eng. News 28, 16 (1975)

54. Imoto, M.,
Kagaku 31, 35 (1976)
55. Imoto, M.,
Kagaku 34, 26 (1979)
56. Kosuge, T., Tsuji, K., Wakabayashi, K., Okamoto, T.,
Sudo, K., Iitaka, Y., Itai, A., Sugimura, T.,
Kawasachi, T., Nagao, M., Yahagi, T., Seino, Y.,
Che. Pharm. Bull. 26, 611 (1978)
57. Uchiyama, S., Uchiyama, M.,
J. Food Sci. 44, 1217 (1979)
58. Ogawa, M., Jchigura, K., Oshino, K.,
Radiat. Phys. Chem. 16, 289-294 (1980)
59. Fumio, M., Keisuke, M., Nobuhira, S., Souji, R.,
Hatana, H.,
J. Phys. Chem. 84, 3085-3090 (1980)
60. Miyama, I., Kurita, Y., Gordy, W.,
J. Phys. Chem. 33, 1599 (1960)
61. Piazza, R.E., Patten, R.A.,
Mol. Phys. 17 213 (1969)
62. Mangiaracina, R.S.,
Red. Res. 32, 27 (1967)
63. Saxebol, G., Melo, T.B., Henrikson, T.,
Rad. Res. 51, 31 (1972)
64. Chacko, V.P., McDowell, C.A. Sigh, B.C.,
J. Chem. Phys. 72, 9, 5228 (1980)
65. Sinclair, J., Vodella, P.,
J. Chem. Phys. 59, 1569 (1973)
66. Paul, H., Fischer, H.,
Ber. Bunsenges Phys. Chem. 73, 972 (1969)
67. Nelson, W.H., Taylor, D.R.,
H. Chem. Phys. 72, 524 (1980)

68. Uchiyama, S., Uchiyama, M.,
J. of Food Sci. 46, 113-116 (1981)
69. Milić, B.Lj., Vlaović, S.Dj., Djilas, S.M.
Zbornik radova Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu,
17, 81-88 (1986)
70. Mackenzie, R.C.,
Thermochimica Acta 73, 3, 249-367 (1984)
71. Kujirai, T., Akahira, T.,
Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Research 2, 223 (1925)
72. Segawa, K.,
J. Japan Ceram. Assoc. 7, 56 (1948)
73. Zsakó, J.,
J. Thermal Analysis 5, 239-251 (1973)
74. Bernal, V., Jelen, P.,
J. Dairy Sci. 68, 2847-2852 (1985)
75. Wu, M.C., Lanier, T.C., Hamann, D.D.,
J. of Food Sci. 50, 20-25 (1985)
76. Boudart, M.,
"Kinetics of Chemical Processes",
Ed. Prentice-Hall, Inc. Englewood, Cliffs,
New Jersey (1968)
77. Baker, K.F.,
"Du Pont Company Instruments Products",
Wilmington, DE 19898 (1973)
78. Perkin, R.M., Drake, G.L., Reeves, W.A.,
J. Appl. Polym. Sci. 10 (1966)
79. Mac Callum, J.R.,
The British Polym. Jour 11 (1979)
80. "Instruction Manual 1090 Thermal Analyzer Du Pont
Company",
Rev. H. Wilmington, USA (1981)
81. Fong, P.H., Chen, D.T.Y.,
J. Thermal. Anal. 8, 305-312 (1975)

82. Chen, D.T.Y., Fong, P.H.,
J. Thermal. Anal. 8, 295-303 (1975)
83. Freeman, E.S., Carroll, B.,
J. Am. Soc. 62, 394-397 (1958)
84. Johnson, D.W., Callagher, P.K.,
J. Phys. Chem. 70, 10 (1972)
85. Horowitz, H.H., Metzger, G.,
Anal. Chem. 35, 10, 1446-1468 (1963)
86. Chen, D.T.Y.,
J. Therm. Anal. 6, 109-117 (1974)
87. Lužkov, V.B., Kuropteva, Z.V., Orlov, V.S., Pulatova, M.K.,
Žurnal Struk. himii 22, 81 (1981)
88. Given, P.H.,
Nature 184, 980 (1959)
89. Kwan, C.L., Yen, T.F.,
Anal. Chem. 51, 13 (1979)
90. Jackson, C., Wynne-Jones, W.F.K.,
Carbon 2, 227 (1964)
91. Toyoda, S., Honda, H.,
Carbon 3, 527 (1966)
92. Retcafsky, H.L., Stark, J.M., Friedel, R.A.,
Anal. Chem. 40, 291 (1968)
93. Petrakis, L., Grandy, D.W.,
Anal. Chem. 50, 393 (1978)
94. Murphy, P.D.B., Gerstein, B.C., Weinberg, V.L., Yen, T.F.,
Anal. Chem. 54, 522 (1982)
95. The Merck Index, Ninth Edition
Merck and Co., Inc. Rahway, N.J., USA (1976)

7.0.0. B I O G R A F I J A

Mr Sonja M. Djilas, rođena Čembić, rođena je 4. juna 1952. godine u Bugojnu, SR Bosna i Hercegovina. Osnovnu školu i Gimnaziju završila je u Novom Sadu 1971. godine sa odličnim, odnosno vrlo dobrim uspehom. Iste godine se upisala na Tehnološki fakultet, Univerziteta u Novom Sadu, gde je 1976. godine diplomirala sa prosečnom ocenom svih položenih ispita 8,67. Školske 1976/77. godine upisala je poslediplomske studije na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, smer primenjena hemija, gde je položila sve programom predviđene ispite sa prosečnom ocenom 10 i odbranila magistarski rad pod nazivom: "Spektralna analiza medjuproizvoda reakcija aldoza i amino-kiselina" dana 4. aprila 1980. godine.

Nakon diplomiranja, od 1. novembra 1976. godine mr Sonja Djilas je radila na odredjeno vreme kao rukovodilac vežbi na predmetu Organska hemija, na Tehnološkom fakultetu u Novom Sadu, do 1. maja 1977. godine, kada je izabrana u zvanje asistenta pripravnika za naučno-obrazovnu disciplinu Organska hemija. Jula meseca 1980. godine, nakon odbrane magistarskog rada, izabrana je u zvanje asistenta u vaspitno-obrazovnom radu za istu naučno-obrazovnu disciplinu i raspoređena na poslove i zadatke asistenta na Organskoj hemiji, koje obavlja i danas. Objavila je 7 naučnih i stručnih radova u domaćim i stranim časopisima i saopštila 14 radova na naučnim savetovanjima i kongresima u zemlji i inostranstvu.

