

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET

mr Ljiljana A. Kolarov

**UTICAJ VREDNOSTI pH PUFERA I VRSTE  
ANJONA NA BRZINU OKSIDACIJE  
L-ASKORBINSKE KISELINE**

– DOKTORSKA DISERTACIJA –

NOVI SAD, 1999.

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET

---

---

KLJUČNA DOKUMENTACIONA INFORMACIJA

---

---

Redni broj:  
RBR

Identifikacioni broj:  
IBR

Tip dokumentacije:  
TD

Monografska publikacija

Tip zapisa:

TZ

Tekstualni štampani materijal

Vrsta rada:

VR

Doktorska disertacija

Autor:

AU

mr Ljiljana A. Kolarov

Mentor/ko-mentor

MN

dr Slobodan M. Petrović, redovan profesor u penziji, Tehnološki fakultet u Novom Sadu

Naslov rada:

NR

"Uticaj vrednosti pH pufera i vrste anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline"

Jezik publikacije

JP

Srpski (latinica)

Jezik izvoda:

JI

Srpski/engleski

Zemlja publikovanja:

ZP

SR Jugoslavija

Uže geografsko područje:

UGP

AP Vojvodina

Godina:

GO

1999.

Izdavač:

IZ

Autorski reprint

Mesto i adresa:

MA

21000 Novi Sad, YU, Bulevar Cara Lazara 1

Fizički opis rada:

FO

Broj poglavlja 9, strana 119, lit. citata 161, tabela 18, slika 20, sheme 4

Naučna oblast:

NO

Hemija

Naučna disciplina:

ND

Analička hemija

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET

---

---

KLJUČNA DOKUMENTACIONA INFORMACIJA

---

---

Redni broj:  
RBR

Identifikacioni broj:  
IBR

Tip dokumentacije:  
TD

Monografska publikacija

Tip zapisa:  
TZ

Tekstualni štampani materijal

Vrsta rada:  
VR

Doktorska disertacija

Autor:  
AU

mr Ljiljana A. Kolarov

Mentor/ko-mentor  
MN

dr Slobodan M. Petrović, redovan profesor u penziji, Tehnološki fakultet u Novom Sadu

Naslov rada:  
NR

"Uticaj vrednosti pH pufera i vrste anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline"

Jezik publikacije  
JP

Srpski (latinica)

Jezik izvoda:  
JI

Srpski/engleski

Zemlja publikovanja:  
ZP

SR Jugoslavija

Uže geografsko područje:  
UGP

AP Vojvodina

Godina:  
GO

1999.

Izdavač:  
IZ

Autorski reprint

Mesto i adresa:  
MA

21000 Novi Sad, YU, Bulevar Cara Lazara 1

Fizički opis rada:  
FO

Broj poglavlja 9, strana 119, lit. citata 161, tabela 18, slika 20, sheme 4

Naučna oblast:  
NO

Hemija

Naučna disciplina:  
ND

Analitička hemija

Predmetna odrednica/ključne reči

PO

L-askorbinska kiselina, kinetička jednačina, red reakcije, konstanta brzine hemijske reakcije

UDK

543.48:577.164.2.

Čuva se:

ČU

U Biblioteci Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, 21 000 Novi Sad, YU, Bulevar Cara Lazara 1

Važna napomena:

VN

Nema

Izvod/apstrakt:

IA

U radu je spektrofotometrijski ispitivana brzina oksidacije L-askorbinske kiseline. Tok reakcije je praćen snimanjem UV apsorpcionih spektara termostatisanih rastvora L-askorbinske kiseline u puferima različitih vrednosti pH: acetatnom (4-6), fosfatnom (5-8), fosfatno-citratnom (6-8), boratnom (8-11), glicinskom (9-11) i univerzalnom (4-11). Izveden je jednostavan oblik kinetičke jednačine reakcije višeg i razlomljenog reda. Dobijena jednačina je univerzalna, jer obuhvata jednačine nultog, prvog, drugog, trećeg i razlomljenog reda. Izračunate su vrednosti reda reakcije i one variraju sa promenom vrednosti pH unutar jednog puferskog sistema. Veza između vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i vrednosti pH ispitivanih pufera je linearna do vrednosti pH=10.00. Vrednosti koeficijenta pravca prave su različite za ispitivane puferne. Vrsta anjona prisutna u puferu kao i prisustvo jona metala u korišćenim hemikalijama utiču na vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i one su različite u raznim puferima istih vrednosti pH. Vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline su najveće u univerzalnom puferu pri svim vrednostima pH. Prisutna smeša anjona manje utiče na oksidaciju L-askorbinske kiseline nego pojedinačni anjoni, verovatno zbog međusobnih interakcija.

Datum prihvatanja teme od strane NN Veća:

DP

24.10.1994.

Datum odbrane:

DO

Članovi Komisije:

(Naučni stepen, ime i prezime/zvanje/fakultet)

KO

Predsednik:

Prof. dr Nikola J. Marjanović, redovan profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu

Član:

Prof. dr Slobodan M. Petrović, redovan profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, u penziji, mentor

Član:

Prof. dr Nada U. Perišić-Janjić, redovan profesor PMF u Novom Sadu

Član:

Prof. dr Božidar Lj. Milić, redovan profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD  
FACULTY OF TECHNOLOGY

---

---

KEY WORDS DOCUMENTACION

---

---

Accession number:  
ANO

Identification number:  
INO

Document type:  
DT Monographic publication

Type of record:  
TR Textual material, printed

Contents code:  
CC Ph.D. Thesis

Author:  
AU M.S. Ljiljana A. Kolarov

Menthor/co-menthor:  
MN Ph.D. Slobodan M. Petrović, Full Professor

Title:  
TI "Influence of Buffer pH Value and Anion Type on L-Ascorbic Acid Oxidation Rate"

Language of text:  
LT Serbian (Roman)

Language of abstract:  
LS Serbian (Roman)/ English

Country of publication:  
CP FR of Yugoslavia

Locality of publication:  
LP AP of Vojvodina

Publication year:  
PY 1999.

Publisher:  
PB Author's reprint

Publication place:  
PL 21000 Novi Sad, YU, Bulevar Cara Lazara 1

Physical description:  
N<sup>o</sup> of chapters / pages / ref. / tables / figures / graphics / app.

PD (Chapter:9 / pages: 119 / references:161 / tables 18/ fig. 20/  
schemes. 4)

Scientific field:

SF

Chemistry

Scientific discipline:

SD

Analytical Chemistry

Subject/key words:

SX

L-Ascorbic acid, kinetic equation, reaction order, chemical reaction rate

UC

543.48..577.164.2.

Holding data:

HD

Faculty of Technology Library, Novi Sad, 21000 Novi Sad, YU, Bulevar Cara Laza 1

Note:

N

None

Abstract:

A

The paper deals with the spectrophotometric study of L-ascorbic acid oxidation rate. The course of reaction has been observed by recording the UV absorption spectra of thermostated solution of L-ascorbic acid in buffers with different pH values: acetate (4-6), phosphate (5-8), phosphate-citrate (6-8), borate (8-11), glycine (9-11) and universal (4-11). A simple form of kinetic equation of higher and fractional order reaction has been observed. The obtained equation is universal as it comprises the equations of zero, first, second, third and fractional order. The reaction order values have been calculated and they vary with change of pH values within each buffer system. The relation between the values of L-ascorbic acid oxidation rate constants and pH value of the studied buffers is linear up to pH value = 10.00. The straight line slopes are different for investigated buffers. The anion type present in a buffer as well as the presence of metal ions in applied chemicals affect the values of L-ascorbic acid oxidation rate constant and they are different in different buffers with the same pH values. The values of L-ascorbic acid oxidation rate constant are the highest in the universal buffer at all pH values. The present anion mixture affects the L-ascorbic acid oxidation to a lesser degree than single anions, presumably due to mutual interactions.

Accepted by the scientific board on:

ASB

24.10.1994.

Defended on:

DE

Thesis defend board:

(Degree/ Name and surname /title/ faculty):

DB

- President: Ph.D. Nikola J. Marjanović, Full Professor, Faculty of Technology, Novi Sad
- Member: Ph.D. Slobodan M. Petrović, Full Professor, Faculty of Technology, Novi Sad
- Member: Ph.D. Nada U. Perišić-Janjić, Full Professor, Faculty of Science, Novi Sad
- Member: Ph.D. Božidar Lj. Milić, Full Professor, Faculty of Technology, Novi Sad

Za konačan izgled ovog rada trebalo je puno dragocennih saveta, ideja i podrške. Sve to mi je pružio mentor i prijatelj dr Slobodan Petrović, red. prof., na čemu sam mu bezgranično zahvalna.

Ekspimentalni deo rada je urađen na Odeljenju za instrumentalne metode analize. Vreme provedeno na tom Odeljenju ostaće mi u prijatnoj uspomeni, jer su dr Nikola Marjanović, red. prof. i dr Zvonimir Suturović, van. prof., pored svojih obaveza, uvek nalazili vremena da me posavetuju i stručno mi pomognu, a tehnički saradnici sa Odeljenja, Milica Zagorac i ing. Dušan Nikodijević bili voljni da mi priteknu u pomoć. Svima njima se puno zahvaljujem.

Za obradu eksperimentalnih podataka koristila sam kompjuterski program koji je za tu svrhu kreirala dr Gordana Ćirić, van. prof., pa joj se ovom prilikom zahvaljujem.

Zahvaljujem se dr Nadi Perišić Janjić i dr Julijani Petrović, redovnim profesorima PMF-a, kao i dr Božidaru Miliću, redovnom profesoru Tehnološkog fakulteta, na dobronamernim primedbama i sugestijama koje su doprinele završetku ovog rada.

Zahvaljujem se Suzani Anđelković, mr Ivanu Šeferu i dipl. ing. Nikoli Dimiću na svesrdno pruženoj pomoći tokom tehničke obrade teksta. Zahvaljujem se i dr Biserki Vujičić, red. prof, što me je "trpela" u svom radnom prostoru do okončanja ovog rada.

Na kraju, ali ne i najmanje, u nemogućnosti da se pomenice zahvalim, zahvaljujem se svima koji su dobronamernim i korisnim savetima pomogli da se ovaj rad privede kraju.



## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. OPŠTI DEO .....	3
2.1. L-Askorbinska kiselina .....	3
2.1.1. Istorijat .....	3
2.1.2. Osobine L-askorbinske kiseline .....	8
2.1.3. Rasprostranjenost i fiziološka uloga L - askorbinske kiseline .....	12
2.1.4. Vitaminska vrednost L-askorbinske kiseline i njenih derivata .....	14
3. HEMIJSKA KINETIKA .....	20
3.1. Osnovi kinetike i brzina hemijske reakcije .....	20
3.1.1. Reakcije nultog reda .....	25
3.1.2. Reakcije prvog reda .....	27
3.1.3. Reakcije drugog reda .....	32
3.1.3.1. Reakcije drugog reda: Tip I .....	32
3.1.3.2. Reakcije drugog reda: Tip II .....	34
3.1.4. Reakcije trećeg reda .....	39
3.1.5. Reakcije višeg i razlomljenog reda .....	42
3.2. Metode analize eksperimentalnih podataka .....	43
3.3. Uticaj temperature na brzinu hemijske reakcije .....	49
4. KINETIKA OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE .....	52
4.1. Pregled literature .....	52
5. EKSPERIMENTALNI DEO .....	60
5.1. Uređaji i pribor .....	60
5.2. Hemikalije .....	60

5.3. Postupak rada	61
5.4. Priprema rastvora pufera	63
5.4.1. Priprema acetatnog pufera	63
5.4.2. Priprema fosfatnog pufera	63
5.4.3. Priprema fosfatno - citratnog pufera	64
5.4.4. Priprema boratnog pufera	64
5.4.5. Priprema glicinskog pufera	65
5.4.6. Priprema univerzalnog pufera	65
6. REZULTATI I DISKUSIJA .....	66
6.1. Apsorpcioni spektri L - askorbinske kiseline	66
6.2. Simplifikacija kinetičke jednačine višeg i razlomljenog reda	69
6.3. Uticaj vrednosti pH pufera na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline	82
6.4. Uticaj vrste anjona na brzinu oksidacije L - askorbinske kiseline	85
7. ZAKLJUČCI / CONCLUSIONS.....	93
8. LITERATURA.....	99
9. PRILOG .....	107

## 1. UVOD

L-Askorbinska kiselina, u svakodnevnom životu poznatija kao vitamin C, je najrasprostranjeniji vitamin, jer se nalazi u svim živim biljnim i životinjskim tkivima. Potrebe ljudskog organizma za ovim vitaminom su najveće u odnosu na druge vitamine. Vitamin C je najmanje stabilan vitamin među vitaminima, te je neophodno definisati uslove koji obezbeđuju njegovu stabilnost i optimalan sadržaj prvenstveno u proizvodima prehrambene i farmaceutske industrije, ali i mnogih drugih grana industrije u kojima se koristi vitamin C ili neki njegov derivat. Problem stabilizacije L-askorbinske kiseline u rastvorima ima veliki teorijski i praktični značaj. Predviđanje gubitaka vitamina C (u proizvodima u kojima je prirodno prisutan ili je u njih dodat zbog poboljšanja kvaliteta) je veoma komplikovano zbog nedostataka svih informacija o mehanizmu degradacije i faktora koji na njega utiču. Na stabilnost L-askorbinske kiseline utiče niz faktora na veoma kompleksan način, pa je problem stabilizacije i dalje prisutan, jer do danas nije pronađeno rešenje koje u potpunosti zadovoljava.

U vodenom rastvoru se L-askorbinska kiselina ponaša kao slaba dvobazna kiselina koja vrlo brzo, zbog oksidacije, prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu iste vitaminske vrednosti. Koncentracija L-askorbinske kiseline opada sa vremenom, ali različitom brzinom, jer na gubitak utiču koncentracija kiseonika u rastvoru, vrsta i koncentracija jona metala u rastvoru, vrednost pH rastvora, vrsta anjona prisutna u rastvoru, temperatura, svetlost i drugi faktori. Uticaj pomenutih faktora na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline nije jednak, što otežava iznalaženje kinetičke jednačine u kojoj se brzina hemijske reakcije dovodi u vezu sa pomenutim različiti-

---



tim uticajima. U literaturi je najviše ispitivano kako na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline utiču vrsta i koncentracija jona metala kao i koncentracija kiseonika u rastvoru. Poznato je da je u kiseljoj sredini oksidacija L-askorbinske kiseline spora, a baznoj brza, ali je uticaj vrednosti pH na brzinu oksidacije ispitivan nesistematski. Malo je ispitivan uticaj vrste anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline. Postoje različita mišljenja o kinetici oksidacije L-askorbinske kiseline, jer neki autori smatraju da je ta reakcija nultog, drugi prvog reda, a postoje i podaci o razlomljenom redu reakcije.

Predmet ispitivanja doktorske disertacije je praćenje kinetike oksidacije L-askorbinske kiseline i iznalaženje pravog reda reakcije u zavisnosti od vrednosti pH puferških rastvora i vrste anjona prisutnih u tim puferima, kao i koreliranje konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i pomenuta dva faktora.

## 2.1. L-ASKORBINSKA KISELINA

### 2.1.1. ISKORIŠTAJ

U ovom poglavlju opisano je korišćenje askorbinske kiseline u raznim oblastima. Askorbinska kiselina je jedna od najvažnijih vitamina u ljudskom organizmu. Ona je odgovorna za održavanje zdravlja i sprečavanje bolesti. Askorbinska kiselina je prisutna u mnogim namirnicama, posebno u voću i povrću. Ona je takođe prisutna u ljudskom organizmu, gde je odgovorna za održavanje zdravlja i sprečavanje bolesti. Askorbinska kiselina je prisutna u mnogim namirnicama, posebno u voću i povrću. Ona je takođe prisutna u ljudskom organizmu, gde je odgovorna za održavanje zdravlja i sprečavanje bolesti.



## 2. OPŠTI DEO

### 2.1. L-ASKORBINSKA KISELINA

#### 2.1.1. ISTORIJAT

Vitamin C (L-askorbinska kiselina) je verovatno najpoznatiji vitamin. Svakog proleća mnogi ljudi osećaju manjak ovog vitamina što je posledica jednolične zimske ishrane bez dovoljno svežeg voća i povrća. Hipovitaminoza vitamina C, tj. relativno stanje pomanjkanja vitamina koje još ne dovodi do klasične slike bolesti, se najčešće ispoljava kao: dremljivost, nevoljnost, umor, opšta slabost, bol u nogama, česte glavobolje i naročito krvarenje iz desni [1-3]. Osobe kod kojih je manjak vitamina C jače izražen su vrlo blede i stalno umorne, žale se na bolove u većini mišića, naročito u listovima. Iz usta, koja su bolna, oseća se jak zadah. Nepce je otečeno, desni su upaljene, često krvare, a zubi su klimavi.

Potpuni nedostatak vitamina C, tzv. avitaminoza vitamina C je vezana za skorbut (naziv bolesti potiče od holandske reči *skorbeek* - grizlica u ustima) [4]. Čovek oboleo od skorbuta gubi apetit, slabi, javlja se oštećenje kapilara i krvarenje iz usta, nosa, creva, mokraćnog mehur. Česta su krvarenja po koži (na najmanji udar), upale zubnog mesa, labavljenje i ispadanje zuba. Otpornost prema infekci-

jama je veoma smanjena. Srce brzo slabi i bolesnik umire. Iako je danas skorbut redak, jer se mnogim prehrambenim proizvodima dodaje sintetski vitamin C (za poboljšanje ukusa i izgleda proizvoda i kao nadoknada za izgubljen vitamin C u toku tehnološkog procesa), skorbut je dugo poznata avitaminoza. Istorijski gledano, još su Hipokrit i Plinije opisali slučajeve skorbuta među grčkim i rimskim vojnicima u opsednutim tvrđavama kada su branioći bili prinuđeni da se duže vreme hrane konzervisanom hranom. Ni Napoleonova vojska nije bila pošteđena skorbuta, kao ni američka za vreme građanskog rata. Skorbut je bio stalna opasnost i za pomorce. Portugalski morepolovac Vasco Da Gama je na putovanju za Indiju (1498. god.) od 160 članova posade izgubio 60 ljudi. Fernando de Magallanes je prošao još gore, jer se sa puta oko sveta (1519. - 1522. god.) vratilo samo 18 pomoraca. Kapetan Cook je na put oko sveta (1766. - 1767.) [5] nije poneo dovoljne zalihe kiselog kupusa, te se cela posada razbolela od skorbuta. Cook, i sam bolestan, je zaklao svog psa. Zahvaljujući njegovoj krvi koju je pio preživio je putovanje. Na osnovu Cook-ovog praktičnog iskustva postavljena je teorijska osnova profilakse skorbuta. Smatralo se da je skorbut posledica nedostatka nekih činilaca u ishrani prvenstveno svežeg voća i povrća, pa je u ishranu mornara engleske mornarice već 1796. godine uveden limun kao svakodnevni dodatak hrani.

Ectjus i Baldnin su prvi lekari koji su, još 1541. godine, pisali o skorbutu. 1907. godine su A. Holst i T. Frolich [6] izazvali skorbut u laboratorijskim uslovima hraneći zamorčice pšeničnim mekinjama i zobi, tj. hranom bez svežeg voća i povrća. Pretpostavili su da sveže voće i povrće sadrži "antiskorbutni faktor" koji je potreban zamorčetu, čovekolikom majmunu i čoveku, a druge životinje ga sintetišu. Rezultati ispitivanja su korišćeni za sva naredna istraživanja koja su se bavila problematikom izolovanja i karakterisanja antiskorbutnog faktora.

Novija istorija vitamina C počinje 1927. godine kada je S. S. Zilva [7] koncentrisao antiskorbutni faktor iz limuna. Iste godine je Albert Szent-Györgyi [8] izolovao snažnu redukcionu supstancu sličnu šećeru iz nadbubrežne žlezde vola i iz dva biljna izvora: soka pomorandže i kupusa. Kristalno jedinjenje, bruto formule  $C_6H_8O_6$ , je 1928. godine, zbog kiselog karaktera i redukcionih osobina, nazvao "heksuronska kiselina". Na predlog profesora G. F. Hopkins-a, koji se interesovao za vitamine, uzorak heksuronske kiseline je poslat S. S. Zilva-i vodećem autoritetu

u oblasti vitamina. Njegov odgovor je bio da heksuronska kiselina nije vitamin C i to je odložilo identifikaciju vitamina C za nekoliko godina.

Narednih godina (1929 - 1931) je objavljeno više radova iz oblasti vitamina C [9-13]. Za istorijat vitamina C je naročito značajna 1932. godina kada su W. A. Waugh i C. G. King [14-16] izolovali kristalnu antiskorbutnu supstancu iz soka limuna i dokazali da je ona identična sa heksuronskom kiselinom koju je izolovao A. Szent-Györgyi [8]. Najraniji zvaničan naziv ovog antiskorbutnog faktora je "cevitamična kiselina", ali je naziv kasnije promenjen u današnji "askorbinska kiselina". Iste, 1932. godine, su objavljeni i radovi J. L. Svirbely-a i A. Szent-Györgyi-a [17-18] koji su definitivno potvrdili da su antiskorbutni faktor A. Holst-a i T. F. Frolich-a [6], heksuronska kiselina A. S. Györgyi-a [8], vitamin C i askorbinska kiselina isto jedinjenje.

Gerald J. Cox [19] je napisao: "Rezultati istraživanja W. A. Waugh-a i C. G. King-a [14,15] i J. L. Svirbely-a i A. Szent-Györgyi-a [17-18] su u celini objavljeni 1932. godine. Kasniji radovi drugih autora su pokazali da je vitamin C zaista identifikovan. Kada se analiziraju objavljeni radovi, evidentne su sledeće činjenice: A. Szent-Györgyi je 1928. godine prvi izolovao heksuronsku kiselinu, ali je smatrao da je ta redukujuća supstanca pratilac vitamina C [8]. R. B. McKinnis i C. G. King [11] su 1930. godine prvi objavili sigurne nagoveštaje da je heksuronska kiselina vitamin C. C. G. King je sa studentima uspeo da izoluje aktivnu supstancu u kristalnom obliku i prvi je ustanovio [14] da je ta kristalna supstanca po svemu sudeći identična sa heksuronskom kiselinom koju je izolovao A. Szent-Györgyi.

Petnaest dana nakon što su C. G. King i W. A. Waugh objavili rad u časopisu Science [15], J. L. Svirbely i A. Szent-Györgyi [17] su objavili svoje prve dokaze da heksuronska kiselina ima antiskorbutne osobine, ali su tek 7. maja 1932. godine ustanovili da su vitamin C i heksuronska kiselina identična jedinjenja [18]."

Dr Harry G. Day, počasni profesor hemije sa Indijana Univerziteta, 1984. godine u privatnom obraćanju dr George Weber-u piše: ....Vi pripisujete sve zaslugе za otkrivanje vitamina C dr A. Szent-Györgyi. Međutim, dr C. G. King i saradnici su prvi uočili i objavili da je supstanca koju su izolovali oni i Szent - Györgyi, nezavisno jedni od drugih, zaista vitamin C. A. Szent-Györgyi je 1927. godine prvi izolovao redukujuću supstancu i 1928. godine je nazvao heksuronska kiselina, ali

je verovao da je supstanca u smeši sa vitaminom C i da nije vitamin C. C. G. King i saradnici [11], su još 1930. godine dokazali da je vitamin C organska kiselina male molekulske mase i da ne sadrži atom azota. Prvog aprila 1932. godine su C. G. King i W. A. Waugh [15] najavili izolovanje vitamina C u kristalnom obliku i ustanovili da: "Rekristalisana supstanca, po hemijskim i fizičkim osobinama, odgovara heksuronskoj kiselini i da je identična heksuronskoj kiselini koju je opisao A. Szent-Györgyi."

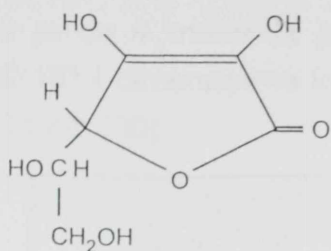
Šesnaestog aprila 1932. godine su J. L. Svirbely i A. Szent-Györgyi [17] objavili da su zaštitili zamorčiče od skorbuta dajući im 1 mg heksuronske kiseline dnevno u toku 56 dana. Međutim, tek su 7. maja 1932. godine konačno potvrdili identičnost heksuronske kiseline i vitamina C [18].

Postoje i drugi autori [20-22] koji su mišljenja da su za, skoro istovremeno, otkrivanje vitamina C podjednako zaslužni A. Szent-Györgyi i C. G. King i da je zato trebalo dodeliti Nobelovu nagradu obojici naučnika. Albert Szent-Györgyi je 1937. godine, za istaknuta biohemijska istraživanja heksuronske kiseline i drugih metabolita, primio Nobelovu nagradu za medicinu i fiziologiju. U svakom slučaju, identifikacija askorbinske kiseline odn. vitamina C predstavlja najčudnije poglavlje u istoriji izolovanja i identifikacije vitamina.

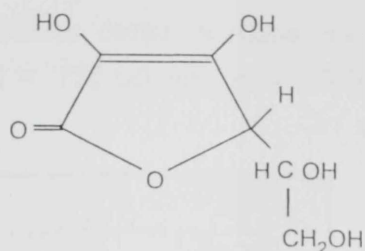
Prva sinteza L-askorbinske kiseline je objavljena 1933. godine. Početkom te godine su dve nezavisne ekipe istraživača, T. Reichstein sa saradnicima [23, 24] u Švajcarskoj i R. Ault sa saradnicima [25] u Engleskoj, sintetisali L-askorbinsku kiselinu. Iste 1933. godine, ali kasnije, nekoliko autora [26-29] je odredilo strukturu L-askorbinske kiseline (1). Jedinjenje se javlja u keto i enol obliku. Između en-diolnog oblika (1) i dva keto oblika (2), i (3) postoji ravnoteža u rastvorima. Tako se igrom slučaja dogodilo da je sinteza L-askorbinske kiseline (što je za ono vreme bio problem) izvedena pre nego što je jedinjenju određena struktura. L-askorbinska kiselina ima, zbog prisustva 2 asimetrična ugljenikova atoma (položaji 4 i 5), 4 stereoizomera.



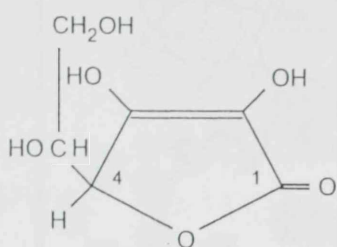




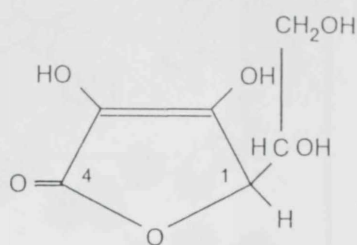
L-askorbinska kiselina



D-askorbinska kiselina



L-izoaskorbinska kiselina



D-izoaskorbinska kiselina

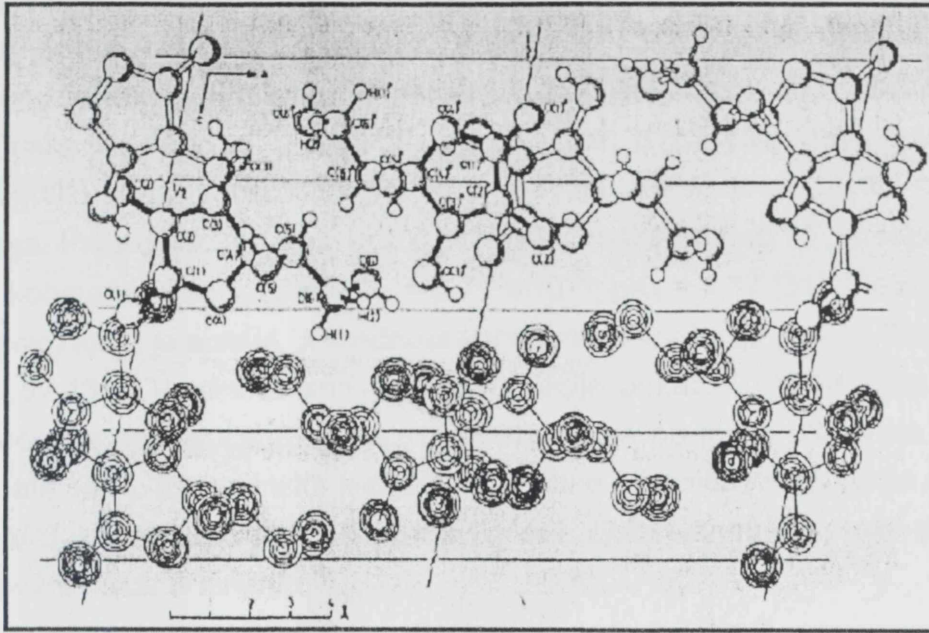
### 2.1.2. OSOBINE L-ASKORBINSKE KISELINE

Nakon izolacije, određivanja strukture i sinteze L-askorbinske kiseline započeta su mnogobrojna istraživanja čiji je zajednički cilj bio ispitivanje fizičkih, hemijskih, biohemijskih i drugih osobina novog jedinjenja, kao i njegova uloga u biološkim oksidacijama.

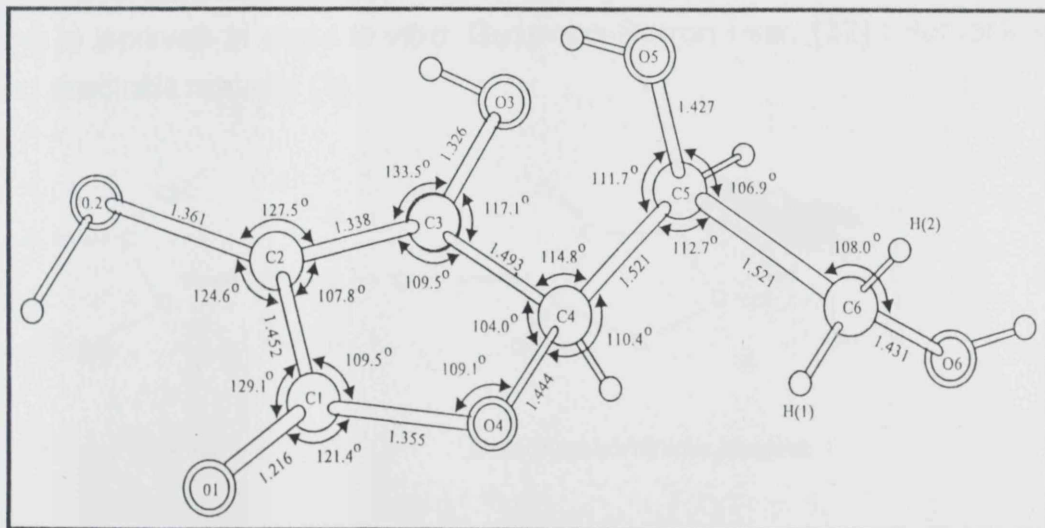
L-askorbinska kiselina je bela ili slabo žućkasta kristalna supstanca, bez mirisa i veoma kiselog ukusa. Bruto molekulska formula L-askorbinske kiseline je  $C_6H_8O_6$ , a molekulska masa iznosi 176.12 (C 40.91%, H 4.56% i O 54.91%). Tačka topljenja je  $190^{\circ} - 192^{\circ}C$  uz delimično raspadanje. Jedan gram L-askorbinske kiseline se rastvara u 3 ml vode, 50 ml apsolutnog alkohola i 100 ml glicerina. Nerastvorljiva je u uljima, mastima i rastvaračima za ulja i masti. Specifični ugao rotacije iznosi  $[\alpha]_D^{20} = +23^{\circ}$  (1,6%,  $H_2O$ ) i  $[\alpha]_D^{20} = +48^{\circ}$  (0.85%,  $CH_3OH$ ). Apsorpcioni maksimumi UV spektra L-askorbinske kiseline su na 245 nm (mereno u rastvoru čiji je pH = 1.00) i na 265 nm (mereno u rastvoru čiji je pH = 8.00). Kristališe u monokliničnom sistemu u obliku pločica, a nekad i iglica. Suvi kristali askorbinske kiseline su stabilni na vazduhu, dnevnoj svetlosti i sobnoj temperaturi. L-Askorbinska kiselina je detaljno ispitana difrakcionim metodama (Slike 2.1. i 2.2.).

## 2. Opšti deo

Nađeno je da 4 molekula jedinjenja grade "jediničnu ćeliju" kristala sa uglom  $\beta = 102.18^\circ$  i dimenzijama kristalografskih osa:  $a = 172.99$  nm,  $b = 63.53$  nm i  $c = 64.11$  nm [30].



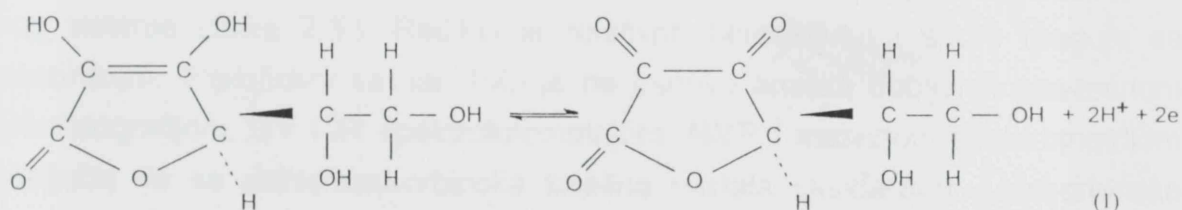
Slika 2.1.: Pogled (uzduž) na strukturu L-askorbinske kiseline [30]



Slika 2.2.: Prosečne vrednosti dužine veza i uglova u L-askorbinskoj kiseline [30]

L-Askorbinska kiselina (*1-keto-L-treo-heksono- $\gamma$ -lakton-2,3-en-diol*; (+)-1,4-lakton-2,3-dehidrogulonska kiselina; L-ksilo-askorbinska kiselina; heksuronska kiselina; 4-lakton L-treo-2,3,4,5,6-pentahidroksi-2-hekseonične kiseline) je interesantno jedinjenje. Iako se naziva kiselinom, L-askorbinska kiselina to nije, nego je lakton koji sadrži en-diolnu grupu  $-C(OH)=C(OH)-$  zbog koje askorbinska kiselina reaguje kiselo: pH vodenog rastvora je 2.00 (50 mg/ml) odn. 3.00 (5 mg/ml). L-Askorbinska kiselina se u rastvoru ponaša kao dvobazna kiselina koja zbog disocijacije OH grupa vezanih sa obe strane dvostruke veze za  $C_2$  i  $C_3$  disosuje u dva stupnja. Prva disocira OH grupa u položaju 3 oslobađajući  $H^+$ , a odgovarajuća vrednost konstante disocijacije je  $K_1 = 6.77 \times 10^{-5}$ ;  $pK_1 = 4.17$  [31]. Disocijacija OH grupe u položaju 2 je slabija, a vrednost konstante disocijacije je  $K_2 = 2.69 \times 10^{-12}$ ;  $pK_2 = 11.57$  [31]. Vrednosti konstanti disocijacije pokazuju da se L-askorbinska kiselina ponaša kao slaba monobazna kiselina kojapo jačini odgovara sirćetnoj. Sve poznate soli L-askorbinske kiseline su nastale disocijacijom protona OH grupe u položaju 3, pa su prema tome monovalentne. Divalentni joni, iako predviđeni nisu izolovani i okarakterisani.

Prisutna en-diolna grupa u L-askorbinskoj kiselini nije odgovorna samo za kiselost jedinjenja nego i za najvažniju hemijsku karakteristiku L-askorbinske kiseline, a to je snažna redukciona moć. Mehanizam oksidacije L-askorbinske kiseline je ispitivan *in vivo* i *in vitro*. Guzmann-Barron i sar. [32] i Borsook sa sar. [33] su predložili reakciju (1):



L-askorbinska kiselina

Dehidroaskorbinska kiselina

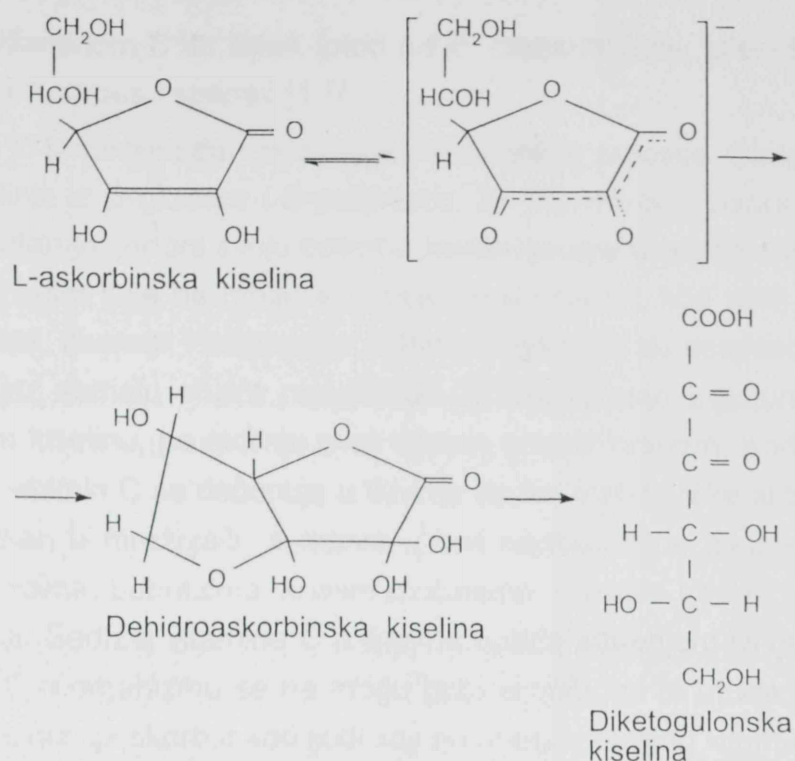
Na  $35^\circ\text{C}$  i pri  $\text{pH} = 4.00$ , standardni normalni redoks potencijal ovog sistema je  $E = +0,166 \text{ V}$ . L-Askorbinska kiselina je najjače poznato redukujuće sredstvo

koje prirodno postoji u živim tkivima. Smeša L-askorbinske kiseline i njenog proizvoda oksidacije, dehidroaskorbinske kiseline se smatra redoks puferom [34].

Oprečna su mišljenja da li je reakcija 1 *in vitro* povratna ili ne. Oksidovan oblik L-askorbinske kiseline je prvi put otkriven kada je S. S. Zilva primetio da sveže oksidisani rastvor L-askorbinske kiseline zadržava nutritivnu i fiziološku aktivnost. U istom periodu je i A. Szent Györgyi primetio da se oksidovan oblik L-askorbinske kiseline može regenerisati u L-askorbinsku kiselinu. Drugi autori [35-40] smatraju da je oksidacija L-askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu povratna reakcija. Suprotnog stava su Karrer i Schwarzenbach [41, 42], jer smatraju da je to nepovratna reakcija. Postoje i autori [43-45] koji oksidaciju L-askorbinske kiseline posmatraju kao reakciju koja se dešava u dve etape, od koje je prva povratna, a druga nepovratna. Z. Vavrin [46] i D. M. H. Kern [47] su slično zaključili tumačeći anodno polarografsko određivanje L-askorbinske kiseline: prvi stupanj reakcije je brz i povratan. Tada se stvara međuprodukt koji, kasnijom nepovratnom reakcijom, prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu.

Nastavljena istraživanja ovih otkrića vodila su do zaključka da se L-askorbinska kiselina može povratno oksidisati u dehidroaskorbinsku kiselinu bez gubitka nutritivne aktivnosti. Sedamdesetih godina su objavljeni radovi koji su pokušali da razjasne hemijsku prirodu jedinjenja nastalog povratnom oksidacijom L-askorbinske kiseline. Laroff i sar. [48] su koristeći *in situ* radiolizu elektron spin rezonancu pokazali da oksidacijom L-askorbinske kiseline nastaje međuproizvod, radikal anjon, u kome se nesporeni elektron prostire preko konjugovanog trikarbonilnog sistema (Slika 2.3.). Radikal je relativno nereaktivan i sporo reaguje sa kiseonikom. Pfeilsticker sa sar. [50] je na osnovu analiza dobijenih gas-tečnom hromatografijom, UV i IR spektrofotometrijom, NMR i masenom spektrometrijom zaključio da se dehidroaskorbinska kiselina nastala oksidacijom L-askorbinske kiseline u vodenom rastvoru uglavnom nalazi u obliku bicikličnog hidratisanog laktone, 3,6-anhidro-L-ksilo-heksalono-1,4-lakton hidrata.

Iz prethodnih rezultata se može zaključiti da tradicionalno "udžbeničko jedinjenje", tj. uobičajena strukturna formula dehidroaskorbinske kiseline,  $\gamma$ -lakton L-treo-2,3-hekso diulosonične kiseline, sa tri karbonilne grupe (reakcija 1) nije verovatna



**Slika 2.3.:** Oksidacija i redukcija L-askorbinske kiseline [49]

formula zbog relativne nestabilnosti jedinjenja. Sistem spojenih prstena je kinetički stabilniji od trikarbonilnog, pa je prikladnija strukturna formula prikazana na Slici 2.3.

Daljom oksidacijom dehidroaskorbinske kiseline nastaju različita jedinjenja. Reakcija je nedvosmisleno nepovratna i odvija se u nekoliko koraka. R. Strohecker i F. Matt [51] su, ispitujući oksidaciju dehidroaskorbinske kiseline, zaključili da se ona prvo oksidiše u fiziološki neaktivnu 2,3-diketo-1-gulonsku kiselinu, a zatim u 1-treonsku kiselinu i oksalnu kiselinu. Krajnji proizvodi oksidacije su ugljenik (IV) -oksid i voda. Sve prethodne reakcije su spore i nestehiometrijske.

### 2.1.3. RASPROSTRANJENOST I FIZIOLOŠKA ULOGA L - ASKORBINSKE KISELINE

L-Askorbinska kiselina je najrasprostranjeniji vitamin. Prisutna je u biljnom i životinjskom svetu. Voće i povrće su "bogati" izvori vitamina C, a namirnice naro-

čito bogate vitaminom C su šipak (plod ruže), citrusno voće, aktinidij, a od povrća peršun, paprika, kupus i spanać [1-3].

Vitamin C je neophodan za mnoge metaboličke procese. Sintetiše ga većina biljaka i životinja iz D-glukoze i D-galaktoze. Za najveći broj sisara L-askorbinska kiselina nije vitamin, jer oni svoju potrebu zadovoljavaju vlastitom sintezom. Međutim, postoje i vrste koje ne mogu sintetisati ovaj vitamin: kod viših životinja su to čovek, majmuni, zamorci i neke ptice. Njihovi organizmi su nesposobni za sintezu vitamina C, jer nemaju enzim neophodan za pretvaranje L-gulonske kiseline u L-askorbinsku kiselinu, pa moraju ovaj vitamin unositi hranom. Kod čoveka, kao i kod životinja, vitamin C se deponuje u tkivima visoke metaboličke aktivnosti. Najviše je skoncentrisan u mrežnjači, a manje u kori nadbubrežne žlezde, mozgu, jetri, testisima, jajnicima, bubrezima, krvnim pločicama, crvenim i belim krvnim zrnima i krvnoj plazmi. Sadržaj vitamina C u tkivima opada starenjem tkiva. Normalni depoi vitamina C u organizmu se ne mogu brzo iscrpiti, pa je otuda potrebno 3 - 4 meseca da se razvije skorbut kod ljudi koji ne unose dovoljno vitamina C hranom.

Jedna od najvažnijih biohemijskih reakcija L-askorbinske kiseline je da inhibira toksične slobodne radikale (hidroksil i perhidroksil) koji nastaju iz metaboličkih proizvoda kiseonika. U toj ulozi se pojavljuje redoks puffer tj. smeša L-askorbinske kiseline i njenog oksidacionog proizvoda dehidroaskorbinske kiseline [34]. Pri terminaciji slobodnih radikala, L-askorbinska kiselina se pretvara u dehidroaskorbinsku kiselinu koja delovanjem enzima reduktaze i kofaktora prelazi u L-askorbinsku kiselinu. Uz redoks funkciju u ćelijama, druga fiziološka delovanja L-askorbinske kiseline odnose se na kompleksiranje jedinjenja sa metalima i proteinima [52].

Vitamin C je potreban za normalno funkcionisanje ćelija, tkiva i organa i ima niz važnih fizioloških uloga. Neophodan je za pravilan razvoj i funkciju mezenhimnog tkiva. Značajan je za metabolizam kalcijuma i svih materija iz hrane koje učestvuju u rastu i razvoju kostiju. Vitamin C potpomaže pravilno zarastanje rana, a ima i važnu korelacionu ulogu sa korom nadbubrežne žlezde omogućujući sintezu i metabolizam njenih hormona. Uloga vitamina C je značajna za metabolizam aminokiselina (prolina, lizina i naročito tirozina), jona metala (bakra i gvožđa), vitamina B grupe. E. Cameron [53] je dokazao važnost ovog vitamina u poboljšanju zdravlja i otpornosti organizma prema infektivnim bolestima, a C. W. M. Wilson [54] je

istraživao ulogu vitamina C u profilaksi prehlade i polenske groznice. Mnoga istraživanja ukazuju da vitamin C utiče na usporavanje rasta tkiva tumora. Dvostruki dobitnik Nobelove nagrade L. Pauling [55] se zalaže za davanje mega doza vitamina C, čak 10 g dnevno, pacijentima obolelim od karcinoma. Vitamin C inhibira i nastanak nitrozamina [56], jedinjenja koje je kancerogeno, a nastaje iz nitrata koji se nalaze u hrani.

Smatra se da je dnevna potreba ljudi za vitaminom C oko 75 mg, ali se ona razlikuje prema uzrastu, da li su u pitanju zdrave ili bolesne osobe, pušači, trudnice i dojilje [4]. Interesantno je da je potreba čoveka za vitaminom C od 10 do 100 puta veća nego za ostalim vitaminima, a uzrok je nepoznat [3]. Višak vitamina unet hranom se izlučuje mokraćom, te ne postoji opasnost od predoziranja. Unošenje vitamina C kod zdravih ljudi je praćeno brzim izlučivanjem velikog dela doze preko mokraće. Ovakvu reakciju pokazuju samo organizmi koji sadrže dovoljno vitamina C. Međutim, ako se, nakon unošenja 50-100 mg L-askorbinske kiseline, ona sporo izlučuje iz organizma to se smatra pokazateljem nedostatka vitamina C. Na taj način se otkriva nedostatak L-askorbinske kiseline u organizmu znatno pre prvih znakova skorbuta [2].

#### **2.1.4. VITAMINSKA VREDNOST L-ASKORBINSKE KISELINE I NJENIH DERIVATA**

Već se oko 60 godina L-askorbinska kiselina industrijski proizvodi hemijskom sintezom. Stalna poboljšanja pojedinih etapa sinteze su učinila ovaj proces komercijalno izvodljivim, pa je moguća dnevna proizvodnja i 30 tona čiste L-askorbinske kiseline što odgovara količini vitamina C u oko 500 000 000 velikih pomorandži [57]. Vitamin C je prvi vitamin koji je u kristalnom stanju komercijalno proizveden prvenstveno za medicinske potrebe, a zatim se lepeza korišćenja proširila. U La Roche laboratorijama [58] je 1971. godine analitički čista L-askorbinska kiselina izolovana iz sveže iscedenog limunovog soka i upoređena sa čistom L-askorbinskom kiselinom dobijenom hemijskom sintezom. Ispitivanja fizičkih i hemijskih osobina klasičnim metodama i korišćenjem najmodernijih instrumenata



nisu otkrila razliku između L-askorbinske kiseline dobijene iz dva izvora (prirodnog i veštačkog).

Stotine, ako ne i hiljade radova je objavljeno o primeni L-askorbinske kiseline u prehrambenoj industriji, pa je tako Bauernfeind 1953. godine objavio rad [59] sa 406 citata i 1970. godine rad [60] sa 520 citata o korišćenju L-askorbinske kiseline u proizvodnji hrane. L-askorbinska kiselina se može dodati hrani ili sastojcima hrane kao hranljiva materija, da poboljša prirodnu hranu koja nema vitamina C ili ga ima malo, da nadoknadi nastale gubitke vitamina C, da obogati veštačku hranu hranljivom vrednošću. Zbog prisustva endiolne grupe, L-askorbinska kiselina poseduje značajan inhibitorni uticaj na redoks reakcije koje su odgovorne za nastajanje nepoželjne boje, arome i mirisa u različitim prehrambenim proizvodima.

Impozantan je broj patenata i naučnih radova o korišćenju L-askorbinske kiseline i u drugim granama industrije: industriji sintetičkih polimera, fotoindustriji i tehnologiji metala. Poznata je različita primena L-askorbinske kiseline u kozmetici, industriji vlakana i duvana, sredstvima za čišćenje, za čuvanje krvi i sečenih biljaka, kao analitičkog reagensa i mnoge druge.

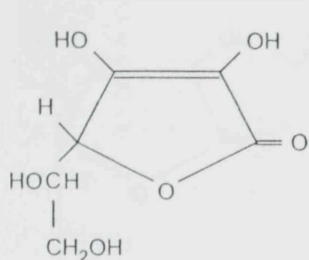
U literaturi je poznato na stotine derivata L-askorbinske kiseline kao što su kompleksi sa metalima ili soli aluminijuma, bakra, gvožđa i magnezijuma. Poznati su i estri L-askorbinske kiseline: sulfati, fosfati, acetati, diacetati, benzoati, laurati, oleati, stearati, palmitati itd.

U estrima L-askorbinske kiseline, estarska grupa se može nalaziti na  $C_2$  ili  $C_3$  atomu. Postojala je dilema koja je pozicija stabilnija. Na primer, za fosfatni estar L-askorbinske kiseline, Cutollo i Lorizza [61] su tvrdili da je fosfatna grupa vezana za  $C_3$  atom, a Lee sa saradnicima [62] da je vezana za  $C_2$  atom. Jernow sa saradnicima [63] je kristalografskom analizom pokazao da derivat ovog estera (3-O-(bismorfolina) fosfilin) 5,6-izopropiliden-L-askorbat zaista ima fosfatnu grupu vezanu za  $C_3$  atom. Isti autori tvrde da kiselom hidrolizom jedinjenja, prvo nastaje nestabilan 3-O-fosfat, koji brzo prelazi u stabilniji 2-O-fosfat. Zaključeno je da tris (cikloheksil) amonijumova so fosfata L-askorbinske kiseline, koju su sintetisali Cutolo i Lorizza [61] i koja je pripisana 3-O-fosfatu, ustvari 2-O-fosfat kao što su pretpostavili Lee i saradnici [62]. Inače, L-askorbat-2-fosfat je interesantno jedinjenje za prehrambenu industriju, jer je iste vitaminske vrednosti kao i L-askor-

binska kiselina, a 10 - 20 puta je otporniji na uticaj kiseonika [64] od L-askorbinske kiseline.

Druge strukture obuhvataju sulfamerazin askorbat, sulfatiazol askorbat, neomicin askorbat, prokain askorbat, eritromicin askorbat, kinin askorbat, tokoferol askorbat, nikotinamid askorbat i drugi.

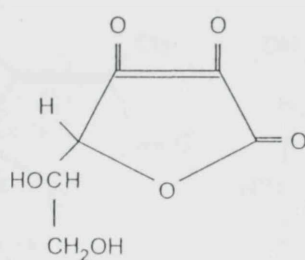
Pojam vitamina C se uobičajeno vezuje za L-askorbinsku kiselinu. Međutim, postoje i druga jedinjenja (izomeri L-askorbinske kiseline) koja u manjoj ili većoj meri poseduju vitaminska svojstva. Indeks ispod naziva jedinjenja označava njegovu vitaminsku vrednost, pri čemu je, poređenja radi, indeks 1 dodeljen L-askorbinskoj kiselini (I) [65-67]. Oksidacijom L-askorbinske kiseline nastaje dehidroaskorbinska kiselina (II) koja ima istu vitaminsku vrednost kao i L-askorbinska kiselina. Hidrolizom laktonskog prstena nastaje 2,3-diketo L-gulonska kiselina (III) koja je potpuno lišena vitaminske vrednosti.



L-askorbinska kiselina

I

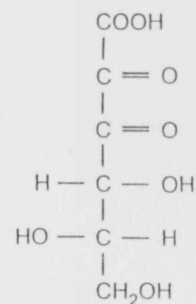
1



Dehidroaskorbinska kiselina

II

1



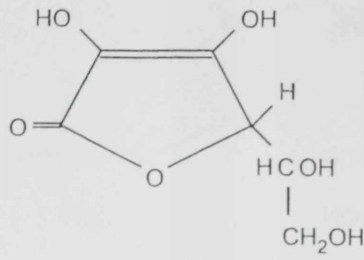
2,3-Diketo L-gulonska kiselina

III

0

Jedinjenja koja su blisko povezana sa L-askorbinskom kiselinom su izomeri sa različitom orijentacijom na atomima C<sub>4</sub> i C<sub>5</sub>. D-Askorbinska kiselina (IV) i L-izoaskorbinska kiselina (L-arabo askorbinska kiselina) (V) su bez vitaminske vrednosti, a kod D-izoaskorbinske kiseline (D-arabo askorbinska kiselina) (VI) je vitaminska vrednost smanjena dvadeset puta.

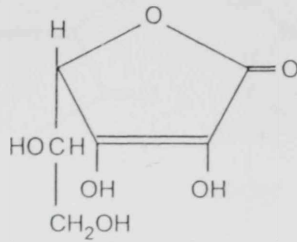
2. Opšti deo



D-askorbinska kiselina

IV

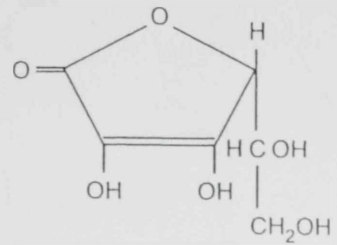
0



L-izoaskorbinska kiselina

V

0

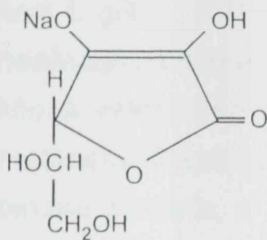


D-izoaskorbinska kiselina

VI

0.05

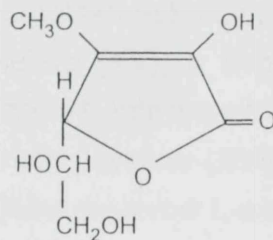
Enolati, soli nastale iz L-askorbinske kiseline i metala (Na, Ca, Fe itd.), imaju istu vitaminsku vrednost kao i L-askorbinska kiselina. Tako se na primer natrijumova so L-askorbinske kiseline (VII) koristi u medicini kao stabilan preparat vitamina C u ampulama.



Na-askorbat

VII

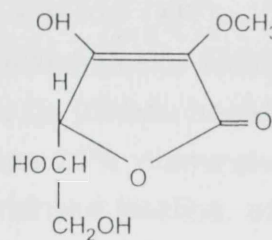
1



3-O-Metilestar  
L-askorbinske kiseline

VIII

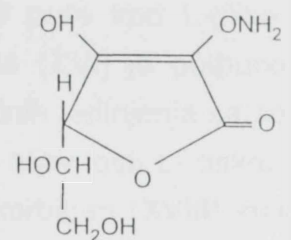
0.02-0.04



2-O-Metilestar  
L-askorbinske kiseline

IX

1



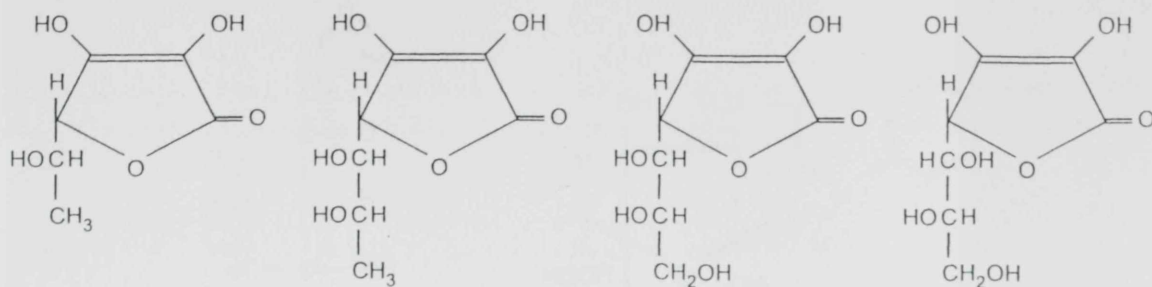
Skorbaminska  
kiselina

X

0

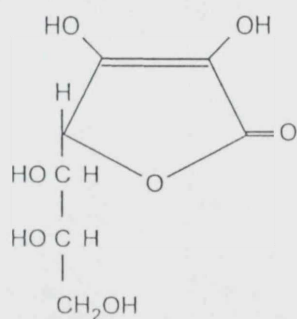
Esterifikacijom OH grupe na atomima C<sub>3</sub> ili C<sub>2</sub> nastaju proizvodi različite vitaminske vrednosti: 3-O-metilestar L-askorbinske kiseline (VIII) ima svega 2 - 4 % vitaminske aktivnosti, ali je interesantno da je 2-O-metilestar L-askorbinske kiseline (IX) aktivan kao i L-askorbinska kiselina. Zamenom OH grupe u položaju 2 amino grupom, nastaje skorbaminska kiselina (X) bez vitaminske aktivnosti.

2. Opšti deo

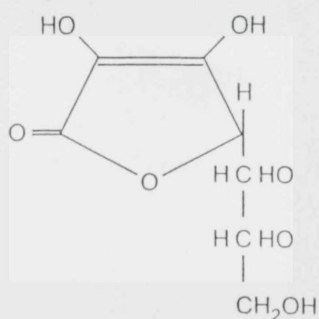


3-Dezoksiaskorbinska kiselina	L-Ramnoaskorbinska kiselina	L-Glikoaskorbinska kiselina	L-Galaktoaskorbinska kiselina
XI	XII	XIII	XIV
0.33	0.02	0.016-0.025	0.011-0.025

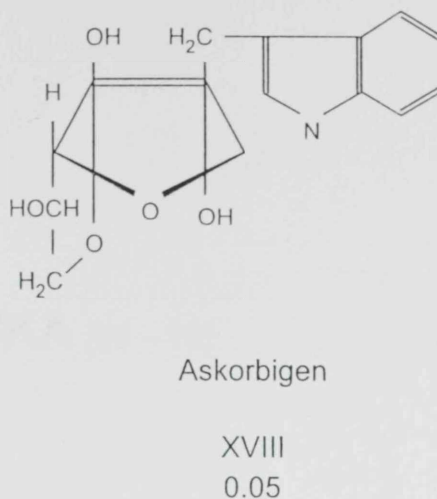
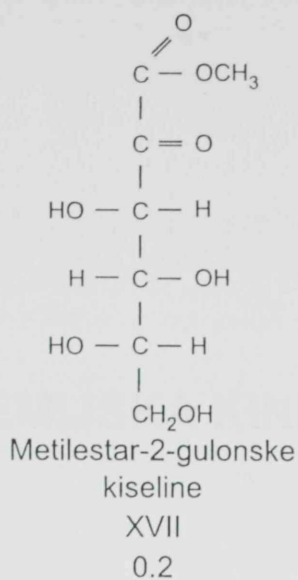
Uklanjanje OH grupe sa C<sub>6</sub> atoma snižava vitaminsku aktivnost 3 puta, što je slučaj kod 6-dezoksi-L-askorbinske kiseline (XI). Povećanje broja C atoma snižava vitaminsku aktivnost 5 puta kod L-ramnoaskorbinske kiseline (XII), 40 - 60 puta kod L-gliko (XIII) i L-galaktoaskorbinske kiseline (XIV), 100 puta kod L-glikoheptaaskorbinske kiseline (XV), a D-glikoaskorbinska kiselina (XVI) je potpuno lišena vitaminske vrednosti. Interesantno je da između necikličnih jedinjenja samo metilestar-2-ketogulonske kiseline (XVII) ima 20% vitaminske aktivnosti L-askorbinske kiseline, a indolni proizvod L-askorbinske kiseline, askorbigen (XVIII) ima 5% vitaminske vrednosti.



L-Glikoheptaaskorbinska kiselina  
XV  
0.01



L-Glikoaskorbinska kiselina  
XVI  
0



Iz svega prethodno iznetog, slobodno se može zaključiti da se spektar primene L-askorbinske kisljine u svim granama industrije i dalje širi prvenstveno zbog vitaminske aktivnosti, korisnih osobina i netoksičnosti jedinjenja.



### 3. HEMIJSKA KINETIKA [68 – 79]

#### 3.1. OSNOVI KINETIKE I BRZINA HEMIJSKE REAKCIJE

Hemijskom jednačinom se prikazuju reaktanti i produkti hemijske reakcije, tj. početno i krajnje stanje supstanci koje učestvuju u hemijskoj reakciji. Ono što se iz hemijske jednačine ne vidi su brzina i mehanizam hemijske reakcije. Brzine hemijskih reakcija se međusobno znatno razlikuju, jer se neke reakcije odvijaju veoma brzo, tako reći trenutno, a druge su toliko spore da se ni tokom niza godina ne uočava neka promena. Većina hemijskih reakcija ne teku u jednom stupnju, nego postepeno preko niza etapa, koje se nalaze između početnog i krajnjeg stanja supstanci koje učestvuju u hemijskoj reakciji. Prema tome, promena sistema sa vremenom nije određena samo njihovim početnim i konačnim stanjem, nego zavisi i od mehanizma reakcije koji dovodi do ukupne promene. Mehanizam hemijske reakcije čini redosled koraka koji opisuju kako nastaju proizvodi iz reaktanata, tj. mehanizam predstavlja redosled pojedinih hemijskih događaja čiji je celokupan rezultat posmatrana reakcija. Svaki pojedinačni stupanj se naziva elementarna reakcija tako da se složene (kompleksne) reakcije sastoje od niza elementarnih reakcija od kojih se svaka odvija u jednom stupnju.

Hemijska kinetika proučava brzine i mehanizme hemijskih reakcija. Eksperimentat ima presudnu ulogu u hemijskoj kinetici, jer zbog uticaja velikog broja činilaca i složenosti većine hemijskih reakcija nije moguće predvideti brzinu i

mehanizam hemijske reakcije samo na osnovu teorijskih postavki. Sa druge strane, osnovi teorije hemijske kinetike su značajne za razumevanje mehanizma hemijske reakcije i prirode uticaja parametara na brzinu hemijske reakcije kao i mogućnosti promene kinetičkih parametara izmenom uslova rada.

Prva zapažanja o brzini hemijske reakcije iz oblasti vrenja i alhemije zabeležili su još stari pisci, ali je prvo značajno kvantitativno istraživanje izvršio L. Wilhelmy (1850) polarimetrijski prateći inverziju saharoze u vodenim rastvorima kiselina. Na osnovu tog rada Wilhelmy zaslužuje da se smatra osnivačem hemijske kinetike. Za dalji razvoj ove oblasti su važni radovi A. V. Harcourt-a i W. Esson-a (1867) koji su u periodu od 1865 g. do 1867 g. proučavali reakciju između oksalne kiseline i kalijum – permanganata. Ova istraživanja su ustanovila odnose između brzine i koncentracije reaktanata. Naročiti značaj imaju radovi o ispitivanju efekta temperature na promenu brzine hemijske reakcije. Osnovnu formulaciju tog efekta je dao J. H. van't Hoff (1884), a S. Arrhenius (1889) objašnjava fizički smisao date formulacije čineći ujedno i prvi pokušaj da razvije teoriju koja tumači kako i zašto reaguju molekuli supstance. Nakon tih ranih radova, za veliki broj različitih hemijskih reakcija eksperimentalno su izmerene brzine reakcija.

Postavljeni osnovni pojmovi kinetike su stimulisali obilje radova krajem prošlog i tokom ovog veka pri čemu je znatna pažnja posvećena ispitivanju mehanizma hemijskih reakcija. Međutim, tek je razvitak kvantne teorije i statističke mehanike pružio nove mogućnosti teorijskog prilaza problemima hemijske kinetike. Prvu uspešnu primenu kvantne mehanike na hemijske reakcije su učinili 1931. g. H. Eyring i M. Polanyi postavkom teorije apsolutnih brzina reakcije ili teorije prelaznog stanja. Po ovoj teoriji, pre nego što dva (ili više) molekula sa potrebnom energijom reaguju oni se moraju sudariti i naćiniti "aktiviran kompleks" ili ostvariti prelazno stanje. (Kinetiĉki posmatrano, ni jednostavna reakcija se ne odigrava neposrednim pretvaranjem reaktanata u produkte, nego preko nekog intermedijarnog stanja nazvanog "aktiviran kompleks".) Aktiviran kompleks predstavlja nepostojano prelazno stanje i raspada se određenom brzinom na konaćne produkte reakcije. Mora se reći da su ova teorijska razmatranja bila od velike koristi u potrazi za razumevanjem kako se i zašto dešava hemijska reakcija, ali da kvantitativna procena brzine reakcije ipak ostaje eksperimentalni problem.

Već je rečeno da hemijska kinetika proučava promene sistema u zavisnosti od vremena i istražuje brzine kojima pojedine komponente teže stanju ravnoteže. Brzina hemijske reakcije se definiše kao promena količine (koncentracije) jednog reaktanta ili produkta u jedinici vremena.

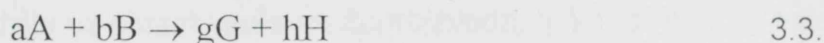
Promena količina posmatrane supstance u sistemu u jedinici vremena se može izraziti diferencijalnim količnikom  $dN/dt$  gde je  $N$  količina supstance, (mol), a  $t$  vreme (čas, min., sekunda). Ako se sa  $V$  označi zapremina sistema, ( $\text{dm}^3$ , l, ml), tada se brzina ( $v$ ) može izraziti kao:

$$v = \pm \frac{1}{V} \frac{dN}{dt} \quad 3.1.$$

U prethodnom izrazu predznak + se odnosi na produkte, jer njihova količina raste tokom vremena, a predznak - se odnosi na reaktante koji nestaju u reakciji, tj. njihova količina se smanjuje tokom vremena. Za sisteme čija je zapremina konstantna može se upotrebiti jednostavniji izraz za brzinu reakcije u kome je odnos  $N/V$  zamenjen koncentracijom ( $c$ ) posmatrane supstance

$$v = \pm \frac{dc}{dt} \quad 3.2.$$

Za hemijsku reakciju predstavljenu hemijskom jednačinom



brzine reakcije za pojedinačne komponente su:

$$-\frac{1}{a} \frac{dc_A}{dt} ; -\frac{1}{b} \frac{dc_B}{dt} ; +\frac{1}{g} \frac{dc_G}{dt} ; +\frac{1}{h} \frac{dc_H}{dt} \quad 3.4.$$

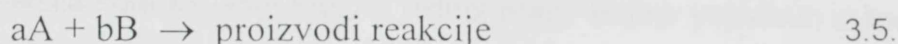
gde su  $a, b, g$  i  $h$  stehiometrijski koeficijenti, a  $c_A, c_B, c_G$  i  $c_H$  su koncentracije supstanci  $A, B, G$  i  $H$ .

U izrazima za brzinu se češće koristi koncentracija supstance nego količina supstance, jer tako brzina reakcije postaje nezavisna od zapremine sistema. Posmatrani sistemi su homogeni, zatvoreni tako da nema prirasta ili gubitaka supstance tokom reakcije. Temperatura se u toku reakcije održava konstantnom tako da postaje parametar.



Osnovni zakon kinetike je zakon o dejstvu masa, koji izražava zavisnost brzine reakcije od koncentracije reagujućih vrsta. Objavili su ga 1867. godine C. M. Guldberg i P. Waage i u njemu se ističe da promena koncentracija reagujućih vrsta ne utiče na konstantu ravnoteže procesa, ali je brzina hemijske reakcije proporcionalna koncentracijama supstanci koje reaguju. Matematički izraz koji povezuje brzinu reakcije sa koncentracijama supstanci je jednačina za brzinu ili kinetička jednačina.

Značajni pojmovi u hemijskoj kinetici su molekularnost i red reakcije. Za elementarnu reakciju predstavljenu jednačinom:



molekularnost predstavlja broj čestica (molekula, atoma, jona, radikala) koji istovremenom interakcijom hemijski reaguju. Molekularnost je uvek ceo broj, može biti 1, 2, 3, pa se razlikuju monomolekulske, bimolekulske i trimolekulske reakcije.

Jednačina brzine reakcije 3.5. glasi:

$$v = k c_A^a c_B^b \quad 3.6.$$

gde su  $v$  brzina reakcije,  $c$  koncentracija, konstanta proporcionalnosti  $k$  je konstanta brzine reakcije, a  $a$  i  $b$  su apsolutne vrednosti stehiometrijskih koeficijenata reakcije čiji zbir nikada nije veći od 3.

Kada se reakcija odvija uz obrazovanje međuproizvoda, tj. kada reakcija teče preko niza elementarnih reakcija, tada se izraz zavisnosti brzine reakcije  $v$  od koncentracija učesnika  $A, B, D$ , prikazuje jednačinom:

$$v = k c_A^p c_B^q c_D^r \quad 3.7.$$

Eksponenti  $p, q$  i  $r$  u jednačini za brzinu (3.7.) određuju red reakcije. Važno je naglasiti da se red reakcije ne sme mešati sa stehiometrijskim koeficijentima u hemijskoj jednačini. Red reakcije se mora odrediti eksperimentalno u odnosu na svaku komponentu koja učestvuje u reakciji, jer se iz hemijske jednačine ne može zaključiti koji je red reakcije tj. između oblika stehiometrijske jednačine za datu reakciju i kinetičkog reda ne mora postojati neka veza. Eksponenti mogu biti celi pozitivni brojevi, ali su poznati i razlomljeni i negativni redovi reakcije. Pojedinačna vrednost eksponenta predstavlja red reakcije samo u odnosu na odgovarajuću

supstancu, pa je reakcija  $p$  - tog reda u odnosu na supstancu  $A$ ,  $q$  - tog reda u odnosu na supstancu  $B$ ,  $r$  - tog reda u odnosu na supstancu  $D$ , a red reakcije u celini je  $n = p + q + r$ .

Ponekad su uslovi reakcije takvi da koncentracija jednog reaktanta ili koncentracije više reaktanata tokom reakcije ostaju nepromenjene ili skoro nepromenjene. Tada se odgovarajući koncentracioni faktori mogu skupiti u konstantu čime se red reakcije prividno smanjuje. U tim slučajevima se govori o reakciji pseudo  $n$  - tog reda u kojoj  $n$  predstavlja zbir eksponenata na koji su podignute koncentracije reaktanata koje podležu promeni.

Mali je broj reakcija koje se odigravaju u jednoj etapi. Brzine pojedinih etapa reakcije su različite, pa će brzinu zbirne reakcije odrediti najsporija etapa. Prema tome, dve reakcije koje opisuju iste stehiometrijske jednačine mogu imati različite redove reakcija što je rezultat različitih mehanizama ovih reakcija i to je objašnjenje za razliku između reda reakcije i stehiometrijskih koeficijenata. Ako je poznat mehanizam reakcije, obično je moguće proceniti jednačinu za brzinu (kao što je 3.7.), a odatle i red reakcije. Suprotno ne važi, jer generalno nije moguće izvesti mehanizam reakcije samo iz jednačine za brzinu.

Do nedavno se smatralo da su molekularnost reakcije i red reakcije sinonimi, pa su tako u ranoj literaturi izrazi monomolekulska, bimolekulska i trimolekulska reakcija korišćeni da označe reakciju prvog, drugog i trećeg reda. Međutim, pokazalo se da postoji razlika, iako su često red reakcije i molekularnost identični. Pojam molekularnosti treba primenjivati samo na elementarne reakcije kod kojih su red i molekularnost reakcije isti. Međutim, ako se reakcija odvija u nekoliko etapa ne može se govoriti o molekularnosti, jer u raznim etapama reakcije može reagovati različiti broj molekula. Kod složenih reakcija je bolje celokupnu promenu definisati redom reakcije, a pojedine etape molekularnošću. Da bi se brzina reakcije mogla matematički obraditi, najzgodnije je izvršiti podelu prema redu reakcije, a kada je potrebno istaći razliku između reda i molekularnosti i ako je moguće definisati je.

Konstanta proporcionalnosti  $k$  (jednačina 3.6.) se naziva *konstanta brzine* ili *koeficijent brzine*. Konstanta je različita za razne reakcije, nezavisna je od koncentracije, ali je veoma zavisna od temperature. Fizički smisao konstante

brzine se najbolje može shvatiti ako se posmatra reakcija u kojoj su koncentracije reaktanata jednake jedinici,  $c_A = c_B = 1$ . U tom slučaju je  $v = k$ , tj. konstanta brzine je brojčano jednaka brzini reakcije, pa se naziva i *specifična brzina* reakcije. Dimenzije konstante brzine su  $[(\text{koncentracija})^{1-n} (\text{vreme})^{-1}]$  a  $n$  je ukupan red reakcije.

Ako se posmatra hemijska reakcija predstavljena hemijskom jednačinom 3.3., koncentracije reaktanata  $A$  i  $B$  opadaju tokom vremena, pa će i brzina reakcije opadati sa vremenom kako to predviđa jednačina 3.4. Međutim, konstanta brzine,  $k$ , ostaje nepromenjena tokom reakcije. Pri pominjanju brojčane vrednosti konstante brzine neke hemijske reakcije, neophodno je naglasiti koja je komponenta posmatrana, tj. u odnosu na koju komponentu reakcije je posmatrana promena koncentracije.

### 3.1.1. REAKCIJE NULTOG REDA

Hemijski proces kod koga brzina reakcije ne zavisi od koncentracije posmatranog reaktanta je hemijska reakcija nultog reda. Jednačina brzine reakcije nultog reda je:

$$v = - \frac{dc_A}{dt} = k_0 \quad 3.8.$$

Negativni predznak pokazuje da u posmatranoj reakciji reaktant  $A$  nestaje u toku reakcije, a  $k_0$  je konstanta brzine reakcije nultog reda čije su dimenzije  $[\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}]$ .

Uzimajući da je u nekom vremenu  $t_0$  početna koncentracija reaktanata  $A$   $c_{0,A}$ , a da je u vremenu  $t$  koncentracija istog reaktanta  $c_A$ , tada se jednačina 3.8. može integraliti u pretpostavljenim granicama:

$$- \int_{c_{0,A}}^{c_A} dc_A = k_0 \int_{t_0}^t dt \quad 3.9.$$

Nakon integraljenja se dobija:

$$c_A - c_{0,A} = -k_0 (t - t_0) \quad 3.10.$$

Posle sređivanja, jednačina 3.10. postaje

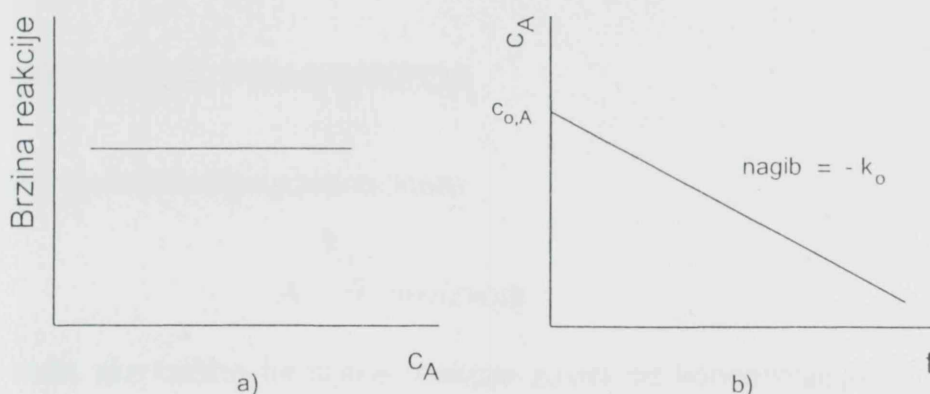
$$k_0 = \frac{c_{0,A} - c_A}{t - t_0} \quad 3.11.$$

Ako se u jednačini 3.11. pretpostavi da je  $t_0 = 0$ , dobija se:

$$c_A = c_{0,A} - k_0 t \quad 3.12.$$

Grafik brzine reakcije, nultog reda u funkciji koncentracije je prikazan na slici 3.1.a, a grafik koncentracije u funkciji vremena je prikazan na slici 3.1.b.

Grafik jednačine 3.12. (slika 3.1.b) pokazuje da je to prava sa odsečkom  $c_{0,A}$  i nagibom  $-k_0$ .



### SI. 3.1.: Reakcija nultog reda

- zavisnost brzine reakcije od koncentracije
- zavisnost koncentracije od vremena

Iz prethodno navedenog je jasno uočljivo da pri reakciji nultog reda koncentracija reaktanta linearno opada sa vremenom. Teško je navesti primer za homogenu reakciju koja je u suštini nultog reda, iako su mnoge reakcije prividno nultog reda kada je koncentracija vrste velika. Međutim, kod nekih heterogenih reakcija gde čvrsta faza deluje kao katalizator reakcija može biti nultog reda.

Reakcije nultog reda se obično javljaju kao posebna modifikacija reakcija višeg reda u određenim uslovima.

U kinetici se često koristi karakteristična vremenska vrednost, poluvreme reakcije ili vreme poluživota,  $t_{1/2}$ , i to je ono vreme za koje koncentracija posmatranog reaktanta opadne na polovinu polazne vrednosti:

$$c_A = \frac{c_{0,A}}{2} \quad 3.13.$$

Kada se izraz 3.13. zameni u jednačinu 3.12., može se izraziti poluvreme reakcije nultog reda:

$$t_{1/2} = \frac{c_{0,A}}{2k_0} \quad 3.14.$$

Iz jednačine 3.14. sledi da je poluvreme reakcije nultog reda proporcionalno početnoj koncentraciji reaktanta A.

### 3.1.2. REAKCIJE PRVOG REDA

Reakcija predstavljena jednačinom



je prvog reda ako brzina hemijske reakcije zavisi od koncentracije samo jednog reaktanta i ako je eksponent iznad simbola za koncentraciju u izrazu za brzinu reakcije jednak jedinici.

Linearna zavisnost brzine reakcije reaktanta A je prikazana jednačinom:

$$-\frac{dc_A}{dt} = k_1 c_A \quad 3.16.$$

gde je sa  $k_1$  obeležena konstanta brzine reakcije prvog reda, a ostali simboli imaju ranije dato značenje.

Razdvajanjem promenljivih u jednačini 3.16. dobija se:

$$\frac{dc_A}{c_A} = -k_1 dt \quad 3.17.$$

Promena koncentracije u toku nekog vremenskog intervala  $t$  se može izračunati, ako se gornja jednačina integriramo u granicama  $t = 0$  i  $t = t$  i od  $c_{0,A}$  do  $c_A$ :

$$\int_{c_{0,A}}^{c_A} \frac{dc_A}{c_A} = -k_1 \int_0^t dt \quad 3.18.$$

odakle sledi:

$$\ln \frac{c_A}{c_{0,A}} = -k_1 t \quad 3.19.$$

Pretvaranjem prirodnog logaritma u dekadni, izraz 3.19. postaje:

$$\log \frac{c_A}{c_{0,A}} = -\frac{k_1 t}{2.303} = -0.434 k_1 t \quad 3.20.$$

odakle se može izračunati konstanta brzine reakcije prvog reda:

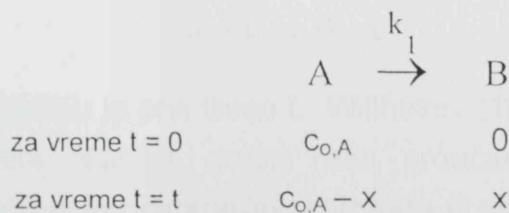
$$k_1 = \frac{2.303}{t} \log \frac{c_{0,A}}{c_A} \quad 3.21.$$

Jednačina 3.20. se može izraziti i u eksponencijalnom obliku:

$$c_A = c_{0,A} e^{-k_1 t} \quad \text{ili} \quad c_A = c_{0,A} 10^{-0.434 k_1 t} \quad 3.22.$$

Iz prethodne jednačine sledi da je za reakciju prvog reda dimenzija konstante brzine reakcije izražena u recipročnim jedinicama vremena, pa ako je vreme izraženo u sekundama, kao što je često slučaj, ima dimenzije  $s^{-1}$  i nezavisna je od jedinice u kojoj je izražena koncentracija (pod uslovima da se za obe koncentracije upotrebe iste jedinice).

Prethodne jednačine se mogu izraziti i u drugačijem obliku. Označi li se sa  $c_{0,A}$  početna koncentracija reaktanta A, a sa  $x$  količina koja reaguje za vreme  $t$ , tada je  $c_{0,A} - x$  količina supstance A posle vremena  $t$



Pomoću tako izražene koncentracije, prvobitna diferencijalna jednačina brzine reakcije glasi:

$$-\frac{d(c_{0,A} - x)}{dt} = k_1(c_{0,A} - x) \quad \text{ili} \quad \frac{dx}{dt} = k_1(c_{0,A} - x) \quad 3.23.$$

Navedene jednačine u diferencijalnom obliku nisu pogodne za numeričko izračunavanje konstante brzine reakcije, jer momentalna brzina reakcije nije uvek pristupačna direktnom merenju. Međutim, u određenim vremenskim intervalima je moguće odrediti koncentraciju reaktanta i proizvoda reakcije, pa iz tih podataka izračunati vrednost konstante brzine reakcije. Posle razdvajanja promenljivih i integraljenja diferencijalne jednačine u granicama od 0 do  $t$  i 0 do  $x$  dobija se:

$$\int_0^x \frac{dx}{c_{0,A} - x} = k_1 \int_0^t dt \quad 3.24.$$

odakle se može izračunati konstanta brzine reakcije:

$$k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{c_{0,A}}{c_{0,A} - x} \quad \text{ili} \quad k_1 = \frac{2.303}{t} \log \frac{c_{0,A}}{c_{0,A} - x} \quad 3.25.$$

Jednačina 3.25. je poznata kao kinetička jednačina brzine reakcije prvog reda i kod takve reakcije uvođenje vrednosti za  $c_{0,A}$  i  $(c_{0,A} - x)$  koje odgovaraju raznim vremenima  $t$  tokom odvijanja reakcije, treba da daju konstantnu vrednost za  $k_1$ . Ako su u okviru eksperimentalne greške vrednosti za  $k_1$  identične, tada se vrednost za  $k_1$  može smatrati konstantom, a posmatrana reakcija kao reakcija prvog reda. Međutim, ako se za  $k_1$  dobijaju različite vrednosti, moraju se uzeti u obzir druge pretpostavke o redu posmatranja reakcije.

Jednačina 3.25. se može predstaviti i u obliku

$$c_{0,A} - x = c_{0,A} e^{-k_1 t} \quad 3.26.$$

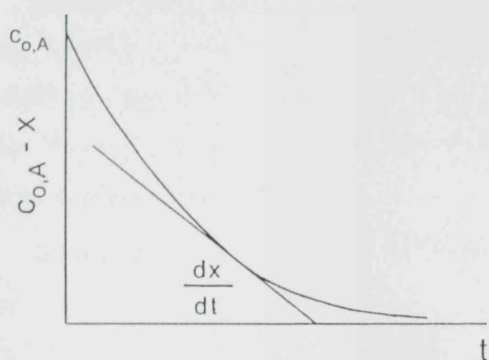
ili

$$x = c_{0,A} (1 - e^{-k_1 t}) \quad 3.27.$$

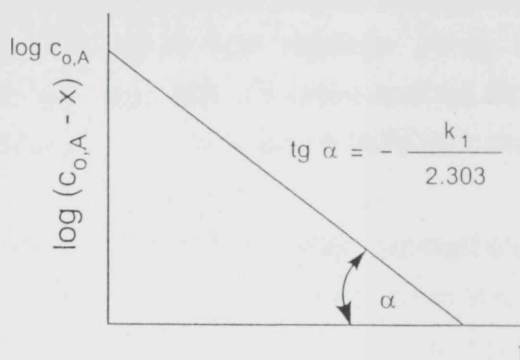
Prethodnu jednačinu je prvi izveo L. Willhelmy (1850) za inverziju saharoze i to je najduže poznata reakcija prvog reda proučavana sa kinetičkog stanovišta. Jednačina izražava koncentraciju proizvoda  $B$  odnosno  $x$  u nekom momentu  $t$  u

odnosu na početnu koncentraciju supstance A,  $c_{0,A}$ , i konstante brzine  $k_1$ . Jasno je da kada je  $t = 0$ , da je  $e^{-k_1 t} = 1$ , a odatle  $x = 0$ . Porastom  $t$ ,  $e^{-k_1 t}$  u početku naglo opada, a posle se polako približava nuli, pa  $x$  asimptotski dostiže vrednost  $c(A_0)$  koja odgovara potpunom pretvaranju reaktanta A u proizvod B. Teorijski, reakcija je završena tek kada je  $t$  beskonačno. Drugim rečima, proces nije nikada apsolutno potpun, ali je u praksi većina reakcija uglavnom završena za kratko vreme u granicama osetljivosti uobičajenih analitičkih metoda.

Grafički prikaz jednačine 3.26. dat je na slici 3.2.



Sl. 3.2.: Promena koncentracije reaktanta u zavisnosti od vremena kod reakcije prvog reda



Sl. 3.3.: Grafičko određivanje konstante reakcije prvog reda

Koeficijent pravca tangente nacrtane krive označava trenutnu brzinu u datom vremenu. Kada se u dijagram nanese logaritam koncentracije u zavisnosti od vremena (slika 3.3.), dobija se prava u skladu sa izrazom:

$$\log(c_{0,A} - x) = \log c_{0,A} - \frac{k_1}{2.303} t \quad 3.28.$$

a koeficijent pravca prave ima vrednost  $-k_1 / 2.303$ . Ova grafička metoda može poslužiti za izračunavanje konstante brzine reakcije prvog reda.

Iz kinetičke jednačine reakcije prvog reda sledi da vreme za koje koncentracija reaktanta opadne na neki određeni deo od početne koncentracije ne zavisi od početne koncentracije. Zbog činjenice da je za smanjenje koncentracije na polovinu uvek potrebno isto vreme, a isto vreme i za smanjenje koncentracije na bilo koji drugi deo često se umesto konstante brzine koriste dve vremenske



veličine: poluvreme reakcije i srednji život reakcije.

Poluvreme reakcije je "opipljiva" odnosno lakše shvatljiva veličina od konstante brzine reakcije budući da pokazuje koliko je vremena potrebno da koncentracija nekog reaktanta opadne na polovinu početne koncentracije. Zamenom odgovarajućih brožanih vrednosti u jednačinu 3.25. sledi relacija:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_1} = \frac{1}{k_1} 2.303 \text{ odnosno } \log 2 = \frac{0.693}{k_1} \text{ ili } k_1 = \frac{0.693}{t_{1/2}} \quad 3.29.$$

Što je duže poluvreme reakcije, to je manja konstanta brzine reakcije prvog reda. Važno je uočiti da jednačina pokazuje da je kod reakcije prvog reda poluvreme reakcije nezavisno od koncentracije reaktanta. Za proveravanje da li je neka reakcija prvog reda mogu se meriti poluvremena reakcije za različite početne koncentracije reaktanta A.

Druga vremenska veličina koja je interesantna za kinetička razmatranja je srednji život ili srednje vreme,  $\tau$ , i ono predstavlja vreme za koje koncentracija reaktanta opadne na  $e$  - ti deo početne koncentracije, a gde je  $e = 2.718$ . Kada se odgovarajuće brožane vrednosti zamene u izraz 3.22., proizilazi da je

$$\tau = \frac{1}{k_1} \quad 3.30.$$

Vrednosti  $t_{1/2}$  i  $\tau$  se mogu povezati u relaciju :

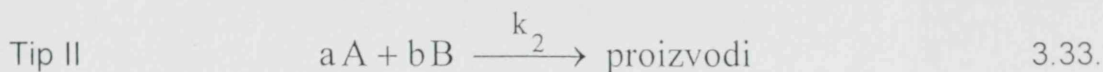
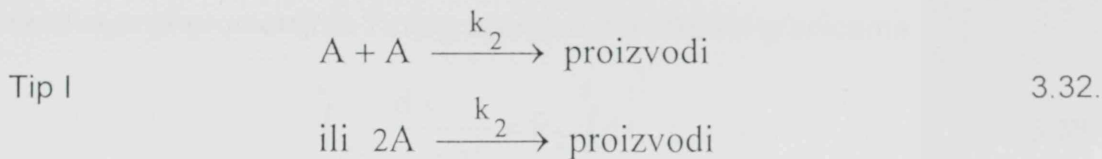
$$t_{1/2} = \frac{1}{k_1} 2.303 \log 2 \quad \text{ili} \quad t_{1/2} = 0.693 \tau \quad 3.31.$$

iz koje se uočava da su za reakciju prvog reda i  $t_{1/2}$  i  $\tau$  nezavisni od početne koncentracije posmatranog reaktanta, ali zavise od konstante brzine reakcije.

Reakcije prvog reda se često javljaju istovremeno sa reakcijama drugih viših redova kao deo celokupnog mehanizma. Budući da su matematički postupci sa kinetičkim jednačinama najjednostavniji za reakcije prvog reda, često se uslovi za komplikovanije hemijske procese podešavaju tako da izmerena brzina celokupne reakcije postaje zavisna samo od koncentracije jednog reaktanta. Takva reakcija se označava kao reakcija pseudo prvog reda.

### 3.1.3. REAKCIJE DRUGOG REDA

Iz definicije za ukupni red reakcije očito je da postoje dva opšta tipa reakcije drugog reda koji se mogu predstaviti jednačinama:



#### 3.1.3.1. REAKCIJE DRUGOG REDA: TIP I

U reakciji drugog reda koja se može prikazati jednačinom 3.32. i u kojoj učestvuje samo jedan reaktant, brzina reakcije biće proporcionalna kvadratu koncentracije reaktanta:

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_2 c_A^2 \quad 3.34.$$

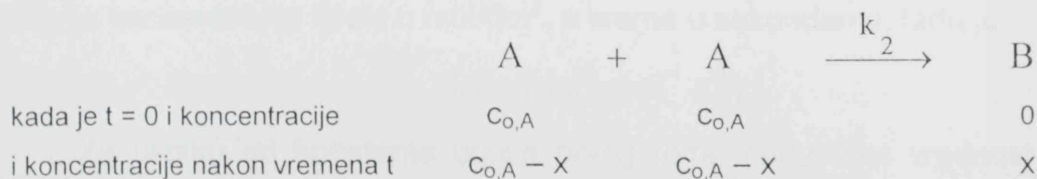
U prethodnoj jednačini  $k_2$  predstavlja konstantu brzine reakcije drugog reda. Razdvajanjem promenljivih i integraljenjem u određenim granicama:

$$- \int_{c_{0,A}}^{c_A} \frac{dc_A}{c_A^2} = k_2 \int_0^t dt \quad 3.35.$$

dobija se:

$$\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{0,A}} = k_2 t \quad 3.36.$$

Za reakciju



brzina reakcije može se izraziti i drugačije:

$$-\frac{dx}{dt} = k_2 (c_{0,A} - x)^2 \quad 3.37.$$

Posle razdvajanja promenljivih i integraljenja u određenim granicama

$$\int_0^x \frac{dx}{(c_{0,A} - x)^2} = k_2 \int_0^t dt \quad 3.38.$$

dobija se:

$$\frac{1}{c_{0,A} - x} - \frac{1}{c_{0,A}} = k_2 t \quad 3.39.$$

ili

$$\frac{x}{c_{0,A} (c_{0,A} - x)} = k_2 t \quad 3.40.$$

odnosno:

$$x = \frac{c_{0,A}^2 k_2 t}{1 + c_{0,A} k_2 t} \quad 3.41.$$

što predstavlja zavisnost koncentracije reagujuće komponente od vremena za reakciju drugog reda. Iz jednačina 3.36. i 3.39. može se izračunati konstanta brzine,  $k_2$ , reakcije drugog reda:

$$k_2 = \frac{1}{t} \left( \frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{0,A}} \right) \quad \text{ili} \quad k_2 = \frac{1}{t} \frac{x}{c_{0,A} (c_{0,A} - x)} \quad 3.42.$$

Iz izraza iz kojih je izračunata konstanta brzine reakcije drugog reda, proizilazi da su njene dimenzije:

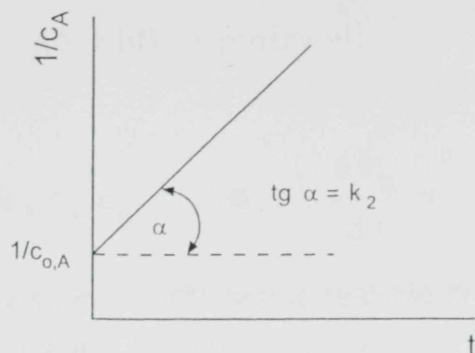
$$k_2 = [\text{koncentracija}^{-1} \text{ vreme}^{-1}] \quad 3.43.$$

Ako se koncentracija izrazi u mol/dm<sup>3</sup>, a vreme u sekundama, tada je:

$$k_2 = [\text{dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}]$$

Za razliku od konstante brzine prvog reda, numerička vrednost konstante brzine reakcije drugog reda zavisi od jedinica u kojim je izražena koncentracija.

Jednačine 3.36. i 3.39. se mogu prikazati grafički, kao  $1/c_A$  ili  $1 / (c_{A,0} - x)$  u funkciji vremena  $t$  (slika 3.4.).



**Slika 3.4.:** Grafički prikaz reakcije drugog reda tipa I: zavisnost  $1/c_A$  od vremena  $t$

Sa slike 3.4. se vidi da je grafik prava čiji je odsečak na ordinati jednak vrednosti  $1/c_{0,A}$ , a nagib prave odgovara konstanti brzine reakcije drugog reda.

Vreme poluživota,  $t_{1/2}$ , reakcija drugog reda tipa I se može izračunati ako se vrednosti  $c_A = c_{0,A} / 2$  i  $x = c_{0,A} / 2$  zamene u jednačine 3.36. i 3.39.:

$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 c_{0,A}} \quad 3.44.$$

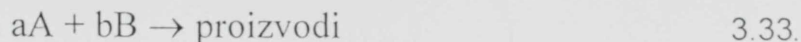
Karakteristika ovog tipa reakcija drugog reda je zavisnost poluvremena reakcije od početne koncentracije reaktanta, jer je poluvreme reakcije obrnuto proporcionalno početnoj koncentraciji. Različita zavisnost poluvremena reakcije od početne koncentracije predstavlja jednostavan test za određivanje reda ispitivane reakcije. Na taj način je moguće razlikovati jednačine prvog i drugog reda naročito kada reaguje samo jedan reaktant kao što je to slučaj kod reakcija drugog reda tipa I. Koncept poluvremena reakcije je najjasniji za reakcije prvog reda, a za reakcije višeg reda je nešto komplikovaniji.

Reakcije drugog reda tipa I su ređe od reakcija drugog reda tipa II.

### 3.1.3.2. REAKCIJE DRUGOG REDA: TIP II

Neka reakcija pripada reakciji drugog reda tipa II kada reaktanti A i B reaguju na takav način da je brzina reakcije proporcionalna proizvodu koncentracija reaktanata.

Kada se primeni osnovni zakon kinetike na reakciju drugog reda koja je predstavljena jednačinom



brzina reakcije biće:

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_A c_A c_B \quad \text{ili} \quad \frac{dc_B}{dt} = -k_B c_A c_B \quad 3.45.$$

U izrazu 3.45.  $k_A$  i  $k_B$  su konstante brzine reakcije drugog reda posmatrane u odnosu na reaktante  $A$  odnosno  $B$  i gde je  $k_a / a = k_b / b$ . Budući da se koncentracije reaktanata  $A$  i  $B$ , tj.  $c_A$  i  $c_B$ , menjaju tokom vremena to se mora uspostaviti veza između koncentracija reaktanata da bi se integralila diferencijalna jednačina. Ako  $c_{0,A}$  i  $c_{0,B}$  označavaju početne koncentracije reaktanata  $A$  odnosno  $B$  za vreme  $t = 0$ ,  $x$  koncentraciju reaktanta koji je izreagovao u toku vremena  $t$ , tada će  $(c_{0,A} - x)$  predstavljati koncentraciju preostalog reaktanta,  $c_A$ , posle vremena  $t$ . Za isto vreme  $t$  se koncentracija reaktanta  $B$  smanjila za  $bx / a$ . Prema tome, biće:

$$c_A = c_{0,A} - x \quad \text{i} \quad c_B = c_{0,B} - \frac{b}{a} x \quad 3.46.$$

a odatle:

$$dc_A = -dx = \frac{a}{b} dc_B \quad 3.47.$$

Zamenom izraza 3.46. i 3.47. u izraz 3.45., može se izračunati brzina nastanka proizvoda:

$$\frac{dc_A}{dt} = -\frac{dx}{dt} = -k_A \left( c_{0,A} - x \right) \left( c_{0,B} - \frac{bx}{a} \right) \quad 3.48.$$

Posle sređivanja prethodne jednačine i razdvajanja promenljivih dobija se:

$$\frac{dx}{\left( c_{0,A} - x \right) \left( c_{0,B} - \frac{bx}{a} \right)} = k_A dt \quad 3.49.$$

Pre integraljenja, leva strana jednačine 3.49. se mora rastaviti na parcijalne razlomke:

$$\left( \frac{1}{c_{o,B} - \frac{b}{a}c_{o,A}} \cdot \frac{1}{c_{o,A} - x} + \frac{1}{c_{o,A} - \frac{a}{b}c_{o,B}} \cdot \frac{1}{c_{o,B} - \frac{b}{a}x} \right) dx = k_A dt \quad 3.50.$$

Nakon integraljenja, uzimajući u obzir da je  $x = 0$  kada je  $t = 0$  i da je  $x = x$  kada je  $t = t$ , dobija se izraz za konstantu brzine reakcije drugog reda:

$$\frac{a}{bc_{o,A} - ac_{o,B}} \ln \frac{c_{o,B}(c_{o,A} - x)}{c_{o,A}\left(c_{o,B} - \frac{bx}{a}\right)} = k_A t \quad 3.51.$$

ili

$$\ln \frac{1 - \frac{x}{c_{o,A}}}{1 - \frac{bx}{ac_{o,B}}} = \left( \frac{bc_{o,A}}{a} - c_{o,B} \right) k_A t \quad 3.52.$$

Jednačine 3.51. i 3.52. se mogu izraziti, s obzirom na prvobitnu definiciju (3.46.) i u odnosu na početnu i preostalu koncentraciju:

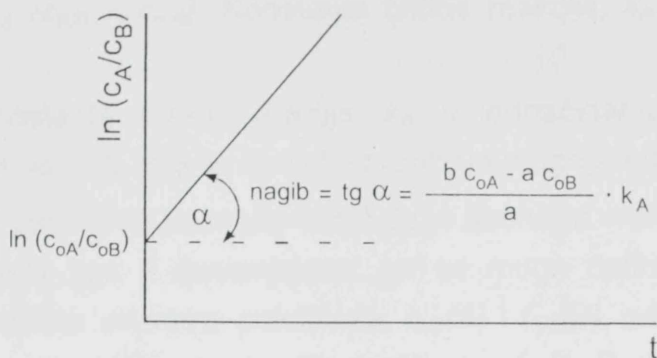
$$\ln \frac{\frac{c_A}{c_B}}{c_{o,B}} = \frac{bc_{o,A} - ac_{o,B}}{a} k_A t \quad 3.53.$$

ili u obliku

$$\ln \frac{c_A}{c_B} = \frac{bc_{o,A} - ac_{o,B}}{a} k_A t + \ln \frac{c_{o,A}}{c_{B,o}} \quad 3.53.a.$$

Jednačina za reakciju drugog reda prikazana u obliku jednačine 3.53.a. omogućava da se zavisnost koncentracija - vreme predstave grafički. Dijagram  $\ln (c_A / c_B)$

prema vremenu  $t$ , biće prava čiji nagib  $k_A (bc_{0,A} - ac_{0,B}) / a$  omogućava izračunavanje konstante brzine  $k_A$ , ako su poznate početne koncentracije. Nagib prave može biti pozitivan ili negativan u zavisnosti da li razlika  $(bc_{0,A} - ac_{0,B})$  ima pozitivan ili negativan predznak. Odsečak prave na ordinati ( $t = 0$ ) ima vrednost odnosa  $\ln(c_{0,A}/c_{0,B})$ , (slika 3.5.).



**Slika 3.5.:** Grafički prikaz reakcije drugog reda tipa II Zavisnost odnosa  $\ln(c_A/c_B)$  od vremena  $t$

Često su u hemijskoj jednačini stehiometrijski koeficijenti jednaki, tj.  $a = b$  (jednačina 3.33.). U tom slučaju se izraz 3.51. pretvara u jednostavniji oblik:

$$\frac{1}{c_{0,A} - c_{0,B}} \ln \frac{c_{0,B} (c_{0,A} - x)}{c_{0,A} (c_{0,B} - x)} = k_A t \quad 3.54.$$

Kada se prethodna jednačina izrazi u odnosu na početnu i preostalu koncentraciju, dobija se:

$$\frac{1}{c_{0,A} - c_{0,B}} \ln \frac{c_{0,B} c_A}{c_{0,A} c_B} = k_A t \quad 3.55.$$

ili u eksponencijalnom obliku:

$$\frac{c_A}{c_B} = \frac{c_{0,A}}{c_{0,B}} e^{(c_{0,B} - c_{0,A}) k_A t} \quad 3.56.$$

Izrazi 3.54. i 3.55. u preuređenom obliku se mogu prikazati i grafički:

$$\ln \frac{c_A}{c_B} = \ln \frac{c_{0,A}}{c_{0,B}} + k_A (c_{0,B} - c_{0,A}) t \quad 3.57.$$

Grafik  $\ln (c_A/c_B)$  - vreme  $t$  je prava čiji je odsečak na ordinati  $\ln (c_{0,A}/c_{0,B})$ , a nagib je jednak  $k_A (c_{0,B} - c_{0,A})$ . Konstanta brzine reakcije,  $k_A$ , se izračunava iz nagiba prave.

Dimenzije konstante brzine reakcije,  $k_A$ , u jednačinama 3.51. i 3.54. su [koncentracija<sup>-1</sup> vreme<sup>-1</sup>] tj. iste su kao i kod reakcija drugog reda tipa I.

Iz prethodnih jednačina se može uočiti da je definicija vremena poluživota za reakcije drugog reda tipa II dvosmislena, jer se mogu definisati dva vremena poluživota. Dva različita vremena poluživota,  $t_{1/2}(A)$  i  $t_{1/2}(B)$ , odnose se na vreme potrebno da se početna koncentracija reaktanta  $A$  ili  $B$  smanji na polovinu prvobitne vrednosti (početne koncentracije reaktanata su različite). U reakcijama ovog tipa je moguće da se vreme poluživota izrazi samo u odnosu na pojedinačne reaktante, pa se za reaktant  $A$  vreme poluživota može izračunati ako se u jednačinama 3.51. ili 3.52.  $x$  zameni sa  $c_{0,A}/2$ , tj.  $x = c_{0,A}/2$ .

$$t_{1/2}(A) = \frac{a}{k_A (bc_{0,A} - ac_{0,B})} \ln \frac{ac_{0,B}}{2ac_{0,B} - bc_{0,A}} \quad 3.58.$$

Iz prethodne jednačine se može uočiti da vreme poluživota za reaktant  $A$  zavisi od početnih koncentracija oba reaktanta.

Poseban slučaj opšte jednačine za reakcije drugog reda tipa II (jednačine 3.45. i 3.48.) je kada su početne koncentracije reaktanata  $A$  i  $B$  iste ili skoro iste, tj.  $aA \cong bB$ . Tada jednačine 3.51., 3.53. i 3.53.a. postaju neodređene i ne mogu se primeniti. Međutim, u tom slučaju sa stanovišta kinetike ne postoji razlika u ponašanju reaktanata  $A$  i  $B$ , pa se jednačine 3.45. i 3.48. pretvaraju u ekvivalent jednačina 3.34. i 3.37., tj. reakcija drugog reda tipa II se ponaša isto kao reakcija drugog reda tipa I.

Izrazi 3.54. i 3.55. se mogu posmatrati i sa drugog aspekta. Može se pretpostaviti da je početna koncentracija jednog od reaktanata mnogo veća od



koncentracije drugog reaktanta, tj.  $c_{0,B} \gg c_{0,A}$ . U tom slučaju se male koncentracije  $c_{0,A}$  i  $x$  mogu zanemariti u poređenju sa  $c_{0,B}$ , te se može napisati:

$$\ln \frac{c_{0,A}}{c_{0,A} - x} = k_2 c_{0,B} = k_1 t \quad 3.59.$$

gde je u konstantu brzine reakcije,  $k_1$ , inkorporirana velika (praktično konstantna) koncentracija reaktanta  $B$ . Očigledno je da se jednačina 3.59. samo prividno podudara sa jednačinom prvog reda (već ranije razmatrana jednačina 3.25.). Ovakve reakcije se nazivaju *reakcije pseudo prvog reda* i relativno se često sreću.

Reakcije drugog reda su u praksi najčešće i obuhvataju brojne osnovne reakcije kao što su kiselinско - bazne i adicione reakcije, reakcije disproporcioniranja slobodnih radikala i mnoge druge.

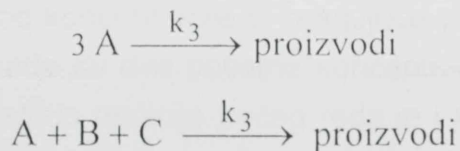
### 3.1.4. REAKCIJE TREĆEG REDA

Reakcije trećeg reda su retke (češće su u rastvorima nego u gasovima), ali su neke od njih vrlo poznate i važne u neorganskoj hemiji.

Kada brzina hemijske reakcije u reakcionoj smeši zavisi od koncentracije tri reaktanta, tada je reakcija trećeg reda. Ove reakcije se mogu svrstati u 3 različita tipa. Kako su reakcije trećeg reda retke i budući da su matematički principi za razmatranje ovih jednačina slični prethodno opisanim za prvi i drugi red, konačni izrazi za izračunavanje konstante brzine reakcije trećeg reda biće prikazani u konačnom obliku i sa minimumom objašnjenja.

Sa matematičkog stanovišta najjednostavniji slučaj reakcije trećeg reda je kada reaguju tri mola istog reaktanta ili kada tri reaktanta istih početnih koncentracija reaguju u ekvivalentnim odnosima pri čemu se pretpostavlja da je brzina reagovanja svakog od njih ista.

Stehiometrijski izrazi za takav tip reakcije su:



U slučaju da reaguju 3 mola istog reaktanta, osnovna jednačina brzine je:

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_3 c_A^3 \quad 3.60.$$

a posle integraljenja u granicama  $t = 0$  i  $t = t$  dobija se:

$$\frac{1}{c_A^2} - \frac{1}{c_{0,A}^2} = 2k_3 t \quad 3.61.$$

Kada reaguju tri reaktanta istih početnih koncentracija, tj.  $c_{0,A} = c_{0,B} = c_{0,C}$ , osnovna jednačina brzine se može izraziti i u odnosu na preostalu koncentraciju jednog od reaktanata, npr. A, posle vremena  $t$ :

$$\frac{dx}{dt} = k_3 (c_{0,A} - x)^3 \quad 3.62.$$

Nakon integraljenja se dobija sledeći izraz:

$$\frac{1}{(c_{0,A} - x)^2} - \frac{1}{c_{0,A}^2} = 2k_3 t \quad 3.63.$$

Konstanta brzine reakcije za najjednostavniji oblik reakcije trećeg reda se može izračunati iz izraza 3.61. i 3.63. koji pokazuju zavisnost koncentracije reaktanta od vremena. Dimenzije konstante brzine biće:

$$k_3 = [\text{koncentracija}^{-2} \text{ vreme}^{-1}],$$

tj. ako se koncentracija izrazi u  $\text{mol}/\text{dm}^3$ , a vreme u sekundama tada su dimenzije  $[\text{mol}^{-2} \text{ dm}^6 \text{ s}^{-1}]$ .

Kada se  $c_A = c_{0,A} / 2$  zameni u izraz 3.61., a  $x = c_{0,A} / 2$  zameni u izraz 3.63., može se izračunati poluvreme reakcije:

$$t_{1/2} = \frac{3}{2c_{0,A}^2 k_3} \quad 3.64.$$

Već je naglašeno da je za reakciju trećeg reda karakteristično da brzina hemijske reakcije zavisi od koncentracije tri reagujuće vrste. Komplikovaniji slučaj reakcije trećeg reda je kada su dve početne koncentracije iste, a treća različita. (Sa stanovišta kinetike, isti tip reakcije trećeg reda je i kada reaguju dva različita

reaktanta čije su početne koncentracije i brzina reagovanja iste i kada reaguju dva mola istog reaktanta.)

Opšta kinetička jednačina brzine reakcije trećeg reda tipa II glasi:

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_3 c_A^2 c_B \quad 3.65.$$

Kada se prethodna jednačina izrazi u odnosu na preostalu koncentraciju reaktanta A posle vremena  $t$ , tada je:

$$\frac{dx}{dt} = k_3 (c_{0,A} - 2x)^2 (c_{0,B} - x) \quad 3.66.$$

gde je  $2x$  količina razloženog reaktanta A i ona je dva puta veća od količine razloženog reaktanta B. Nakon integraljenja u određenim granicama, dobija se krajnji izraz:

$$k_3 t = \frac{2}{2c_{0,B} - c_{0,A}} \left( \frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{0,A}} \right) + \frac{2}{(2c_{0,B} - c_{0,A})^2} \ln \frac{c_{0,B} c_A}{c_B c_{0,A}} \quad 3.67.$$

ili

$$k_3 t = \frac{1}{2c_{0,B} - c_{0,A}} \left[ \frac{2x}{c_{0,A} (c_{0,A} - 2x)} + \frac{1}{2c_{0,B} - c_{0,A}} \ln \frac{c_{0,B} (c_{0,A} - x)}{c_{0,A} (c_{0,B} - x)} \right] \quad 3.68.$$

Najsloženiji tip reakcije trećeg reda je kada su početne koncentracije tri reaktanta različite. Izraz za jednačinu brzine reakcije biće:

$$-\frac{dc_A}{dt} = k_3 c_A c_B c_C \quad 3.69.$$

Kada se sa  $c_{0,A}$ ,  $c_{0,B}$  i  $c_{0,C}$  označe početne koncentracije reaktanata A, B i C, sa  $x$  promena koncentracije posle nekog vremena  $t$ , sledi da je:

$$\frac{dx}{dt} = k_3 (c_{0,A} - x)(c_{0,B} - x)(c_{0,C} - x) \quad 3.70.$$

a uz uslov da je brzina promene koncentracije svake od tri reagujuće vrste ista, tj.  
 $c_{0,A} - c_A = c_{0,B} - c_B = c_{0,C} - c_C$ .

Nakon integraljenja prethodne dve jednačine, krajnji izrazi glase:

$$k_3 t = \frac{1}{(c_{0,B} - c_{0,A})(c_{0,C} - c_{0,A})} \ln \frac{c_{0,A}}{c_A} + \frac{1}{(c_{0,A} - c_{0,B})(c_{0,C} - c_{0,B})} \ln \frac{c_{0,B}}{c_B} +$$

$$+ \frac{1}{(c_{0,A} - c_{0,C})(c_{0,B} - c_{0,C})} \ln \frac{c_{0,C}}{c_C}$$

3.71.

i

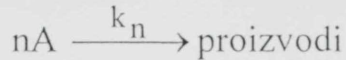
$$k_3 t = \frac{(c_{0,B} - c_{0,C}) \ln \frac{c_{0,A} - x}{c_{0,A}} + (c_{0,C} - c_{0,A}) \ln \frac{c_{0,B} - x}{c_{0,B}} + (c_{0,A} - c_{0,B}) \ln \frac{c_{0,C} - x}{c_{0,C}}}{(c_{0,A} - c_{0,B})(c_{0,B} - c_{0,C})(c_{0,C} - c_{0,A})}$$

3.72.

### 3.1.5 REAKCIJE VIŠEG I RAZLOMLJENOG REDA

Mali je broj podataka za postojanje hemijskih reakcija čiji je red viši od tri, iako se u literaturi nalaze podaci i za reakcije višeg reda (čak osmog i devetog). Reakcija četvrtog reda značila bi da se sudare četiri odgovarajuća molekula, ali je mala verovatnoća za to. Verovatnije je da se procesi višeg reda odvijaju postupno, preko više jednostavnijih reakcija nižeg reda. U tom slučaju krajnji red i brzinu reakcije određuje najsporija reakcija, naročito ako su sve ostale brze. Postoje primeri reakcija za koje izračunati red nije ceo broj. Razlomljeni red postoji kada se reakcija odvija preko niza elementarnih reakcija.

Za reakciju  $n$  - tog reda u kojoj učestvuje jedan reaktant ili za najjednostavniji tip reakcije kod koje su iste početne koncentracije svih reagujućih komponenata, tj.  $c_{0,A} = c_{0,B} = c_{0,C} = c_{0,D}$  itd.:



brzina nestajanja reaktanta A je:

$$\frac{dc_A}{dt} = -k_n c_A^n \quad 3.73.$$

Izuzev slučaja da  $n \neq 1$ , integraljenjem prethodne jednačine dobija se izraz:

$$\frac{1}{c_A^{n-1}} - \frac{1}{c_{0,A}^{n-1}} = (n-1)k_n t \quad 3.74.$$

gde je konstanta brzine hemijske reakcije  $n$  - tog reda,  $k_n$ , izražena u dimenzijama

$$\left[ \left( \text{mol dm}^{-3} \right)^{1-n} \text{t}^{-1} \right]$$

Odgovarajuće vreme poluživota koje je potrebno za smanjenje početne koncentracije reaktanta na polovinu prvobitne vrednosti se izračunava zamenom vrednosti  $c_A$  sa  $c_{0,A} / 2$  u izraz 3.74.:

$$t_{1/2} = \frac{2^{n-1} - 1}{n-1} \cdot \frac{1}{k_n c_{0,A}^{n-1}} \quad 3.75.$$

## 3.2. METODE ANALIZE EKSPERIMENTALNIH PODATAKA

Uobičajeni eksperimentalni postupak za utvrđivanje jednačine brzine je da se prati sastav reakcione smeše u raznim fazama reakcije, tj. meri se količina materije koja proreaguje u jedinici vremena. Eksperimentalno dobijeni podaci su potrebni za izračunavanje kinetičkih parametara za određene uslove rada. Stoga se podaci upoređuju sa raznim tipovima jednačina brzine da se pronađe ona koja daje najbolje slaganje omogućavajući pored analize kinetičkih parametara (konstante brzine i energije aktivacije) i analizu i proveravanje pretpostavljenog mehanizma reakcije i izračunavanje materijalnog bilansa.

U hemijskoj kinetici se primenjuje nekoliko metoda analize eksperimentalnih podataka:

1. metoda integracije,
2. metoda poluvremena reakcije,
3. metoda izolacije,
4. diferencijalna metoda i
5. metoda trasera (obeležениh atoma)

**1. Metoda integracije** se uglavnom koristi za ispitivanje prostih reakcija. Eksperimentalno dobijeni podaci o promeni koncentracije jedne ili više reagujućih vrsta u određenim vremenskim intervalima se nanese u odgovarajuće dijagrame ili uvrste u kinetičke jednačine za reakcije prvog, drugog ili trećeg reda. Iz nagiba pravih se dobijaju vrednosti za konstantu brzine  $k$ , a kinetička jednačina koja daje najstabilnije vrednosti za konstantu brzine za razne intervale vremena je jednačina koja najpribližnije odgovara pravom redu reakcije.

**2. Metodu poluvremena reakcije** je razradio W. Ostwald 1888. godine za ispitivanje reakcija višeg reda. Vreme potrebno da se odigra određeni deo reakcije, na primer polovina reakcije, zavisi od početne koncentracije reaktanta na način koji je ustanovljen redom reakcije. Kada se izvede nekoliko eksperimenata sa različitim početnim koncentracijama reaktanata, moguće je odrediti pravi red reakcije poređenjem poluvremena reakcija.

Za kinetičku jednačinu oblika:

$$\frac{dx}{dt} = k(c_{0,A} - x)^n \quad 3.76.$$

u kojoj su  $n$  red reakcije,  $c_{0,A}$  i  $x$  početna koncentracija posmatranog reaktanta i količina koja proreaguje za vreme  $t$ , za  $n = 1$  poluvreme reakcije biće:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad 3.77.$$

a za  $n \neq 1$  biće

$$t_{1/2} = \frac{2^{n-1} - 1}{k(n-1)c_{0,A}^{n-1}} \quad 3.78.$$

Na osnovu prethodnih reakcija, može se prikazati zavisnost poluvremena reakcije od početne koncentracije reaktanta u sledećem obliku:

$$t_{1/2} = f(n, k)c_{0,A}^{n-1} \quad 3.79.$$

gde je  $f$  izvesna određena funkcija od  $n$ , a  $k$  je konstanta za stalnu temperaturu. Logaritmovanjem jednačine 3.79. sledi izraz:

$$\log t_{1/2} = \log f - (n-1)\log c_{0,A} \quad 3.80.$$

koji ukazuje da  $\log t_{1/2}$  mora biti linearno zavisan od logaritma početne koncentracije i da je nagib prave jednak  $n - 1$ .

Kada se u nekom procesu za dve različite polazne koncentracije reagujuće supstance A,  $c_{0,A,1}$  i  $c_{0,A,2}$  znaju poluvremena reakcije,  $t_{1/2}(A_1)$  i  $t_{1/2}(A_2)$ , podaci se mogu zameniti u gornji izraz. Iz dva izraza tipa 3.80., sledi jednačina za red reakcije:

$$n = 1 + \frac{\log t_{1/2}(A_2) - \log t_{1/2}(A_1)}{\log c_{0,A,1} - \log c_{0,A,2}} \quad 3.81.$$

koja je pogodna za direktno izračunavanje reda reakcije poznavajući podatke dva eksperimenta koji su izvedeni sa dovoljno različitim početnim koncentracijama reaktanta A.

**3. Metoda izolacije** se kao postupak za određivanje reda procesa u kome učestvuju više reaktanata tako da se izoluju jedan po jedan reaktant uglavnom pripisuje W. Ostvaldu (1887). Kada u reakciji učestvuje više reagujućih vrsta, primena prethodne dve metode za određivanje reda reakcije je moguća, ali zahteva komplikovan račun. Međutim, u tom slučaju, ako eksperimentalni uslovi dozvoljavaju, moguća je izolacija jednog po jednog reaktanta podešavanjem koncentracija ostalih reaktanata tako da se svi reaktanti, osim tog jednog, nalaze u višku. Kada je u reakciji drugog reda jedan od reaktanata prisutan u velikom višku, reakcija će se eksperimentalno ponašati kao da je prvog reda. Slično je i sa

reakcijom trećeg reda koja se ponaša kao da je reakcija drugog reda kada je jedan reaktant u velikom višku ili se ponaša kao reakcija prvog reda kada su dva reaktanta u višku. Razlog za takvo ponašanje reakcija tzv. pseudo reda, je da koncentracija vrste koja je prisutna u velikom višku ostaje praktično nepromenjena tokom reakcije (tačnije je da se ta koncentracija manje menja nego koncentracija supstance koja nije u višku), te je ukupan red reakcije prividno eksperimentalno snižen.

U slučaju da metodom izolacije treba odrediti red neke reakcije koja je predstavljena kinetičkom jednačinom oblika:

$$\frac{dx}{dt} = k(c_{0,A} - x)^a (c_{0,B} - x)^b (c_{0,C} - x)^c \quad 3.82.$$

i u kojoj su  $c_{0,A}$ ,  $c_{0,B}$  i  $c_{0,C}$  početne koncentracije reaktanata  $A$ ,  $B$  i  $C$ , a  $a$ ,  $b$  i  $c$  nepoznati eksponenti, pojedini eksponenti se mogu odrediti izborom odgovarajućih početnih koncentracija reaktanata.

Ako koncentracije svih reaktanata, izuzev reaktanta  $A$ , ostaju nepromenjene tokom reakcije, reakcija će biti *pseudo a reda*. U praksi se željena nepromenljivost koncentracija reaktanata  $B$  i  $C$  postiže prisustvom velikog viška ovih reaktanata u odnosu na reaktant  $A$ . Uvođenjem nove konstante za dati eksperiment:

$$k' = k c_{0,B}^b c_{0,C}^c \quad 3.83.$$

jednačina 3.82. poprima oblik:

$$\frac{dx}{dt} = k' (c_{0,A} - x)^a \quad 3.84.$$

Na sličan način se mogu odrediti i eksponenti  $b$  i  $c$  ispitivanjem kinetike reakcije u kojoj su reaktanti  $A$  i  $C$  odnosno  $A$  i  $B$  u višku.

**4. Diferencijalna metoda**, koju je 1884 godine predložio J. van't Hoff, polazi od činjenice da za reakciju  $n$  - tog reda važi relacija:

$$v = - \frac{dc_A}{dt} = k_n c_A^n \quad 3.85.$$

odnosno da je brzina reakcije,  $v$ ,  $n$  - tog reda srazmerna  $n$  - tom stepenu koncentracije reaktanta. Znajući to, red reakcije se može odrediti merenjem početnih brzina  $v_1$  i  $v_2$  za različite početne koncentracije reaktanta  $A$ ,  $c_{0,A,1}$  i  $c_{0,A,2}$ :



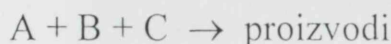
$$v_1 = k_n c_{0,A,1}^n \quad \text{i} \quad v_2 = k_n c_{0,A,2}^n \quad 3.86.$$

pa je

$$n = \frac{\ln \frac{v_1}{v_2}}{\ln \frac{c_{0,A,1}}{c_{0,A,2}}} \quad 3.87.$$

Ovaj postupak za iznalaženje reda reakcije je primenljiv i u slučaju da u reakciji učestvuje više reaktanata, a čije početne koncentracije ne moraju biti iste.

Za reakciju



brzina se može predstaviti u opštem obliku:

$$\frac{dx}{dt} = k(c_A - x)^a (c_B - x)^b (c_C - x)^c \quad 3.88.$$

gde su  $c_A$ ,  $c_B$  i  $c_C$  početne koncentracije reaktanata  $A$ ,  $B$  i  $C$ , a  $a$ ,  $b$  i  $c$  su redovi u odnosu na svaki reaktant.

Kada je  $x$  vrlo malo (spora reakcija), brzina će biti

$$\frac{dx}{dt} = k c_A^a c_B^b c_C^c \quad 3.89.$$

Ako se u dva eksperimenta  $c_B$  i  $c_C$  održavaju stalnim, a  $c_A$  se menja i meri rezultujuća promena brzine, red reakcije u odnosu reaktant  $A$ ,  $a$ , se može izračunati iz jednačine 3.87. Slično, održavanjem  $c_A$  i  $c_C$  konstantnim i promenom  $c_B$  izračunava se  $b$ , a sa konstantnim  $c_A$  i  $c_B$  i promenom  $c_C$  izračunava se  $c$ . Ukupan red reakcije biće  $a + b + c$ .

Ranije je naglašeno da suština diferencijalne metode proističe iz definicije brzine reakcije. Ako u reakciji učestvuju reaktanti  $A$ ,  $B$  i  $C$ , kinetička jednačina brzine u opštem obliku glasiće:

$$v = k c_A^a c_B^b c_C^c \quad 3.90.$$

Da bi se odredio parcijalni red reakcije (po jednom reaktantu) prati se promena koncentracije samo jedne reagujuće vrste, npr. reaktanta  $A$ , a koncentracija ostalih reaktanata (u ovom slučaju  $B$  i  $C$ ) se smatraju konstantnim, jer su reaktanti prisutni u velikom višku. Eksperimentalno dobijeni podaci se nanese na dijagram gde je apscisa vreme, a ordinata koncentracija posmatrane supstance  $A$ . Postupak se ponavlja za nekoliko različitih početnih koncentracija supstance  $A$ ,  $c_{0,A,1}$ ,  $c_{0,A,2}$  itd. Kada se nacrtaju krive za različite početne koncentracije (kriva najčešće ima nelinearan pad), na svakoj od njih se u polaznoj tački povuče tangenta (za prvu početnu koncentraciju supstance  $A$ , koordinate polazne tačke biće  $c = c_{0,A,1}$  i  $t = 0$ , za drugu početnu koncentraciju biće  $c = c_{0,A,2}$  i  $t = 0$ , itd). Tako se neposredno dobijaju vrednosti početne brzine reakcije,  $v = -dc_A / dt$ . Logaritmovanjem jednačine za brzinu, 3.90., dobija se:

$$\log v = \log k + a \log c_A + \text{const.}_1 + \text{const.}_2 \quad 3.91.$$

Kada se u drugi dijagram na apscisu nanose vrednosti logaritma početnih koncentracija supstance  $A$ ,  $\log c_A$ , a na ordinatu vrednosti logaritma početnih brzina,  $\log v$ , dobija se prava. Nagib dobijene prave predstavlja red reakcije u odnosu na posmatranu supstancu  $A$ , a vrednost odsečka na ordinati predstavlja logaritam konstante brzine reakcije,  $\log k$ . Isti postupak se primenjuje i za određivanje parcijalnih redova reakcije i po reaktantima  $B$  i  $C$ : održavanjem konstantnih koncentracija  $A$  i  $C$ , određuje se  $b$  - red reakcije za reaktant  $B$ , a održavanjem konstantnih koncentracija reaktanata  $A$  i  $B$ , određuje se  $c$  - red reakcije po reaktantu  $C$ . Na kraju se računa ukupan red reakcije  $n = a + b + c$ .

**5. Metoda trasera** omogućava, ako postoje stabilni i radioaktivni izotop i oprema za njihovo analitičko određivanje, proučavanje kinetičkih sistema, naročito ravnotežnih sistema kod kojih je ravnoteža već uspostavljena.

Određivanje reda reakcije u praksi je složeno. Najčešći problem su greške kod određivanja koncentracija jedinjenja (reagujućih i nastalih) ali i uticaji većeg broja faktora koji mogu komplikovati reakciju čiji se red određuje. Svaka od prethodno navedenih metoda ima i prednosti i nedostatke. Prema tome, mora se koristiti ona metoda koja omogućava iznalaženja najboljeg načina da se dođe do rezultata.

### 3.3. UTICAJ TEMPERATURE NA BRZINU HEMIJSKE REAKCIJE

Dobro je poznata činjenica da brzina hemijskih reakcija, sa veoma retkim izuzecima, naglo raste sa porastom temperature, pa je to i glavni razlog zašto se zagrevanje tako često koristi u hemijskoj praksi. Važno je utvrditi preko kojih faktora, odnosno kako temperatura utiče na brzinu reakcije. Prema osnovnom zakonu kinetike, brzina reakcije je određena proizvodom:

$$v = k c_A^p c_B^q$$

Posmatranjem prethodnog izraza postavlja se pitanje kako temperatura utiče na brzinu reakcije, odnosno koji je član izraza "osetljiv" na uticaj temperature? Temperatura može uticati na brzinu hemijske reakcije preko promene koncentracija reaktanata, eksponenata  $p$  i  $q$  i konačno preko promene konstante brzine. Eksperimentalno dobijeni podaci pokazuju da je uticaj prva dva faktora na promenu brzine hemijske reakcije sasvim zanemarljiv. Međutim, konstanta brzine veoma zavisi od temperature, pa se zato, kada se govori o uticaju temperature na brzinu reakcije, podrazumeva promena konstante brzine hemijske reakcije. Prema jednostavnom empirijskom pravilu, brzina reakcije se povećava 2 - 4 puta pri porastu temperature odigravanja reakcije za  $10^\circ\text{C}$ . Ta formulacija, poznata kao van't Hoff-ovo pravilo, znači da se brzina reakcije prvog reda može udvostručiti ili porastom koncentracije reaktanta za 100 % ili sa porastom temperature za  $10^\circ\text{C}$ .

Hood (1878) je prvi pokušao da formuliše uticaj temperature na brzinu reakcije. Svante Arrhenius (1889) je izveo empirijski izraz koji najbolje prikazuje zavisnost konstante brzine hemijske reakcije od temperature, a koji je kasnije potvrđen brojnim eksperimentalnim podacima za reakcije u rastvorima i u gasovitoj fazi. Konstanta brzine reakcije se menja sa temperaturom na sledeći način:

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E_a}{R T^2} \quad 3.91.$$

Prethodna jednačina je Arrhenius-ova jednačina u diferencijalnom obliku i ona predstavlja jednu od najvažnijih jednačina u hemijskoj kinetici.

Konačni oblik prethodne jednačine je:

$$k = A e^{-E_a / RT} \quad 3.92.$$

gde su  $k$  - konstanta brzine hemijske reakcije na nekoj temperaturi,  $R$  - gasna konstanta,  $T$  - temperatura u  $^{\circ}\text{C}$ . Veličina  $E_a$  u jednačini 3.92., naziva se energija aktiviranja molekula ili energija aktivacije i predstavlja minimalnu energiju koju moraju imati molekuli da bi mogli reagovati.

Energija aktivacije je veličina karakteristična za svaku hemijsku reakciju, a njene vrednosti izražene u  $\text{J mol}^{-1}$ , su uvek pozitivne. Reakcijama kojima odgovara mala vrednost  $E_a$  su vrlo brze kao što su reakcije u kojima učestvuju slobodni atomi, radikali ili joni. Koeficijent  $A$  u poslednjoj jednačini je poznat kao faktor učestalosti (frekvencije), predeksponencijalni faktor, faktor uspešnosti sudara molekula ili Arrhenius-ova konstanta. On je uvek izražen u istim jedinicama kao i konstanta brzine reakcije, povezan je sa strukturnim osobinama reagujućih molekula, i sa promenama u toku reakcije, a pokazuje zavisnost brzine reakcije od učestanosti sudara molekula reaktanata. Vrednosti  $E_a$  i  $A$  u prvoj aproksimaciji ne zavisi od temperature i imaju veliki teorijski značaj, jer su određene osobinama molekula koji reaguju. (Razvojem kinetike usavršena je Arrhenius-ova jednačina, preciznije su definisane vrednosti  $E_a$  i  $A$ , pa je pri tome uočena izvesna njihova zavisnost od temperature).

Budući da je teško predvideti vrednosti energije aktivacije, to se one moraju odrediti iz eksperimentalnih podataka o promeni konstante brzine reakcije,  $k$ , u zavisnosti od temperature. Vrednost energije aktivacije,  $E_a$ , i predeksponencijalnog faktora,  $A$ , se računaju iz vrednosti konstanti brzine reakcije određenih na nekoliko različitih temperatura. Logaritamski oblik Arrhenius-ove jednačine (jednačina 3.92.):

$$\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \ln A \quad 3.93.$$

pruža mogućnost da se  $E_a$  i  $A$  odrede grafički. Kada se u dijagramu na ordinatu nanose vrednosti  $\ln k$ , a na apscisu vrednosti  $1/T$ , dobija se prava ako su  $E_a$  i  $A$  zaista nezavisne od temperature. Nagib ili koeficijent pravca prave je  $-E_a/R$ , a odsečak na ordinati za  $1/T = 0$  biće vrednost  $\ln A$ , odakle se izračuna  $A$ .

Integraljenjem jednačine 3.91. u određenim granicama dobija se:

$$\ln \frac{k_2}{k_1} = -\frac{E_a}{R} \left( \frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right) \quad 3.94.$$

odakle se direktno može izračunati energija aktivacije ako su poznate vrednosti konstante brzine  $k_1$  i  $k_2$  za dve temperature  $T_1$  i  $T_2$ . Kada su poznate vrednosti energije aktivacije i konstante brzine za jednu temperaturu, može se izračunati konstanta brzine reakcije i za neku drugu temperaturu. Veliki je praktičan značaj Arrhenius-ove jednačine, jer su u njoj povezane konstanta brzine reakcije, energija aktivacije i temperatura, pa je moguće kvantitativno sagledati njihove međusobne odnose. Jednačina pruža mogućnost da se iz eksperimentalnih podataka izračuna vrednost energije aktivacije, koju nije moguće direktno meriti.

## 4. KINETIKA OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE

### 4.1. PREGLED LITERATURE

In vivo je L-askorbinska kiselina stabilna u rastvorima, a kada se na sobnoj temperaturi čuva na tamnom i suvom mestu postojana je i u čvrstom, kristalnom stanju. Stabilnost L-askorbinske kiseline u čvrstom stanju i bez vlage, na osnovu ubrzane oksidacije vazдушnim kiseonikom, procenjena je na oko 200 godina [80]. Međutim, u vodenom rastvu je nestabilna, te koncentracija vodenog rastvora L-askorbinske kiseline vremenom opada. Poznato je da brzina reakcije, odn. brzina oksidacije zavisi od niza faktora kao što su svetlost, temperatura, parcijalni pritisak i koncentracija rastvorenog kiseonika, pH rastvora, vrste pufera, prisustva jona metala i drugih. L-Askorbinska kiselina, kao jedna od najlabilnijih komponenata u hrani, može se upotrebiti kao indeks kvaliteta proizvoda, na primer za predviđanje trajnosti proizvoda [81-83]. Prema tome, problem stabilizacije L-askorbinske kiseline u rastvorima ima veliki teorijski i praktičan značaj i nije neobično što su na njegovom rešavanju radili i rade mnogi autori.

L-askorbinska kiselina je vitamin kome svetlost smeta, jer prouzrokuje oksidativnu razgradnju. Brzina reakcije, u funkciji intenziteta svetlosti, merena je u opsegu od 0 do 4306 luksa [84]. Primenjeni opseg intenziteta svetlosti je karakterističan za supermarketete (odnosi se na proizvode koji sadrže L-askorbinsku kiselinu i

izloženi su svetlosti u prodavnici). Zaključeno je da je brzina oksidacije L-askorbinske kiseline proporcionalna intenzitetu upotrebljene svetlosti. I UV svetlo utiče na smanjenje koncentracije L-askorbinske kiseline u rastvoru. Kada se rastvori sa 5,2 i 50 mg L-askorbinske kiseline / 100 g rastvora izlože 120 minuta UV zračenju, sadržaj preostale L-askorbinske kiseline se smanjuje na 56,79%, odnosno 92% [85].

Već je naglašeno da je L-askorbinska kiselina nestabilan vitamin, pa su kinetiku oksidacije L-askorbinske kiseline istraživali mnogi autori. Dok jedni [86-89] zaključuju da je to reakcija nultog reda s obzirom na početnu koncentraciju L-askorbinske kiseline ili skoro nultog reda [90], drugi [83, 91-99] je opisuju kao reakciju prvog reda u odnosu na početnu koncentraciju L-askorbinske kiseline.

Međutim, Sakai i sar. [100] zaključuju da se reakcija, zavisno od uslova, ponaša ili kao reakcija prvog reda ili kao reakcija nultog reda u odnosu na početnu koncentraciju L-askorbinske kiseline, odnosno kada se eksperimentalni podaci analiziraju kao reakcija prvog reda s obzirom na koncentraciju L-askorbinske kiseline oni odstupaju od prave linije na početku reakcije. Isti autori su pokušali da sačine kinetički model koji bi razjasnio promenu konstanti brzine s obzirom na koncentraciju L-askorbinske kiseline tokom vremena, zavisnost konstanti od početne koncentracije L-askorbinske kiseline i činjenicu da se reakcija oksidacije ponaša kao reakcija prvog reda s obzirom na koncentraciju L-askorbinske kiseline u jednom periodu i kao reakcija nultog reda s obzirom na koncentraciju L-askorbinske kiseline u drugom periodu. Štaviše, promena konstanti brzine prvog reda sa vremenom i zavisnost konstanti od početne koncentracije L-askorbinske kiseline je primećena u hrani i u model sistemima koji sadrže L-askorbinsku kiselinu, rastvoreni kiseonik i katalizator (bakar) [92, 101-103]. Red reakcije, u odnosu na početnu koncentraciju L-askorbinske kiseline, može biti i pseudo prvi kao što je prikazano u nekim radovima [104-106], pseudo nulti [107], a neki autori smatraju da se brzina oksidacije L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra najbolje može predstaviti jednačinom Michaelis–Menton-a [108-111].

Na stabilnost rastvora L-askorbinske kiseline utiče i prisustvo/odsustvo jona metala. Nakon otkrića L-askorbinske kiseline, ispitivana je njena brzina reakcije sa kiseonikom u prisustvu i odsustvu jona bakra. Nađeno je da je brzina oksidacije u kiselim rastvorima bez jona bakra veoma spora [101], ali da se ona značajno

povećava dodatkom jona bakra (čak i u malim količinama). U kasnijim radovima su ispitivani uticaji i drugih jona metala. "Najštetniji uticaj" imaju joni  $\text{Cu}^{2+}$ , pa  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ; malo utiču joni  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$  i  $\text{Ca}^{2+}$ , a bez efekta je jon  $\text{Mn}^{2+}$  [112]. Sličan zaključak je izveden i pri ispitivanju uticaja  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  u obliku sulfata:  $\text{Cu}^{2+}$  ima najjači efekat, slede  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$ , dok je uticaj ostalih jona zanemarljiv [113]. Na oksidaciju L-askorbinske kiseline katalizirane jonima bakra, razne soli bakra utiču na sledeći način:  $\text{CuCl}_2 \gg \text{Cu}(\text{NO}_3)_2 = \text{CuSO}_4$  [114]. Interesantno je da je  $\text{Cu}^{2+}$  jon veoma "razoran" u prisustvu vazduha, ali je inertan u atmosferi azota [115]. Isti autori su ustanovili da je  $\text{Fe}^{3+}$  prooksidans, ali da u kombinaciji sa jonom  $\text{Cu}^{2+}$  manje utiče na destrukciju L-askorbinske kiseline nego svaki jon pojedinačno. U odnosu na  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  jon je manje efikasan katalizator. Njegovo katalitičko dejstvo se proteže na vrednosti pH oko 3,5 - 4,0, a pri višim vrednostima pH je inhibitor [116].

Pored oksidacije, L-askorbinska kiselina podleže i autooksidaciji. Autooksidacija ili "raspadanje L-askorbinske kiseline" [117] se dešava kada je L-askorbinska kiselina prisutna u obliku mono- ili di- anjona, što zavisi od vrednosti pH sredine. Isto tako, autooksidacija je mehanizam koji objašnjava većinu gubitaka L-askorbinske kiseline u hrani [52]. Ubrzavaju je joni metala (čak i tragovi), a usporavaju je uslovi sredine bez prisutnog mono- i di- anjona, tj. prisustvo nedisocirane L-askorbinske kiseline.

Veoma rano je zaključeno da brzina oksidacije L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra na veoma složen način zavisi od pH vrednosti rastvora [118]. Na brzinu oksidacije utiče pH vrednost sredine u kojoj se reakcija dešava, ali i vrsta prisutnog anjona. Kada je prisutan anjon koji gradi kompleks sa jonom bakra, tada je brzina oksidacije znatno manja nego u sredini iste vrednosti pH, ali bez kompleksirajućeg anjona. Prilikom razmatranja uticaja prisutnog anjona je nebitno da li posmatrani anjon potiče iz pufera određene vrednosti pH ili potiče iz dodate kiseline kojom je podešena željena vrednost pH rastvora u kojem se prati brzina oksidacije L-askorbinske kiseline. Redosled kiseline odnosno anjona po opadajućoj sposobnosti kompleksiranja sa jonom bakra je: oksalna, metafosforna, limunska i ortofosforna kiselina [118]. Limunska kiselina zaslužuje specijalan interes zbog prisustva u brojnim prirodnim proizvodima. Oksidacija L-askorbinske kiseline je nultog reda u odnosu na opadanje vrednosti apsorbancije rastvora L-askorbinske



kiseline u rastvoru limunske kiseline ( $\text{pH} = 2.2$ ) [119], a prvog reda je u odnosu na L-askorbinsku kiselinu u citratnim puferima ( $\text{pH} = 2.5 - 6.0$ ) [120]. Interesantno je po-našanje L-askorbinske kiseline u kiselim i baznim fosfatnim puferima, jer "nestajanje" L-askorbinske kiseline sa vremenom nije linearno. Ustanovljeno je da je red reakcije  $3/4$  u odnosu na L-askorbinsku kiselinu, pa je verovatno da joni iz pufera ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  i  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) grade komplekse sa  $\text{Cu}^{2+}$  jonom [119].

Oksidacija L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra je 50 - 100 puta brža u rastvoru hlorovodonične kiseline nego u rastvoru azotne ili perhlorne kiseline iste koncentracije [101]. Uticaj jona fosfata, nitrata i sulfata [121] na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline je neznatan, jer ovi joni imaju slabu sposobnost kompleksiranja sa  $\text{Cu}^{2+}$  jonom, pa time neznatno smanjuju njegovu katalitičku efikasnost. U radu Y. P. Hsieh i N. D. Harris-a [122] je ispitan uticaj acetatnog jona na sadržaj L-askorbinske kiseline i zaključeno da u odsustvu bakra ili pri veoma niskom sadržaju bakra (1 ppm) so acetatnog pufera može imati mali katalitički efekat. Međutim, pri višim sadržajima ( $> 2.5$  ppm), L-askorbinska kiselina je u puferskom rastvoru donekle zaštićena zbog sposobnosti bakra da se kompleksira sa acetatnim jonom pufera [118]. I u radu Y. Ogata i Y. Kosugi-ja [121] je zaključeno da postoji izvesna interakcija između acetatnog jona i jona metala. Joni halogenida, tiocijanata i cijanida [122], gradeći kompleks sa  $\text{Cu}^{2+}$  jonima, znatno usporavaju brzinu oksidacije [123]. Y. Ogata i Y. Kosugi [124] su ispitujući uticaj istih anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline izveli iste zaključke kao i prethodni autori osim u slučaju  $\text{F}^-$  jona. Fluoridni jon ubrzava oksidaciju L-askorbinske kiseline, ali autori nemaju objašnjenja za uočenu pojavu. Interesantno je da visoka koncentracija hloridnog jona usporava, a niska ubrzava oksidaciju L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra [125, 126].

Na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline značajno utiče i pH vrednost rastvora. Interesantno je da i u radovima koji detaljno proučavaju brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra postoje različita mišljenja autora: u odnosu na koncentraciju jona vodonika, nalaze se rezultati da red reakcije može biti  $-0.5$  [118],  $-0.7$  [102],  $-1$  [126] i  $-2$  [101]. M.T. Taqai Khan i A.E. Martell su objavili seriju radova u kojim su ispitali kako oksidaciju L-askorbinske kiseline molekulskim kiseonikom katališu razni joni metala. Kada je oksidacija L-askorbinske kiseline katalizirana jonima bakra i gvožđa, brzina je obrnuto proporcionalna koncen-

traciji vodonikovog jona [127], prvog je reda u prisustvu vanadil ( $\text{VO}^{2+}$ ) [128] i uranil ( $\text{UO}_2^{2+}$ ) jona [129] i razlomljenog reda je u prisustvu Ru (III) jona [130].

Povezanost brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i koncentracije rastvorenog kiseonika u tečnim namirnicama dobro je proučena. Osetljivost L-askorbinske kiseline prema oksidaciji navodi na zaključak da je smanjenje koncentracije rastvorenog kiseonika u tečnoj hrani prvenstveno zbog oksidacije L-askorbinske kiseline, pa kada je koncentracija rastvorenog kiseonika smanjena na zanemarljiv nivo, više autora [131 -133] je pokazalo da je L-askorbinska kiselina duže vreme stabilna. Ispitivanjem brzine potrošnje kiseonika zaključeno je da je ona proporcionalna početnoj koncentraciji rastvorenog kiseonika što ukazuje da je reakcija prvog reda u odnosu na početnu koncentraciju rastvorenog kiseonika [84]. Proporcionalnost između brzine potrošnje kiseonika i početne koncentracije kiseonika potkrepljuje rezultate autora [127, 134, 125] koji su pokazali da je brzina nestanka L-askorbinske kiseline proporcionalna početnoj koncentraciji rastvorenog kiseonika. Za razliku od prethodnih radova, u radu [136] je zaključeno da je reakcija pseudo prvog reda u odnosu na koncentraciju rastvorenog kiseonika. Zanimljivi su rezultati koje su opisali R.F. Jameson i sar. [137] o zavisnosti oksidacije L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra od koncentracije kiseonika prisutnog u rastvoru, jer se njihovi rezultati značajno razlikuju od rezultata drugih autora. Korišćenjem kiseonične elektrode, zavisnost koncentracija kiseonika - vreme pokazuje da je red reakcije 0.5 u odnosu na koncentraciju kiseonika i predstavlja jedan od nekoliko poznatih primera reakcija u rastvorima čiji je red 0.5. Isti autori zaključuju da je red reakcije oksidacije L-askorbinske kiseline u odnosu na koncentraciju prisutnog kiseonika u mnogim radovima i pre Khan i Martell-a [127] odstupao od prvog reda, iako nije bilo pokušaja da se oksidacija L-askorbinske kiseline definiše odgovarajućim redom reakcije. Red reakcije koji je 0.5 u odnosu na koncentraciju kiseonika je i rezultat istraživanja R.S. Davidson-a i sar. [108].

Interesantno je posmatrati kako oksidacija L-askorbinske kiseline molekulskim kiseonikom katalizirane jonom bakra zavisi od prirode i koncentracije dodatog elektrolita. R.F. Jameson i sar. [137] su prikazali kinetiku reakcije sistema L-askorbinska kiselina -  $\text{O}_2$  - Cu(II) u opsegu vrednosti pH 2.0 - 3.5 u prisustvu  $\text{KNO}_3$ , a u sledećem radu su isti autori [138] ispitivali kinetiku reakcije istog sistema u opsegu vrednosti pH 1.8 - 5.0 u prisustvu KCl. U rastvoru nitrata je oksidacija L-as-

korbinske kiseline reakcija 0.5-og reda u odnosu na koncentraciju kiseonika, a u rastvoru hlorida je ista reakcija 0.5-tog reda i u odnosu na koncentraciju L-askorbinske kiseline i u odnosu na koncentraciju kiseonika. U prisustvu KBr u rastvoru red reakcije je nulti i prvi, a u rastvoru fluorida je kinetičko ponašanje isto kao i u prisustvu nitrata. Isti autori su i menjali koncentraciju hlorida (opseg pH 2.0 – 3.5), ali su i tada zaključili da je red reakcije 0.5 u odnosu na koncentraciju kiseonika.

Reakcija L-askorbata (mono-anjon L-askorbinske kiseline) sa kiseonikom u prisustvu jona prelaznih metala je veoma važna za hemiju L-askorbinske kiseline. Joni prelaznih metala (naročito bakra i gvožđa) katališu autooksidaciju sjedinjavanjem L-askorbata i kiseonika tj. građenjem "prelaznog" ternernog *askorbat - jon metala – kiseonik* kompleksa [139]. Dalje, "prelazni" kompleks disocira i nastaje dehidroaskorbinska kiselina, vodonik peroksid i jon metala (istog oksidacionog stanja kao i pre reakcije). Reakcija između kiseonika i L-askorbinske kiseline katalizirane jonom metala se ubrzava kada pH raste sa 1.5 na 3.5, što potvrđuje da je L-askorbat mono - anjon uključen u "prelazni" kompleks. Građenjem ternernog kompleksa se objašnjava mnogo brža oksidacija L-askorbinske kiseline u prisustvu kiseonika i jona metala (najviše oksidaciono stanje) nego samo jonom metala. Eksperimentalno zapažanje da je oksidacija L-askorbinske kiseline molekulskim kiseonikom katalizirane jonom metala mnogo brža od "stehiometrijske" oksidacije L-askorbinske kiseline jonom metala ili helata bez prisustva molekulskog kiseonika, je davno primećena [101]. Međutim, tada je to zapažanje tumačeno kao reaktivnost askorbat radikal anjona i njegovo učestvovanje u lančanoj reakciji slobodnog radikala.

Kompleksirajuća sredstva mogu izmeniti katalitičku sposobnost prelaznih metala. Tako je ispitan niz kompleksirajućih sredstava [140] koja u različitoj meri smanjuju efikasnost jona gvožđa i bakra u autooksidaciji askorbata. U agense koji kompleksiranjem sa jonom metala smanjuju autooksidaciju askorbata spadaju EDTA, šećeri, joni oksalata, citrata, fosfata [52]. Interesantno je da u agense koji kompleksiranjem sa jonom metala, smanjuju brzinu oksidacije oksidacije L-askorbinske kiseline Ming-Long Liao [52] ubraja i fosfatni jon, za koji autori [116, 118, 121] smatraju da poseduje najmanju moć da smanji katalitičke efekte jona bakra. Isto tako i agensi koji grade komplekse sa L-askorbinskom kiselinom mogu usporiti autooksidaciju, a to su EDTA i proteini [141].

U brojnim radovima je dokazano da joni metala, naročito bakra i gvožđa, kataliziraju mnoge neželjene reakcije u biološkim sistemima u koje spada i autooksidacija L-askorbata. Prisustvo jona metala predstavlja problem i kada su oni prisutni u tragovima, tj. kada su "prirodno" prisutni u korišćenim hemikalijama. Za potpuno razumevanje uloge koju joni metala imaju, neophodno je da rastvori pufera budu bez katalizirajućih jona metala. Uklanjanjem jona metala iz rastvora pufera, značajno se usporava proces autooksidacije. G.R. Buettner [142] je prikazao metodu kojom se rastvori pufera proveravaju da li su oslobođeni nepoželjnih jona metala. Zaključeno je da je u puferima oslobođenim jona metala askorbat potpuno stabilan. Reakcija je prvog reda u odnosu na gubitak askorbata u rastvorima pufera zasićenih vazduhom.

Osnovna promena posmatrana u toku hemijske reakcije je promena koncentracije reaktanata / proizvoda sa vremenom i ona se može pratiti na razne načine. Analitičke metode koje se pri tome koriste se dele na dve kategorije: *direktne metode* – obuhvataju standardne metode hemijske analize i *indirektne metode* – obuhvataju najveći broj instrumentalnih i fizičkih metoda. Za primenu neke indirektne metode je preduslov da postoji jednostavan odnos između merene osobine i koncentracije reagujuće supstance. Najbolje je koristiti onu metodu kod koje postoji međusobna linearna zavisnost. Metode za određivanje L-askorbinske kiseline su uglavnom zasnovane na reakcijama en-diolne grupe. Izabrana metoda se može primeniti za određivanje L-askorbinske kiseline samo u odsustvu jedinjenja tipa reduktona i reduktonata, jer su slična L-askorbinskoj kiselini, tj. poseduju en-diolnu strukturu [65,117]. U literaturi je smanjenje koncentracije L-askorbinske kiseline praćeno na različite načine tj. primenom različitih metoda. Često je korišćena titrimetrijska metoda – titracija alikvota rastvora L-askorbinske kiseline uzetog iz reakcione smeše u određenim vremenskim intervalima standardnim rastvorom 2,6 dihlorfenolindofenola. Tako je praćena oksidacija L-askorbinske kiseline u radovima iz najranijeg perioda "hemije" L-askorbinske kiseline, ali nezaobilaznih u kasnijim diskusijama drugih autora [101, 102, 143, 134, 118, 116]. Titrimetrijski se oksidacija L-askorbinske kiseline može pratiti i tako da se alikvoti (5 ili 10 ml), koji su uzimani u određenim vremenskim intervalima, dodaju u rastvor joda poznate koncentracije i zapremine. Neizreagovana L-askorbinska kiselina reaguje sa jodom, a višak joda se titriše standardnim rastvorom natrijum-tiosulfata [97]. Druga, često korišćena me-

toda je spektrofotometrijska. U radovima koji su često citirani [125 -129] brzina oksidacije je praćena preko količine dehidroaskorbinske kiseline nastale tokom oksidacije L-askorbinske kiseline: po 1 ml eksperimentalnog rastvora je u određenim vremenskim intervalima prenošen u 5 ml rastvora 2,4-dinitrofenil-hidrazin-tiourea reagensa, a intenzitet apsorpcije u nastalom braon-crvenom rastvoru je spektrofotometrijski meren na 525 nm. Količina dehidroaskorbinske kiseline je određivana iz kalibracione krive. Oksidacija L-askorbinske kiseline se može spektrofotometrijski pratiti i na drugi način, a to je da se u određenim vremenskim intervalima snimaju apsorpcioni spektri alikvota eksperimentalnih rastvora na 243 nm [137,138] ili na 265 nm [140, 142]. Za praćenje opadanja koncentracije L-askorbinske kiseline se može koristiti i polarografska metoda [120]. Na početku svakog eksperimenta je izmerena anodna struja koja odgovara početnoj koncentraciji L-askorbinske kiseline, a nakon toga su svakih 30 minuta beleženi anodni talasi. L-Askorbinska kiselina je određivana poređenjem visine talasa na početku i tokom eksperimenta. U radu [100] je opadanje koncentracije L-askorbinska kiselina praćena metodom HPLC pri čemu je korišćena Finepak Sil C - 10 kolona i 0.1%-ni rastvor  $H_3PO_4$  kao eluent.

## 5. EKSPERIMENTALNI DEO

### 5.1. UREĐAJI I PRIBOR

Za izvođenje eksperimentalnog dela rada korišćeni su sledeći uređaji i pribor:

- ♦ UV - VIS spektrofotometar, Unicam SP 800B, Cambridge, England
- ♦ Ultra - kriostat, tupe MK 70 VEB MLW, Leipzig
- ♦ pH metar, Iskra MA 5704
- ♦ Ultrasonično kupatilo, Bandelin Sonorex TK 52
- ♦ Aparat za bidestilaciju, Institut "Jožef Štefan", Ljubljana, Jugoslavija
- ♦ Eksperimentalni podaci su obrađivani na personalnom računaru PC 486

### 5.2. HEMIKALIJE

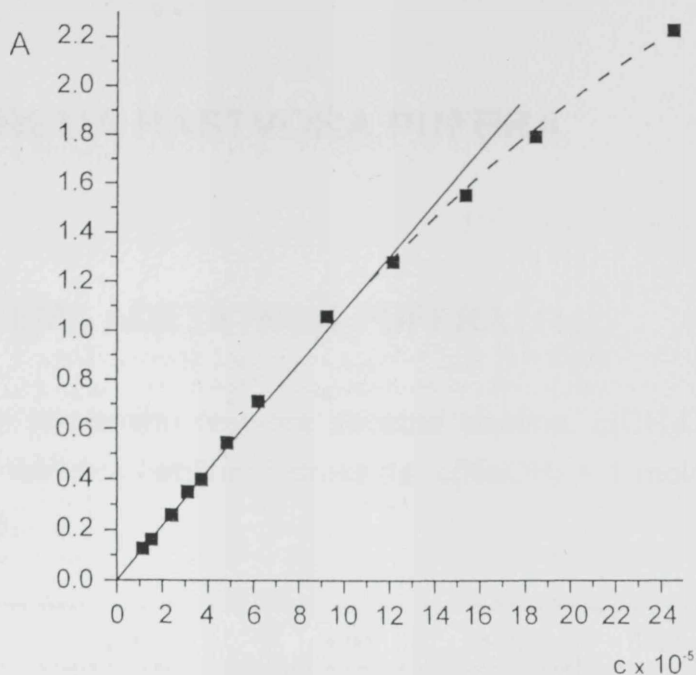
Za pripremanje potrebnih rastvora su korišćene sledeće hemikalije:

- ♦ L-askorbinska kiselina,  $C_6H_8O_6$ , 99.7 %, p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Borna kiselina,  $H_3BO_3$ , p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Fosforna kiselina,  $H_3PO_4$ , p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Glacijalna sirćetna kiselina,  $CH_3COOH$ , p.a., "Zorka, Pharma", Šabac

- ♦ Limunska kiselina,  $C_6H_8O_7$ , p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Hlorovodonična kiselina, HCl, p.a., "Zorka", Šabac
- ♦ Kalijumdihidrogen fosfat,  $KH_2PO_4$ , p.a., "MERCK, Alkaloid", Skoplje
- ♦ Natrijum-hidrogen fosfat,  $Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$ , p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Natrijum-hidrogen fosfat,  $Na_2HPO_4 \times 12 H_2O$ , p.a., "Kemika", Zagreb
- ♦ Glicin,  $NH_2CH_2COOH$ , p.a., "Alkaloid", Skoplje
- ♦ Natrijum-hidroksid, NaOH, p.a., "Alkaloid", Skoplje
- ♦ Standardni pufer, "Zorka, Farmacija", Šabac,

### 5.3. POSTUPAK RADA

- ♦ U toku eksperimentalnog rada je korišćeno uvek isto stakleno laboratorijsko posuđe klase A.
- ♦ Rastvori pufera su pripremani rastvaranjem potrebnih hemikalija u bidestilovanoj vodi dobijenoj destilacijom iz staklenog suda sa kvarcnim grejačima. Neposredno pre rastvaranja L-askorbinske kiseline u puferu, izvršena je njezova deaeracija u ultrasoničnom kupatilu.
- ♦ Vrednosti pH pripremljenih rastvora pufera su proveravane na analognom pH-metru sa ugrađenim ekspanderom skale i mogućnošću očitavanja  $\pm 0.01$  pH jedinice. U slučaju da je izmerena vrednost pH pufera odstupala od željene, izvršena je korekcija koncentrovanim rastvorima HCl ili NaOH.
- ♦ Prilikom odmeravanja potrebne mase L-askorbinske kiseline, korišćene su plastična špatula i staklena lađica da bi se izbegao dodir jedinjenja sa metalom.
- ♦ L-askorbinska kiselina je rastvarana u puferu neposredno pre termostatiranja i spektrofotometrijskog merenja. Koncentracije pripremljenih rastvora su se kretale u opsegu  $(8 - 9) \times 10^{-5}$  mol/l, jer je to u opsegu koncentracija za koji važi Lambert-Beer-ov zakon (slika 5.1.).



**Slika 5.1.:** Zavisnost apsorbancija (A) – koncentracija ( $c \times 10^{-5}$ , mol/l) L–askorbinske kiseline u bidestilovanoj vodi (provera Lambert – Beer – ovog zakona)

- ♦ Odmerna tikvica sa L-askorbinskom kiselinom u rastvoru pufera je postavljena u ultrakriostat sa vodom na  $25^{\circ} \text{C} \pm 0.02$ . Nakon 3 minuta termostatiranja u mraku, uz povremeno mućkanje suda, započeto je praćenje opadanja vrednosti apsorbancije rastvora. (Tri minuta termostatiranja je dovoljno, jer je za rastvaranje izmerene mase L-askorbinske kiseline korišćen termostatiran rastvor pufera).
- ♦ Apsorpcioni spektri rastvora L-askorbinske kiseline su snimani u intervalu 325-225 nm u kvarcnim kivetama širine 1 cm.
- ♦ Vremenski intervali snimanja apsorpcionih spektara su mereni štopericom sa podelom 1/10 sekundi.



## 5.4. PRIPREMA RASTVORA PUFERA

### 5.4.1. PRIPREMA ACETATNOG PUFERA [144]

U određenu zapreminu rastvora sirćetne kiseline,  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1 \text{ mol/l}$ , dodaje se 50 ml rastvora natrijum-hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$ , i smeša dopuni do 500 ml vodom.

pH	4.00	5.00	6.00
$\text{CH}_3\text{COOH}$ , ml	284.40	73.40	52.30

### 5.4.2. PRIPREMA FOSFATNOG PUFERA [144]

Određena zapremina rastvora 1 se dopuni do 100 ml rastvorom 2:

pH	5.00	6.00	7.00	8.00
rastvor 1, ml	0.95	12.10	61.20	96.9

Rastvor 1: Natrijum-hidrogenfosfat-dihidrat,  $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}) = 0.0667 \text{ mol/l}$ .  
1000 ml rastvora sadrži 11.8660 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ .

Rastvor 2: Kalijum-dihidrogen-fosfat,  $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 0.0667 \text{ mol/l}$ .  
1000 ml rastvora sadrži 9.0730 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

### 5.4.3. PRIPREMA FOSFATNO - CITRATNOG PUFERA [145]

Za pripremanje 1000 ml rastvora pufera rastvoriti u vodi određenu masu jedinjenja 1 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ ) i jedinjenja 2 ( $\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$ ).

pH	6.00	7.00	8.00
jedinjenje 1, g	45.20	58.90	69.60
jedinjenje 2, g	7.74	3.70	0.589

### 5.4.4. PRIPREMA BORATNOG PUFERA [144]

Određena zapremina rastvora 1 se dopuni do 100 ml rastvorom 2

pH	8.00	9.00
rastvor 1, ml	55.85	85.60

Određena zapremina rastvora 3 se dopuni rastvorom 1 do 100 ml

pH	10.00	11.00
rastvor 3, ml	41.00	49.90

Rastvor 1: Rastvori se 12.3670 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$  u vodi, doda se 100 ml rastvora natrijum-hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$ , i dopuni vodom do 1000 ml.

Rastvor 2: Hlorovodonična kiselina,  $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/l}$

Rastvor 3: Natrijum-hidroksid,  $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/l}$

#### 5.4.5. PRIPREMA GLICINSKOG PUFERA [144]

Određena zapremina rastvora 1 se dopuni do 100 ml rastvorom 2

pH	9.00	10.00	11.00
rastvor 1, ml	12.40	38.30	48.90

Rastvor 1: Natrijum-hidroksid,  $c(\text{NaOH}) = 0.1 \text{ mol/l}$

Rastvor 2: Glicin,  $c(\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}) = 0.1 \text{ mol/l}$ .

Rastvori se 7.5070 g  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  i 5.8500 g NaCl u vodi i dopuni vodom do 1000 ml.

#### 5.4.6. PRIPREMA UNIVERZALNOG PUFERA [144]

Pripremi se smeša fosforne, borne i sirćetne kiseline (koncentracija svake kiseline u smeši je  $0.04 \text{ mol/l}$ ). Za postizanje željene vrednosti pH u 100 ml smeše kiselina dodaje se određena zapremina rastvora natrijum-hidroksida,  $c(\text{NaOH}) = 0.2 \text{ mol/l}$ .

pH	4.10	5.02	6.09	7.00	7.96	8.95	9.91	10.88
NaOH, ml	25.00	35.00	42.50	52.50	60.00	67.50	77.50	82.50

## 6. REZULTATI I DISKUSIJA

### 6.1. APSORPCIONI SPEKTRI L - ASKORBINSKE KISELINE

U radu je brzina oksidacije L-askorbinske kiseline u rastvoru praćena spektrofotometrijski snimanjem UV spektara u opsegu od 325 nm do 225 nm. U određenim vremenskim intervalima su snimani apsorpcioni spektri termostatiranih ( $25^{\circ}\text{C} \pm 0.02$ ) pufrskih rastvora L-askorbinske kiseline. Korišćeni su rastvori acetatnog, fosfatnog, fosfatno-citratnog, boratnog, glicinskog i univerzalnog pufera raznih vrednosti pH. Karakteristike ispitivanih pufrskih rastvora L-askorbinske kiseline su prikazane u Tabelama 6.1. - 6.6.

Oznake u Tabelama su:

pH - vrednost pH rastvora pufera

$\lambda$  - talasna dužina maksimuma apsorpcije, nm

t - vremenski interval između uzastopnih snimanja apsorpcionog spektra, min.

p - broj ponovljenih proba

$\tau$  - vreme (min) potrebno da vrednost apsorpcije rastvora opadne do  $\sim 0.1$

Tabela 6.1.: Sistem L-askorbinska kiselina - acetatni pufer

pH	4.00	5.00	6.00
$\lambda$	258	268	270
t	30	20	5
p	3	3	3
$\tau$	300	180	80

Tabela 6.2: Sistem L-askorbinska kiselina - fosfatni pufer

pH	5.00	6.00	7.00	8.00
$\lambda$	268	270	270	270
t	10	6	6	2
p	8	9	16	4
$\tau$	120	110	60	50

Tabela 6.3: Sistem L-askorbinska kiselina - fosfatno-citratni pufer

pH	6.00	7.00	8.00
$\lambda$	270	270	270
t	30	20	6
p	3	5	8
$\tau$	200*	250	90

\*vreme potrebno da vrednost apsorbancije rastvora opadne od 1.02 do 0.95

Tabela 6.4: Sistem L-askorbinska kiselina - boratni pufer

pH	8.00	9.00	10.00	11.00
$\lambda$	270	270	270	272
t	6	3	2	1
$\rho$	10	13	13	14
$\tau$	110	33	20	9

Tabela 6.5: Sistem L-askorbinska kiselina - glicinski pufer

pH	9.00	10.00	11.00
$\lambda$	270	270	270
t	15	3	1
$\rho$	12	11	18
$\tau$	360	60	18

Tabela 6.6: Sistem L-askorbinska kiselina - univerzalni pufer

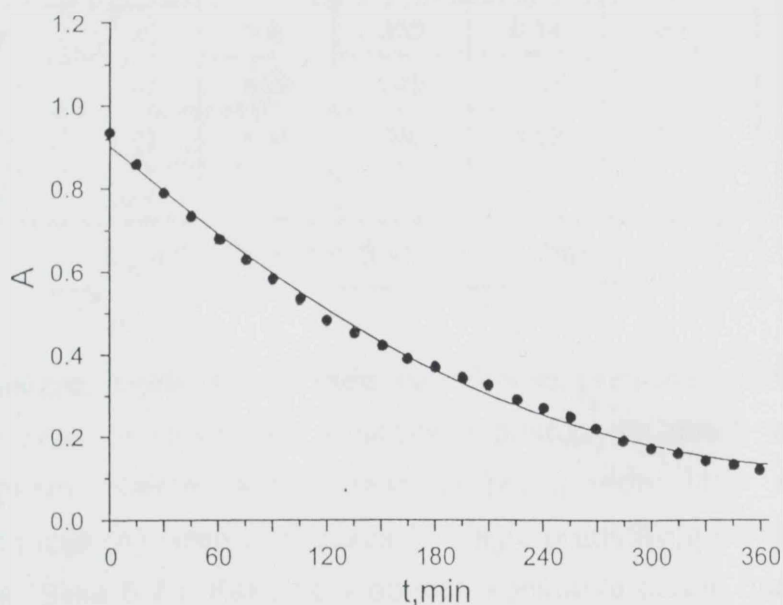
pH	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.00	10.00	11.00
$\lambda$	257	268	270	270	270	270	271	272
t	15	15	5	3	1	1	1	0.5
$\rho$	4	4	6	5	15	12	20	13
$\tau$	240	120	55	36	12	12	7	5

Apsorpcioni spektri puferских rastvora L-askorbinske kiseline pokazuju samo jedan karakteristični apsorpcioni maksimum, a talasne dužine maksimuma apsorpcije se kreću od 257 nm na pH = 4.00 do 272 nm na pH = 11.00. Tokom praćenja opadanja vrednosti apsorpcije, talasna dužina maksimuma apsorpcije puferского rastvora L-askorbinske kiseline se ne menja. Isto tako, pri istim vrednostima pH u različitim puferima je ista talasna dužina maksimuma apsorpcije. Međutim, uočava se pomeranje talasne dužine maksimuma apsorpcije ka većim talasnim dužinama ("crveni pomak") sa porastom vrednosti pH rastvora. Prema tome, na pomeranje talasne dužine maksimuma apsorpcije utiče samo vrednost pH puferского rastvora, ali ne i vrsta prisutnog anjona u rastvoru. Zavisno od vrednosti pH, u rastvoru su prisutni različiti oblici L-askorbinske kiseline tj. nedisocirani molekul, mono-anjon i di-anjon od kojih svaki pokazuje drugi maksimum apsorpcije. Porastom vrednosti pH, u rastvoru raste udeo di-anjona,  $A^{2-}$ , što izaziva pomeranje maksimuma apsorpcije rastvora ka većim talasnim dužinama.

## 6.2. SIMPLIFIKACIJA KINETIČKE JEDNAČINE VIŠEG I RAZLOMLJENOG REDA

U poglavlju 3.2. su opisane metode analize eksperimentalnih podataka, odnosno načini nalaženja reda hemijske reakcije i izračunavanje konstante brzine reakcije. Sve se one svode na "metodu provere". Eksperimentalni podaci o promeni koncentracije ispitivane supstance sa vremenom, merene u određenim vremenskim intervalima, mogu se analizirati analitički i grafički. Analitički postupak podrazumeva zamenu eksperimentalnih podataka u različite kinetičke jednačine: podaci o promeni koncentracije izmerene za različite intervale vremena zamenjuju se u kinetičke jednačine nultog, prvog, drugog, n-tog reda reakcije, odakle se izračunavaju vrednosti konstante brzine reakcije. Na taj način, za svaki tip kinetičke jednačine, dobija se serija vrednosti konstanti brzine reakcije. Ona jednačina kod koje vrednosti konstante brzine za različite intervale vremena ne odstupaju mnogo ukazuju na red reakcije, to jest numerička vrednost za konstantu brzine hemijske reakcije ne sme da varira sa vremenom. Grafički postupak za određivanje reda reakcije polazi od činjenice da se kinetičke jednačine za različite

tipove hemijskih reakcija mogu predstaviti grafički, pa ako je dobro pretpostavljen red reakcije, tada se zamenu eksperimentalnih podataka u odgovarajući grafički oblik kinetičke jednačine dobija linearna zavisnost od vremena, a konstanta brzine reakcije se izračunava iz nagiba prave. Na primeru oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu,  $\text{pH} = 9.00$  (Slika 6.1.) biće prikazani analitički i grafički postupak analize eksperimentalnih podataka. Sa Slike 6.1. je uočljivo da zavisnost apsorbancija - vreme nije linearna, što znači da reakcija nije nultog reda, pa treba eksperimentalne podatke uvrstiti u neku od kinetičkih jednačina za izračunavanje reda reakcije (analitički postupak). Pođimo od kinetičke jednačine reakcije prvog reda (jednačina 3.19). Zamenu eksperimentalnih podataka u jednačinu reakcije prvog reda je izračunata vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline (Tabela 6.7.) i kao što se vidi za konstantu brzine reakcije su dobijene vrednosti koje nisu signifikantno različite.



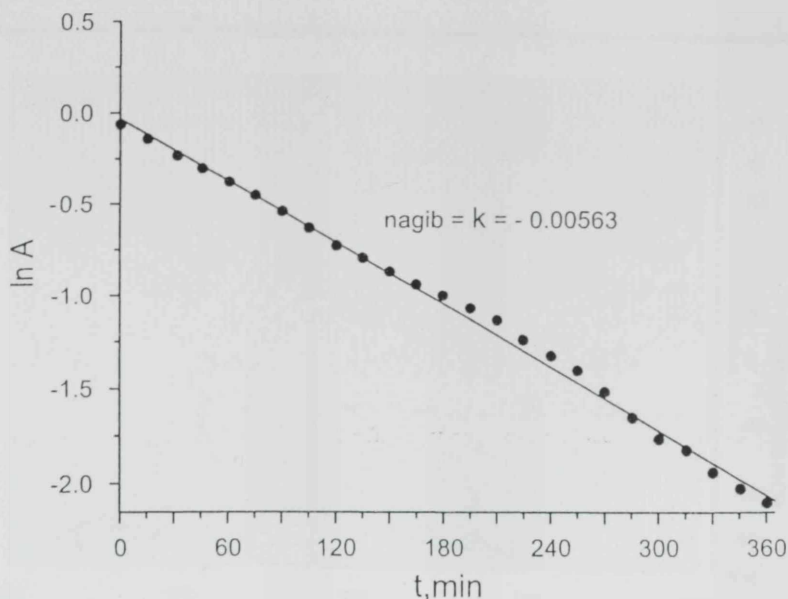
Slika 6.1.: Zavisnost apsorbancija L-askorbinske kiseline - vreme u glicinskom puferu  $\text{pH} = 9.00$



**Tabela 6.7.:** Primer izračunavanja konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline analitičkim postupkom (glicinski pufer, pH = 9.00)

t	A	$k_A \times 10^{-3}$	t	A	$k_A \times 10^{-3}$
0	0.94	-	195	0.34	5.22
15	0.86	5.92	210	0.32	5.13
30	0.79	5.79	225	0.29	5.22
45	0.735	5.47	240	0.27	5.20
60	0.68	5.40	255	0.25	5.19
75	0.63	5.33	270	0.22	5.38
90	0.58	5.37	285	0.19	5.61
105	0.53	5.46	300	0.17	5.70
120	0.48	5.61	315	0.16	5.62
135	0.45	5.46	330	0.14	5.77
150	0.42	5.37	345	0.13	5.73
165	0.39	5.18	360	0.12	5.72
180	0.37	5.18			
$\bar{k}_A = 0.00546 \pm 0.000233$ (4.27%)					

Da li je reakcija zaista prvog reda kao što je pretpostavljeno, vrednost konstante brzine reakcije izračunate analitičkim postupkom može se proveriti i grafičkim postupkom. Naime, ako je reakcija prvog reda, tada je zavisnost logaritama apsorbancije (A) -vreme (t) prava čiji nagib predstavlja konstantu brzine hemijske reakcije (Slika 6.2.). Kako se vrednosti konstante brzine hemijske reakcije dobijene analitičkim i grafičkim postupkom slažu, može se zaključiti da je oksidacija L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu pH = 9.00 reakcija prvog reda. Postoji i direktan način određivanja reda reakcije na osnovu poluvremena reakcije.



Slika 6.2.: Zavisnost  $\ln A$  - vreme; glicinski pufer pH = 9.00 (grafički postupak)

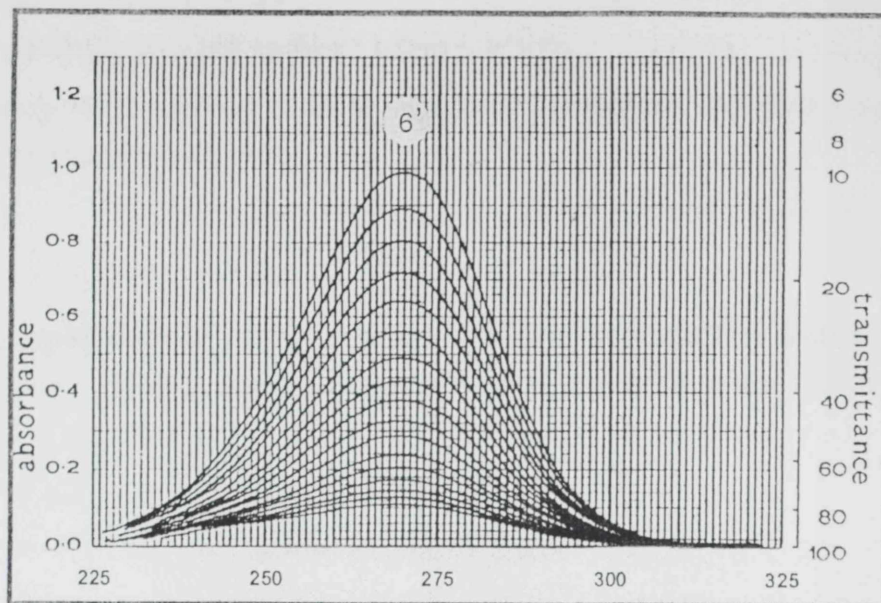
Za reakciju prvog reda poluvreme reakcije je :

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{odnosno} \quad k = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad 3.29.$$

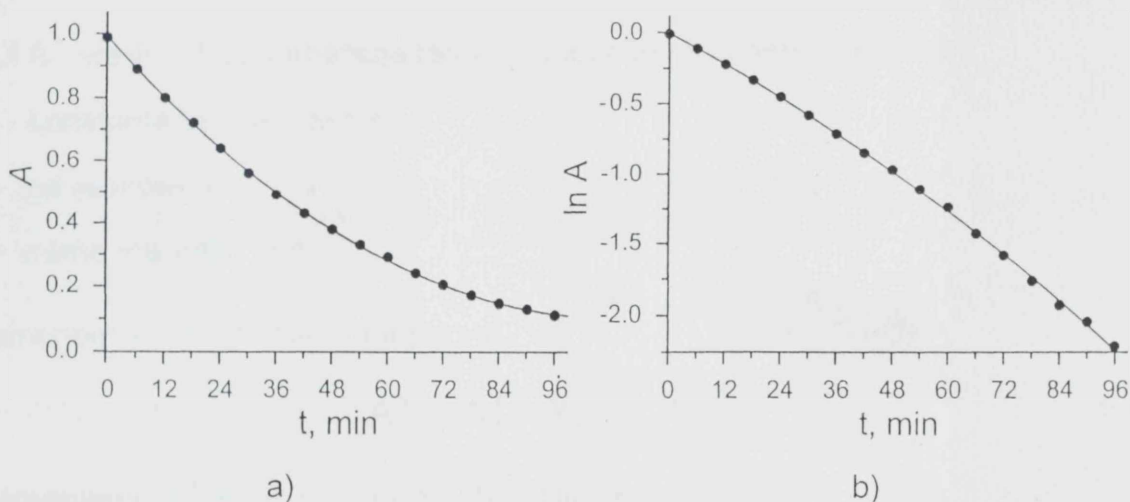
U našem slučaju je poluvreme reakcije  $t_{1/2} = 126$  min. (vrednost očitana sa Slike 6.1.). Kada se ta vrednost zameni u jednačinu 3.29. dobija se vrednost konstante brzine hemijske reakcije  $k_A = 5.50 \times 10^{-3}$  koja se slaže sa vrednostima konstanti brzina oksidacije L-askorbinske kiseline izračunatih analitičkim (Tabela 6.7.) i grafičkim postupkom (Slika 6.2).

Opisani primeri određivanja reda reakcije i izračunavanja konstante brzine hemijske reakcije potkrepljuju tvrdnju da se analiza eksperimentalnih podataka svodi na "metodu provere".

Proveravanjem na više drugih puferskih sistema utvrđeno je da zavisnost apsorpcije rastvora L-askorbinske kiseline od vremena nije linearna, ali nije ni reakcija prvog reda, a za ilustraciju je prikazan tok oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6.00 (Slike 6.3. i 6.4.).



Slika 6.3.: Apsorpcioni spektri rastvora L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6.00. (6' - razmak između dva uzastopna merenja)



Slika 6.4.: Zavisnost a) apsorbancija - vreme i b) logaritam apsorbancije - vreme; za rastvor L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6.00

U navedenom primeru (Slike 6.3. i 6.4.) je metodom provere utvrđeno da je oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija razlomljenog reda. Da bi se linearizovala

funkcija zavisnosti apsorbancije rastvora L-askorbinske kiseline od vremena, pošlo se od kinetičke jednačine reakcije višeg i razlomljenog reda.

U reakciji razlomljenog reda je opadanje apsorbancije rastvora L-askorbinske kiseline sa vremenom jednako:

$$\frac{dA}{dt} = -k_A \cdot A^n \quad 6.1.$$

pri čemu je apsorbancija rastvora proporcionalna koncentraciji L-askorbinske kiseline (Lambert - Beer-ov zakon). Integraljenjem prethodne jednačine dobija se:

$$\frac{1}{A^{n-1}} - \frac{1}{A_0^{n-1}} = (n-1) \cdot k_A \cdot t \quad 6.2.$$

odnosno

$$A^{1-n} = A_0^{1-n} + k_A (n-1) \cdot t \quad 6.3.$$

gde su:

$A_0$  i  $A$  - vrednosti apsorbancija rastvora na početku i nakon vremena  $t$ ,

$k_A$  - konstanta brzine reakcije,

$n$  - red reakcije i

$t$  - vreme merenja, min.

Zamenom  $x = 1 - n$  imamo da je:

$$A^x = A_0^x - k_A \cdot x \cdot t \quad 6.4.$$

a smenama  $A_0^x = a$  i  $-k_A x = b$  dobija se:.

$$A^x = a + b \cdot t \quad 6.5.$$

što predstavlja jednostavan oblik jednačine reakcije višeg i razlomljenog reda.

Za obradu eksperimentalnih podataka primenjen je kompjuterski program za nelinearnu regresiju funkcije oblika datog jednačinom 6.5.. Optimalne vrednosti parametara **stepen (x)**, **a** i **b** se određuju iterativnim postupkom. U spoljašnjem ciklusu vrednosti x koriguju se Fibonnacijevom procedurom iz uslova maksimizacije kvadrata koeficijenta korelacije ( $R^2$ ), a parametri a i b u unutrašnjem ciklusu iz uslova minimizacije sume kvadrata odstupanja.

Brzina oksidacije L-askorbinske kiseline je praćena u acetatnom, fosfatnom, fosfatno-citratnom, boratnom, glicinskom i univerzalnom puferu pri različitim vrednostima pH. Za svaki pufer i određenu vrednost pH je urađeno više ponavljanja (Tabele 6.1. - 6.6.).

Uočeno je da je jednačina 6.5. osetljiva na male promene vrednosti apsorbancije merene u istim vremenskim intervalima, tako da se vrednosti konstante x, odnosno konstante brzine reakcije  $k_A$  razlikuju međusobno za isti pufer i vrednost pH što se vidi iz Tabele 6.8 u kojoj je na primeru toka oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6.00 (Tabela 6.2. i Tabela 6.10., koja je data u Prilogu) pokazano izračunavanje vrednosti konstanti x i  $k_A$ .

Oznake u Tabeli 6.8. su:

$A_{1-9}$  - vrednosti apsorbancija rastvora uzoraka 1 - 9

t - vreme trajanja reakcije, min

$x_{1-9}$  - vrednosti konstante x uzoraka 1 - 9

$\bar{x}$  - srednja vrednost konstante x

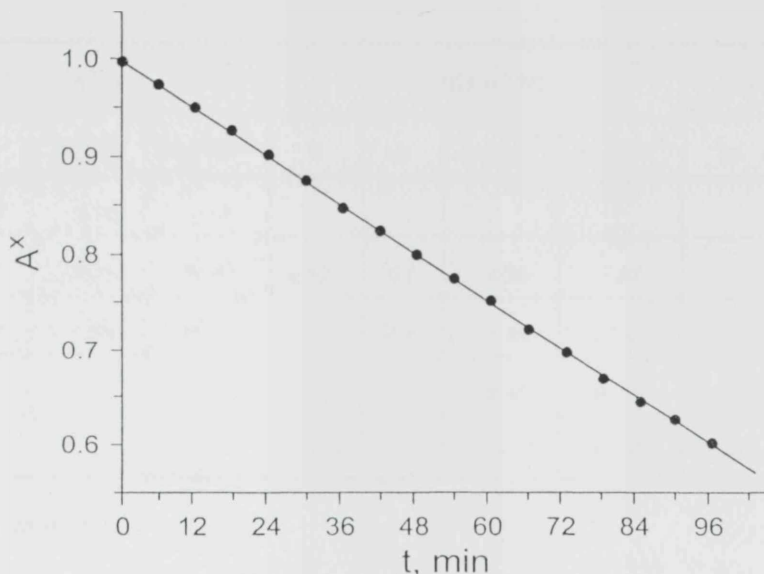
$\bar{k}_A$  - srednja vrednost konstante brzine reakcije,  $\text{min}^{-1}$

Tabela 6.8.: Primer izračunavanja konstanti  $x$  i  $k_A$  ( fosfatni pufer pH = 6.00)

t	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A <sub>4</sub>	A <sub>5</sub>	A <sub>6</sub>	A <sub>7</sub>	A <sub>8</sub>	A <sub>9</sub>
0	1.08	1.01	1.09	0.95	0.99	1.04	0.98	1.00	1.04
6	0.94	0.85	0.99	0.84	0.89	0.95	0.89	0.91	0.96
12	0.78	0.71	0.91	0.74	0.80	0.85	0.80	0.81	0.87
18	0.66	0.59	0.78	0.66	0.72	0.76	0.70	0.72	0.78
24	0.53	0.48	0.71	0.56	0.64	0.67	0.61	0.63	0.68
30	0.43	0.40	0.62	0.49	0.56	0.59	0.54	0.52	0.59
36	0.35	0.33	0.54	0.42	0.49	0.51	0.46	0.46	0.50
42	0.28	0.28	0.46	0.36	0.43	0.44	0.39	0.40	0.43
48	0.22	0.22	0.40	0.32	0.38	0.39	0.35	0.34	0.37
54	0.18	0.18	0.34	0.26	0.33	0.33	0.30	0.29	0.31
60	0.14	0.15	0.29	0.22	0.29	0.28	0.24	0.25	0.26
66	0.12	0.12	0.25	0.18	0.24	0.24	0.21	0.21	0.22
72	0.10	0.10	0.20	0.15	0.20	0.20	0.17	0.16	0.18
78	0.08	0.08	0.17	0.13	0.17	0.17	0.14	0.15	0.15
84	0.07	0.07	0.14	0.11	0.14	0.14	0.12	0.13	0.13
90	0.06	0.06	0.12	0.10	0.13	0.12	0.10	0.11	0.11
96		0.05		0.08	0.11			0.10	0.09
102		0.04						0.08	0.08
108									0.06
114									0.04
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	x <sub>4</sub>	x <sub>5</sub>	x <sub>6</sub>	x <sub>7</sub>	x <sub>8</sub>	x <sub>9</sub>
	0.320	0.306	0.292	0.265	0.224	0.190	0.163	0.163	0.156
	<sub>1</sub> k <sub>A</sub>	<sub>2</sub> k <sub>A</sub>	<sub>3</sub> k <sub>A</sub>	<sub>4</sub> k <sub>A</sub>	<sub>5</sub> k <sub>A</sub>	<sub>6</sub> k <sub>A</sub>	<sub>7</sub> k <sub>A</sub>	<sub>8</sub> k <sub>A</sub>	<sub>9</sub> k <sub>A</sub>
	0.01866	0.01830	0.01904	0.01781	0.02866	0.02711	0.02166	0.02068	0.02180

$$\bar{x} = 0.231 \pm 0.0662 \quad \bar{k}_A = 0.02152 \pm 0.0039$$

Za oksidaciju L-askorbinske kiseline u rastvoru fosfatnog pufera pH = 6.00 je na Slici 6.5. predstavljen grafik zavisnosti apsorbancija<sup>x</sup> – vreme ( $A^x - t$ ) nacrtan na osnovu proračuna prikazanog u Tabeli 6.8. (primer A<sub>5</sub>)



**Slika 6.5.:** Zavisnost  $A^x - t$  ( $x = 0.224$ ), za rastvor L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6.00 (slike 6.3. i 6.4.a)

Imajući u vidu da je jednačina 6.5. osetljiva na male promene vrednosti apsorbancije, u Tabelama 6.9. – 6.14. (date u Prilogu) su prikazane vrednosti konstanti  $x$ ,  $k_A$ , odnosno reda reakcije ( $n$ ) izračunate za više ponavljanja pri istoj vrednosti pH puferskog rastvora kao i njihove srednje vrednosti.

U Tabeli 6.15. su prikazane srednje vrednosti konstanti  $x$ ,  $b$ ,  $k_A$  kao i zao-kružene vrednosti reda reakcije ( $n$ ) oksidacije L-askorbinske kiseline u ispitivanim puferskim sistemima iz Tabela 6.9. – 6.14..

Na osnovu podataka prikazanih u Tabeli 6.15., može se zaključiti da je jednačina 6.5. univerzalna i obuhvata jednačine reakcije nultog (3.8.), prvog (3.16.), drugog (3.34.), trećeg (3.60.) i razlomljenog reda reakcije (3.73.). Ova tvrdnja može se potkrepiti sa nekoliko primera za različite ispitivane rastvore pufera. Preko jednačine 6.5. je izračunato da je oksidacija L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 8.00 reakcija nultog reda (Slika 6.6.). Ako je taj podatak tačan, tada eksperimentalni podaci treba da zadovolje i kinetičku jednačinu reakcije nultog reda (3.12.). Kada se eksperimentalni podaci primera 6 u Tabeli 6.12. (data u Prilogu)

Tabela 6.15.: Srednje vrednosti konstanti  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u ispitivanim rastvorima pufera. Vrednosti  $k_A$  date u zagradi su dobijene preko jednačina 3.12. i 3.19.

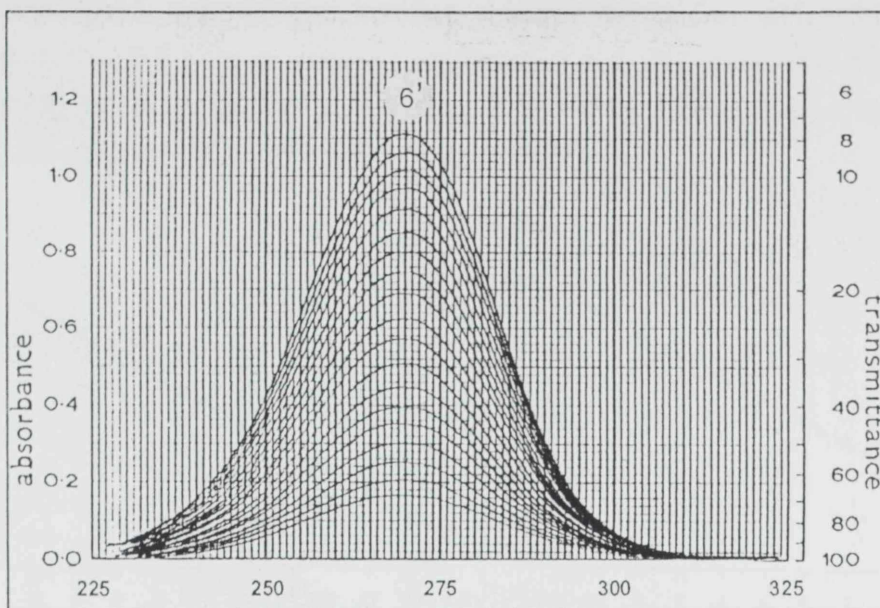
pH	ACETATNI				FOSFATNI				FOSFATNO - CITRATNI			
	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$
4	0.447	0.6	- 0.76	1.72								
5	0.272	0.7	- 3.59	13.47	0.523	0.5	- 4.03	7.82				
6	0.257	0.7	- 7.24	29.21	0.231	0.8	- 4.86	21.52				0.38*
7					0.319	0.7	- 9.41	30.25	0.111	0.9	- 0.87	10.27
8					0.434	0.6	- 23.73	41.10	0.223	0.8	- 4.71	21.23

\* - ekstrapolirana vrednost

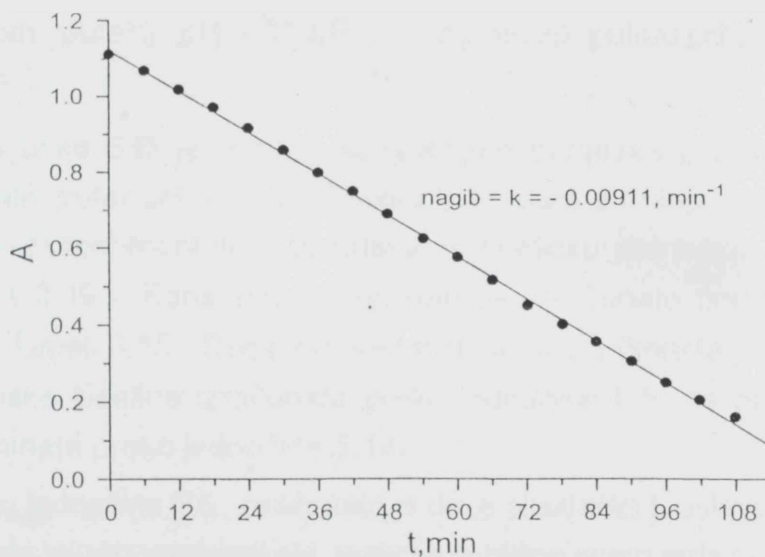
pH	BORATNI				GLICINSKI				UNIVERZALNI			
	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$	$x$	$n$	$b \times 10^{-3}$	$k_A \times 10^{-3}$
4									0.456	0.5	- 2.12	4.66
5									0.189	0.8	- 4.03	21.74
6									0.190	0.8	- 8.32	45.42
7									0.177	0.8	- 13.16	74.34
8	0.991	0	- 10.13	10.24 (9.99)					0.261	0.7	- 27.99	107.07
9	0.529	0.5	- 18.18	34.78	- 0.059	1.0	0.35	5.11 (5.46)	0.426	0.6	- 55.99	131.90
10	0.404	0.6	- 24.61	61.01	- 0.049	1.0	1.62	26.45 (25.40)	0.526	0.5	- 89.29	167.49
11	0.081	1	- 10.93	160.39 (157)	- 0.143	1.0	12.60	88.04 (81.37)	0.454	0.5	- 162.94	359.73



uvrste u jednačinu 3.12. dobija se vrednost konstante brzine oksidacije L- askorbinske kiseline koja je jednaka  $9.99 \times 10^{-3}$  (vrednost data u zagradi u Tabeli 6.15.), a kada se nacrtaju grafici jednačine 3.12. dobija se prava (Slika 6.7.).



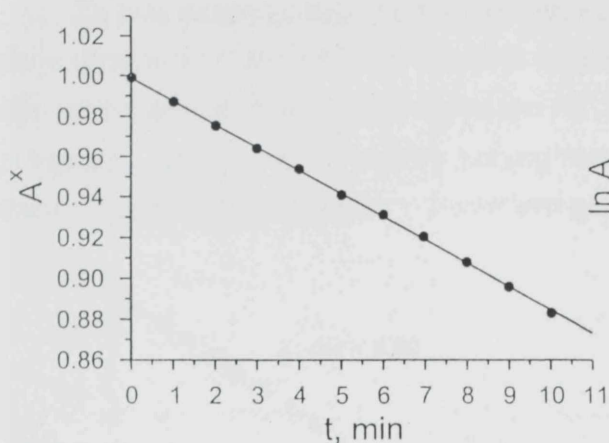
Slika 6.6.: Apsorpcioni spektri rastvora L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 8.00 (6' - razmak između dva uzastopna merenja)



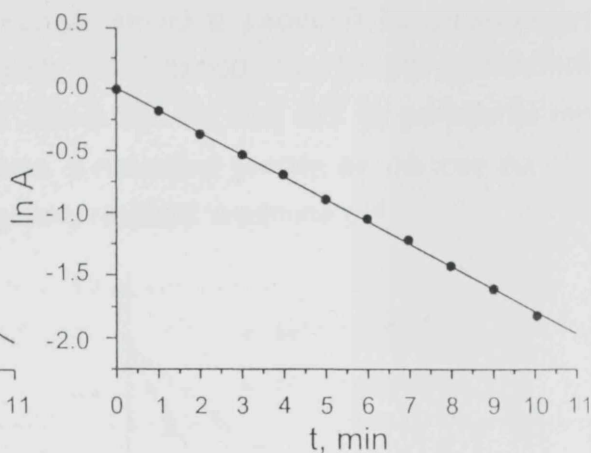
Slika 6.7.: Zavisnost apsorbancija (A) - vreme (t) oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 8.00

Vrednosti konstanti brzine izračunate pomoću jednačine 6.5. i 3.12. se slažu, odnosno obe pokazuju da je oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija nultog reda.

Za oksidaciju L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 11.00 je izračunato (jednačina 6.5.) da je srednja vrednost  $\bar{x} = 0.081$  odnosno da je reakcija približno prvog reda. Iz grafika zavisnosti  $A^x$  - vreme (Slika 6.8.) i  $\ln A$  - vreme (Slika 6.9.) se uočava da su obe zavisnosti linearne.



**Slika 6.8.:** Zavisnost  $A^x$  - vreme oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 11.00 ( $x = 0.068$ )



**Slika 6.9.:** Zavisnost  $\ln A$  - vreme oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu pH = 11.00

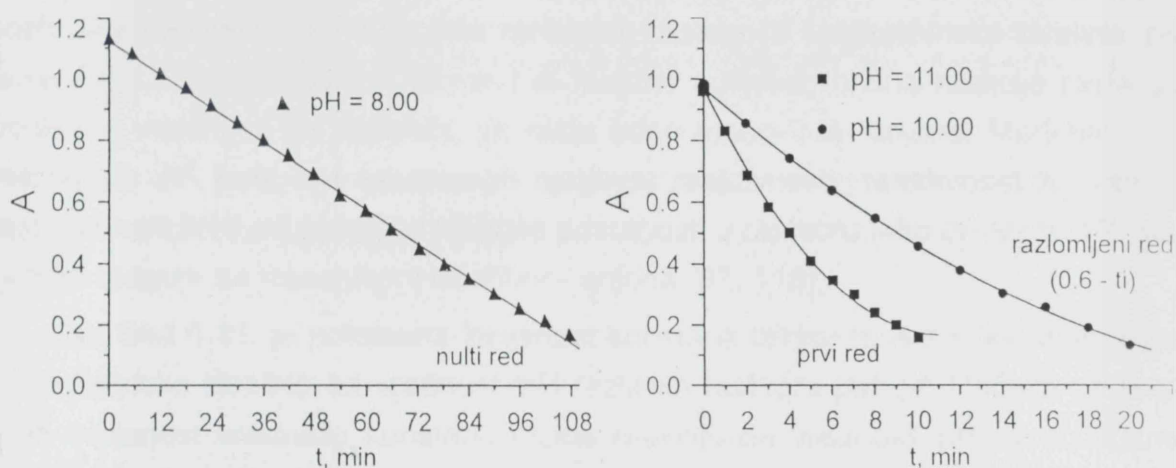
Grafik sa Slike 6.8. je nacrtan korišćenjem podataka preko jednačine 6.5. (uzorak 7, boratni pufer pH = 11.00, Tabela 6.12. data u Prilogu), a grafik sa Slike 6.9. zamenom eksperimentalnih podataka u kinetičku jednačinu reakcije prvog reda (jednačina 3.19.). Konstante brzine reakcije izračunate pomoću obe jednačine date su u Tabeli 6.15.. Dobijene vrednosti se slažu (konstanta brzine oksidacije L-askorbinske kiseline izračunata preko jednačine 6.5. za oko 2% veća od vrednosti izračunate preko jednačine 3.19.).

Na osnovu jednačine 6.5., izračunato je da je oksidacija L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu za sve vrednosti pH, reakcija približno prvog reda (Tabela 6.15.):

pH = 9.00	$\bar{x} = -0.059$
pH = 10.00	$\bar{x} = -0.049$
pH = 11.00	$\bar{x} = -0.143$

Na primeru oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu pH = 9.00 (uzorak 8 u Tabeli 6.13. datoj u Prilogu) su napred prikazani analitički postupak (Tabela 6.7.), grafički (Slika 6.2.) i direktan (poluvreme reakcije) iznalaženja reda reakcije i konstante brzine reakcije. Kada se te vrednosti uporede sa vrednostima dobijenim preko jednačine 6.5., uočava se slaganje vrednosti reda reakcije i konstante brzine reakcije izračunatih na različite načine (Tabela 6.15.).

Za sve druge puferne i vrednosti pH, kao što se vidi iz Tabele 6.15., izračunato je da je oksidacije L-askorbinske kiseline reakcija razlomljenog reda. Primer grafika reakcije razlomljenog reda (0.6) je prikazan na Slici 6.10.. Na istoj slici su poređenja radi, prikazani i grafici reakcije nultog i prvog reda, a navedeni primeri se odnose na oksidaciju L-askorbinske kiseline u boratnom puferu različitih vrednosti pH.



**Slika 6.10.:** Zavisnost apsorbancija – vreme u rastvoru L-askorbinske kiseline u boratnom puferu različitih vrednosti pH

Evidentna je prednost jednačine 6.5. nad kinetičkim jednačinama datim u poglavlju 3.1.1. - 3.1.4., jer se pomoću nje, korišćenjem odgovarajućeg kompjuterskog programa jednostavno izračunavaju vrednosti reda reakcije ( $n = 1 - x$ ), i konstante brzine reakcije ( $k_A$ , se izračuna deljenjem konstante b sa x). Nasuprot tome, kako je već prethodno opisano, klasičnim putem se konstanta brzine reakcije, a onda i red reakcije izračunavaju metodom provere to jest zamenom eksperimentalnih podataka u kinetičke jednačine od nultog do višeg i razlomljenog reda reakcije, pa ona jednačina kod koje uzračunate vrednosti konstante brzine reakcije ne odstupaju međusobno ukazuje na red ispitivane reakcije.

### 6.3. UTICAJ VREDNOSTI pH PUFERA NA BRZINU OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE

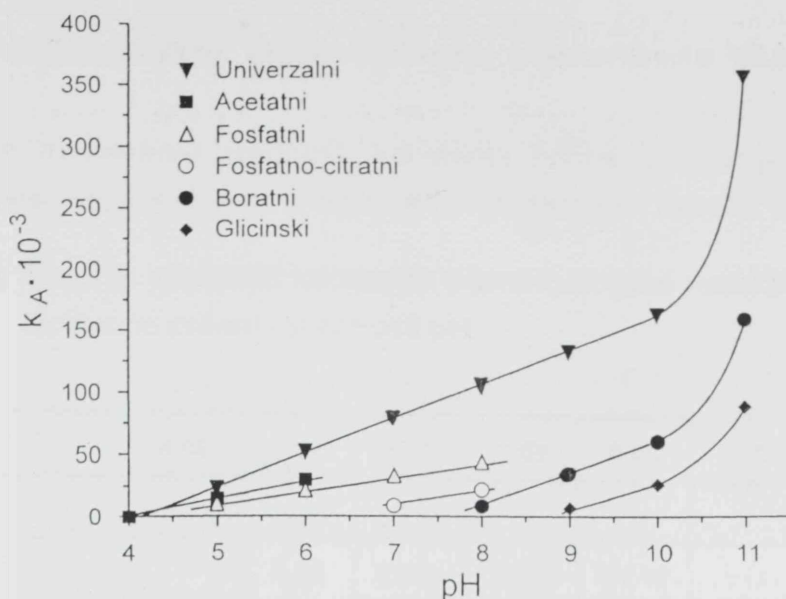
L-askorbinska kiselina se, kao dvobazna kiselina, u rastvoru nalazi u obliku  $H_2A$ ,  $HA^-$  ili  $A^{2-}$ , odnosno kao nedisisovani ili neutralni molekul, mono- i di- anjon. Koji oblik kiseline je prisutan ili preovlađuje zavisi od vrednosti pH rastvora [121, 127, 134, 146]. U kiselom području su prisutni  $H_2A$  i  $HA^-$  oblici. U baznom području sa porastom vrednosti pH rastvora, raste udeo  $A^{2-}$ : pri pH = 9 - 10 udeo  $A^{2-}$  je 1.57 %, kada je pH = 11 udeo  $A^{2-}$  je 86.21%, a pri pH = 12 - 13 je skoro sva L-askorbinska kiselina prisutna u obliku di - anjona [121]. Prisustvo različitih oblika L-askorbinske kiseline u rastvoru utiče na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline, pa je reakcija brža u prisustvu mono- i di- anjona odnosno brzina reakcije raste sa porastom vrednosti pH rastvora, jer raste udeo mono- i di- anjona. Međutim, porast udela  $A^{2-}$  jona nije srazmeran njegovoj reaktivnosti: reaktivnost  $A^{2-}$  oblika raste mnogo brže od procenta njegove prisutnosti u rastvoru tako di- anjon  $10^5$  puta brže reaguje sa kiseonikom od mono- anjona [97, 118].

Na Slici 6.11. je prikazana zavisnost konstanti brzine reakcije ( $k_A$ ) oksidacije L-askorbinske kiseline od vrednosti pH različitih rastvora pufera. Uočava se linearna zavisnost vrednosti konstanti brzina reakcije od vrednosti pH za korišćene pufere. Međutim, u boratnom, glicinskom i univerzalnom puferu se uočava da posle pH = 10.00 vrednost konstante brzine reakcije naglo raste i prestaje linearna zavisnost konstante brzine reakcije od vrednosti pH.

Linearna zavisnost konstante brzine reakcije,  $k_A$ , od vrednosti pH rastvora se može predstaviti jednačinom:

$$k_A = m \cdot pH + k_A^0 \quad 6.6.$$

u kojoj  $m$  i  $k_A^0$  predstavljaju nagib i odsečak prave na ordinati pri pH = 0 (Slika 6.11.). U Tabeli 6.16. su date njihove vrednosti za pojedine pufere. U jednačini 6.6., vrednost konstante  $m$  ( $m = dk_A / dpH$ ) predstavlja promenu konstante brzine reakcije,  $k_A$ , po jedinici vrednosti pH i ona je različita za razne pufere. Kao



Slika 6.11.: Zavisnost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline,  $k_A$ , od vrednosti pH u ispitivanim rastvorima pufera.

Tabela 6.16.: Vrednosti  $m$  i  $k_A^0$  za različite puferne

	$m \times 10^{-3}$	$k_A^0 \times 10^{-3}$	$r$
ACETATNI	13.74	- 53.92	0.9965
FOSFATNI	10.86	- 45.40	0.9962
FOSFATNO-CITRATNI	11.02	- 66.93	
BORATNI	25.38	- 193.10	0.9998
GLICINSKI	21.34	- 186.90	
UNIVERZALNI	27.52	- 113.60	0.9960

što se vidi iz Tabele 6.16., vrednosti nagiba  $m$  to jest koeficijenta pravca prave su najmanje u fosfatnom, fosfatno-citratnom (bliske vrednosti) i acetatnom puferu. Zatim slede veće vrednosti za glicinski, boratni i najveće za univerzalni pufer. Bliske vrednosti koeficijenta pravca prave u različitim puferima znače da je i promena konstante brzine reakcije sa pH u tim puferima slična. U univerzalnom puferu je ustanovljena najveća vrednost koeficijenta pravca prave, pa je u tom puferu

najveća promena konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline po jedinici vrednosti pH.

Kada se posmatraju vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline pri istoj vrednosti pH u ispitivanim puferima (Tabela 6.17.) može se

**Tabela 6.17.:** Srednje vrednosti konstante brzine hemijske reakcije ( $k_A \times 10^{-3}$ ) za ispitivane puferne i vrednosti pH.

	4.00	5.00	6.00	7.00	8.00	9.00	10.00	11.00
ACETATNI	1.72	13.47	29.21					
FOSFATNI		7.82	21.52	30.25	41.10			
FOSFATNO - CITRATNI			0.38*	10.27	21.23			
BORATNI					10.24	34.78	61.01	160.39
GLICINSKI						5.11	26.45	88.04
UNIVERZALNI	4.66	21.74	45.42	74.34	107.07	131.90	167.49	359.73

primetiti da se vrednosti signifikantno razlikuju, ali su one najveće u univerzalnom puferu. Međutim, interesantno je uočiti da su iste ili bliske vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline karakteristične za različite vrednosti pH u ispitivanim rastvorima pufera. U univerzalnom puferu je  $k_A = 4.66 \times 10^{-3}$  pri pH = 4.00, a tek je nešto veća vrednost konstante brzine reakcije ( $5.11 \times 10^{-3}$ ) u glicinskom puferu, ali pri pH = 9.00. U acetatnom puferu je  $k_A = 13.47 \times 10^{-3}$  pri pH = 5.00, a niže vrednosti konstante brzine reakcije ( $10.27 \times 10^{-3}$  i  $10.24 \times 10^{-3}$ ) su izračunate za više vrednosti pH u fosfatno-citratnom (pH = 7.00) i boratnom puferu (pH = 8.00). Vrednost konstante brzine reakcije u glicinskom puferu pri pH = 10.00 iznosi  $26.45 \times 10^{-3}$  i samo je nešto veća od vrednosti u univerzalnom puferu, pH = 5.00 ( $21.74 \times 10^{-3}$ ) odnosno fosfatnom, pH = 6.00 ( $21.52 \times 10^{-3}$ ) i fosfatno-citratnom, pH = 8.00 ( $21.23 \times 10^{-3}$ ).

Sve napred izneto očito ukazuje da uticaj pH nije jedini razlog što se vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline međusobno razlikuju u različitim puferima istih vrednosti pH.

#### 6.4. UTICAJ VRSTE ANJONA NA BRZINU OKSIDACIJE L - ASKORBINSKE KISELINE

Kako se iz Tabele 6.15., a posebno iz Tabele 6.17. vidi, u kiselj sredini je oksidacija L-askorbinske kiseline najsporija, a time je i konstanta brzine reakcije najmanja u fosfatno-citratnom puferu (ekstrapolirana vrednost je označena sa \*). Konstanta brzine oksidacije je znatno veća u fosfatnom, pa acetatnom, da bi najveća bila u univerzalnom puferu. U neutralnoj i baznoj sredini je konstanta brzine oksidacije L-askorbinske kiseline najmanja u glicinskom puferu čak pri pH = 9, da bi rasla u boratnom, pa fosfatno-citratnom, fosfatnom i bila najveća, opet u univerzalnom puferu. Različite brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u ispitivanim puferskim sistemima pri istom pH bi se mogle objasniti sledećim uticajima: uticajem vrste anjona prisutnih u puferskim sistemima, uticajem tragova metala u korišćenim hemikalijama, kao i kombinacijom ova dva uticaja.

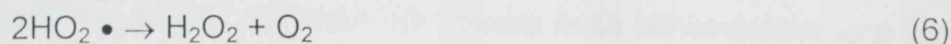
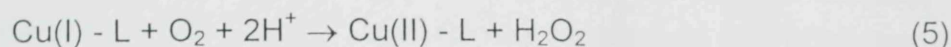
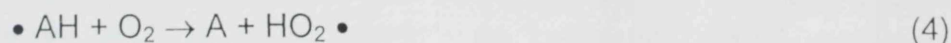
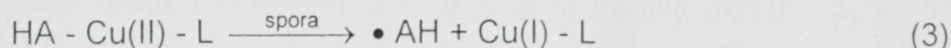
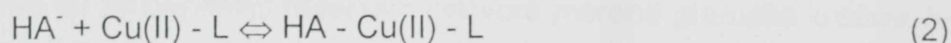
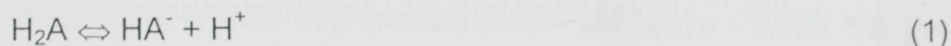
Oksidacija L-askorbinske kiseline u demineralizovanoj vodi je i u prisustvu kiseonika vrlo spora, ali čak i tragovi jona metala (naročito bakra i gvožđa) prisutni u rastvoru katališu oksidaciju L-askorbinske kiseline ubrzavajući reakciju. Uticaj različitih jona metala na oksidaciju L-askorbinske kiseline su ispitivali brojni autori [97, 101, 112-116, 127-130, 147], no najviše je ispitivan uticaj jona bakra i to pretežno u kiselj sredini [96, 137, 138]. Utvrđeno je da brzina oksidacije L-askorbinske kiseline raste sa porastom koncentracije jona bakra i da je bakar katalizator oksidacije L-askorbinske kiseline prema sledećoj reakciji [103]:



u kojoj se pretpostavlja nastajanje slobodnog radikala  $\bullet AH$  čije je postojanje dokazano [148 -155]. Prema gornjoj reakciji, bakar gradi kompleks sa mono-anjonom L-askorbinske kiseline. Međutim, ako je u rastvoru prisutan anjon koji takođe može da gradi kompleks sa jonom bakra, tada se oksidacija L-askorbinske kiseline katalizirane jonom bakra usporava [52, 120, 122, 140]. Interakcija *mono-anjon L-askorbinske kiseline - jon metala - anjon pufera* su različiti autori tumačili

brojnim shemama [127, 128, 155, 156] od kojih je najobuhvatnija i verovatno najrealnija shema Sahbaz-a i Somer-a [120]:

Shema I

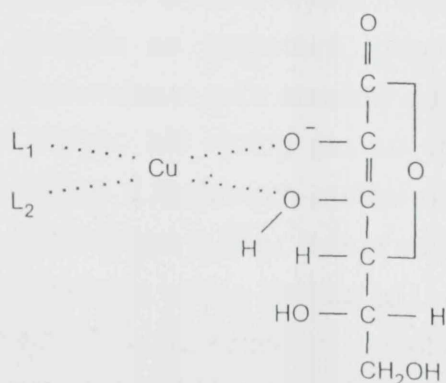


gde L označava anjon pufera.

Po ovom mehanizmu se gradi prelazni kompleks između mono-anjona ( $\text{HA}^-$ ) i kompleksa  $\text{Cu(II)}$  - anjon pufera (2). U sledećem koraku (3), koji određuje brzinu reakcije, prelazni kompleks disocira na  $\text{Cu(I)}$  - anjon pufera i radikal mono-dehidroaskorbinske kiseline ( $\bullet \text{AH}$ ). Dalje sledi oksidacija  $\bullet \text{AH}$  radikala (4) i kompleksa metala niže valentnog stanja (5) molekulskim kiseonikom, pa nastaju vodonik-peroksid (5 i 6) i dehidroaskorbinska kiselina (A) (4).

Kompleks *mono-anjon askorbinske kiseline – jon metala - anjon pufera* (reakcija 2 u shemi I) može da se prikaže shemom II [119].

Shema II



gde  $\text{L}_1$  i  $\text{L}_2$  predstavljaju anjone koji mogu biti isti ili različiti.

Treba naglasiti da su različiti autori efekat jona metala na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline ispitivali u različitim puferima, ali nikada nisu koristili više od



jednog puferuskog sistema i da su uglavnom radili u kiseloj, a ređe u slabo baznoj sredini.

Prema specifikaciji proizvođača, u ovom radu korišćena L-askorbinska kiselina i hemikalije sadrže maksimalno 0.000 5% bakra i 0.000 5% gvožđa. S obzirom da su za pripremu puferuskih rastvora merene gramske količine hemikalija i da je koncentracija L-askorbinske kiseline u njima bila oko  $(8 - 9) \times 10^{-5}$  mol/l, to se koncentracija jona bakra odnosno jona gvožđa (oko  $10^{-7}$  mol/l) u rastvorima pufera može se smatrati konstantnom i ne može biti razlog različitim vrednostima konstanti brzina oksidacije L-askorbinske kiseline pri istoj vrednosti pH rastvora u ispitivanim puferima. Međutim, da i ovako mala koncentracija jona metala utiče na konstantu brzine reakcije prikazano je u našem prethodnom radu [119]. Naime, posle dodatka EDTA u rastvor, vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu pH = 6 se smanjila petnaest puta, a u fosfatnom puferu pH = 8 osamnaest puta.

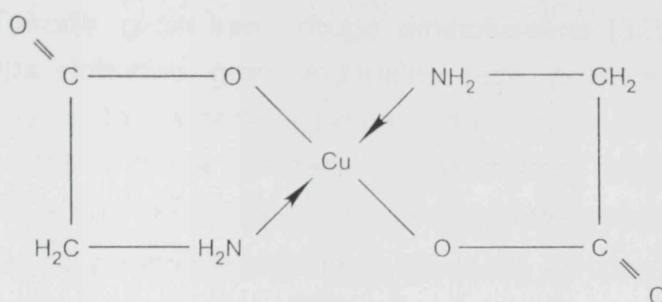
Razmotrimo uticaj vrste anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline i da li moć anjona da gradi kompleks sa jonima bakra i gvožđa može da objasni različite vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline pri istoj vrednosti pH? Konstante stabilnosti kompleksa acetatnog jona i primarnog fosfatnog jona, koji preovlađuje u kiseloj sredini, sa jonima bakra su male i identične (Tabela 6.18). Znači, kompleksi jona bakra sa pomenutim anjonima teško da mogu da utiču na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline koje su pri pH = 5 i 6 različite. Kompleksi jona gvožđa sa acetatnim, odnosno primarnim fosfatnim jonom su pedeset odnosno osamdeset puta stabilniji od odgovarajućih kompleksa sa jonom bakra, pa bi to mogao biti razlog što su vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu niže od konstanti u acetatnom puferu. Međutim, u univerzalnom puferu, koji je smeša acetatnog, fosfatnog i boratnog anjona vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline je pri istim vrednostima pH veća od vrednosti konstanti u acetatnom i fosfatnom puferu i približno je jednaka njihovom zbiru. U literaturi nisu pronađeni podaci da boratni jon gradi komplekse sa jonima metala. Osim toga, pri pH = 8 vrednost konstanta brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu je četiri puta manja od konstante brzine u fosfatnom puferu i deset puta manja od iste konstante u univerzalnom puferu. Dalje, limunska kiselina je poznati stabilizator oksidacije

**Tabela 6.18.:** Konstante stabilnosti kompleksa anjona prisutnih u ispitivanim puferima sa jonima bakra i gvožđa [157, 158].

Kompleksni jon	Konstanta stabilnosti
$\text{CuOAc}^+$	$K = 5.01 \times 10^1$
$\text{FeOAc}^{+2}$	$K = 2.40 \times 10^3$
$\text{CuH}_2\text{PO}_4^+$	$K = 5.01 \times 10^1$
$\text{CuHPO}_4$	$K = 1.99 \times 10^3$
$\text{FeH}_2\text{PO}_4^{+2}$	$K = 4.07 \times 10^3$
$\text{FeHPO}_4^+$	$K = 1.35 \times 10^8$
$\text{CuCit}^-$	$K = 1.62 \times 10^{14}$
$\text{FeCit}$	$K = 7.08 \times 10^{11}$
$\text{CuGly}_2^+$	$K = 1.05 \times 10^8$
$\text{FeGly}^{+2}$	$K = 1.00 \times 10^{10}$

L-askorbinske kiseline [52, 118 – 120]. Prilikom ispitivanja toka oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu pri pH = 6, za 200 minuta se vrednost apsorbancije rastvora smanjila svega za 0.07 (Tabela 6.3) tako da pri ovom pH konstanta brzine oksidacije L-askorbinske kiseline nije izračunata, te je u Tabela 6.15. i 6.17. prikazana ekstrapolirana vrednost na pH = 6. Iz Tabele 6.18. se vidi da limunska kiselina gradi izuzetno stabilne komplekse sa jonima bakra i gvožđa, pa ako se posmatra samo fosfatno-citratni pufer moglo bi se zaključiti da se limunska kiselina ponaša slično kao EDTA [119] i čvrsto vezuje u komplekse u rastvoru prisutne jone metala i tako smanjuje njihovu katalitičku aktivnost. Osim toga, vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline su u fosfatno-citratnom puferu znatno niže od odgovarajućih vrednosti konstanti u fosfatnom puferu. S druge strane pak, pri pH = 8 je vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu dva puta veća od vrednosti konstante brzine u boratnom puferu.

U baznoj sredini pri pH = 9 i više vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu su znatno niže od odgovarajućih vrednosti konstanti u boratnom, a naročito u univerzalnom puferu. Vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu pH = 9 je približno jednaka vrednosti konstanti brzine u univerzalnom puferu pri pH = 4. Poznato je da aminokiseline, pa i glicin, sa jonima metala grade stabilne komplekse (Tabela 6.18.). Glicin, u baznoj sredini u kojoj amino grupa nije protonovana, sa jonima bakra gradi helat sledećeg tipa [159]:



Sudeći po konstanti stabilnosti prikazanoj u Tabeli 6.18. joni gvožđa, verovatno na sličan način, grade sa glicinom stabilnije helate od jona bakra. Prema tome, niske vrednosti konstante brzine oksidacije u glicinskom puferu pri pH = 9 i 10 se mogu objasniti gradnjom helata sa jonima metala u rastvoru, što smanjuje njihovu katalitičku aktivnost, a time i usporava oksidaciju L-askorbinske kiseline.

Kada se rezimira sve napred izneto, može se zaključiti:

- s obzirom na male vrednosti konstante stabilnosti, acetatni i fosfatni joni verovatno ne grade komplekse sa jonima metala u rastvoru i time utiču na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline,
- sličan je slučaj i sa boratnim jonima koji ne grade komplekse sa jonima metala, pa njihova katalitička aktivnost u boratnom puferu nije umanjena,
- u univerzalnom puferu su prisutna sva tri pomenuta jona, pa tu tek ne može biti reči o uticaju nagrađenog kompleksa na oksidaciju L-askorbinske kiseline, jer je brzina oksidacije L-askorbinske kiseline najveća u ovom puferu pri svim ispitivanim vrednostima pH
- oksidaciju L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom i glicinskom puferu usporava građenje kompleksa između anjona pufera i jona metala. Međutim, kako

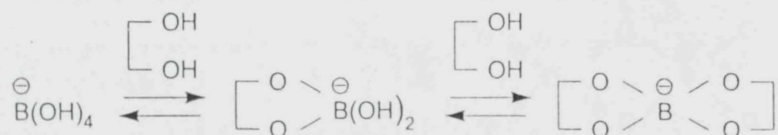
objasniti da je vrednost konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu pri pH = 8 dva puta veća od one u boratnom puferu istog pH?

Fosfatni jon reaguje sa kiselim hidroksilnim grupama L-askorbinske kiseline gradeći estre [61] što može da objasni niže vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu od onih u acetatnom pri istim vrednostima pH. Seib [64] navodi, kako je već citirano u Opštem delu, da je askorbat-2-fosfat deset do dvadeset puta otporniji na delovanje kiseonika nego L-askorbinska kiselina. Takođe, glicin kao i druge aminokiseline [52], u baznoj sredini, gde je amino grupa slobodna, gradi vodonične veze, preko slobodnog elektronskog para na atomu azota, sa nedisociranom hidroksilnom grupom L-askorbinske kiseline i tako dodatno inhibira oksidaciju L-askorbinske kiseline zbog čega su vrednosti konstante brzine oksidacije u glicinskom puferu izuzetno niske.

Međutim, kako objasniti činjenicu da su vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu u baznoj sredini niže od odgovarajućih vrednosti konstanti brzine u fosfatnom, fosfatno-citratnom i univerzalnom puferu? Bor, čija je elektronska konfiguracija  $1s^2 2s^2 2p$ , ima tri valentna elektrona i gradi planarne trikovalentne derivate koji su elektron deficijentni i koji, kao Lewis-ove kiseline, primaju dva elektrona od baza pri čemu kompletiraju spoljni elektronski omotač atoma bora dajući tetrahedralne adukte. Zbog toga borna kiselina u vodenim rastvorima ne jonizuje direktnom deprotonacijom već podleže prvo hidrataciji, a potom jonizaciji dajući simetrični boratni anjon:



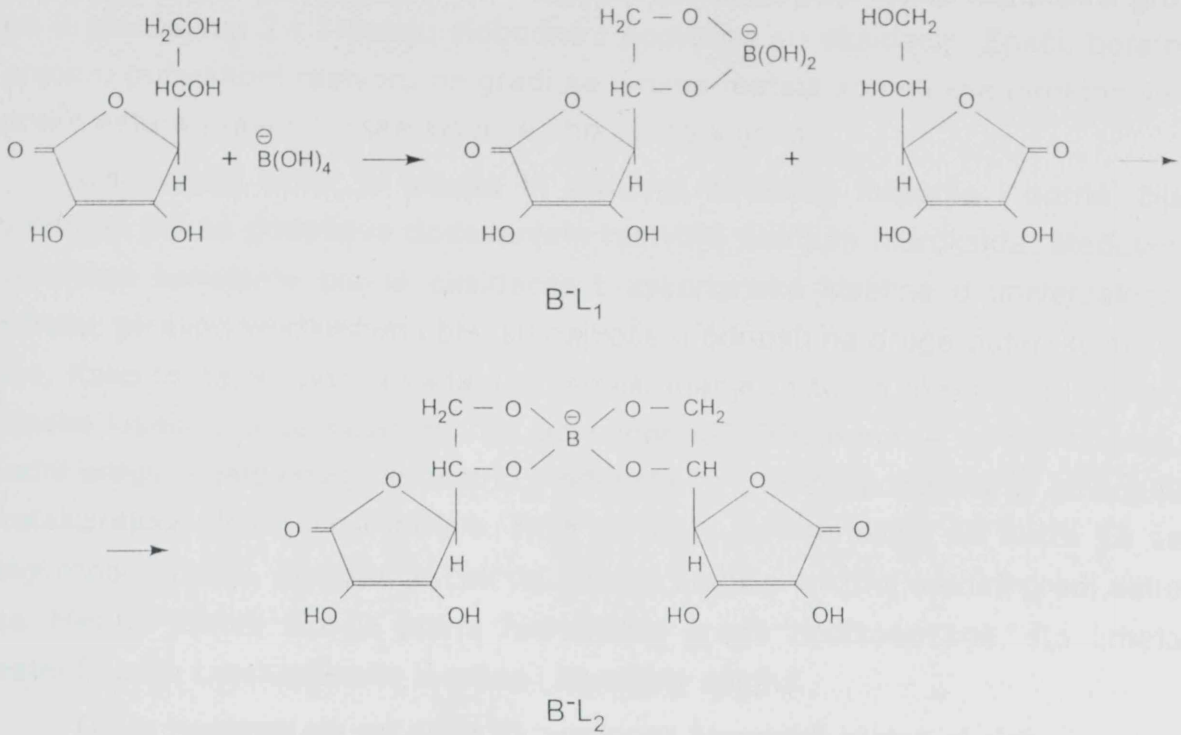
Boratni anjoni u vodenom, alkalnom rastvoru grade mono- i di-estre sa diolnim funkcijama polihidroksilnih organskih kiselina [160] na sledeći način:



Ovako nastali estri koordinativno vezuju jone metala iz rastvora [161].

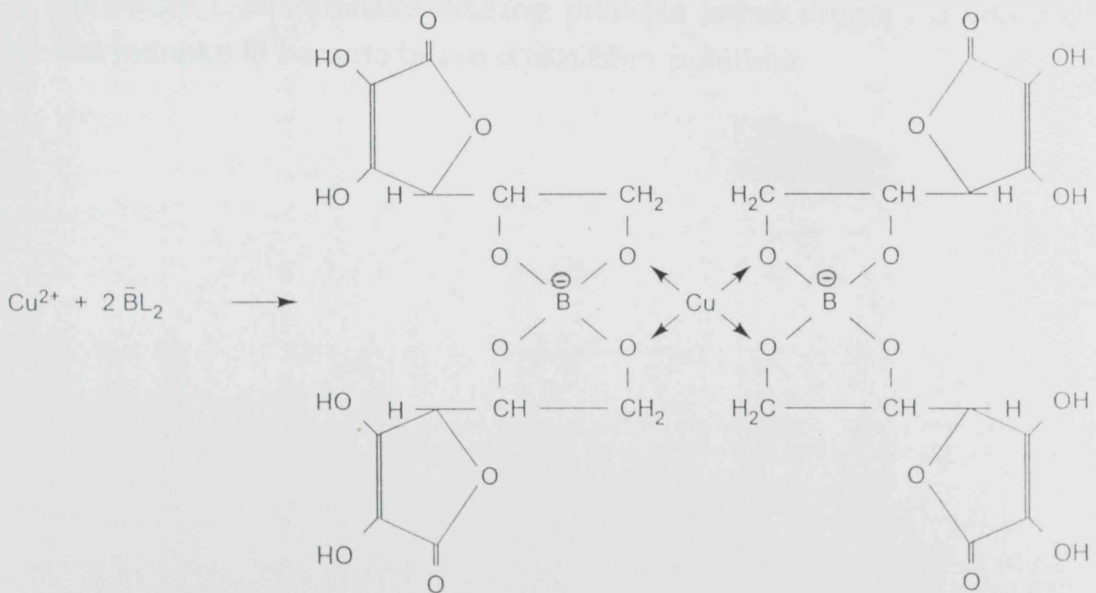
Shodno prethodnom objašnjenju, L-askorbinska kiselina može da gradi estre sa boratnim anjonom preko hidroksilnih grupa na petom i šestom ugljenikovom atomu:

Shema III



Dalje, nagrađeni ester L-askorbinske kiseline i boratnog anjona može da gradi koordinaciono jedinjenje sa jonima bakra, čiji je koordinacioni broj 4, na sledeći način:

Shema IV



Jon gvožđa, čiji je koordinacioni broj 6, verovatno koordinativno vezuje tri  $B\bar{L}_2$  anjona. U pomenutim koordinacionim jedinjenjima kisele hidrosilne grupe u položajima 2 i 3 ostaju slobodne i podložne su oksidaciji. Znači, boratni anjon u puferском rastvoru ne gradi sa jonima metala komplekse direktno već preko estara L-askorbinske kiseline i boratnog anjona.

Univerzalni pufer je smeša tri kiseline, sirćetne, fosforne i borne, čija vrednost pH se podešava dodavanjem rastvora natrijum hidroksida. Međutim, vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu, pri svim vrednostima pH, su najveće u odnosu na druge puferske sisteme. Kako to da isti anjoni kada su u smeši manje utiču na oksidaciju L-askorbinske kiseline nego svaki od njih pojedinačno? Očigledno je da oni ometaju jedni druge u delovanju, verovatno međusobnim interakcijama, pa ne smanjuju katalizirajući efekat jona metala. Koje su vrste te interakcije ne može se sa sigurnošću tvrditi. Moguće je čak da boratni anjon u baznoj sredini gradi estre sa  $HPO_4^{2-}$  jonom čija je jedna hidrosilna grupa nedisosovana, što ometa esterifikaciju L-askorbinske kiseline i boratnog anjona.

Treba naglasiti da pri pH = 11 vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom, boratnom i univerzalnom puferu naglo rastu (Slika 6.10.), jer u rastvoru preovlađuje  $A^{2-}$  anjon, koji je podložniji oksidaciji od mono - anjona. Verovatno je da bi se sa porastom pH, vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline približile jedna drugoj i u vrlo baznoj sredini bile jednake ili bar vrlo bliske u različitim puferima.

## 7. ZAKLJUČCI

↳ Brzina oksidacije L-askorbinske kiseline je ispitivana spektrofotometrijski. Snimani su UV apsorpcioni spektri termostatiranih rastvora L-askorbinske kiseline u puferima raznih vrednosti pH. Da bi se linearizovala funkcija zavisnosti apsorbancije puferskog rastvora L-askorbinske kiseline od vremena izveden je jednostavan oblik kinetičke jednačine reakcije višeg i razlomljenog reda. Dobijena je univerzalna jednačina koja obuhvata jednačine reakcije nultog, prvog, drugog, trećeg i razlomljenog reda. Prednost ove jednačine nad kinetičkim jednačinama je što se pomoću nje, korišćenjem kompjuterskog programa, jednostavno izračunavaju vrednosti reda reakcije i konstante brzine reakcije.

↳ Izračunate vrednosti reda reakcije variraju sa promenom vrednosti pH unutar jednog puferskog sistema. Za oksidaciju L-askorbinske kiseline u fosfatnom, fosfatno-citratnom i univerzalnom puferu su izračunati razlomljeni redovi reakcije (0.5 - 0.9). U boratnom puferu je oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija nultog, razlomljenog (0.5 i 0.6) i prvog reda. Izuzetak je glicinski pufer u kojem je za sve vrednosti pH oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija prvog reda.

↳ Veza između vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i vrednosti pH ispitivanih pufera je linearna do vrednosti pH = 10.00 i opisana je jednačinom (6.6.):  $k_A = m \cdot \text{pH} + k_A^0$ . Vrednosti koeficijenta pravca prave su različite za ispitivane puferne, ali su one bliske za acetatni, fosfatni i fosfatno-citratni pufer, odnosno za boratni, glicinski i univerzalni pufer. Bliske vrednosti koeficijenta pravca prave u različitim puferskim sistemima znače da je promena konstante

brzine oksidacije L-askorbinske kiseline sa pH u tim puferima slična, iako se vrednosti konstanti brzine oksidacije značajno razlikuju za određenu vrednost pH. Uočljivo je da se vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline za razne pufere pri istim vrednostima pH razlikuju i one su najveće u univerzalnom puferu pri svim vrednostima pH.

↳ Limunska kiselina gradi izuzetno stabilne komplekse sa jonima bakra i gvožđa koji su prisutni u rastvoru. Na taj način je smanjena katalitička aktivnost jona metala, pa su i vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu male i znatno su niže od odgovarajućih vrednosti konstanti u fosfatnom puferu. Fosfatni joni reaguju sa kiselim hidroksilnim grupama L-askorbinske kiseline gradeći estre čime se mogu objasniti nešto niže vrednosti konstanti brzine oksidacije u fosfatnom nego u acetatnom puferu pri istim vrednostima pH.

↳ Vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu, u baznoj sredini, su niže od odgovarajućih vrednosti konstanti u fosfatno-citratnom, fosfatnom i univerzalnom puferu. Za objašnjenje niskih vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline su pretpostavljene dve sheme: u prvom stupnju L-askorbinska kiselina gradi estre sa boratnim anjonom preko hidroksilnih grupa na atomima C<sub>5</sub> i C<sub>6</sub> (Shema III), a u sledećem koraku nastali ester L-askorbinske kiseline i boratnog anjona gradi sa jonima bakra i gvožđa koordinaciono jedinjenje (Shema IV). Prema tome, u boratnom puferu su vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline niske, jer boratni anjon gradi komplekse sa jonima metala, ali ne direktno nego preko estara L-askorbinske kiseline i boratnog anjona.

↳ Vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu pri visokim vrednostima pH su najniže u odnosu na druge pufere iste vrednosti pH. Ovo je posledica građenje kompleksa između jona bakra i gvožđa sa glicinatnim anjonom. Stvoreni kompleks nema katalizirajući efekat, pa je brzina oksidacije L-askorbinske kiseline usporena. Brzina oksidacije L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu je još dodatno usporena građenjem vodonične veze preko



slobodnog elektronskog para na atomu azota amino grupe glicina sa nedisociranim hidroksilnom grupom L-askorbinske kiseline.

↳ Vrednosti konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu, u kome su prisutni acetatni, fosfatni i boratni anjoni su u odnosu na druge ispitivane puferske sisteme najveće, pri svim vrednostima pH. Uočljivo je da je vrednost konstante brzine oksidacije u univerzalnom puferu veća od zbira vrednosti konstanti brzina reakcija pojedinačnih anjona pri istoj vrednosti pH. To znači da prisutni anjoni različito utiču na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline kada su u smeši u odnosu na njihovo pojedinačno delovanje, tj. isti anjoni manje utiču na oksidaciju L-askorbinske kiseline kada su u smeši nego svaki od njih pojedinačno. Očigledno je da jedni druge ometaju u delovanju verovatno međusobnim interakcijama, ali je teško zaključiti o prirodi interakcija. Pretpostavka je da smeša anjona prisutna u univerzalnom puferu, zbog međusobne konkurencije, ne ometa katalizirajući efekat jona metala. Kao posledica međusobne konkurencije anjona, brzina oksidacije L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu je brža nego u puferu iste vrednosti pH u kome je prisutan pojedinačni anjon (acetatni, fosfatni ili boratni).

↳ U boratnom, glicinskom i univerzalnom puferu pri  $\text{pH} = 11.00$  preovlađuje  $\text{A}^{2-}$  anjon koji ne gradi komplekse ni sa jonima metala ni sa anjonima iz pufera. U takvim uslovima vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline naglo rastu u odnosu na one pri nižim vrednostima pH.

## 7. CONCLUSIONS

↳ The L-ascorbic acid oxidation rate has been studied spectrophotometrically. The UV absorption spectra of thermostated solutions of L-ascorbic acid in buffers with different pH values have been recorded. In order to linearize the dependence function of the absorbance of L-ascorbic acid buffer solution on time a simple form of kinetic equation of higher and fractional order reaction has been derived. A universal equation has been obtained which comprises reaction equations of zero, first, second, third and fractional order. The advantage of this equation over kinetic equations is that it provides a mode, by using computer programmes, for a simple calculation of reaction order values and reaction rate constant.

↳ The calculated reaction order values vary with the change of pH values within each buffer system. The fractional reaction orders (0.5 - 0.9) have been calculated for L-ascorbic acid oxidation in phosphate, phosphate-citrate and universal buffers. In the borate buffer the L-ascorbic acid oxidation is the reaction of zero, fractional (0.5 and 0.6) and first order. The exception is the glycine buffer in which for all pH values the L-ascorbic acid oxidation is the reaction of first order.

↳ The relation between the values of L-ascorbic acid oxidation rate constants and pH value of the studied buffers is linear up to pH value =10.00 and has been expressed in the equation (6.6):  $k_A = m \cdot \text{pH} + k_A^0$ . The straight line slopes are different for the studied buffers but they are near for the acetate, phosphate and phosphate-citrate buffers and the borate, glycine and universal buffers respectively. The near straight line slopes values in different buffer systems indicate that the

change of the L-ascorbic acid oxidation rate constant is similar to pH value of these buffers, although the values of oxidation rate constants differ significantly. It is apparent that the values of L-ascorbic acid oxidation rate constant for different buffers at the same pH values are significantly different, but the value of L-ascorbic acid oxidation rate constant is the highest in the universal buffer at all pH values.

↳ The citric acid forms exceptionally stable complexes with copper and iron ions present in the solution. In that way the catalytic activity of metal ions are diminished and so the values of L-ascorbic acid oxidation rate constant in the phosphate-citrate buffer are considerably lower than the corresponding constant values in the phosphate buffer. The phosphate ions react with acid hydroxyl groups of L-ascorbic acid forming esters thus providing an explanation for somewhat lower values of the oxidation rate constants in the phosphate than in acetate buffer at the same pH value.

↳ The values of L-ascorbic acid oxidation rate constant in borate buffer, in basic medium, are lower than the corresponding constant value in phosphate-citrate, phosphate and universal buffer. In order to explain the lower values of L-ascorbic acid oxidation rate constants two schemes have been assumed: in the first stage the L-ascorbic acid forms esters with borate anion through hydroxyl groups on atoms C<sub>5</sub> and C<sub>6</sub> (scheme III) and in the subsequent stage the formed ester of L-ascorbic acid and borate anion forms a coordinative compound with copper and iron ions (scheme IV). Therefore in borate buffer the values of L-ascorbic acid oxidation rate constants are low because the borate anion forms complexes with metal ions, though not directly but through the esters of L-ascorbic acid and borate anion.

↳ The value of L-ascorbic acid oxidation rate constants in glycine buffer at high pH value are the lowest in comparison with other buffers of the same pH value. This is the result of formation of complexes between copper and iron ions and glycine anion. The formed complex does not have a catalyzing effect so the L-ascorbic acid oxidation rate is slowed down. The L-ascorbic acid oxidation rate in the glycine buffer is additionally slowed down by forming a hydrogen bond through

free electron pair on nitrogen atom of glycin amino group with undissociated hydroxyl group of L-ascorbic acid.

↳ The values of L-ascorbic acid oxidation rate constants in the universal buffer in which acetate, phosphate and borate anions are present are the highest in relation to other studied buffer systems, at all pH values. It is noticeable that the value of oxidation rate constant in universal buffer is higher than the sum of the values of reaction rate constants of single anions at the same pH value. It indicates that the present anions differently affect the L-ascorbic acid oxidation rate when they are in mixture in comparison with their single activity i. e. the same anions affect the L-ascorbic acid oxidation rate less when they form a mixture than a single anion. It is obvious that they are blocked in their activity probably due to their mutual interactions, but it is difficult to determine the nature of such interactions. The assumption is that the anion mixture present in the universal buffer, due to mutual competition does not hinder the catalyzing effect of metal ions. As the result of mutual competition of anions the L-ascorbic acid oxidation rate in the universal buffer is greater than in a buffer of the same pH value in which a single anion (acetate, phosphate or borate) is present.

↳ In the borate, glycine and universal buffers at pH = 11.00 the predominant anion is  $A^{2-}$  anion which does not form complexes either with metal ions or buffer anions. Under such conditions the values of L-ascorbic acid oxidation rate constant drastically increase in relation to those at lower pH values.

## 8. LITERATURA

1. B. Nikolić, "Biohemija", IV izdanje Naučna knjiga, Beograd, str. 312 (1968).
2. P. Karlson, "Biokemija", Školska knjiga, Zagreb, str. 287 (1988).
3. D.W. Martin, P.A. Mayes, V.W. Rodwell, D.K. Granmer, "Harperov pregled biohemije", III izdanje, Savremena administracija, Beograd, str. 767 (1992).
4. Đ. Protić, "Ishranom produžite mladost", Dečje novine, str. 54 (1991).
5. V. Kunc, "Enciklopedijski hemijski priručnik", Izdavačko preduzeće "Bratstvo jedinstvo", str. 382 (1953).
6. Holst, T. Fröhlich, J. Hyg. (Brit.), 7, 619, 634 (1907).
7. S. S. Zilva, Biochem. J., 22, 689 (1927).
8. Szent-György, Biochem. J., 22, 1387 (1928).
9. D. P. Grettie, C. G. King, J. Biol. Chem., 84, 771 (1929).
10. H. L. Sipple, C. G. King, J. Am. Chem. Soc., 52, 420 (1930).
11. R. B. Mc Kinnis, C. G. King, J. Biol. Chem., 87, 615 (1930).
12. J. L. Svirbely, C. G. King, J. Biol. Chem., 94, 483 (1931).
13. F. L. Smith, C. G. King, J. Biol. Chem., 94, 490 (1931).
14. W. A. Waugh, C. G. King, J. Biol. Chem., 97, 325 (1932).
15. G. King, W. A. Waugh, Science, 75, 357 (1932).
16. W. A. Waugh, C. G. King, Science, 76, 630 (1932).
17. J. L. Svirbely, A. Szent-György, Nature, 129, 576 (1932).

18. J. L. Svirebely, A. Szent-György, *Nature*, 129, 690 (1932).
19. G. J. Cox, *Science*, 86, 540 (1937).
20. F. J. Stare, I. M. Stare, *J. Nutr.*, 118, 1272 (1988).
21. T. H. Jukes, *J. Nutr.*, 118, 1290 (1988).
22. K. J. Carpenter, *J. Nutr.*, 118, 1422 (1988).
23. T. Reichstein, A. Grüssner, R. Oppenauer, *Helv. Chim. Acta*, 16, 1019 (1933).
24. T. Reichstein, A. Grüssner, R. Oppenauer, *Nature*, 132, 280 (1933).
25. R.G. Ault, D.K. Baird, H.C. Carrington, W. N. Haworth, R. W. Herbert, E. L. Hirst, E. G. V. Percival, F. Smith, M. Stacey, *J. Chem. Soc.*, 43, 1419 (1933).
26. W. N. Haworth, E. L. Hirst, R. W. Herbert, E. G. V. Percival, R. J. W. Reynolds, F. Smith, *J. Soc. Chem. Ind.*, 52, 221 (1933).
27. P. Karrer, K. Schoepp, F. Zehnder, *Helv. Chim. Acta*, 16, 1161 (1933).
28. F. Michael, K. Kraft, *Z. Physiol. Chem.*, 222, 235 (1933).
29. E. von Euler, E. Klusmann, *Arkiv. Kemi, Mineral. Geol.*, 7 (1933).
30. J. Hvoslof "Crystallography of the Ascorbates" u "Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses", uredili P. A. Seib i B. M. Tolbert, *Advances in Chemistry Series 200*, American Chemical Society, Washington D.C., str. 37 (1982).
31. T.W. Birch, L. J. Harris, *Biochem. J.*, 27, 595 (1933).
32. E. S. Guzman - Barron, R. H. De Meio, F. Klemperer, *J. Biol. Chem.*, 112, 625 (1936).
33. H. Borsook, H. W. Davenport, C. E. P. Jefreys, R. C. Warner, *J. Biol. Chem.*, 117, 237 (1937).
34. H. Sapper, S. O. Kang, H. H. Paul, W. Lohmann, 1982 b , *Z. Naturforsch. C: Biosci.* 37 C:942.
35. D. Georgescu, *J. Chim. Phys.*, 29, 217 (1932).
36. J. S. Fruton, *J. Biol. Chem.*, 105, 79 (1934).
37. R. Wurmser, I. A. De Loureiro, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 113, 543 (1933).
38. R. Wurmser, I. A. De Loureiro, *J. Chem. Phys.*, 31, 419 (1934).
39. R. Wurmser, I. A. De Loureiro, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 118, 738 (1934).
40. C. Ghosh, T. L. Rama-Char, *Hoppe Seylers, Z. Physiol. Chem.*, 246, 115 (1937).
41. P. Karrer, G. Schwarzenbach, K. Schöpp, *Helv. Chim. Acta*, 16, 302 (1933).

42. P. Karrer, G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta*, 17, 58 (1934).
43. M. N. Bezssonoff, M. Woloszyn, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 20, 93 (1938).
44. M. N. Bezssonoff, M. Woloszyn, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 21, 319 (1939).
45. M. N. Bezssonoff, M. Woloszyn, *Nature*, 144, 289 (1939).
46. Z. Vavrin, *Coll. Czechoslov. Chem. Communs.*, 14, 367 (1949).
47. M. H. Kern, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1011 (1954).
48. G. P. Laroff, R. W. Fessenden, R. H. Schuler, *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 9062 (1972).
49. Mai H. Bui-Nguyén, "Ascorbic Acid and Related Compounds" u "Modern Chromatographic Analysis of the Vitamins", *prirédili A. P. De Leenheer, W. E. Lambert i M. G. M. De Ruyter*, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, str. 268 (1985).
50. Pfeilsticker, F. Marx, M. Bochish, *Carbohydr. Res.*, 45, 269 (1973).
51. R. Strohecker, F. Matt, *Z. Anal. Chem.*, 133, 342 (1951).
52. Ming-Long Liao, P. A. Seib, *Food Technology*, 104, Nov. (1987).
53. E. Cameron, L. Pauling, B. Leibovitz, *Cancer. Res.*, 39, 663 (1979).
54. C.W. M. Wilson, *Acta. Vitaminol. Enzymol.*, 2 (3,4), 120 (1980).
55. L Pauling, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, 67, 1643 (1970).
56. P I. Reed, K. Summers, P. L. R. Smith, C. L. Walters, B. A. Bartholomew, M. J. Hill, *Gut* 24 (5), A 492, A 493 (1983).
57. J. C. Bauernfeind "Ascorbic Acid Technology in Agricultural Pharmaceutical, Food and Industrial Applications" u "Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses", *uredili P. A. Seib i B. M. Tolbert*, *Advances in Chemistry Series 200*, American Chemical Society, Washington D.C. str. 397 (1982).
58. A. H. Johnson, M. S. Peterson, *Encyclopedia of Food Technology*, Vol. 2, The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, str. 350 (1974).
59. J. C. Bauernfeind, *Adv. Food Res.*, 359, 4 (1953).
60. J. C. Bauernfeind, D. M. Pinkert, *Adv. Food Res.*, 219, 18 (1970).
61. Cutolo, A. Lorizza, *Gazz. Chim. Ital.*, 964, 91 (1961).
62. C. H. Lee, P. Seib, R. C. Hosney, Y. T. Liang, C. W. Deyoe, *Cereal. Chem.*, 456, 20 (1975).
63. J. Jernow, J. Blount, E. Oliveto, A. Perrota, P. Rosen, V. Toome, *Tetrahedron*, 1483, 36 (1979).

64. P. A. Seib, *Int. J. Vit. Nutr. Res. Supplement* 27: 259 (1985).
65. N. J. Marjanović, *Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Novi Sad* (1972).
66. В. М. Березовски "ХЕМИЯ ВИТАМИНОВ", издание второе, переработанное и дополненное, пищевая промышленность, Москва, стр. 19 (1973).
67. А. И. Коломилова, Е. П. Глушанкое, "ВИТАМИНЫ" ( химия, биохимия физиологическая роль ), ИЗДАТЕЛЬСТВО ЛЕНИНГРАДСКОГО УНИВЕРСИТЕТА, Ленинград, стр. 155 (1976).
68. S. W. Benson, "The Foundations of Chemical Kinetics", Mc Graw - Hill Book Company, Inc., New York, Toronto, London, str. 3-93 (1960).
69. W. J. Moore, " Fizička hemija ", *Naučna knjiga, Beograd*, str. 453-469 (1962).
70. S. Gleston, " Udžbenik fizičke hemije ", *Naučna knjiga, Beograd*, str. 803-841 (1967).
71. R. Brdička, " Osnovi fizikalne kemije ", *Školska knjiga, Zagreb*, str. 674-710 (1969).
72. S. R. Veljković, "Hemijska kinetika", *Građevinska knjiga, Beograd*, str.5-27 (1969).
73. J. M. Smith, " Chemical Engineering Kinetics ", 2nd Edition, International Student Edition, str. 1-38 (1970).
74. C. Capellos, B. H. J. Bielski, "Kinetic Systems", (Mathematical Description of Chemical Kinetics in Solution), John Wiley and Sons, Inc., New York, London, Sydney, Toronto, str. 1-30 (1972).
75. E. N. Yeregin, "The Foundations of Chemical Kinetics", Mir Publishers Moscow, str. 5-54 (1979).
76. C. G. Hill JR., R. A. Grieger Block, *Food Technology* (56-66), February (1980).
77. S. R. Vatcha, *Chemical Engineering*, February 16, 195 (1987)
78. P. Putanov, "Osnovi fizičke hemije", II deo, III izdanje, Tehnološki fakultet, Novi Sad, str. 136-174 (1989).
79. S. Đ. Đorđević, V. J. Dražić, "Fizička hemija", III ponovljeno izdanje, Tehnološko-Metalurški fakultet, Beograd, str. 477-509, (1994).
80. Hirota, Sadao, Osugi, Satoshi, Hayashi, Taizo., Kaga, Shinichiro., Takeya, Yasumitsu, *Chem. Pharm. Bull.*, 16 (10), 1972 (1968).
81. P. Waletzko, T. P. Labuza, *J. Food Sci.*, 41, 1338 (1976).
82. J. Reimer, M. Karel, *J. Food Process. Preserv.*, 1, 293 (1977).
83. K. Singh, D. B. Lund, F. H. Buelow, *J. Food. Sci.*, 48, 939 (1983).
84. T. E. Mack, D. R. Heldman, R. P. Singh, *J. Food Sci.*, 41, 309 (1976).



## 8. Literatura

---

85. Y. Kitagava, *Eiyo To Shokuryo*, 20, 416 (1968).
86. E. S. G. Barron, R. H. Demeio, F. Klemperer, *J. Biol. Chem.*, 112, 650 (1936).
87. Karel, J. T. R. Nickerson, *Food Technol.*, 18, 1214 (1964).
88. M. Laing, D. L. Shluter, T. P. Labuza, *J. Food Sci.*, 43, 1440 (1978).
89. J. H. Xu, R. B. Jordan, *Wuli Huaxue Xuebao*, 5 (4), 492 (1989).
90. H. Harvey, M. A. Malati, *Inorg. Chem.*, 28 (8), 1538 (1989).
91. K. S. V. Santhanam, V. R. Kirshnan, *Current. Sci.*, 31, 282 (1962).
92. J. C. Deng, M. Watson, R. P. Bates, E. Schroeder, *J. Food Sci.*, 43, 457 (1978).
93. P. J. Lathrop, H. K. Leung, *J. Food Sci.*, 45, 152 (1980).
94. B. Dennison, J. R. Kirk, *J. Food Sci.*, 47, 1198 (1982).
95. H. Eison-Perchonok, T. W. Downes, *J. Food Sci.*, 47, 765 (1982).
96. P. Martinez, J. Zuluaga, C. Siero, *Z. Phys. Chemie*, 6, 265, 1225 (1984).
97. D. K. Mishra, T. P. Amala Dhas, P. D. Sharma, A. P. Bhargava, Y. K. Gupta, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1265 (1990).
98. J. F. Perezbenito, *Inter. J. Chem. Kinetics*, 25, 4, 221 (1993).
99. S. Lakshmi, D. Saravanan, R. Renganathan, M. Velusamy, *J. Inorg. Biochem.*, 61, 3, 155 (1996).
100. Y. Sakai, H. Watanabe, R. Takai, T. Hasegava, *J. Food Process, Preserv.*, 11, 197 (1987).
101. O. Dekker, R. G. Dickinson, *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 2165 (1940).
102. E. Silverblat, A. L. Robinson, C. G. King, *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 137 (1943).
103. Y. Ogata, Y. Kosugi, T. Morimoto, *Tetrahedron*, 24, 4057 (1968).
104. Wong, M. O. Lai, *T'ai-wan Yao Hsuch, Tsa Chih*, 38 (4), 249 (1986).
105. H. Dahn, R. I. Poust, *Acta Pharm. Succ.*, 24 (1), 15 (1987).
106. R. Jimenezprieto, A. Valasco, M. Silva, D. Perezbenito, *Talanta*, 40 (11), 1731 (1993).
107. B. K. Dutta, B. N. Dutta, *J. Proc. Inst. Chemists*, 36 (5), 245 (1964).
108. R. S. Davidson, R. A. Grieger-Block, *AI Ch. E. J.*, 23 (4), 529 (1977).
109. A. Peng, S. Lao, *Wuli Huaxue Xuebao*, 3 (3), 275 (1987).
110. M. Tong, *Wuli Huaxue Xuebao*, 3 (6), 638 (1987).
111. D. N. Samios, M. I. Karayanmis, *Oxid. Commun.*, 11 (1-2), 33 (1988).

## 8. Literatura

---

112. B. K. Dutta, B. N. Dutta, *J. Proc. Inst. Chemists*, 36 (5), 252 (1964).
113. M. A. Kassem, A. A. Kassem, H. O. Ammar, *Pharm. Acta. Helv.*, 44(11), 667 (1969).
114. Y. Ogata, Y. Kosugi, *Mem. Fac. Eng.*, 22 (2), 165 (1970).
115. P. Spanyol, E. Kevei, *Z. Lebensmitt. Untersuch. - Forsch.*, 120, 1 (1963).
116. J. Miller, M. A. Joslyn, *Food Research*, 14, 340 (1949).
117. N. J. Marjanović, I. F. Jankoviš, "Instrumentalne metode analize", Tehnološki fakultet i Zavod za izdavanje udžbenika, Novi Sad, str. 178 (1983).
118. M. A. Joslyn, J. Miller, *Food Research*, 14, 325 (1949).
119. Lj. A. Kolarov, S. M. Petrović, N. J. Marjanović, *Oriental J. Chem.*, 8 (2), 86 (1992).
120. F. Sahbaz, G. Somer, *Food Chemistry*, 47, 345 (1993).
121. Y. Ogata, Y. Kosugi, *Tetrahedron*, 26, 4711 (1970).
122. Y. P. Hsieh, N. D. Harris, *J. Food Science*, 52 (5), 1384 (1987).
123. H. Gottfried, W. L. Dunkley, *Chem. Pharm. Bull.*, 17 (9), 1839 (1969).
124. Y. Ogata, Y. Kosugi, *Tetrahedron*, 25, 4633 (1969).
125. L. W. Mapson, *Biochem. J.*, 39, 228 (1945).
126. J. F. Scaife, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 1049 (1959).
127. M. M. T. Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, 89 (16), 4176 (1967).
128. M. M. T. Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, 90 (22), 6011 (1968).
129. M. M. T. Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.*, 91 (17), 4668 (1969).
130. M. M. T. Khan, R. S. Shukla, *J. Molecular Catalysis*, 71 (2), 157 (1992).
131. S. K. Kon, M. B. Watson, *Biochemical J.*, 30, 2273 (1936).
132. D. E. Hand, E. S. Guthrie, P. F. Sharp, *Science*, 87, 438 (1938).
133. E. S. Guthrie, *J. Dairy Sci.*, 29 (6), 359 (1948).
134. A. Weissberger, J. E. Lu Valle, *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 1934 (1943).
135. R. Paul Singh, D. R. Heldman, J. R. Kirk, *J. Food Sci.*, 41, 304 (1976).
136. Y. H. P. Hsieh, N. D. Harris, *J. Agric. Food Chem.*, 41, 2, 259 (1993).
137. R. F. Jameson, N. J. Blackburn, *J. C. S. Dalton*, 6, 534 (1976).
138. R. F. Jameson, N. J. Blackburn, *J. C. S. Dalton*, 16, 1596 (1976).

139. A. E. Martell "Chelates of Ascorbic Acid: Formation and Catalytic Properties" u "Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism and Uses", ur. P. A. Seib i B. M. D. Tolbert, Advances in Chemistry Series 200, American Chemical Society, Washington, DC., str. 153 (1982).
140. G. R. Buettner, Free Rad. Comms., 1, 6, 349 (1986).
141. J. E. Fleming, K. G. Bensch, J. Food Sci., 48, 1217 (1983).
142. G. R. Buettner, J. Biochem. Biophys. Methods, 16, 27 (1988).
143. A. Weissberger, J. E. Lu Valle, J. Am. Chem. Soc., 66, 700 (1944).
144. Ju. Ju. Lurie, "Handbook of Analytical Chemistry", Translated from the Russian by Nicholas Bobrov, Mir Publishers, Moscow, str. 253 (1978).
145. Louis Meites, "Handbook of Analytical Chemistry", McGraw Hill Book Company, New York, London, San Francisco, Toronto, Sidney, str. 280 (1963).
146. Oi-Wah Lau, Shiu-Fai Luk, Kit-Sum Wong, Analyst, 111, 665 (1986).
147. I. Onish, T. Hara, Bull. Chem. Soc. Jpn., 37, 1314 (1964).
148. H. N. Rexroad, W. Gordy, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 45, 256 (1959).
149. H. N. Rexroad, W. Gordy, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 45, 256 (1959).
150. C. Lagercrantz, Acta Chem. Scand., 18, 562 (1964).
151. B. H. Bielski, A. O. Allen, J. Am. Chem. Soc., 92 (12), 3793 (1970).
152. B. H. Bielski, D. A. Comstock, R. A. Bowen, J. Am. Chem. Soc., 93 (22), 5624 (1971).
153. G. P. Laroff, R. W. Fessenden, R. H. Schuler, J. Am. Chem. Soc., 94 (26), 9062 (1972).
154. R. W. Fessenden, N.C. Verma, Biophys. J. Biophysical Society, 16, 93 (1977).
155. Y. Abe, S. Okade, H. Horii, S. Taniguchi, S. Yamabe, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 715 (1987).
156. R. E. Norman, N. J. Rose, R. E. Stenkamp, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 2905 (1987).
157. IUPAC, Stability Constants of Metal Ion Complexes, Inorganic Ligands by Eric Högfeltdt, Pergamon Press (1982).
158. IUPAC, Stability Constants of Metal Ion Complexes, Organic Ligands by D. Perin, Pergamon Press (1982).
159. J. W. Barton, u "Protective Groups in Organic Chemistry", (Edition J. F. W. McOmie), Plenum Press London, str. 45 (1973).

## 8. *Literatura*

---

160. M. van Duin, J. A. Peters, A. P. G. Kieboom, H. van Bekkum, *Tetrahedron*, 40, 2901 (1984)
161. M. van Duin, J. A. Peters, A. P. G. Kieboom, H. van Bekkum, *Carbohydrate Research*, 162, 65 (1987).

## 9. PRILOG



PRILOG 1				
Redni broj	Ime i prezime	Adresa	Telefon	Opis
1.	Marko Jovanović	Bulevar Oslobođenja 123	011 123 4567	Učesnik u istraživanju
2.	Ana Petrović	Ulica Brijuni 45	011 234 5678	Učesnik u istraživanju
3.	Stefan Nikolić	Trg Republike 78	011 345 6789	Učesnik u istraživanju

Ukupno: 3 učesnika u istraživanju.

Tabela 6.9.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u acetatnom puferu

pH = 4.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.564	0.436	-0.00089	0.00158	0.9982
2	0.418	0.582	-0.00071	0.00170	0.9994
3	0.359	0.641	-0.00068	0.00189	0.9985

$$\bar{x} = 0.447 \pm 0.1055$$

$$\bar{b} = -0.000764$$

$$\bar{n} = 0.553 \pm 0.1055$$

$$\bar{k}_A = 0.00172 \pm 0.0002$$

pH = 5.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.340	0.660	-0.00388	0.01141	0.9989
2	0.262	0.738	-0.00363	0.01385	0.9990
3	0.215	0.785	-0.00326	0.01516	0.9984

$$\bar{x} = 0.272 \pm 0.0631$$

$$\bar{b} = -0.00359$$

$$\bar{n} = 0.728 \pm 0.0631$$

$$\bar{k}_A = 0.01347 \pm 0.0019$$

pH = 6.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.310	0.690	-0.00645	0.02081	0.9993
2	0.250	0.750	-0.00743	0.02972	0.9998
3	0.211	0.789	-0.00783	0.03711	0.9995

$$\bar{x} = 0.257 \pm 0.0499$$

$$\bar{b} = -0.00724$$

$$\bar{n} = 0.743 \pm 0.0499$$

$$\bar{k}_A = 0.02921 \pm 0.0081$$

Tabela 6.10.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu

pH = 5.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.687	0.313	- 0.00357	0.00546	0.9995
2	0.544	0.456	- 0.00394	0.00724	0.9996
3	0.415	0.585	- 0.00273	0.00658	0.9992
4	0.524	0.476	- 0.00405	0.00773	0.9992
5	0.612	0.388	- 0.00456	0.00745	0.9991
6	0.503	0.497	- 0.00502	0.00998	0.9996
7	0.469	0.531	- 0.00459	0.01000	0.9995
8	0.429	0.571	- 0.00346	0.00806	0.9994

$$\bar{x} = 0.523 \pm 0.0919$$

$$\bar{n} = 0.477 \pm 0.0919$$

$$\bar{b} = - 0.00403$$

$$\bar{k}_A = 0.00781 \pm 0.0016$$

pH = 6.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.320	0.680	- 0.00597	0.01866	0.9993
2	0.306	0.694	- 0.00560	0.01830	0.9997
3	0.292	0.708	- 0.00556	0.01904	0.9993
4	0.265	0.735	- 0.00472	0.01781	0.9994
5	0.224	0.776	- 0.00642	0.02866	0.9993
6	0.190	0.810	- 0.00515	0.02711	0.9992
7	0.163	0.837	- 0.00353	0.02166	0.9984
8	0.163	0.837	- 0.00337	0.02068	0.9986
9	0.156	0.844	- 0.00340	0.02180	0.9985

$$\bar{x} = 0.231 \pm 0.0662$$

$$\bar{n} = 0.769 \pm 0.0662$$

$$\bar{b} = - 0.00486$$

$$\bar{k}_A = 0.02152 \pm 0.0039$$

Tabela 6.10.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu (nastavak)

pH = 7.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.435	0.565	- 0.01225	0.02816	0.9989
2	0.435	0.565	- 0.01195	0.02747	0.9940
3	0.415	0.585	- 0.01034	0.02492	0.9987
4	0.415	0.585	- 0.01144	0.02757	0.9984
5	0.381	0.619	- 0.01256	0.03297	0.9997
6	0.381	0.619	- 0.01124	0.02950	0.9996
7	0.368	0.632	- 0.01115	0.03030	0.9996
8	0.341	0.659	- 0.01054	0.03091	0.9997
9	0.333	0.667	- 0.00862	0.02589	0.9986
10	0.330	0.670	- 0.01048	0.03176	0.9997
11	0.299	0.701	- 0.00835	0.02793	0.9987
12	0.286	0.714	- 0.00901	0.03150	0.9980
13	0.265	0.735	- 0.00910	0.03434	0.9996
14	0.184	0.816	- 0.00517	0.02810	0.9975
15	0.170	0.830	- 0.00577	0.03394	0.9982
16	0.068	0.932	- 0.00264	0.03882	0.9968

$$\bar{x} = 0.319 \pm 0.1046$$

$$\bar{n} = 0.681 \pm 0.1046$$

$$\bar{b} = - 0.00941$$

$$\bar{k}_A = 0.03026 \pm 0.0036$$

pH = 8.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.688	0.312	- 0.02306	0.03352	0.9972
2	0.388	0.612	- 0.01595	0.04111	0.9991
3	0.368	0.632	- 0.01487	0.04041	0.9997
4	0.292	0.708	- 0.01442	0.04938	0.9994

$$\bar{x} = 0.434 \pm 0.1743$$

$$\bar{n} = 0.566 \pm 0.1743$$

$$\bar{b} = - 0.02373$$

$$\bar{k}_A = 0.04110 \pm 0.0065$$



Tabela 6.11.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu

pH = 7.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.095	0.905	- 0.00102	0.01071	0.9994
2	0.136	0.864	- 0.00015	0.01132	0.9984
3	0.054	0.946	- 0.00053	0.00987	0.9993
4	0.136	0.864	- 0.00126	0.00924	0.9994
5	0.134	0.866	- 0.00137	0.01021	0.9996

$$\bar{x} = 0.111 \pm 0.0363$$

$$\bar{b} = - 0.00087$$

$$\bar{n} = 0.889 \pm 0.0363$$

$$\bar{k}_A = 0.01027 \pm 0.0008$$

pH = 8.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.204	0.796	- 0.00438	0.02146	0.9999
2	0.238	0.762	- 0.00505	0.02121	0.9998
3	0.231	0.769	- 0.00473	0.02047	0.9996
4	0.190	0.810	- 0.00470	0.02473	0.9994
5	0.231	0.769	0.00543	0.02349	0.9996
6	0.345	0.755	0.00475	0.01939	0.9998
7	0.218	0.782	0.00427	0.01957	0.9998
8	0.224	0.776	0.00438	0.01950	0.9998

$$\bar{x} = 0.223 \pm 0.0182$$

$$\bar{b} = - 0.00471$$

$$\bar{n} = 0.777 \pm 0.0182$$

$$\bar{k}_A = 0.02123 \pm 0.0020$$

Tabela 6.12.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u boratnom puferu

pH = 8.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	1.150	-0.150	-0.01155	0.01004	0.9997
2	1.109	-0.109	-0.01116	0.01006	0.9992
3	1.096	-0.096	-0.01018	0.00929	0.9994
4	1.081	-0.081	-0.01125	0.01041	0.9987
5	1.053	-0.053	-0.01108	0.01052	0.9986
6	0.904	0.096	-0.01007	0.01114	0.9982
7	0.898	0.102	-0.00950	0.01058	0.9995
8	0.888	0.112	-0.00869	0.00979	0.9989
9	0.878	0.122	-0.00913	0.01040	0.9991
10	0.851	0.149	-0.00870	0.01022	0.9995

$$\bar{x} = 0.991 \pm 0.1161$$

$$\bar{b} = -0.01013$$

$$\bar{n} = 0.009 \pm 0.1161$$

$$\bar{k}_A = 0.01024 \pm 0.0005$$

pH = 9.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.687	0.313	-0.02187	0.03183	0.9998
2	0.606	0.394	-0.02000	0.03300	0.9994
3	0.606	0.394	-0.01265	0.02087	0.9997
4	0.585	0.415	-0.01820	0.03111	0.9992
5	0.551	0.449	-0.01907	0.03461	0.9987
6	0.551	0.449	-0.02038	0.03699	0.9994
7	0.544	0.456	-0.01898	0.03489	0.9997
8	0.537	0.463	-0.01989	0.03704	0.9994
9	0.510	0.490	-0.01870	0.03667	0.9997
10	0.490	0.510	-0.02117	0.04320	0.9998
11	0.469	0.531	-0.01716	0.03659	0.9990
12	0.408	0.592	-0.01560	0.03824	0.9985
13	0.340	0.660	-0.01261	0.03709	0.9997

$$\bar{x} = 0.529 \pm 0.0899$$

$$\bar{b} = -0.01818$$

$$\bar{n} = 0.471 \pm 0.0899$$

$$\bar{k}_A = 0.03478 \pm 0.0052$$

Tabela 6.12.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u boratnom puferu (nastavak)

pH = 10.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.530	0.470	-0.03622	0.06834	0.9993
2	0.497	0.503	-0.04176	0.08402	0.9995
3	0.483	0.517	-0.02397	0.04963	0.9997
4	0.476	0.524	-0.02298	0.04828	0.9994
5	0.469	0.531	-0.02912	0.06209	0.9994
6	0.421	0.579	-0.02360	0.05606	0.9984
7	0.421	0.579	-0.01813	0.04306	0.9998
8	0.415	0.585	-0.02446	0.05894	0.9998
9	0.374	0.626	-0.02354	0.06294	0.9994
10	0.326	0.674	-0.02083	0.06390	0.9993
11	0.306	0.694	-0.02172	0.07098	0.9999
12	0.299	0.701	-0.02093	0.07000	0.9995
13	0.231	0.769	-0.01269	0.05494	0.9991

$$\bar{x} = 0.404 \pm 0.0906$$

$$\bar{n} = 0.596 \pm 0.0906$$

$$\bar{b} = -0.02461$$

$$\bar{k}_A = 0.06101 \pm 0.0110$$

pH = 11.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.299	0.701	-0.03667	0.12264	0.9997
2	0.211	0.789	-0.02701	0.12801	0.9991
3	0.129	0.871	-0.01930	0.14961	0.9995
4	0.122	0.878	-0.01858	0.15230	0.9989
5	0.088	0.912	-0.01497	0.17011	0.9997
6	0.068	0.932	-0.01132	0.16647	0.9982
7	0.068	0.932	-0.01129	0.16603	0.9993
8	0.061	0.939	-0.01018	0.16689	0.9994
9	-0.021	1.021	0.00372	0.17714	0.9990
10	-0.062	1.062	0.01071	0.17274	0.9978
11	-0.076	1.076	0.01462	0.19237	0.9996

$$\bar{x} = 0.081 \pm 0.1117$$

$$\bar{n} = 0.919 \pm 0.1117$$

$$\bar{b} = -0.01093$$

$$\bar{k}_A = 0.16039 \pm 0.0208$$

Tabela 6.13.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu

pH = 9.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.104	0.896	-0.00044	0.00423	0.9999
2	0.091	0.909	-0.00044	0.00484	0.9991
3	0.020	0.980	-0.00010	0.00500	0.9997
4	-0.033	1.033	0.00017	0.00515	0.9994
5	-0.032	1.032	0.00018	0.00563	0.9993
6	-0.052	1.052	0.00025	0.00481	0.9995
7	-0.070	1.070	0.00034	0.00486	0.9992
8	-0.085	1.085	0.00046	0.00541	0.9985
9	-0.086	1.086	0.00049	0.00570	0.9994
10	-0.088	1.088	0.00038	0.00432	0.9990
11	-0.156	1.156	0.00071	0.00455	0.9985
12	-0.325	1.325	0.00220	0.00677	0.9982

$$\bar{x} = -0.059 \pm 0.1125$$

$$\bar{b} = 0.00035$$

$$\bar{n} = 1.059 \pm 0.1125$$

$$\bar{k}_A = 0.00511 \pm 0.0007$$

pH = 10.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.204	0.796	-0.00465	0.02279	0.9975
2	0.115	0.885	-0.00289	0.02513	0.9976
3	0.049	0.951	-0.00119	0.02429	0.9995
4	0.020	0.980	-0.00051	0.02550	0.9997
5	-0.017	1.017	0.00043	0.02529	0.9984
6	-0.038	1.038	0.00099	0.02605	0.9996
7	-0.087	1.087	0.00233	0.02678	0.9984
8	-0.094	1.094	0.00251	0.02670	0.9997
9	-0.142	1.142	0.00413	0.02909	0.9986
10	-0.170	1.170	0.00473	0.02782	0.9994
11	-0.378	1.378	0.01190	0.03148	0.9978

$$\bar{x} = -0.049 \pm 0.1554$$

$$\bar{b} = 0.00162$$

$$\bar{n} = 1.049 \pm 0.1554$$

$$\bar{k}_A = 0.02645 \pm 0.0024$$

Tabela 6.13.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u glicinskom puferu (nastavak)

pH = 11.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	-0.062	1.062	0.00589	0.09500	0.9969
2	-0.100	1.100	0.00853	0.08530	0.9998
3	-0.105	1.105	0.00896	0.08533	0.9994
4	-0.108	1.108	0.00920	0.08519	0.9997
5	-0.110	1.110	0.00970	0.08818	0.9988
6	-0.115	1.115	0.00986	0.08574	0.9997
7	-0.115	1.115	0.01021	0.08878	0.9997
8	-0.118	1.118	0.00997	0.08449	0.9999
9	-0.132	1.132	0.01134	0.08591	0.9998
10	-0.141	1.141	0.01265	0.08972	0.9988
11	-0.145	1.145	0.01312	0.09048	0.9995
12	-0.149	1.149	0.01310	0.08792	0.9999
13	-0.151	1.151	0.01422	0.09417	0.9996
14	-0.169	1.169	0.01511	0.08941	0.9997
15	-0.170	1.170	0.01522	0.08953	0.9991
16	-0.210	1.210	0.01964	0.09352	0.9997
17	-0.228	1.228	0.01782	0.07816	0.9996
18	-0.253	1.253	0.02222	0.08783	0.9987

$$\bar{x} = -0.143 \pm 0.0484$$

$$\bar{n} = 1.143 \pm 0.0484$$

$$\bar{b} = 0.01260$$

$$\bar{k}_A = 0.08804 \pm 0.0040$$

Tabela 6.14.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu

pH = 4.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.476	0.524	- 0.00227	0.00478	0.9992
2	0.469	0.531	- 0.00210	0.00448	0.9989
3	0.449	0.551	- 0.00208	0.00463	0.9997
4	0.428	0.572	- 0.00203	0.00474	0.9994

$$\bar{x} = 0.456 \pm 0.0216$$

$$\bar{n} = 0.544 \pm 0.0216$$

$$\bar{b} = - 0.00212$$

$$\bar{k}_A = 0.00466 \pm 0.0001$$

pH = 5.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.258	0.742	- 0.00514	0.01992	0.9993
2	0.204	0.796	- 0.00430	0.02108	0.9993
3	0.170	0.830	- 0.00376	0.02212	0.9993
4	0.122	0.878	- 0.00291	0.02385	0.9992

$$\bar{x} = 0.189 \pm 0.0573$$

$$\bar{n} = 0.811 \pm 0.0573$$

$$\bar{b} = - 0.00403$$

$$\bar{k}_A = 0.02174 \pm 0.0017$$

pH = 6.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.279	0.721	- 0.01096	0.03928	0.9997
2	0.279	0.721	- 0.01086	0.03892	0.9969
3	0.170	0.830	- 0.00772	0.04541	0.9994
4	0.163	0.837	- 0.00774	0.04564	0.9976
5	0.136	0.864	- 0.00687	0.05051	0.9995
6	0.115	0.885	- 0.00607	0.05278	0.9934

$$\bar{x} = 0.190 \pm 0.0714$$

$$\bar{n} = 0.810 \pm 0.0714$$

$$\bar{b} = - 0.00832$$

$$\bar{k}_A = 0.04542 \pm 0.0057$$

Tabela 6.14.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu (nastavak)

pH = 7.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.184	0.816	-0.01401	0.07614	0.9992
2	0.180	0.820	-0.01342	0.07455	0.9995
3	0.177	0.823	-0.01242	0.07017	0.9993
4	0.174	0.826	-0.01232	0.07368	0.9992
5	0.170	0.830	-0.01312	0.07718	0.9997

$$\bar{x} = 0.177 \pm 0.0054$$

$$\bar{n} = 0.823 \pm 0.0054$$

$$\bar{b} = -0.01316$$

$$\bar{k}_A = 0.07434 \pm 0.0027$$

pH = 8.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.340	0.660	-0.04352	0.12800	0.9993
2	0.313	0.687	-0.03036	0.09700	0.9996
3	0.299	0.701	-0.03080	0.10301	0.9992
4	0.292	0.708	-0.03270	0.11199	0.9985
5	0.292	0.708	-0.03037	0.10401	0.9998
6	0.286	0.714	-0.03089	0.10801	0.9990
7	0.279	0.721	-0.03125	0.11201	0.9999
8	0.279	0.721	-0.02846	0.10201	0.9998
9	0.279	0.721	-0.02902	0.10401	0.9992
10	0.258	0.742	-0.02580	0.10000	0.9994
11	0.252	0.748	-0.02848	0.11302	0.9973
12	0.245	0.755	-0.02426	0.09902	0.9997
13	0.184	0.816	-0.02226	0.12098	0.9989
14	0.163	0.837	-0.01581	0.09699	0.9971
15	0.150	0.850	-0.01590	0.10600	0.9995

$$\bar{x} = 0.261 \pm 0.0548$$

$$\bar{n} = 0.739 \pm 0.0548$$

$$\bar{b} = -0.02799$$

$$\bar{k}_A = 0.10707 \pm 0.0088$$

Tabela 6.14.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu (nastavak)

pH = 9.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.476	0.524	-0.06140	0.12899	0.9995
2	0.476	0.524	-0.05807	0.12200	0.9994
3	0.449	0.551	-0.06600	0.14699	0.9995
4	0.449	0.551	-0.04934	0.10989	0.9996
5	0.449	0.551	-0.05926	0.13198	0.9995
6	0.428	0.572	-0.04936	0.11533	0.9998
7	0.428	0.572	-0.05414	0.12650	0.9994
8	0.408	0.592	-0.04778	0.11711	0.9999
9	0.401	0.599	-0.06135	0.15299	0.9990
10	0.401	0.599	-0.05935	0.14800	0.9996
11	0.374	0.626	-0.05311	0.14200	0.9996
12	0.374	0.626	-0.05273	0.14099	0.9996

$$\bar{x} = 0.426 \pm 0.0351$$

$$\bar{n} = 0.574 \pm 0.0351$$

$$\bar{b} = -0.05599$$

$$\bar{k}_A = 0.13190 \pm 0.0142$$



Tabela 6.14.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu (nastavak)

pH = 10.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.626	0.374	-0.10408	0.16626	0.9997
2	0.619	0.381	-0.12129	0.19595	0.9995
3	0.606	0.394	-0.11654	0.19231	0.9989
4	0.606	0.394	-0.10788	0.17802	0.9996
5	0.592	0.408	-0.08060	0.13615	0.9991
6	0.592	0.408	-0.10683	0.18046	0.9999
7	0.578	0.422	-0.09867	0.17071	0.9995
8	0.558	0.442	-0.11368	0.20372	0.9994
9	0.544	0.456	-0.10906	0.20048	0.9998
10	0.544	0.456	-0.09893	0.18186	0.9992
11	0.537	0.463	-0.10255	0.19097	0.9996
12	0.524	0.476	-0.13087	0.24975	0.9994
13	0.497	0.503	-0.08319	0.16739	0.9988
14	0.469	0.531	-0.06610	0.14094	0.9998
15	0.469	0.531	-0.04997	0.10655	0.9995
16	0.456	0.544	-0.04973	0.10906	0.9997
17	0.456	0.544	-0.07801	0.17107	0.9996
18	0.449	0.551	-0.04904	0.10922	0.9998
19	0.401	0.599	-0.05846	0.14579	0.9998
20	0.394	0.606	-0.06037	0.15322	0.9995

$$\bar{x} = 0.526 \pm 0.0728$$

$$\bar{n} = 0.474 \pm 0.0728$$

$$\bar{b} = -0.08929$$

$$\bar{k}_A = 0.16749 \pm 0.0359$$

Tabela 6.14.: Konstante  $x$ ,  $n$ ,  $b$  i  $k_A$  L-askorbinske kiseline u univerzalnom puferu (nastavak)

pH = 11.00					
	$x$	$n$	$b$	$k_A$	$r^2$
1	0.633	0.367	-0.22112	0.34932	0.9998
2	0.517	0.483	-0.22723	0.43952	0.9999
3	0.510	0.490	-0.15682	0.30749	0.9992
4	0.463	0.537	-0.17018	0.36821	0.9998
5	0.463	0.537	-0.14803	0.31972	0.9993
6	0.456	0.544	-0.16504	0.36193	0.9993
7	0.449	0.551	-0.16735	0.37272	0.9999
8	0.435	0.565	-0.16931	0.38922	0.9999
9	0.435	0.565	-0.14461	0.33244	0.9999
10	0.381	0.619	-0.13244	0.34761	0.9998
11	0.381	0.619	-0.13005	0.34134	0.9998
12	0.354	0.646	-0.14650	0.41384	0.9994
13	0.418	0.582	-0.13931	0.33328	0.9997

$$\bar{x} = 0.454 \pm 0.0719$$

$$\bar{n} = 0.546 \pm 0.0719$$

$$\bar{b} = -0.16294$$

$$\bar{k}_A = 0.35973 \pm 0.0374$$

