

UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET  
Novi Sad, 08.03.1999.

Број 020-246

09.03 19 99 год.  
НОВИ САД

**Predmet:** Izveštaj Komisije za ocenu i odbranu urađene doktorske disertacije  
mr Ljiljane A. Kolarov

Na IV sednici NN Veća Tehnološkog fakulteta od 23.11.1998. god. je određena Komisija za ocenu i odbranu urađene doktorske disertacije mr Ljiljane A. Kolarov, asistenta Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, pod nazivom : "UTICAJ VREDNOSTI pH PUFERA I VRSTE ANJONA NA BRZINU OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE" u sastavu:

1. Dr Slobodan M. Petrović, red. prof. Tehnološkog fakulteta u penziji, mentor
2. Dr Nikola J. Marjanović, red. prof. Tehnološkog fakulteta, predsednik
3. Dr Nada Perišić-Janjić, red. prof. PMF, član
4. Dr Božidar Lj. Milić, red. prof. Tehnološkog fakulteta, član

Komisija je pregledala urađenu doktorsku disertaciju kandidata mr Ljiljane A. Kolarov i podnosi NN Veću Tehnološkog fakulteta sledeći

## IZVEŠTAJ

Doktorska disertacija kandidata mr Ljiljane A. Kolarov asistenta Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, pod nazivom: "UTICAJ VREDNOSTI pH PUFERA I VRSTE ANJONA NA BRZINU OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE" izložena je na 118 strana i sadrži 18 tablica, 20 slika, 4 sheme i 161 literaturni navod. Rad je podeljen u 9 poglavlja: Uvod, Opšti deo, Hemijska kinetika, Kinetika oksidacije L-askorbinske kiseline (pregled literature), Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključci, Literatura, Prilog.

U poglavlju **UVOD** se ukazuje da vitamin C spada među najmanje stabilne vitamine te je neophodno definisati uslove koji obezbeđuju stabilnost i optimalan sadržaj L-askorbinske kiseline u proizvodima prehrambene, farmaceutske i drugih grana industrije. Međutim, predviđanje gubitaka L-askorbinske kiseline je veoma komplikovano zbog nedostataka svih

informacija o mehanizmu degradacije i faktora koji na njega utiču. Na stabilnost L-askorbinske kiseline utiče niz činilaca na kompleksan način, pa je problem stabilizacije i dalje prisutan. Koncentracija L-askorbinske kiseline opada sa vremenom, a na gubitak utiču koncentracija kiseonika u rastvoru, vrsta i koncentracija jona metala u rastvoru, vrednost pH i vrsta anjona i drugi faktori. Međutim, uticaj pomenutih faktora na brzinu oksidacije nije isti što otežava definisanje kinetičke jednačine u kojoj se brzina hemijske reakcije dovodi u vezu sa pomenutim različitim uticajima. Istaknuto je da uticaj vrednosti pH na brzinu oksidacije nije ispitivan sistematski kao i da je malo ispitivan uticaj vrste prisutnog anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline. Kandidat zato postavlja zadatak da prati kinetiku oksidacije L-askorbinske kiseline pri različitim vrednostima pH sredine i u različitim puferskim sistemima, kao i da korelira konstantu brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i pomenuta dva faktora.

U poglavlju **OPŠTI DEO** je prikazan istorijat, rasprostranjenost i fiziološka uloga vitamina C u organizmu. Kandidat je detaljno opisao fizičke, hemijske i biološke osobine L-askorbinske kiseline. Istaknuta su i oprečna mišljenja koja postoje o povratnosti/nepovratnosti reakcije oksidacije L-askorbinske kiseline u dehidroaskorbinsku kiselinu. Postoje i mišljenja da je oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija koja se dešava u dve etape od koje je prva povratna, a druga nepovratna. Pomenuti su i radovi u kojima se ukazuje da oksidacijom L-askorbinske kiseline nastaje međuproizvod, radikal anjon, koji je relativno nereaktivan i sporo reaguje sa kiseonikom. Istaknuta je i činjenica da se na osnovu rezultata dobijenih gas-tečnom hromatografijom, UV i IR spektrofotometrijom, NMR i masenom spektrometrijom zaključilo da se dehidroaskorbinska kiselina, nastala oksidacijom L-askorbinske kiseline, u vodenom rastvoru nalazi u obliku bicikličnog hidratisanog laktone. Sistem spojenih prstena je kinetički stabilniji od tradicionalne, udžbeničke, strukturne formule jedinjenja sa tri karbonilne grupe. Ukazano je i na postojanje imponantnog broja patenata i naučnih radova o primeni L-askorbinske kiseline u različitim granama industrije. Isto tako, prikazani su i derivati L-askorbinske kiseline koji, u manjoj ili većoj meri, poseduju vitaminska svojstva.

U poglavlju **HEMIJSKA KINETIKA** su date osnove kinetike, kao i kinetičke jednačine reakcija nultog, prvog, drugog, trećeg, višeg i razlomljenog reda sa neophodnim matematičkim tumačenjem i grafičkim prikazom. Kandidat je prikazao metode analize eksperimentalnih podataka (metode integracije, metode poluvremena reakcije, diferencijalnu metodu i metodu trasera). Detaljno su opisani principi svake metode sa posebnim naglaskom na one koje se u literaturi češće koriste.

U poglavlju **KINETIKA OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE** kandidat je pregledom literature prikazao uticaj različitih faktora na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline: svetlost (vidljiva i UV), temperatura, uticaj vrednosti pH, povezanost brzine oksidacije L-askorbinske kiseline i koncentracije rastvorenog kiseonika, uticaj prisustva kompleksirajućih sredstava koja mogu izmeniti katalitičku sposobnost jona metala, ali mogu graditi i komplekse sa L-askorbinskom kiselinom. Prikazani su i radovi koji se odnose na kinetiku oksidacije L-askorbinske kiseline i tu reakciju jedni autori posmatraju kao reakciju nultog reda u odnosu na L-askorbinsku kiselinu, drugi je opisuju kao reakciju prvog reda, ali i kao pseudo prvog, pseudo nultog, a postoje i mišljenja da se oksidacija L-askorbinske kiseline najbolje definiše jednačinom Michaelis-Menton-a. Kandidat je naveo i različite metode koje su u literaturi korišćene za praćenje smanjenja koncentracije L-askorbinske kiseline sa vremenom. Navedene su titrimetrijske metode: titracije rastvora L-askorbinske kiseline standardnim rastvorom 2,6-dihlorfenolindofenola ili titracija viška joda standardnim rastvorom natrijum-tiosulfata. Takođe su spomenuti radovi koji za praćenje brzine oksidacije L-askorbinske kiseline koriste spektrofotometrijsku metodu pri kojoj se meri apsorpcija obojenih rastvora (boja je izazvana dodatkom odgovarajućeg reagensa) ili se u određenim vremenskim intervalima direktno u UV oblasti prati opadanje vrednosti apsorpcije, kao što je rađeno u ovom radu. Citirani su i radovi u kojima je korišćena metoda HPLC i polarografska metoda.

U poglavlju **EKSPERIMENTALNI DEO** su nabrojani korišćeni uređaji, pribor kao i hemikalije. Kandidat je detaljno opisao postupak pripreme rastvora za analizu kao i neophodne mere opreza preduzete radi sprečavanja prevremene oksidacije L-askorbinske kiseline. Navedene su i recepture za pripremu korišćenih rastvora pufera.

U poglavlju **REZULTATI I DISKUSIJA** su prikazani rezultati dobijeni na osnovu spektrofotometrijskog praćenja opadanja koncentracije L-askorbinske kiseline u rastvoru snimanjem UV spektara. Opisane su karakteristike apsorpcionih spektara L-askorbinske kiseline u rastvorima pufera termostatiranih na 25° C. Kandidat je spektre snimao u opsegu 325-225 nm i koristio rastvore acetatnog, fosfatnog, fosfatno-citratnog, boratnog, glicinskog i univerzalnog pufera. Uočeno je da su isti maksimumi apsorpcije pri istim vrednostima pH u različitim puferima, ali se talasna dužina maksimuma apsorpcije pomera ("crveni pomak") sa porastom vrednosti pH rastvora.

Za izračunavanje reda reakcije i konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u različitim puferskim sistemima kandidat je izveo jedinstvenu kinetičku jednačinu koja pokriva do sada u kinetici korišćene

jednačine nultog, prvog, drugog, trećeg, višeg i razlomljenog reda. Naime, kako su pomenute jednačine primenljive tek kada se ispravno pretpostavi red ispitivane hemijske reakcije, prednost ove jednačine je što se primenom odgovarajućeg kompjuterskog programa istovremeno računaju red i konstanta brzine hemijske reakcije. Kandidat je na više primera prikazao rezultate dobijene primenom izvedene jednačine. Ispravnost izvedene jednačine je kandidat potvrdio primenom izračunatog reda reakcije u klasičnim kinetičkim jednačinama nultog i prvog reda. Konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline izračunate izvedenom jednačinom i klasičnim kinetičkim jednačinama se dobro slažu. Za acetatni, fosfatni, fosfatno-citratni i univerzalni pufer su izračunati razlomljeni redovi reakcije. U boratnom puferu je reakcija nultog, razlomljenog i prvog reda u zavisnosti od pH sredine, a u glicinskom puferu je za sve vrednosti pH oksidacija L-askorbinske kiseline reakcija prvog reda.

Pregledom literature je kandidat konstatovao da je uticaj pH na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline uvek praćen u uskoj oblasti pH (obično u dosta kiseloj sredini) i samo u jednom puferskom sistemu. U ovom radu je kandidat pratio uticaj vrednosti pH na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline u širokom opsegu pH (4-11) i u 6 puferskih sistema. Uočena je linearna zavisnost konstanti brzine oksidacije L-askorbinske kiseline od vrednosti pH različitih rastvora pufera što je predstavljeno odgovarajućom jednačinom. Međutim, u boratnom, glicinskom i univerzalnom puferu je uočeno da pri  $\text{pH} = 11$  vrednost konstante brzine naglo raste i da prestaje linearna zavisnost konstante brzine od vrednosti pH. Isto tako, uočeno je da su izračunate vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u ispitivanim rastvorima pufera iste ili bliske pri različitim vrednostima pH. Kandidat razmatra i različite vrednosti konstante brzine oksidacije u ispitivanim puferskim sistemima pri istoj vrednosti pH koje objašnjava uticajem tragova metala u korišćenim hemikalijama, uticajem vrste anjona prisutne u puferskim sistemima kao i kombinacijom ta dva uticaja. Dalje, kandidat detaljno razmatra uticaj prisustva svakog pojedinačnog anjona na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline. Tako zaključuje da su male vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatno-citratnom puferu posledica građenja stabilnih kompleksa limunske kiseline sa jonima bakra i gvožđa. Fosfatni jon reaguje sa kiselim hidroksilnim grupama L-askorbinske kiseline gradeći estre što može da objasni niže vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u fosfatnom puferu od onih u acetatnom pri istim vrednostima pH. Za objašnjenje niskih vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline u boratnom puferu ( $\text{pH} = 8 - 11$ ), kandidat je pretpostavio dve sheme prema kojima boratni anjon gradi komplekse sa jonima metala, ali ne direktno nego preko prethodno nagrađenog estera L-askorbinske kiseline i boratnog anjona. U glicinskom

puferu su niske vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline pri visokim vrednostima pH objašnjene građenjem kompleksa između jona metala i glicinatnog anjona, a brzina oksidacije je još dodatno usporena građenjem vodonične veze između slobodnog elektronskog para na atomu azota glicina i nedisocirane hidroksilne grupe L-askorbinske kiseline. Na kraju, kandidat konstatuje da su vrednosti konstante brzine oksidacije u univerzalnom puferu, u kome su prisutni acetatni, fosfatni i boratni anjon, najveće u odnosu na druge ispitivane puferske sisteme i to pri svim vrednostima pH. Na osnovu toga zaključuje da prisutni anjoni različito utiču na brzinu oksidacije L-askorbinske kiseline kada su u smeši u odnosu na njihovo pojedinačno delovanje, jer u smeši ometaju jedni druge. Konstatovana je i činjenica da u boratnom, glicinskom i univerzalnom puferu pri  $\text{pH} = 11$ , vrednosti konstante brzine oksidacije L-askorbinske kiseline naglo rastu u odnosu na one pri nižim vrednostima pH, jer je pri visokim vrednostima pH u rastvoru prisutan di-anjon,  $\text{A}^{2-}$ , L-askorbinske kiseline koji lako podleže oksidaciji.

Referenti još jednom žele da istaknu originalnost i vrednost kinetičke jednačine izvedene u ovom radu, koja istovremeno izračunava red reakcije i konstantu brzine reakcije i obuhvata sve klasične kinetičke jednačine.

Rezultati do kojih je mr Ljiljana A. Kolarov došla, predstavljaju nov, originalan i značajan doprinos oblasti hemijske kinetike te stoga referenti predlažu NN Veću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu da rad mr Ljiljane Kolarov, asistenta Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu, pod nazivom **"UTICAJ VREDNOSTI pH PUFERA I VRSTE ANJONA NA BRZINU OKSIDACIJE L-ASKORBINSKE KISELINE"** prihvate kao tezu za sticanje akademskog stepena doktora nauka i da kandidata pozovu na javnu odbranu.

#### KOMISIJA

Dr Slobodan M. Petrović, red.prof. u penziji

Dr Nikola J. Marjanović, red.prof.

Dr Nada U. Perišić-Janjić, red.prof.

Dr Božidar Lj. Milić, red.prof.