

Kationima pospješeni spregnuti prijelaz elektrona i protona

Jakobušić Brala, Cvijeta

Doctoral thesis / Disertacija

2011

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:218368>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



CVIJETA JAKOBUŠIĆ BRALA

KATIONIMA POSPJEŠENI
SPREGNUTI PRIJELAZ
ELEKTRONA I PROTONA

Doktorska disertacija

predložena Kemijskom odsjeku
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
radi stjecanja akademskog stupnja
doktora prirodnih znanosti (kemija)

**Zagreb
2011.**

Ova je disertacija izrađena u Laboratoriju Zavoda za fizikalnu kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom mentora prof. dr. sc. Stanka Uršića, u sklopu Doktorskog studija pri Kemijskom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem mentoru, prof. dr. sc. Stanku Uršiću na predloženoj temi, pomoći, savjetima, diskusijama, podršci razumijevanju prilikom izrade ove disertacije.

Zahvaljujem članovima povjerenstva na poučnim primjedbama.

Zahvaljujem svim članovima Zavoda za Fizikalnu kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta na pomoći i podršci tijekom izrade disertacije.

Zahvaljujem svima koji su mi na bilo koji način pomogli.

Hvala mojim roditeljima, sestrama i babi na velikoj pomoći i podršci tijekom cijelog mog školovanja.

Hvala Ivanu.

Ani i Marinu

Cvijeta Jakobušić Brala

u Zagrebu, 04. studenoga 2011.

SADRŽAJ

SAŽETAK	V
ABSTRACT	VI
1. UVOD	1
2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona - PCET	3
2.2. Askorbinska kiselina	12
3. TEORIJSKA OSNOVICA	18
3.1. Kemijska kinetika kao osnova za proučavanje reakcijskih mehanizama	18
3.1.1. Kinetički izotopni učinci	20
3.1.2. Tuneliranje	26
3.1.3. Utjecaj ionske jakosti	29
3.2. Marcusova teorija prijelaza elektrona	33
3.3. Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona - PCET	38
3.3.1. PCET teorija	41
3.3.2. Tuneliranje protona – Marcusianski model tuneliranja	49
3.4. Fotosustav II (PSII)	53
4. EKSPERIMENTALNI DIO	57
4.1. Uporabljeni instrumenti i pribor	57
4.2. Kinetička mjerenja	57
4.3. Određivanje koncentracije askorbata	61
5. REZULTATI I RASPRAVA	67
5.1. PCET ili stupnjeviti mehanizam?	68
5.2. Utjecaj kationa na reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi	71
5.2.1. Utjecaj kationa na brzinu i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi	71
5.2.2. Utjecaj kationa na aktivacijske parametre reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi	97
5.2.3. Reakcija askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, u kiselom	117
5.3. Reakcija askorbata i heksacijanoferat(III) iona u miješanim organskim otapalima	118
5.3.1. Reakcija askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda =1:1 v/v ..	118
5.3.2. Reakcija askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi acetonitril:voda = 9:1 v/v	123
6. ZAKLJUČAK	124
7. LITERATURNI VRELA	126
8. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ	136
9. DODATAK	VII
10. ŽIVOTOPIS	IX

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

KATIONIMA POSPJEŠENI SPREGNUTI PRIJELAZ ELEKTRONA I PROTONA

CVIJETA JAKOBUŠIĆ BRALA

Zavod za fizikalnu kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu,
A. Kovačića 1, Zagreb, Hrvatska

Učinak iona Na^+ , K^+ i $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ na protonom spregnuti prijelaz elektrona (PCET) u reakciji askorbata s heksacijanoferrat(III) ionom u vodi ukazuje na utjecaj kationa na dvostruko elektronsko/protonsko tuneliranje u PCET procesu, što kod većih koncentracija kationa može dovesti do "ekstenzivnog" tuneliranja. Dobiveni uvidi obuhvaćaju, uz ostalo: a) opažanje primarnog kinetičkog solnog učinka kod niskih koncentracija iona, te linearnu ovisnost konstante brzine o koncentraciji kationa u prisutnosti viših koncentracija kationa; b) kinetički izotopni učinak i termokemijsku analizu, koja uključuje usporedbu ΔG° odgovarajućih konsektivnih ET/PT ili PT/ET procesa s opaženom ΔG^\ddagger u reakciji, što jasno ukazuje na PCET reakciju; c) promjenu kinetičkog izotopnog učinka (KIE), $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$, od 4,6 u vodi bez dodatka iona, na 3,3 u prisutnosti $1,0 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, gdje se KIE linearno smanjuje s porastom koncentracije kationa; d) izotopnu razliku Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 2,3$ kod $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, u odnosu na $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 0,97$ u vodi bez dodatka iona; e) izotopnu razliku aktivacijskih entalpija $\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}) = 1,3 \text{ kJ/mol}$ u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ iona, koja se značajno razlikuje od semiklasično predviđenog iznosa, kao i od $\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}) = 3,9 \text{ kJ/mol}$ u vodi bez dodatka iona. Rezultati su raspravljani s obzirom na pretpostavljeni početni trimolekularni asocijacijski kompleks u toj reakciji, koji bi se sastojao od redoks para i kationa, unutar kojega bi se kation mogao naći u neposrednoj blizini aktiviranog kompleksa. Opažanje "ekstenzivnog" tuneliranja protona je objašnjeno primjenom modela za tuneliranje koji polazi od Marcusove teorije (Marcusianski model tuneliranja), uz pretpostavku da je dinamika solvatnog kaveza slična onoj u enzimskim reakcijama, u skladu s postojećim teorijskim predviđanjima.

136 stranica, 44 slike, 32 tablice, 2 sheme, 227 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta -

Kemijski odsjek, Horvatovac 102A, Zagreb

Ključne riječi: dinamika otapala / kationi / spregnuti prijelaz elektrona i protona / tuneliranje

Mentor: Dr. sc. Stanko Uršić, izv. prof.

Ocjenitelji: Dr.sc. Hrvoj Vančik, red. prof.

Dr.sc. Stanko Uršić, izv. prof.

Dr.sc. Zlatko Mihalić, izv. prof.

Rad privaćen: 02. studenoga 2011.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

CATION PROMOTED PROTON COUPLED ELECTRON TRANSFER

CVIJETA JAKOBUŠIĆ BRALA

Department of Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, Zagreb, Croatia

The effects of Na^+ , K^+ and $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ observed in the proton coupled electron transfer (PCET) reaction of ascorbate monoanion with hexacyanoferrate(III) ion in water suggest an influence of the cations on the proton/electron double tunnelling event in the PCET process, which can lead to the extensive tunnelling in the presence of higher concentrations of cations. The evidence comprised, among others: a) observation of the primary kinetic salt effect at low ion concentrations and the linear dependence of the rate constant on the cation concentration in the presence of higher salt concentrations; b) kinetic isotope effect and thermochemical analysis involving the comparison of driving forces for the sequential ET/PT or PT/ET pathways with the observed activation free energy in the reaction, which strongly suggests a PCET reaction; c) change of kinetic isotope effect (KIE) from $k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 4.6$ in the absence of ions to $k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 3.3$ in the presence of $1.0 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, where KIE decreases linearly with the increase of cation concentration; d) the isotope effects on Arrhenius pre-factor $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 2.3$ at $0.5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, which differs from the $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 0.97$ in the absence of cations; e) isotope difference in the enthalpies of activation $\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}) = 1.3 \text{ kJ/mol}$ in the presence of $0.5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, which differs markedly from the expected semiclassical value, and also from the $\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}) = 3.9 \text{ kJ/mol}$ in the absence of added cations. The results are discussed in terms of termolecular encounter complex consisting of redox partners and the cation, where the cation can be found in a near proximity of the reaction activated complex. The observation of “extensive” tunnelling in the reaction has been explained applying a „Marcus-like tunneling“ model for hydrogen tunnelling, where a solvent-cage dynamics similar to that in an enzyme active site is assumed, in accordance with existing theoretical predictions.

136 pages, 44 figures, 32 tables, 2 schemes, 227 references, original in Croatian

Thesis deposited in the Central Chemical Library, Faculty of Science - Department of Chemistry, Horvatovac 102A, Zagreb

Keywords: cation / proton coupled electron transfer / solvent cage dynamics / tunneling

Mentor: Dr.sc. Stanko Uršić, Associated Professor

Reviewers: Dr.sc. Hrvoj Vančik, Full Professor

Dr.sc. Stanko Uršić, Associated Professor

Dr.sc. Zlatko Mihalić, Associated Professor

Thesis accepted: 2. November, 2011.

1. UVOD

Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona (*proton coupled electron transfer - PCET*) su reakcije u kojima dolazi do usklađenog prijelaza elektrona i protona u jednom reakcijskom stupnju.^{1,2,3} Ove reakcije imaju vitalnu ulogu u velikom broju važnih bioloških procesa, kao što su fotosinteza, disanje i brojne enzimske reakcije.^{1,4} Smatra se da veliki broj procesa u biologiji uopće ne bi bio moguć bez sprežanja elektrona i protona. Osim toga, reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona su zastupljene i u brojnim kemijskim, elektrokemijskim i drugim heterosustavima kao što su filmovi i nanostrukture.¹ Po uzoru na PCET reakcije u fotosustavu II se razvijaju nove vrste solarnih gorivih ćelija.⁵ Stoga se danas PCET naveliko istražuje i eksperimentalno^{1,3,4,6-9} i teorijski.^{2,5,10-13}

Reakcije u kojima dolazi do spregnutog prijelaza elektrona i protona (PCET) imaju određene zajedničke karakteristike s reakcijama prijelaza elektrona (*electron transfer - ET*) i reakcijama prijelaza protona (*proton transfer - PT*).¹³ U svakoj od navedenih reakcija dolazi do preraspodjele naboja, koju prati značajno sprežanje s okolnim medijem. Već dugo je poznato da prisutnost iona značajno utječe na reakcije prijelaza elektrona.¹⁴⁻¹⁸ Međutim, utjecaj iona na PCET reakcije do danas je vrlo malo ispitan, iako su ioni prisutni u velikom broju bioloških i kemijskih PCET sustava. Ca^{2+} i Cl^- ioni su sastavni dio OEC kompleksa (*oxygen evolving complex*) u fotosustavu II, u kojemu u nizu PCET procesa dolazi do oksidacije vode do kisika.^{19,20} Fe^{3+} ion je prisutan u β podjedinici enzima ribonukleotid reduktaze, koji sudjeluje u replikaciji DNA.²¹ Nedavno su objavljena početna teorijska istraživanja o utjecaju koordiniranih kationa na mehanizam PCET reakcije u acilamidnim jedinicama, koja predviđaju utjecaj kationa na reakcijski mehanizam.^{22,23} U sklopu istraživanja utjecaja enzimske dinamike na učinkovitost tuneliranja protona,²⁴⁻²⁶ u reakciji prijelaza hidrida (PCET) između NADPH i dihidrofolata, koju katalizira enzim dihidrofolat reduktaza utvrđeno je da promjena ionske jakosti utječe i na brzinu i na kinetički izotopni učinak reakcije, što se tumači kao utjecaj na učinkovitost tuneliranja.²⁷

Cilj i svrha ove disertacije je istražiti a) utječu li ioni na mehanizam PCET reakcije, te b) različite manifestacije tog fenomena. Pretpostavka od koje se polazi je da ioni utječu na temeljne karakteristike PCET reakcije. S obzirom da u PCET reakciji dolazi do prijelaza elektrona i protona, tijekom reakcije dolazi do promjene u raspodjeli naboja. Stoga je moguće očekivati da bi prisutnost iona u blizini reakcijskog aktiviranog kompleksa mogla utjecati na

reakciju. U prilog polaznoj pretpostavci ide i činjenica da PCET reakcije, isto kao i reakcije prijelaza elektrona, značajno ovise o okolišu,^{5,13} čija svojstva također ovise o prisutnosti iona. Utjecaj iona na PCET reakciju mogao bi se manifestirati kao promjena brzine, kinetičkog izotopnog učinka i aktivacijskih parametara reakcije.

U disertaciji je prikazano istraživanje kinetike i mehanizma interakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi i u smjesama otapala koje imaju manju polarnost. S obzirom da ispitivana reakcija uključuje dva anionska reaktanta, u sklopu ovog istraživanja ispituje se utjecaj kationa na PCET reakciju. Ispitivanja su provedena kod male ionske jakosti, te u prisutnosti većih koncentracija kationa.

Istraživanje utjecaja kationa na navedenu reakciju pruža dodatni uvid u temeljne karakteristike PCET procesa. Osim toga, mogao bi doprinijeti razumijevanju važnih bioloških procesa, kao što je oksidacija vode do kisika u OEC kompleksu fotosustava II, koji u blizini reakcijskog centra sadržava ione. Dobiveni kinetički i aktivacijski parametri (Arrheniusovi eksponencijalni i predeksponencijalni parametri) daju uvid u dinamičke karakteristike procesa u solvatnom kavezu, kao i uvid u eventualne sličnosti s enzimskim reakcijama, što je osobito fundamentalno pitanje.

Proučavanje kinetike i mehanizma ove reakcije uključuje standardne kinetičke metode za određivanje konstanti brzina reakcije u različitim reakcijskim uvjetima, primjenom UV-Vis spektrofotometrije, pH-metrije i drugih metoda.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona - PCET

PCET reakcije prema općoj definiciji obuhvaćaju sve reakcije u kojima dolazi do prijelaza elektrona i protona.⁵ Reakcije u kojima elektron i proton prelaze između istog donora i akceptora tj. reakcije prijelaza atoma vodika - HAT (*hydrogen atom transfer*) reakcije - su se intenzivno proučavale zadnjih sto godina zbog svoje velike zastupljenosti i značaja u kemijskim i u biološkim sustavima.^{3,8} Prijelaz elektrona i protona može se odvijati spregnuto (usklađeno) u jednom reakcijskom stupnju ili stupnjevito (prvo dolazi do prijelaza protona, nakon čega slijedi prijelaz elektrona, PT/ET ili obratno ET/PT).¹ Spregnuti i stupnjeviti procesi teorijski se obično promatraju unutar jedinstvenog okvira, bez obzira na značajne razlike u mehanizmu.⁵

Zadnjih se godina termin PCET uobičajeno odnosi na spregnuti prijelaz elektrona i protona. Unutar ovog područja još uvijek nema jedinstvenog dogovora u svezi s nomenklaturom. PCET reakcije (spregnuti prijelaz elektrona i protona) se vrlo često dijele na HAT reakcije (HAT kao podvrsta PCET-a) u kojima elektron i proton prelaze između istog donora i akceptora ($A-H + B \rightarrow A + H-B$), te na PCET reakcije u užem smislu, u kojima elektron i proton prelaze između različitih donora i akceptora ($AH-B + C^+ \rightarrow A^-BH^+ + C$).^{1,3} Prema podjeli koju je uveo Nocera,⁴ PCET reakcije se mogu podijeliti na jednosmjerne i dvosmjerne reakcije, s obzirom na akceptor protona. Jednosmjerne PCET reakcije su one u kojima elektron i proton prelaze na isti akceptor, a dvosmjerne one u kojima elektron i proton prelaze na različite akceptore. Dvosmjerni PCET procesi su vrlo zastupljeni u biološkim sustavima, u kojima je prijelaz elektrona na velike udaljenosti spregnut s prijelazom protona na male udaljenosti. Za jednosmjerni PCET koriste se još i nazivi CEP⁹ (*concerted electron-proton transfer*), EPT^{1,12} (*electron-proton transfer*), CPET^{7,28} (*concerted proton-electron transfer*) i ETPT¹³ (*concerted electron transfer proton transfer*), te za dvosmjerni PCET nazivi CEP⁹ (*bidirectional concerted electron-proton transfer*) i MS-EPT¹ (*multiple site electron-proton transfer*). U PCET reakcije ubrajaju se i reakcije u kojima dolazi do prijelaza $2e^-/1H^+$, tj. reakcije prijelaza hidrida.^{1,29}

Temeljne karakteristike PCET procesa su prijelaz elektrona i protona u jednom reakcijskom stupnju, te izravno sprezanje elektrona i protona u procesu.^{4,21} Koncept sprezanja elektrona i protona već je dugo poznat u termodinamičkom smislu.⁴ Pourbaix je 1950.-ih uveo u

primjenu dijagram koji prikazuje ovisnost redoks potencijala o pH. Westheimer je 1949. na temelju kinetičkog izotopnog učinka (*kinetic isotope effect* – KIE) utvrdio sprezanje protona s redoks procesom u reakciji oksidacije alkohola s kromnom kiselinom. Analiza KIE je postupno postala standardna metoda za analizu organskih, anorganskih i enzimskih reakcija koje uključuju elektron i proton. Spregnuti prijelaz elektrona i protona (PCET) je po prvi put kao reakcijski mehanizam predložio T. J. Meyer 1981. godine za reakciju komproporcionacije rutenijevih bipiridilnih kompleksa, u kojoj je izmjeren kinetički izotopni učinak $k_H/k_D = 16,1$.³⁰ Početkom 1990.-tih Nocera i sur. su sintetizirali intramolekularni kompleks, u kojemu su u otapalu niske dielektrične konstante donor i akceptor elektrona povezani vodikovim vezama - simetrični karboksilatni solni most.³¹ Na ovom kompleksu je utvrđena značajna promjena brzine ispitivane ET reakcije, uslijed promjene strukturne matrice za prijelaz protona. Tako je prvi put izravno utvrđen utjecaj protona na brzinu procesa prijelaza elektrona. Na temelju ovih rezultata Cukier je 1994. postavio prvu PCET teoriju.³² S povijesnog stajališta, PCET teorija se razvila iz Marcusove teorije prijelaza elektrona,³³ i s njom povezanih teorija za vibracijski dijabatni prijelaz protona.^{34,35} Kasnije, sve do danas, PCET teorija se sustavno razvija u nizu radova. Najznačajniji doprinos imaju dvije grupe autora, predvođene s Cukierom^{2,13,36} i Hammes-Schiffer.^{5,10,11,12,29,37-43} U početnoj Cukierovoj teoriji koordinata za prijelaz protona se tretira kao unutarnja reorganizacija konfiguracije reaktanata.² Izraz za konstantu brzine uključuje Franck-Condonovo prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija. Cukier PCET reakciju opisuje kao dvostruki tunelski događaj, koji uključuje tuneliranje i elektrona i protona. Kasnije Hammes-Schiffer sa sur. poopćuje ovu teoriju, uvođenjem dvije međusobno neovisne kolektivne koordinate otapala, koje odgovaraju prijelazu elektrona i protona.^{12,29,37,38} Unutar ove teorije, PCET reakcija se opisuje kao skup većeg broja reakcijskih kanala, koji se odnose na (a)dijabatne prijelaze između miješanih elektron-protonskih vibronskih stanja.^{5,12} U početnim verzijama teorije otapalo se opisivalo kao dielektrični kontinuum,^{37,38} a kasnije se prešlo na opis eksplicitnog molekularnog okoliša.^{5,39} Daljnja proširenja teorije uključuju dinamičke učinke vibracijskog gibanja konfiguracije $D \cdots H \cdots A$ (D – donor, A – akceptor protona).^{5,39} Unutar ove teorije reakcije se dijele na HAT i PCET s obzirom na stupanj adijabatnosti prijelaza protona, gdje se HAT odnosi na reakcije u kojima je prijelaz protona elektronski adijabatan, a PCET na reakcije u kojima je prijelaz protona elektronski dijabatan.⁵ Teorija se primjenjuje na reakcije u otopini i u proteinskom okolišu. Costentin i Savéant su modificirali dijelove teorije za primjenu na elektrokemijske PCET reakcije.⁴⁴

Spregnuti (usklađeni) prijelaz elektrona i protona je zastupljen u velikom broju bioloških, biokemijskih i kemijskih sustava,^{1,4,7,8,19-21,45-52} te se stoga danas naveliko proučava.^{1-13,23,36,53,54} Posljednih deset godina broj objavljenih radova u području PCET-a ubrzano se povećava (broj radova se povećao desetak puta u odnosu na prethodno razdoblje). Na temelju ovih istraživanja utvrđeno je vrlo složeno ponašanje PCET sustava. U PCET reakcijama su izmjereni kinetički izotopni učinci, od malih^{13,55-57} do iznimno velikih vrijednosti, te čak i inverzni KIE.^{58,59} U reakcijama niza Os kompleksa s kinonima izmjereni su „kolosalni“ KIE, k_H/k_D od 180 do 400.^{60,61} U nekoliko slučajeva izmjerena je inverzna ovisnost KIE o temperaturi (KIE se povećava s porastom temperature).^{56,58,59,62} U velikom broju enzimskih PCET reakcija,^{24,25,63} te u manjem broju reakcija u otopini^{58,62} u području oko sobne temperature utvrđena je temperaturna neovisnost KIE i omjer Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora $A_H/A_D \gg 1$, što nije moguće objasniti niti semiklasičnom teorijom, niti uvođenjem Bellove korekcije tuneliranja.

Ispitan je veliki broj reakcija u kojima elektron i proton prelaze između istog donora i akceptora - HAT reakcija,^{8,55,62,64,65} te dvosmjernih PCET reakcija.^{9,28,66-68} Na temelju ovih istraživanja dobiveni su uvidi u temeljne karakteristike PCET procesa. Potvrda PCET mehanizma uobičajeno se temelji na kinetičkom izotopnom učinku i na termokemijskoj analizi, uz primjenu „kvadratne sheme“ u okviru koje se uspoređuju ΔG° hipotetskog početnog ET ili PT procesa s eksperimentalno određenom ΔG^\ddagger u reakciji ($\Delta G^\ddagger \geq \Delta G^\circ$).^{3,69} Na velikom broju primjera je pokazano da se primjenom Marcusove križne relacije (vidi Teorijska osnovica, str. 37.) dobivaju konstante brzine u skladu s eksperimentalno izmjerenim vrijednostima. To je potvrda, da je Marcusova teorija zaista prikladan okvir koji se može primijeniti i za opis PCET reakcija.^{3,8,28} Brzina PCET procesa ovisi o standardnoj reakcijskoj Gibbsovoj energiji, ΔG° . PCET proces je termodinamički povoljniji od stupnjevitog procesa, budući da se usklađenim prijelazom elektrona i protona izbjegava nastajanje međuprodukata visoke energije.^{3,69} Brzina tj. $RT \ln k$ PCET reakcije linearno ovisi o ΔG° , u slučaju kada je $\lambda \gg |\Delta G^\circ|$.^{70,71} U dvosmjernoj PCET reakciji tirozina s osmijevim kompleksima, ΔG° je varirana promjenom redoks potencijala oksidansa, te promjenom pK_a proton akceptora.⁷⁰ U oba slučaja dobivena je linearna ovisnost $RT \ln k$ o ΔG° , s nagibom pravca 0,6. Odstupanje nagiba pravca od teorijski predviđene vrijednosti (0,5) se tumači uključenjem pobuđenih vibronskih stanja u reakciju. Sličan rezultat dobiven je i u reakciji komproporcionacije Ru kompleksa.⁷¹ U velikom broju PCET reakcija eksperimentalno je utvrđena ovisnost brzine reakcije o pH.^{66,70} Kod (dvosmjernih) PCET reakcija u kojima dolazi do prijelaza protona na

neki bazični proton akceptor, brzina ovisi o pK_a baze (o kojoj ovisi ΔG°), te je ovisnost o pH samo prividna,⁷⁰ u skladu s teorijskim predviđanjima^{1,72,73} i komputacijskom analizom.⁵⁴ Kod PCET reakcija u kojima dolazi do prijelaza protona na vodu u okolnom mediju, prema Sjödinu ovisnost brzine o pH je temeljno svojstvo PCET reakcije, te je vjerojatno posljedica ovisnosti ΔG° o pH.^{53,67,68,74} To međutim nije opće prihvaćena ideja i tema je velikog broja rasprava.^{1,70,72}

PCET reakcija (kao i ET reakcija) se odvija na račun reorganizacije konfiguracija reaktanata i produkata te okoliša. Reorganizacijsku energiju, λ , je moguće odrediti na temelju konstanti brzina reakcija samoizmjene.^{3,69,75} Usporedbom s reorganizacijskom energijom odgovarajuće ET reakcije utvrđeno je da je u velikom broju slučajeva $\lambda(\text{PCET})$ približno jednaka $\lambda(\text{ET})$.^{3,55,69,76} To je posljedica dvaju suprotnih efekata: zahtjevniji prijenos dviju čestica kod PCET-a kompenzira se manjom vanjskom reorganizacijskom energijom, u slučaju kada elektron i proton prelaze između istog donora i akceptora, s obzirom da dolazi do manje preraspodjele naboja. Međutim, u slučaju dvosmjernih PCET reakcija, kada elektron i proton prelaze u različitim smjerovima, vanjska reorganizacijska energija PCET reakcije je znatno veća od vanjske reorganizacijske energije usporedive ET reakcije,^{3,28,51,66,76} te će PCET mehanizam biti povoljniji jedino u slučaju znatne termodinamičke prednosti PCET mehanizma.^{68,77} Unutarnja reorganizacijska energija PCET reakcije često je približno jednaka zbroju reorganizacijskih energija ET-a i PT-a. Reakcije prijelaza protona između elektronegativnih atoma (O, N) u vodi se odvijaju brzinom blizu difuzijske granice, dok je prijelaz protona s C obično znatno sporiji. Prema Marcusovoj terminologiji, PT reakcije (Marcusova teorija je primjenjena i za opis PT reakcija),⁷⁸ a stoga i PCET reakcije koje uključuju C-H vezu imaju znatno veću reorganizacijsku energiju od reakcija koje uključuju O-H ili N-H vezu.⁶⁹ Postoje i slučajevi u kojima je $\lambda(\text{PCET})$ znatno veća i od $\lambda(\text{ET})$ i od $\lambda(\text{PT})$.⁷⁹ Pritom bi značajnu ulogu moglo imati nastajanje prethodnog kompleksa, te dijabatni učinci vezani za PCET. U ovom slučaju obično je povoljniji stupnjeviti mehanizam. Iako PCET proces značajno ovisi o reorganizacijskoj energiji, utjecaj otapala na PCET reakcije zasad je vrlo oskudno ispitan.⁸⁰

Na brzinu i mehanizam PCET reakcije značajno utječe i udaljenost između donora i akceptora protona. Pritom manja udaljenost odgovara većoj brzini i manjem KIE.^{30,37,71,76} Učinak se uglavnom pripisuje utjecaju na vibronsko sprezanje, budući da o udaljenosti ovisi prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija (vidi Teorijska osnovica, str. 45.). Uspoređena je brzina i KIE dviju reakcija Ru polipiridilnih kompleksa za koje je komputacijski utvrđena

različita PT udaljenost. U reakciji kompleksa s manjom udaljenosti izmjerena je za oko red veličine veća brzina, te smanjeni KIE (11,4 vs 16,1).^{71,76} Nazočnost vodikove veze između donora i akceptora protona, budući da utječe na udaljenost, također ima važnu ulogu u PCET procesu.¹ Smatra se, da je u nazočnosti vodikove veze u prvom redu povećano sprezanje,^{1,54} ali isto tako da vodikova veza može dovesti do smanjenja unutarnje reorganizacijske energije,^{9,74} te do promjene standardne reakcijske Gibbsove energije.⁸¹ Osim toga, u PCET reakciji metalnih kompleksa i fenola s internom vodikovom vezom utvrđeno je da dinamički utjecaji okoline mogu dovesti do dodatnog smanjenja udaljenosti, te do povećane vjerojatnosti tuneliranja protona, što se manifestira kao značajno povećanje brzine i smanjenje KIE (vidi niže, str 11.).⁹

Ispitan je veliki broj reakcija metalnih kompleksa: Fe,^{55,56,64,82} Co,⁵⁶ Ru,^{9,30,66,83-85} Re,⁶⁷ Os^{60,61,70,79,85} Ir,^{86,87} V,⁷⁵ malih organskih molekula: fenola,^{28,67,68,74,88,89} kinona,^{58,90} stabilnih radikala (TEMPO[•]),^{62,65,80} biološki važnih molekula kao što su askorbat^{80,91-97} i tokoferol;⁹⁸ te veliki broj složenih sustava, npr. solni mostovi,^{59,99-105} Pacmanovi i Hangmanovi kompleksi.⁴⁸ Posebno velika pozornost posvećena je istraživanju reakcija niza supstituiranih fenola s različitim metalnim kompleksima. To su uobičajeno dvosmjerne PCET reakcije u kojima dolazi do prijelaza elektrona s fenola na metalni kompleks, te do prijelaza protona s OH skupine fenola na određeni proton akceptor. Pritom proton prelazi ili na vodu,^{68,74} ili na neki drugi proton akceptor, kao što je npr. bazna komponenta nekog pufera^{54,67,70} ili na bazu koja je prisutna kao supstituent na fenolnom prstenu.^{9,28,57,74,106,107} U zadnjem slučaju, između donora i akceptora protona je prisutna interna vodikova veza, za koju je utvrđeno da značajno utječe na PCET reakciju. Ovakvi sustavi posebno su zanimljivi jer oponašaju biološku oksidaciju tirozina.^{54,66,68,86,107-111}

Naveliko se ispituju i složeni sustavi, kao što su solni mostovi. Simetrični³¹ i asimetrični^{59,99-102,112} solni mostovi bili su među prvim PCET sustavima na kojima je izravno utvrđen utjecaj protona na brzinu procesa prijelaza elektrona, na temelju usporedne kinetičke analize na D-[amidinij-karboksilat]-A kompleksu i zamjenjenom D-[karboksilat-amidinij]-A kompleksu, koji se međusobno razlikuju po strukturnoj matrici za prijelaz protona. Zamjena donora (D) i akceptora (A) je dovela do ubrzanja ~ 40 puta. Amidinij-karboksilatni solni mostovi s različitim donorima i akceptorima elektrona su značajni jer po strukturi nalikuju arginin-aspartat solnom mostu, koji je važni strukturni motiv u biologiji.⁴ Na temelju ovih istraživanja nastoji se utvrditi uloga protona u transportu elektrona kroz mrežu vodikovih veza u proteinima. Kao elektron donori uobičajeno se koriste metalni kompleksi u pobuđenom

stanju: različiti Ru(II) bipiridilni kompleksi,^{100,101} Zn(II) porfirinski kompleksi...^{59,99,102} Na Zn(II) porfirinskom solnom mostu je izmjeren inverzni KIE, te inverzna ovisnost KIE o temperaturi; $k_H/k_D \sim 0,9$ na 120 K, koji na 300 K iznosi $\sim 1,2$.⁵⁹ Ovo se tumači unutar modela prema kojemu „fluktuacije unutar vodikovog mosta dinamički moduliraju elektronsko sprezanje“.^{4,113} Inverzni kinetički izotopni učinak kod niske temperature se tumači uključanjem pobuđenih stanja u reakciju, uzimajući u obzir njihovu termalnu napućenost. Kod D-supstrata, uslijed manjeg razmaka između vibracijskih stanja, veća je napućenost pobuđenih stanja. Povećano prekrivanje vibracijskih valnih funkcija u pobuđenom stanju pospješuje tuneliranje elektrona, što dovodi do veće brzine reakcije s D u odnosu na reakciju s H. Ovo neuobičajeno izotopno ponašanje je utvrđeno i u reakciji oksidacije ubikinola (UQH₂-0) s fotoaktivnim rutenijevim bipiridilnim kompleksom.⁵⁸ KIE koji je na višoj temperaturi normalan, na niskoj temperaturi postaje inverzan (283-313 K), što ujedno znači i inverznu ovisnosti KIE o temperaturi.¹⁰³ U zadnje vrijeme počeli su se ispitivati i ionizirani solni mostovi.^{104,105}

PCET u biološkim sustavima

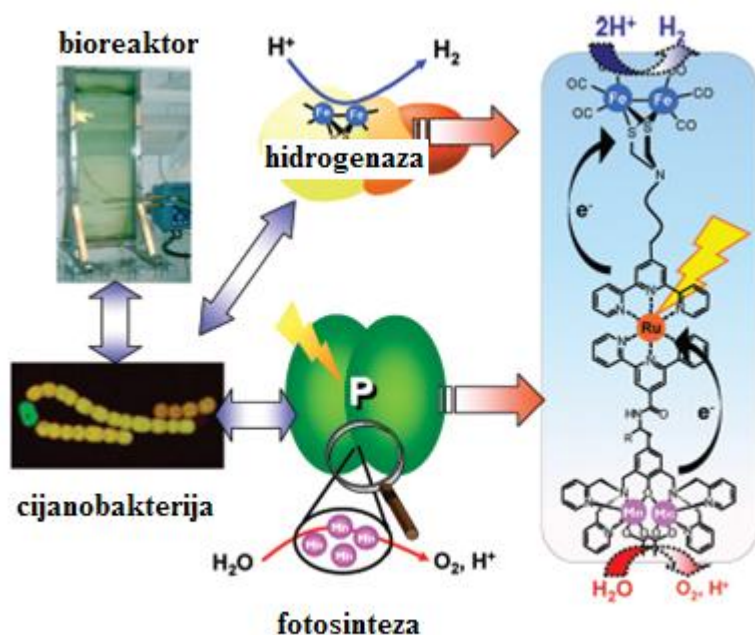
Svakako jedan od najvažnijih bioloških sustava u kojemu dolazi do usklađenog prijelaza elektrona i protona je fotosustav II (*photosystem II* - PSII), u kojemu unutar OEC kompleksa dolazi do oksidacije vode do O₂ (vidi Teorijska osnovica, str 53.).^{19,20,36,45,73,114-118} Struktura OEC-a^{119,120} i mehanizam oksidacije vode u njemu još nisu nedvojbeno utvrđeni. OEC je CaMn₄ klaster, koji je preko tirozina Yz povezan s klorofilom P₆₈₀ koji apsorbira svjetlosnu energiju. Fotokemijski potaknuti ET dovodi do oksidacije Yz do neutralnog tirozil radikala Yz[•].^{1,19,45,121} To je vrlo važan primjer PCET mehanizma, u kojemu je prijelaz elektrona na veliku udaljenost, s Yz na klorofil P₆₈₀⁺, spregnut s prijelazom protona na vodikovom vezom vezani obližnji histidinski ostatak. Osim tirozina Yz, PSII sadrži još jedan redoks aktivni tirozin, Y_D, koji je također vezan vodikovom vezom na obližnji histidin, te se oksidira PCET mehanizmom.¹²² Nastali Yz[•] oksidira vodu unutar OEC-a u nizu stupnjeva koji čine Kokov ciklus. Oksidacija vode do kisika u OEC-u uključuje niz PCET procesa, čime se izbjegava nastajanje intermedijera visoke energije.^{20,45,123-126} Utvrđeno je da ioni Ca²⁺¹²⁷⁻¹³¹ i Cl⁻^{127,132-135} imaju važnu ulogu u OEC-u.

Fotosinteza u zelenim biljkama, algama i cijanobakterijama vrlo efikasno koristi Sunčevu energiju za prijetvorbu CO₂ i H₂O u ugljikohidrate bogate energijom. Po uzoru na PSII, nastoje se dizajnirati integrirani optoenergetski sustavi⁵² kao što su molekularne nakupine,

fotoelektrokemijske ćelije, nanostrukturirani sklopovi⁶ – umjetna fotosinteza (Slika 2.1.1.).^{51,136-138} Osnovni cilj umjetne fotosinteze je iskorištavanje solarne energije za dobivanje spojeva bogatih energijom, s mogućnošću dugotrajne pohrane energije - solarnih energenata. Pritom se primjenjuju isti temeljni principi kao u PSII. Ključna reakcija na kojoj se temelji proizvodnja solarnih energenata je oksidacija vode do kisika. Oksidacija vode je vrlo složeni proces koji zahtjeva gubitak četiri elektrona i četiri protona s dvije molekule vode, povezano s nastajanjem O-O veze. U sklopu modularnog pristupa povezuje se apsorpcija svjetla, prijelaz elektrona u pobuđenom stanju (MLCT – *metal to ligand charge transfer*) te PCET proces koji uključuje usmjereni prijelaz elektrona na veliku udaljenost.⁶ Posebni zahtjev pri tome je kontrola akumulativnih prijelaza elektrona; uslijed apsorpcije svjetla dolazi do prijelaza jednog elektrona, dok je oksidacija vode multielektronski proces. Oksidacija vode se odvija u otopini (uz Ce(IV)) ili na elektrodi uz prisutnost molekularnog katalizatora. Prvi dizajnirani, dobro definirani molekularni katalizator koji je primjenjen za oksidaciju vode bio je „plavi dimer“, *cis,cis*-[(bpy)₂(H₂O)Ru^{III}ORu^{III}(H₂O)(bpy)₂]⁴⁺ (bpy – 2,2'-bipiridin).^{6,139,140} Osim njega, ispitana je reaktivnost velikog broja Ru polipiridilnih kompleksa,^{6,108,109,139,141-144} Os,⁶ Ir¹³⁷ te niz Mn^{51,145,146} kompleksa.

PCET oksidacija/redukcija tirozina je važna i u drugim biološkim sustavima, kao što je enzim ribonukleotid reduktaza (RNR), koji katalizira redukciju nukleozid difosfata (NDP).^{4,103,147} RNR ima vitalnu ulogu u replikaciji i obnavljanju strukture DNA, i predmet je velikog broja istraživanja. Početno, tirozil radikal (Y122[•]) nastaje u PCET reakciji s Fe^{II}-OH₂ iz diželjezovog klastera. Potom Y122[•] pokreće redukciju NDP-a, oksidacijom cisteinskog ostatka (C439) na udaljenosti od 35 Å, pri čemu nastaje tiil radikal (S[•]). Redukcija Y122[•] radikala odvija se kroz niz sekvencijalnih PCET procesa, koji uključuju veći broj tirozinskih ostataka.

Osim RNR, utvrđeno je da još veliki broj enzima koristi PCET mehanizam: citokrom *c* oksidaza (katalizira respiratornu redukciju O₂),^{1,46} citokrom *c* peroksidaza,¹ superoksid dismutaza (katalizira disproporcionaciju superoksida, O₂⁻ i tako sprječava oksidativne procese koje on pokreće),¹ sojina lipoksigenaza (SLO),^{63,148,149} dihidrofolat reduktaza (DHFR)...¹⁵⁰ S obzirom da u PCET reakciji male promjene u udaljenosti između donora i akceptora protona mogu dovesti do značajne promjene u brzini reakcije, PCET mehanizam osigurava selektivnost enzima prema supstratima.⁴



Slika 2.1.1. Umjetna fotosinteza – procesi unutar PSII se oponašaju s ciljem razvoja novih vrsta solarnih gorivih ćelija⁵²

Tuneliranje protona – Marcusianski model tuneliranja

U velikom broju enzimskih reakcija aktivacije C-H veze je utvrđeno tuneliranje protona.^{24,25,151-158} Proveden je veliki broj istraživanja na enzimima: SLO,^{25,148,149,159-161} DHFR,^{27,151,162,163} alkohol dehidrogenazi,^{25,151,164} glukoza oksidazi,¹⁵¹ format dehidrogenazi,¹⁶⁵ timidilat sintazi (ključni enzim u sintezi DNA),¹⁶⁶ morfinon reduktazi (MR),^{26,152,167-169} aromatskoj amin dehidrogenazi,^{152,170} protoklorofilidnoj oksidoreduktazi...¹⁷¹ Vrlo važna tema u ovom području je utjecaj enzimske dinamike na tuneliranje protona.^{153,172-175} Opće prihvaćena ideja je da enzimsko gibanje utječe na efikasnost tuneliranja - „tuneliranje spregnuto s okolišem“ ili „vibracijski pospješeno tuneliranje“.^{24-26,151,153,165,176,177} U ovim reakcijama je tuneliranje protona utvrđeno na temelju KIE i/ili odstupanja od semiklasično predviđenih vrijednosti reakcijskih aktivacijskih parametara. Osim H/D omjera Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora $A_H/A_D \ll 1$ koji je moguće objasniti unutar Bellove korekcije tuneliranja,¹⁷⁸ u velikom broju enzimskih reakcija utvrđen je omjer $A_H/A_D \gg 1$, mala razlika u energiji aktivacije, te temperaturna neovisnost KIE u području oko sobne temperature, što nije moguće objasniti unutar Bellovog pristupa. Ovakvi rezultati obično se objašnjavaju unutar modela kojega su razvili Kuznetsov i Ulstrup¹⁷⁹ za dijabatne reakcije prijelaza atoma vodika, na temelju ranijih modela Dogonadze-a, Kuznetsova i Levicha. Knapp i Klinman¹⁴⁸ su model

prilagodili da bi objasnili veliki broj enzimskih reakcija aktivacije C-H veze. Model se temelji na Marcusovoj teoriji prijelaza elektrona – Marcusianski model tuneliranja (prema R. A. Marcusu).^{24,25,154,155,160,161} Prema ovom modelu prijelaz protona je kvantno-mehanički događaj, spregnut s dinamikom okolnog proteina (vidi Teorijska osnovica, str. 50.).

Proučava se utjecaj mutacija enzima,^{26,162,166,167,180} promjene temperaturnog područja,^{25,164} te utjecaj ionske jakosti²⁷ na tuneliranje. U velikom broju slučajeva ove promjene dovode do promjene temperaturne ovisnosti KIE i do promjene omjera A_H/A_D , što se tumači promjenom organizacije aktivnog mjesta enzima. Jedan od najproučavanijih enzima je sojina lipooksigenaza, koja katalizira odvajanje atoma vodika od linolenske kiseline.^{25,148,161} Reakcija se odvija PCET mehanizmom,^{63,149} u kojemu elektron prelazi iz π -sustava linolenske kiseline na željezo, a proton s ugljika supstrata na hidroksilni ligand kofaktora. Za nemutirani enzim izmjeren je KIE, $k_H/k_D=81$ i $A_H/A_D = 18$, a kod mutiranih enzima KIE od 92 do 112, te A_H/A_D od 4 do 0,12.¹⁵⁵

Smatra se da su proteinska dinamika i tuneliranje protona važni i u PCET procesima u fotosustavu II.¹⁸¹ Prema Warshelu doprinos dinamičkih fluktuacija okoliša u aktivnom mjestu enzima je sličan doprinosu dinamičkih učinaka otapala unutar solvatnog kaveza u reakciji u otopini, te enzimskoj katalizi najviše doprinose elektrostatički učinci/elektrostatička preorganizacija.¹⁸²

Tuneliranje protona je utvrđeno i u velikom broju PCET reakcija u otopini.^{55,60-62,80,106} Prema Johanissenu⁹ i Pudney-u²⁶ dinamičke fluktuacije udaljenosti (promotivne vibracije, kompresivni način vibriranja) nisu isključivo svojstvo enzimskih reakcija, već su važne i u reakcijama u otopini. Johanissen i sur.⁹ su primjenili modificirani Marcusianski model tuneliranja na dvosmjernu PCET reakciju fenola s internom vodikovom vezom. Utvrdili su da promotivne vibracije (vibracije spregnute s reakcijskom koordinatom, koje dovode do promjene udaljenosti između donora i akceptora protona) mogu dovesti do smanjenja prevladavajuće udaljenosti između donora i akceptora u reakciji u odnosu na ravnotežnu udaljenost, te do povećane vjerojatnosti tuneliranja protona, što se manifestira kao znatno povećanje brzine i smanjenje kinetičkog izotopnog učinka reakcije.

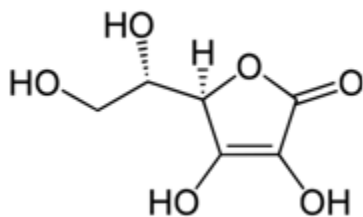
Scrutton i sur.,^{26,176,183} u okviru istraživanja dinamike u enzimskim reakcijama koje uključuju tuneliranje protona ističu da osim udaljenosti između donora i akceptora protona važnu ulogu ima i konstanta sile (*force constant* u literaturi^{205,218}) kompresivnog moda, k_x . Smatra se da značajna temperaturna ovisnost KIE odražava promotivne vibracije s malom k_x , dok temperaturna neovisnost KIE odražava ili promotivne vibracije s velikom k_x ili nepostojanje

promotivnih vibracija spregnutih s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona.¹⁷⁶ Pokazali su da smanjenje udaljenosti između donora i akceptora protona (D-A) ne mora dovesti do smanjenja KIE, budući da radi smanjenja D-A udaljenosti dolazi do povećanja potencijalne konstante kompresivnog moda, k_x , što dovodi do porasta KIE.²⁶ Na ovaj način se tumači relativna nepromjenjivost KIE, uslijed promjene udaljenosti između donora i akceptora protona. Prema Scruttonu ukupnu reakciju potrebno je promatrati kao kombinaciju reakcijskog smjera preko reakcijske energetske barijere i tuneliranja kroz barijeru. Kompresivni način vibriranja može utjecati na oba reakcijska smjera tj. može dovesti i do smanjenja visine i do smanjenja širine barijere. Smanjenje visine barijere povećava vjerojatnost dostizanja prijelaznog stanja tj. vjerojatnost reakcijskog mehanizma preko reakcijske energetske barijere. Smanjenje širine barijere (tj. D-A udaljenosti) povećava vjerojatnost tuneliranja kroz barijeru. Komputacijska analiza je pokazala da kod smanjenja širine barijere može doći do smanjenja doprinosa reakcijskog mehanizma koji uključuje tuneliranje kroz barijeru (iako je povećana vjerojatnost tuneliranja), budući da tada postaje povoljniji i reakcijski mehanizam preko barijere. Zasad još uvijek nije moguće razlikovati jeli povećanje brzine, povezano za kompresivni način vibriranja, posljedica „olakšanog“ prijelaza preko barijere ili povećane vjerojatnosti tuneliranja.

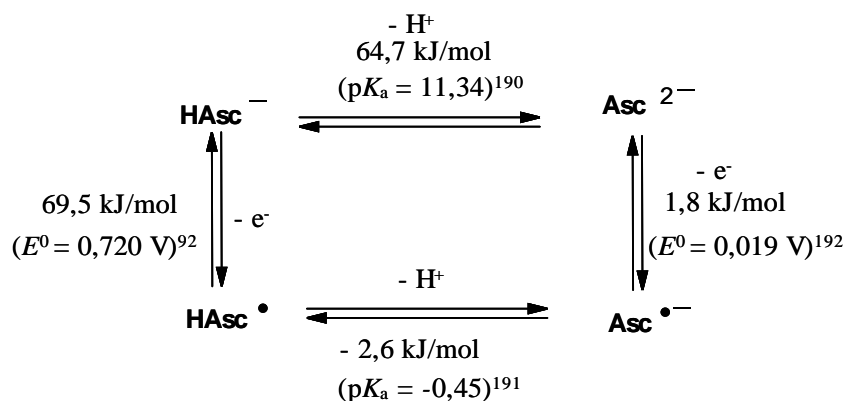
2.2. Askorbinska kiselina

Iako se askorbinska kiselina (vitamin C) proučava već dugi niz godina, još je mnogo nepoznanica vezano za njezina kemijska, biokemijska i biološka svojstva.¹⁸⁴ A. Szent-Györgyi je 1928. g. izolirao tvar formule $C_6H_8O_6$, koja zbog sličnih kemijskih svojstava uronskoj kiselini dobiva ime heksuronska kiselina. Kasnije se pokazalo da je izolirana tvar esencijalni sastojak svih do tada poznatih pripravaka s antiskorbutnim djelovanjem, pa joj je naziv promijenjen u askorbinska kiselina. Uskoro je određena i kemijska struktura *L*-askorbinske kiseline (1933. g. Sir W. N. Haworth i A. Szent-Györgyi; Sir W. N. Haworth – 1937. g. Nobelova nagrada za kemiju; A. Szent-Györgyi – 1937. g. Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu).

L-askorbinska kiselina ili 2-okso-*L*-treo-heksono-1,4-lakton-2,3-en-diol¹⁸⁵ gotovo je planarni γ -laktonski prsten, s endiolnom skupinom u susjedstvu karbonilne skupine, te s kiralnim lancem vezanim na C(4) atom laktonskog prstena.¹⁸⁶⁻¹⁸⁸ Ova konjugirana struktura daje askorbatu vrlo specifična kemijska svojstva.

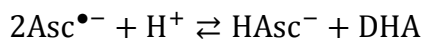
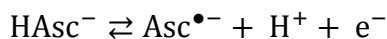
Slika 2.2.1. Struktura *L*-askorbinske kiseline

Askorbinska kiselina (H_2Asc) je dvoprotonska kiselina.^{184,189} U prvom disocijacijskom stupnju disocira proton s 3-OH skupine askorbinske kiseline, pri čemu nastaje askorbatni monoanion (Shema 2.2.1), $HAsc^-$, koji je dobro opisan s dvije rezonancijske strukture, te je dodatno stabiliziran intramolekularnim vodikovim vezama.¹⁸⁹ U drugom disocijacijskom stupnju disocira proton s 2-OH skupine askorbinske kiseline, te nastaje askorbatni dianion, Asc^{2-} . *L*-askorbinska kiselina ima apsorpcijski maksimum na 242 nm ($\epsilon_{max} \sim 10800 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$), te askorbatni monoanion na 265 nm ($\epsilon_{max} \sim 14500 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) u vodi.¹⁸⁹



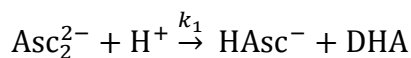
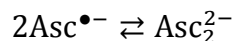
Shema 2.2.1. Termokemijska analiza *L*-askorbata u vodi (uz pK_a i E° su navedeni iznosi ΔG° izračunani prema izrazima: $\Delta G^\circ = -nFE^\circ$; $\Delta G^\circ = 2,3RTpK_a$)

Askorbatni monoanion (askorbat) je izvrstan reducens. Oksidira se u dva oksidacijska stupnja, pri čemu kao krajnji produkt nastaje dehidroaskorbinska kiselina (DHA).¹⁸⁹



Jednoelektronskom oksidacijom askorbata nastaje askorbil radikal anion, $Asc^{\bullet-}$, vrlo stabilni π -radikal, čiji je nespareni elektron delokaliziran preko visoko konjugiranog trikarbonilnog π -sustava.^{189,191,193} Identificiran je u pH području od 1-13.¹⁹¹ Apсорpcijski maksimum askorbil radikal aniona je na 360 nm ($\epsilon_{max} \sim 3380 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) u vodi.¹⁹²

Askorbil radikal anion, nastao oksidacijom askorbata, u sljedećem stupnju se disproporcionira do askorbata i DHA, prema shemi koju je predložio Bielski:^{193,194}



Dva askorbil radikal aniona daju dimer (Asc_2^{2-}), $K = 10^3 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3$, koji reagira s H_3O^+ , $k_1 \sim 10^{10} \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$, ili s H_2O , $k_2 \sim 10^5 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$. Reakcija s vodom je znatno sporija, budući da je voda slabiji proton donor od H_3O^+ , pa se brzina disproporcionacije naglo povećava povećanjem kiselosti od pH 8 do 4. Određene su konstante brzine velikog broja reakcija $\text{Asc}^{\bullet-}$ s nizom radikala, metalnih kompleksa, fenola, kinona...¹⁹³ Askorbil radikal anion reagira i s O_2 , pri čemu nastaje superoksid radikal, $\text{O}_2^{\bullet-}$, brzinom $\sim 10^2 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$ što je znatno sporije od brzine disproporcionacije.¹⁹⁵

Oksidacija askorbata se može odvijati stupnjevito, tako da HAsc^- prvo otpusti elektron,¹⁹² pri čemu nastaje vrlo kiseli HAsc^{\bullet} radikal ($\text{p}K_a = -0,45$),¹⁹¹ koji u sljedećem stupnju brzo otpušta proton (ET/PT) ili PCET mehanizmom, tako što askorbat u jednom reakcijskom stupnju predaje i elektron i proton (spregnuti prijelaz elektrona i protona), uz nastajanje $\text{Asc}^{\bullet-}$. Poznat je veći broj reakcija askorbata koje se odvijaju PCET mehanizmom: reakcija s citokromom b_{561} ,⁹⁴⁻⁹⁶ nizom kinona,^{90,97} nitrozobenzenom,^{91,93} TEMPO $^{\bullet}$ (TEMPO - 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil) radikalom^{8,80,92} i tokoferolom.⁹⁸

Već dugo je poznato da tragovi prijelaznih metala kataliziraju oksidaciju askorbata s O_2 .^{195,196} Prijelazni metali vežu ili koordiniraju askorbat (i kisik), pritom uklanjaju spinsko ograničenje za reakciju s kisikom i povećavaju brzinu oksidacije. Stabilnost otopina askorbata se postiže dodatkom kompleksirajućih agensa kao što je EDTA (etilendiamintetraacetat) ili DETAPAC (dietilentriaminopentaacetat), koji uklanjaju prijelazne metale iz otopine. Međutim, za kompleks Fe(III)-EDTA je utvrđeno da je još učinkovitiji katalizator oksidacije askorbata od slobodnog Fe(III) iona u otopini. Oksidacija askorbinske kiseline i askorbata u odsutnosti metalnih katalizatora (autooksidacija) je vrlo spora.^{189,196} Za razliku od njih askorbatni dianion (Asc^{2-}) podliježe značajnoj autooksidaciji ($k \sim 100 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$), pri čemu nastaju superoksid radikal ($\text{O}_2^{\bullet-}$) i askorbil radikal anion ($\text{Asc}^{\bullet-}$).¹⁸⁹

Fiziološka uloga

Čovjek, za razliku od većine životinja i biljaka, uslijed nedostatka enzima *L*-gulonolakton oksidaze koji sudjeluje u završnom stupnju sinteze, ne može sintetizirati askorbinsku kiselinu.¹⁸⁴ Zbog toga, te zbog iznimno važne uloge u organizmu askorbinsku kiselinu ubrajamo u vitamine. Nedostatak ovog vitamina u prehrani u prošlosti je bio poguban za veliki broj mornara, radi posljedica razvoja skorbuta. Vitamin C je vrlo važan antioksidans u biološkim sustavima.^{184,197} Sudjeluje u nizu oksido-redukcijskih procesa kao hvatač slobodnih radikala.¹⁸⁹ Na taj način sprječava oksidaciju proteina, lipida i DNA. Oksidacijom askorbata nastaje relativno nereaktivni askorbil radikal anion ($\text{Asc}^{\bullet-}$). Ovo svojstvo čini askorbat superiornim biološkim antioksidansom. Smatra se da je askorbat krajnji reducens u oksidativnom lancu radikalskih reakcija, pa se koncentracija $\text{Asc}^{\bullet-}$ u biološkim tkivima i tekućinama koristi kao mjera oksidativnog stresa.^{189,193} Askorbat uklanja veliki broj štetnih radikala, uključujući hidroksil (HO^{\bullet}), alkoksil (RO^{\bullet}), peroksil (ROO^{\bullet}) radikal...^{189,193,198} Na granici s lipidnim sustavima reducira lipofilni tokoferoksil radikal, te na taj način regenerira vitamin E, koji ima važnu ulogu u sprječavanju peroksidacije lipidnih komponenata staničnih membrana.¹⁹⁸ Regenerira i glutation radikal (GS^{\bullet}), vrlo važni fiziološki antioksidans u vodenim sredinama. Askorbil radikal anion koji pritom nastaje se enzimski regenerira do askorbata i dehidroaskorbinske kiseline. Askorbil radikal anion reagira s O_2 , pri čemu nastaje vrlo mala količina superoksid aniona, $\text{O}_2^{\bullet-}$, koju uspijeva ukloniti enzim superoksid dismutaza, te se tako sprječavaju daljnje radikalske reakcije. U istraživanjima provedenim *in vitro* je utvrđeno da askorbat prisutan u niskim koncentracijama može imati i prooksidativni učinak. Askorbat reducira katalitičke metale kao što su Fe^{3+} i Cu^{2+} , pri čemu nastaju vrlo štetni hidroksil i alkoksil radikali koji potom pokreću lančane radikalske reakcije.¹⁸⁹ Međutim na temelju istraživanja provedenih *in vivo* smatra se da u normalnim fiziološkim uvjetima askorbat nema prooksidativni učinak.

Askorbat ima i niz drugih uloga u organizmu. Esencijalni je kofaktor velikog broja enzimskih reakcija hidroksilacije *in vivo*, tako što održava metalne ione u aktivnom centru enzima u reduciranom stanju.^{184,199} Sudjeluje u biosintezi kolagena (važna strukturna komponenta koštanog i vezivnog tkiva, čini oko trećinu proteina u organizmu), noradrenalina, serotonina, karnitina (sudjeluje u transportu masnih kiselina do mitohondrija gdje se koriste za dobivanje energije)... Sudjeluje u metabolizmu kolesterola i masnih kiselina. Važan je za normalnu funkciju folne kiseline, za redukciju methemoglobina u funkcionalni hemoglobin. Potpomaze apsorpciju željeza. Smatra se da sudjeluje i u prijenosu elektrona i stvaranju protonskog

gradijenta na unutrašnjoj membrani mitohondrija, što pokreće sintezu ATP-a. Kao kofaktor citokroma P450 sudjeluje u biotransformaciji ksenobiotika. Glavni izvor vitamina C su svježe voće i povrće. Preporučena dnevna doza je 100 - 120 mg.¹⁹⁹ Ortomolekularna medicina (liječenje bolesti i čuvanje dobrog zdravlja mijenjanjem koncentracija supstancija koje se inače normalno nalaze u ljudskom tijelu), čiji je utemeljitelj L. Pauling, preporuča uzimanje znatno većih doza vitamina C, 1-18 g/dan.²⁰⁰ Prema Paulingu (dobitnik 2 Nobelove nagrade: 1954. g. za kemiju, 1963. g. za mir)²⁰¹ primjerene količine vitamina C mogu poboljšati zdravlje i kvalitetu života pomažući u borbi protiv niza bolesti i usporavajući procese starenja. Vitamin C ima opće antivirusno djelovanje, u prevenciji i liječenju prehlade, gripe i drugih virusnih bolesti kao što je mononukleoza, žutica, herpes. Ima važnu ulogu u zacjeljivanju rana. Efikasan je u prevenciji i liječenju kardiovaskularnih bolesti, šećerne bolesti, neurodegenerativnih bolesti, katarakte i drugih bolesti oka i usne šupljine, alergija, čak i karcinoma. Poboljšava kvalitetu života i produljuje život terminalnih bolesnika s karcinomom, a u nekim slučajevima dovodi i do potpunog povlačenja karcinoma (intravenski, > 10 g/dan).²⁰² Primjena megadoza vitamina C je još uvijek tema velikog broja rasprava.¹⁹⁹

3. TEORIJSKA OSNOVICA

3.1. Kemijska kinetika kao osnova za proučavanje reakcijskih mehanizama

Kemijska kinetika proučava brzinu kemijske reakcije.²⁰³⁻²⁰⁶ Jedna od najvažnijih primjena kinetičke analize je proučavanje reakcijskih mehanizama.²⁰⁷⁻²¹⁰ Reakcijski mehanizam predstavlja slijed događaja na molekularnoj razini kojima reaktanti prelaze u produkte. Poznavanje reakcijskog mehanizma omogućuje pouzdano predviđanje ponašanja reaktanata, razumijevanje faktora koji utječu na reakciju, te predviđanje ponašanja sličnih reakcijskih sustava. Opažanjima često odgovara veći broj mehanizama. Stoga se na početku istraživanja određene reakcije razmatra veći broj reakcijskih shema. Potom se provode testovi na temelju kojih se neke od njih (ili sve osim jedne) mogu isključiti. Pritom je važno provesti što prikladnije testove, koji će dokazati sve pretpostavke. Svaki reakcijski mehanizam je podložan reviziji u slučaju kada se pojave novi podaci, novi uvidi ili teorije o reaktivnosti.

Prijetvorba reaktanata u produkte se može odvijati u jednom reakcijskom stupnju, prijelazom kroz jedno prijelazno stanje – elementarna reakcija. Organske reakcije češće uključuju niz elementarnih reakcija, koje čine složeni reakcijski mehanizam. U slučaju kad se reakcija odvija kroz niz uzastopnih reakcija, tijekom reakcije nastaju međuprodukti. Elementarna reakcija je događaj na molekularnoj razini. Molekularnost reakcije označava broj molekula reaktanata koje sudjeluju u elementarnoj reakciji. Elementarne reakcije su obično unimolekularne ili bimolekularne. Trimolekularne reakcije, koje uključuju istovremeni susret triju molekula, su vrlo rijetke.

Prvi korak u kinetičkoj analizi reakcije je identifikacija reaktanata, produkata i međuprodukata u slučaju kada nastaju tijekom reakcije, te određivanje stehiometrijskih koeficijenata svih sudionika reakcije. Nakon toga slijedi ispitivanje brzine reakcije. Određivanje brzine reakcije se temelji na praćenju promjene koncentracije reaktanata ili produkata u vremenu. Budući da promjene koncentracije pojedinih reaktanata/produkata u jedinici vremena nisu uvijek jednake (zbog razlike u stehiometrijskim koeficijentima), brzina reakcije (v) se definira preko broja prijetvorbi reaktanata u produkte u jedinici vremena, tj. preko prirasta dosega reakcije (množine prijetvorbi), ξ :

$$v = \frac{1}{V} \frac{d\xi}{dt} = \frac{1}{\nu_i} \frac{dc_i}{dt}$$

v_i – stehiometrijski koeficijent; negativan za reaktante, pozitivan za produkte

Brzina reakcije ovisi o nizu faktora: koncentraciji reaktanata, temperaturi, tlaku, otapalu, ionskoj jakosti, prisutnosti katalizatora... Ovisnost brzine reakcije o koncentraciji reaktanata za reakciju tipa $A + B \rightarrow P$ dana je izrazom:

$$v = k[A]^a[B]^b$$

k - konstanta brzine reakcije,

a, b – red reakcije u odnosu na reaktante A i B, čiji zbroj odgovara ukupnom redu reakcije

Kombinacija dvaju gornjih izraza daje zakon za brzinu reakcije:

$$v = \frac{1}{\nu_A} \frac{d[A]}{dt} = \frac{1}{\nu_B} \frac{d[B]}{dt} = k[A]^a[B]^b$$

Glavni cilj kinetičke analize je postavljanje zakona za brzinu reakcije, koji će biti u skladu s predloženim reakcijskim mehanizmom. Pritom je potrebno odrediti konstantu brzine reakcije i red reakcije u odnosu na svaki pojedini reaktant. Zakon za brzinu reakcije je diferencijalna jednačina, koja dovodi u vezu promjenu koncentracije reaktanta/produkta reakcije u vremenu s početnim koncentracijama reaktanata. Integracijom zakona za brzinu reakcije dobije se integrirani zakon za brzinu, koji definira ovisnost koncentracije reaktanta/produkata reakcije o vremenu. Eksperimentalno utvrđena ovisnost koncentracije sudionika reakcije o vremenu se uspoređuje s pretpostavljenim zakonom za brzinu reakcije. Kada se utvrdi slaganje između pretpostavljene ovisnosti koncentracije o vremenu i eksperimentalno dobivene, moguće je na temelju integriranog zakona za brzinu odrediti konstantu brzine reakcije. Red reakcije se obično određuje tako da se redom ispituje ovisnost brzine reakcije o koncentraciji svakog pojedinog reaktanta, dok se koncentracije svih ostalih reaktanata drže konstantnim. Zbog jednostavnosti analize reakcija prvog reda, reakcije drugog ili višeg reda se često ispituju u uvjetima pseudo-prvog reda. Uvjeti pseudo-prvog reda se postižu tako da se koncentracije svih reaktanata, osim onog koji se prati, drže konstantne tijekom reakcije, obično tako što se drže u velikom suvišku. Iz izmjerene konstante brzine (k_{obs}) se, uzimajući u obzir koncentracije reaktanata u suvišku, dobije mikroskopska konstanta brzine (k).

U slučaju složenih reakcija, koje uključuju veći broj uzastopnih stupnjeva, brzinu reakcije određuje najsporiji reakcijski stupanj (*rate determining step, rds*).

Ovisnost konstante brzine reakcije o temperaturi prema Arrheniusovoj jednadžbi dana je izrazom:

$$k = Ae^{-E_a/RT}$$

A – Arrheniusov predeksponencijalni faktor

E_a – energija aktivacije

Prema Eyringovoj jednadžbi, koja proizlazi iz teorije prijelaznog stanja, konstanta brzine reakcije ovisi o Gibbsovoj aktivacijskoj energiji, ΔG^\ddagger :

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$$

Usporedbom Arrheniusove i Eyringove jednadžbe proizlazi:

$$E_a = \Delta H^\ddagger + RT$$

$$A = \frac{k_B T}{h} e^{\Delta S^\ddagger/R}$$

3.1.1. Kinetički izotopni učinci

Kinetički izotopni učinak (KIE) je promjena brzine kemijske reakcije uslijed izotopne zamjene.^{203,204,207-209} Najčešća je izotopna zamjena vodika (^1H) s deuterijem (^2D), iako se koriste i druge izotopne zamjene kao npr.: $^1\text{H}/^3\text{T}$, $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$, $^{16}\text{O}/^{18}\text{O}$, $^{32}\text{S}/^{34}\text{S}$, $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$. Kinetički izotopni učinak se izražava kao omjer konstanti brzina reakcija:

$$\text{KIE} = \frac{k_{\text{H}}}{k_{\text{D}}}$$

Može biti normalan ($\text{KIE} > 1$) ili inverzan ($\text{KIE} < 1$). Kinetički izotopni učinci se mogu podijeliti na primarni, sekundarni te na KIE otapala, ovisno o tome je li izotopna zamjena izvršena na vezi koja puca ili nastaje tijekom reakcije, na nekom drugom mjestu u molekuli ili u otapalu. Izotopna zamjena osim promjene brzine reakcije (kinetički izotopni učinak), može dovesti i do promjene položaja ravnoteže – ravnotežni izotopni učinak.

Određivanje KIE-a je vrlo korisno u proučavanju reakcijskih mehanizama. Na temelju KIE možemo utvrditi mijenja li se veza na kojoj je izvršena izotopna zamjena u stupnju koji određuje brzinu reakcije, a nekad možemo dobiti i informacije o strukturi prijelaznog stanja. Osim toga, KIE je jedan od kriterija na temelju kojih je moguće razlikovati odvija li se prijelaz protona u reakciji preko reakcijske energetske barijere ili tuneliranjem kroz barijeru.

Semiklasični pristup

Budući da se atomi koji se zamjenjuju kod izotopne zamjene međusobno razlikuju po masi, izotopna zamjena utječe na ona svojstva koja ovise o masi atoma. U prvom redu dolazi do promjene frekvencije vibracijskog gibanja, ν . Prema Born-Oppenheimerovoj aproksimaciji moguće je pretpostaviti da pritom ne dolazi do promjene površine potencijalne energije tj. da elektronska struktura ostaje nepromijenjena. Frekvencija vibracijskog gibanja dana je izrazom:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m_1}}$$

k - konstanta sile veze^{205,218}

m_1 – masa lakšeg atoma, s obzirom da za $m_1 \ll m_2$, $\mu \approx m_1$ ($\mu = (m_1 \times m_2)/(m_1 + m_2)$)

Vibracijska energija (E_v) je kvantizirana i ovisi o frekvenciji vibracije:

$$E_v = \left(v + \frac{1}{2} \right) h\nu$$

$v = 0, 1, 2, \dots$ - vibracijski kvantni broj

Iz gornjih izraza je vidljivo da uslijed izotopne zamjene dolazi do promjene vibracijske energije. Na sobnoj temperaturi gotovo sve molekule su u osnovnom vibracijskom stanju, $v = 0$, tj. imaju nultu vibracijsku energiju E_0 (energiju nulte točke - *zero point energy*, ZPE):

$$E_0 = \frac{1}{2} h\nu$$

Budući da je ZPE obrnuto proporcionalna masi, molekula s težim izotopom (D) uvijek ima nižu ZPE od molekule s lakšim izotopom (H). Upravo ta razlika u energiji nulte točke (ΔZPE) dovodi do pojave kinetičkog izotopnog učinka.

Primarni kinetički izotopni učinak

Primarni KIE se javlja kada je izotopna zamjena izvršena na vezi koja puca u stupnju koji određuje brzinu reakcije. U reakcijama u kojima dolazi do prijelaza protona vrlo često je slučaj da je upravo pucanje X-H veze najsporiji reakcijski stupanj. Tada je reakcijska koordinata vibracija istezanja X-H veze. U molekuli reaktanta, uslijed razlike u frekvenciji istezanja X-H i X-D veze, postoji i H-D razlika u energiji nulte točke ($\Delta ZPE_R = ZPE_H -$

ZPE_D). Ako je u prijelaznom stanju došlo do potpunog pucanja veze, vibracija istežanja prelazi u translacijsko gibanje, te u prijelaznom stanju nema H-D razlike u energiji ($\Delta ZPE_{TS} = 0$). Stoga, u ovom slučaju H-D razlika u energiji aktivacije ($\Delta E_a = E_a^D - E_a^H$) proizlazi isključivo iz razlike u energiji nulte točke reaktanta (ΔZPE_R), što odgovara maksimalnom iznosu kinetičkog izotopnog učinka. Maksimalni iznos KIE je moguće odrediti na temelju frekvencija istežanja, koje su poznate iz vibracijskih spektara. Za dvije molekule koje se razlikuju samo po zamjeni H s D možemo pretpostaviti da imaju jednaku ΔS^\ddagger tj. da je $ZPE_{TS} - ZPE_R = \Delta G^\ddagger$.

$$\Delta G^\ddagger_H - \Delta G^\ddagger_D = (ZPE_H - ZPE_D)_{TS} - (ZPE_H - ZPE_D)_R$$

$$\Delta G^\ddagger_H - \Delta G^\ddagger_D = -(ZPE_H - ZPE_D)_R$$

$$\frac{k_H}{k_D} = \exp \left[\frac{1}{2} \frac{hc}{RT} (\tilde{\nu}_H - \tilde{\nu}_D) \right] = \exp \left[\frac{1}{2} \frac{hc}{RT} \tilde{\nu}_H \left(1 - \frac{1}{\sqrt{2}} \right) \right]$$

$\tilde{\nu}$ - valni broj istežanja X-H(D) veze

Tablica 3.1.1.1. Maksimalni iznos KIE (298 K) za disocijaciju X-H veze¹⁷⁸

veza	$\tilde{\nu}_H/\text{cm}^{-1}$	$E_a^D - E_a^H$ kJmol ⁻¹ ^a	$E_a^D - E_a^H$ / kJmol ⁻¹ ^b	KIE ^a	KIE ^b
C-H	2900	4,52	5,66	6,2	10
N-H	3100	4,81	5,97	7,0	11
O-H	3300	5,10	6,29	7,9	13
S-H	2500	3,89	5,04	4,8	8

^a izračunano iz H-D razlike u frekvenciji istežanja X-H veze

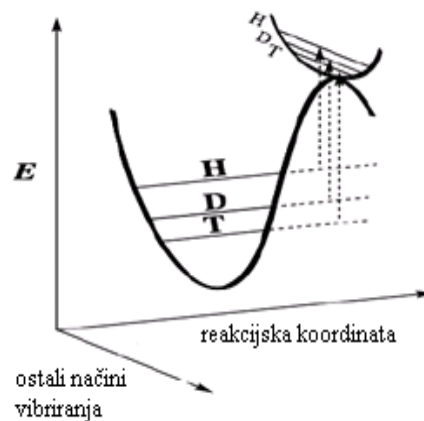
^b izračunano uzimajući u obzir vibraciju istežanja i vibracije savijanja X-H veze

Puno češći je slučaj u kojemu je X-H(D) veza u prijelaznom stanju samo djelomično pokidana. U tom slučaju X-H veza i u prijelaznom stanju ima normalne načine vibriranja, te i u prijelaznom stanju postoji H-D razlika u ZPE (ΔZPE_{TS}) koja može poništiti dio ili cijelu ΔZPE_R (Slika 3.1.1.1.). To dovodi do smanjenja KIE u odnosu na prethodni slučaj. KIE je posljedica H-D razlike u energiji nulte točke i u reaktantskom i u prijelaznom stanju.

Kinetičkom izotopnom učinku doprinose sve vibracije koje se mijenjaju od reaktantskog do prijelaznog stanja, te je KIE preciznije definiran izrazom:

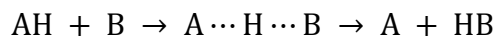
$$\frac{k_H}{k_D} \approx \prod_i^{\ddagger} \exp \left[-\frac{1}{2} \frac{h}{RT} (v_{i,H} - v_{i,D})_{\ddagger} \right] \prod_i^r \exp \left[+\frac{1}{2} \frac{h}{RT} (v_{i,H} - v_{i,D})_r \right]$$

Prvi produkt se odnosi na normalne vibracije u prijelaznom stanju, a drugi na normalne vibracije u reaktantskom stanju. Vibracija koja je reakcijska koordinata doprinosi samo reaktantskom produktu.



Slika 3.1.1.1. Dijagram reakcijske koordinate reakcije prijelaza protona. Prikazane su razlike u energijama nulte točke za H, D, T²⁴

Prema Westheimer – Melanderovom trocentričnom modelu prijelaznog stanja:



iznos KIE ovisi o simetriji prijelaznog stanja. KIE je maksimalan u slučaju simetričnog prijelaznog stanja, kada je H u prijelaznom stanju „napola prešao“ između donora i akceptora, što je vidljivo iz izraza za frekvenciju simetričnog istežanja prijelaznog stanja:²¹⁰

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \left\{ \frac{k_A}{m_A} + \frac{k_A + k_B - 2\sqrt{k_A k_B}}{m_H} + \frac{k_B}{m_B} \right\}^{1/2}$$

k_A i k_B – konstante jakosti parcijalnih veza A-H i B-H

m_A i m_B – masa A i B

To objašnjava i ovisnost KIE o standardnoj reakcijskoj Gibbsovoj energiji, ΔG° . KIE je maksimalan kada je reakcija termoneutralna.

Ipak, veliki broj slučajeva nije moguće objasniti unutar ovog modela, pogotovo u reakcijama prijelaza protona koje uključuju C-H vezu.¹⁷⁸ Oni se objašnjavaju sprežanjem prijelaza protona s „gibanjem teških jezgara“.

Ovisnost KIE o temperaturi je vidljiva iz Arrheniusovog izraza:

$$\frac{k_H}{k_D} = \frac{A_H}{A_D} e^{-(E_a^H - E_a^D)/RT}$$

KIE se smanjuje s porastom temperature. Ovisnost KIE o temperaturi je određena izotopnom razlikom u energiji aktivacije, $\Delta E_a = (E_a^D - E_a^H)$, s time da ΔE_a ne može biti veća od H-D razlike u energiji nulte točke reaktanta (ΔZPE_R). Omjer A_H/A_D kojega je moguće objasniti semiklasičnim pristupom je unutar granica $\sqrt{\mu_D/\mu_H} > A_H/A_D > \mu_H/\mu_D$, tj. 0,5 – 1,4, a uobičajeno je puno bliži 1.^{154,155,178}

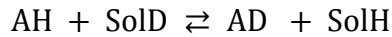
Sekundarni kinetički izotopni učinak

Sekundarni kinetički izotopni učinak se javlja kada je izotopna zamjena izvršena na vezi koja ne puca u *rds-u*, već u blizini veze koja puca. Razlikujemo α , β (γ , ϵ ...) sekundarni KIE, ovisno o tome je li izotop na α , β (γ , ϵ ...) položaju u odnosu na vezu koja puca. Obično je posljedica promjene hibridizacije veze na kojoj je izvršena supstitucija ili uključanja veze u hiperkonjugaciju. U tom slučaju dolazi do promjene konstante jakosti veze između reaktantskog i prijelaznog stanja, te stoga do promjene $\Delta ZPE(H-D)$ između reaktantskog i prijelaznog stanja ($\Delta ZPE_{TS} \neq \Delta ZPE_R$), što dovodi do pojave KIE-a. Reakcijska koordinata ne doprinosi KIE-u budući da nije pod utjecajem izotopne zamjene, pa je maksimalni sekundarni KIE po iznosu značajno manji od primarnog KIE. Ako je konstanta sile veze u prijelaznom stanju manja od konstante jakosti veze u reaktantskom stanju, KIE će biti normalan, te u obratnom slučaju inverzan. Kod promjene hibridizacije sp^3 u sp^2 maksimalni iznos KIE za prijelazno stanje jako nalik sp^2 hibridnom produktu je 1,41 (298 K), a uobičajeno između 1,15 i 1,25. Kod promjene hibridizacije sp^2 u sp^3 KIE je inverzan, s minimumom 0,71 za prijelazno stanje jako nalik sp^3 hibridnom produktu, a uobičajeni iznos je između 0,8 i 0,9.

Kinetički izotopni učinci otapala

KIE otapala se javlja uslijed izotopne zamjene u otapalu. KIE otapala mogu biti primarni, sekundarni, normalni, inverzni ovisno o ulozi otapala. Analiza izotopnih učinaka otapala se

zasniva na frakcionacijskim faktorima, ϕ . Frakcionacijski faktor je konstanta ravnoteže izmjene H i D između određenog mjesta u molekuli i otapala:



$$\phi = \frac{[\text{AD}][\text{SolH}]}{[\text{AH}][\text{SolD}]}$$

Jedna molekula može imati više od jednog izmjenjivog mjesta, s različitim frakcionacijskim faktorima. Ukupni frakcionacijski faktor molekule je produkt svih frakcionacijskih faktora.

Omjer konstanti brzina u deuteriranom i protoniranom otapalu dan je izrazom:

$$\frac{k_{\text{D}}}{k_{\text{H}}} = \frac{\prod_i^{\ddagger} \phi_{\ddagger}^i}{\prod_i^{\text{r}} \phi_{\text{r}}^i}$$

k_{H} – konstanta brzine u protoniranom otapalu

k_{D} – konstanta brzine u deuteriranom otapalu

ϕ_{\ddagger}^i – frakcionacijski faktor svih izmjenjivih mjesta u prijelaznom stanju

ϕ_{r}^i – frakcionacijski faktor svih izmjenjivih mjesta u reaktantu

Proton inventory je metoda koja se koristi za procjenu broja H atoma koji su uključeni u stupanj koji određuje brzinu reakcije.²¹¹⁻²¹³ Provodi se niz pokusa u kojima se varira udio D atoma u otapalu. Omjer konstante brzine u smjesi protoniranog i deuteriranog otapala i konstante brzine u protoniranom otapalu dan je izrazom:

$$\frac{k_{\text{x}}}{k_{\text{H}}} = \frac{\prod_i^{\ddagger} (1 - x + x\phi_{\ddagger}^i)}{\prod_i^{\text{r}} (1 - x + x\phi_{\text{r}}^i)}$$

x – množinski udio deuteriranog otapala

k_{x} – konstanta brzine u smjesi protoniranog i deuteriranog otapala

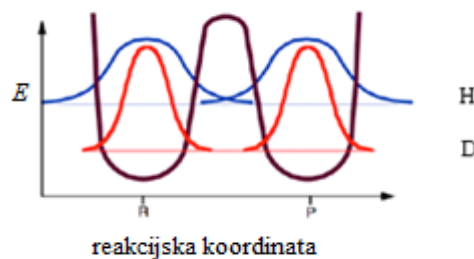
Omjer konstanti brzina ovisi o svim izmjenjivim mjestima u molekuli čiji se frakcionacijski faktori mijenjaju od reaktantskog do prijelaznog stanja. Frakcionacijski faktor se mijenja samo onim izmjenjivim mjestima koja su dio veze koja se mijenja u *rds-u*. Za te protone kažemo da se "gibaju" ili da su "u letu" za vrijeme *rds-a*. Vrlo često, za jednostavne O-H i N-H veze, može se pretpostaviti da su frakcionacijski faktori izmjenjivih mjesta u reaktantu približno 1, jer su odgovarajuće veze približne jakosti i u reaktantu i u otapalu. Stoga je moguće zanemariti nazivnik u gornjem izrazu, pa proizlazi da je:

$$\frac{k_{\text{x}}}{k_{\text{H}}} = (1 - x + x\phi_1)(1 - x + x\phi_2)(1 - x + x\phi_3)\dots$$

Svaki član u ovom izrazu predstavlja jedan proton koji se "giba" u prijelaznom stanju, a ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 su frakcionacijski faktori tih protona. Prikazuje se ovisnost k_x/k_H o $x(D_2O)$, te iz tipa ovisnosti određuje broj protona koji su uključeni u stupanj koji određuje brzinu reakcije: ako je uključen samo 1 proton, ovisnost je linearna, ako su uključena 2 protona ovisnost je kvadratna...

3.1.2. Tuneliranje

Tuneliranje je kvantno-mehanički fenomen, prema kojemu čestica, na temelju svoje valno-čestične prirode, umjesto da ide preko barijere, prolazi kroz barijeru.¹⁷⁸ Tuneliranje se javlja kad se vjerojatnost nalaženja čestice "ispod" barijere na reaktantskoj strani prekriva s vjerojatnosti nalaženja čestice "ispod" barijere na produktnoj strani. Što je veće prekrivanje funkcija gustoće vjerojatnosti, veća je vjerojatnost tuneliranja (Slika 3.1.2.1.).^{153,161}



Slika 3.1.2.1. Primjer tuneliranja H/D iz osnovnog vibracijskog stanja. Prekrivanje reaktantskih (R) i produktnih (P) funkcija gustoće vjerojatnosti H i D. Što je veće prekrivanje R i P funkcija gustoće vjerojatnosti, veća je vjerojatnost tuneliranja.¹⁵³

Tuneliranje je karakteristično za čestice male mase, kao što su elektron i proton. Prema de Broglie-u valna duljina čestice, λ , obrnuto je proporcionalna masi, m :

$$\lambda = \frac{h}{(2mE)^{1/2}}$$

Važan je odnos između udaljenosti na koju čestica može tunelirati i širine barijere kroz koju čestica treba proći. Valna duljina elektrona je značajno veća od valne duljine protona, pa elektron može tunelirati na znatno veće udaljenosti (10-30 Å) od protona (0,6-0,7 Å).^{153,161} Prijelaz elektrona se, prema Marcusovoj teoriji, uvijek događa tuneliranjem.³³ U velikom broju slučajeva, širina barijere za prijelaz protona je usporediva s udaljenosti na koju proton može tunelirati. Vjerojatnost tuneliranja protona značajno ovisi o malim promjenama udaljenosti između donora i akceptora protona.¹⁶¹

Tuneliranje protona se uobičajeno opisuje polazeći od Bellovog modela tuneliranja, koji se temelji na teoriji prijelaznog stanja (TST).¹⁷⁸ Bell je u izraz za konstantu brzine uveo korekcijski faktor, Q , koji odražava sklonost izotopa tuneliranju:²⁰⁷

$$k = Q A e^{-E_a/RT}$$

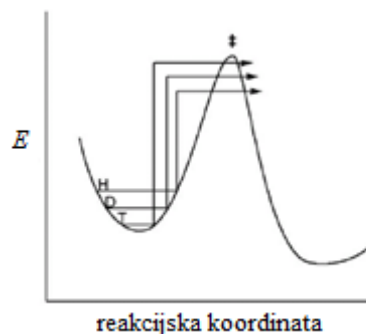
$$Q = \frac{e^\alpha}{\beta - \alpha} (\beta e^{-\alpha} - \alpha e^{-\beta})$$

$$\alpha = E_a/RT$$

$$\beta = 2a\pi^2(2mE_a)^{1/2}/h$$

Vjerojatnost tuneliranja ovisi o masi čestice koja tunelira, širini ($2a$), te o visini barijere. Vjerojatnost je veća, što je barijera viša, budući da je u tom slučaju prijelaz preko barijere nepovoljan,⁶² te što je barijera uža.

Prema Bellovom modelu tuneliranja teži izotop tunelira bliže vrhu reakcijske energetske barijere, na mjestu gdje je barijera uža, što odgovara višoj energiji aktivacije (Slika 3.1.2.2.).^{178,214}

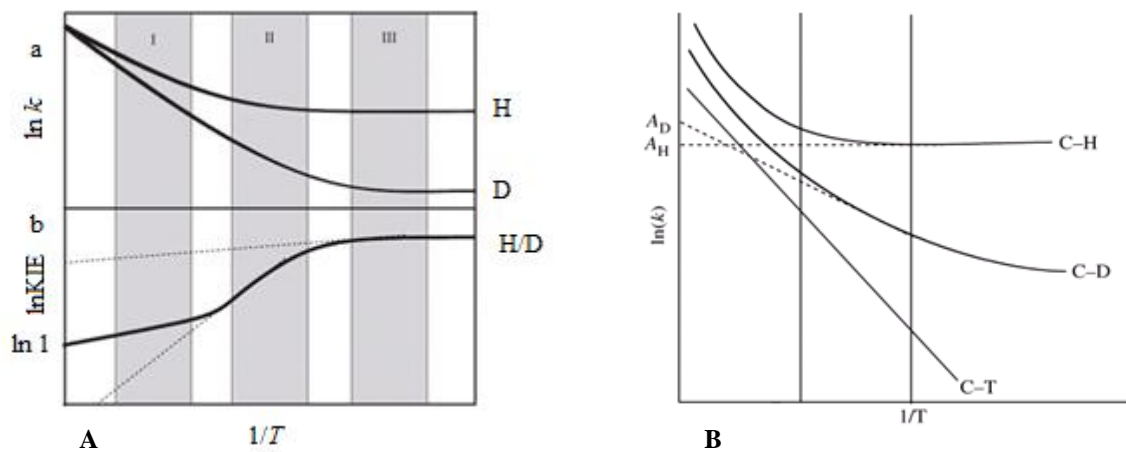


Slika 3.1.2.2. Prikaz Bellovog modela tuneliranja: dijagram tumači razlike u energijama aktivacije u reakcijama prijelaza H, D i T. Teži izotop tunelira bliže vrhu reakcijske energetske barijere što dovodi do različitog KIE za različite izotope¹⁶¹

U velikom broju slučajeva tuneliranje protona dovodi do pojave KIE znatno većeg od maksimalne semiklasično predviđene granice (Tablica 3.1.1.1., str 22.). Međutim u slučaju znatnog tuneliranja i H i D KIE može biti i manji od gornje semiklasično predviđene granice.^{13,35} Tuneliranje može dovesti i do odstupanja od Arrheniusove ovisnosti konstante brzine o temperaturi.^{24,153,154} Na niskim temperaturama, budući da nema termalne energije za aktivaciju, doprinos tuneliranja može postati značajan, što može dovesti do zakrivljene Arrheniusove ovisnosti. Tuneliranje (iz osnovnog stanja) je neovisno o temperaturi.

Razlikuju se tri eksperimentalna temperaturna područja s obzirom na tuneliranje (Slika 3.1.2.3.A). U slučaju kada nema tuneliranja, na visokim temperaturama, $\ln k$ se linearno

povećava, a $\ln \text{KIE}$ se linearno smanjuje s porastom temperature: područje I – bez tuneliranja. U ovom slučaju ($E_a^D - E_a^H$) i A_H/A_D su unutar semiklasično predviđenih granica (vidi str. 22. i 24.). Na vrlo niskim temperaturama, kada se i H i D reakcije odvijaju tuneliranjem: područje III – ekstenzivno tuneliranje. U tom slučaju, konstante brzine i H i D reakcija, te stoga i KIE su neovisni o temperaturi. Tada je ($E_a^D - E_a^H$) ≈ 0 , te A_H/A_D značajno veći od semiklasične granice. U području između niskih i visokih temperatura, Arrheniusova ovisnost konstante brzine i KIE-a o temperaturi je zakrivljena, s obzirom da lakši izotop počinje tunelirati kod viših temperatura: područje II – umjereno tuneliranje. U ovom slučaju ($E_a^D - E_a^H$) je veća, te A_H/A_D manji od semiklasične granice. $A_H/A_D < 1$ upućuje na tuneliranje samo lakšeg izotopa, a $A_H/A_D > 1$ na tuneliranje obaju izotopa



Slika 3.1.2.3.

A) a) Arrheniusova ovisnost konstante brzine H i D reakcije o recipročnoj temperaturi, b) Arrheniusova ovisnost KIE (k_H/k_D) o recipročnoj temperaturi. Označena su tri eksperimentalna temperaturna područja: I – nema tuneliranja, II – umjereno tuneliranje, III – ekstenzivno tuneliranje.²⁴ B) Arrheniusova ovisnost konstante brzine H, D i T reakcije o recipročnoj temperaturi u području II.¹⁶¹

Tipični pokazatelji koji upućuju na tuneliranje su KIE veći od maksimalne semiklasično očekivane vrijednosti, zakrivljena Arrheniusova ovisnost, te temperaturna neovisnost KIE.²¹⁵ To su jasni pokazatelji u slučaju kad je mehanizam nedvojbeno definiran. Osim ovih, standardni pokazatelji tuneliranja su odstupanje ($E_a^D - E_a^H$) i A_H/A_D od semiklasično očekivanih vrijednosti. A_H/A_D je posebno dobar test za tuneliranje u slučaju kada KIE nije veći od maksimalne semiklasične vrijednosti.¹⁷⁸ U nekim slučajevima u kojima je doprinos tuneliranja značajan, što se vidi iz velikog KIE, ($E_a^D - E_a^H$) i A_H/A_D , mogu biti i unutar semiklasičnih granica.^{178,216}

3.1.3. Utjecaj ionske jakosti

Gibbsova energija (ili prema starijem nazivu slobodna energija), funkcija stanja G , je izotermni termodinamički potencijal.²¹⁷ Gibbsova energija je ekstenzivno svojstvo, pa osim o temperaturi i tlaku, ovisi i o množini svih prisutnih sastojaka u sustavu. Ukupni diferencijal funkcije G sustava koji sadržava sastojke A (n_A) i B (n_B) je:

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_{T,n_A,n_B} dp + \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_{p,n_A,n_B} dT + \left(\frac{\partial G}{\partial n_A}\right)_{p,T,n_B} dn_A + \left(\frac{\partial G}{\partial n_B}\right)_{p,T,n_A} dn_B$$

tj.

$$dG = Vdp - SdT + \sum_i \mu_i dn_i$$

gdje je μ_i kemijski potencijal sastojka i , definiran izrazom:

$$\mu_i = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{p,T,n_j \neq n_i}$$

U slučaju kada se neki kemijski proces odvija u izobarno-izotermnim okolnostima (p , T konstantni):

$$dG = \sum_i \mu_i dn_i$$

Kemijski potencijal sastojka i u realnoj otopini ovisi o aktivitetu sastojka, a_i :²⁰⁵

$$\mu_i = \mu_i^\circ + RT \ln a_i$$

μ_i° - standardni kemijski potencijal, tj. kemijski potencijal sastojka i u standardnom stanju (hipotetsko stanje sastojka u otopini u kojoj je molalitet sastojka jednak standardnom molalitetu, $b^\circ = 1 \text{ mol kg}^{-1}$)

$$a_i = \gamma_i \frac{b_i}{b^\circ} \quad \gamma_i \rightarrow 1 \quad \text{kada} \quad b_i \rightarrow 0$$

γ_i – koeficijent aktiviteta sastojka i

b_i – molalitet sastojka i

Sva odstupanja od idealnosti su sadržana u koeficijentu aktiviteta. Ova odstupanja su izraženija u otopinama iona u odnosu na otopine neutralnih molekula. Odstupanju u

otopinama iona u prvom redu doprinose Coulombske interakcije između iona. Prema Debye-Hückelovoj teoriji ionskih otopina (1923.), Coulombske interakcije između iona predstavljaju prevladavajući doprinos odstupanju od idealnosti. U sklopu ove teorije se razmatraju učinci ionske atmosfere. Ionska atmosfera je vremenski uprosječena sfera oko centralnog iona, u kojoj je broj iona suprotnog naboja veći od broja iona istoga naboja koji ima centralni ion; te ima ukupni naboj po iznosu isti, ali suprotnog predznaka od naboja centralnog iona. Uslijed elektrostatičke interakcije centralnog iona s pripadajućom ionskom atmosferom dolazi do smanjenja energije, tj. do smanjenja kemijskog potencijala i koeficijenta aktiviteta centralnog iona. Prema Debye-Hückelovoj teoriji, Gibbsova energija interakcije iona i s jednim molom ostalih iona je dana izrazom:²⁰³

$$\Delta G_i = -\frac{z_i^2 e^2 N}{(4\pi\epsilon^0)2\epsilon} \times \frac{\kappa}{1 + \kappa a}$$

gdje je

$$\kappa = \sqrt{\frac{8000\pi N e^2 I}{(4\pi\epsilon^0)\epsilon k_B T}}$$

a – promjer iona

I – ionska jakost otopine

Ionska jakost otopine je precizno definirana mjera koncentracije soli, koja uzima u obzir koncentracije i naboj svih iona u otopini:

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

Iz ovog modela proizlazi granični Debye-Hückelov zakon, prema kojemu je moguće izračunati koeficijent aktiviteta iona u razrijeđenim otopinama, do $I = 0,01$ (kod iona većeg naboja granica je kod niže ionske jakosti):

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \sqrt{I}$$

A - konstanta, u vodenoj otopini na 298 K iznosi 0,509.

Kod većih ionskih jakosti dolazi do značajnog odstupanja od ovog zakona, te koeficijent aktiviteta opisuje empirijski, prošireni Debye-Hückelov zakon:²⁰³

$$\log \gamma_i = - \frac{Az_i^2 \sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

Iako se B konstanta može interpretirati kao mjera najbližeg pristupa iona, najbolje je tretirati kao prilagodljivi empirijski parametar.²⁰⁵

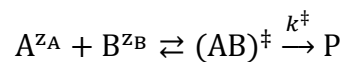
Primarni kinetički solni učinak

Primarni kinetički solni učinak je utjecaj ionske jakosti na konstantu brzine reakcije između ionskih reaktanata.²⁰³⁻²⁰⁵ Brønsted i Bjerrum su, na temelju ispitivanja utjecaja koncentracije elektrolita na veći broj reakcija između ionskih reaktanata u vodi, utvrdili da konstanta brzine reakcije tipa $A^{z_A} + B^{z_B} \rightarrow P$ ovisi o ionskoj jakosti prema izrazu:²¹⁸

$$k = k_0 \times 10^{2Az_A z_B \sqrt{I}}$$

k_0 – konstanta brzine reakcije kod ionske jakosti $I = 0$

Ovisnost konstante brzine koju su dobili Brønsted i Bjerrum moguće je izvesti iz teorije prijelaznog stanja i Debye-Hückelove teorije. Prema teoriji prijelaznog stanja:



reaktanti A^{z_A} i B^{z_B} su u ravnoteži s aktiviranim kompleksom $(AB)^\ddagger$, s konstantom ravnoteže K_a^\ddagger :

$$K_a^\ddagger = \frac{a_{(AB)^\ddagger}}{a_A a_B} = \frac{[(AB)^\ddagger]}{[A][B]} \times \frac{\gamma_\ddagger}{\gamma_A \gamma_B}$$

S obzirom da je brzina proporcionalna koncentraciji (a ne aktivitetu) aktiviranog kompleksa proizlazi:

$$v = k^\ddagger [(AB)^\ddagger] = k^\ddagger K_a^\ddagger [A][B] \times \frac{\gamma_A \gamma_B}{\gamma_\ddagger}$$

$$k = k_0 \times \frac{\gamma_A \gamma_B}{\gamma_\ddagger}$$

Ako se uzme da je naboj aktiviranog kompleksa ($z_A + z_B$), te da koeficijent aktiviteta slijedi prošireni Debye-Hückelov zakon dobije se Brønsted-Debye-Hückelova jednadžba:

$$\log k = \log k_0 + 2z_A z_B \frac{A\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}}$$

Prema ovoj jednadžbi brzina reakcije između dva aniona ili dva kationa se povećava s porastom ionske jakosti, dok se brzina reakcije između dva suprotno nabijena iona smanjuje. Jedna od primjena ovog izraza je određivanje naboja reaktanata. Kod ispitivanja utjecaja ionske jakosti obično se koriste soli koje su kemijski inertne i najmanje sklone stvaranju ionskih asocijata, tipično alkalijski metali i anioni kao: CF_3SO_3^- , ClO_4^- , $p\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-$.²⁰³

3.2. Marcusova teorija prijelaza elektrona

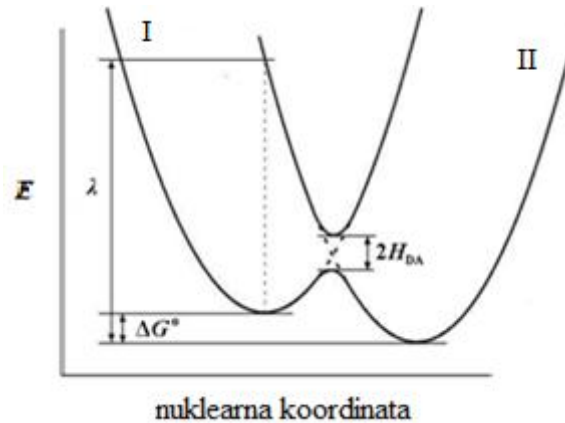
Klasična teorija

Marcusova teorija prijelaza elektrona (R. A. Marcus, Nobelova nagrada za kemiju, 1992. g.), odnosi se na bimolekularne reakcije prijelaza elektrona na vanjskoj sferi.^{33,219} To su reakcije kod kojih dva reaktanta između kojih dolazi do prijelaza elektrona ne dijele zajednički atom ili grupu, tj. kod kojih je interakcija elektronskih orbitala slaba. Za razliku od njih, postoje i reakcije prijelaza elektrona na unutrašnjoj sferi kada reaktanti dijele zajednički atom ili grupu.

Reakcija prijelaza elektrona prikazuje se kao prijelaz elektrona između dva dijelatna elektronska stanja (dijelatna – između stanja nema interakcije), od kojih jedno odgovara stanju kada je elektron lokaliziran na donoru, a drugo stanju kada je elektron lokaliziran na akceptoru (Slika 3.2.1., str. 34.). Kao reakcijsku koordinatu Marcus uvodi kolektivnu “nuklearnu koordinatu” koja uključuje vibracijske koordinate sudionika reakcije, čije se ravnotežne vrijednosti prije i poslije prijelaza elektrona razlikuju, te orijentacijske koordinate molekula okolnog otapala: prosječna ravnotežna orijentacija molekula otapala oko reaktanata i produkata se razlikuje, budući da se razlikuju po naboju. Potencijalna energija reaktanata (produkata) i okolnog medija, koja ovisi o konfiguraciji reaktanata (produkata) i o okolnom mediju, prikazuje se parabolama. Sjecište parabola odgovara prijelaznom stanju, tj. konfiguraciji jezgara kod koje elektron prelazi između dvije dijelatne površine slobodne energije. Elektron se zbog male mase giba značajno brže od jezgara, pa se prema Franck-Condonovom principu može pretpostaviti da za vrijeme prijelaza elektrona jezgre ne mijenjaju položaj. Stoga, do prijelaza elektrona može doći tek onda kada je postignuta konfiguracija jezgara kod koje je energija reaktanata i okolnog medija jednaka energiji produkata i okolnog medija. Ta energija se postiže na račun reorganizacije konfiguracija reaktanata (promjenom duljine veza, kuteva između veza), te na račun reorganizacije otapala (promjena orijentacije molekula otapala), što odgovara ukupnoj reorganizacijskoj energiji, λ . Nakon prijelaza elektrona sustav se reorganizira do konfiguracije jezgara koja odgovara ravnotežnoj konfiguraciji produkata i okolnog medija.

Kad sustav jednom dosegne prijelazno stanje, vjerojatnost prijelaza elektrona s donora na akceptor ovisi o sprezanju elektronskih orbitala donora i akceptora, H_{DA} . U blizini sjecišta dijelatnih stanja dolazi do interakcije dijelatnih površina slobodne energije, te do cijepanja energijskih nivoa. Razmak između nastalih energijskih nivoa ovisi o elektronskom sprezanju i jednak je $2H_{DA}$. U slučaju jakog sprezanja, dolazi do značajnog spuštanja barijere, te svaki dolazak reaktanta do prijelaznog stanja završava prijetvorbom u produkt ($\kappa \sim 1$), proces je

adijaban. Kada je elektronsko sprezanje slabo, sustav više puta dosegne prijelazno stanje prije nego dođe do prijetvorbe u produkte ($\kappa < 1$). Takav proces je dijaban. Elektronsko sprezanje, H_{DA} , ovisi o udaljenosti između reaktanata; što je manja udaljenost, sprezanje je veće.



Slika 3.2.1. Ovisnost energije donora (I) i akceptora (II) elektrona o „nuklearnoj koordinati“ u reakciji prijelaza elektrona. ΔG° - standardna reakcijska Gibbsova energija, λ - reorganizacijska energija, H_{DA} - energija sprezanja

Klasična Marcusova teorija se odnosi na adijabatske reakcije prijelaza elektrona. Konstanta brzine reakcije prijelaza elektrona, k_{ET} , prema klasičnoj teoriji dana je izrazom:

$$k_{ET} = \kappa A \sigma^2 e^{-\Delta G^\ddagger / RT}$$

$A\sigma^2$ ima dimenzije frekvencije sudara,

σ – prosječna udaljenost između donora i akceptora u prijelaznom stanju,

κ – transmisivski koeficijent

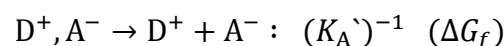
ΔG^\ddagger - Gibbsova aktivacijska energija reakcije prijelaza elektrona:

$$\Delta G^\ddagger = \frac{(\Delta G^\circ + \lambda)^2}{4\lambda}$$

ΔG° - standardna reakcijska Gibbsova energija,

λ - reorganizacijska energija

Reakcija prijelaza elektrona se odvija u tri stupnja:¹



Prijelazu elektrona prethodi nastajanje prethodnog kompleksa. ΔG° odgovara promjeni slobodne energije u reakciji prijelaza elektrona unutar prethodnog kompleksa (ΔG_{ET}). Povezana je s ukupnom promjenom Gibbsove energije, ΔG° :

$$\Delta G^\circ = \Delta G_{ET} - RT \ln(K_A/K'_A)$$

Marcusova jednadžba predviđa nelinearni odnos između ΔG^\ddagger i ΔG° . Ovisnost ΔG^\ddagger o ΔG° je parabolična, s minimumom kod $(-\Delta G^\circ) = \lambda$, što odgovara reakciji bez barijere. Početno, kako reakcija postaje egzergonija (što je ΔG° negativnija), ΔG^\ddagger se smanjuje. To odgovara tzv. "normalnom području". Daljnjim smanjenjem ΔG° , ΔG^\ddagger se ponovo počinje povećavati – "invertno područje". Međutim, u velikom broju slučajeva, kada je $\lambda \gg \Delta G^\circ$, dobivena je linearna ovisnost između $RT \ln k_{ET}$ i ΔG° , s nagibom pravca 0,5.

Ukupna reorganizacijska energija može se podijeliti na unutarnju reorganizacijsku energiju, λ_i i vanjsku reorganizacijsku energiju, λ_o . I unutarnja i vanjska reorganizacijska energija uključuju doprinose obaju reaktanata (donora i akceptora elektrona).

$$\lambda = \lambda_i + \lambda_o$$

Unutarnja reorganizacijska energija je energija potrebna za reorganizaciju konfiguracije reaktanata (promjena duljina i kuteva veza):

$$\lambda_i = \sum_j \frac{f_j^r f_j^p}{f_j^r + f_j^p} (\Delta q_j)^2$$

f_j^r – konstanta sile j -tog normalnog načina vibriranja reaktanata

f_j^p – konstanta sile j -tog normalnog načina vibriranja produkata

Δq_j – promjena ravnotežne vrijednosti j -te normalne koordinate

Vanjska reorganizacijska energija je energija potrebna za reorganizaciju otapala (promjenu orijentacije molekula otapala). Prema teoriji dielektričnog kontinuuma:

$$\lambda_o = (\Delta e)^2 \left[\frac{1}{2a_1} + \frac{1}{2a_2} - \frac{1}{r} \right] \left[\frac{1}{D_{op}} - \frac{1}{D_s} \right]$$

Δe – naboj koji se prenosi između reaktanata

a_1 i a_2 – radiusi dvaju (sfernih) reaktanata

r – udaljenost između centara reaktanata ($r = \sigma$)

D_{op} – optička dielektrična konstanta otapala

D_s – statička dielektrična konstanta otapala

Reorganizacijsku energiju je moguće izravno odrediti za reakcije samoizmjene ($\Delta G^\circ=0$, $\lambda = 4\Delta G^\ddagger$).

Marcusova križna relacija

Marcusova križna relacija je kombinacija Marcusove jednadžbe za Gibbsovu aktivacijsku energiju, ΔG^\ddagger , i postulata aditivnosti prema kojemu je reorganizacijska energija križne reakcije, λ_{XY} , približno jednaka srednjoj vrijednosti reorganizacijskih energija reakcija samoizmjene, λ_{XX} i λ_{YY} .

$$\lambda_{XY} = \frac{(\lambda_{XX} + \lambda_{YY})}{2}$$

λ_{XY} – reorganizacijska energija križne reakcije $X + Y^+$

λ_{XX} , λ_{YY} – reorganizacijske energije reakcija samoizmjene $X + X^+$, $Y + Y^+$

Križna-relacija je definirana izrazom:

$$k_{XY} = (k_{XX}k_{YY}K_{XY}f_{XY})^{1/2}$$

k_{XY} – konstanta brzine križne reakcije

k_{XX} , k_{YY} – konstante brzina reakcija samoizmjene

K_{XY} – konstanta ravnoteže križne reakcije

f_{XY} – faktor koji ovisi o k_{XX} , k_{YY} i K_{XY} , obično je ~ 1 :

$$\ln f_{XY} = \frac{(\ln K_{XY})^2}{4 \ln \left(\frac{k_{XX}k_{YY}}{Z^2} \right)}$$

$$Z = A\sigma_{XX}\sigma_{YY}$$

Marcusova križna relacija povezuje konstantu brzine križne reakcije, k_{XY} , s konstantom ravnoteže križne reakcije, K_{XY} , te s odgovarajućim konstantama brzina reakcija samoizmjene, k_{XX} i k_{YY} . Osnovna prednost križne-relacije je u tome što se svi članovi u izrazu mogu eksperimentalno odrediti, što omogućuje izračunavanje konstanti brzina koje nije moguće eksperimentalno odrediti. Utvrđeno je da vrijedi i za druge reakcije, koje uključuju pucanje i stvaranje veze, kao što su reakcije prijelaza protona, hidrida ili H-atoma, premda nema teorijske osnove za njenu primjenu. Križna relacija je prikladan test za procjenu može li se Marcusov pristup primijeniti i na PCET reakcije.

Da bi se opisale dijabatne reakcije prijelaza elektrona ($\kappa < 1$), klasična Marcusova teorija je proširena uvođenjem kvantno-mehaničkog efekta elektronskog spreznja:

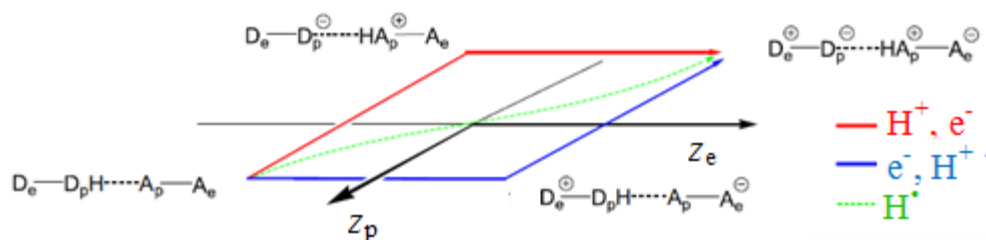
Konstanta brzine reakcije prijelaza elektrona definirana je Marcus-Levich-Hush izrazom:

$$k_{\text{ET}} = \frac{2\pi}{\hbar} H_{\text{DA}}^2 \frac{1}{(4\pi\lambda RT)^{1/2}} \exp\left[\frac{-(\Delta G^\circ + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right]$$

3.3. Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona - PCET

Reakcije spregnutog (usklađenog) prijelaza elektrona i protona su reakcije u kojima se prijelaz elektrona i protona odvija u jednom reakcijskom stupnju, bez nastajanja međuprodukata visoke energije.^{1,3,4} Temeljna karakteristika PCET procesa je izravno sprežanje elektrona i protona,²¹ s time da sami događaji prijelaza elektrona i protona mogu biti sinkroni ili asinkroni. Bez sprežanja elektrona i protona, veliki broj procesa uopće ne bi bio moguć. PCET reakcija je kvantno-mehanički događaj, s obzirom da uključuje tuneliranje i elektrona i protona.^{4,13,29} Budući da je masa protona ~ 2000 puta veća od mase elektrona, te valna duljina protona ~ 40 puta kraća od valne duljine elektrona (kod iste energije), proton je ograničen na male udaljenosti, dok elektron može prelaziti na znatno veće udaljenosti. Za razliku od elektrona, vjerojatnost tuneliranja protona je vrlo osjetljiva na male promjene u udaljenosti između donora i akceptora. Biološki sustavi vrlo često koriste PCET mehanizam kod transporta elektrona na velike udaljenosti, jer omogućuje prijelaz elektrona u fiziološkim uvjetima (prijelaz prikladnom brzinom uz mali prenapon).^{1,4} Jedan od najznačajnijih primjera je oksidacija tirozina s P680⁺ u fotosustavu II.⁴⁵ PCET je temeljni mehanizam i u velikom broju enzimskih reakcija, u kojima elektron i proton prelaze na malu udaljenost, s obzirom da osigurava selektivnost.⁴ Mala promjena udaljenosti između donora i akceptora, vezana za promjenu supstrata, dovodi do velike promjene u brzini.

Prema Noceri, reakcija u kojoj dolazi do prijelaza elektrona i protona se može prikazati pomoću sheme paralelograma (Slika 3.3.1.) u kojoj dvije „koordinate otapala“, z_e (odgovara reakciji prijelaza elektrona) i z_p (odgovara reakciji prijelaza protona), definiraju dvodimenzijски koordinatni prostor PCET reakcije.⁴



Slika 3.3.1. Shema paralelograma – dvije međusobno neovisne kolektivne koordinate otapala: z_e (odgovara reakciji prijelaza elektrona) i z_p (odgovara reakciji prijelaza protona), definiraju dvodimenzijски koordinatni prostor PCET reakcije. Rubovi odgovaraju stupnjevitim PT i ET reakcijama, a cijelo područje unutar paralelograma se odnosi na PCET reakciju.¹⁰³

Rubovi odgovaraju stupnjevitim PT i ET reakcijama, a cijelo područje unutar paralelograma se odnosi na PCET reakciju. PCET reakcija se može odvijati po različitim reakcijskim putevima unutar paralelograma. Reakcijski put po dijagonali paralelograma odgovara prijelazu elektrona i protona kod kojega dolazi do minimalne promjene u raspodjeli naboja u prijelaznom stanju, tj. prijelazu atoma vodika (HAT). Ostali reakcijski putevi mogu zahtijevati određeni stupanj početne polarizacije duž „elektronske“ ili duž „protonske“ koordinate. Prijelazno stanje može više nalikovati prijelaznom stanju za ET ili za PT, ovisno o tome kolika je reorganizacija potrebna da bi došlo do prijelaza elektrona u odnosu na prijelaz protona, te sposobnosti otapala da podupre povećanu polarizaciju.

Brzina PCET reakcije je, analogno reakcijama prijelaza elektrona, određena Gibbsovom aktivacijskom energijom, ΔG^\ddagger , te sprežanjem između donora i akceptora, H_{DA} . Gibbsova aktivacijska energija je kao i za reakcije prijelaza elektrona definirana izrazom:

$$\Delta G^\ddagger = \frac{(\Delta G^\circ + \lambda)^2}{4\lambda k_B T}$$

ΔG° – standardna reakcijska Gibbsova energija,

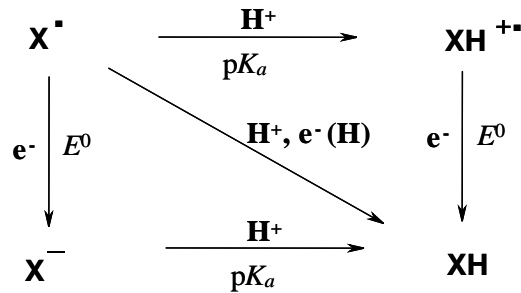
λ – reorganizacijska energija

Za razliku od reakcija prijelaza elektrona, u slučaju PCET-a, proton utječe na svaki od parametara o kojima ovisi brzina reakcije, tj. na ΔG° , λ i H_{DA} .⁴ Ovisno o položaju protona mijenja se redoks potencijal redoks partnera; promjena u raspodjeli naboja vezana za prijelaz elektrona i protona utječe na reorganizacijsku energiju. Isto tako, sprežanje reaktantskih i produktnih stanja ovisi i o prekrivanju elektronskih i protonskih vibracijskih valnih funkcija reaktanata i produkata, s time da oba ovise o položaju protona. Osim toga za PCET reakciju je važna promjena udaljenosti između donora i akceptora protona na vremenskoj skali koja odgovara PCET procesu, što je dobro poznato za reakcije prijelaza protona. Prema užoj definiciji u PCET reakciji uopće ne mora doći do prijelaza protona, već je samo dovoljno da prijelaz elektrona ovisi o položaju jednog ili većeg broja protona.

Reakcije spregnutog prijelaza elektrona i protona su termodinamički povoljnije (niža ΔG°) od reakcija u kojima se prijelaz elektrona i protona odvija stupnjevito u dva reakcijska stupnja, budući da se usklađenim prijelazom elektrona i protona u jednom reakcijskom stupnju izbjegava nastajanje međuprodukata visoke energije. Stupnjeviti proces se može odvijati tako da prvo dođe do prijelaza protona, nakon čega slijedi prijelaz elektrona (PT/ET) ili obratno (ET/PT). Stoga je ΔG° PCET reakcije uvijek niža od ΔG° prvog stupnja konsektivnog

procesa koji uključuje stupnjeviti prijelaz elektrona i protona.^{3,69} U slučaju kada je drugi stupanj brz, nije jednostavno detektirati međuprodukt, pa je stupnjeviti mehanizam teško razlikovati od PCET mehanizma.

Za razlikovanje PCET mehanizma od stupnjevitog ET/PT ili PT/ET mehanizma obično se provodi termokemijska analiza, uz primjenu kvadratne sheme.³ U kvadratnoj shemi vodoravne linije se odnose na PT, okomite na ET, a dijagonala na PCET:



ΔG° ET i PT procesa moguće je odrediti iz standardnog redoks potencijala, E° i konstante disocijacije kiseline, $\text{p}K_a$. ΔG° PCET procesa odgovara zbroju ΔG° odgovarajućih ET i PT procesa:

$$\Delta G^{\circ}(\text{ET}) = -nFE^{\circ}$$

$$\Delta G^{\circ}(\text{PT}) = 2,3RT\text{p}K_a$$

$$\Delta G^{\circ}(\text{PCET}) = \Delta G^{\circ}(\text{ET}) + \Delta G^{\circ}(\text{PT})$$

Da bi se utvrdilo radi li se o PCET ili stupnjevitom procesu, uspoređuje se eksperimentalno određena ΔG^{\ddagger} s ΔG° početnog ET i PT procesa, uz pretpostavku da je uvijek $\Delta G^{\ddagger} \geq \Delta G^{\circ}$. Stupnjeviti proces moguće je isključiti ako je ΔG^{\ddagger} manja od ΔG° početnog ET i PT procesa. Iz kvadratne sheme je vidljivo termodinamičko sprezanje između elektrona i protona. Promjena redoks stanja dovodi do promjene u kiselosti ($\Delta\text{p}K_a$) i obratno disocijacija protona dovodi do promjene standardnog redoks potencijala (ΔE°): unutar sustava više oksidacijsko stanje je kiselije, a protonirana vrsta je jači oksidans.⁶⁹ $\Delta\text{p}K_a$ i ΔE° odgovaraju po iznosu jednakoj promjeni standardne reakcijske Gibbsove energije $\Delta\Delta G^{\circ}$, a ona je kvantitativna mjera termodinamičkog sprezanja protona i elektrona.

Prijelazu elektrona i protona u PCET reakciji, prethodi nastajanje prethodnog kompleksa. U nekim slučajevima, unutar ovog kompleksa može postojati jaka vodikova veza, uobičajeno kod H-X veze kada je X elektronegativni atom, kao F, O, N, Cl. Termokemijska svojstva supstrata unutar prethodnog kompleksa se mogu značajno razlikovati od svojstava supstrata u

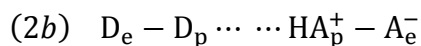
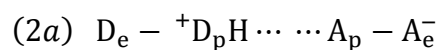
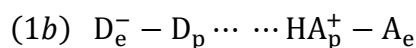
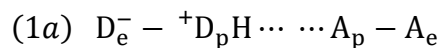
otopini. Međutim, ova odstupanja su obično znatno manja od termodinamičke prednosti PCET-a.³

3.3.1. PCET teorija

PCET teorija koja se danas najviše primjenjuje je teorija koju razvija Hammes-Schiffer sa suradnicima.^{5,11,12,29,37-40} Ova teorija je multidimenzijnsko proširenje Marcusove teorije prijelaza elektrona. Između PCET reakcija i reakcija prijelaza elektrona postoje određene sličnosti: obe uključuju preraspodjelu naboja, koja značajno ovisi o sprezanju s okolnim medijem.¹³ Marcusova križna relacija precizno predviđa konstante brzine za veliki broj PCET reakcija.³ Međutim, PCET reakcija je po sebi kompliciranija od reakcija prijelaza elektrona, budući da se u PCET reakciji, i elektron i proton ponašaju kvantno-mehanički.^{4,13,29} Proton se tretira na isti način kao i elektron, s obzirom na to da ima malu masu, te se stoga giba brže i više je delokaliziran od ostalih jezgara.

Unutar teorije, elektronska struktura reaktanata se opisuje u okviru VB modela.³⁸ Aktivni elektroni i proton koji prelazi u reakciji se tretiraju kvantno-mehanički. U početnoj teoriji otapalo se opisivalo kao dielektrični kontinuum, a kasnije se prešlo na opis eksplicitnog molekularnog okoliša.

PCET reakcija se opisuje preko četiri dijabatna elektronska stanja:³⁸



$D_e (A_e)$ – donor (akceptor) elektrona

$D_p (A_p)$ – donor (akceptor) protona

1 - elektron je lokaliziran u blizini donora elektrona,

2 - elektron je lokaliziran u blizini akceptora elektrona,

a – proton je lokaliziran u blizini donora protona,

b - proton je lokaliziran u blizini akceptora protona.

$a \rightarrow b$ – prijelaz protona,

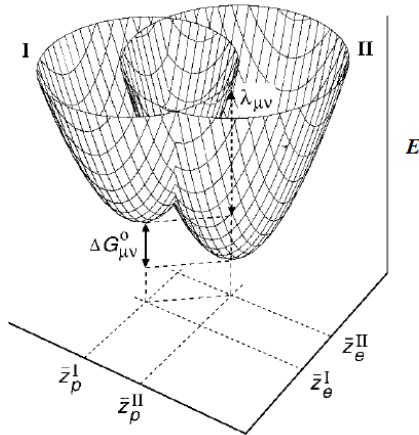
$1 \rightarrow 2$ – prijelaz elektrona.

Ovaj teorijski okvir obuhvaća i stupnjeviti (npr. $1a \rightarrow 1b \rightarrow 2b$ ili $1a \rightarrow 2a \rightarrow 2b$) i spregnuti prijelaz elektrona i protona ($1a \rightarrow 2b$; u okviru ove teorije se označava kao EPT).

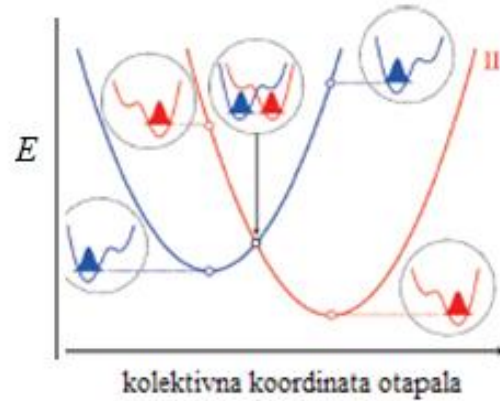
Ekperimentalno mjerenje brzine PCET reakcije se obično svodi na praćanje brzine reakcije prijelaza elektrona, tako što se prati promjena apsorbancije donora ili akceptora elektrona. Stoga se kod opisivanja PCET reakcije reaktanti odnose na strukturu u kojoj je elektron lokaliziran na donoru, a produkti na strukturu u kojoj je elektron lokaliziran na akceptoru.⁵ Reaktansko stanje (I) je definirano kao smjesa stanja $1a$ i $1b$, a produktno stanje (II) kao smjesa stanja $2a$ i $2b$. S obzirom na kvantno-mehaničku prirodu protona, PCET reakciju je prikladnije prikazivati preko miješanih elektronsko-protonskih vibronskih stanja, nego preko elektronskih stanja. Za pojedino elektronsko stanje, I i II se, računaju protonska vibracijska stanja, te se kao rezultat dobiju dva seta dijabatnih reaktantskih i produktnih vibronskih stanja. PCET reakcija se opisuje kao prijelaz između reaktantskih i produktnih dijabatnih vibronskih stanja. Za PCET reakcije su važna i osnovna i pobuđena vibronska stanja. Dvodimenzijske površine slobodne energije reaktantskih i produktnih vibronskih stanja ovise o dvije međusobno neovisne „kolektivne koordinate otapala“, z_e i z_p , od kojih se jedna odnosi na prijelaz elektrona, a druga na prijelaz protona (Slika 3.3.1.1.). Početno, sustav je u termalnoj ravnoteži na reaktantskoj površini slobodne energije. Na račun reorganizacije otapala dostiže sjecište dviju površina slobodne energije, tj. prijelazno stanje, gdje je energija reaktanata i produkata jednaka, te dolazi do prijelaza elektrona i protona. Nakon prijelaza, sustav se relaksira do ravnotežnog stanja na produktnoj površini slobodne energije, ponovo na račun reorganizacije otapala.

Promjena koordinata otapala duž reakcijskog puta mijenja energetski odnos između protonskih krivulja potencijalne energije reaktanata i produkata, s time da je u prijelaznom stanju energija reaktantskog i produktnog stanja jednaka (Slika 3.3.1.2.). Protonska krivulja potencijalne energije prikazuje energiju vibronskog stanja u ovisnosti o položaju protona (r_p), tipično je asimetrična i ima dva minimuma, od kojih jedan odgovara PT stanju a , a drugi PT stanju b . U osnovnom reaktantskom vibronskom stanju PT stanje $1a$ ima nižu energiju od stanja $1b$, a u osnovnom produktnom vibronskom stanju PT stanje $2b$ ima nižu energiju od stanja $2a$, što je posljedica Coulombskih elektrostatičkih privlačnih sila (stanje u kojemu su i elektron i proton lokalizirani na donoru/akceptoru ima nižu energiju). Stoga je, u osnovnom reaktantskom stanju, protonska vibracijska valna funkcija lokalizirana u blizini donora protona (u „dolini“ a), a u osnovnom produktnom stanju u blizini akceptora protona (u „dolini“ b). To ima za posljedicu slabo prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija, te slabo sprezanje između reaktantskih i produktnih vibronskih stanja. S obzirom da je vibronsko sprezanje znatno manje od termalne energije $k_B T$, PCET reakcija je obično u vibronski

dijabatnom režimu.⁵ Dijabatni prijelaz protona i elektrona se opisuje kao simultano kvantno-mehaničko tuneliranje protona i elektrona.²⁹



Slika 3.3.1.1. Dvodimenzijske vibronske površine slobodne energije reaktanta (I) i produkta (II) PCET reakcije; z_e koordinata otapala koja odgovara reakciji prijelaza elektrona i z_p – koordinata otapala koja odgovara reakciji prijelaza protona¹²



Slika 3.3.1.2. Presjek površina slobodne energije osnovnog reaktantskog (I) i produktnog (II) vibronskog stanja duž kolektivne koordinate otapala. U krugovima su prikazane protonske krivulje potencijalne energije i protonske vibracijske valne funkcije¹⁰

Brzina PCET reakcije

Izraz za konstantu brzine PCET reakcije je sličan Marcus-Levich-Hush izrazu za reakcije prijelaza elektrona.^{1,5} Konstanta brzine PCET reakcije je proporcionalna doprinosu i konstantama brzine većeg broja reakcijskih kanala, koji odgovaraju prijelazima između reaktantskih i produktnih vibronskih stanja $\mu \rightarrow \nu$:

$$k = \frac{2\pi}{\hbar} \sum_{\mu} P_{\mu} \sum_{\nu} |V_{\mu\nu}|^2 (4\pi\lambda_{\mu\nu}k_{\text{B}}T)^{-1/2} \exp - \left[\frac{(\Delta G_{\mu\nu}^{\circ} + \lambda_{\mu\nu})^2}{4\lambda_{\mu\nu}k_{\text{B}}T} \right]$$

$$\Delta G_{\mu\nu}^{\circ} = \Delta G_{\text{EPT}} + (\mu - \nu)\hbar\omega$$

μ – reaktantska vibronska stanja

ν – produktna vibronska stanja

P_{μ} – Boltzmanova napučenost reaktantskog stanja μ

$\Delta G_{\mu\nu}^{\ddagger}$ – Gibbsova aktivacijska energija reakcijskog kanala $\mu \rightarrow \nu$

$\Delta G_{\mu\nu}^{\circ}$ – standardna reakcijska Gibbsova energija reakcijskog kanala $\mu \rightarrow \nu$

$\lambda_{\mu\nu}$ – reorganizacijska energija reakcijskog kanala $\mu \rightarrow \nu$

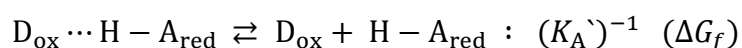
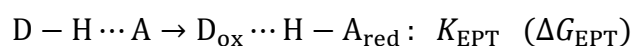
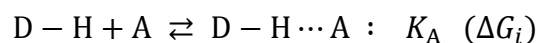
$V_{\mu\nu}$ – vibronsko sprezanje reakcijskog kanala $\mu \rightarrow \nu$

$\hbar\omega$ – razmak između susjednih vibracijskih stanja

Reorganizacijska energija, standardna reakcijska Gibbsova energija i sprezanje pojedinog reakcijskog kanala se međusobno razlikuju, zbog male razlike u udaljenosti za prijelaz protona. Sumiranje po reaktantskim stanjima obično uključuje ograničeni broj stanja (≤ 4). Pobuđena stanja mogu biti značajno zastupljena u reakciji. Doprinos pojedinog reakcijskog kanala ukupnoj reakciji ovisi o Boltzmanovoj napučenosti reaktantskih stanja, te o kompeticiji Gibbsove aktivacijske energije i vibronskog sprezanja.³⁷ S obzirom na Boltzmanovu napučenost najvjerojatniji je prijelaz iz osnovnog reaktantskog stanja. U slučaju prijelaza iz osnovnog reaktantskog stanja, s obzirom na Gibbsovu aktivacijsku energiju najpovoljniji je prijelaz u osnovno produktno stanje. S obzirom na vibronsko sprezanje povoljniji su prijelazi koji uključuju pobuđena stanja, budući da je kod pobuđenih stanja veće prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija. Jedan dio reakcijskih kanala odgovara EPT, a drugi dio ET mehanizmu, ovisno o udjelu PT stanja a i b u reaktantskim i produktim vibronskim stanjima. Budući da uvijek u osnovnom reaktantskom stanju dominira stanje $1a$, te u produktom stanju dominira stanje $2b$, prijelaz između osnovnih stanja odgovara EPT mehanizmu. Međutim, pobuđena vibronska stanja mogu biti lokalizirana i u „dolini“ a , i u „dolini“ b , ili delokalizirana, te stoga reakcijski kanali koji uključuju pobuđena vibronska stanja mogu odgovarati i ET i EPT i nedefiniranom mehanizmu ("ni ET, ni EPT" ili "i ET i EPT").³⁷ Ukupni reakcijski mehanizam se određuje na temelju vjerojatnosti pojedinog mehanizma, što ovisi o doprinosu pojedinog reakcijskog kanala, te o udjelu PT stanja a i b u pripadajućim vibronskim stanjima. Kada je vjerojatnost EPT-a $P^{\text{EPT}} > 0,6$ ukupni reakcijski mehanizam je EPT, a kada je vjerojatnost ET-a $P^{\text{ET}} > 0,6$ ukupni mehanizam je ET.

Standardna reakcijska Gibbsova energija i reorganizacijska energija su definirane prema tradicionalnim definicijama u Marcusovoj teoriji prijelaza elektrona.¹

Reakciji prijelaza elektrona i protona prethodi nastajanje prethodnog kompleksa ($D - H \cdots A$):



Standardna reakcijska Gibbsova energija, $\Delta G_{\mu\nu}^\circ$, odgovara promjeni slobodne energije u reakciji prijelaza elektrona i protona unutar prethodnog kompleksa (ΔG_{EPT}), koja je povezana s ukupnom promjenom Gibbsove energije, ΔG° :

$$\Delta G^\circ = \Delta G_{\text{EPT}} - RT \ln(K_A/K'_A)$$

K_A, K'_A - asocijacijske konstante reaktanata i produkata

Isto kao i za reakcije prijelaza elektrona, teorija i za PCET reakcije predviđa linearni odnos slobodne energije, u slučaju kad je $\lambda \gg |\Delta G^\circ|$. Kada u reakciji prevladava reakcijski kanal $0 \rightarrow 0$, ovisnost $RT \ln k$ o $-\Delta G^\circ$ je linearna, uz nagib pravca 0,5. Uključenje pobuđenih vibranskih stanja dovodi do odstupanja od nagiba 0,5. Za razliku od invertnog Marcusovog područja kod reakcija prijelaza elektrona, za PCET reakcije teorija predviđa da se konstanta brzine stalno povećava smanjenjem ΔG° , na račun uključenja pobuđenih vibranskih stanja. Ovo područje još nije sustavno eksperimentalno ispitano.

Prema teoriji,⁵ prijelaz protona u PCET procesu može biti elektronski adijabatan ili dijabatan. U režimu elektronski dijabatnog PT-a vibransko sprezanje ($V_{\mu\nu}$) je definirano izrazom:

$$V_{\mu\nu} \approx V^{el} S_{\mu\nu}$$

V^{el} – elektronsko sprezanje

$S_{\mu\nu}$ – prekrivanje reaktantskih i produktnih protonskih vibracijskih valnih funkcija

Prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija tj. vibransko sprezanje značajno ovisi o udaljenosti između donora i akceptora protona. Što je veća udaljenost, manje je prekrivanje, te je manja konstanta brzine reakcije.

Opisani izraz za konstantu brzine reakcije ide od pretpostavke da je udaljenost između donora i akceptora protona, R , fiksna veličina tj. ne uzima u obzir učinke vibracijskog gibanja konfiguracije $D \cdots H \cdots A$. Dobro je poznato da ovo gibanje ima važnu ulogu u vibracijski dijabatnim reakcijama prijelaza protona, koje se također opisuju u okviru Marcusove teorije.³⁹ Male promjene udaljenosti dovode do značajne promjene sprezanja, budući da se prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija brzo smanjuje s povećanjem udaljenosti. Udaljenost između donora i akceptora utječe na visinu PT barijere; što je manja udaljenost, barijera je niža.³⁹ Moduliranjem PT barijere vibracijsko gibanje konfiguracije $D \cdots H \cdots A$ značajno utječe na vjerojatnost tuneliranja protona.

Stoga je PCET teorija proširena, uzimajući u obzir kvantne i dinamičke učinke vibracijskog gibanja konfiguracije $D \cdots H \cdots A$ („ R -moda“) i otapala. Promjena udaljenosti između donora i akceptora protona dovodi do dinamičkih fluktuacija vibranskog sprezanja:

$$V_{\mu\nu} = V_{\mu\nu}^{(0)} \exp[-\alpha_{\mu\nu}(R - \bar{R}_\mu)]$$

\bar{R}_μ - ravnotežna udaljenost između donora i akceptora protona u reaktantskom stanju μ

$V_{\mu\nu}^{(0)}$ - vibronsko sprezanje između stanja μ i ν na udaljenosti \bar{R}_μ

$\alpha_{\mu\nu}$ – parametar koji odražava ovisnost vibronskog sprezanja o udaljenosti između donora i akceptora protona

Prevladavajuća udaljenost u reakciji može biti značajno manja od ravnotežne udaljenosti, što je određeno odnosom sprezanja kod određene udaljenosti i Boltzmanove vjerojatnosti da se donor i akceptor nađu na određenoj udaljenosti.⁶³

Izvedeni su izrazi za konstantu brzine u dva granična slučaja s obzirom na frekvenciju „ R -moda“, Ω : za područje niskih frekvencija (visokih temperatura), te za područje visokih frekvencija (niskih temperatura).^{5,39} U području niskih frekvencija ($\hbar\Omega \ll k_B T$) „ R -mod“ nije dinamički spregnut s fluktuacijama otapala, pa ga se ne uključuje u dinamički opis. U području visokih frekvencija, ovo gibanje je značajno brže od fluktuacija otapala, pa postaju važna kvantna svojstva „ R -moda“ koji se tada, isto kao elektron i proton, tretira kvantno-mehanički.

Kinetički izotopni učinak u PCET reakciji

Kinetički izotopni učinak je vrlo koristan u proučavanju PCET reakcija.^{5,11} Vrlo često se koristi za utvrđivanje PCET mehanizma, tj. za razlikovanje PCET od stupnjevitoeg ET/PT mehanizma (budući da se PCET reakcije obično prate mjerenjem promjene koncentracije donora/akceptora elektrona). Na temelju KIE je moguće dobiti uvide u temeljna svojstva PCET-a, npr. moguće je razlikovati događa li se prijelaz protona preko reakcijske barijere ili tuneliranjem kroz barijeru.¹³ U slučaju tuneliranja kroz barijeru, KIE je obično velik, budući da proton zbog manje mase tunelira učinkovitije od deuterija. Međutim, u slučaju znatnog tuneliranja obaju izotopa (ekstenzivno tuneliranje) KIE može biti i izrazito mali.¹³

Prema teoriji koju razvija Hammes-Schiffer sa suradnicima iznos i temperaturna ovisnost KIE su u prvom redu određeni ravnotežnom udaljenošću između donora i akceptora protona, \bar{R} , te frekvencijom vibracijskog gibanja konfiguracije $D \cdots H \cdots A$, Ω .¹¹

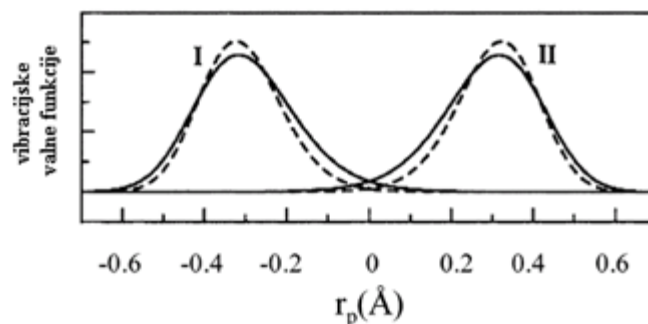
U području niskih frekvencija R -moda, uz pretpostavku da su u reakciju uključena samo osnovna vibronska stanja, te da jedino vibronsko sprezanje ovisi o masi, kinetički izotopni učinak dan je izrazom:

$$\text{KIE} \approx \frac{|S_H|^2}{|S_D|^2} \exp \left\{ -\frac{2k_B T}{M\Omega^2} (\alpha_D^2 - \alpha_H^2) \right\}$$

Iznos KIE je određen H/D omjerom kvadrata prekrivanja vibracijskih valnih funkcija $|S_H|^2/|S_D|^2$, H,D razlikom u ovisnosti vibronskog sprežanja o udaljenosti ($\alpha_D^2 - \alpha_H^2$) i frekvencijom vibracijskog gibanja konfiguracije $D\cdots H\cdots A$, Ω , uz pretpostavku da elektronsko sprežanje, V^{el} ne ovisi o masi.

Vibracijska valna funkcija deuterija je, zbog veće mase, više lokalizirana od vibracijske valne funkcije vodika, te je stoga kod D manje prekrivanje S (Slika 3.3.1.3.). Osim toga, kod deuterija se prekrivanje brže smanjuje s povećanjem udaljenosti nego kod vodika ($\alpha_D > \alpha_H$), pa je H/D omjer prekrivanja, a stoga i KIE veći što je veća udaljenost između donora i akceptora protona. U području niskih frekvencija „R-moda“, KIE je veći što je veća frekvencija Ω , budući da veća frekvencija ne omogućuje učinkovito probiranje malih udaljenosti.¹¹ Često u eksperimentalnim sustavima, promjena ravnotežne udaljenosti dovodi do promjene frekvencije Ω . Povećanje ravnotežne udaljenosti tipično dovodi do smanjenja frekvencije Ω , jer veće udaljenosti odgovaraju slabijoj vodikovoj vezi. Ova dva efekta djeluju na KIE u suprotnom smjeru, pa kod povećanja udaljenosti može doći i do smanjenja KIE.

U području visokih frekvencija „R-moda“, koje odgovaraju jakoj vodikovoj vezi, mala je udaljenost između donora i akceptora protona, te je KIE mali.



Slika 3.3.1.3. Prekrivanje reaktantske (I) i produktne (II) vibracijske valne funkcije: H (puna crta) i D (isprekidana crta), za reakcijski kanal $\mu = 0 \rightarrow \nu = 0$; r_p – koordinata protona, 0 odgovara polovici udaljenosti između donora i akceptora H/D¹

U reakciju su često, uz osnovna, uključena i pobuđena vibronska stanja. U pobuđenim stanjima je veće prekrivanje vibracijskih valnih funkcija, te je stoga manji H/D omjer prekrivanja. Osim toga doprinos pobuđenih stanja ukupnoj reakciji je obično veći kod deuterija nego kod vodika, budući da je kod D manji razmak između susjednih energijskih nivoa. Općenito, uključenje pobuđenih vibronskih stanja dovodi do smanjenja KIE.

KIE ovisi i o standardnoj reakcijskoj Gibbsovoj energiji. Prema novijoj verziji teorije,¹¹ koja se odnosi na C-H-O model, KIE je maksimalan kod $\Delta G^\circ \approx 0$, s time da se značajno smanjuje kako ΔG° postaje ili pozitivnija ili negativnija, jer se povećava zastupljenost pobuđenih stanja. U području visokih frekvencija „R-moda“, KIE je neovisan o ΔG° . Prema ovoj verziji teorije, KIE je relativno neosjetljiv na promjene reorganizacijske energije. Prema starijoj verziji teorije,³⁷ koja se odnosi na O-H-O model, KIE postaje veći što je reakcija endotermnija (ili manje egzotermna). U sklopu ovog pristupa predviđa se i ovisnost KIE o polarosti otapala: što je manja polarnost otapala veći je KIE (utjecaj je manje izražen kod egzotermnih reakcija), te o udaljenosti između donora i akceptora elektrona: što je manja udaljenost KIE je veći (jer su u tom slučaju vibracijske valne funkcije više lokalizirane i manje je njihovo prekrivanje).

Temperaturna ovisnost KIE

Unutar PCET teorije predviđa se normalna i inverzna ovisnost KIE o temperaturi.^{11,41}

U području niskih frekvencija „R-moda“, ovisnost KIE o temperaturi dana je izrazom:

$$\frac{d}{dT} \ln(\text{KIE}) = -\frac{2k_B}{M\Omega^2} (\alpha_D^2 - \alpha_H^2)$$

Temperaturna ovisnost KIE je normalna (porastom temperature KIE se smanjuje), te je veća što je frekvencija manja.

U području visokih frekvencija „R-moda“, u slučaju kad su u reakciju uključena samo osnovna vibronska stanja, KIE je neovisan o temperaturi. Uključenje pobuđenih vibronskih stanja može dovesti ili do normalne ili do inverzne temperaturne ovisnosti KIE, što ovisi o relativnom doprinosu pobuđenih stanja. U ovom području ovisnost KIE o temperaturi određena je faktorom $\exp[-(\Delta G_{\mu\nu}^\ddagger(\text{H}) - \Delta G_{\mu\nu}^\ddagger(\text{D}))/k_B T]$, prema kojemu u slučaju kada je $\Delta G_{\mu\nu}^\ddagger(\text{H}) > \Delta G_{\mu\nu}^\ddagger(\text{D})$ može doći do inverzne ovisnosti KIE o temperaturi. Gibbsova aktivacijska energija reakcije D-supstrata može biti niža od Gibbsove aktivacijske energije reakcije H-supstrata, u slučaju prijelaza u pobuđena stanja, s obzirom da je razmak između susjednih energijskih nivoa kod D manji nego kod H. To je moguće u slučaju male reorganizacijske energije, kada je $|\Delta G^\circ| > \lambda$, tj. kada su osnovno reaktantsko i produktno stanje u invertnom Marcusovom području, a pobuđena stanja u normalnom području, te stoga značajno doprinose ukupnoj reakciji.

HAT vs PCET

U okviru teorije koju razvija Hammes-Schiffer, i HAT i PCET procesi se odnose na spregnuti prijelaz elektrona i protona, a razlikuju se po stupnju elektronske adijabatnosti reakcije prijelaza protona, s time da HAT odgovara elektronski adijabatnom prijelazu protona, a PCET elektronski dijabatnom prijelazu.⁵ U oba slučaja, ukupna reakcija je vibronski dijabatna, što znači da kvantni subsistem koji se sastoji od elektrona i protona ne odgovara trenutno na gibanje otapala. Prema pristupu koji su razvili Georgievskii i Stuchebrukhov, HAT i PCET moguće je razlikovati na temelju parametra adijabatnosti, p , koji je jednak omjeru vremena koje je potrebno za tuneliranje protona, τ_p i vremena koje je potrebno za promjenu elektronskog stanja, τ_e :

$$p = \tau_p / \tau_e$$

$$\tau_p \sim V^{el} / |\Delta F| v_t$$

$$\tau_e \sim \hbar / V^{el}$$

V^{el} – elektronsko sprezanje

$|\Delta F|$ - razlika u nagibu protonskih krivulja potencijalne energije u sjecištu elektronskih stanja

v_t – brzina tuneliranja protona

U slučaju značajnog elektronskog sprezanja, vrijeme tuneliranja protona je puno dulje od vremena koje je potrebno za promjenu elektronskog stanja. Tada elektroni imaju trenutni odgovor na gibanje protona, te je prijelaz protona elektronski adijabatan. To je slučaj u reakciji samoizmjene benzil/toluen, za koju je utvrđeno da elektron i proton prelaze između istih setova orbitala, te je stoga veliko elektronsko sprezanje i veliki razmak između osnovnog i pobuđenog vibronskog stanja (HAT).^{5,88,89} Za razliku od ovog slučaja, u reakciji samoizmjene fenoksil/fenol elektron i proton prelaze između različitih setova orbitala, te su elektronsko sprezanje i razmak između osnovnog i pobuđenog vibronskog stanja mali, što odgovara elektronski dijabatnom prijelazu protona, tj. PCET procesu.

3.3.2. Tuneliranje protona – Marcusianski model tuneliranja

U velikom broju enzimskih reakcija je utvrđeno tuneliranje protona, na temelju KIE i/ili aktivacijskih reakcijskih parametara, koje nije moguće objasniti unutar semiklasičnog pristupa. U velikom broju slučajeva dobiven je H/D omjer Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora, $A_H/A_D \gg 1$, mala D-H razlika u energiji aktivacije, te

temperaturno neovisni KIE u području oko sobne temperature, što nije moguće objasniti niti semiklasično, niti unutar Bellovog modela tuneliranja.^{24,25,178} Ovakvi rezultati obično se interpretiraju unutar Marcusanskog modela, kojega su razvili Kuznetsov i Ulstrup,¹⁷⁹ a kasnije prilagodili Knapp i Klinman.¹⁴⁸ Model polazi od Marcusve teorije prijelaza elektrona proširene na fenomene prijelaza vodikovog atoma ili hidridnog iona. Unutar modela moguće je objasniti cijeli raspon A_H/A_D , od $A_H/A_D \gg 1$ do $A_H/A_D \ll 1$, a isto tako i temperaturno neovisni te izrazito temperaturno ovisni KIE. Model povezuje učinkovitost tuneliranja s gibanjima u „proteinskom okolišu“.^{24,25,153,177} Osnovna pretpostavka je da je prijelaz atoma vodika u potpunosti kvantno-mehanički događaj (H/D tuneliranje), na kojega izravno utječe dinamika okoliša.

Prema ovom modelu konstanta brzine reakcije dana je izrazom:¹⁴⁸

$$k_{\text{tun}} = \sum_v P_v \sum_w \frac{1}{2\pi} |V_{\text{el}}|^2 \sqrt{\frac{4\pi^3}{\lambda RT \hbar^2}} \exp\left(-\frac{(\Delta G^\circ + E_{\text{vib}} + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right) \times (\text{F. C. term})_{v,w}$$

k_{tun} – konstanta brzine koja se odnosi na tuneliranje

v – vibracijski kvantni broj reaktanta

w – vibracijski kvantni broj produkta

P_v – termalna napučenost reaktantskog stanja v

Konstanta brzine reakcije je definirana kao suma konstanti brzina većeg broja reakcijskih kanala, koji uključuju osnovna i pobuđena vibracijska stanja (dijabatni režim). Prvi član u izrazu za konstantu brzine odnosi se na elektronsko sprežanje, V_{el} , i neovisan je o izotopu. Drugi član je Marcusova aktivacijska energija, koja se odnosi na reorganizacijsku energiju, λ , i na standardnu reakcijsku Gibbsovu energiju, ΔG° . E_{vib} je razlika u vibracijskoj energiji između reaktanta i produkta. Treći član, F.C.term, je Franck-Condonovo nuklearno prekrivanje, specifično za određene vibracijske nivoe reaktanta i produkta. F.C. term određuje vjerojatnost tuneliranja protona. Uključuje doprinos C-H istezanja koje se tretira kvantno-mehanički.

$$\text{F. C. term}_{0,0} = \exp\left[\frac{-m_{\text{H}}\omega_{\text{H}}\Delta r^2}{2\hbar}\right]$$

Δr – ravnotežna udaljenost između donora i akceptora protona

m_{H} , ω_{H} – masa, frekvencija oscilatora kod prijelaza protona na ravnotežnu udaljenost

S obzirom da prekrivanje protonskih vibracijskih valnih funkcija značajno ovisi o udaljenosti, oscilacije u okolišu ga mogu znatno mijenjati, pa krajnji izraz za F.C. term uzima u obzir dinamički moduliranu udaljenost za tuneliranje:

$$\text{F. C. term}_{0,0} = \int_r^{r_0} \exp\left[\frac{-m_H \omega_H \Delta r^2}{2\hbar}\right] \times \exp\left[\frac{-\hbar \omega_x X^2}{2RT}\right] dX$$

$$X = r_x \sqrt{m_x \omega_x / \hbar},$$

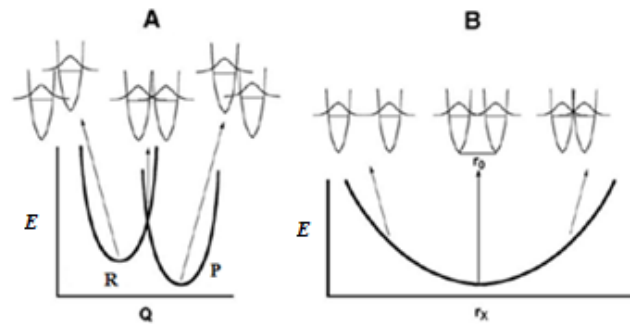
r_x – promjena udaljenosti između donora i akceptora protona u odnosu na ravnotežnu udaljenost, uslijed doprinosa promotivnih vibracija

$\Delta r = (r_0 - r_x)$ - dinamički modulirana udaljenost između donora i akceptora protona, odgovara ravnotežnoj udaljenosti (r_0) umanjenoj za udaljenost r_x

m_x, ω_x - masa, frekvencija oscilatora kod prijelaza protona kroz fluktuirajuću barijeru

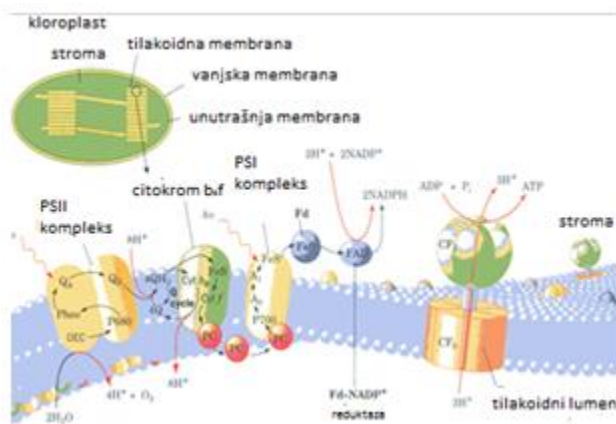
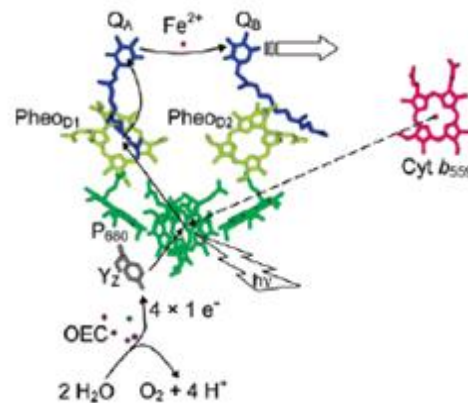
Tuneliranje protona je vrlo osjetljivo na oblik reakcijske energetske barijere. Dinamika okoliša modulira barijeru potencijalne energije i na taj način utječe na tuneliranje protona. Postoje dva tipa gibanja u okolišu koja utječu na prijelaz protona (Slika 3.3.2.1.).¹⁴⁸ To su gibanja na račun kojih se postiže degeneriranost reaktantskog i produktnog stanja (Marcusov član), te gibanja koja dovode do fluktuacije udaljenosti za prijelaz protona (F.C. član). Vibracije spregnute s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona, koje dovode do fluktuacije udaljenosti između donora i akceptora protona se često nazivaju promotivne vibracije⁹ ili kompresivni način vibriranja.²⁶ Smanjenje udaljenosti između donora i akceptora dovodi do povećanog prekrivanja protonskih vibracijskih valnih funkcija, te do učinkovitijeg tuneliranja. Kada je konfiguracija aktivnog mjesta enzima visoko optimizirana, što omogućuje učinkovito tuneliranje i H i D, doprinos promotivnih vibracija nije značajan. U tom slučaju KIE je neovisan o temperaturi (za adijabatni proces), D-H razlika između energija aktivacije je mala, a A_H/A_D je veći od maksimalne semiklasično predviđene vrijednosti, u temperaturnom području oko sobne temperature. Za razliku od toga, u slučaju kada je početna udaljenost između donora i akceptora protona prevelika da bi bilo moguće učinkovito tuneliranje doprinos promotivnih vibracija postaje značajan, što dovodi do izrazite temperaturne ovisnosti KIE, te do omjera A_H/A_D manjeg od semiklasično predviđene granice. Udaljenost kod koje dolazi do tuneliranja je određena s vjerojatnosti tuneliranja kod određene udaljenosti, te s vjerojatnosti dostizanja te udaljenosti.¹⁴⁸ Smanjenje udaljenosti u odnosu na ravnotežnu je različito za H i D (vjerojatnost tuneliranja D više ovisi o udaljenosti). To dovodi do dodatne temperaturne ovisnosti konstante brzine, te do temperaturne ovisnosti KIE. Stoga,

temperaturna ovisnost KIE odražava relativni doprinos promotivnih vibracija reakcijskoj koordinati.

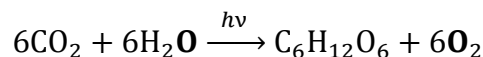


Slika 3.3.2.1. Prikaz Marcusianskog modela tuneliranja: A-dijagram reakcijske koordinate reakcije prijelaza protona utemeljen na Marcusovoj teoriji proširenoj na reakcije prijelaza protona – reorganizacija okoliša doprinosi postizanju konfiguracije prijelaznog stanja, Q – reakcijska koordinata; B – promotivne vibracije – vibracije okoliša spregnute s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona, koje dovode do fluktuacije udaljenosti između donora i akceptora protona, r_x – dinamički modulirana udaljenost između donora i akceptora protona, r_0 – ravnotežna udaljenost²⁵

3.4. Fotosustav II (PSII)

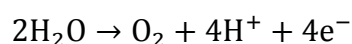
Slika 3.4.1. Tilakoidna membrana kloroplasta²²⁰Slika 3.4.2. Struktura fotosustava II²⁰

Biljke, alge i cijanobakterije u procesu fotosinteze koriste Sunčevu energiju za proizvodnju glukoze i O₂ iz vode i CO₂:²²⁰

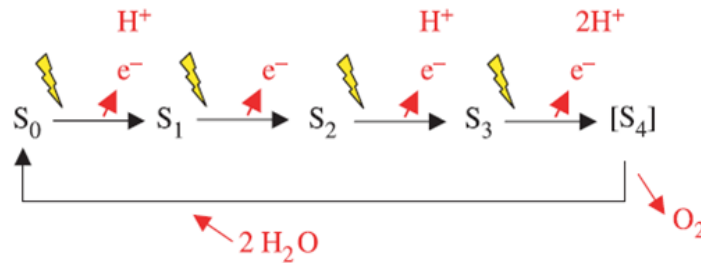


Fotosinteza se odvija u tilakoidnim membranama kloroplasta u dvije faze (Slika 3.4.1.). U reakcijama na svjetlu dolazi do oksidacije H₂O do O₂ (PSII), te do produkcije NADPH i ATP-a, koji se potom u reakcijama u tami, uz CO₂ koriste za sintezu ugljikohidrata (Calvinov ciklus).

Fotosustav II (Slika 3.4.2.) je multi-polipeptidni kompleks smješten u tilakoidnoj membrani kloroplasta, star čak ~ 2 bilijuna godina.⁵² Unutar njega u OEC kompleksu dolazi do oksidacije vode do O₂.²⁰ Oksidacija vode do O₂ u PSII uključuje niz PCET procesa. Pokreće je svjetlosna energija (680 nm) koju apsorbiraju antena pigmenti unutar klorofila P680, pri čemu P680 prelazi u pobuđeno stanje P680*. P680* se oksidira pri čemu nastaje radikal P₆₈₀⁺, najjači poznati oksidans u biologiji (1,25 V). Oslobođeni elektron u nizu ET procesa, koji uključuju feofitin i kinon Q_A, reducira kinon Q_B, koji potom difundira do citokroma *b₆f*, gdje se oksidira i oslobađa protone (Q-ciklus) u tilakoidni lumen stvarajući protonski gradijent koji pokreće sintezu ATP-a. Utvrđeno je da je i oksidacija kinona Q_A⁻ PCET proces.²²¹ Radikal P₆₈₀⁺ nastao oksidacijom pobuđenog P₆₈₀*, pokreće oksidaciju H₂O do O₂, u CaMn₄ OEC kompleksu:



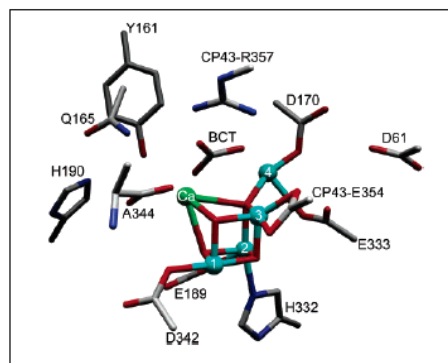
Početno, P_{680}^+ oksidira tirozin, Y_Z , pri čemu nastaje neutralni Y_Z^\bullet tirozil radikal, koji potom oksidira OEC. OEC povezuje četiri uzastopne jedno-elektronske redukcije P_{680}^+ s četiri-elektronskom oksidacijom vode do O_2 . Pritom OEC prolazi kroz niz oksidacijskih stanja, $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4$, koja čine Kokov ciklus (Slika 3.4.3.). Svaki prijelaz između S stanja, osim $S_4 \rightarrow S_0$, je potaknut fotokemijskom oksidacijom P_{680} .



Slika 3.4.3. Kokov ciklus⁵¹

Oksidacija Y_Z (Y_{161}) je dvosmjerni PCET proces, u kojemu dolazi do prijelaza elektrona na radikal P_{680}^+ , te do prijelaza H^+ na N histidina (H_{190}), koji je s tirozinom vezan kratkom vodikovom vezom. Za vrijeme Kokovog ciklusa H^+ se izmjenjuje između tirozina i histidina. Osim tirozina Y_Z , PSII sadrži još jedan redoks aktivni tirozin Y_D (Y_{160}), koji ne sudjeluje izravno u oksidaciji vode, nego je upleten u stabilizaciju OEC-a. Y_D , isto kao i Y_Z je vodikovom vezom vezan na histidin (H_{189}), s kojim izmjenjuje H^+ u PCET procesu.¹²²

Prema kristalografskim podacima Ferreira i suradnika (rezolucija 3,5 Å; Slika 3.4.4.), OEC je Mn_3CaO_4 kuboid s jednim Mn atomom vezanim na kut kuboida preko atoma O.¹¹⁹ Mn ioni su koordinirani O i N atomima aminokiselinskih ostataka (His, Asp, Glu). Na jednom kutu manganskog kuboida je Ca^{2+} , u blizini tirozina Y_Z (5 Å). Smatra se da OEC sadržava i Cl^- , iako još nije poznat njegov točan položaj. OEC sadrži najmanje jednu supstratnu molekulu vode koordiniranu tijekom cijelog ciklusa, te najmanje dvije u stanju S_2 , od kojih je jedna voda vezana terminalno na Mn (brzo se izmjenjuje), a druga na Ca^{2+} (sporo se izmjenjuje).

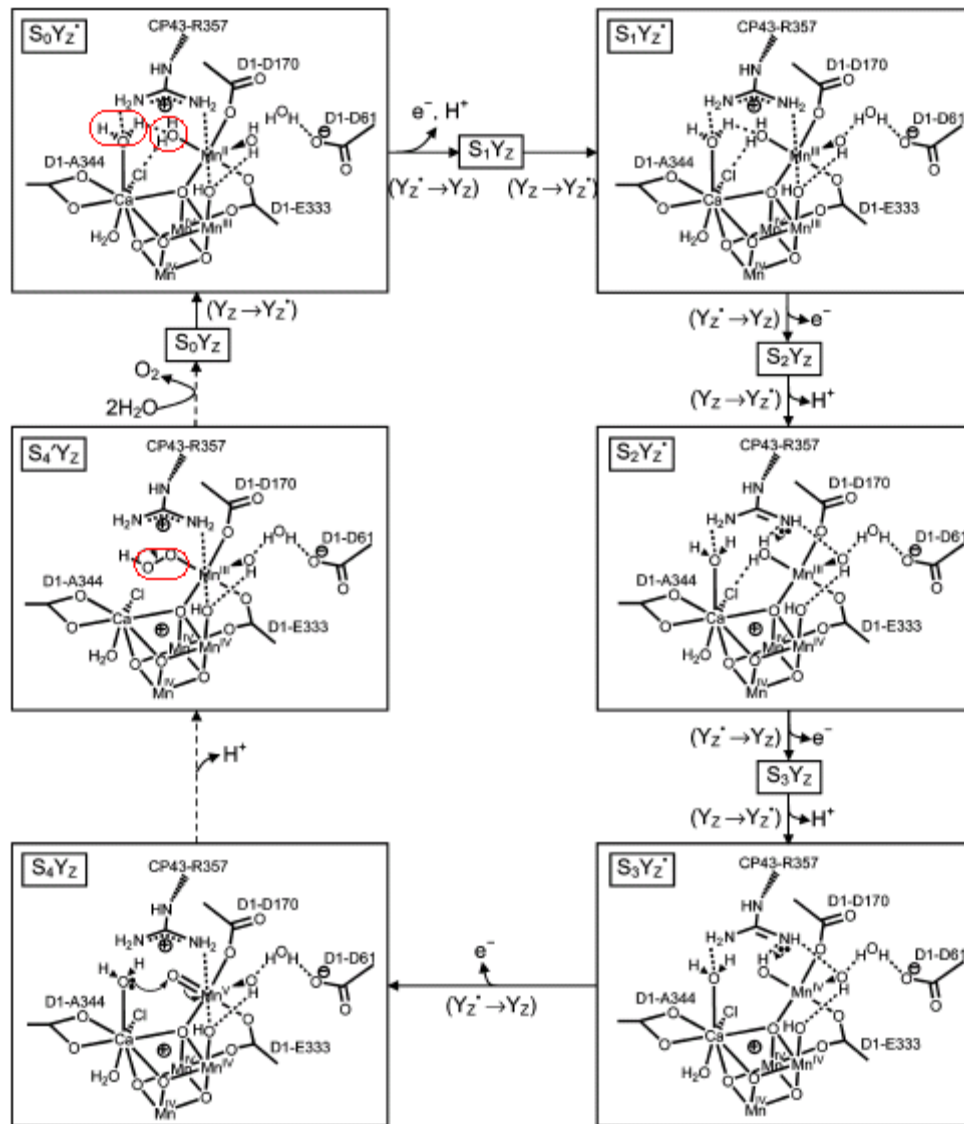


Slika 3.4.4. Kristalografski model OEC kompleksa i okoliša (rezolucija 3,5 Å)¹¹⁹

Tijekom Kokovog ciklusa iz OEC kompleksa se oslobađa $4e^-$ i $4H^+$. Prijelaz elektrona i protona u jednom dijelu S ciklusa se odvija PCET mehanizmom, pri čemu se izbjegava nastanak značajnih količina reaktivnih intermedijera kao što je superoksid, vodikov peroksid i hidroksil radikal.⁴⁵ Općenito je prihvaćeno da se promjena oksidacijskog stanja OEC-a uglavnom, ili čak u potpunosti odnosi na Mn. Protoni koji se oslobađaju potječu od supstratne vode, i od drugih proton donora čiji se pK_a mijenja uslijed oksidacije OEC-a.

Predložen je veći broj mehanizama oksidacije vode u OEC-u. Prema Brudvigu (Slika 3.4.5.) prijelaz $S_0 \rightarrow S_1$ je PCET proces.²⁰ Stupanj $S_1 \rightarrow S_2$ uključuje samo prijelaz elektrona, što dovodi do promjene naboja OEC kompleksa. Sljedeća dva stupnja, $S_2 \rightarrow S_3$ i $S_3 \rightarrow S_4$, su PCET procesi u kojima elektron prelazi s Mn(4) OEC kompleksa na Y_Z^\bullet , a proton s Mn-vezane supstratne vode na neutralni arginin CP430-Arg357. Cl^- vezan na Ca^{2+} osigurava preciznu orijentaciju supstratne vode unutar mreže vodikovih veza. Nakon stupnja $S_3 \rightarrow S_4$, Mn(4) je u obliku $Mn^V=O$, kojega u sljedećem stupnju, $S_4 \rightarrow S_4'$, nukleofilno napada supstratna voda vezana na Ca^{2+} , pri čemu nastaje O-O veza.^{20,123}

Ioni, kalcij i klorid imaju značajnu ulogu u reakciji oksidacije vode.^{20,127-134} Ca^{2+} veže jednu supstratnu molekulu vode, te utječe na redoks potencijal OEC-a. Ca^{2+} i Cl^- su uključeni u prijelazima nakon stanja S_2 , u kojima dolazi do usklađenog prijelaza elektrona i protona. Nedostatak Ca^{2+} blokira, a nedostatak Cl^- usporava prijelaz $S_2 \rightarrow S_3$. Smatra se da Ca^{2+} i Cl^- imaju važnu ulogu u stvaranju mreže vodikovih veza u okolini OEC-a, te da na taj način utječu na prijelaz protona. Osim toga, smatra se da Ca^{2+} elektrostatički utječe na OEC, te mu pritom mijenja redoks potencijal. Uloga Ca^{2+} i Cl^- još nije u potpunosti razjašnjena.

Slika 3.4.5. Predloženi mehanizam oksidacije vode do kisika u OEC kompleksu²⁰

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Uporabljeni instrumenti i pribor

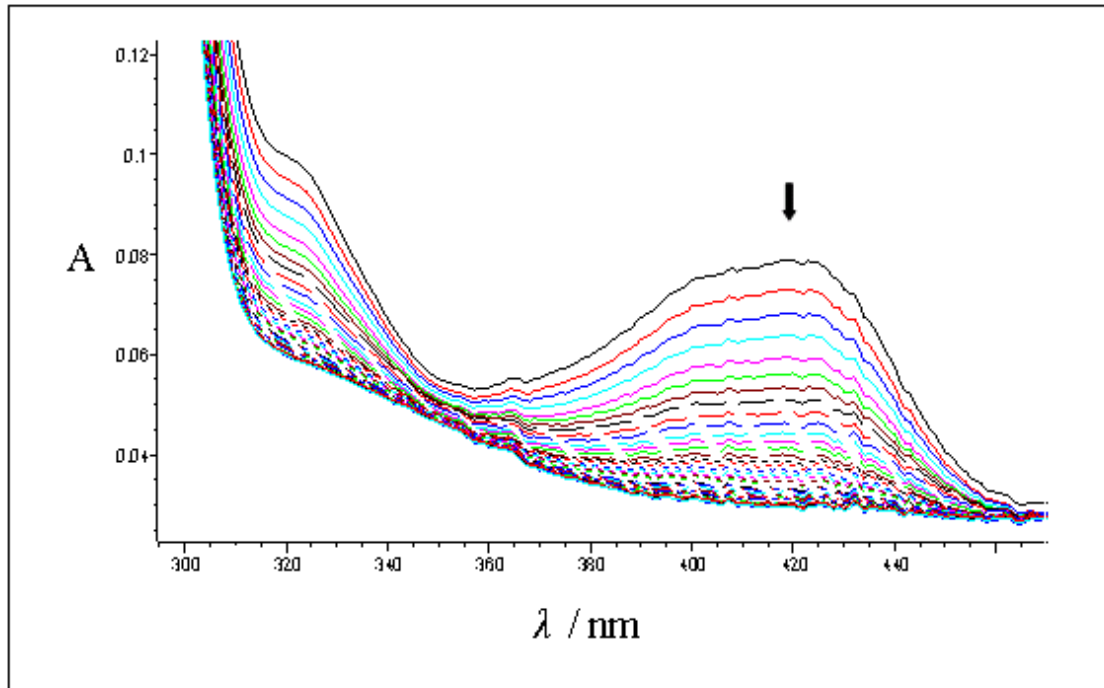
Za mjerenje UV-Vis spektara i praćenje promjene apsorbancije u vremenu korišteni su Hewlet-Packard HP 8453 spektrofotometar, te za brze reakcije Ocean Optics S2000 spektrofotometar opremljen sa sustavom za brzo miješanje otopina reaktanata Applied Photophysics RX 2000 Rapid Kinetics Spectrometer Accessory, priključeni na stolna računala. Oba spektrofotometra su opremljena termostatiranim blokovima priključenim na termostat, s mogućnošću točnog namještanja i određivanja temperature ($\pm 0,1$ K). Mjerenje pH otopina izvedeno je pH-metrom METTLER TOLEDO SP 230 i staklenom pH-elektrodom (Mettler Toledo, InLab Semi-Micro), koji su prije uporabe kalibrirani standardnim puferским otopinama pH=7,00 i pH=4,00 (Merck, *p.a.*), prema standardnoj proceduri. Za pripravu otopina korišteno je rebaždareno odmjereno posuđe i automatske mikropipete Eppendorf 1000, 200, 100, 10 μL s odgovarajućim nastavcima. Redestilirana Ultra-čista voda i teška voda (99,9 % D, Aldrich) su korištene svježe prokuhane i minimalno 30 minuta propuhane strujom N_2 (99,999%) kako bi se uklonili O_2 i CO_2 ($G < 2 \mu\text{S}$). Sve krutine su bile *p.a.* čistoće (Aldrich, Fluka, Merck, Invitrogen), po potrebi osušene prije uporabe. Dinatrijev DETAPAC (dietilentriaminopenta acetat) je pripremljen dodatkom standardne $0,100 \text{ mol dm}^{-3}$ otopine NaOH (Merck) u otopinu DETAPAC kiseline.

4.2. Kinetička mjerenja

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona su određene praćenjem promjene koncentracije heksacijanoferat(III) iona u vremenu spektrofotometrijski, mjerenjem apsorbancije na valnoj duljini 420 nm, što odgovara apsorpcijskom maksimumu, λ_{max} , heksacijanoferat(III) iona; $\epsilon_{\text{max,voda}}=1000 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ (Slika 4.2.1.). Na valnoj duljini 420 nm niti jedan sudionik reakcije, osim heksacijanoferat(III) iona nema značajan molarni apsorpcijski koeficijent. Promjena koncentracije heksacijanoferat(III) iona u ispitivanim reakcijskim uvjetima slijedi zakon za prvi red.

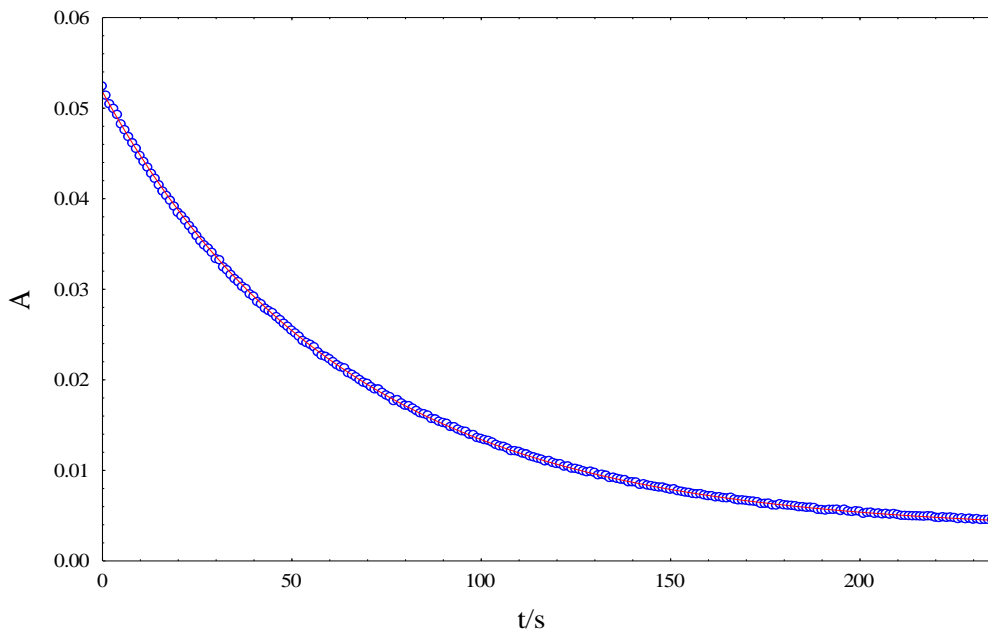
Slika 4.2.1.

Promjena UV-Vis spektra tijekom reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi tijekom 50 s. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{NaCl}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $I = 0,0033$, na 298 K.



Slika 4.2.2.

Promjena apsorbancije heksacijanoferat(III) iona na 420 nm (točke) u vremenu u reakciji askorbata i heksacijanoferat(III) iona u teškoj vodi. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $I = 0,0023$, na 298 K.



Konstante brzine reakcije tipično se računaju iz 200 parova (A , t) podataka skupljenih u barem pet poluvremena reakcije, kao kinetike pseudo-prvog reda, uz dobivenu standardnu pogrešku obično manju od 0,3 % (Slika 4.2.2.). Konstanta brzine reakcije u određenim reakcijskim uvjetima određena je kao prosjek barem tri ovakva mjerenja.

Konstante brzine reakcije su određene u uvjetima pseudo-prvog reda. Uvjeti pseudo-prvog reda su postignuti tako što je koncentracija askorbata bila obično 20 puta veća od koncentracije heksacijanoferat(III) iona (uzimajući u obzir reakcijsku stehiometriju, askorbat : heksacijanoferat(III) = 1:2), tipično $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ Na-askorbat i $0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ na pH=5,7, te $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ askorbinska kiselina i $0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ na pH=3,8. I u slučaju pseudo suviška 12 puta, dobivena je ista konstanta brzine kao i kod većeg pseudo suviška, unutar eksperimentalne pogreške (uspoređene su konstante brzine izmjerene na klasičnom HP spektrofotometru u uvjetima pseudo suviška 12 puta s konstantama brzine koje su izmjerene na spektrofotometru koji je opremljen s dodatkom za praćenje brzih reakcija, Ocean Optics, u uvjetima pseudo suviška 20 puta).

Konstante brzine drugoga reda (k_{HAsc^-}) izračunane su iz izmjerene konstante brzine pseudo-prvog reda (k_{obs}) i koncentracije askorbata, koja je određena spektrofotometrijski (vidi niže), prema izrazu:

$$k_{\text{obs}} = 2k_{\text{HAsc}}[\text{HAsc}^-]$$

Konstante brzine pseudo-prvog reda izmjerene na pH=5,7 u prisutnosti Na₂EDTA (EDTA = etilendiamintetraacetat; 0,0005 moldm⁻³) i na pH=3,8 bez Na₂EDTA se u potpunosti slažu, isto kao i konstante brzine koje su dobivene kada je Na₂EDTA zamijenjen s Na₂DETAPAC-om (DETAPAC - dietilentriaminopenta acetat). EDTA i DETAPAC su dodani u reakcijsku otopinu kako bi spriječili oksidaciju askorbata koja se događa u prisutnosti tragova metalnih iona i kisika, te nastajanje askorbil radikal aniona, koji bi u usporednoj reakciji vrlo brzo reagirao s heksacijanoferat(III) ionom. Poznato je da u prisutnosti kisika i tragova metalnih iona dolazi do oksidacije askorbata do askorbil radikal aniona, Asc^{•-}.^{195,196} Nastali radikal se potom disproporcionira do askorbata i dehidroaskorbinske kiseline.¹⁹⁴ Reakcija disproporcionacije ovisi o pH, tj. na nižemu pH je brža. Stoga je u neutralnom, s obzirom da je uklanjanje Asc^{•-} disproporcijom usporeno, potrebna posebna pažnja kako bi se izbjegla usporedna reakcija askorbil radikal aniona i heksacijanoferat(III) iona. To je postignuto uklanjanjem tragova metalnih iona dodatkom EDTA ili DETAPAC-a, koji vrlo efikasno stvaraju komplekse s metalnim ionima, te uklanjanjem kisika propuhivanjem vode strujom dušika.

Reakcijska smjesa bez kalijevog(III)heksacijanoferata termostatirana je u kvarcnoj kiveti najmanje 20 minuta prije početka kinetike. Reakcija se započinje dodatkom 1,0 μL 0,1 moldm⁻³ otopine heksacijanoferat(III) iona u 2,0 mL reakcijske smjese. 0,1 moldm⁻³ otopina Na-askorbata za kinetička mjerenja je pripremljena otapanjem Na-askorbata u vodi koja sadržava 0,0005 moldm⁻³ Na₂EDTA, kako bi se osigurala stabilnost askorbata.

4.3. Određivanje koncentracije askorbata

Koncentracija askorbata u reakcijskoj smjesi određena je spektrofotometrijski, mjerenjem apsorpcije na repu apsorpcijske vrpce askorbata ($\lambda_{\max} = 265 \text{ nm}$), na 294 ili 300 nm, prije dodatka kalijevog (III) heksacijanoferata. Mjerenje apsorpcije na valnoj duljini koja odgovara maksimumu nije bilo moguće zbog prevelike apsorpcije u danim reakcijskim uvjetima ($\epsilon(\text{HAsc}^-)_{265\text{nm}} \sim 14500 \text{ mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$).¹⁸⁹ Na ovaj način se izbjeglo određivanje vrlo malih promjena pK_a vrijednosti, pod utjecajem ionske jakosti.

Određeni su molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata na 294 i 300 nm, na temperaturama od 278 do 313 K, u vodi i teškoj vodi (Tablice 4.3.1. i 4.3.2.; Slike 4.3.1. i 4.3.2.), te na 298 K kod različitih množinskih udjela D_2O u H_2O (Tablica 4.3.3., Slika 4.3.3.), mjerenjem apsorpcija 0,0005 mol dm^{-3} otopine Na-askorbata. pH otopina u vodi je bila 5,7, te 6,2 u teškoj vodi ($pD_{\text{očitani}} \approx 5,8$, $pD = pD_{\text{očitani}} + 0,4$). U ovim uvjetima, jedini molekularni oblik askorbata je askorbatni monoanion (HAsc^-). Utvrđeno je da dodatak soli ne utječe na molarni apsorpcijski koeficijent askorbata.

Tablica 4.3.1.

Molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata (HAsc^-) u vodi, pri različitim temperaturama, na 294 i 300 nm.

$T / ^\circ\text{C}$	294 nm		300 nm	
	$\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$	$\bar{\varepsilon}(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$	$\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$	$\bar{\varepsilon}(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$
	$/ \text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$/ \text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$/ \text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$/ \text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$
5,2	1339	1351 (17)	420	424 (6)
	1363		428	
10,0	1397	1406 (14)	446	450 (6)
	1416		454	
14,9	1461	1473 (17)	477	485 (11)
	1485		492	
19,8	1528	1516 (17)	503	501 (3)
	1504		498	
25,0	1574	1590 (22)	531	536 (7)
	1605		540	
30,1	1659	1678 (27)	567	576 (12)
	1697		584	
34,7	1708	1724 (21)	595	601 (6)
	1739		603	
39,1	1766	1790 (34)	625	632 (9)
	1814		638	

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH} = 5,7$

Tablica 4.3.2.

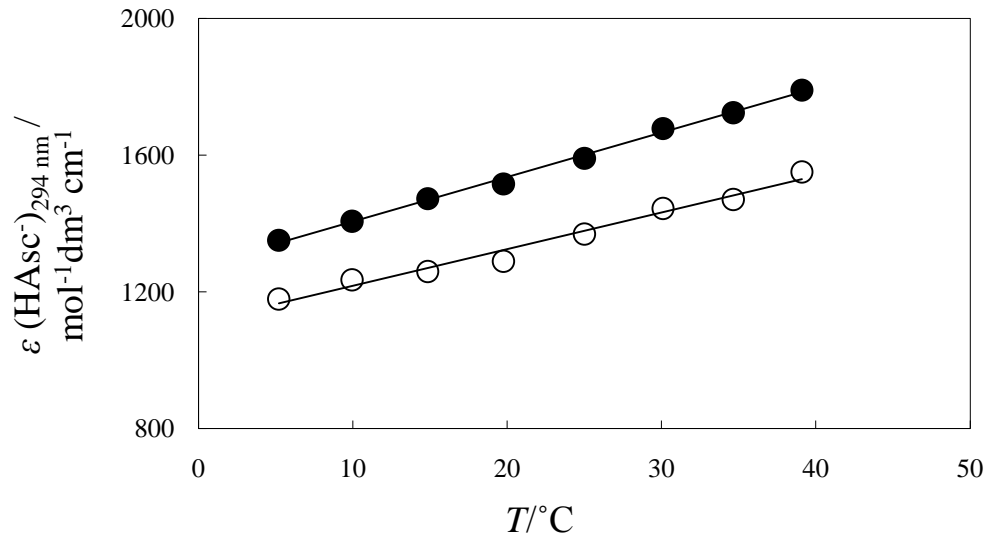
Molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata (HAsc^-) u teškoj vodi, pri različitim temperaturama, na 294 i 300 nm.

$T / ^\circ\text{C}$	294 nm		300 nm	
	$\epsilon(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\bar{\epsilon}(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\epsilon(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\bar{\epsilon}(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$
5,2	1181	1179 (3)	359	360 (2)
	1177		362	
10,0	1225	1235 (14)	372	375 (4)
	1245		378	
14,9	1260	1268 (11)	392	395 (4)
	1275		397	
19,8	1273	1289 (23)	404	413 (13)
	1305		421	
25,0	1349	1368 (27)	442	448 (9)
	1387		454	
30,1	1459	1444 (21)	486	479 (11)
	1430		471	
34,7	1462	1470 (10)	484	491 (10)
	1476		498	
39,1	1568	1551 (24)	530	526 (5)
	1534		522	

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pD} = 6,2$ ($\text{pD}_{\text{očitan}} = 5,8$).

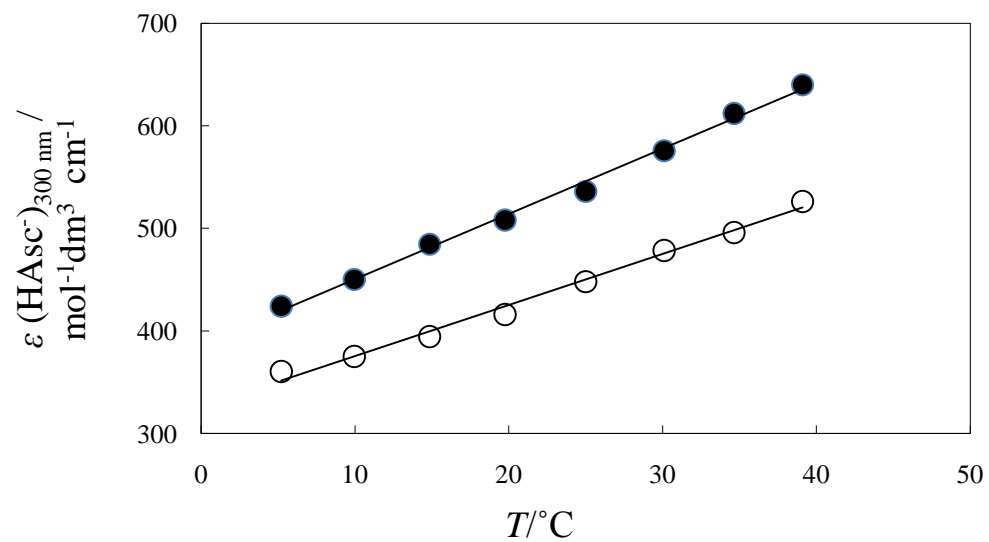
Slika 4.3.1.

Ovisnost molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata o temperaturi u vodi (●) i teškoj vodi (○), na 294 nm. Podaci iz Tablica 4.3.1. i 4.3.2..



Slika 4.3.2.

Ovisnost molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata o temperaturi u vodi (●) i teškoj vodi (○), na 300 nm. Podaci iz Tablica 4.3.1. i 4.3.2..



Tablica 4.3.3.

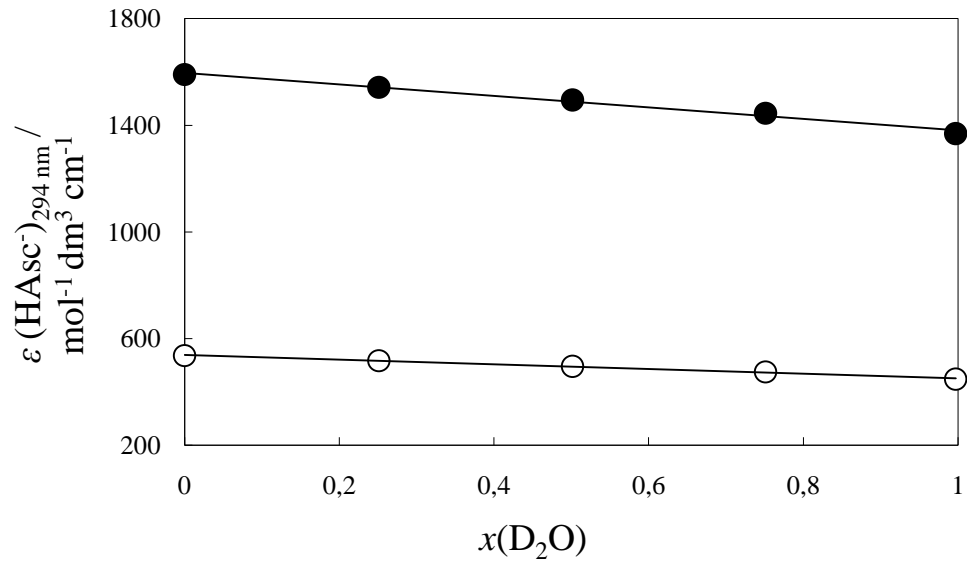
Molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata (HAsc^-) kod različitih množinskih udjela D_2O u H_2O , na 294 i 300 nm, pri 298 K.

$x(\text{D}_2\text{O})$	294 nm		300 nm	
	$\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\bar{\varepsilon}(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$	$\bar{\varepsilon}(\text{HAsc}^-)_{300 \text{ nm}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{cm}^{-1}$
0,0000	1574	1590 (22)	531	536 (7)
	1605		540	
0,2512	1523	1542 (28)	510	517 (10)
	1561		524	
0,5016	1477	1495 (25)	491	497 (8)
	1512		502	
0,7512	1459	1445 (20)	479	475 (6)
	1431		470	
0,9970	1349	1368 (27)	442	448 (9)
	1387		454	

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

Slika 4.3.3.

Ovisnost molarog apsorpcijskog koeficijenta askorbata (HAsc^-) o množinskom udjelu D_2O u H_2O , na 294 (●) i 300 nm, pri 298 K, $r = 0,999$. Podaci iz Tablice 4.3.3..



5. REZULTATI I RASPRAVA

Reakcije u kojima dolazi do spregnutog prijelaza elektrona i protona (PCET) imaju određene zajedničke karakteristike s reakcijama prijelaza elektrona (ET). Oba tipa reakcija uključuju preraspodjelu naboja, koju prati značajno sprezanje s okolnim medijem.¹³ Već dugo je poznato da prisutnost iona značajno utječe na reakcije prijelaza elektrona.¹⁴⁻¹⁸ Međutim, utjecaj iona na PCET reakcije je do danas vrlo oskudno ispitan, premda su ioni prisutni u važnim biološkim PCET sustavima.^{1,4}

Cilj istraživanja u okviru ove disertacije je proučiti utjecaj kationa na PCET reakciju. Kako bi utjecaj kationa bio što izraženiji, kao modelna reakcija na kojoj se ispituje utjecaj kationa na PCET reakciju odabrana je reakcija između dva aniona: askorbatnog monoaniona (HAsc^-) i heksacijanoferat(III) iona.

Reakcija između askorbata i heksacijanoferat(III) iona je od ranije poznata.^{18,222-224} Askorbat (HAsc^-) reducira heksacijanoferat(III) ion pri čemu nastaje dehidroaskorbinska kiselina (DHA) i heksacijanoferat(II) ion:



Stehiometrija ukupne reakcije je askorbat:heksacijanoferat(III) ion = 1:2.²²²⁻²²⁴

Kinetička analiza reakcije se zasniva na praćenju smanjenja koncentracije heksacijanoferat(III) iona (smanjenje apsorbancije na 420 nm), što je povezano s njegovom redukcijom. Empirijski zakon za brzinu reakcije dan je izrazom:²²²⁻²²⁴

$$R = -d[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}] / dt = 2k_{\text{HAsc}^-} [\text{HAsc}^-] [\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]$$

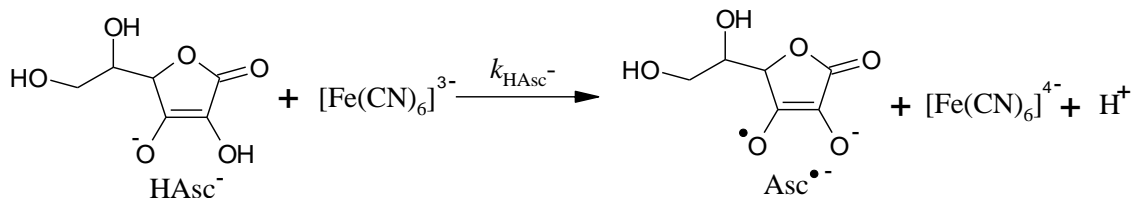
k_{HAsc^-} – konstanta brzine drugog reda reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona

Reakcija je ukupno drugog reda, tj. prvog reda s obzirom na askorbat, te s obzirom na heksacijanoferat(III) ion. Konstante brzine reakcije su određene u uvjetima pseudo-prvog reda, tako što je koncentracija askorbata bila u velikom suvišku.

$$k_{\text{obs}} = 2k_{\text{HAsc}^-} [\text{HAsc}^-]$$

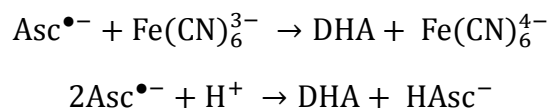
Na temelju provedene kinetičke analize predložen je sljedeći reakcijski mehanizam. U prvom, relativno sporom reakcijskom stupnju (Shema 5.1.) dolazi do usklađenog prijelaza elektrona i protona (PCET). Pritom dolazi do prijelaza elektrona s askorbata na heksacijanoferat(III) ion, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, koji se reducira i prelazi u $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. U istom

reakcijskom stupnju, spregnuto s prijelazom elektrona dolazi do prijelaza protona s 2-OH skupine askorbatnog monoaniona najvjerojatnije na molekulu vode. S obzirom da je $pK_a(\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}) \sim 4,3$,²²³ u reakcijskim uvjetima u kiselom, $\text{pH} \sim 3,8$, jedan dio protona će nakon početnog prijelaza na vodu, preći na $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. U neutralnom pH području (najčešće u ovom istraživanju) proton prelazi na vodu.



Shema. 5.1. Prvi reakcijski stupanj reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona (PCET)

U prvom reakcijskom stupnju uslijed usklađenog prijelaza elektrona i protona nastaje askorbil radikal anion ($\text{Asc}^{\bullet-}$) koji u sljedećem brzom stupnju reducira drugu molekulu heksacijanoferrat(III) iona^{193,222-224} ili se u konkurentnom procesu brzo disproporcionira,¹⁹⁴ pri čemu nastaju dehidroaskorbinska kiselina i askorbat:



Predloženi reakcijski mehanizam je obrazloženi i dokazani ispravak u literaturi ranije predloženog mehanizma, prema kojemu je reakcija opisana kao reakcija prijelaza elektrona na vanjskoj sferi.²²²⁻²²⁴

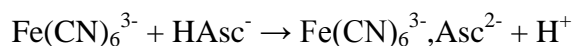
5.1. PCET ili stupnjeviti mehanizam?

Poznato je da se neke od reakcija oksidacije askorbata odvijaju PCET mehanizmom,^{8,80,90-98} tj. da se prijelaz elektrona i protona s askorbata odvija usklađeno, u jednom reakcijskom stupnju.

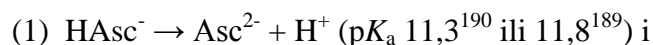
U okviru ovog istraživanja utvrđeno je da se i reakcija između askorbata i heksacijanoferrat(III) iona odvija PCET mehanizmom. Evidencija koja govori u prilog PCET mehanizmu je izmjereni kinetički izotopni učinak u reakciji (KIE) i provedena termokemijska analiza, uz primjenu „kvadratne sheme“.³

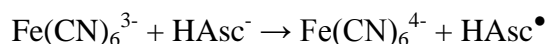
Stupnjeviti mehanizam može značiti ili da prvo dolazi do prijelaza protona s askorbata, nakon čega slijedi prijelaz elektrona (PT/ET) ili obratno da prvo dolazi do prijelaza elektrona nakon kojega slijedi prijelaz protona (ET/PT). Stupnjeviti ET/PT mehanizam, u kojem početno dolazi do prijelaza elektrona, je moguće isključiti na temelju izmjerenog kinetičkog izotopnog učinka (KIE), k_H/k_D ($k = k_{\text{HAsc}^-}$), koji u reakcijskim uvjetima bez dodatka soli (na ionskoj jakosti $I = 0,0023$) iznosi 4,6. Konstante brzine reakcije su određene spektrofotometrijski, praćenjem smanjenja apsorbancije heksacijanoferrat(III) iona tj. reakcije prijelaza elektrona. Izmjereni KIE jasno upućuje na to da se tijekom stupnja koji određuje brzinu reakcije događa prijelaz protona, a početni ET u kojemu bi nastao protonirani askorbil radikal (HAsc^\bullet) ne uključuje prijelaz protona. Prijelaz protona s HAsc^\bullet , koji bi slijedio nakon prijelaza elektrona bio bi brz, budući da je $\text{p}K_a(\text{HAsc}^\bullet) = -0,45$,¹⁹¹ te stoga ne bi doveo do pojave KIE. Na temelju KIE nije moguće posve isključiti stupnjeviti PT/ET mehanizam, u kojemu bi početno dolazilo do prijelaza protona, budući da bi u tom slučaju brzina nestajanja heksacijanoferrat(III) iona bila određena brzinom prijelaza protona. S obzirom da je prijelaz deuterija s 2-OD skupine askorbata sporiji od prijelaza protona s 2-OH skupine to bi također dovelo do pojave KIE. Međutim, stupnjeviti PT/ET mehanizam moguće je isključiti na temelju provedene termokemijske analize. U sklopu termokemijske analize uspoređuje se standardna reakcijska Gibbsova energija (ΔG°) odgovarajućih konsektivnih PT/ET, te ET/PT reakcija s eksperimentalno određenom aktivacijskom reakcijskom Gibbsovom energijom (ΔG^\ddagger), uz pretpostavku da je uvijek $\Delta G^\ddagger \geq \Delta G^\circ$. ΔG° PT procesa moguće je odrediti iz $\text{p}K_a$ odgovarajuće kiseline ($\Delta G^\circ = 2,3 RT \text{p}K_a$), a ΔG° ET procesa iz redoks potencijala E° ($\Delta G^\circ = -nFE^\circ$).

PT/ET

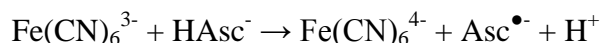


ΔG° početnog PT procesa u stupnjevitom PT/ET procesu je izračunan kao zbroj ΔG° disocijacije askorbatnog monoaniona i ΔG° nastajanja asocijacijskog kompleksa ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Asc}^{2-}$), te iznosi od najmanje 66,2 kJ/mol do 70,2 kJ/mol.



ET/PT


ΔG° početnog ET procesa u stupnjevitom ET/PT procesu je na temelju izmjerenog redoks potencijala $E^\circ(\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}) = 0,411 \text{ V}$ ($I = 0,1$, Tablica 5.2.1.11., str. 93.) i $E^\circ(\text{HAsc}^\bullet/\text{HAsc}^-) = 0,720 \text{ V}$,⁹² te iznosi 31,0 kJ/mol.

PCET


ΔG° PCET procesa je na temelju izmjerenog $E^\circ(\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}) = 0,411 \text{ V}$ ($I = 0,1$) i $E^\circ(\text{Asc}^{\bullet-}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-) = 0,693 \text{ V}$, te iznosi 28,5 kJ/mol.

$$E^\circ(\text{Asc}^{\bullet-}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-) = \Delta G^\circ(\text{Asc}^{\bullet-}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-)/F$$

$$\Delta G^\circ(\text{Asc}^{\bullet-}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-)^3 = FE^\circ(\text{HAsc}^\bullet/\text{HAsc}^-)^{92} + 2,303RTpK_a(\text{HAsc}^\bullet)^{191}$$

Aktivacijska Gibbsova energija, ΔG^\ddagger , određena iz ovisnosti konstante brzine reakcije o temperaturi prema Eyringovoj jednadžbi, u reakcijskim uvjetima bez dodatka iona, na ionskoj jakosti $I = 0,0023$ iznosi 62,3 kJ/mol (vidi Tablica 5.2.2.7., str. 106.). ΔG° za početni PT u stupnjevitom PT/ET procesu iznosi najmanje 66,2 kJ/mol do 70,2 kJ/mol, što je barem 4 kJ/mol-u više od izmjerene aktivacijske energije u reakciji. S obzirom da ΔG^\ddagger ne može biti manja od ΔG° , stupnjeviti PT/ET mehanizam je moguće isključiti. ΔG° početnog ET procesa u stupnjevitom ET/PT procesu iznosi 31 kJ/mol. Iako je ΔG° početnog ET procesa znatno manja od izmjerene ΔG^\ddagger , ovaj mehanizam je moguće isključiti na temelju izmjerenog KIE, kao što je ranije opisano.

5.2. Utjecaj kationa na reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi

Ispitan je utjecaj dodatka soli, natrijevog klorida, na brzinu, kinetički izotopni učinak te na aktivacijske parametre reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi. Ispitivanja su provedena u koncentracijskom području u kojemu vrijedi granični Debye-Hückelov zakon,²¹⁸ kod ionskih jakosti $I \leq 0,01$ (0,001-0,008 mol dm^{-3} NaCl), te u području viših koncentracija natrijevog klorida (0,05 do 1,0 mol dm^{-3} NaCl). Rezultati su navedeni u Tablicama: 5.2.1.1. - 5.2.1.8. i 5.2.2.1.-5.2.2.8., te na Slikama: 5.2.1.1. - 5.2.1.8. i 5.2.2.1. - 5.2.2.6..

5.2.1. Utjecaj kationa na brzinu i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi

Područje vrlo niskih ionskih jakosti ($I \leq 0,01$)

Ispitan je utjecaj niskih koncentracija kationa (0,001-0,008 mol dm^{-3} Na⁺) na brzinu te na kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi. Ionska jakost u ispitanim reakcijskim uvjetima je $\leq 0,01$, što odgovara području u kojemu vrijedi granični Debye-Hückelov zakon. Rezultati su navedeni u Tablicama 5.2.1.1., 5.2.1.2., 5.2.1.3..

U skladu s predloženim reakcijskim mehanizmom, prema kojemu su reaktanti u reakciji askorbatni monoanion (HAsc⁻) i heksacijanoferat(III) ion (Fe(CN)₆³⁻), normalno je očekivati da će dodatak soli u reakcijsku otopinu dovesti do povećanja brzine reakcije.²⁰³

Tablica 5.2.1.1.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pri pH = 5,7 na 298 K, $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0*	0,0011	64,4	64,7 (0,5)
		65,3	
		64,5	
0	0,0023	71,8	71,3 (0,7)
		70,8	
		70,4	
		71,4	
0,001	0,0033	72,2	77,0 (0,9)
		76,1	
		77,8	
0,003	0,0053	77,0	84,8 (1,1)
		85,8	
		83,8	
0,005	0,0073	84,9	94,7 (1,1)
		93,4	
		95,3	
0,007	0,0093	95,2	100,7 (1,5)
		100,8	
		102,4	
		98,9	
0,008	0,0103	100,6	104,2 (1,5)
		105,7	
		104,1	
		102,9	

* $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$

Tablica 5.2.1.2.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u teškoj vodi, kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pri $pD = 6,2$ ($pD = pD_{\text{očitani}} + 0,4$), na 298 K, $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$
		13,4	
0*	0,00078	13,8	13,5 (0,3)
		13,2	
		15,4	
		15,5	
0	0,0023	15,7	15,5 (0,1)
		15,5	
		15,4	
		17,0	
0,001	0,0033	17,0	16,9 (0,2)
		16,7	
		19,5	
0,003	0,0053	19,0	19,1 (0,4)
		18,8	
		20,5	
0,005	0,0073	21,0	20,8 (0,3)
		20,8	
		22,2	
0,007	0,0093	22,9	22,7 (0,4)
		22,9	
		23,5	
0,008	0,0103	23,5	23,7 (0,3)
		24,1	

* $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, $pD_{\text{calc}} = 3,8$, $pK_a(\text{H}_2\text{Asc}, \text{D}_2\text{O}, 298 \text{ K}) = 4,63$.⁸⁰

Tablica 5.2.1.3.

Konstante brzine u vodi i teškoj vodi, te pripadajući kinetički izotopni učinci za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pri pH = 5,7 (pD = 6,2) na 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

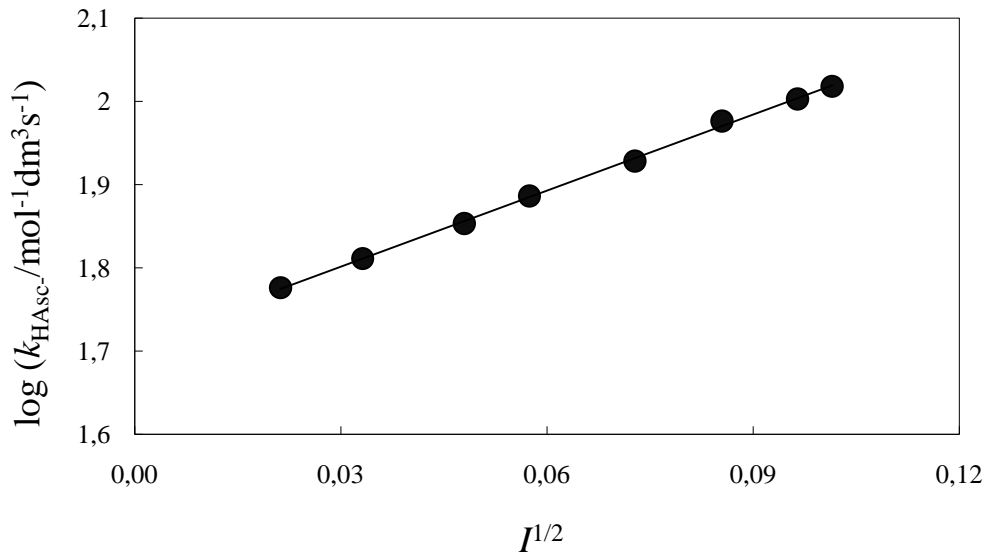
$c(\text{NaCl}) /$ mol dm^{-3}	I	H_2O $\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	D_2O $\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\text{D}_2\text{O}_{\text{kor}}^*$ $(\bar{k}_{\text{HAsc}^-})_{\text{kor}} /$ $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	KIE	$\text{KIE}_{\text{kor}}^*$
0	0,0023	71,3 (0,7)	15,5 (0,1)	15,3 (0,1)	4,60 (0,06)	4,66 (0,06)
0,001	0,0033	77,0 (0,9)	16,9 (0,2)	16,5 (0,2)	4,56 (0,07)	4,67 (0,07)
0,003	0,0053	84,8 (1,1)	19,1 (0,4)	18,6 (0,4)	4,44 (0,10)	4,56 (0,10)
0,005	0,0073	94,7 (1,1)	20,8 (0,3)	20,1 (0,3)	4,55 (0,08)	4,71 (0,08)
0,007	0,0093	100,7 (1,5)	22,7 (0,4)	21,8 (0,4)	4,44 (0,10)	4,62 (0,10)
0,008	0,0103	104,2 (1,5)	23,7 (0,1)	22,8 (0,3)	4,40 (0,08)	4,57 (0,08)

*konstante brzine u D_2O su korigirane uzimajući u obzir razlike u dielektričnoj konstanti i gustoći između H_2O i D_2O , što dovodi do razlike u Debye-Hückelovoj A konstanti za H_2O i D_2O (vidi Dodatak D1. i Tablicu D.1.)²⁰⁵

Slika 5.2.1.1.

Ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, pH=5,7, 298 K, $r = 0,999$.

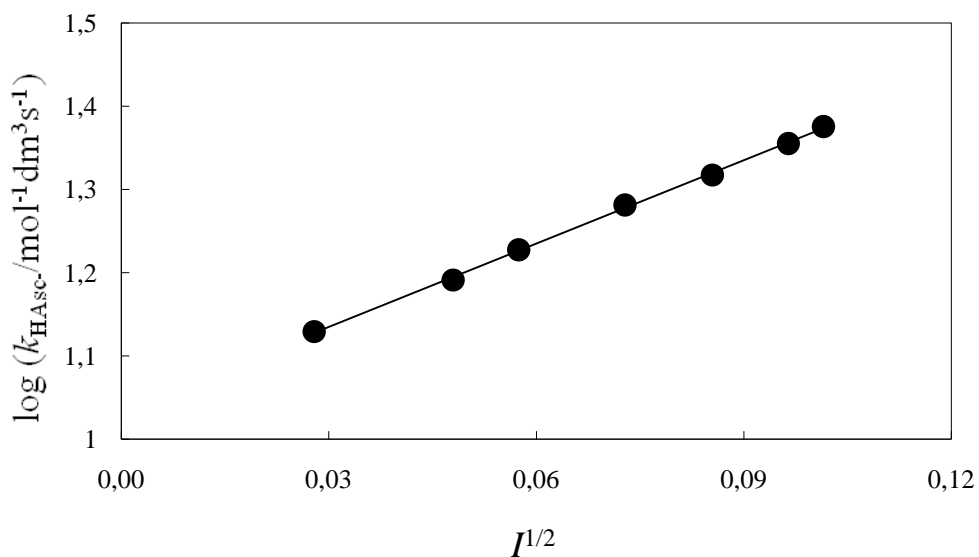
$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.2.1.1..



Slika 5.2.1.2.

Ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u teškoj vodi, pD=6,2, 298 K, $r = 0,999$.

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.2.1.2..



Tablica 5.2.1.4.

Parametri dobiveni iz ovisnosti $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi i teškoj vodi, na $\text{pH} = 5,7$ ($\text{pD} = 6,2$), u prisutnosti $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ Na_2EDTA , na 298 K. (Slike 5.2.1.1. i 5.2.1.2., Tablice 5.2.1.1. i 5.2.1.2.).²¹⁸

	H ₂ O	D ₂ O	D ₂ O _{kor} ^a
nagib	3,06 (0,04)	3,34 (0,04)	3,15 (0,04)
odsječak	1,71 (0,00)	1,04 (0,00)	1,04 (0,00)
$z_A z_B$ ^b	3,00 (0,03)	3,09 (0,04)	
$k_{\text{HAsc}^-,0}$ ^c	51,3 (0,3)	11,0 (0,1)	11,0 (0,1)
KIE_0 ^d	4,66 (0,04)		

^a korigirano uzimajući u obzir razlike u dielektričnoj konstanti i gustoći između H₂O i D₂O, što dovodi do razlike u Debye-Hückelovoj A konstanti (vidi Dodatak D1. i Tablicu D.1.)²⁰⁵

^b z_A i z_B su naboji reaktanata

^c ekstrapolirane konstante brzine (na $I = 0$)

$$\text{KIE}_0 = \frac{(k_{\text{HAsc}^-,0})_{\text{H}}}{(k_{\text{HAsc}^-,0})_{\text{D}}}$$

Tablica 5.2.1.5.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi, kod različitih ionskih jakosti (Na_2EDTA), $\text{pH} = 5,7$, 298 K . $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{Na}_2\text{EDTA})$ / mol dm^{-3}	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,0001	0,0011	63,8	63,4 (0,4)
		63,0	
		63,5	
0,0005	0,0023	69,6	70,1 (0,5)
		70,3	
		70,5	
0,001	0,0038	77,3	77,3 (0,5)
		77,8	
		76,9	
0,002	0,0064	89,2	89,4 (0,9)
		90,4	
		88,6	
0,004	0,0128	102,8	103,6 (0,9)
		103,5	
		104,5	

Tablica 5.2.1.6.

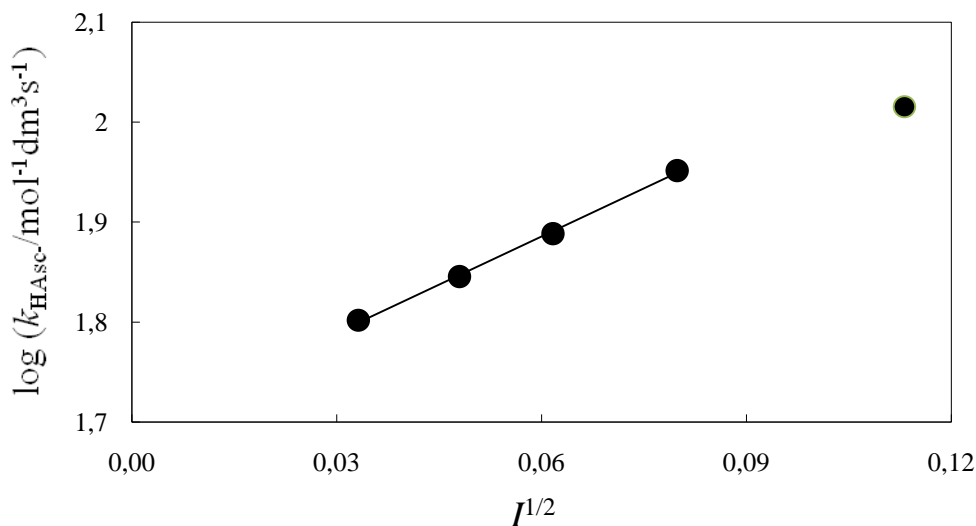
Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi, kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pri pH = 3,8 na 298 K. $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0	0,00045	59,0	59,6 (0,6)
		60,2	
		59,7	
0,002	0,00245	70,9	71,8 (1,0)
		71,7	
		72,8	
0,004	0,00438	80,1	80,3 (1,0)
		81,4	
		79,4	
0,006	0,00645	88,3	89,0 (0,7)
		89,6	
		89,1	
0,01	0,01045	107,0	105,9 (1,0)
		105,6	
		105,0	

Slika 5.2.1.3.

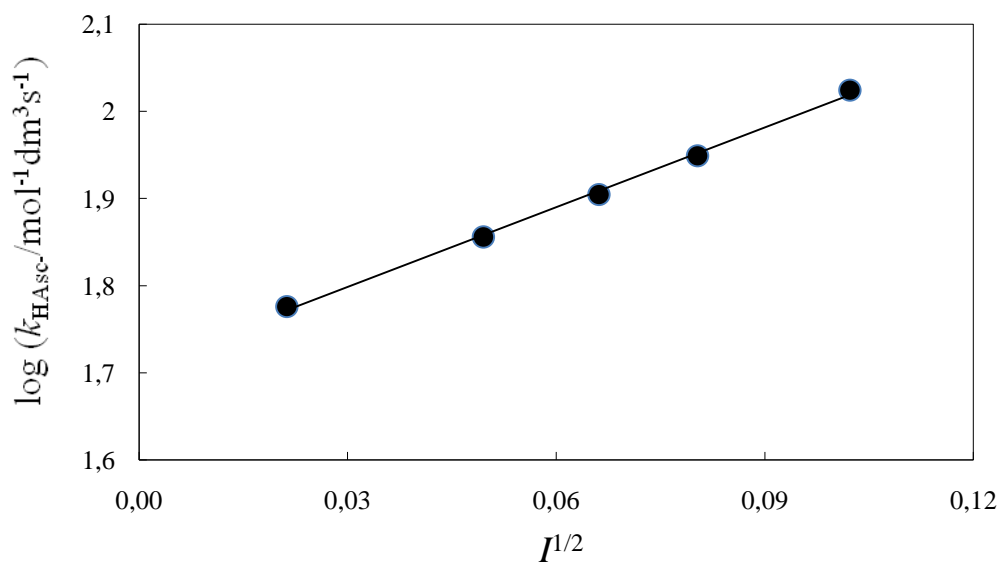
Ovisnost $\log k_{\text{HAsc-}}$ o korijenu ionske jakosti (Na_2EDTA) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, $\text{pH}=5,7$, 298 K , $r = 0,999$.

$c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005\text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005\text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.2.1.5..



Slika 5.2.1.4.

Ovisnost $\log k_{\text{HAsc-}}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, $\text{pH}=3,8$, 298 K , $r = 0,999$. $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005\text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005\text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.2.1.6..



Tablica 5.2.1.7.

Parametri dobiveni iz ovisnosti $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti²¹⁸

- a) ionska jakost je varirana dodatkom Na₂EDTA, na pH=5,7 (Tablica 5.2.1.5., Slika 5.2.1.3.)
- b) ionska jakost je varirana dodatkom NaCl, na pH=3,8, bez prisutnosti Na₂EDTA (Tablica 5.2.1.6., Slika 5.2.1.4.)

	pH=5,7	pH=3,8
	Na ₂ EDTA	NaCl
nagib ^a	3,20 (0,09)	3,05 (0,08)
odsječak	1,69 (0,01)	1,71 (0,00)
$k_{\text{HAsc}^-,0}$ ^b	49,4 (0,6)	50,9 (0,7)

^a nagib = $2Az_Az_B$; z_A i z_B su naboji reaktanata

^b ekstrapolirana konstanta brzine (na $I = 0$)

Ispitan je utjecaj dodatka vrlo niskih koncentracija Na^+ iona na brzinu i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi. Ionska jakost u ispitanim reakcijskim uvjetima je $\leq 0,01$, što odgovara području u kojemu vrijedi granični Debye-Hückelov zakon. I u vodi i u teškoj vodi je utvrđeno povećanje brzine reakcije, uslijed povećanja ionske jakosti, u skladu s očekivanim primarnim kinetičkim solnim učinkom za reakciju između reaktanata istoimenog naboja (Tablice 5.1.1.1. i 5.1.1.2., str. 72. i 73.).

Ispitivanje je provedeno u neutralnom pH području ($\text{pH}=5,7$, $\text{pD}=6,2$), u prisutnosti Na_2EDTA ($0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$). Na_2EDTA je dodan u reakcijsku smjesu kako bi se osigurala stabilnost askorbata (vidi Literaturni pregled, str 14.; Eksperimentalni dio, str. 60.).^{195,196} Početna ionska jakost, koja potječe od samih reaktanata i Na_2EDTA iznosi $I=0,0023$. Daljnje povećanje ionske jakosti ostvareno je dodatkom natrijevog klorida u koncentracijama od $0,001$ do $0,008 \text{ mol dm}^{-3}$. I u vodi i u teškoj vodi dobivene su vrlo dobre linearne ovisnosti između $\log k_{\text{HAsc}^-}$ i korijena ionske jakosti, $r=0,999$ (Slike 5.1.1.1. i 5.1.1.2., str. 75.), u skladu s Brønsted-Debye-Hückelovim izrazom u graničnom Debye-Hückelovom području (do $I=0,01$):²¹⁸

$$\log k_{\text{HAsc}^-} = \log k_{\text{HAsc}^-,0} + 2z_A z_B A \sqrt{I}$$

$k_{\text{HAsc}^-,0}$ – konstanta brzine reakcije kod $I = 0$

z_A, z_B – naboji reaktanata

Dobiven je nagib pravca $3,06$ ($0,04$) u vodi, te $3,34$ ($0,04$) u teškoj vodi (Tablica 5.2.1.4., str. 76.). Razlika u nagibu pravaca u vodi i teškoj vodi može se jednim dijelom objasniti razlikom u Debye-Hückelovoj A konstanti u vodi i teškoj vodi, koja je povezana s razlikom u dielektričnoj konstanti i gustoći između vode i teške vode.^{203,205} A konstanta na 298 K u vodi iznosi $0,509$, te $0,540$ u teškoj vodi. Stoga su konstante brzine u teškoj vodi korigirane, uzimajući u obzir ovu razliku (vidi Dodatak, D1.). Nakon provedene korekcije nagib pravca u teškoj vodi iznosi $3,15$. Produkt naboja reaktanata, $z_A z_B$, iz dobivenih nagiba pravaca u vodi iznosi $3,00$ ($0,03$), te $3,09$ ($0,04$) u teškoj vodi, što jasno pokazuje da su u području niskih ionskih jakosti reaktanti u reakciji askorbatni monoanion i heksacijanoferat(III) ion, tj. da su jedino askorbatni monoanion i heksacijanoferat(III) ion uključeni u početni bimolekularni asocijacijski kompleks iz kojega ide reakcija. U ovom području se čini da je jedini utjecaj ionske jakosti o kojemu treba voditi računa utjecaj ionske atmosfere u okolici reaktanata na njihov aktivitet. To u slučaju heksacijanoferat(III) iona znači veću koncentraciju kationa u blizini $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$.²⁰⁵

Utjecaj ionske jakosti na kinetički izotopni učinak u području niskih ionskih jakosti je relativno malen. Korekcija konstanti brzina u teškoj vodi, vezana za razliku u Debye-Hückelovoj A konstanti između H_2O i D_2O , dovodi do dodatnog smanjenja promjene KIE unutar ovog područja, te ona po iznosu postaje približno jednaka eksperimentalnoj pogreški ($\sim 0,08$). KIE u području niskih ionskih jakosti iznosi $k_{\text{H}}/k_{\text{D}} \cong 4,6$.

Kako bi se dobiveni rezultat dodatno provjerio, u vodi je provedeno i dodatno ispitivanje utjecaja ionske jakosti na konstantu brzine reakcije u području niskih ionskih jakosti (do $I=0,01$). Provedeno je ispitivanje u neutralnom, na $\text{pH}=5,7$, s time da je porast ionske jakosti postignut povećanjem koncentracije Na_2EDTA ($0,0001 - 0,004 \text{ mol dm}^{-3}$). Ovo ispitivanje je provedeno da bi se vidjelo ima li Na_2EDTA eventualno neki dodatni utjecaj, osim osiguranja stabilnosti askorbata. (Tablica 5.2.1.5., Slika 5.2.1.3., str. 77. i 79.). I u ovom slučaju dobivena je linearna ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti, s približno jednakim nagibom, 3,20 (0,09) i odsječkom pravca kao i u slučaju kada je porast ionske jakosti bio povezan za dodatak natrijevog klorida (Tablica 5.2.1.7., str. 80.), s time da linearna ovisnost između $\log k_{\text{HAsc}^-}$ i korijena ionske jakosti prestaje na ionskoj jakosti nešto manjoj od 0,01. Konstanta brzine na $I \sim 0,01$ je manja od vrijednosti koja bi se očekivala na temelju linearne ovisnosti. To bi moglo biti posljedica asocijacije $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ i EDTA^{2-} , međutim za sada nema dovoljno informacija o takvoj mogućnosti. Provedeno je i ispitivanje u kiselom, na $\text{pH}=3,8$, bez dodatka Na_2EDTA , gdje je porast ionske jakosti postignut dodatkom NaCl -a. Na $\text{pH} 3,8$ prisutnost Na_2EDTA nije nužna s obzirom da je otopina askorbata znatno stabilnija nego na $\text{pH} 5,7$, povezano za veću brzinu reakcije disproporcionacije askorbil radikal aniona. I u ovom slučaju također je dobivena linearna ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti, sve do $I \sim 0,01$, uz nagib 3,05 (0,08) i odsječak pravca približno jednak onima koji su dobiveni u dva prethodna slučaja (Tablica 5.2.1.6, 5.2.1.7. i Slika 5.2.1.4., str. 78.- 80.).

Područje viših koncentracija kationa (0,05-1,0 mol dm⁻³ NaCl)

Tablica 5.2.1.8.

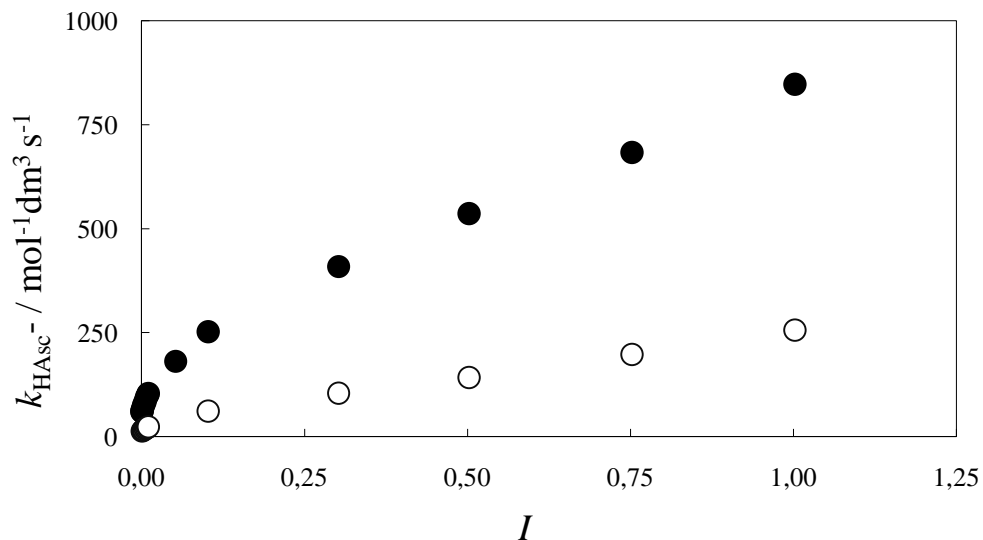
Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi i teškoj vodi i pripadajući kinetički izotopni učinci (KIE), pri različitim koncentracijama natrijevog klorida, pH = 5,7 (pD = 6,2), 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	H ₂ O		D ₂ O		KIE
	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1*}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
	183				
0,05	177	181 (3)			
	181				
	263		62,3		
0,1	240	252 (10)	59,6	62 (2)	4,06 (0,15)
	249		62,9		
	256				
	407		106		
0,3	403	409 (8)	103	104 (2)	3,93 (0,10)
	418		103		
	543				
	533		143		
0,5	539	537 (9)	144	142 (2)	3,78 (0,07)
	543		140		
	524				
	693		196		
0,75	665	683 (15)	193	197 (4)	3,47 (0,09)
	690		200		
	835		252		
1,0	847	847 (13)	260	256 (8)	3,31 (0,07)
	865		259		
	842		248		

* konstante su provjerene u reakcijskim uvjetima: $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ (pseudo suvišak 20×), na spektrofotometru koji je opremljen sa sustavom za mjerenje brzih reakcija

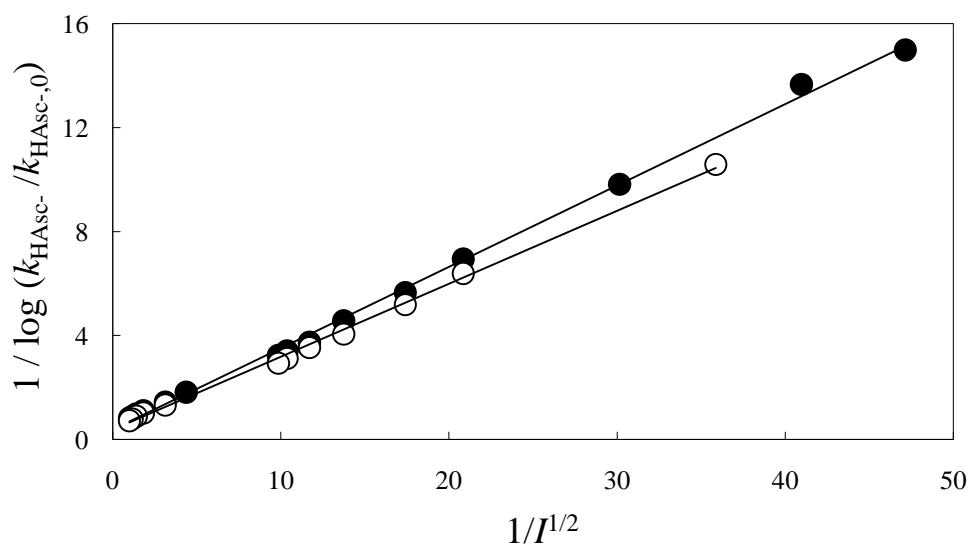
Slika 5.2.1.5.

Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona o ionskoj jakosti u vodi (●) i teškoj vodi (○), pH = 5,7 (pD = 6,2), 298 K. Podaci iz Tablica 5.2.1.3. i 5.2.1.8..



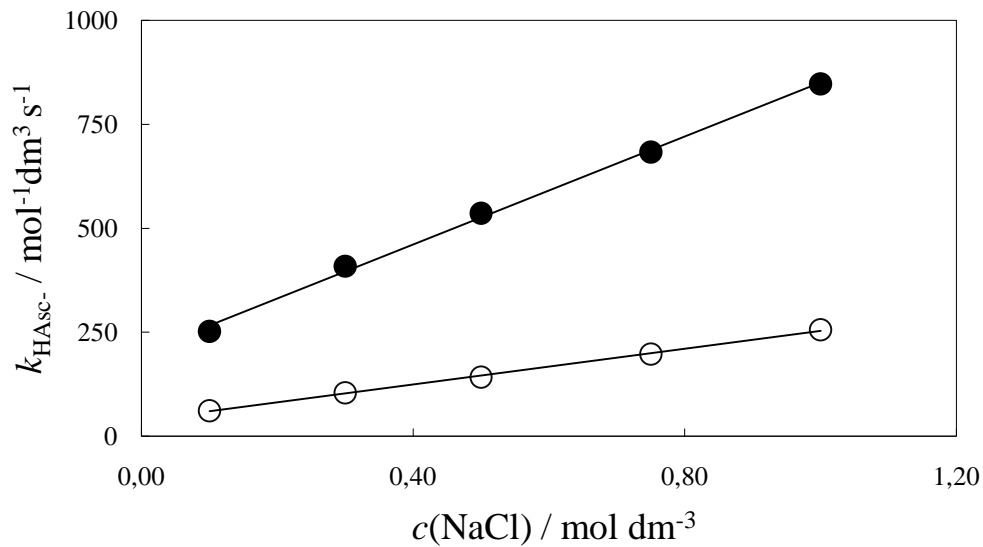
Slika 5.2.1.6.

Ovisnost $1/\log(k_{\text{HAsc}^-}/k_{\text{HAsc}^-,0})$ o recipročnom korijenu ionske jakosti (NaCl) prema Brønsted-Debye-Hückelovoj jednadžbi za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi (●), $r=0,999$ i teškoj vodi (○), $r=0,999$, pri pH = 5,7 (pD = 6,2), 298 K. Podaci iz Tablica 5.2.1.3. i 5.2.1.8..



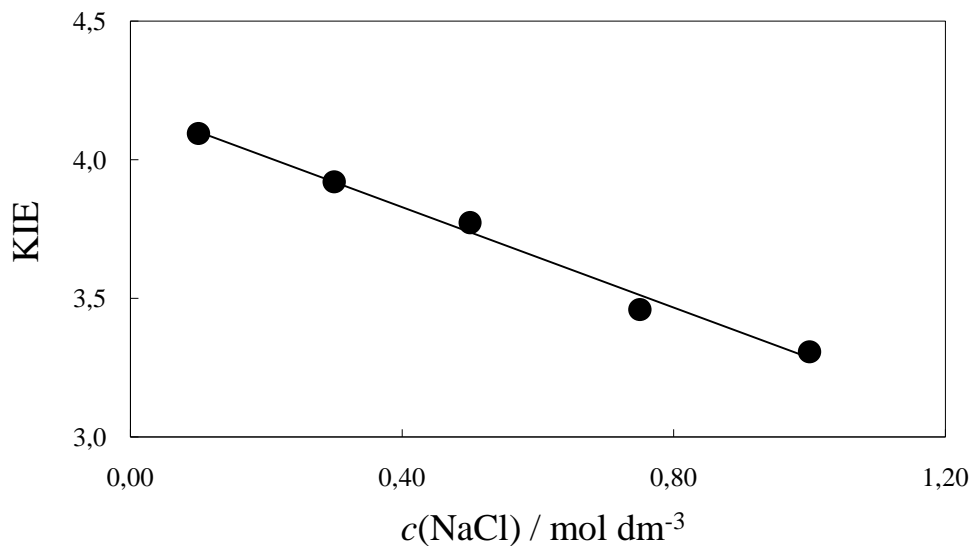
Slika 5.2.1.7.

Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona o koncentraciji natrijevog klorida u vodi (●) $r = 0,999$ i teškoj vodi (○), $r = 0,999$, pH = 5,7 (pD = 6,2), pri 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.2.1.8.



Slika 5.2.1.8.

Ovisnost kinetičkog izotopnog učinka (KIE) o koncentraciji natrijevog klorida za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, $r = 0,999$ pri 298 K. Podaci iz Tablice 5.2.1.8..



Ispitan je utjecaj većih koncentracija kationa (Na^+) na brzinu reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi i teškoj vodi, tj. mogući utjecaj kationa na kinetički izotopni učinak. Povećanje koncentracije narijevog klorida dovodi do povećanja konstante brzine reakcije i u vodi i u teškoj vodi (Tablica 5.2.1.8., Slika 5.2.1.5.; str. 83., 84.). Utjecaj ionske jakosti na konstantu brzine reakcije i u ovom području je u skladu s Brønsted-Debye-Hückelovom jednadžbom.^{203,218} Dobivena je vrlo dobra linearna ovisnost $1/\log(k_{\text{HAsc}^-}/k_{\text{HAsc}^-,0})$ o $1/I^{1/2}$ i u vodi i u teškoj vodi ($r=0,999$; Slika 5.2.1.6., str 84.). U području od 0,1 do 1,0 mol dm^{-3} koncentracije Na^+ dobivena je linearna ovisnost konstante brzine reakcije o koncentraciji Na^+ i u vodi i u teškoj vodi (Slika 5.2.1.7., str. 85.). To upućuje na prisutnost Na^+ iona unutar početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa na putu do prijelaznog stanja, uz pretpostavku da je konstanta nastajanja ionskog para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$ dovoljno mala.¹⁸ Početni trimolekularni asocijacijski kompleks u tom slučaju čine redoks par heksacijanoferat(III) ion – askorbatni monoanion i kation (Na^+). Pritom se može pretpostaviti da prvo nastaje ionski par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$ s obzirom da je konstanta nastajanja ionskog para između heksacijanoferat(III) iona i Na^+ veća od konstante nastajanja ionskog para između heksacijanoferat(III) iona i askorbata, s obzirom na njihove naboje. Ionski par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$ se potom asocira s askorbatom u početnom trimolekularnom asocijacijskom kompleksu. Konstanta nastajanja asocijata između ionskog para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$ i askorbata je vjerojatno bitno manja od konstante nastajanja ionskog para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$, s obzirom da su i ionski par i askorbat negativnog naboja.

Kod niskih ionskih jakosti, ionski asocijat koji se sastoji od heksacijanoferat(III) iona i askorbata vjerojatno je onog tipa u kojemu su ioni odvojeni hidratacijskom ljuskom, budući da su oba redoks partnera negativno nabijena.²²⁵ Prisutnost kationa u početnom trimolekularnom asocijacijskom kompleksu bi mogla u određenoj mjeri promijeniti hidratacijsku ljusku redoks partnera. U skladu s navedenim, moguće je očekivati da bi se Na^+ prisutan unutar početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa mogao naći u većoj blizini aktiviranog kompleksa (koji se sastoji od redoks partnera heksacijanoferat(III) iona i askorbata) u odnosu na slučaj kad reakcija ide iz početnog bimolekularnog asocijacijskog kompleksa, te na taj način utjecati na reakciju.

Osim utjecaja na brzinu reakcije, u području većih koncentracija kationa utvrđen je i značajan utjecaj kationa na kinetički izotopni učinak. Već na 0,1 mol dm^{-3} koncentraciji Na^+ KIE iznosi 4,06 (0,15), što je značajno smanjenje u odnosu na KIE određen u području niskih ionskih jakosti, KIE $\sim 4,6$. Daljnje povećanje koncentracije Na^+ do 1,0 mol dm^{-3} dovodi do linearnog smanjenja KIE, koji kod 1,0 mol dm^{-3} koncentracije iznosi 3,31 (0,07),

(Slika 5.2.1.8., str. 85.). U ovom koncentracijskom području prevladavajući reakcijski smjer je onaj koji uključuje početni trimolekularni asocijacijski kompleks. Značajna promjena KIE u prisutnosti kationa, u odnosu na KIE u području vrlo niskih koncentracija kationa je izravna evidencija o utjecaju kationa na aktivacijski proces u PCET reakciji.

„Proton inventory“. Utjecaj acetata

Tablica 5.2.1.9a.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi kod različitih množinskih udjela D₂O u H₂O, na ionskoj jakosti $I = 0,0023$, pri 298 K, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$x(\text{D}_2\text{O})$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
	71,8	
	70,8	
0,0000	70,4	71,3 (0,7)
	71,4	
	72,2	
	54,2	
0,2512	53,9	54,2 (0,3)
	54,5	
	39,6	
0,5016	39,4	39,3 (0,3)
	39,0	
	27,1	
0,7512	26,9	26,9 (0,3)
	26,5	
	15,4	
	15,5	
0,9970	15,7	15,5 (0,1)
	15,5	
	15,4	

Tablica 5.2.1.9b.

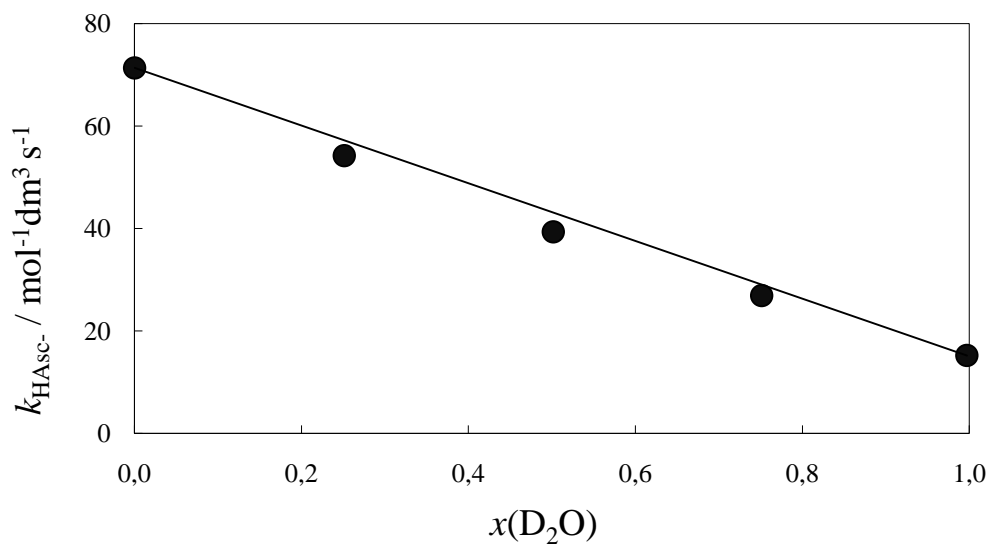
Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi kod različitih množinskih udjela D₂O u H₂O, u prisutnosti 0,5 mol dm⁻³ Na⁺, na 298 K, u neutralnom.

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{NaCl}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$.

$x(\text{D}_2\text{O})$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
	543	
	533	
0,0000	539	537 (9)
	543	
	524	
	420	
0,2512	424	422 (2)
	421	
	324	
0,5016	321	317 (11)
	305	
	209	
0,7512	226	217 (8)
	220	
	213	
	143	
0,9970	144	142 (2)
	140	

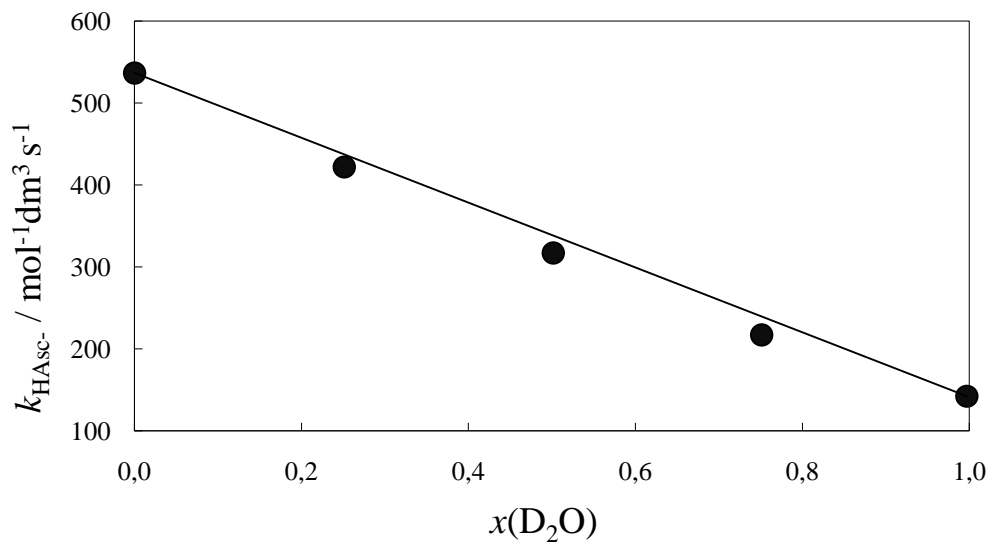
Slika 5.2.1.9.

Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona o množinskom udjelu D_2O u H_2O („*proton inventory*“) na ionskoj jakosti $I = 0,0023$, u neutralnom, 298 K. Podaci iz Tablice 5.2.1.9a..



Slika 5.2.1.10.

Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona o množinskom udjelu D_2O u H_2O („*proton inventory*“) u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, u neutralnom, 298 K. Podaci iz Tablice 5.2.1.9b..



Tablica 5.2.1.10.

Konstante brzine i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi u prisutnosti natrijevog acetata na 298 K, u neutralnom.

$c(\text{acetat})$	H_2O		D_2O		KIE
	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	
0,5	564		152		3,77 (0,12)
	543	561 (16) ^a	147	149 (3) ^c	
	575		147		
1,0	854				
	856	856 (3) ^b			
	859				

^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na-acetat}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{octena kiselina}) = 0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ $pK_a(\text{octena kiselina}, \text{H}_2\text{O}, 298 \text{ K}) = 4,68^{80}$

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na-acetat}) = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{octena kiselina}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$

^c $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na-acetat}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{octena kiselina}) = 0,16 \text{ mol dm}^{-3}$ $pK_a(\text{octena kiselina}, \text{D}_2\text{O}, 298 \text{ K}) = 5,20^{80}$

Ispitana je ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona o množinskom udjelu D_2O u H_2O („*proton inventory*“) kod vrlo male ionske jakosti ($I=0,0023$) i u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ natrijevog klorida (Tablice 5.2.1.9a. i 5.2.1.9b., Slike 5.2.1.9. i 5.2.1.10.). I u području niskih ionskih jakosti i u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ Na^+ dobivena je konkavno zakrivljena ovisnost k_{HAsc} - o množinskom udjelu D_2O , $x(D_2O)$. Dobivene ovisnosti upućuju na činjenicu da je više od jednog protona uključeno u prijelazno stanje,²¹¹⁻²¹³ što znači da 2-OH proton s askorbata ne prelazi izravno na heksacijanoferat(III) ion, nego na molekulu vode.

Osim toga utvrđeno je da se ni konstanta brzine, ni KIE nisu promijenili kada su $0,5$ i $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ natrijevog klorida u reakcijskoj smjesi zamijenjeni natrijevim acetatom (Tablica 5.2.1.10.), što upućuje na prijelaz protona na jednu od molekula vode koja je smještena između askorbata i heksacijanoferat(III) iona unutar aktiviranog kompleksa. Kada bi dolazilo do prijelaza protona s askorbata na vodu u okolnom otapalu, normalno bi bilo očekivati da će dodatak acetata u ovim koncentracijama dovesti do povećanja brzine reakcije (i do promjene KIE), budući da je acetat značajno bolji proton akceptor od vode ($pK_a(CH_3COOH) = 4,75$, $pK_a(H_3O^+) = -1,74$, u vodi na 298 K). U slučaju prijelaza protona na molekulu vode koja je dio mreže vodikovih veza između redoks partnera, PCET reakcija je jednosmjerna. Prednost jednosmjerne PCET reakcije u odnosu na dvosmjernu (što bi bio slučaj kod prijelaza protona na vanjsku vodu) je manja aktivacijska energija, vezano za manju reorganizacijsku energiju, λ .^{3,74} Eventualno uključenje acetata u mrežu vodikovih veza između redoks partnera dovelo bi do povećanja udaljenosti između redoks partnera, što bi smanjilo (elektronsko sprezanje) i brzinu reakcije, te stoga nije vjerojatno.

Odnos slobodne energije - ΔG^\ddagger vs ΔG°

Tablica 5.2.1.11.

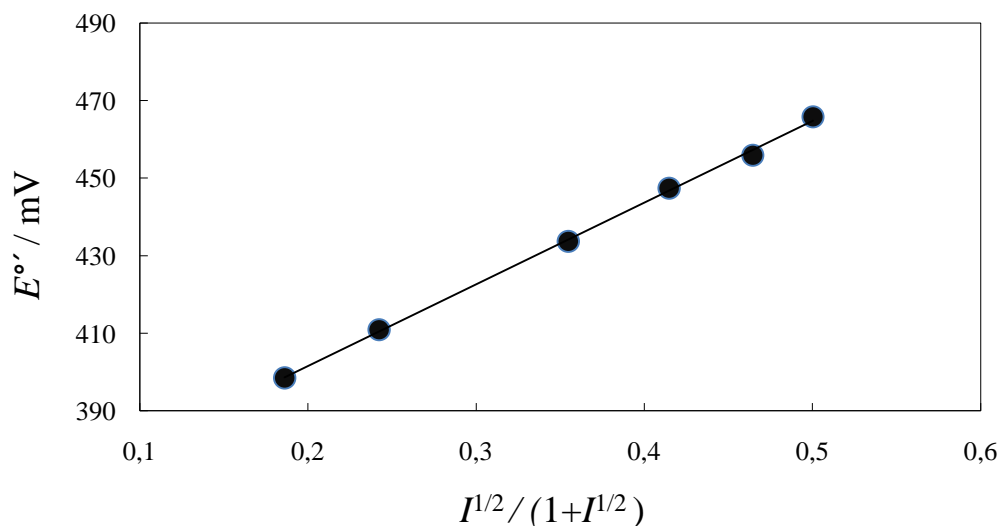
Formalni redoks potencijal $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redoks para u vodi pri različitim ionskim jakostima (NaCl), na 298 K u neutralnom.

I	E°/mV
0,0523	399 (1)
0,1023	411 (2)
0,3023	434 (2)
0,5023	447 (3)
0,7523	456 (2)
1,0023	466 (3)

* rezultati iz laboratorija Zavoda za fizikalnu kemiju, FBF
 $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,005 \text{ mol dm}^{-3}$

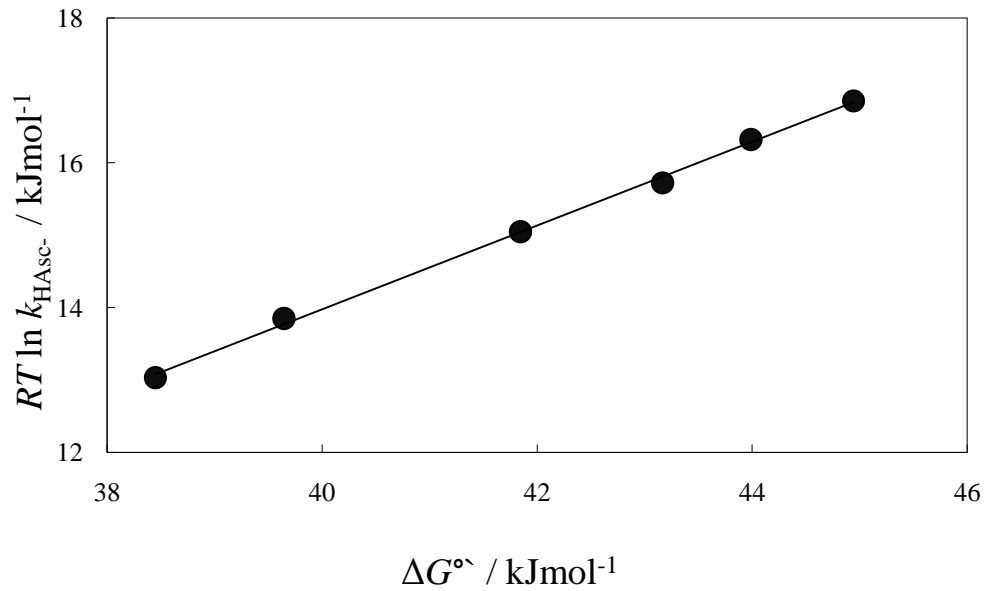
Slika 5.2.1.11.

Ovisnost formalnog redoks potencijala $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redoks para u vodi o $I^{1/2}/(1+I^{1/2})$, na 298 K u neutralnom, $r = 0,999$. Podaci iz Tablice 5.2.1.11..



Slika 5.2.1.12.

Ovisnost $RT \ln k_{\text{HAsc}^-}$ (izračunano iz podataka u Tablici 5.1.1.8.) o ΔG° (izračunano iz podataka u Tablici 5.1.1.11.; $\Delta G^\circ = nFE^\circ$), za reakciju askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi na 298 K ($r = 0,999$). Nagib pravca je 0,58 (0,01).



Klasična Marcusova teorija prijelaza elektrona predviđa linearni odnos između Gibbsove reakcijske aktivacijske energije ΔG^\ddagger i standardne reakcijske Gibbsove energije ΔG° , u slučaju kada je reorganizacijska energija, λ , značajno veća od ΔG° . U tom slučaju ovisnost ΔG^\ddagger o ΔG° je linearna, s nagibom pravca 0,5.³³ Prikazana je ovisnost $RT \ln k_{\text{HAsc}^-}$ o ΔG° ispitivane reakcije, te je dobivena izvrsna linearna ovisnost ($r=0,999$) s nagibom pravca 0,58 (0,01) (podaci iz Tablica 5.2.1.8. i 5.2.1.11.; Slika 5.2.1.12.; str 83., 93. i 94.). Promjena ΔG° je povezana s promjenom ionske jakosti (NaCl), u rasponu od 0,1 do 1,0. Vrijednosti ΔG° (stavljene u ovisnost) su izračunane iz formalnih redoks potencijala heksacijanoferat(III) iona u vodi, izmjenjenih na određenoj ionskoj jakosti, uz pretpostavku da se formalni potencijal askorbata vrlo malo mijenja s promjenom ionske jakosti (Tablica 5.2.1.11., str 93.). Formalni redoks potencijal redoks para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ se pri promjeni ionske jakosti od 0,1 do 1,0 promijeni 55 mV, tako što linearno raste s $I^{1/2}/(1 + I^{1/2})$, (Slika 5.2.1.11., str. 93.). Redoks potencijal askorbata nije moguće jednostavno odrediti cikličkom voltametrijom, budući da jednoelektronska oksidacija askorbata nije reverzibilna. S obzirom da je Gibbsova interakcijska energija između određenog iona i jednog mola okolnih iona proporcionalna kvadratu naboja iona, moguće je pretpostaviti da se formalni redoks potencijal $\text{Asc}^{\bullet}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-$ para mijenja značajno manje od formalnog redoks potencijala $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redoks para.²⁰³ U prilog tome ide i promjena formalnog redoks potencijala redoks para $\text{TEMPO}^+/\text{TEMPO}^{\bullet}$ (TEMPO = 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil radikal) uslijed povećanja ionske jakosti od 0,1 do 1,0, koja iznosi 14 mV (rezultat iz laboratorija Zavoda za fizikalnu kemiju, FBF). Nasuprot $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redoks paru, čiji se formalni redoks potencijal povećava kod povećane ionske jakosti, kao posljedica jače stabilizacije $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, za formalni redoks potencijal $\text{Asc}^{\bullet}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-$ para normalno je očekivati da će se kod povećane ionske jakosti smanjiti. Ako se pretpostavi da se formalni redoks potencijal $\text{Asc}^{\bullet}, \text{H}^+/\text{HAsc}^-$ para, pri promijeni ionske jakosti od 0,1 do 1,0 smanji za 12 mV, te ako se u skladu s time uvede korekcija izračunane ΔG° , nagib pravca ovisnosti $RT \ln k_{\text{HAsc}^-}$ o ΔG° će postati 0,5, što je u skladu s vrijednosti nagiba koju predviđa klasična Marcusova teorija. Nagib pravca veći od 0,5 upućuje na uključnje viših vibronskih nivoa u PCET proces,^{1,70} međutim u slučaju ispitivane reakcije na temelju dobivenih rezultata to nije moguće nedvojbeno utvrditi. Bez obzira što nije moguće utvrditi točnu ΔG° u reakciji, očito je da u prisutnosti sve veće koncentracije iona, reakcija postaje sve egzergonija (tj. ΔG° postaje sve manje pozitivna). Iz toga proizlazi da ioni utječu na PCET reakciju, barem preko utjecaja na ΔG° , budući da

prema teorijskim predviđanjima i brzina i kinetički izotopni učinak PCET reakcije ovise o ΔG° .³⁷

Utjecaj drugih soli na brzinu i kinetički izotopni učinak reakcije

Tablica 5.2.1.12.

Konstante brzine i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi u prisutnosti kalijevog klorida i tetrametilamonijevog klorida na 298 K, pH=5,7 (pD=6,2). $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

sol	$c(\text{sol})$	$k_{\text{HAsc}^-} /$ $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} /$ $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$k_{\text{HAsc}^-} /$ $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} /$ $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	KIE
KCl	0,5	799		258		3,09 (0,09)
		845	821 (25)	265	266 (6)	
		804		270		
		835				
$(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$	0,3	378				
		368	378 (12)			
		391				

U prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ K}^+$ dobivena je oko 50 % veća konstanta brzine, nego u prisutnosti iste koncentracije Na^+ . Budući da je na istoj ionskoj jakosti dobivena značajno različita konstanta brzine reakcije s dvije vrste kationa, ionski utjecaj nije moguće objasniti isključivo utjecajem samoga naboja iona na reakciju. Iako bi se moglo očekivati da manji kation (Na^+) ima izraženiji učinak, dobiveni rezultat govori o inverznoj ovisnosti konstante brzine reakcije o radiusu kationa. To bi barem jednim dijelom moglo biti posljedica razlika u solvataciji iona na putu od reaktantskog do prijelaznog stanja. Pritom se može pretpostaviti da je veći kation slabije solvatiran, te stoga ima izraženiji učinak na PCET reakciju. Ovaj rezultat je dodatna evidencija u prilog reakciji iz početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa, u prisutnosti većih koncentracija kationa. Konstanta brzine u prisutnosti $0,3 \text{ mol dm}^{-3}$ tetrametilamonijevog klorida je približno jednaka konstanti brzine s istom koncentracijom natrijevog klorida, što se može objasniti kompenzacijom dvaju učinaka: razlike u radiusu i solvataciji iona.

5.2.2. Utjecaj kationa na aktivacijske parametre reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi

Određeni su aktivacijski parametri reakcije^{207,208} askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi i teškoj vodi, u neutralnom (pH=5,7, pD=6,2), kod vrlo niske ionske jakosti ($I=0,0023$), te u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$.

Konstantu nastajanja ionskog para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{Na}^+$ moguće je pretpostaviti na temelju usporedbe s konstantom nastajanja ionskog para $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}, \text{K}^+$.¹⁸ Na ovaj način procijenjena konstanta je reda veličine $\sim 10 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3$. U tom slučaju, u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, više od 80 % heksacijanoferrat(III) iona je u ionskom paru s Na^+ . Osim toga, ako pretpostavimo da je reakcijski smjer koji uključuje početni trimolekularni asocijacijski kompleks brži (Na^+ prisutan u početnom trimolekularnom asocijacijskom kompleksu nalazi se u neposrednoj blizini redoks partnera, te stoga ima izraženiji utjecaj na brzinu PCET reakcije) proizlazi da je u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ prevladavajući reakcijski smjer onaj koji uključuje početni trimolekularni asocijacijski kompleks. Za razliku od ovog slučaja, u reakcijskim uvjetima bez dodatka soli prevladavajući reakcijski smjer je onaj koji uključuje početni bimolekularni asocijacijski kompleks.

Tablica 5.2.2.1.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I = 0,0023$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T / ^\circ\text{C}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$
	38,5	
5,1	39,0	38,1 (1,2)
	36,7	
	44,2	
9,8	44,1	44,4 (0,5)
	45,0	
	51,5	
14,9	51,8	51,6 (0,2)
	51,5	
	59,9	
19,6	59,3	59,9 (0,5)
	60,1	
	71,8	
25,0	70,8	
	70,4	71,3 (0,7)
	71,4	
	72,2	
	85,6	
30,1	83,7	84,4 (0,9)
	84,0	
	94,7	
34,4	94,1	94,2 (0,4)
	93,8	
	105,9	
39,2	108,7	107,4 (1,5)
	107,6	

Tablica 5.2.2.2.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u teškoj vodi pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I = 0,0023$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T / ^\circ\text{C}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$
5,1	7,70	7,63 (0,07)
	7,56	
	7,63	
9,8	9,08	9,04 (0,05)
	8,99	
	9,04	
14,9	10,7	10,9 (0,2)
	11,0	
	11,0	
19,6	13,0	13,0 (0,1)
	13,0	
	13,1	
25,0	15,4	15,5 (0,1)
	15,5	
	15,7	
	15,5	
30,1	15,4	18,9 (0,4)
	18,6	
	19,2	
34,4	19,0	22,3 (0,3)
	22,6	
	22,0	
39,2	22,1	25,7 (0,5)
	25,8	
	25,2	
	26,3	

Tablica 5.2.2.3.

Konstante brzine i kinetički izotopni učinci reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I = 0,0023$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T / ^\circ\text{C}$	H_2O	$\text{H}_2\text{O}_{\text{kor}}^*$	D_2O	$\text{D}_2\text{O}_{\text{kor}}^*$	KIE	$\text{KIE}_{\text{kor}}^*$
	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$		
5,1	38,1 (0,6)	27,6 (0,4)	7,6 (0,1)	5,4 (0,1)	5,01 (0,09)	5,11 (0,09)
9,8	44,4 (0,2)	32,2 (0,2)	9,0 (0,1)	6,3 (0,1)	4,93 (0,03)	5,11 (0,03)
14,9	51,6 (0,2)	37,3 (0,2)	10,9 (0,2)	7,6 (0,1)	4,73 (0,07)	4,91 (0,07)
19,6	59,9 (0,5)	43,1 (0,4)	13,0 (0,1)	9,1 (0,1)	4,61 (0,05)	4,74 (0,05)
25,0	71,3 (0,7)	51,3 (0,5)	15,5 (0,1)	10,8 (0,1)	4,60 (0,06)	4,75 (0,06)
30,1	84,4 (0,9)	60,5 (0,6)	18,9 (0,4)	13,1 (0,3)	4,47 (0,09)	4,62 (0,09)
34,4	94,2 (0,4)	67,3 (0,3)	22,3 (0,2)	15,4 (0,1)	4,22 (0,04)	4,38 (0,04)
39,2	107,4 (1,5)	76,4 (1,1)	25,7 (0,5)	17,7 (0,3)	4,18 (0,09)	4,32 (0,09)

* konstante brzine reakcije u vodi i teškoj vodi su korigirane uzimajući u obzir razlike u temperaturnoj ovisnosti Debye-Hückelove A konstante između vode i teške vode; korigirane konstante brzine reakcije odgovaraju iznosu konstante brzine pri $I=0$ (vidi Dodatak D2. i Tablicu D.1.)²⁰⁵

Tablica 5.2.2.4.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi pri različitim temperaturama, u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T / ^\circ\text{C}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$
5,1	286	283 (3)
	281	
	280	
9,8	323	331 (15)
	322	
	347	
14,9	392	383 (16)
	365	
	391	
19,6	453	468 (15)
	481	
	469	
25,0	543	537 (9)
	533	
	539	
	543	
30,1	524	630 (2)
	628	
	632	
34,4	631	756 (5)
	755	
	751	
39,2	761	845 (5)
	839	
	848	
	849	

Tablica 5.2.2.5.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u teškoj vodi pri različitim temperaturama, u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl}$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T / ^\circ\text{C}$	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1}\text{dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
5,1	72,3	71,8 (0,4)
	71,6	
	71,6	
9,8	79,4	82,0 (2,4)
	82,7	
	83,9	
14,9	101	102 (2)
	104	
	102	
19,6	117	119 (3)
	122	
	117	
25,0	143	142 (2)
	144	
	140	
30,1	164	164 (6)
	170	
	158	
34,4	203	200 (2)
	198	
	198	
39,2	234	229 (6)
	226	
	222	

Tablica 5.2.2.6.

Konstante brzine i kinetički izotopni učinci reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi pri različitim temperaturama, u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl.

$T / ^\circ\text{C}$	$\text{H}_2\text{O}^{\text{a}}$	$\text{D}_2\text{O}^{\text{a,b}}$	KIE
	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
5,3	283 (3)	72 (1)	3,93 (0,05)
10,1	331 (15)	82 (2)	4,04 (0,21)
14,9	383 (16)	102 (2)	3,75 (0,16)
19,9	468 (15)	119 (3)	3,93 (0,15)
25,0	537 (9)	142 (2)	3,78 (0,07)
30,1	630 (2)	164 (6)	3,84 (0,13)
34,9	753 (3)	200 (2)	3,77 (0,04)
39,2	845 (5)	229 (6)	3,69 (0,10)

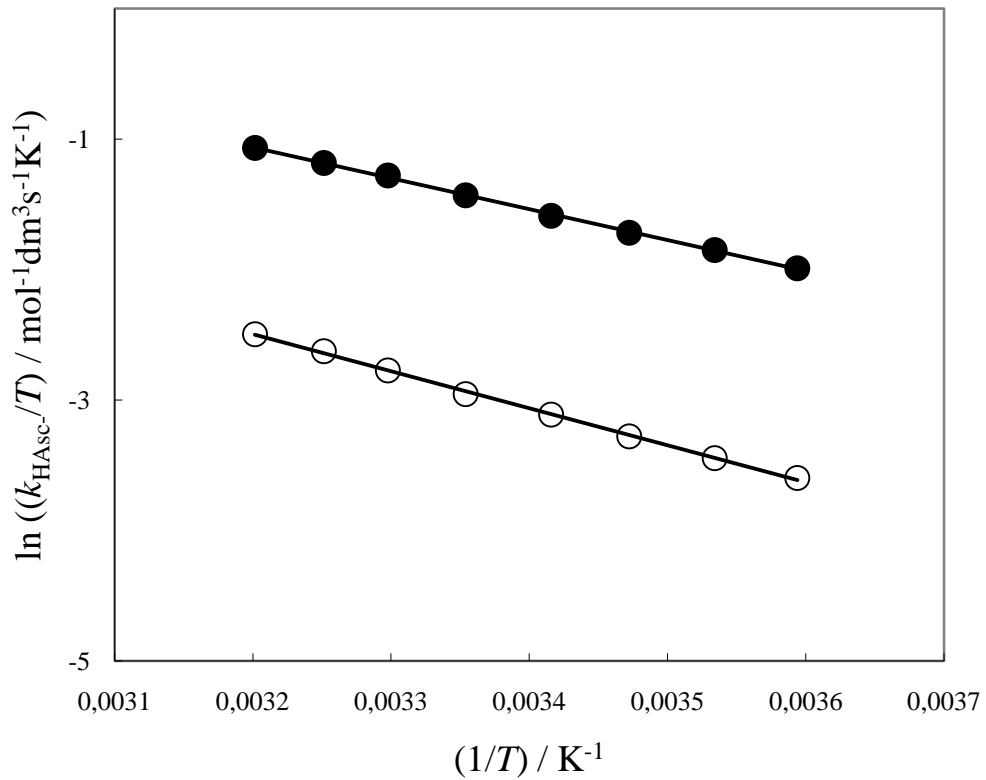
^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

Slika 5.2.2.1.

Eyringova ovisnost za reakciju askorbata i hekacijanoferrat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,0023$ (bez dodatka soli) u vodi, (\bullet), $r=0,999$ i teškoj vodi (\circ), $r=0,999$. Podaci iz Tablice 5.2.2.3..

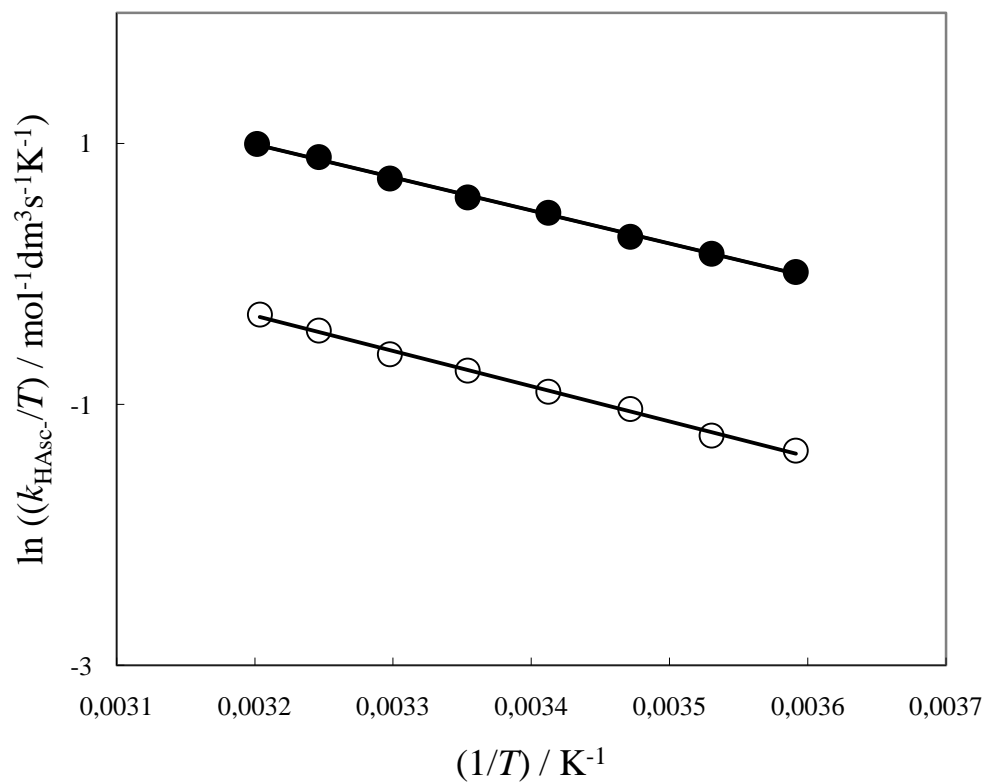
$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH}=5,7$ ($\text{pD}=6,2$).



Slika 5.2.2.2.

Eyrigova ovisnost za reakciju askorbata i hekacijanoferat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,5$ ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl) u vodi, (\bullet), $r=0,999$ i teškoj vodi (\circ), $r=0,999$. Podaci iz Tablice 5.2.2.6..

U vodi: $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH}=5,7$. U teškoj vodi: $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pD}=6,2$.



Tablica 5.2.2.7.

Eyringovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi na ionskoj jakosti $I = 0,0023$ (bez dodatka soli) i na ionskoj jakosti $I=0,5$ ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl). i iz ovisnosti na Slikama 5.2.2.1 i 5.2.2.2..

I	otapalo	$\Delta H^\ddagger/$ kJmol^{-1}	$\Delta S^\ddagger/$ $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$	$\Delta G^\ddagger/$ kJmol^{-1a}	$\Delta\Delta H^\ddagger/$ kJmol^{-1b}	$\Delta\Delta S^\ddagger/$ $\text{JK}^{-1}\text{mol}^{-1c}$
0,0023	H ₂ O	19,7 (0,2)	-142,7 (0,7)	62,3 (0,3)	3,9 (0,4)	-0,3 (1,3)
	D ₂ O	23,6 (0,3)	-142,4 (1,0)	66,0 (0,4)		
0,5	H ₂ O	21,1 (0,4)	-121,2 (1,3)	57,3 (0,5)	1,3 (0,6)	6,9 (2,1)
	D ₂ O	22,4 (0,5)	-128,1 (1,7)	60,6 (0,7)		

^a 298,15 K, ^b $\Delta\Delta H^\ddagger = \Delta H^\ddagger(\text{D}) - \Delta H^\ddagger(\text{H})$, $\Delta\Delta S^\ddagger = \Delta S^\ddagger(\text{H}) - \Delta S^\ddagger(\text{D})$

Aktivacijski parametri reakcije dobiveni primjenom Eyringove jednadžbe - ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger i ΔG^\ddagger

Na temelju izmjerene ovisnosti konstante brzine o temperaturi, uz primjenu Eyringove jednadžbe, određeni su aktivacijski parametri reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona: ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger i ΔG^\ddagger kod ionske jakosti $I=0,0023$ (Tablice 5.2.2.1., 5.2.2.2.; Slika 5.2.2.1.; str. 98., 99. i 104.), te u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ (Tablica 5.2.2.4, 5.2.2.5.; Slika 5.2.2.2.; str. 101., 102. i 105.) u vodi i teškoj vodi.

U vodi, kod niske ionske jakosti ($I = 0,0023$) određena je $\Delta H^\ddagger = 19,7 (0,7) \text{ kJ mol}^{-1}$, a u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ $\Delta H^\ddagger = 21,1 (0,4) \text{ kJ mol}^{-1}$ (Tablica 5.2.2.7., str. 106.). Prisutnost kationa u reakciji dovela je do povećanja ΔH^\ddagger tj. reakcija je postala endotermnija. Iako je povećanje ΔH^\ddagger malo, ovaj rezultat na prvi pogled izgleda neočekivano, s obzirom da prisutnost kationa dovodi do povećanja konstante brzine reakcije. Povećanje aktivacijske entalpije moguće je objasniti polazeći od početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa, koji se sastoji od redoks para: heksacijanoferat(III) iona i askorbata, te kationa. U tom slučaju, povećanje ΔH^\ddagger je povezano za parcijalnu desolvataciju kationa na putu od reaktantskog (askorbatni monoanion i heksacijanoferat(III)-kation par) do prijelaznog stanja, u kojemu bi se kation mogao naći u neposrednoj blizini redoks para unutar solvatnog kaveza. Desolvatacija je, suprotno solvataciji, endotermni proces tj. za svladavanje privlačnih ion-dipolnih sila između kationa i okolnih molekula vode potrebno je utrošiti dodatnu energiju, što se vidi na povećanju ΔH^\ddagger .

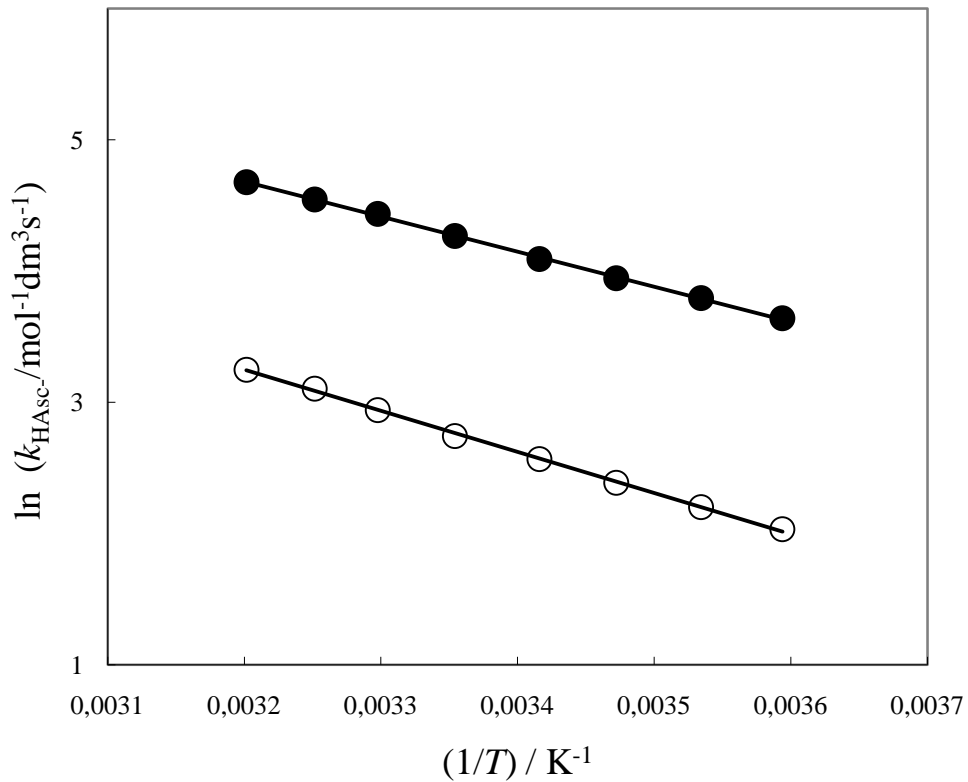
Kod niske ionske jakosti u vodi ($I=0,0023$) određena je relativno velika negativna reakcijska aktivacijska entropija, $\Delta S^\ddagger = -142,7 (0,7) \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ (Tablica 5.2.2.7., str. 105.). To je u skladu s vrijednosti predviđenom za bimolekularni proces, u kojemu na putu od reaktantskog do prijelaznog stanja dolazi do asocijacije dvaju slobodno difundirajućih reaktanata.²⁰³ Predviđena vrijednost negativne aktivacijske entropije za gubitak jednog translacijskog stupnja slobode iznosi $\sim -126 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Dodatni negativni entropijski doprinos moguće je objasniti nastajanjem prikladnog prethodnog kompleksa, koji prethodi reakciji spregnutog prijelaza elektrona i protona. Smatra se da nastajanje prethodnog kompleksa često može biti energetski zahtjevno, s obzirom da zahtijeva prikladnu orijentaciju reaktanata i za prijelaz elektrona i za prijelaz protona.³ Nastajanje prethodnog kompleksa zahtijeva dodatno sređivanje unutar asocijacijskog kompleksa, te stoga predstavlja dodatni negativni entropijski doprinos.

U prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ određena je $\Delta S^\ddagger = -121,2 (1,3) \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$, značajno pozitivnija od ΔS^\ddagger određene kod niske ionske jakosti. Dobivena vrijednost odgovara aktivacijskoj entropiji procesa u kojemu dolazi do asocijacije dviju čestica, te je u skladu s pretpostavkom da aktivacijski proces polazi od asocijacijskog kompleksa koji se sastoji od heksacijanoferat(III) ion – kation para i askorbatnog monoaniona, tj. s pretpostavkom da na putu od reaktantskog do prijelaznog stanja dolazi do asocijacije dvaju redoks partnera. Povećanje aktivacijske entropije u odnosu na vrijednost dobivenu kod niske ionske jakosti je u skladu s promjenama koje su povezane za parcijalnu desolvataciju kationa na putu od reaktantskog do prijelaznog stanja. Pritom uređene molekule vode iz neposrednog okoliša kationa pređu u okolno otapalo, gdje je manja uređenost, što se vidi kao pozitivni entropijski doprinos. Parcijalna desolvatacija kationa tijekom aktivacijskog procesa bi mogla biti povezana i s određenom „prilagodbom“ kationa unutar solvatnog kaveza u blizini redoks para (iako nema izravne evidencije koja bi govorila u tome prilog).

Slika 5.2.2.3.

Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i hekacijanoferat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,0023$ (bez dodatka soli) u vodi (\bullet), $r=0,999$ i teškoj vodi (\circ), $r=0,999$. Podaci iz Tablice 5.2.2.3..

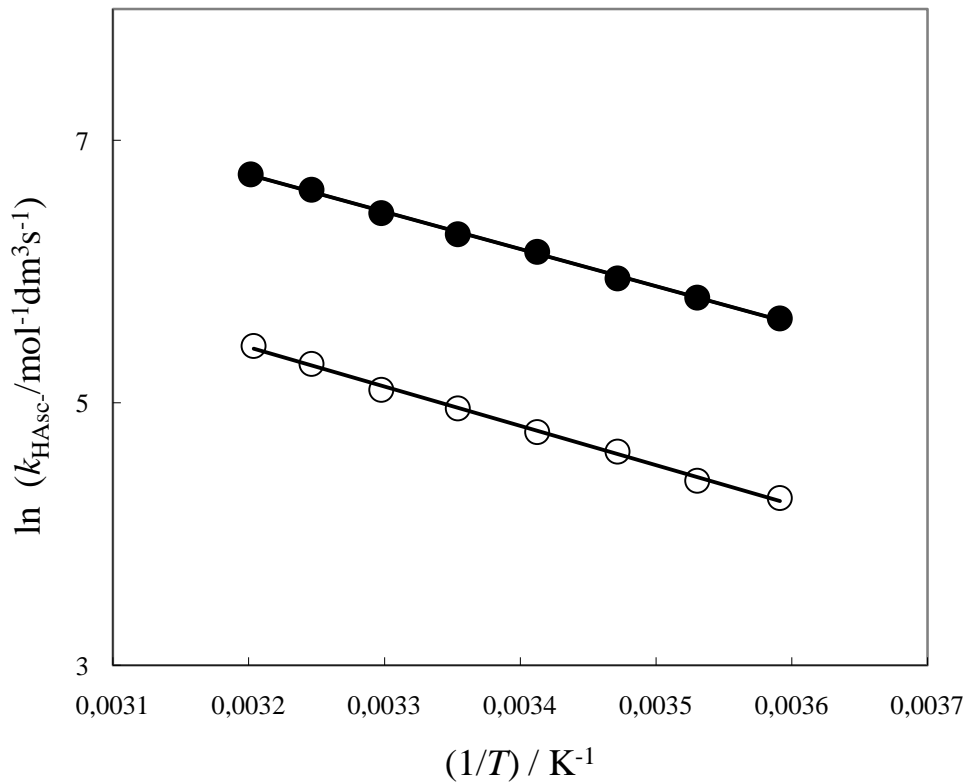
$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH}=5,7$ ($\text{pD}=6,2$).



Slika 5.2.2.4.

Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i hekacijanoferat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,5$ ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl) u vodi (\bullet), $r=0,999$ i teškoj vodi (\circ), $r=0,999$. Podaci iz Tablice 5.2.2.6..

U vodi: $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pH}=5,7$. U teškoj vodi: $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $\text{pD}=6,2$.



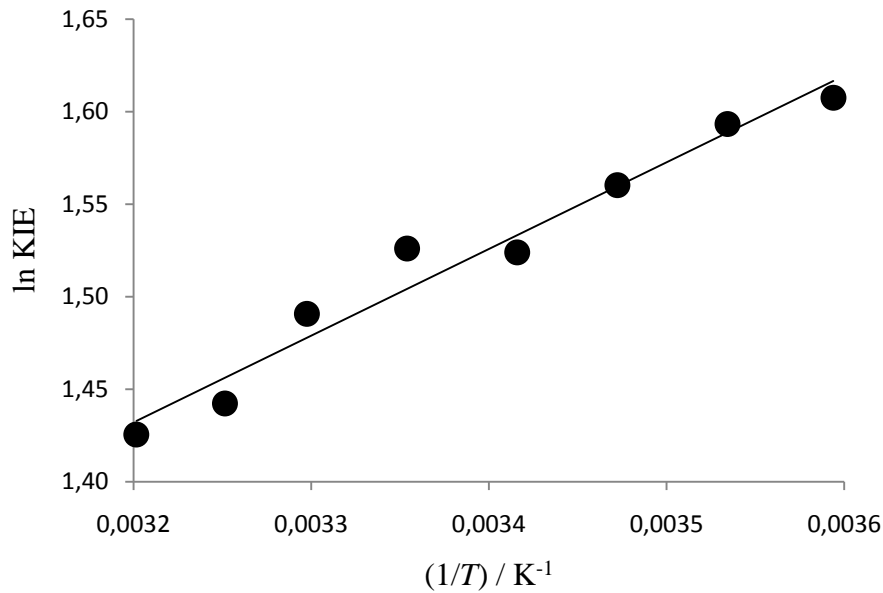
Tablica 5.2.2.8.

Arrheniusovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi na ionskoj jakosti $I = 0,0023$ (bez dodatka soli) i na ionskoj jakosti $I=0,5$ ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl). i iz ovisnosti na Slikama 5.2.2.3 i 5.2.2.4..

I	otapalo	E_a / kJmol^{-1}	$10^6 A / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	A_H/A_D
0,0023	H ₂ O	22,2 (0,2)	0,59 (0,05)	0,97 (0,15)
	D ₂ O	26,0 (0,3)	0,61 (0,08)	
0,5	H ₂ O	23,6 (0,4)	7,78 (1,21)	2,29 (0,60)
	D ₂ O	24,8 (0,5)	3,40 (0,71)	

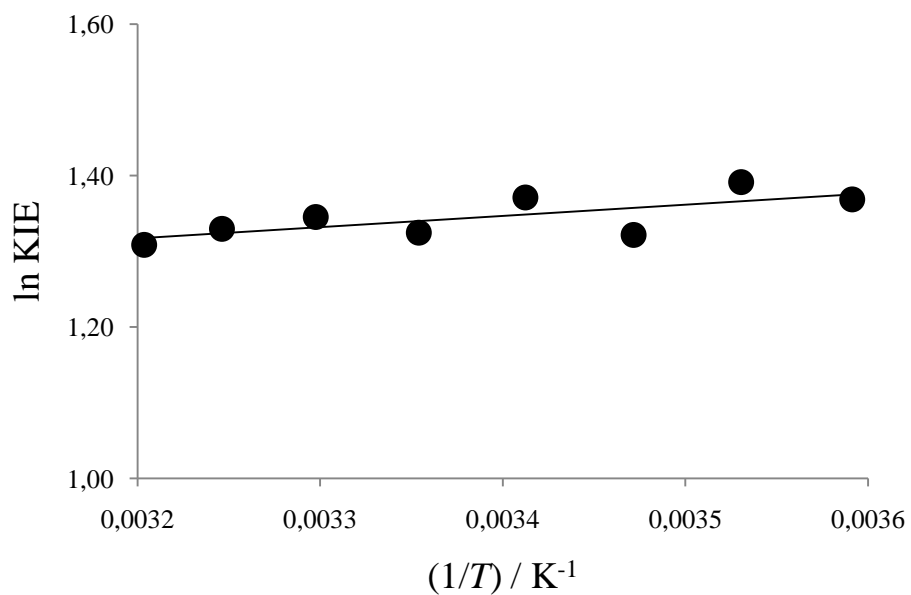
Slika 5.2.2.5.

Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i hekacijanoferat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,0023$ (bez dodatka soli). Podaci iz Tablice 5.2.2.3..



Slika 5.2.2.6.

Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i hekacijanoferat(III) iona na ionskoj jakosti $I=0,5$ ($0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl). Podaci iz Tablice 5.2.2.6..



Arrheniusovi aktivacijski parametri

Na temelju izmjerene ovisnosti konstante brzine o temperaturi, uz primjenu Arrheniusove jednadžbe, određeni su Arrheniusovi aktivacijski parametri, A i E_a , reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona kod ionske jakosti $I=0,0023$ (Tablice 5.2.2.1., 5.2.2.2.; Slika 5.2.2.3.; str. 98., 99. i 109.) te u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ (Tablice 5.2.2.4, 5.2.2.5.; Slika 5.2.2.4.; str. 101., 102. i 110.) u vodi i u teškoj vodi. U prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ dobiven je H/D omjer Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora, $A_H/A_D = 2,29$ (0,60), te D,H razlika u energiji aktivacije, $\Delta E_a = E_a(D) - E_a(H) = 1,3$ (0,6) kJ mol^{-1} , što je značajno različito od vrijednosti dobivenih u reakcijskim uvjetima bez dodanih iona ($I = 0,0023$), $A_H/A_D = 0,97$ (0,15), $\Delta E_a = 3,9$ (0,4) kJ mol^{-1} (Tablica 5.2.2.8. str. 111.). U prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ KIE je približno neovisan o temperaturi, dok je u reakcijskim uvjetima bez dodanih iona ovisnost KIE o temperaturi „normalna“ (Slika 5.2.2.5., 5.2.2.6.; str. 112.), u skladu s određenim aktivacijskim parametrima. Omjer Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora dobiven u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, $A_H/A_D = 2,29$ nije moguće objasniti unutar semiklasičnog pristupa, niti primjenom Bellove korekcije tuneliranja koja se zasniva na teoriji prijelaznog stanja. $A_H/A_D = 2,29$ značajno je iznad gornje granične vrijednosti koja se može objasniti semiklasičnim pristupom. Granične vrijednosti A_H/A_D koje se mogu objasniti unutar semiklasičnog pristupa su $0,7 - 1,4$ (0,5-1,4), za linearno prijelazno stanje.^{155,156,178,215} Bellova korekcija tuneliranja predviđa omjer A_H/A_D veći od gornje semiklasične granice jedino u području niskih temperatura, gdje nema termalne energije za aktivaciju, te stoga nema ni razlike u D,H energiji aktivacije. U tom slučaju reakcija se odvija tuneliranjem, a omjer A_H/A_D veći od 1,4 posljedica je razlike u vjerojatnosti tuneliranja H i D.¹⁷⁸ Semiklasičnim pristupom nije moguće objasniti niti dobivenu razliku u energiji aktivacije između H_2O i D_2O , $\Delta E_a(D,H)$ koja iznosi $1,3 \text{ kJ mol}^{-1}$, te približno temperaturno neovisni KIE, dobivene u prisutnosti Na^+ . Razlika u energiji aktivacije značajno je manja od semiklasično predviđene vrijednosti. Prema semiklasičnom pristupu maksimalna razlika u energiji aktivacije između vode i teške vode jednaka je razlici u energijama nulte točke ($E_0^D - E_0^H$), koja za disocijaciju O-H veze iznosi $5,1 \text{ kJ mol}^{-1}$.¹⁷⁸ Na temelju KIE određenog u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, $k_H/k_D = 3,7$, semiklasično očekivana razlika u energiji aktivacije, $\Delta E_a(D,H)$ iznosila bi $3,3 \text{ kJ mol}^{-1}$, što je značajno više od izmjerene razlike u iznosu od $1,3 \text{ kJ mol}^{-1}$. S malom D,H razlikom u energiji aktivacije, povezana je i dobivena ovisnost KIE o temperaturi, koja je značajno manja od one koju bi očekivali prema semiklasičnom pristupu, na temelju izmjerenog KIE. Za razliku od ovog

slučaja, aktivacijski parametri dobiveni u reakcijskim uvjetima bez dodatka iona ($I = 0,0023$): $A_H/A_D = 0,97$, $\Delta E_a = 3,9 \text{ kJmol}^{-1}$ te temperaturna ovisnost KIE u skladu su sa semiklasično predviđenim vrijednostima.^{155,156,178,215}

$A_H/A_D \gg 1$ određen u ispitivanoj reakciji u prisutnosti kationa u temperaturnom području oko sobne temperature vrlo je neuobičajen. Do danas je utvrđen u malom broju reakcija u otopini.^{58,62} Kwart je predvidio $A_H/A_D \gg 1$ u slučaju nelinearnog prijelaza atoma vodika, sa savijenim prijelaznim stanjem.²²⁶ Međutim, u slučaju ispitivane reakcije, gdje proton prelazi s 2-OH skupine askorbata na vodu, malo je vjerojatno da je riječ o takvom slučaju. A_H/A_D veći od gornje semiklasične granice u temperaturnom području oko sobne temperature i temperaturna neovisnost KIE izmjereni su u velikom broju enzimskih reakcija. Ovakva opažanja se uobičajeno objašnjavaju Marcusianskim modelom tuneliranja, prema kojemu je tuneliranje protona spregnuto s dinamičkim fluktuacijama u enzimskom okolišu.^{24,25,152} Ovaj model objašnjava cijeli raspon A_H/A_D , od $A_H/A_D \ll 1$ do $A_H/A_D \gg 1$. Prema Johanissenu⁹ i Pudneyu²⁶ promotivne vibracije (kompresivni način vibriranja) tj. vibracije spregnute s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona koje moduliraju udaljenost za prijelaz protona, nisu isključivo svojstvo enzimskih reakcija već su važne i u reakcijama u otopini. Johanissen i sur. su primjenili modificirani oblik Marcusianskog modela tuneliranja na PCET reakciju fenola s internom vodikovom vezom, u kojoj proton prelazi na vodikovom vezom vezani proton akceptor.⁹ Utvrdili su da promotivne vibracije mogu dovesti do značajnog povećanja brzine, te do smanjenja kinetičkog izotopnog učinka.

Stoga se čini opavdanim za objašnjenje dobivenih rezultata primjeniti Marcusianski model tuneliranja. Prema ovom modelu brzina reakcije dana je izrazom (vidi Teorijska osnovica, str. 50.):¹⁴⁸

$$k_{\text{tun}} = \sum_v P_v \sum_w \frac{1}{2\pi} |V_{\text{el}}|^2 \sqrt{\frac{4\pi^3}{\lambda RT \hbar^2}} \exp\left(-\frac{(\Delta G^\circ + E_{\text{vib}} + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right) \times (\text{F. C. term})_{v,w}$$

tj. ovisi o Marcusovom članu koji se odnosi na reorganizaciju strukture reaktanata i okolnog otapala, te o F.C. članu koji se odnosi na oscilacije u okolišu koje mijenjaju udaljenost za prijelaz protona. Udaljenosti između donora i akceptora protona mijenjaju vibracije spregnute s reakcijskom koordinatom u reakciji prijelaza protona – promotivne vibracije (kompresivni način vibriranja). Promotivne vibracije dovode do temperaturne ovisnosti KIE. U slučaju precizno organizirane reakcijske koordinate za prijelaz protona, moguće je učinkovito tuneliranje i H i D – ekstenzivno tuneliranje, te doprinos

promotivnih vibracija nije značajan.^{9,148} U tom slučaju KIE je neovisan o temperaturi, D,H razlika u energiji aktivacije je mala, a A_H/A_D veći od maksimalne semiklasično predviđene vrijednosti, u temperaturnom području oko sobne temperature.

Unutar ovog modela, $A_H/A_D = 2,29$, $\Delta E_a(D,H) = 1,3 \text{ kJmol}^{-1}$, te relativna neovisnost KIE o temperaturi, dobiveni za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$, upućuju na optimiziranu organizaciju okoliša prijelazne konfiguracije i same prijelazne konfiguracije unutar asocijacijskog kompleksa, tj. na precizno organiziranu reakcijsku koordinatu za prijelaz protona, što omogućuje učinkovito (ekstenzivno) tuneliranje i H i D. Budući da je tuneliranje učinkovito, doprinos promotivnih vibracija koje mijenjaju udaljenost između donora i akceptora protona nije značajan. Za razliku od ovog slučaja, aktivacijske parametre dobivene u reakcijskim uvjetima bez dodatka iona ($I = 0,0023$), $A_H/A_D = 0,97$, $\Delta E_a = 3,9 \text{ kJmol}^{-1}$ i temperaturnu ovisnost KIE moguće je objasniti unutar semiklasičnog pristupa. U ovim uvjetima nema očitog dokaza koji bi govorio u prilog tuneliranju, ni H, ni D. Prijelaz protona (u PCET reakciji) najvjerojatnije se odvija reakcijskim mehanizmom preko reakcijske barijere. Blaga temperaturna ovisnost KIE u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ Na}^+$ mogla bi se objasniti određenim udjelom reakcijskog smjera preko reakcijske barijere.²⁶

Kinetički izotopni učinak izmjeren u reakciji, iako je unutar semiklasične granice (vidi Teorijska osnovica, str. 23.) nije nužno u suprotnosti s mehanizmom tuneliranja protona kroz barijeru. Postoji veliki broj primjera u kojima je utvrđeno tuneliranje protona, a KIE je unutar semiklasičnih granica.^{35,55,56,164,168} U okviru Marcusianskog modela tuneliranja utvrđena promjena KIE u prisutnosti većih koncentracija kationa može se promatrati kao posljedica promjene i širine i visine energetske barijere, što je povezano s promjenama udaljenosti između donora i akceptora protona i s promjenama potencijalne konstante kompresivnog moda (što je rezultat interakcije između ionskog okoliša i aktiviranog kompleksa u reakciji).^{9,26}

Iz svega navedenoga proizlazi da je upravo prisutnost kationa dovela do promjene reakcijskog mehanizma iz režima prijelaza protona preko reakcijske barijere u režim tuneliranja kroz barijeru. U prisutnosti kationa reakciju je moguće opisati polazeći od početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa, koji se sastoji od redoks partnera i kationa. Kation prisutan u početnom trimolekularnom asocijacijskom kompleksu mogao bi se za vrijeme procesa aktivacije naći u blizini reakcijskog aktiviranog kompleksa (koji se sastoji od redoks partnera i barem jedne molekule vode) i na taj način utjecati na brzinu i

mehanizam PCET reakcije. Prisutnost kationa unutar početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa doprinosi postizanju optimizirane prijelazne konfiguracije, koja omogućuje učinkovito tuneliranje i H i D. Čini se da kation, zbog elektrostatske interakcije, dovodi do određenog sređivanja unutar solvatnog kaveza. Pritom prijelazna konfiguracija postaje rigidnija i prikladnija za učinkovito tuneliranje i H i D.

5.2.3. Reakcija askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi, u kiselom

Tablica 5.2.3.1.

Konstante brzine i kinetički izotopni učinak reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u vodi u prisutnosti 0,0918 mol dm⁻³ perklorne kiseline.

$c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{HClO}_4) /$ mol dm ⁻³	I	$k_{\text{HAsc}^-} /$ mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} /$ mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$k_{\text{HAsc}^-} /$ mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} /$ mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	KIE
		710		302		
0,0918	0,093	702	705 (4)	296	301 (4)	2,35 (0,04)
		703		304		

Na temelju preliminarnih pokusa u vodi u kiselom utvrđeno je da je konstanta brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona izmjerena na pH ~ 1, i u H₂O i u D₂O, značajno veća od konstante brzine reakcije određene u neutralnom, na pH = 5,7, pri istoj ionskoj jakosti. Kinetički izotopni učinak određen u ovim uvjetima znatno je manji od odgovarajućeg KIE u neutralnom.

To je moguće objasniti reakcijom između askorbata i protoniranog heksacijanoferrat(III) iona, HFe(CN)₆²⁻ ili eventualno para Fe(CN)₆³⁻, H⁺. $pK_a(\text{HFe}(\text{CN})_6^{2-})$ u vodi na 298 K iznosi -0,6.²²³ Dobiveni rezultat moguće je objasniti pretpostavi li se da je protonirani heksacijanoferrat(III) ion značajno reaktivniji od slobodnog heksacijanoferrat(III) iona. Moguće je pretpostaviti da protonirani heksacijanoferrat(III) ion ima pozitivniji redoks potencijal u odnosu na neprotonirani heksacijanoferrat(III) ion (slično utjecaju dodatka Na⁺ na redoks potencijal heksacijanoferrat(III) iona). U tom slučaju bi reakcija s askorbatom bila manje endergona, što bi se manifestiralo kao povećanje brzine reakcije.

Za reakciju između askorbata i protoniranog heksacijanoferrat(III) iona treba očekivati utjecaj inverznog KIE, koji je posljedica $\Delta pK_a(\text{D}_2\text{O}, \text{H}_2\text{O})$ i za HFe(CN)₆²⁻ i (Fe(CN)₆³⁻, H⁺). To bi objasnilo, barem jednim dijelom, smanjenje KIE u odnosu na KIE određen kod iste ionske jakosti u neutralnom. Eventualno dodatno smanjenje KIE moglo bi se objasniti sa smanjenom endergonosti reakcije, tj. manjom ΔG° , u skladu s teorijskim predviđanjima.³⁷

5.3. Reakcija askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u miješanim organskim otapalima

5.3.1. Reakcija askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u smjesi dioksan:voda =1:1 v/v

Tablica 5.3.1.1.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u smjesi dioksan:voda=1:1 v/v, kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pH = 6,4, 298 K.

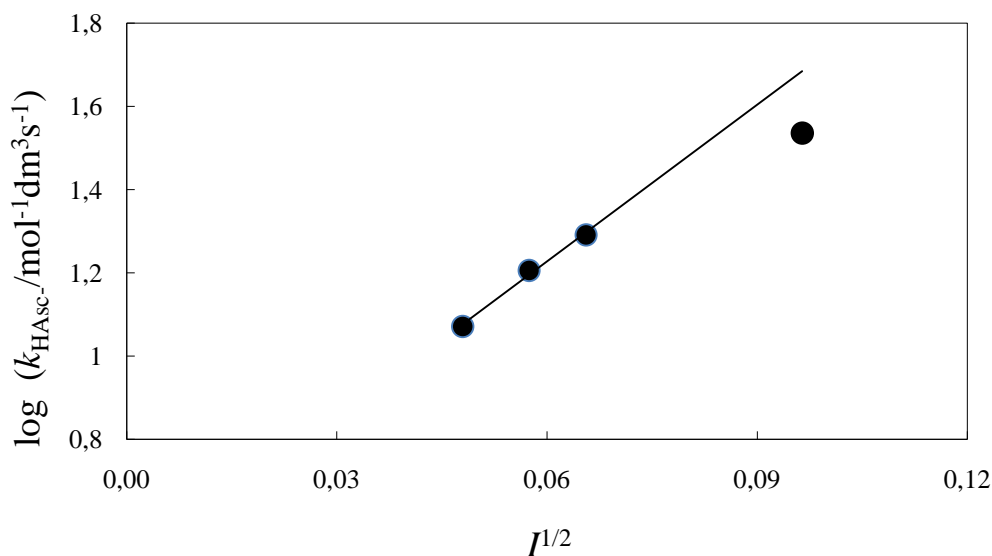
$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$
		11,9	
0	0,0023	11,8	11,8 (0,2)
		11,6	
		16,2	
0,001	0,0033	15,8	16,1 (0,3)
		16,5	
		19,4	
0,002	0,0043	19,6	19,6 (0,3)
		19,9	
		34,8	
0,007	0,0093	34,3	34,4 (0,4)
		34,0	

Slika 5.3.1.1.

Ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda=1:1 v/v, pH=6,4, 298 K, $r = 0,996$.

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.3.1.1..



Tablica 5.3.1.2.

Parametri dobiveni iz ovisnosti $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti (NaCl) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda=1:1 v/v, na pH = 6,4, u prisutnosti $0,0005 \text{ mol dm}^{-3} \text{Na}_2\text{EDTA}$, na 298 K (Slika 5.3.1.1., Tablica 5.3.1.1.).

nagib	12,6 (1,1)
odsječak	0,47 (0,06)
$z_A z_B^a$	4,51 (0,38)
$k_{\text{HAsc}^-,0}^b / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	2,98 (0,42)

^a z_A i z_B su naboji reaktanata, $z_A z_B$ iz nagiba pravca (nagib = $2 z_A z_B \times A$; $A(\text{dioksan:voda} = 1:1 \text{ v/v}, 298 \text{ K}) = 1,392$),²⁰⁵

^b ekstrapolirane konstante brzine (na $I = 0$)

Tablica 5.3.1.3.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u smjesi dioksan:voda = 1:1 v/v kod različitih ionskih jakosti (NaCl), pH = 6,4, 298 K.

$c(\text{NaHAsc}) = 0,00025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

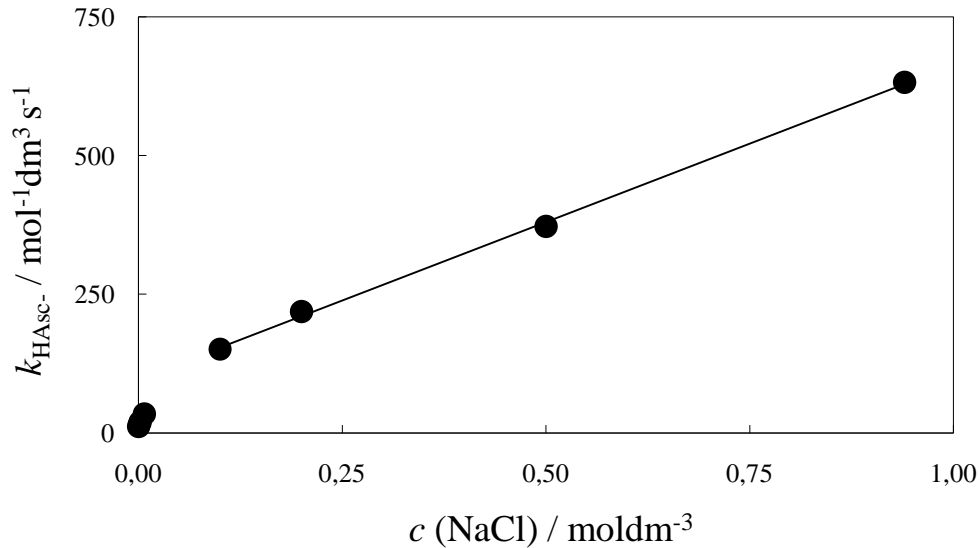
$c(\text{NaCl}) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
		153	
0,1*	0,1023	147	152 (4)
		155	
		218	
0,2	0,2023	223	219 (4)
		216	
		367	
0,5	0,5023	378	372 (5)
		373	
		625	
0,94	0,9423	628	632 (9)
		642	

*konstanta je provjerena i u reakcijskim uvjetima u kojima je suvišak askorbata 20 puta: $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

Slika 5.3.1.2.

Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda = 1:1 v/v o koncentraciji natrijevog klorida, pH=6,4, 298 K, $r = 0,999$.

$c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Podaci iz Tablice 5.3.1.3..



Tablica 5.3.1.4.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda=1:1 v/v, kod različitih koncentracija perklorne kiseline, 298 K.

$c(\text{HClO}_4) / \text{mol dm}^{-3}$	I	$k_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HAsc}^-} / \text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$
		43,9	
0,0001 ^a	0,0008	40,3	40,9 (2,7)
		38,6	
		190	
0,001 ^b	0,0018	179	180 (9)
		172	
		1793	
0,01 ^c	0,0101	1656	1735 (70)
		1756	

^a $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,02 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$,

^b $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$,

^c $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$.

Reakcija između askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda =1:1 v/v je ispitana u području vrlo malih ionskih jakosti, u neutralnom na pH=6,4. Ionska jakost je varirana dodatkom natrijevog klorida (Tablica 5.3.1.1., str. 118.). Na prikazu ovisnosti $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti je vidljivo da već kod $I^{1/2} > 0,07$, što odgovara dodatku $0,002 \text{ mol dm}^{-3}$ natrijevog klorida, dolazi do odstupanja od linearne ovisnosti (Slika 5.3.1.1., str. 119.). Iz nagiba pravca, koji je određen za dio intervala u kojemu je dobivena linearna ovisnost $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti, dobiven je produkt naboja reaktanata $z_A z_B = 4,51 (0,38)$ (Tablica 5.3.1.2. str. 119.). U račun je uzeta Debye-Hückelova A konstanta koja u smjesi dioksan:voda na 298 K iznosi 1,392. Dobiveni rezultat ukazuje na to da u smjesi dioksan:voda = 1:1 v/v već u području vrlo niskih ionskih jakosti dolazi do ionskog sparivanja. U prisutnosti $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ natrijevog klorida dobivena je 12,5 puta veća konstanta brzine u odnosu na konstantu kod $I = 0,0023$ (bez dodatka NaCl) što je znatno veće ubrzanje u odnosu na reakciju u vodi, gdje je u istom intervalu dobiveno ubrzanje 3,5 puta. U skladu s očekivanjem, u otapalu smanjene polarosti utvrđen je znatno izraženiji utjecaj iona na reakciju. Povećanje koncentracije natrijevog klorida od 0,1 do $0,94 \text{ mol dm}^{-3}$ je dovelo do linearnog povećanja konstante brzine reakcije (Tablica 5.3.1.3., Slika 5.3.1.2., str. 120. i 121.). Reakcija između askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi dioksan:voda=1:1 v/v ispitana je i u kiselom, (Tablica 5.3.1.4., str 121.). Već kod $0,0008 \text{ mol dm}^{-3}$ perklorne kiseline je dobivena konstanta brzine reakcije značajno veća od konstante brzine u neutralnom, pri istoj ionskoj jakosti. Povećanje koncentracije perklorne kiseline na $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ je dovelo do povećanja konstante brzine ~ 45 puta. Dobiveni rezultat vjerojatno upućuje na reakciju askorbata s protoniranim heksacijanoferat(III) ionom.

5.3.2. Reakcija askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u smjesi

acetonitril:voda = 9:1 v/v

Tablica 5.3.2.1.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferrat(III) iona u smjesi acetonitril:voda = 9:1 v/v, u prisutnosti natrijevog klorida i tetrametilamonijevog klorida, na 298 K.

$c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6) = 0,000075 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$.

sol	$c(\text{sol})/\text{mol dm}^{-3}$	$k_{\text{obs}} / \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{obs}} / \text{s}^{-1}$
NaCl	0	0,0168	0,0171 (0,0003)
		0,0174	
		0,0172	
NaCl	0,001	0,0128	0,0127 (0,0002)
		0,0125	
		0,0127	
NaCl	0,01	0,0056	0,0057 (0,0001)
		0,0058	
		0,0058	
$(\text{CH}_4)_3\text{NCl}$	0,001	0,0145	0,0141 (0,0004)
		0,0138	
		0,0139	

Utjecaj ionske jakosti na reakciju askorbata i heksacijanoferrat(III) iona je ispitana u smjesi acetonitril:voda=9:1 v/v (Tablica 5.3.2.1.).

Dodatak soli, natrijevog klorida i tetrametilamonijevog klorida, je doveo do smanjenja izmjerene konstante brzine reakcije, što je vjerojatno posljedica značajnog ionskog sparivanja askorbata i Na^+ , već kod vrlo niskih ionskih jakosti.

6. ZAKLJUČAK

U sklopu ispitivanja utjecaja kationa na PCET reakciju, u okviru ove disertacije, utvrđeno je da prisutnost kationa utječe na temeljne karakteristike PCET reakcije, što se manifestira kao promjena brzine, kinetičkog izotopnog učinka i aktivacijskih parametara PCET reakcije. Prisutnost kationa u reakciji doprinosi postizanju optimizirane konfiguracije za prijelaz protona, koja omogućuje njegovo učinkovito tuneliranje.

1. Na temelju kinetičkog izotopnog učinka i termokemijske analize (uz primjenu kvadratane sheme)³ utvrđeno je da se reakcija između askorbata i heksacijanoferat(III) iona odvija mehanizmom spregnutog (usklađenog) prijelaza elektrona i protona (PCET).
2. U području vrlo malih ionskih jakosti, do $I=0,01$, utvrđeno je povećanje brzine reakcije u skladu s primarnim kinetičkim solnim učinkom. Iz nagiba pravca ovisnosti $\log k_{\text{HAsc}^-}$ o korijenu ionske jakosti moguće je zaključiti da u području vrlo malih ionskih jakosti reakcija ide iz početnog bimolekularnog asocijacijskog kompleksa koji se sastoji od askorbatnog monoaniona i heksacijanoferat(III) iona.
3. U prisutnosti većih koncentracija Na^+ , od 0,1 do 1,0 mol dm^{-3} , dobivena je linearna ovisnost konstante brzine reakcije o koncentraciji Na^+ . To upućuje na reakciju iz početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa koji se sastoji od redoks partnera: askorbata i heksacijanoferat(III) iona, te kationa; unutar kojega bi se kation mogao naći u neposrednoj blizini reakcijskog aktiviranog kompleksa.
4. Prisutnost kationa u reakciji dovodi do smanjenja kinetičkog izotopnog učinka. KIE je smanjen od vrijednosti 4,6 u području vrlo niskih ionskih jakosti na 3,3 kod 1,0 mol dm^{-3} koncentracije Na^+ . Dobiveno je linearno smanjenje kinetičkog izotopnog učinka s povećanjem koncentracije Na^+ od 0,1 do 1,0 mol dm^{-3} . Smanjenje kinetičkog izotopnog učinka u prisutnosti kationa predstavlja izravnu manifestaciju utjecaja kationa na aktivacijski proces u PCET reakciji.
5. Na temelju ovisnosti konstante brzine reakcije o množinskom udjelu D_2O u H_2O („*proton inventory*“) proizlazi da je više od jednog protona uključeno u prijelazno stanje, što znači da 2-OH proton s askorbata ne prelazi (izravno) na heksacijanoferat(III) ion, nego vjerojatno na jednu od molekula vode koja je smještena između askorbata i heksacijanoferat(III) iona unutar aktiviranog kompleksa.

6. Dodatak Na^+ u reakciju je doveo do malog porasta ΔH^\ddagger , te do povećanja ΔS^\ddagger u odnosu na reakciju kod niske ionske jakosti, što se objašnjava parcijalnom desolvacijom kationa unutar početnog trimolekularnog asocijacijskog kompleksa na putu od reaktantskog do prijelaznog stanja, tj. određenim „prilagodбом“ kationa unutar kaveza otapala u blizini redoks para (iako nema izravnog uvida koji bi govorio tome u prilog).
7. U prisutnosti Na^+ , u reakciji je dobiven omjer Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora, $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 2,3$, što je značajno iznad gornje semiklasično predviđene granice.¹⁷⁸ Uz to je dobivena i razlika u energiji aktivacije, $\Delta E_a(\text{D,H}) = 1,3 \text{ kJmol}^{-1}$, te približna temperaturna neovisnost kinetičkog izotopnog učinka. Ove rezultate nije moguće objasniti unutar semiklasičnog pristupa, niti uz primjenu Bellove korekcije tuneliranja. Slični fenomeni u enzimskim reakcijama objašnjavaju se unutar modela prema kojemu je tuneliranje protona povezano s enzimskom dinamikom (Marcusianski model tuneliranja).^{148,179} Prema Johanissenu⁹ i Pudney-u²⁶ dinamičke fluktuacije udaljenosti uzduž reakcijske koordinate za prijelaz H (promotivne vibracije, kompresivni način vibriranja) nisu svojstvo isključivo enzimskih reakcija, već su važne i u reakcijama u otopini. Johanissen i sur.⁹ su primjenili modificirani oblik ovog modela na PCET reakciju u otopini. Stoga je za objašnjenje dobivenih Arrheniusovih aktivacijskih parametra u prisutnosti Na^+ primjenjen Marcusianski model tuneliranja. Unutar ovog modela $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 2,3$, $\Delta E_a(\text{D,H}) = 1,3 \text{ kJmol}^{-1}$, te relativna neovisnost KIE o temperaturi, dobiveni za reakciju u prisutnosti Na^+ , upućuju na optimiziranu organizaciju okoliša prijelazne konfiguracije i same prijelazne konfiguracije unutar asocijacijskog kompleksa, što omogućuje ekstenzivno tuneliranje i H i D. Aktivacijske parametre dobivene u području vrlo malih ionskih jakosti, $A_{\text{H}}/A_{\text{D}} = 0,97$, $\Delta E_a(\text{D,H})=3,9 \text{ kJmol}^{-1}$, te „normalnu“ ovisnost KIE o temperaturi moguće je objasniti unutar semiklasičnog pristupa. U ovim uvjetima nema očitog dokaza koji bi govorio u prilog tuneliranju, ni H, ni D.

Iz toga proizlazi da je upravo prisutnost kationa u početnom trimolekularnom asocijacijskom kompleksu, što ima za posljedicu prisutnost kationa u blizini aktiviranog kompleksa, dovela do prijelaza iz reakcijskog režima prijelaza preko reakcijske barijere u režim tuneliranja protona kroz barijeru. Prisutnost kationa je tako doprinijela postizanju optimizirane organizacije okoliša prijelazne konfiguracije i same prijelazne konfiguracije što je omogućilo učinkovito tuneliranje protona.

8. LITERATURNA VRELA

1. M. H. Huynh, T. J. Meyer, *Chem. Rev.* **107** (2007) 5004.
2. R. I. Cukier, D. G. Nocera, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **49** (1998) 337.
3. J. Mayer, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **55** (2004) 363.
4. S. Y. Reece, D. G. Nocera, *Annu. Rev. Biochem.* **78** (2009) 673.
5. S. Hammes-Schiffer, S. A. V. J. Soudackov, *Phys. Chem. B.* **112** (2008) 14108.
6. J. J. Concepcion, J. W. Juruss, M. K. Brennaman, P. G. Hoertz, A. O. T Patrocinio, N. Y. M. Iha, J. L. Templeton, T. J. Meyer, *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1954.
7. C. Costentin, *Chem. Rev.* **108** (2008) 2145.
8. J. J. Warren, J. Mayer, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **107** (2010) 5282.
9. L. O. Johannissen, T. Irebo, M. Sjödin, O. Johansson, L. Hammarström, *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 16214.
10. S. Hammes-Schiffer, *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1881.
11. S. J. Edwards, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Phys. Chem. A* **113** (2009) 2117.
12. S. Hammes-Schiffer, *Acc. Chem. Res.* **34** (2001) 273.
13. R. I. Cukier, *J. Phys. Chem. B* **106** (2002) 1746.
14. S. Fukuzumi, *Chem. Lett.* **37** (2008) 808.
15. L. M. Utchig, M. C. Thurnauer, *Acc. Chem. Res.* **37** (2004) 439.
16. S. Fukuzumi, K. Ohkubo, *Chem. Eur. J.* **6** (2000) 4532.
17. R. J. Kurland, M. E. Winkler, *J. Biochem. Bioph. Meth.* **4** (1981) 215.
18. R. J. Campion, C. F. Deck, P. King, A. C. Waahl, *Inorg. Chem.* **6** (1967) 672.
19. C. Tommos, G. T. Babcock, *Acc. Chem. Res.* **31** (1998) 18.
20. P. J. McEvoy, G. W. Brudvig, *Chem. Rev.* **106** (2006) 4455.
21. S. Y. Reece, J. M. Hodgkiss, J. Stubbe, D. G. Nocera, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* **361** (2006) 1351.
22. X. Chen, Y. Bu, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 9713.
23. X. Chen, D. Xing, L. Zhang, R. I. Cukier, Y. Bu, *J. Comput. Chem.* **30** (2009) 2694.
24. A. Sen, A. Kohen, *Quantum Effects in Enzyme Kinetics* u: N. S. Scrutton, R. K. Allemann (ur.), *Quantum Tunnelling in Enzyme-Catalysed Reactions*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2009, pp 164-181.
25. J. P. Klinman, *Chem. Phys. Lett.* **471** (2009) 179.

26. C. R. Pudney, L. O Johannissen, M. J. Sutcliffe, S. Hay, N. S. Scrutton, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 11329.
27. A. Yahashiri, G. Nimrod, N Ben-Tal, E. E. Howell, A. Kohen, *Chembiochem.* **10** (2009) 2620.
28. I. J. Rhile, T. F. Markle, H Nagao, A. .G. DiPasquale, O. P. M Lam, M. A. Lockwood, K. Rotter, J. M Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 6075.
29. S. Hammes-Schiffer, *Chemphyschem* **3** (2002) 33.
30. R. A. Binstead, B. A. Moyer, G. J. Samuels, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 2897.
31. C. Turró, C. K. Chang, G. E. Leroi, R. I. Cukier, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 4013.
32. R. I. Cukier, *J. Phys. Chem. A* **98** (1994) 2377.
33. R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta* **811** (1985) 265.
34. D. C. Borgis, S. Lee, J. T. Hynes, *Chem. Phys. Lett.* **162** (1989) 19.
35. K. S. Peters, A. Cashin, P. Timbers, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 107.
36. R. I. Cukier, *Biochim. Biophys. Acta* **1655** (2004) 37.
37. H. Decornez, S. Hammes-Schiffer, *J. Phys. Chem. A* **104** (2000) 9370.
38. A. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Chem. Phys.* **111** (1999) 4672.
39. A. Soudackov, E. Hatcher, S. Hammes-Schiffer, *J. Chem. Phys.* **122** (2005) 14505.
40. S. Hammes-Schiffer, E. Hatcher, H. Ishikita, J. H. Skone, A. V. Soudackov, *Coordin. Chem. Rev.* **252** (2008) 384.
41. M. K. Ludlow, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 7094.
42. C. Venkataraman, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Chem. Phys.* **131**(2009) 54502.
43. S. J. Edwards, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Phys. Chem. B* **114** (2010) 6653.
44. C. Costentin, M. Robert, J. Savéant, *J. Electroanal. Chem.* **558** (2006) 197.
45. T. J. Meyer, M. H. V. Huynh, H. H Thorp, *Angew. Chem. Int. Ed.* **46** (2007) 5284.
46. G. T. Babcock, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **96** (1999) 12971.
47. I. Belevich, M. I. Verkhovsky, M. Wikström, *Nature Letters*, **440** (2006) 829.
48. J. Rosenthal, D.G. Nocera, *Acc. Chem. Res.* **40** (2007) 543.
49. B. Li, J. Zhao, K. Onda, K. D. Jordan, J. Yang, H. Petek, *Science*, **311** (2006) 1436.
50. A. I. Gavrilyuk, *Solar Energy materials & Solar Cells* **94** (2010) 515.

51. L. Hammarström, S. Styring, *Phil. Trans. R. Soc. B.* **363** (2008) 1283.
52. A. Magnuson, M. Anderlund, O. Johansson, P. Lindblad, R. Lomoth, T. Polivka, S. Ott, K. Stensjö, S. Styring, V. Sundström, L. Hammarström, *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1899.
53. C. Carra, N. Iordanova, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 10429.
54. H. Ishikita, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 11146.
55. J. P. Roth, S. Lovell, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 5486.
56. J. C. Yoder, J. P. Roth, E. M. Gussenhoven, A. S. Larse, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 2629.
57. I. J. Rhile, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 12718.
58. J. L. Cape, M. K. Bowman, D. M. Kramer *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 4208.
59. J. M. Hodgkiss, N. H. Damrauer, S. Pressé, J. Rosenthal, D. G. Nocera, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 18853.
60. M. H. V. Huynh, T. J. Meyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **42** (2002) 1395.
61. M. H. V. Huynh, T. J. Meyer, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **101** (2004) 13138.
62. A. Wu, E. A. Mader, A. Datta, D. A. Hrovat, W. T. Borden, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 11985.
63. S. Hammes-Schiffer, *Acc. Chem. Res.* **39** (2006) 93.
64. E. A. Mader, E. R. Davidson, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 5153.
65. E. A. Mader, V. W. Manner, T. F. Markle, A. Wu, J. A. Franz, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 4335.
66. M. Sjödin, S. Styring, B. Åkermark, L. Sun, L. Hammarström, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000), 3932.
67. T. Irebo, S. Y. Reece, M. Sjödin, D. G. Nocera, L. Hammarström, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 15462.
68. M. Sjödin, S. Styring, H. Wolpher, Y. Xu, L. Sun, L. Hammarström, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 3855.
69. J. M. Mayer, I. J. Rhile, *Biochim. Biophys. Acta* **1655** (2004) 51.
70. C. J. Fecenko, H. H. Thorp, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 15098.
71. B. T. Farrer, H. H. Thorp, *Inorg. Chem.* **38** (1999) 2497.
72. C. Costentin, M. Robert, J. Savéant, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 5870.
73. L. I. Krishtalik, *Bioelectroch. Bioener.* **23** (1990) 249.
74. M. Sjödin, T. Irebo, J. E. Utas, J. Lind, G. Merényi, B. Åkermark, L. Hammarström, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 13076.

75. C. R. Waidmann, X. Zhou, E. A. Tsai, W. Kaminsky, D. A. Hrovat, W. T. Borden, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 4729.
76. S. Hammes-Schiffer, N. Iordanova, *Biochim. Biophys. Acta*, **1655** (2004) 29.
77. M. Sjödin, R. Ghanem, T. Polivka, J. Pan, S. Styring, L. Sun, V. Sundström, L. Hammarström, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6** (2004) 4851.
78. W. J. Albery, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **31** (1980) 227.
79. J. D. Soper, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 12217.
80. I. Sajenko, V. Pilepić, C. Jakobušić Brala, S. Uršić, *J. Phys. Chem. A* **114** (2010) 3423.
81. Biczok, L.; Linschitz, H. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 11051.
82. J. J. Warren, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 2774.
83. S. Miyazaki, T. Kojima, J. M. Mayer, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 11615.
84. V. W. Manner, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 9874.
85. T. J. Meyer, M. H. V. Huynh, *Inorg. Chem.* **42** (2003) 8140.
86. J. Freys, G. Bernardinelli, O. S. Wenger, *Chem. Comm.* (**2008**) 4267.
87. A. V. Makarycheva-Mikhailova, D. M. Stanbury, M. L. McKee, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 6942.
88. J. M. Mayer, D. A. Hrovat, J. L. Thomas, W. T. Borden, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 11142.
89. G. DiLabio, E. R. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 6199.
90. N. S. Isaacs, R. van Eldik, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2** (1997) 1465.
91. D. Vuina, V. Pilepić, D. Ljubas, K. Sanković, I. Sajenko, S. Uršić, *Tetrahedron Lett.* **48** (2007) 3633.
92. J. J. Warren, J. M. Mayer, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 7546.
93. S. Uršić, V. Vrček, D. Ljubas, I Vinković, *New. J. Chem.* **221** (1998) 7.
94. N. Nakanishi, M. M. Rahman, Y. Sakamoto, M. Miura, F. Takeuchi, S. Y. Park, M. Tsubaki, *J. Biochem* **146** (2009) 857.
95. D. Njus, P. M. Kelley, *Biochim. Biophys. Acta* **1144** (1993) 235.
96. D. Njus, M. Wigle, P. M. Kelley, B. H. Kipp, H. B. Schegle, *Biochemistry* **40** (2001) 11905.
97. H. Görner, *Photochem. Pphotobiol. Sci.* **3** (2004) 933.
98. D. Njus, P. M. Kelley, *FEBS J.*, **284** (1991) 147.
99. J. Rosenthal, J. M. Hodgkiss, E. R. Young, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 10474.

100. J. P. Kirby, J. A. Roberts, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 9230.
101. J. A. Roberts, J. P. Kirby, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 8051.
102. J. P. Kirby, N. A. van Dantzig, C. K. Chang, D. G. Nocera, *Tetrahedron Lett.* **36** (1995) 3477.
103. C. J. Chang, M. C. Y. Chang, N. H. Damrauer, D. G. Nocera, *Biochim. Biophys. Acta* **13** (2004) 1655.
104. E. R. Young, J. Rosenthal, D. G. Nocera, *Chem. Commun.* **20** (2008) 2322.
105. E. R. Young, J. Rosenthal, J. M. Hodgkiss, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 7678.
106. T. F. Markle, I. J. Rhile, A. G. DiPasquale, J. J. Mayer, *P. Natl. Acad. Sci. USA* **105** (2008) 8185.
107. T. F. Markle, J. M. Mayer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **47** (2008) 738.
108. R. Lomoth, A. Magnuson, M. Sjödin, P. Huang, S. Styring, L. Hammarström, *Photosynth. Res.* **87** (2006) 25.
109. J. M. Mayer, I. J. Rhile, F. B. Larsen, E. A. Mader, T. F. Markle, A. G. DiPasquale *Photosynth. Res.* **87** (2006) 3.
110. M. Sjödin, S. Styring, B. Åkermark, L. Sun, L. Hammarström, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* **357** (2002) 1471.
111. S. Y. Reece, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 9448.
112. A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 10598.
113. S. Pressé, R. Silbey, *J. Chem. Phys.* **124** (2006) 164504.
114. P. E. M. Siegbahn, *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1871.
115. G. W. Brudvig, *Phil. Trans. R. Soc. B* **363** (2008) 1211.
116. C. Tommos, P. Brezinski, A. Ehrenberg, specijalno izdanje posvećeno G. T. Babcocku, *Biochim. Biophys. Acta* **1655** (2004) 1.
117. C. W. Hoganson, G. T. Babcock, *Science* **277** (1997) 1953.
118. I. McConnell, G. H. Li, G. W. Brudvig, *Chem. Biol.* **17** (2010) 434.
119. K. N. Ferreira, T. M. Iverson, K. Maghlaoui, J. Barber, S. Iwata, *Science* **303** (2004) 1831.
120. B. Loll, J. Kern, W. Saenger, A. Zouni, J. Biesiadka, *Nature* **438** (2005), 1040.
121. C. Tommos, G. T. Babcock, *Biochim. Biophys. Acta* **1458** (2000) 199.
122. D. L. Jenson, B. A. Barry, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009), 10567.
123. V. L. Pecoraro, M. J. Baldwin, M. T. Caudle, W. Hsieh, N. A. Law, *Pure Appl. Chem.* **70** (1998) 925.

124. J. S. Vrettos, J. Limburg, G. W. Brudvig, *Biochim. Biophys. Acta* **1503** (2001) 229.
125. W. Hillier, T. Wydrzynski, *Coord. Chem. Rev.* **252** (2008) 306.
126. G. Renger, P. Kühn, *Biochim. Biophys. Acta* **1767** (2007) 458.
127. C. F. Yocum, *Coord. Chem. Rev.* **252** (2008) 296.
128. K. A. V. Meulen, A. Hobson, C. F. Yocum, *Biochim. Biophys. Acta* **1655** (2004) 179.
129. J. Dasgupta, R. T. van Willigen, G. C. Dismukes, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6** (2004) 4793.
130. A. Boussac, P. Setif, A. W. Rutherford, *Biochemistry* **31** (1992) 1224.
131. N. Lydakis-Simantiris, P. Dorlet, D. F. Ghanotakis, G. T. Babcock, *Biochemistry* **37** (1998) 6427.
132. A. Guskov, A. Gabdulkhakov, M. Broser, C. Glockner, J. Hellmich, J. Kern, J. Frank, F. Muh, W. Saenger, A. Zouni, *Chemphyschem.* **11** (2010) 1160.
133. K. Kawakami, Y. Umena, N. Kamiya, J. R. Shen, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **106** (2009) 8567.
134. P. E. M. Siegbahn, *Dalton T.* **45** (2009) 10063.
135. K. Olesen, L. Andréasson, *Biochemistry*, **42** (2003) 2025.
136. J. H. Alstrum-Acevedo, M. K. Brennman, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **44** (2005), 6802.
137. T. J. Meyer, *Nature*, **451** (2008) 778.
138. L. Hammarström, S. Hammes-Schiffer, *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1859.
139. J. W. Jurss, J. J. Concepcion, M. R. Norris, J. L. Templeton, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **49** (2010) 3980.
140. F. Liu, J. J. Concepcion, J. W. Jurss, T. Cardolaccia, J. L. Templeton, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **47** (2008) 1727.
141. J. J. Concepcion, J. W. Jurss, M. R. Norris, Z. F. Chen, J. L. Templeton, T. J. Meyer, *Inorg. Chem.* **49** (2010) 1277.
142. J. J. Concepcion, J. W. Jurss, P. G. Hoertz, T. J. Meyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 9473.
143. Z. Chen, J. J. Concepcion, J. W. Jurss, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 15580.
144. J. J. Concepcion, M. Tsai, J. T. Muckerman, T. J. Meyer, *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 1545.
145. M. M. Najafpour, T. Ehrenberg, M. Wiechen, P. Kurz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49** (2010) 2233.
146. C. W. Cady, K. E. Shinopoulos, R. H. Crabtree, G. W. Brudvig, *Dalton T.* **39** (2010) 3985.

147. J. Stubbe, D. G. Nocera, C. S. Yee, M. C. Y. Chang, *Chem. Rev.* **103** (2003) 2167.
148. M. J. Knapp, K. Rickert, J. P. Klinman, *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 3865.
149. E. Hatcher, A. V. Soudackov, S. Hammes-Schiffer, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007), 187.
150. S. Hammes-Schiffer, J. B. Watney, *Phil. Trans. R. Soc. B* **361** (2006) 1365.
151. Z. D. Nagel, J. P. Klinman, *Chem. Rev.* **106** (2006) 3095.
152. M. J. Sutcliffe, L. Masgrau, A. Roujeinikova, L. O. Johannissen, P. Hothi, J. Basran, K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, D. Leys, N. S. Scrutton, *Phil. Trans. R. Soc. B* **361** (2006) 1375.
153. A. Kohen, J. P. Klinman *Acc. Chem. Res.* **31** (1998) 397.
154. A. Kohen, *Current Issues in Enzymatic Hydrogen Transfer from Carbon: Tunneling and Coupled Motion from Kinetic Isotope Effect Studies* u: J. T. Hynes, J. P. Klinman, H. H. Limbach, R. L. Schowen (ur), *Hydrogen-Transfer Reactions*, Vol 4, Wiley-VCH, Weinheim, 2007, pp. 1311-1339.
155. A. Kohen, *Kinetic Isotope Effects as Probes for hydrogen Tunneling in Enzyme Catalysis* u: A. Kohen, H. H. Limbach (ur), *Isotope Effects in Chemistry and Biology*, Taylor & Francis, CRC Press, New York, 2006, pp. 744-764.
156. A. Kohen, *Prog. React. Kinet. Mech.* **322** (2003) 179.
157. S. Hay, C. R. Pudney, N. S. Scrutton, *FEBS J.* **276** (2009) 3930.
158. L. Masgrau, J. Basran, P. Hothi, M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, *Arch. Biochem. Biophys.* **428** (2004) 41.
159. M. P. Meyer, J. P. Klinman, *Chem. Phys.* **319** (2005) 283.
160. J. P. Klinman, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **361** (2006) 1323.
161. J. P. Klinman, *Biochim. Biophys. Acta.* **1751** (2006), 981.
162. L. Wang, N. M. Goodey, S. J. Benkovic, A. Kohen, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **105** (2006), 15753.
163. A. Yahashiri, E. E. Howell, A. Kohen, *Chemphyschem* **16** (2008) 980.
164. A. Kohen, R. Cannio, S. Bartolucci, J. P. Klinman, *Nature* **399** (1999) 496.
165. J. N. Bandaria, C. M. Cheatum, A. Kohen, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 10151.
166. B. Hong, F. Maley, A. Kohen, *Biochemistry* **46** (2007) 14188.
167. C. R. Pudney, S. Hay, J. Pang, C. Costello, D. Leys, M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 13949.
168. J. Y. Pang, S. Hay, N. S. Scrutton, M. J. Sutcliffe, *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 7092.
169. S. Hay, M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **104** (2007) 507.

170. L. O. Johanissen, S. Hay, N. S. Scrutton, M. J. Sutcliffe, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 2631.
171. B. R. K. Menon, P. A. Davison, C. N. Hunter, N. S. Scrutton, D. J. Heyes, *J. Biol. Chem.* **285** (2010) 2113.
172. Z. D. Nagel, J. P. Klinman, *Nat. Chem. Biol.* **5** (2009) 543.
173. P. L. Dutton, A. W. Munro, N. S. Scrutton, M. J. Sutcliffe, *Phil. Trans. R. Soc. B* **361** (2006) 1293.
174. S. J. Benkovic, S. Hammes-Schiffer, *Science* **312** (2006) 208.
175. R. A. Marcus *Phil. Trans. R. Soc. B.* **361** (2006) 1445.
176. C. R. Pudney, S. Hay, C. Levy, J. Y. Pang, M. J. Sutcliffe, D. Leys, N. S. Scrutton, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 17072.
177. M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, *Eur. J. Biochem.* **269** (2002) 3096.
178. R. P. Bell, *The Tunnel Effect in Chemistry*, Chapman and Hall, London, 1980
179. A. M. Kuznetsov, J. Ulstrup, *Can. J. Chem.* **77** (1999) 1085
180. L. Wang, N. M. Goodney, S. J. Benkovic, A. Kohen, *Phil. Trans. Roy. Soc. B* **361** (2006) 1307.
181. S. Hay, N. S. Scrutton, *Photosynth. Res.* **98** (2008) 169.
182. S. C. L. Kamerlin, A. Warshel, *Faraday Discuss.* **145** (2010) 71.
183. S. Hay, L. O. Johanissen, M. J. Sutcliffe, N. S. Scrutton, *Biophys. J.* **98** (2010) 121.
184. M. B. Davies, J. Austin, D. A. Partridge, *Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1991
185. IUPAC-IUB. *Biochim. Biophys. Acta: Gen. Subj.* **107** (1965) 1.
186. J. Hvoslef, *Acta Cryst.* **24** (1968) 23.
187. H. Liu, B. Xiang, L. Qu, *J. Mol. Struct.* **794** (2006) 12.
188. R. K. Allen, M. K. Shukla, D. Reed, J. Leszczynski, *Int. J. Quantum Chem.* **106** (2006) 2934.
189. G. R. Buettner, B. A. Jurkiewicz, *Chemistry and Biochemistry of Ascorbic Acid* u: E. Cadenas, L. Packer (ur.). *Handbook of antioxidants*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1996, pp. 91.–115.
190. M. M. T. Khan, A. E. Martell, *J. Am. Chem. Soc.* **89** (1967) 4176.
191. G. P. Laroff, R. W. Fessenden, R. H. Schuler, *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972) 9062.
192. Williams, N. H.; Yandell, J. K. *Aust. J. Chem.* **1982**, 35, 1133.
193. Bors, W.; Buettner, G. R. u *Vitamin C in Health and Disease*; Packer, L.; Fuchs, J. Eds.; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1997; 75. – 94.

194. B. H. J. Bielski, A. O. Allen, H. A. Schwarz, *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 3516.
195. D. M. Miller, G. R. Buettner, S. D. Aust, *Free Radical Bio. Med.* **8** (1990), 95.
196. G. R. Buettner, B. A. Jurkiewicz, *Radiat. Res.* **145** (1996) 532.
197. S. J. Padayatty, A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S. K. Dutta, M. Levine, *J. Am. Coll. Nutr.* **22** (2003) 18.
198. G. R. Buettner, *Arch. Biochem. Biophys.* **300** (1993), 535.
199. K. A. Naidu, *Nutr. J.* **2** (2003) 1.
200. L. Pauling, *Kako živjeti dulje i osjećati se bolje*, 3. izdanje, Globus, Zagreb, 1997
201. S. F. Mason, *Chem Soc. Rev.* **29** (1997)
202. M. J. González, J. R. Miranda-Massari, E. M. Mora, A. Guzmán, N. H. Riordan, H. D. Riordan, J. J. Casciari, J. A. Jackson, A. Román-Franco, *Integr. Cancer Ther.* **4** (2005) 32.
203. J. H. Espenson, *Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*, 2. izdanje, McGraw-Hill, New York, 1995
204. K. J. Laidler, *Chemical Kinetics*, 3. izdanje, Harper&Row Publishers, Inc., New York, 1987
205. P. W. Atkins, J. de Paula, *Physical Chemistry*, 7. izdanje, Oxford University Press, Oxford, 2002
206. T. Cvitaš, *Fizikalna kemija*, rukopis u pripremi (može se dobiti u Središnjoj kemijskoj knjižnici, PMF, Zagreb), 2003
207. E. V. Anslyn, , D. A. Dougherty, *Modern Physical Organic Chemistry*, University Science Books, Sausalito California, 2006
208. T. H. Lowry, K. S. Richardson, *Mechanism and Theory in Organic Chemistry*, 3. izdanje; Harper Collins, New York, 1987
209. N. Isaacs, *Physical Organic Chemistry*, 2. izdanje, Longman Group UK Limited, London, 1995
210. R. A. Y. Jones, *Physical and mechanistic organic chemistry*, Cambridge Texts in Chemistry and Biochemistry, Cambridge UK, 1979
211. A. J. Kresge, *Pure Appl. Chem.* **8** (1965) 243.
212. R. L. Schowen, *Prog. Phys. Org. Chem.* **9** (1972) 275.
213. A. J. Kresge, R. A. More O'Ferrall, M. F. Powell, poglavlje 4. u: E. Buncl, L. L. Lee (ur), *Isotopes in Organic Chemistry*, Vol 7, Elsevier, New York, 1987
214. Y. Kim, M. M. Kreevoy, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 7116.
215. F. E. Romesberg, R. L. Schowen, *Adv. Phys. Org. Chem.* **39** (2004) 27.
216. M. J. Stern, R. E. Weston, *J. Chem. Phys.* **60** (1974) 2808.

217. V. Simeon, *Termodinamika*, Školska knjiga, Zagreb, 1980
218. R. J. Silbey, R. A. Alberty, M. G. Bawendi, *Physical Chemistry*, 4. Izdanje, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2005
219. R. A. Marcus, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **15** (1964) 155.
220. D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, 2. izdanje, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1995
221. J. P. McEvoy, G. W. Brudvig, *Biochemistry US* **47** (2008) 13394.
222. N. Kagayama, M. Sekiguchi, Y. Inada, H. D. Takagi, S. Funahashi, *Inorg. Chem.* **33** (1994) 1881.
223. J. M. Leal, P. L. Domingo, B. Garcia, S. Ibeas, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **89** (1993) 3571.
224. B. Bansch, P. Martinez, J. Zuluaga, D. Uribe, R. Z. van Eldik, *Phys. Chem.* **170** (1991) 59.
225. B. E. Conway *Ionic Hydration in Chemistry and Biophysics*, Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 1981
226. H. Kwart, *Acc. Chem. Res.* **15** (1982) 401.
227. R. C. Weast, M. J. Astle, W. H. Beyer, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 69. izdanje, CRC Press, Inc., Boca Raton, 1988

8. POPIS OZNAKÂ, KRATICÂ I SIMBOLÂ

A – akceptor

ATP – adenzin trifosfat

bpy – 2,2'-bipiridin

DAD – *donor acceptor distance* – udaljenost između donora i akceptora protona

DETAPAC – dietilentriaminopentaacetat

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

DHFR – dihidrofolat reduktaza

D – donator

EDTA – etilendiamintetraacetat

EPT – *electron proton transfer* – spregnuti prijelaz elektrona i protona u okviru teorije koju razvija Hammes-Schiffer sa sur.

ET – *electron transfer* – prijelaz elektrona

HAT – *hydrogen atom transfer* – prijelaz atoma vodika

KIE – *kinetic isotope effect* - kinetički izotopni učinak

MLCT – *metal to ligand charge transfer* – prijelaz naboja s metala na ligand

MR – morfinon reduktaza

MS–EPT – *multiple site electron-proton transfer* – dvosmjerni PCET

NDP – nukleozid difosfat

OEC – *oxygen evolving complex* – kompleks u kojemu dolazi do razvijanja kisika

PCET – *proton coupled electron transfer* – spregnuti prijelaz elektrona i protona

PT – *proton transfer* – prijelaz protona

PSII – fotosustav II

RNR – ribonukleotid reduktaza

*rd*s – *rate determining step* – stupanj koji određuje brzinu reakcije

SLO – sojina lipooksigenaza

TEMPO – 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil

ZPE – *zero point energy* – energija nulte točke

9. DODATAK

Debye-Hückel-ova A konstanta prema izrazu:²⁰⁵

$$A = \frac{\rho^{1/2}}{(\epsilon T)^{3/2}} \cdot A'$$

uz ostalo ovisi o gustoći, ρ , dielektričnoj konstanti otapala, ϵ , i o temperaturi, T .

Izračunane su vrijednosti A konstante u vodi i teškoj vodi (ρ, ϵ)²²⁷ na temperaturama od 278,3 do 312,4 K.

Tablica D.1.

Debye-Hückelova A konstanta u vodi i teškoj vodi na temperaturama od 278,3 do 312,4 K.

T / K	A_{H}	A_{D}
278,3	0,493	0,521
283,0	0,498	0,526
288,0	0,501	0,530
292,8	0,506	0,536
298,2	0,509	0,540
303,3	0,513	0,545
307,6	0,519	0,552
312,4	0,524	0,558

D1. Korekcija konstanti brzine u teškoj vodi u području niske ionske jakosti, do $I \leq 0,01$.

Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona ($k_{\text{HAsc}^-} = k$) u teškoj vodi ($k_{\text{D,exp}}$) u području niske ionske jakosti, do $I \leq 0,01$, su korigirane kako bi se isključila razlika povezana za razliku u Debye-Hückelovoj A konstanti u vodi i teškoj vodi, prema sljedećem izrazu ($k_{0,\text{exp}} = k_{0,\text{kor}}$):

$$\begin{aligned} \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{\text{D,exp}} &= 2z_A z_B A_D \sqrt{I} \\ \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{\text{D,exp}} &= 2z_A z_B A_H \left(\frac{A_D}{A_H}\right) \sqrt{I} \\ \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{\text{D,kor}} &= \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{\text{D,exp}} / \left(\frac{A_D}{A_H}\right) \\ \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{\text{D,kor}} &= 2z_A z_B A_H \sqrt{I} \end{aligned}$$

D2. Procjena utjecaja razlike u temperaturnoj ovisnosti Debye-Hückelove A konstante između vode i teške vode na razliku u aktivacijskim reakcijskim parametrima između vode i teške vode ($\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D,H})$, $\Delta\Delta S^\ddagger(\text{D,H})$, A_H/A_D)

Razlika u temperaturnoj ovisnosti Debye-Hückelove A konstante između vode i teške vode je isključena tako što su iz izmjerenih konstanti brzina reakcije kod $I = 0,0023$ na određenoj temperaturi ($k_{\text{exp,T}}$) izračunane konstante brzine reakcije kod $I = 0$ ($k_{0,\text{T}}$), prema sljedećem izrazu:

$$\begin{aligned} \log\left(\frac{k_{\text{exp}}}{k_0}\right)_{\text{T}} &= \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{25} * \left(\frac{A_{\text{T}}}{A_{25}}\right) \\ \log k_{0,\text{T}} &= \log k_{\text{exp,T}} - \log\left(\frac{k}{k_0}\right)_{25} * \left(\frac{A_{\text{T}}}{A_{25}}\right) \end{aligned}$$

$k_{0,25}$ – određena na temelju izmjerene ovisnosti konstante brzine reakcije o ionskoj jakosti u području ionske jakosti do $I = 0,01$, prema graničnom Brønsted-Debye-Hückelovom zakonu.

Na temelju provedene analize, utvrđeno je da razlika u temperaturnoj ovisnosti Debye-Hückelove A konstante između vode i teške vode neznatno utječe na razliku u aktivacijskim reakcijskim parametrima između vode i teške vode ($\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D,H})$, $\Delta\Delta S^\ddagger(\text{D,H})$, A_H/A_D).