

Dinamika vode i tuneliranje vodika u protonom spregnutoj reakciji prijelaza elektrona

Karković Marković, Ana

Doctoral thesis / Disertacija

2016

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:690564>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Ana Karković Marković

**WATER DYNAMICS AND HYDROGEN
TUNNELLING IN PROTON-COUPLED ELECTRON
TRANSFER REACTION**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2016



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Ana Karković Marković

**DINAMIKA VODE I TUNELIRANJE VODIKA U
PROTONOM SPREGNUTOJ REAKCIJI PRIJELAZA
ELEKTRONA**

DOKTORSKI RAD

Mentor:
prof. dr. sc. Stanko Uršić

Zagreb, 2016.



University of Zagreb
FACULTY OF SCIENCE

Ana Karković Marković

WATER DYNAMICS AND HYDROGEN TUNNELLING IN PROTON-COUPLED ELECTRON TRANSFER REACTION

DOCTORAL THESIS

Supervisor:
Dr. Stanko Uršić, Professor

Zagreb, 2016

Zahvale

Prvu i veliku zahvalu želim izraziti svojem mentoru prof. dr. sc. Stanku Uršiću, znanstvenom i životnom uzoru, na izvrsnom vodstvu tijekom izrade ove doktorske disertacije, te nadasve na iskrenom prijateljstvu koje traje od početka našeg poznanstva i suradnje. Također, jednakom mjerom želim zahvaliti i svojoj suvoditeljici, kolegici i prijateljici doc. dr. sc. Cvijeti Jakobušić Brala na nesebičnoj pomoći u svakom trenutku i na prenesenom znanstveno-istraživačkom iskustvu. Zahvaljujem i prof. dr. sc. Viktoru Pilepiću i kolegici dr. sc. Ivani Fabijanić na podršci i pomoći, kao i ostalim bivšim i sadašnjim djelatnicima Zavoda za Fizikalnu kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Želim se posebno zahvaliti i prof. dr. sc. Davoru Kovačeviću, voditelju smjera Fizikalna kemija na doktorskom studiju Kemije PMF-a, na susretljivosti i pomoći tijekom trajanja studija i pripreme ove disertacije. Zahvaljujem i gđi Jasni Dubrović, djelatnici referade dokorskog studija Kemije na PMF-u, na srdačnosti i dostupnosti oko rješavanja administrativnih nedoumica.

Na kraju, najvažniju i najveću zahvalu želim izraziti svojim najbližima koji su dijelili sve moje radosti i tuge, uspjehe i muke za vrijeme studija i izrade doktorske disertacije, mojem sinu Šimunu, suprugu Mladenu i njegovim roditeljima Mariju i Jeli, mojim roditeljima Marku i Vinki, sestri Mariji, braći Juraju i Nikici, te svim dragim prijateljima.

Sadržaj

SAŽETAK.....	xi
ABSTRACT	xiii
§ 1. Uvod	1
§ 2. Literaturni pregled	3
2.1. Reakcije protonom spregnutog prijelaza elektrona – PCET	3
2.1.1. PCET teorija	6
2.1.2. Termokemija PCET procesa	13
2.1.3. Oksidacija askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom – PCET proces	15
2.2. Tuneliranje vodika	18
2.2.1. Osnovni pojmovi i činjenice važne za tuneliranje u kemijskim reakcijama	18
2.2.2. Tunelski korekcijski faktor Q_t – Bellov model	21
2.2.3. Markusianski („Marcus-like“) modeli tuneliranja	23
2.2.4. Konstanta brzine tuneliranja vodika u markusianskom modelu i promotivne vibracije	24
2.3. Dinamika vode	29
2.3.1. Vodikove veze i mehanizam reorijentacije vode	30
2.3.2. Dinamika vode u prisutnosti iona	34
2.3.3. Dinamika vode u prisutnosti hidrofobnih molekula	35
2.4. Kemijska kinetika i reakcijska dinamika	38
2.4.1. Brzina i red kemijske reakcije	38
2.4.2. Arrheniusova jednadžba	40
2.4.3. Teorija prijelaznog stanja	42
2.4.4. Kinetički izotopni učinak	45
2.4.5. Pregled protona (proton inventory)	50
2.4.6. Kinetički solni učinak	51
§ 3. Eksperimentalni dio	52
3.1. Uporabljivi materijali i instrumenti	52
3.1.1. Materijali	52
3.1.2. Instrumenti	52
3.2. Metode	53
3.2.1. Kinetička mjerenja	53
3.2.2. Određivanje koncentracije askorbata	55

§ 4. Rezultati i rasprava	59
4.1. Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode	60
4.1.1. <i>Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionima u smjesama organskog otapala i vode jest PCET proces</i>	<i>60</i>
4.1.2. <i>Prijelaz protona u procesu odvija se s 2-OH skupine askorbata na molekulu vode.....</i>	<i>62</i>
4.1.3. <i>Utjecaj malih ionskih jakosti ($I_c \leq 0,01$) na konstantu brzine reakcije u smjesama organskog otapala i vode.....</i>	<i>66</i>
4.1.4. <i>Utjecaj različitih udjela organskog otapala u vodi na konstante brzine i kinetički izotopni učinak u reakciji.....</i>	<i>71</i>
4.1.5. <i>Aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode.....</i>	<i>77</i>
4.2. Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionom u prisutnosti kvarternih amonijevih soli	88
4.2.1. <i>Utjecaj malih koncentracija kvarternih amonijevih soli na konstantu brzine ($I_c \leq 0,01$).....</i>	<i>88</i>
4.2.2. <i>Utjecaj većih koncentracija kvarternih amonijevih soli na konstantu brzine i kinetički izotopni učinak.....</i>	<i>90</i>
4.2.3. <i>Aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u prisutnosti kvarternih amonijevih soli</i>	<i>93</i>
4.3. Povezanost dinamike vode i tuneliranja protona u PCET procesu oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom	98
§ 5. Zaključak	102
§ 6. Literaturni izvori	105
§ 7. Dodatak.....	xv
§ 8. Životopis	xxxvii



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Doktorska disertacija

SAŽETAK

DINAMIKA VODE I TUNELIRANJE VODIKA U PROTONOM SPREGNUTOJ REAKCIJI PRIJELAZA ELEKTRONA

Ana Karković Marković

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

Istražen je učinak djelomično hidrofobnih molekula (organskog otapala i kvarterne amonijeve soli) na protonom spregnuti prijelaz elektrona (PCET) u reakciji askorbata s heksacijanoferat(III) ionom u vodenoj sredini, te je opažen prijelaz iz aktivacijskog režima u režim tuneliranja, dodatkom organskih otapala i kvarternih iona. Eksperimentalna opažanja koja uključuju povećane vrijednosti kinetičkog izotopnog učinka (KIE) u odnosu na reakciju u vodi, izotopne omjere A_H/A_D Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora značajno manje od semiklasično predviđenih, kao i izotopne razlike aktivacijskih energija procesa veće od semiklasičnih, objašnjena su u okviru markusianskog modela tuneliranja koji uzima u obzir dinamičke aspekte sustava i okoliša. Prijelaz protona dinamički je povezan s femtosekundnom dinamikom OH skupine vode. Dodatak djelomično hidrofobnih molekula u vodenu sredinu dovodi do promjena dinamike OH vode zbog interakcije s hidrofobnim dijelom molekule i ta promjena intermolekularnim rezonantnim vibracijskim mehanizmom uključuje molekulu vode u prijelaznoj konfiguraciji i promotivne vibracije povezane s reakcijskom koordinatom protonsko-elektronskog prijelaza u procesu.

(111 stranica, 42 slike, 47 tablica, 1 shema, 165 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici, Horvatovac 102a, Zagreb i Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb.

Ključne riječi: dinamika vode/ hidrofobnost/ promotivna vibracija/ protonom spregnuti prijelaz elektrona/ tuneliranje vodika

Mentor: dr. sc. Stanko Uršić, red. prof.

Rad prihvaćen: 10. listopada 2016.

Ocjenitelji:

1. dr. sc. Hrvoj Vančik, red. prof.
2. dr. sc. Stanko Uršić, red. prof.
3. dr. sc. Davor Kovačević, red. prof.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Doctoral Thesis

ABSTRACT

WATER DYNAMICS AND HYDROGEN TUNNELLING IN PROTON-COUPLED ELECTRON TRANSFER REACTION

Ana Karković Marković

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

The influences of molecular hydrophobic interfaces, involving organic solvents and quarternary ammonium ions, on the proton-coupled electron transfer (PCET) reaction of ascorbate monoanion with hexacyanoferrate(III) ion in water has been investigated. The kinetic isotope effect (KIE) in the reaction and the isotopic differences in Arrhenius activation energies increased and the isotopic ratios of the corresponding pre-factors A_H/A_D decreased significantly, suggesting a change from the apparent over-the-barrier process in neat water to a tunnelling regime on involving hydrophobic interfaces in the water solvent system. The observed phenomena are ascribed, invoking a Marcus-like tunnelling model that includes dynamical aspects of system and surroundings, to hydrogen tunnelling in reaction dynamically connected with femtosecond motions of water OH, where presence of hydrophobic interfaces causes changes in water dynamics coupled with reaction coordinate of the PCET process through intermolecular vibrational coupling mechanism of water.

(111 pages, 42 figures, 47 tables, 1 scheme, 165 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Horvatovac 102A, Zagreb, Croatia and National and University Library, Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb, Croatia.

Keywords: hydrogen tunnelling/ hydrophobicity/ promoting vibration/ proton-coupled electron transfer/ water dynamics

Supervisor: Dr. Stanko Uršić, Professor

Thesis accepted: 10 October 2016

Reviewers:

Dr. Hrvoj Vančik, Professor

Dr. Stanko Uršić, Professor

Dr. Davor Kovačević, Professor

§ 1. UVOD

Tuneliranje vodika (H , H^+ , H^-) jedna je od najčešćih reakcija u prirodi i neizmjereno je važna u kemijskim i biokemijskim procesima.¹⁻¹⁹ Uloga tuneliranja vodika u temeljnim reakcijama prijelaza vodikovog atoma,^{3,18,19} kao i u enzimskoj C-H aktivaciji dobro je poznata.^{2-8,12-17} Doprinos dinamičkih efekata odnosno vibracija enzimskog okoliša dinamici u aktivnom mjestu enzima ipak još uvijek je nejasan.^{4-8,12-17,20} Dinamički efekti enzimskog sustava uz sporija gibanja obuhvaćaju i promotivne vibracije – brza, femto do pikosekundna gibanja enzima, spregnuta s reakcijskom koordinatom i povezana s kratkotrajnim sabijanjem (kompresijom) reakcijske barijere što pogoduje tuneliranju kroz barijeru (*through barrier*).^{11-14,21-25} Utjecaj promotivnih vibracija na kemijsku reakciju potvrđen je i za male sustave u otopinama²⁶ koji mogu predstavljati dobar model za proučavanje reakcija u enzimima.

Voda kao reakcijski medij, napose voda u stanicama ima središnju ulogu u odvijanju svih za život važnih procesa.²⁷⁻³¹ Smatanje proteina u aktivnu konformaciju i podržavanje strukture dvostruke uzvojnice DNA samo su neki od primjera koliko je voda nezamjenjiva.^{27,30} Mnoga neobična i neočekivana svojstva vode posljedica su njene jedinstvene dinamičke strukture koju čini fluktuirajuća mreža molekula vode povezana vodikovim vezama.³²⁻³⁵ Dinamika mreže vodikovih veza mijenja se u prisutnosti i hidrofilnih i hidrofobnih tvari s kojima stupa u interakciju putem vodikovih veza.^{33,36,37} Vibracije OH skupine vode osjetljive su na promjenu jakosti vodikovih veza u koje su uključene što se očituje u pomacima vibracijskog spektra vode.^{32,33,38}

Jedan od modela predloženih za proučavanje utjecaja promotivnih vibracija²¹ poznata je reakcija oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom³⁹⁻⁴² koja uključuje protonom spregnuti prijelaz elektrona (PCET) u prvom reakcijskom koraku.⁴³ U usklađenom reakcijskom stupnju elektron prelazi s askorbata na heksacijanoferat(III) ion, a proton prelazi s askorbatne 2-OH skupine na molekulu vode koja se nalazi u prijelaznoj konfiguraciji između redoks partnera.⁴³ S obzirom na vrijednosti aktivacijskih parametara, navedena reakcija se u vodenom mediju odvija u režimu preko reakcijske barijere (aktivacijski režim).⁴³

Cilj i svrha ove doktorske disertacije jest istražiti utjecaj djelomično hidrofobnih molekula (organskog otapala i kvarterne amonijeve soli) na PCET proces oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom kao modelnog sustava za proučavanje utjecaja

promotivnih vibracija. Polazna je pretpostavka da će dodatak djelomičnog hidrofoba u reakcijski medij izazvati promjenu vibracija OH skupine vode koja će u sprezi s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona u PCET reakciji askorbata i heksacijanoferat(III) iona djelovati kao promotivna vibracija i dovesti do ulaska reakcije u režim tuneliranja.

U disertaciji su prikazani rezultati provedenih kinetičkih mjerenja za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama organskih otapala (1,4-dioksana, acetonitrila, etanola i acetona) te niza kvarternih amonijevih soli s različitim duljinama hidrofobnih alkilnih lanaca. Određene su konstante brzina reakcija, kinetički izotopni učinci i aktivacijski parametri za ispitivanu reakciju na temelju kojih se, u okviru markusianskog modela tuneliranja, izvode zaključci o ulasku sustava u režim tuneliranja pod utjecajem djelomično hidrofobnih molekula dodanih u vodeni medij.

Provedena mjerenja uključuju standardne kinetičke metode za određivanje konstanti brzina kemijske reakcije u različitim uvjetima primjenom UV-Vis spektrofotometrije, potenciometrije i drugih metoda.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Reakcije protonom spregnutog prijelaza elektrona – PCET

Protonom spregnuti prijelaz elektrona (*proton-coupled electron transfer*, PCET) prema općoj definiciji obuhvaća sve procese u kojima dolazi do prijelaza barem jednog elektrona i jednog protona.⁴⁴⁻⁴⁸ Prijelaz elektrona i protona može se odvijati kao stupnjeviti proces koji se odnosi na pojedinačni prijelaz elektrona u prvom, a protona u drugom reakcijskom stupnju (ET/PT) ili obrnuto (PT/ET). Stupnjeviti proces uključuje postojanje stabilnog međuprodukta koji odgovara prijelazu elektrona ili protona. Kod usklađenog procesa, prijelaz elektrona i protona događa se u jednom reakcijskom stupnju bez nastajanja stabilnog međuprodukta.^{44,45,49} Ova podjela s teorijskog stajališta nije stroga, mogla bi također ovisiti i o mogućnostima utvrđivanja postojanja stabilnog međuprodukta, ali je pogodna za teorijsko razmatranje PCET reakcija.⁴⁴

Termin PCET predložili su i prvi put primijenili T. J. Meyer i suradnici 1981.⁵⁰ za reakciju komproporcioniranja rutenijevih polipiridilnih kompleksa s namjerom da naglase razliku u mehanizmu prijelaza elektrona i protona u odnosu na reakcije prijenosa vodika (*hydrogen atom transfer*, HAT). S vremenom je izraz PCET poprimio općenitije značenje, a za različite mehanizme reakcija unutar PCET okvira nazivlje još uvijek nije usklađeno. Tipična reakcija usklađenog prijelaza jest reakcija u kojoj elektron i proton prelaze između različitog donora i akceptora, pri čemu donor i akceptor mogu biti definirani kao molekulska orbitala, kemijska veza ili atom. Ova elementarna PCET reakcija u literaturi se označava kao EPT⁴⁴⁻⁴⁶ (*electron-proton transfer*), ETPT⁴⁸ (*concerted electron transfer proton transfer*), CPET⁵¹ (*concerted proton and electron transfer*) ili CEP⁵² (*concerted electron/proton*). Nocera i Reece⁴⁹ uveli su podjelu PCET reakcija s obzirom na akceptor, pa razlikuju jednosmjerne (isti akceptor elektrona i protona) i dvosmjerne (različiti akceptor elektrona i protona) PCET reakcije. Za dvosmjerni PCET T. J. Meyer koristi naziv MS-EPT^{45,46} (*multiple site electron-proton transfer*), a definira ga kao usklađeni prijelaz elektrona i protona s jednog donora na prostorno odvojene akceptore ili s više donora na jedan akceptor. Ovaj tip PCET reakcija ima posebno važnu ulogu u biološkim procesima pretvorbe energije. U PCET reakcije ubraja se i HAT^{44,45,47,49} koji se od EPT reakcije razlikuje po tome što elektron i proton prelaze između

istog donora i akceptora. HAT reakcije proučavale su se naveliko tijekom proteklog stoljeća, napose u organskoj kemiji, gdje je prijelaz H atoma podrazumijevao usklađeni prijelaz elektrona i protona.⁴⁷ Razvojem PCET teorije pokazalo se da je u mnogim HAT reakcijama mehanizam prijelaza ovih čestica zapravo mnogo kompleksniji.^{47,49}

U termodinamičkom smislu, koncept sprežanja elektrona i protona odavno je poznat.⁴⁹ Primjer za to su dijagrami sastavljeni na temelju termodinamičkih podataka koji pokazuju ovisnost redukcijskog potencijala o pH (Pourbaix-ovi dijagrami) koje je početkom 1950-ih u širu primjenu uveo Marcel Pourbaix.⁵³ Sprežanje elektrona i protona pretpostavljalo se i na temelju kinetičkih izotopnih učinaka (KIE) pri zamjeni izotopa vodika H s D. Tako je Westheimer 1949. godine utvrdio KIE koji je iznosio oko 6 za reakciju oksidacije 2-propanola s kromnom kiselinom.⁵⁴ Određivanje KIE u reakcijama koje uključuju prijelaze protona i elektrona odonda je u primjeni kao značajna metoda u razlučivanju mehanizama navedenih reakcija.⁵⁵ Prvi prijedlog mehanizma spregnutog prijelaza elektrona i protona zabilježen je još 1955. u radu Hudisa i Dodsona⁵⁶ na reakciji izmjene elektrona između $[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ i $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+}$. U navedenoj reakciji izmjeren je KIE ~ 2 što je autore dovelo do zaključka da „stupanj koji određuje brzinu reakcije uključuje gibanje vodikovog atoma ili iona“.⁵⁶ U reakciji komproporcioniranja rutenijevih polipiridilnih kompleksa određen je KIE 16,1 te je utvrđen mehanizam spregnutog prijelaza elektrona i protona kao energetski povoljniji reakcijski put.⁵⁰

Sve brojniji eksperimentalni uvidi PCET procesa u reakcijama kompleksa prijelaznih metala te napose u biološkim sustavima dovela je sredinom devedesetih godina do napretka i na teorijskom području. Teorija PCET reakcija razvila se na temelju Marcusove teorije prijelaza elektrona^{57,58} i srodnih teorija za vibracijski neadijabatni prijelaz protona.^{59,60} S obzirom na kvantno-mehaničko ponašanje elektrona i protona, svi mehanizmi kojima se može odvijati PCET proces obuhvaćeni su unutar zajedničkog teorijskog okvira.⁶¹ Teorija PCET reakcija razvijala se sustavno u nizu radova Cukiera^{48,62-65} i Hammes-Schiffer.⁶⁶⁻⁶⁸ Cukier i sur. predložili su PCET teoriju koja se izravno nadovezuje na Marcusovu teoriju prijelaza elektrona, a koordinata za prijelaz protona promatra se kao unutarnja reorganizacija konfiguracije reaktanata.⁴⁸ Usklađeni prijelaz podrazumijeva prijelaz elektrona i protona u istom tunelskom događaju tj. tuneliranje obiju čestica koje se događa pod utjecajem fluktuacija otapala. Cukier je svoju teoriju razvio polazeći od dobro definiranih eksperimentalnih modela u kojima su fiksirane udaljenosti donora i akceptora putem

vodikovih veza. Prijelaz čestica događa se unutar donor-akceptor kompleksa, a energetika reakcije određena je interakcijom navedenog kompleksa s okolnim otapalom.⁴⁸ Primjeri takvih eksperimentalnih modela su simetrični D-[piridin-piridini]-A kompleks⁶⁵ i D-[karboksilat-karboksilat]-A kompleks⁶⁹ te asimetrični D-[amidinij-karboksilat]-A kompleks.⁷⁰⁻⁷⁴ Asimetrični kompleks D-[amidinij-karboksilat]-A iznimno je važan jer predstavlja dobar model za solni most arginin-aspartat (Arg-Asp) koji je sastavni dio mnogih biološki važnih struktura.⁴⁹ Hammes-Schiffer i sur. su u navedenu PCET teoriju uveli dvije kolektivne koordinate otapala koje odgovaraju prijelazu elektrona i protona.^{67,68} U tom okviru reakcija je opisana kao neadijabatni prijelaz između miješanih elektron-proton vibronskih stanja. U početnoj teoriji otapalo je bilo predstavljeno kao dielektrični kontinuum, a u kasnijim formulacijama uveden je eksplicitni molekularni opis otapala odnosno proteinskog okoliša. Daljnja proširenja teorije obuhvaćaju dinamičke efekte odnosno gibanja sustava donor-akceptor^{61,75} koja imaju posebnu važnost u prijelazu protona.⁵⁹ Teorija za neadijabatni PCET primijenjena je na mnoge PCET procese u otopini i enzimskim sustavima,^{15,48,76-78} a dijelovi teorije prilagođeni su i za elektrokemijski PCET.⁷⁹

PCET procesi naveliko su istraživani u reakcijama metalnih kompleksa. Kod metalnih kompleksa prilikom PCET reakcije uglavnom dolazi do promjene oksidacijskog stanja metala spregnute s protonacijom ili deprotonacijom na ligandu.⁴⁷ Mnogi od ispitivanih sustava metalnih kompleksa služe kao biomimetički modeli za biološki važne PCET reakcije u metaloenzimima.⁴⁵ U tom smislu posebno su zanimljivi kompleksi Ru,^{50,80,81} Mn,⁸¹⁻⁸⁵ Fe,^{81,83,86,87} Ni,⁸⁷ Co,^{87,88} Cu,^{87,89} Pd,⁸⁷ Re,⁸⁷ Pt,⁸⁷ Os⁸⁸ i drugih prijelaznih metala. Nezaobilazan primjer biološki važnog kompleksa je fotosustav II (PSII). Fotosustav II je kompleks sastavljen od više polipeptida, smješten u tilakoidnim membranama kloroplasta kod biljaka i algi.⁹⁰ U OEC kompleksu (*oxygen-evolving complex*) fotosustava II događa se fotooksidacija vode do kisika, pri čemu je presudna uloga Mn metalnih centara koji vežu supstratnu vodu i sudjeluju u nastanku O–O veze.⁹¹ Cijeli proces u OEC kompleksu sastoji se od niza „S stanja“ (od S₀ do S₄) poznatih kao Kokov ciklus, koja uključuju stupnjeviti gubitak ukupno 4 protona i 4 elektrona kod oksidacije vode do kisika.⁴⁵ T. J. Meyer i sur.⁹⁰ su 2007. predložili mehanizam oksidacije vode u kojem bi spregnuti prijelaz elektrona i protona (EPT) i prijelaz protona (PT) imali središnju ulogu u 3 od ukupno 4 stanja Kokovog ciklusa. MS-EPT omogućuje usklađeni prijelaz elektrona na veće udaljenosti i protona na kraće udaljenosti uz manju reakcijsku barijeru, tj. izbjegavajući međuprodukte visoke energije koji nastaju u

stupnjevitim procesima. Po uzoru na fotosustav II znanstvenici već desetljećima pokušavaju razviti kemijski sustav za umjetnu fotosintezu. Posljednjih godina interes je usmjeren na stvaranje takvog sustava koji bi koristio solarnu energiju za sintezu energijom bogatih spojeva, tzv. solarnih goriva.⁸¹

2.1.1. PCET teorija

PCET reakcije su temeljno reakcije u kojima dolazi do prijelaza nabijenih čestica – elektrona i protona u usklađenom ili stupnjevitom procesu, te u skladu s tom definicijom teorija PCET reakcija polazi od već postojećih teorija za prijelaz elektrona (Marcusova teorija)^{57,58,92} i srodnih teorija za vibracijski neadijabatni prijelaz protona.^{59,60}

Marcusova teorija prijelaza elektrona (ET) u prvom redu objašnjava bimolekularne reakcije prijelaza elektrona vanjske sfere (*outer-sphere*). To su reakcije u kojima sudjeluju dva reaktanta (elektron-donor, D_e i elektron-akceptor, A_e) koja ne dijele zajednički atom ili grupu, te je interakcija njihovih elektronskih orbitala za vrijeme prijelaza elektrona slaba ili jako slaba. U polarnome mediju reakcija prijelaza elektrona opisana je pomoću dvaju dijabatnih elektronskih stanja koja predstavljaju naboj smješten na donoru i akceptoru. Površine slobodne energije ovih dijabatnih stanja funkcije su kolektivne reakcijske koordinate otapala (z_e) koja odgovara razlici interakcijske energije reaktanata i okolnog otapala i produkata i okolnog otapala.^{58,68,92} Dijabatna elektronska stanja uobičajeno se prikazuju dvama parabolama. Reakcija prijelaza elektrona zahtijeva reorganizaciju molekula otapala iz ravnotežne reaktantske u ravnotežnu produktnu konfiguraciju. Marcus je definirao reorganizacijsku energiju λ kao zbroj dvaju doprinosa, unutarnje ili intramolekularne reorganizacijske energije λ_i povezane s vibracijama reaktanata i produkata (promjena duljine veza, promjena kutova) i vanjske ili solvatne reorganizacijske energije λ_o povezane s polarizacijskim promjenama okolnog otapala (promjena orijentacije molekula otapala), što se može izraziti relacijama:^{46,58,92}

$$\lambda = \lambda_i + \lambda_o \quad (2.1.)$$

$$\lambda_i = \sum_j \frac{f_j^r f_j^p}{f_j^r + f_j^p} (\Delta q_j)^2 \quad (2.2.)$$

$$\lambda_o = (\Delta e)^2 \left[\frac{1}{2a_1} + \frac{1}{2a_2} - \frac{1}{r} \right] \left[\frac{1}{D_{op}} - \frac{1}{D_s} \right] \quad (2.3.)$$

f_j^r – konstanta sile za j -ti normalni način vibriranja reaktanata;

f_j^p – konstanta sile za j -ti normalni način vibriranja produkata;

Δq_j – promjena ravnotežne vrijednosti j -te normalne koordinate;

Δe – naboj prenesen s jednog reaktanta na drugi;

a_1 i a_2 – radijusi (sfernih) reaktanata D i A;

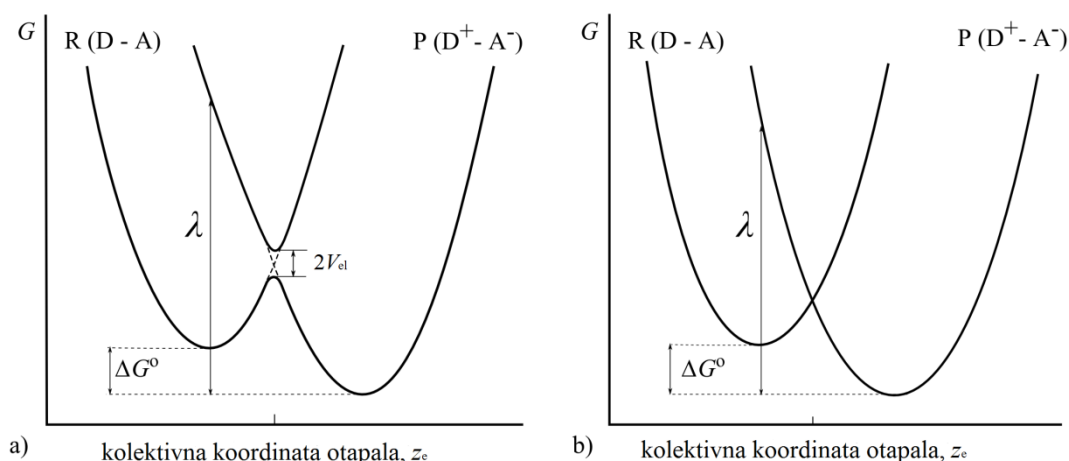
r – udaljenost između centara reaktanata;

D_{op} – optička dielektrična konstanta otapala;

D_s – statička dielektrična konstanta otapala.

Za procjenu solvatne reorganizacijske energije λ_o Marcus je pretpostavio model prema kojem su reaktanti i produkti promatrani kao sfere, a otapalo kao dielektrični kontinuum (teorija dielektričnog kontinuum).

Prijelaz elektrona može biti elektronski adijabatan i neadijabatan (slika 2.1.).^{58,93} Kod adijabatnog prijelaza, gibanje elektrona efektivno je mnogo brže od gibanja ostalih jezgara, sprezanje dijabatnih elektronskih stanja V_{el} je značajno veće od termalne energije $k_B T$ i reakcija se odvija u elektronski adijabatnom temeljnom stanju. Za neadijabatni prijelaz elektrona vrijede obrnute karakteristike, što znači da je gibanje elektrona efektivno sporije od gibanja ostalih jezgara, a sprezanje dijabatnih elektronskih stanja V_{el} značajno manje od termalne energije $k_B T$ te su u reakciju uključena i pobuđena stanja sustava.⁹³



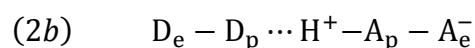
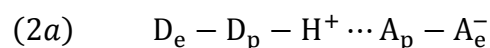
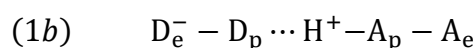
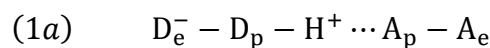
Slika 2.1. Prikaz Gibbsove energije G za reaktante R i produkte P prema kolektivnoj koordinati otapala z_e za adijabatnu (a) i neadijabatnu (b) reakciju prijelaza elektrona.

Reakcije prijelaza protona (PT) mogu se opisati na analogan način pomoću dva dijelatna protonska vibracijska stanja pri čemu jedno stanje odgovara protonu na donoru (D_p), a drugo protonu na akceptoru (A_p).⁶⁸ Prijelaz protona u polarnom otapalu može se prikazati pomoću kolektivne koordinate otapala (z_p). Tipično su PT reakcije elektronski adijabatne što znači da elektron trenutno odgovara na gibanje protona i ostalih teških jezgara i reakcija se odvija u temeljnom elektronskom stanju.⁹³ Elektronski adijabatni PT može biti vibracijski adijabatan i neadijabatan. Vibracijski adijabatni PT karakteriziran je brzim odgovorom protona na gibanje ostalih jezgara i reakcija se odvija u temeljnom vibracijskom stanju protona, dok za vibracijski neadijabatan PT vrijedi suprotno. Elektronski i vibracijski adijabatne PT reakcije odvijaju se u temeljnom elektronskom i vibracijskom stanju, pri čemu protonski potencijal može biti bez barijere, s vrlo malom barijerom koja je niža od temeljnog protonskog vibracijskog stanja ili s barijerom kojoj je temeljno protonsko vibracijsko stanje pri vrhu (slika 2.2.a). Kemijski sustavi koji podliježu ovom tipu reakcija imaju jake vodikove veze na položajima na kojima se događa prijelaz protona, a to su uglavnom $\text{OH}\cdots\text{O}$ i $\text{NH}\cdots\text{O}$ veze.⁹³ Elektronski adijabatni i vibracijski neadijabatni PT ima protonski potencijal s relativno visokom barijerom te su temeljno i prvo pobuđeno protonsko vibracijsko stanje značajno ispod razine barijere (slika 2.2.b). Ovom tipu reakcija odgovaraju kemijski sustavi sa slabim ili srednje jakim vodikovim vezama.⁹³ Izraze za konstante brzine za navedene slučajeve PT reakcija izveli su Hynes i sur.^{59,60,94} po uzoru na Marcusovu teoriju za prijelaz elektrona, a u formulaciju su uključeni i učinci gibanja sustava donora i akceptora protona.⁵⁹

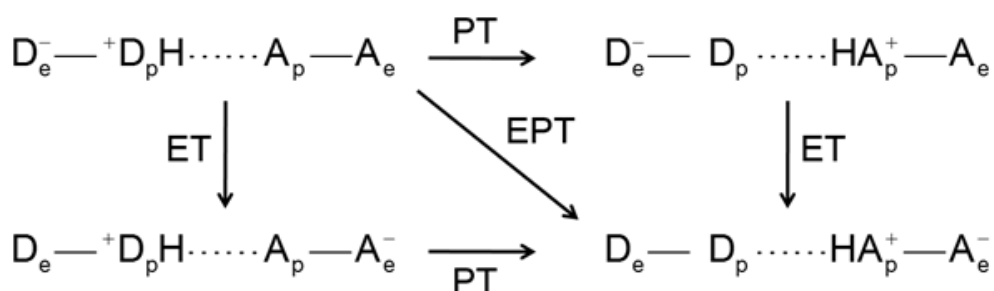


Slika 2.2. Shematski prikaz protonskih potencijala i pridruženih protonskih vibracijskih stanja (isprekidane linije). a) Elektronski i vibracijski adijabatne reakcije mogu biti bez barijere za prijelaz protona, s vrlo malom barijerom i s barijerom kojoj je temeljno protonsko vibracijsko stanje pri vrhu. b) Elektronski adijabatne i vibracijski neadijabatne reakcije imaju značajnu barijeru za prijelaz protona pa su uključena i viša protonska vibracijska stanja. Preuzeto iz reference 93.

Reakcije usklađenog prijelaza elektrona i protona (PCET u užem smislu) teorijski se opisuju pomoću podsustava elektron-proton koji se tretira kvantno-mehanički i ostalih jezgara koje se tretiraju klasično.^{61,93,95} PCET reakcija koja uključuje prijelaz jednog protona i jednog elektrona općenito se može predstaviti pomoću četiri dijabatna elektronska stanja:⁶¹



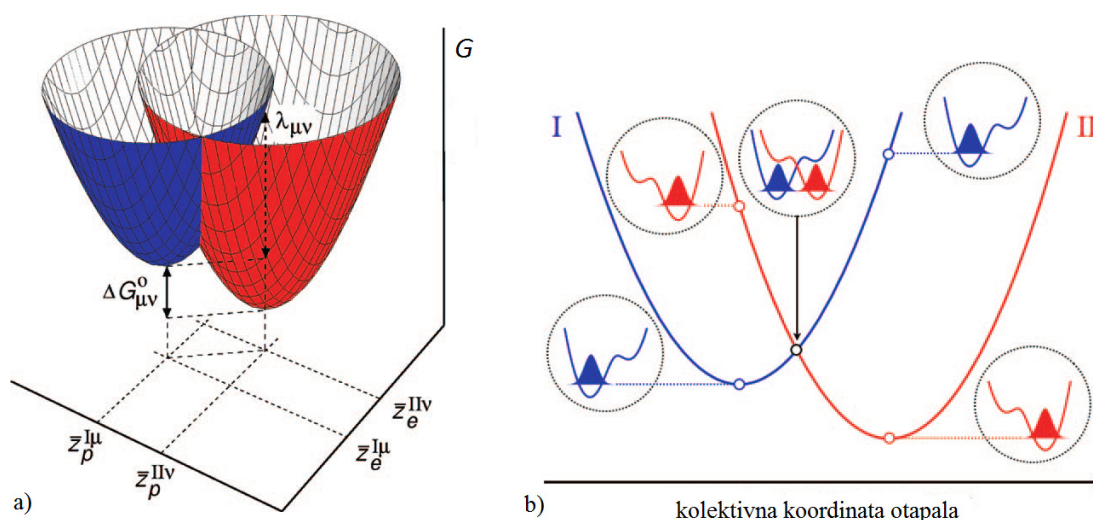
gdje 1 i 2 označavaju prijelaz elektrona, a *a* i *b* prijelaz protona. Ovaj model može opisati stupnjevite mehanizme u kojima prelazi prvo proton pa elektron ($1a \rightarrow 1b \rightarrow 2b$) ili elektron pa proton ($1a \rightarrow 2a \rightarrow 2b$), kao i usklađene mehanizme prijelaza elektrona i protona ($1a \rightarrow 2b$), što je zorno prikazano na slici 2.3. Razlika stupnjevito i usklađenog PCET mehanizma je u tome što u stupnjevitom mehanizmu postoji stabilni međuprodukt koji nastaje prijelazom jednog elektrona ili protona, a može biti termalno uravnotežen ili definiran određenim vremenom trajanja. PCET reakcija tipično je usklađeni proces kada su energije međuprodukata koji proizlaze iz pojedinačnih prijelaza elektrona ili protona značajno više od barijere za reakciju usklađenog procesa. To bi značilo da će proces biti usklađen kada su energije elektronskih dijabatnih stanja *1b* i *2a* značajno više u odnosu na energije stanja *1a* i *2b*.



Slika 2.3. Četiri dijabatna elektronska stanja u PCET teoriji. Stupnjeviti mehanizmi prate stranice pravokutnika (PT/ET ili ET/PT) dok usklađeni mehanizam (EPT) odgovara dijagonali pravokutnika. Preuzeto iz reference 44.

Za usklađeni prijelaz elektrona i protona mogu se pomoću navedena četiri dijabatna elektronska stanja definirati reaktantska stanja (I) kao smjese stanja $1a$ i $1b$ i produktna stanja (II) kao smjese stanja $2a$ i $2b$. S obzirom na kvantno-mehaničku prirodu protona, PCET reakcije mogu se predstaviti putem miješanih elektron-proton vibronskih stanja na način da se odrede protonska vibracijska stanja za elektronska stanja reaktanata (I) i produkata (II).⁶¹ Reaktantskom stanju (I) odgovara elektron smješten na elektron donoru D_e , a produktom stanju (II) elektron smješten na elektron akceptoru A_e . Protonski potencijal za reaktantsko stanje (I) biti će asimetričan s minimumom krivulje u blizini proton donora D_p , a za produktno stanje (II) minimum će biti u blizini proton akceptora A_p . Tako će i valna funkcija za temeljno vibracijsko stanje protona biti lokalizirana na donoru za reaktante, a na akceptoru za produkte. Posljedica navedene lokalizacije valnih funkcija protona je njihovo slabo prekrivanje što vodi ka sprezanju dijabatnih vibronskih stanja koje je značajno manje od termalne energije ($k_B T$), stoga su usklađene PCET reakcije u pravilu u vibronski neadijabatnom režimu i opisuju se neadijabatnim prijelazima između reaktantskih i produktnih vibronskih stanja.⁶¹

Mehanizam PCET reakcija u teoriji je objašnjen analogno Marcusovoj teoriji za prijelaz elektrona. Prijelaz naboja (elektrona i protona) potaknut je reorganizacijom okoliša odnosno molekula okolnog otapala ili proteina. Okoliš je predstavljen kao izotropni dielektrični kontinuum. Površine Gibbsove slobodne energije za reaktantska i produktna vibronska stanja ovise o dvije kolektivne koordinate otapala, z_e i z_p , koje su povezane s reorganizacijom prilikom prijelaza elektrona i protona. Svaka kolektivna koordinata otapala odgovara razlici interakcijskih energija dijabatnih stanja uključenih u reakciju prijelaza naboja i energija polarizacije otapala. Na slici 2.4.a prikazane su dvije dvodimenzijske površine Gibbsove energije koje odgovaraju reaktantskom i produktom vibronskom stanju kao funkcije dviju kolektivnih koordinata otapala z_e i z_p . Ukupna PCET reakcija je opisana nizom ovakvih površina koje odgovaraju različitim protonskim vibracijskim stanjima za određeno elektronsko stanje.



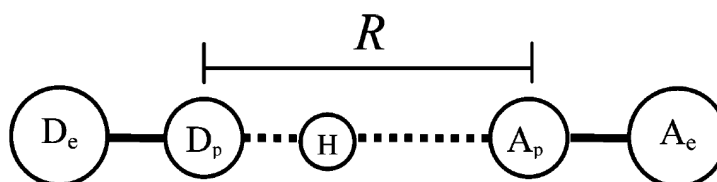
Slika 2.4. a) Dvodimenzijske površine Gibbsove energije za reaktantsko (I) i produktno (II) vibronsko stanje kao funkcije dviju kolektivnih koordinata otapala z_e i z_p . Označene su koordinate energijskih minimuma za reaktante ($z_e^{I\mu}, z_p^{I\mu}$) i produkte (z_e^{IIv}, z_p^{IIv}), reakcijska Gibbsova energija $\Delta G_{\mu\nu}^0$ i reorganizacijska energija $\lambda_{\mu\nu}$ (μ i ν su reaktantska i produktna vibronska stanja). b) Presjek površina Gibbsove energije za temeljno vibronsko stanje reaktanta (I) i produkta (II) uzduž kolektivne koordinate otapala. U krugovima su dani protonski potencijali uzduž protonske koordinate i protonske vibracijske valne funkcije temeljnog stanja. Preuzeto iz reference 61.

Tijek PCET reakcije u vibronski neadijabatnom režimu može se opisati uz pomoć prikaza na slici 2.4.b. Za određeni par vibronskih stanja, sustav je početno u termalnoj ravnoteži na reaktantskoj površini Gibbsove slobodne energije što odgovara minimumu na paraboli I, a protonska vibracijska valna funkcija lokalizirana je na donoru protona (prikazano u krugu uz minimum na paraboli I). Na račun fluktuacija u okolnom otapalu sustav napreduje do sjecišta dviju parabola gdje su vibronska stanja degenerirana tj. jednake su energije i može se dogoditi prijelaz naboja. Vjerojatnost neadijabatnog prijelaza s reaktantske površine Gibbsove energije na produktnu proporcionalna je kvadratu vibronskog sprežanja između reaktantskog i produktnog vibronskog stanja. Nakon prijelaza sustav se relaksira i termalno uravnotežuje na površini Gibbsove energije za produkte, zahvaljujući reorganizaciji okolnog otapala, a protonska vibracijska valna funkcija lokalizirana je na akceptoru protona (prikazano u krugu uz minimum na paraboli II).

Hammes-Schiffer i Soudackov⁹⁶ izveli su izraz za konstantu brzine PCET reakcije u vibronski neadijabatnom režimu koji je u najjednostavnijem obliku, za fiksnu udaljenost donora i akceptora protona, dan jednadžbom:^{44,61,68}

$$k = \sum_{\mu} P_{\mu} \sum_{\nu} \frac{|V_{el} S_{\mu\nu}|^2}{\hbar} \sqrt{\frac{\pi}{\lambda_{\mu\nu} k_B T}} \exp \left[-\frac{(\Delta G_{\mu\nu}^o + \lambda_{\mu\nu})^2}{4\lambda_{\mu\nu} k_B T} \right] \quad (2.4.)$$

u kojoj se zbrajaju sva reaktantska i produktna vibronska stanja μ i ν . P_{μ} je Boltzmannova vjerojatnost za reaktantsko stanje μ , V_{el} je elektronsko sprežanje, $S_{\mu\nu}$ je prekrivanje reaktantskih i produktnih protonskih valnih funkcija za stanja μ i ν , $\lambda_{\mu\nu}$ je reorganizacijska energija, a $\Delta G_{\mu\nu}^o$ je Gibbsova reakcijska energija za stanja μ i ν . Prekrivanje protonskih valnih funkcija $S_{\mu\nu}$ ima važnu ulogu u određivanju konstante brzine i kinetičkog izotopnog učinka (KIE) PCET reakcije. $S_{\mu\nu}$ značajno ovisi o udaljenosti donora i akceptora protona na način da je prekrivanje veće za kraće udaljenosti što vodi k povećanju konstante brzine reakcije. S obzirom na važnost navedenog, PCET teorija naknadno je proširena kako bi obuhvatila i utjecaj promjene udaljenosti proton donora i akceptora na konstantu brzine reakcije.⁷⁵ Promjena udaljenosti između proton donora i akceptora uzduž koordinate R karakterizirana je veličinama M i Ω koje predstavljaju efektivnu masu i frekvenciju sustava.



Slika 2.5. Modelni sustav za PCET reakciju s označenom udaljenošću R između donora i akceptora protona. Preuzeto iz reference 75.

Kada je energija gibanja sustava proton donora i akceptora $\hbar\Omega$ slična ili manja od termalne energije $k_B T$, može se primijeniti sljedeći izraz za konstantu brzine PCET reakcije:^{44,61,75}

$$k = \sum_{\mu} P_{\mu} \sum_{\nu} \frac{|V_{el} S_{\mu\nu}|^2}{\hbar} \exp \left[\frac{2k_B T \alpha_{\mu\nu}^2}{M\Omega^2} \right] \sqrt{\frac{\pi}{\lambda_{\mu\nu} k_B T}} \exp \left[-\frac{(\Delta G_{\mu\nu}^o + \lambda_{\mu\nu})^2}{4\lambda_{\mu\nu} k_B T} \right] \quad (2.5.)$$

U odnosu na prethodnu jednadžbu ovdje se pojavljuje dodatni eksponencijalni član $\exp[2k_B T \alpha_{\mu\nu}^2 / M\Omega^2]$ koji proizlazi iz ovisnosti vibronskog sprežanja o R koordinati. $M\Omega^2$ je konstanta sile veze koja sudjeluje u reakciji, a $\alpha_{\mu\nu}$ je parametar slabljenja koji opisuje

eksponencijalno smanjenje prekrivanja protonskih vibracijskih valnih funkcija s povećanjem udaljenosti proton donora i akceptora. Ako su reorganizacijska energija $\lambda_{\mu\nu}$ i Gibbsova reakcijska energija $\Delta G_{\mu\nu}^0$ neovisne o izotopu te se u izraz za konstantu brzine uzmu u obzir samo temeljna vibronska stanja za reaktante i produkte, dolazi se do izraza koji predviđa vrijednost i temperaturnu ovisnost KIE:^{97,98}

$$\text{KIE} \approx \frac{|S_H|^2}{|S_D|^2} \exp \left\{ \frac{2k_B T}{M\Omega^2} (\alpha_H^2 - \alpha_D^2) \right\} \quad (2.6.)$$

gdje su S_H i S_D prekrivanja valnih funkcija za H i D izotope vodika na ravnotežnoj udaljenosti proton donora i akceptora, a α_H i α_D su odgovarajući parametri slabljenja za H i D. Upravo uvođenje promjene udaljenosti proton donora i akceptora u izraz za konstantu brzine PCET procesa objašnjava temperaturnu ovisnost KIE koja je već ranije eksperimentalno uočena.^{2,26,76} Za fiksnu udaljenost proton donora i akceptora KIE će odgovarati omjeru kvadrata prekrivanja protonskih valnih funkcija:

$$\text{KIE} \approx \frac{|S_H|^2}{|S_D|^2} \quad (2.7.)$$

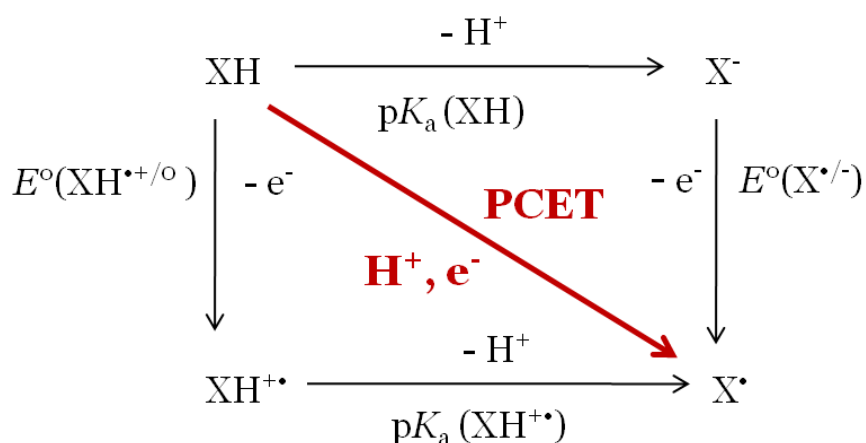
Na temelju navedenih izraza moguće je očekivati povećanje KIE s povećanjem udaljenosti proton donora i akceptora jer prekrivanje valnih funkcija za deuterij (D) opada brže s udaljenosti u odnosu na protij (H) zbog veće mase deuterija. Manje prekrivanje valnih funkcija odgovara manjoj konstanti brzine, a smanjenje će biti izraženije za deuterij pa vrijednost KIE raste.^{97,98} Ipak, ima slučajeva kada povećanje udaljenosti proton donora i akceptora vodi ka smanjenju vrijednosti KIE što može biti posljedica uključenosti pobuđenih vibronskih stanja i drugih kompleksnosti u PCET reakciji.^{17,61,98-100} KIE također ovisi o frekvenciji Ω na način da se povećava pri većim frekvencijama, ako sve druge veličine ostaju iste. Objašnjenje ovog fenomena jest da veće frekvencije ne omogućuju učinkovito probiranje manjih udaljenosti.⁹⁸

2.1.2. Termokemija PCET procesa

Termokemijska analiza prvi je korak u proučavanju nekog PCET procesa. Termokemijski opis nekog kemijskog sustava predstavlja „kartu“ u kojoj su prikazani svi reaktanti, međuprodukti i produkti, odnosno sva stanja u kojima sustav može postojati i energije koje može imati.⁴⁷ Cilj termokemijske analize je dobiti odgovor prelaze li elektron i proton u PCET procesu usklađeno – u jednom kinetičkom koraku, ili stupnjevito – u odvojenim ET i

PT koracima. Termokemijska analiza temelji se na usporedbi reakcijskih Gibbsovih energija ΔG° za usklađeni proces i za početni ET ili PT korak stupnjevito procesa. U velikom broju slučajeva postoji značajna termokemijska prednost za usklađeni prijelaz elektrona i protona jer se na taj način zaobilaze mnogi međuprodukti visoke energije koji bi nastali u prvom koraku stupnjevito mehanizma.^{47,101}

Kao predložak za termokemijsku analizu može se uzeti PCET reakcija prikazana općenitom shemom: $\text{XH} + \text{B} + \text{Y} \rightarrow \text{X} + \text{BH}^+ + \text{Y}^-$ gdje u PCET procesu elektron prelazi na oksidans Y, a proton na bazu B. Termokemijska analiza za $1\text{H}^+/1\text{e}^-$ PCET reagens XH u određenom otapalu uobičajeno se prikazuje „kvadratnom shemom“^{47,101} kao na slici 2.6. Kvadratna shema sastavljena je od horizontalnih linija koje odgovaraju prijelazu protona (PT) i okomitih linija koje odgovaraju prijelazu elektrona (ET). Horizontalne linije obilježene su pK_a vrijednostima za oksidirane i reducirane oblike odnosno za parove $\text{XH}^{+\bullet}/\text{X}^\bullet$ i XH/X^- , a okomite linije redukcijskim potencijalima protoniranog i deprotoniranog oblika $E^\circ(\text{XH}^{+\bullet}/\text{XH})$ i $E^\circ(\text{X}^\bullet/\text{X}^-)$.



Slika 2.6. Termokemijska kvadratna shema za PCET reagens XH. Horizontalne linije odgovaraju prijelazu protona (PT), okomite linije odgovaraju prijelazu elektrona (ET), a dijagonala odgovara usklađenom prijelazu elektrona i protona (PCET).

Iz odgovarajućih pK_a vrijednosti i redukcijskih potencijala može se primjenom Hessova zakona izračunati Gibbsova energija za disocijaciju veze (BDFE – *bond dissociation free energy*) za reagens XH koja bi odgovarala dijagonali kvadratne sheme tj. Gibbsovoj reakcijskoj energiji za PCET proces.^{47,102} Svi termokemijski parametri koji su u kvadratnoj

shemi mogu se lako prevesti u Gibbsovu energiju za pojedini proces prema sljedećim relacijama:

$$\Delta G_{PT}^0 = -RT \ln K_a = 2,303RT \text{ p}K_a \quad (2.8.)$$

$$\Delta G_{ET}^0 = -FE^0 \quad (2.9.)$$

Gibbsova energija za PCET proces može se izračunati kao:

$$\Delta G_{PCET}^0 = 2,303RT \text{ p}K_a(\text{XH}) + FE^0(\text{X}^{\bullet/-}) = FE^0(\text{XH}^{\bullet+/o}) + 2,303RT \text{ p}K_a(\text{XH}^{\bullet+}) \quad (2.10.)$$

Analogno Hessovom zakonu, koji uzima u obzir svojstva funkcija stanja (H , G) te kaže da je promjena entalpije neovisna o putu i unutar zatvorenog kruga iznosi 0, može se izvesti relacija prema kojoj je promjena Gibbsove energije izražena preko $\text{p}K_a$ prilikom gornje oksidacije jednaka promjeni energije izraženoj preko redoks potencijala:

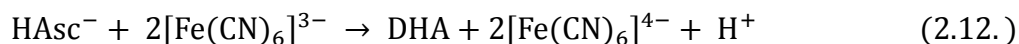
$$2,303RT [\text{p}K_a(\text{XH}^{\bullet+}) - \text{p}K_a(\text{XH})] = F[E^0(\text{X}^{\bullet/-}) - E^0(\text{XH}^{\bullet+/o})] \quad (2.11.)$$

$\text{p}K_a$ vrijednosti se za mnoge sustave mogu eksperimentalno odrediti titracijom u odnosu na pH (u vodenom mediju) ili u odnosu na standardnu bazu/kiselinu (u organskim otapalima). Redoks potencijali mogu se odrediti elektrokemijski kao srednja vrijednost anodnog i katodnog pika $E_{1/2}$ u cikličkom voltamogramu ispitivanog redoks sustava. Termodinamički parametri $\text{p}K_a$ i E^0 , kada se određuju za korištenje u kvadratnim shemama, moraju biti određeni u što sličnijim eksperimentalnim uvjetima.

Potvrda PCET mehanizma temelji se na usporedbi eksperimentalno određene barijere za ispitivanu reakciju $\Delta G^\ddagger$ i poznatih vrijednosti ΔG_{PT}^0 i ΔG_{ET}^0 za početni PT ili ET korak stupnjeviti mehanizama. Ako se utvrdi da su ΔG_{PT}^0 i ΔG_{ET}^0 veće od $\Delta G^\ddagger$, mogu se odbaciti oba stupnjevita mehanizma, čime se potvrđuje usklađeni prijelaz čestica.

2.1.3. Oksidacija askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom – PCET proces

Oksidacija askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom poznata je i već ranije istraživana reakcija³⁹⁻⁴² no tek je u novije vrijeme utvrđeno da mehanizam reakcije uključuje spregnuti prijelaz elektrona i protona u prvom reakcijskom koraku.⁴³ Askorbat (HAsc^-) reducira heksacijanoferat(III) ion pri čemu nastaju dehidroaskorbinska kiselina (DHA) i heksacijanoferat(II) ion:

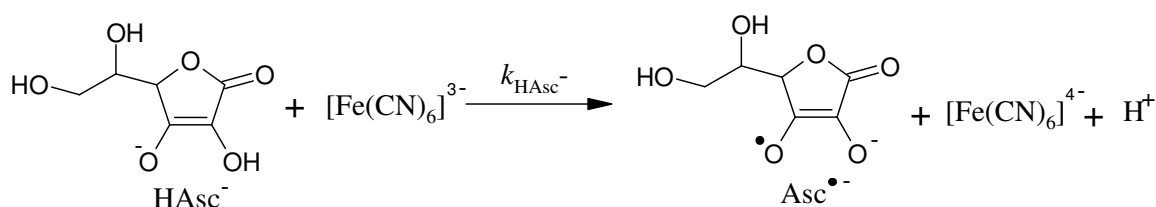


Stehiometrija ukupne reakcije je $\text{HAsc}^- : [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} = 1 : 2$, a empirijski zakon za brzinu reakcije dan je jednadžbom:³⁹⁻⁴¹

$$R = -\frac{d[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]}{dt} = 2k_{\text{HA}} [\text{HAsc}^-][\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}] \quad (2.13.)$$

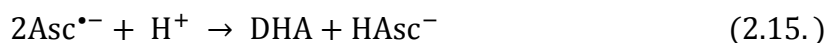
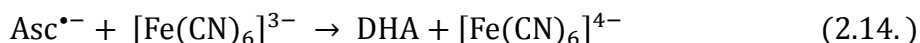
gdje je k_{HA} konstanta brzine drugog reda za navedenu reakciju.

Detaljnijom kinetičkom analizom predložen je reakcijski mehanizam koji uključuje dva stupnja reakcije.⁴³ U prvom, sporijem stupnju dolazi do usklađenog prijelaza protona i elektrona (PCET) što je prikazano na shemi 2.1. Elektron prelazi s askorbata na heksacijanoferat(III) ion, a proton prelazi s askorbatne 2-OH skupine na molekulu vode, te pritom nastaju askorbil radikal anion ($\text{Asc}^{\bullet-}$) i heksacijanoferat(II) ion.



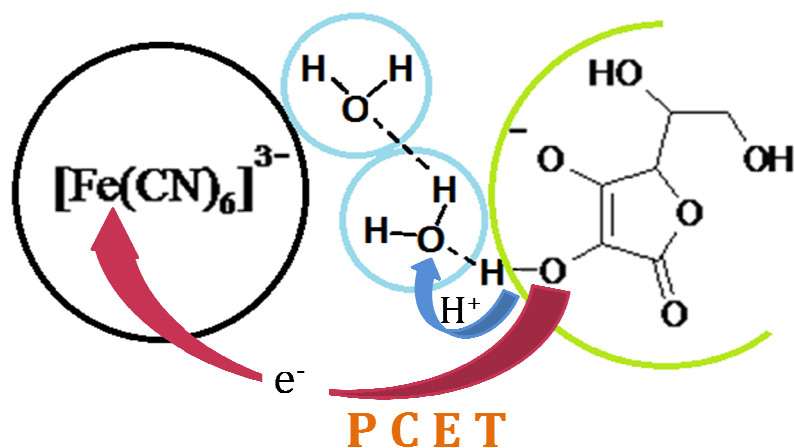
Shema 2.1. Prvi reakcijski stupanj u reakciji oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom. Preuzeto iz reference 43.

Nastali askorbil radikal anion u sljedećem, brzom stupnju reakcije, reducira drugu molekulu heksacijanoferat(III) iona³⁹⁻⁴¹ ili podliježe reakciji disproporcioniranja¹⁰³ pri čemu nastaju dehidroaskorbinska kiselina i askorbat:



Već je ranije utvrđeno da se neke reakcije askorbata odvijaju usklađenim prijelazom protona i elektrona.^{47,104-108} Potvrda usklađenog prijelaza elektrona i protona u prvom stupnju reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona dobivena je na temelju izmjerene kinetičke izotopnog učinka u reakciji (KIE) i provedene termokemijske analize (vidi u poglavlju 4.1.1.).⁴³ Ispitivanjem utjecaja Na-acetata na konstantu brzine i ovisnosti konstante brzine o množinskom udjelu D_2O u H_2O metodom pregleda protona (*proton inventory*, vidi poglavlje

2.4.5.) zaključeno je da se barem jedna molekula vode nalazi između redoks partnera HAsc^- i $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ te je predložena konfiguracija prijelaznog stanja kako je prikazano na slici 2.7.



Slika 2.7. Predložena konfiguracija prijelaznog stanja za PCET reakciju oksidacije askorbata $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ionom.

Pretpostavka da je molekula vode smještena između redoks partnera akceptor protona u skladu je s jednosmjernim PCET procesom^{49,101} gdje se oba naboja (elektron i proton) gibaju u istom smjeru što čini reakciju energetski povoljnijom (manja reorganizacijska energija λ).

2.2. Tuneliranje vodika

2.2.1. Osnovni pojmovi i činjenice važne za tuneliranje u kemijskim reakcijama

Kvantno-mehaničko tuneliranje jest fenomen prolaska čestice „kroz“ barijeru, zahvaljujući valnim svojstvima čestica, za razliku od klasičnog prijelaza „preko“ barijere.^{1,109,110} Ovaj fenomen prvotno je uočen u istraživanjima reakcija radioaktivnog raspada početkom 20. stoljeća, a njegovu važnost za pojedine kemijske reakcije prvi je pretpostavio njemački fizičar Friedrich Hund.¹¹¹ Razumijevanje fenomena tuneliranja u okviru kvantne teorije polazi od valno-čestične prirode svih tvari. Louis de Broglie postavio je teoriju o valnim svojstvima čestica izraženu sljedećom relacijom:^{1,109}

$$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{mv} \quad (2.16.)$$

gdje je h Planckova konstanta koja iznosi $6,626 \times 10^{-34}$ J s, a λ je valna duljina pridružena čestici mase m koja se giba brzinom v , odnosno čestici s količinom gibanja p . Za makroskopske sustave valne duljine su toliko male da njihova valna svojstva nisu uočljiva, stoga se ti sustavi mogu prikladno opisati primjenom klasične mehanike. Na molekularnoj razini količine gibanja su bitno manje tako da valne duljine čestica postaju značajne, a valna svojstva uočljiva. U takvim sustavima javlja se odstupanje od klasičnog ponašanja, a jedno od mogućih odstupanja jest i tuneliranje. Tuneliranje se u kemijskim reakcijama događa kada su valna duljina čestice koja tunelira i udaljenost koju čestica mora prijeći na putu od donora do akceptora istog reda veličine. De Broglieove valne duljine za čestice s kinetičkom energijom od 20 kJ mol^{-1} , koja približno odgovara visini barijere u kemijskim reakcijama, dane su u tablici 2.1. Usporedbom valnih duljina s udaljenostima u molekulskim sustavima koje su reda veličine 100 pm može se zaključivati o vjerojatnosti tuneliranja pojedine čestice. Tako se smatra da se prijelazi elektrona događaju isključivo tuneliranjem,⁵⁸ te da elektroni, zahvaljujući svojoj velikoj valnoj duljini, mogu tunelirati na relativno velikim udaljenostima koje iznose više molekulskih dijametara.¹ S druge strane, gibanje težih čestica može se dosta dobro opisati klasično-mehanički i rijetko kad je potrebno uzeti u obzir doprinos tuneliranja.

Tablica 2.1. De Broglieove valne duljine za čestice s različitom masom i kinetičkom energijom od 20 kJ/mol¹

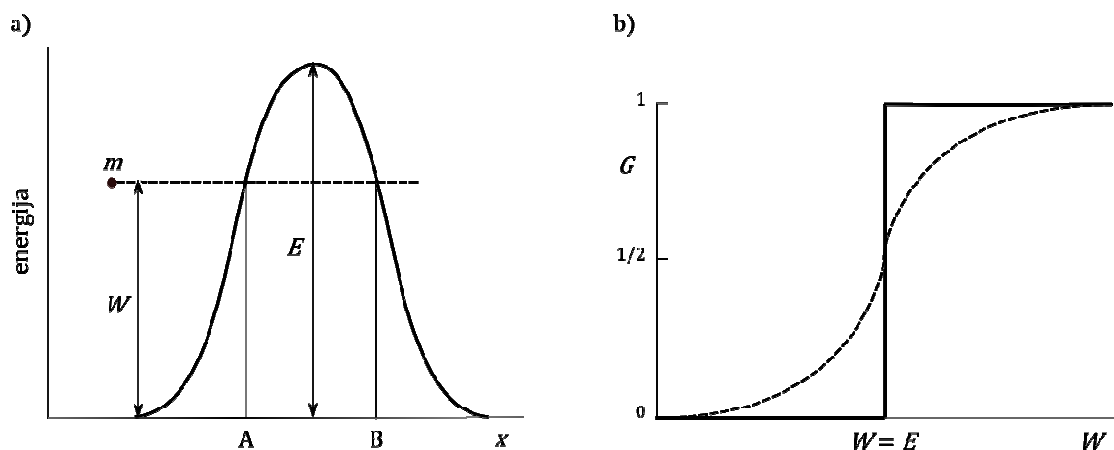
Vrsta čestice	e ⁻	H	D	T	C	Br
$m/a.j.m.^a$	1/1750	1	2	3	12	80
λ/pm	2690	63	45	36	18	7

^a atomska jedinica mase

Fenomen tuneliranja može se kvantno-mehanički protumačiti i pomoću Heisenbergovog principa neodređenosti.^{1,109} Werner Heisenberg je ustanovio da je nemoguće istovremeno odrediti položaj i količinu gibanja čestice uzduž određene osi s proizvoljnom preciznošću. Neodređenost ovih dviju veličina približno iznosi $\hbar = h/2\pi$ i dana je njihovim umnoškom (za gibanje u smjeru osi x):

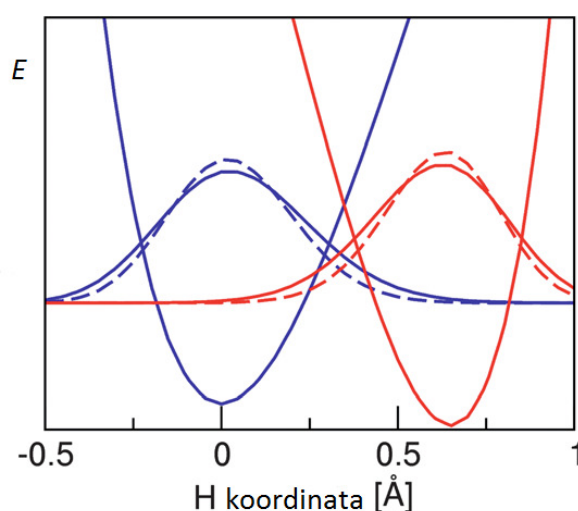
$$|\Delta x||\Delta p_x| = |\Delta x||m\Delta v_x| \approx \hbar \quad (2.17.)$$

Izvođenjem iz Heisenbergove relacije možemo zaključiti da postoji mogućnost tuneliranja za čestice čija je λ (koja je povezana s neodređenošću položaja Δx) usporediva sa širinom barijere.¹ Razlika između klasičnog i kvantno-mehaničkog pristupa fizikalno-kemijskim procesima koji uključuju barijeru¹ (tj. odgovarajuću aktivacijsku energiju za prijelaz barijere) može se predložiti dijagramima na slici 2.8.



Slika 2.8. a) Klasično-mehanički prijelaz barijere moguć je samo ako čestica mase m ima energiju $W \geq E$ (puna linija). Kvantno-mehanički čestica prolazi kroz barijeru (isprekidana linija). b) Vjerojatnost prijelaza barijere G s obzirom na ukupnu energiju čestice W . Puna linija odgovara vjerojatnosti klasičnog prijelaza, a isprekidana kvantno-mehaničkog prijelaza. Preuzeto iz reference 1.

Slika 2.8.a prikazuje česticu mase m i energije W koja se približava barijeri visine E . U kvantno-mehaničkom opisu moguć je prijelaz čestice kroz barijeru što je iz perspektive klasične mehanike neobjašnjivo, jer bi za česticu koja se nalazi na položaju između točaka A i B njena ukupna energija W bila manja od potencijalne energije, a kinetička energija bi joj bila negativna.¹ Slika 2.8.b predstavlja dijagram vjerojatnosti (ili propusnost barijere) G za određene energije čestice W . Prema zakonima klasične mehanike, prijelaz preko barijere moguć je samo u slučajevima kada je $W \geq E$ i tada je $G = 1$. Za sve vrijednosti $W < E$ vjerojatnost prijelaza G je jednaka 0. Ovakav rezultat ne ovisi o obliku i širini barijere, niti o masi čestice. U kvantno-mehaničkom opisu, svojstva barijere i svojstva čestice imaju važnu ulogu u određivanju vjerojatnosti prijelaza. Posljedica toga jest da se prijelaz čestice može dogoditi i kada je energija čestice $W < E$, ali i obrnuto, da je pri energijama $W > E$ vjerojatnost prijelaza preko barijere manja od 1.¹ Prijelazi čestica s energijom $W < E$ nisu dozvoljeni u okvirima klasične mehanike, zato ih definiramo kao kvantno-mehaničko tuneliranje čestice kroz barijeru. Granični slučaj između čestica poput elektrona i težih čestica s većim atomskim brojem čine izotopi vodika: protij (H), deuterij (D) i tricij (T). Valne duljine ovih čestica su približne dimenzijama molekula i to ih čini vrlo pogodnim modelom za istraživanje fenomena tuneliranja. Na slici 2.9. prikazano je H i D tuneliranje iz osnovnog stanja.



Slika 2.9. Tuneliranje iz osnovnog stanja za izotope vodika H i D. Krivulje potencijalne energije protona i vibracijske valne funkcije za H (puna linija) i D (isprekidana linija) za osnovno reaktantsko (plavo) i produktno (crveno) stanje. Što je veće prekrivanje vibracijskih valnih funkcija (koje predstavljaju vjerojatnost nalaženja čestice na reaktantu i produktu), to je veća vjerojatnost tuneliranja te čestice. Preuzeto iz reference 93.

Općenito, tuneliranje se događa kada se funkcija vjerojatnosti nalaženja čestice na reaktantu prekriva s funkcijom vjerojatnosti nalaženja čestice na produktu. Zbog manje mase i veće valne duljine za H izotop, neodređenost položaja i količine gibanja je veća (manje je lokaliziran) pa je i prekrivanje funkcija vjerojatnosti veće u odnosu na D izotop.

2.2.2. Tunelski korekcijski faktor Q_t – Bellov model

Bellov model promatra tuneliranje kao kvantnu korekciju koja se može primijeniti na uobičajene kinetičke teorije, u prvom redu na teoriju prijelaznog stanja.^{1,8} Ovaj relativno jednostavan i intuitivan pristup pokazao se uspješnim u opisu mnogih u to vrijeme neobjašnjivih fenomena poput neočekivano velikih kinetičkih izotopnih efekata (KIE) ili neobičnih vrijednosti Arrheniusovih parametara. Iako su u posljednjim desetljećima novija istraživanja reakcija tuneliranja u enzimima ukazala na neke nedostatnosti korekcijskih modela i dijelom promijenila pristup fenomenu tuneliranja, ipak se Bellov model još uvijek spominje u svim relevantnim radovima iz ovog područja.

Bellov pristup tuneliranju temelji se na primijeni korekcijskog faktora Q_t . Primjenom Q_t na semiklasični izraz za brzinu prijelaza čestica preko barijere dobiva se stvarna brzina prijelaza za reakciju koja uključuje tuneliranje.¹ Kao primjer možemo uzeti bimolekularnu reakciju $A + B \rightarrow P$. Zakon za brzinu ove reakcije dan je izrazom $v = kc_Ac_B$, gdje je k konstanta brzine reakcije drugog reda, a c_A i c_B su množinske koncentracije reaktanata. Konstanta brzine izražena pomoću teorije prijelaznog stanja jest:¹

$$k_s = \kappa \frac{k_B T}{h} \frac{F_{\ddagger}}{F_A F_B} e^{-\varepsilon_0/k_B T} \quad (2.18.)$$

F_A, F_B i $F_{\ddagger}$ su particijske funkcije po jediničnom volumenu za reaktante i za prijelazno stanje, a ε_0 je energija potrebna za prijelaz iz najniže rotacijske i vibracijske razine za reaktante u najnižu razinu prijelaznog stanja. κ je transmisijski koeficijent koji je uglavnom približno jednak 1. k_s označava semiklasičnu vrijednost konstante brzine reakcije koja se odnosi na reakciju bez tuneliranja. Stvarna konstanta brzine reakcije dobije se primjenom tunelske korekcije i biti će jednaka:¹

$$k = Q_t k_s = Q_t \frac{k_B T}{h} \frac{F_{\ddagger}}{F_A F_B} e^{-\varepsilon_0/k_B T} \quad (2.19.)$$

Bell je izveo korekcijski faktor Q_t za različite tipove barijere od kojih je najznačajniji onaj za paraboličnu barijeru.¹ Parabolična barijera predstavlja model za veliki broj realnih barijera budući da se svaka krivulja može barem u ograničenom dijelu aproksimirati parabolom koju opisujemo jednačinom:

$$V(x) = E - \frac{1}{2}Ax^2 \quad (2.20.)$$

sa definiranom visinom barijere E , širinom a , konstantom zakrivljenosti A i frekvencijom barijere $\nu^\ddagger$ za koje vrijede sljedeće relacije:

$$A = \frac{8E}{a^2} ; \quad \nu^\ddagger = \frac{1}{2\pi} \left(\frac{A}{m} \right)^{1/2} \quad (2.21.)$$

Frekvencija barijere $\nu^\ddagger$ je frekvencija oscilacije čestice mase m u paraboličnoj potencijalnoj jami iste zakrivljenosti A kao kod barijere. Tunelska korekcija Q_t za paraboličnu barijeru dana je izrazom:¹

$$Q_t = \frac{\pi\alpha/\beta}{\sin(\pi\alpha/\beta)} - \alpha e^\alpha \left(\frac{e^{-\beta}}{\beta - \alpha} - \frac{e^{-2\beta}}{2\beta - \alpha} + \frac{e^{-3\beta}}{3\beta - \alpha} - \dots \right) \quad (2.22.)$$

$$\alpha = \frac{E}{k_B T} ; \quad \beta = \frac{E 2\pi}{h \nu^\ddagger} \quad (2.23.)$$

U većini slučajeva od kemijskog interesa vrijednosti α i β su veće od 10, a s obzirom na njihov međudnos mogu se uvesti dvije aproksimacije.¹ Kada je $\alpha < \beta$, vrijedi da je $e^{\alpha-\beta} \ll 1$ pa je samo prvi član u izrazu za Q_t značajan i korekcijski faktor se svodi na:

$$Q_t = \frac{\pi\alpha/\beta}{\sin(\pi\alpha/\beta)} \quad (2.24.)$$

Ovaj izraz primjenjuje se za procjenu malih i umjerenih tunelskih korekcija i često se koristi u kemijskoj kinetici. Zahtijeva poznavanje samo frekvencije pri vrhu barijere $\nu^\ddagger$ i mase čestice koja tunelira. Kada je $\alpha > \beta$, vrijedi da je $e^{\alpha-\beta} \gg 1$, a izraz za tunelsku korekciju svodi se na drugi dio izraza za Q_t gdje će samo prvi član u nizu biti značajan:

$$Q_t = \frac{\alpha e^{\alpha-\beta}}{\alpha - \beta} \quad (2.25.)$$

Primjena ove jednačine nije toliko uobičajena, ali je nužna u reakcijama pri vrlo niskim temperaturama, kada je tunelska korekcija jako velika. U ovim uvjetima značajan dio reakcije odvija se pri dnu barijere pa je važno poznavati osim zakrivljenosti barijere i njenu visinu E ili širinu a . U svim ostalim slučajevima kada se navedene aproksimacije ne mogu primijeniti moraju se uzeti u obzir oba člana u izrazu za tunelsku korekciju Q_t s tim da se članovi u nizu s

$e^{-2\beta}$ i višim potencijama uglavnom mogu zanemariti. Kombiniranjem jednadžbi za A i $v^\ddagger$ s izrazom za β dobiva se sljedeća relacija:

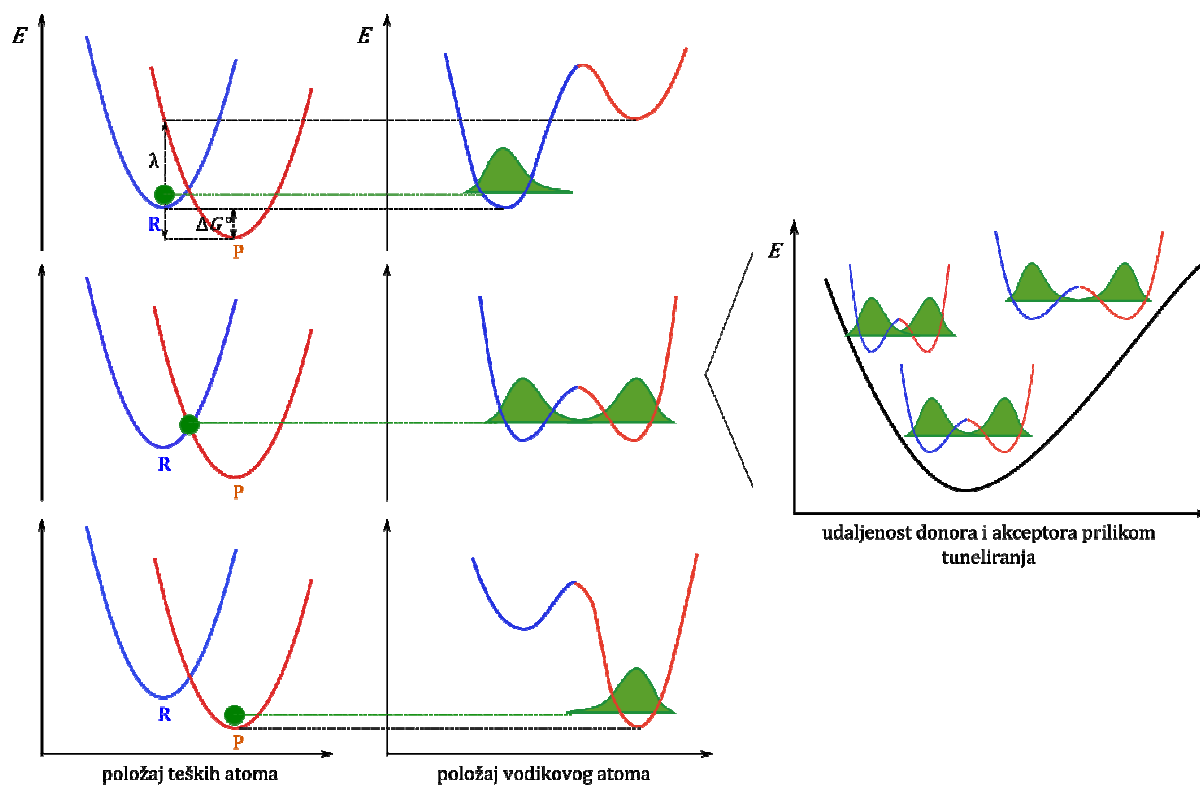
$$\beta = 2a\pi^2(2mE)^{1/2}/h \quad (2.26.)$$

Vidljivo je da će i masa čestice m i širina barijere a imati značajan utjecaj na veličinu β , odnosno na sam korekcijski faktor Q_t .¹¹⁰ Zbog toga će čestice manje mase (lakši izotopi) više tunelirati od čestica veće mase (teži izotopi), a tuneliranje će također pogodovati i manja širina barijere, odnosno manji razmak između donora i akceptora čestice koja tunelira.

2.2.3. Markusianski („Marcus-like“) modeli tuneliranja

Reakcije tuneliranja vodika u enzimski kataliziranim reakcijama prijenosa protona, vodikova atoma ili hidrida opsežno su istraživane u posljednja tri desetljeća. Bellov model koji se svodi na korekciju semiklasične teorije prijelaznog stanja (TST) s vremenom se pokazao neprikladnim za tumačenje nekih eksperimentalno zapaženih fenomena u reakcijama tuneliranja vodika u istraživanim enzimatskim sustavima.^{2-4,8-10,26,76,77,112-116} Novi, adekvatniji modeli koji će obuhvatiti i dotad neobjašnjene rezultate dobrim dijelom se temelje na Marcusovoj teoriji prijelaza elektrona⁵⁸ pa se u skladu s tim nazivaju markusianski („Marcus-like“) modeli tuneliranja.^{4-6,8,76,115,117} Zajedničko ovim modelima jest to što se odvojeno promatraju gibanja lakih čestica (izotopa vodika) i teških čestica (atoma iz proteinskog okoliša ili otapala) (vidi sliku 2.10.), a prijelaz vodika u potpunosti se tumači kao kvantno-mehanički događaj tuneliranja koji je moduliran tj. spregnut s gibanjima okolnih atoma.^{4-6,8,76,115,117} U skladu s Marcusovom teorijom, za prijelaz čestice potrebna je prolazna degeneracija energetske razine donora i akceptora vodika koja se događa pod utjecajem reorganizacije okoliša. Pritom dolazi do prekrivanja valnih funkcija donora i akceptora, a s obzirom na znatno manju valnu duljinu vodika u odnosu na elektron, od presudne će važnosti za prijelaz biti i međusobna udaljenost donora i akceptora koju čestica mora prijeći.^{4-6,8,76} Predodžba markusianskog modela tuneliranja dana je na slici 2.10. Na dijagramima lijevo prikazane su krivulje potencijalne energije teških jezgara za reaktante i produkte (tzv. Marcusove parabole), a dijagrami u sredini prikazuju položaj vodikovog atoma čija je koordinata ortogonalna u odnosu na koordinate teških atoma. Reorganizacijom položaja teških atoma dolazi do degeneracije energetske razine za atom vodika do stanja sustava spremnog za tuneliranje (*tunnelling-ready state*, TRS) i tada je vjerojatnost njegova nalaženja jednaka za reaktant i produkt. Daljnji pomak teških atoma vodi lokalizaciji vodika na

produktu. U konfiguraciji pogodnoj za tuneliranje veliku ulogu ima probiranje (*sampling*) optimalne udaljenosti između donora i akceptora, što utječe na vjerojatnost tuneliranja.



Slika 2.10. Prikaz markusianskog („Marcus-like“) modela za tuneliranje vodika. S R i P označene su krivulje potencijalne energije za konfiguracije teških atoma reaktanata (plavo) i produkata (crveno), λ je Marcusova reorganizacijska energija, a ΔG° je standardna reakcijska Gibbsova energija. Na srednjim dijagramima (okomito) su odgovarajući položaji atoma vodika, a zelenim površinama prikazane su vjerojatnosti nalaženja atoma vodika s obzirom na konfiguraciju okoliša. Na dijagramu desno prikazane su različite udaljenosti donora i akceptora vodika u stanju spremnom za tuneliranje (*tunnelling-ready state*, TRS) s odgovarajućim vjerojatnostima tuneliranja. Preuzeto iz reference 8.

2.2.4. Konstanta brzine tuneliranja vodika u markusianskom modelu i promotivne vibracije

Jedan od izraza za konstantu brzine tuneliranja vodika u okviru markusianskog modela izveden je na temelju rada teoretičara Kuznetsova i Ulstrup,¹¹³ a uspješno je primijenjen za obradu kinetičkih podataka tuneliranja vodika iz C-H veze kod enzima sojine lipoksigenaze (SLO-1) i njenih mutanata^{4,76} kao i u drugim enzimskim sustavima.^{9,12,116,118}

Za reakciju prijelaza iz osnovnog vibracijskog stanja reaktanata, reakcijska barijera $\Delta G^\ddagger$, prema Marcusovoj teoriji ovisi o dva parametra, standardnoj reakcijskoj Gibbsovoj energiji ΔG° i reorganizacijskoj energiji λ , prema izrazu:^{4,58,76}

$$\Delta G^\ddagger = \frac{(\lambda + \Delta G^\circ)^2}{4\lambda} \quad (2.27.)$$

Marcusova reorganizacijska energija λ je energija potrebna da se reorganizira nuklearna konfiguracija sustava od ravnotežne konfiguracije do one prijelaznog stanja.⁴⁹ Vjerojatnost tuneliranja vodika dana je Franck–Condonovim faktorom (F.C.term)^{4,76} prekrivanja valnih funkcija početnog i konačnog stanja vodika, a za osnovni vibracijski prijelaz $v = 0 \rightarrow w = 0$ (gdje je v vibracijski kvantni broj za reaktante, a w za produkte) vrijedi:

$$\text{F. C. term}_{0,0} = \exp \left[-\frac{m_H \omega_H \Delta r^2}{2\hbar} \right] \quad (2.28.)$$

Iz izraza za F.C.term vidljivo je da će prekrivanje valnih funkcija ovisiti o masi čestice (m_H ili m_D), frekvenciji veze koja sudjeluje u reakciji (ω_H ili ω_D) i udaljenosti preko koje čestica tunelira (Δr). U slučaju kada vibracije okoliša mijenjaju udaljenost tuneliranja (probiranje ili *gating*, *sampling*), integriranjem prekrivenosti valnih funkcija s obzirom na sve moguće udaljenosti donora i akceptora dobiva se složeniji izraz:

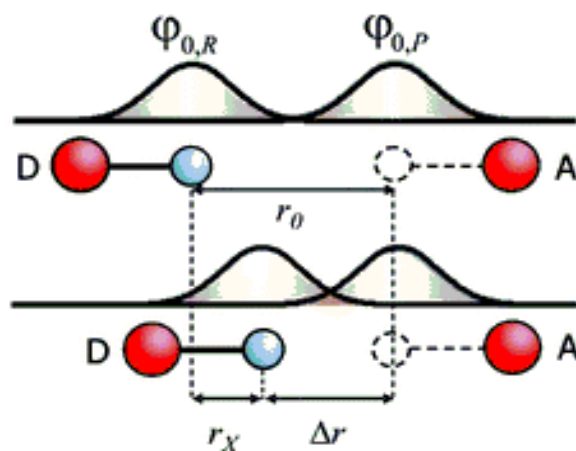
$$(\text{F. C. term}_{0,0})^{\text{gating}} = \int_{r_X}^{r_0} \exp \left[-\frac{m_H \omega_H \Delta r^2}{2\hbar} \right] \exp \left[-\frac{E_X}{k_B T} \right] dX \quad (2.29.)$$

Energija E_X koja je potrebna za promjenu udaljenosti donora i akceptora iznosi $\frac{1}{2} \hbar \omega_X X^2$, gdje je X tzv. koordinata probiranja definirana relacijom $X = r_X \sqrt{m_X \omega_X / \hbar}$, a r_X , m_X i ω_X su pomak, frekvencija i masa oscilirajućeg okoliša. Probiranjem se mijenja udaljenost tuneliranja od ravnotežne (r_0) na neku kraću udaljenost (r_X) i na taj način se modulira barijera za prijelaz vodika (slika 2.11.). Uz pretpostavku da se razmak donora i akceptora smanjuje linearno, udaljenost pri kojoj se događa tuneliranje Δr jednaka je razlici ravnotežne udaljenosti i pomaka probiranja ($r_0 - r_X$). Konstanta brzine tuneliranja vodika k_{tun} kada se uzmu u obzir navedene relacije poprima sljedeći oblik:⁷⁶

$$k_{\text{tun}} = \sum_v P_v \sum_w \frac{1}{2\pi} |V_{\text{el}}|^2 \sqrt{\frac{4\pi^3}{\lambda R T \hbar^2}} \exp \left[-\frac{(\Delta G^\circ + E_{\text{vib}} + \lambda)^2}{4\lambda R T} \right] \times (\text{F. C. term}_{v,w}) \quad (2.30.)$$

v i w su vibracijski kvantni brojevi za reaktante odnosno produkte, P_v je Boltzmannova napučenost v -te razine reaktantskog vibracijskog stanja, $|V_{\text{el}}|^2$ je prekrivanje elektronskih

valnih funkcija, a E_{vib} je razlika vibracijskih energija produkata i reaktanata. Ostali simboli imaju svoje uobičajeno značenje.



Slika 2.11. Učinak probiranja (promotivnih vibracija) na udaljenost donora i akceptora protona. Donor i akceptor su označeni crvenim, a proton plavim krugovima. Isprekidanim linijama označen je proton na akseptoru. $\Phi_{0,R}$ i $\Phi_{0,P}$ su protonske valne funkcije temeljnog stanja za reaktant i produkt. U konfiguraciji spremnoj za tuneliranje r_0 je ravnotežna udaljenost D i A preko koje proton tunelira. Promotivna vibracija smanjuje udaljenost tuneliranja za r_X pa će udaljenost tuneliranja biti Δr , što povećava prekrivanje protonskih valnih funkcija reaktanta i produkta. Preuzeto iz reference 26.

Analizom jednadžbe za konstantu brzine tuneliranja vodika i prethodnih izraza za Marcusov i F.C.term mogu se dobiti važne informacije o čimbenicima okoliša koji utječu na tuneliranje vodika. F.C.term bez uključenog probiranja predstavlja statički model tuneliranja⁴ koji je neovisan o temperaturi, ali sadrži utjecaj mase izotopa i početne udaljenosti donora i akceptora na veličinu izotopnog učinka. U slučajevima kada se tuneliranje događa pri malim početnim udaljenostima donora i akceptora, oba izotopa imati će veliku vjerojatnost tuneliranja pa će izotopni učinak biti manji, dok će pri većim udaljenostima lakši izotop (H) imati veću vjerojatnost tuneliranja, a teži izotop (D) će zbog manje valne duljine i slabijeg prekrivanja valnih funkcija imati manju vjerojatnost tuneliranja, pa će izotopni učinak biti veći. Za temperaturnu ovisnost izotopnog učinka⁴ ključni su Marcusov izraz za $\Delta G^\ddagger$ i integral u izrazu za F.C.term s uključenim probiranjem koji odražava promjene vjerojatnosti tuneliranja s obzirom na promjene udaljenosti donora i akceptora izazvane probiranjem. Ako je udaljenost za tuneliranje optimalna, vjerojatnost tuneliranja i ovisnost tuneliranja o temperaturi biti će približno iste za oba izotopa, pa će izotopni učinak biti temperaturno

neovisan. Kod manje optimalnih početnih udaljenosti donora i akceptora važnu će ulogu imati okolišem spregnuto probiranje udaljenosti tuneliranja, a temperaturna će ovisnost za lakši i teži izotop biti različita što će imati za posljedicu i temperaturno ovisan izotopni učinak.

Probiranje (*gating*) se kod drugih autora povezuje sa smanjenjem (kompresijom) širine barijere (kako one za tuneliranje, tako i širine barijere koja uključuje prijelaz preko barijere), do kojega dolazi zbog oscilacije udaljenosti donora i akceptora vodika (*donor-acceptor distance*, DAD). Pritom treba napomenuti da je širina barijere od veće važnosti za tuneliranje (vjerojatnost tuneliranja više ovisi o širini nego o visini barijere za dani slučaj), dok je za prijelaz preko barijere (aktivacijski režim reakcije) važna visina barijere. Oscilacija razmaka između donora i akceptora, povezana s okolišem (protein kod enzima ili otapalo kod homogenih sustava kondenzirane tekuće faze) odatle, naziva se još i kompresivni mod (*compressive mode*) ili promotivna vibracija (*promoting vibration*).^{9,12-14,21-26,116,118} Fundamentalna pretpostavka pritom je da je kompresivna vibracija, spregnuta s vibracijom okoliša, također spregnuta s reakcijskom koordinatom za prijelaz vodika (hidrida). Ta je pretpostavka predmet žustre debate godinama. Druga koncepcija uloge oscilacije (udaljenosti) donora i akceptora vodika u procesu (oscilacije DAD) polazi od ideje da postoji konformacijska dinamika (napose kod enzima) koja onda omogućuje probiranje (*sampling*) konfiguracija pogodnih za tuneliranje. Konformacijska dinamika enzima (na različitim vremenskim razinama, „konformacijski prostor“ ili „konformacijski pejzaž“, što onda uključuje i određene razdiobe glede slobodne energije danog sustava) danas je neupitno utvrđena činjenica. S druge strane, promotivne vibracije podrazumijevaju brza gibanja na vremenskoj skali femto do pikosekunde, a zajedno sa sporijim gibanjima ubrajaju se u dinamičke efekte enzimskog sustava.^{13,14} U enzimatici je još uvijek neriješeno pitanje kakav doprinos u enzimski kataliziranoj reakciji imaju tuneliranje vodika i brza gibanja napose pretpostavljene promotivne vibracije.^{13,14,22} Kao što je već spomenuto, promotivne vibracije su vibracijski spregnute s reakcijskom koordinatom tijekom napredovanja sustava od reaktanata k prijelaznom stanju ili konfiguraciji spremnoj za tuneliranje (*tunnelling-ready configuration*, TRC) i povezane su s kratkotrajnim sabijanjem (kompresijom) reakcijske barijere tj. s promjenom širine/visine barijere.^{12,13,21,22} Brzina kemijske reakcije povezana je sa širinom i visinom reakcijske barijere, te se smanjenjem visine barijere ubrzava reakcija klasičnim prijelazom „preko barijere“ (*over-the-barrier*) dok se smanjenjem širine barijere u pravilu ubrzava tuneliranje kroz barijeru (*through barrier*).¹¹ Kompresija barijere može

dovesti do smanjenja i širine i visine barijere te tako povećati vjerojatnost za oba reakcijska kanala.¹¹ Promjeni širine barijere odgovara promjena udaljenosti između donora i akceptora.¹³ Iako direktna eksperimentalna potvrda promotivnih vibracija još uvijek nedostaje zbog ograničenja vibracijske spektroskopije u THz području, eksperimentalno utvrđena temperaturna ovisnost primarnog kinetičkog izotopnog učinka smatra se glavnim pokazateljem za prisutnost promotivnih vibracija u sustavu.¹²⁻¹⁴ Jedna od važnijih potvrda djelovanja promotivnih vibracija dobivena je usporedbom temperaturne ovisnosti KIE između „lakog“ (^1H , ^{12}C , ^{14}N) i „teškog“ (^2H , ^{13}C , ^{15}N) enzima pentaeritritol tetranitrat reduktaze (PETNR).¹⁴ PETNR katalizira reakciju prijelaza hidrida s NADPH i NADH koenzima na flavin mononukleotid (FMN) kofaktor, gdje je za reakciju s NADPH već ranije potvrđena temperaturna ovisnost KIE.¹¹⁹ Koliko je poznato, izotopna zamjena atoma H, C i N ne dovodi do promjene strukture i geometrije, ali mijenja načine vibracije odnosno frekvencije vibracija kod enzima. Eksperiment je pokazao značajnu razliku u temperaturnoj ovisnosti KIE za reakciju prijelaza hidrida kataliziranu enzimom PETNR u slučaju „lakog“ i „teškog“ enzima što govori u prilog povezanosti različitih vibracijskih načina gibanja proteina tj. promotivnih vibracija i temperaturne ovisnosti KIE.¹⁴ U prilog djelovanju promotivnih vibracija govore i ovisnosti KIE o tlaku dobivene primjenom hidrostatskog tlaka (u području 1 bar – 2 kbar) na nekim enzimskim sustavima,^{9,120} kao i u modelnim sustavima u otopinama.²¹ Smanjenjem udaljenosti donora i akceptora odnosno kompresijom barijere, suprotno uobičajenom, može doći i do porasta KIE.¹² To se objašnjava povećanjem konstante sile k_X kompresivnog moda ($k_X = m_X \omega_X^2$) što je povezano s povećanjem frekvencije pri manjim D – A udaljenostima.^{9,12} Učinci smanjenja KIE zbog povećanja konstante brzine k reakcije pri manjim D – A udaljenostima i povećanja KIE zbog povećanja konstante sile k_X mogu se dobrim dijelom poništavati što u konačnici dovodi do približno konstantne vrijednosti KIE.¹² Markusianski model tuneliranja primijenjen je i na intramolekulske reakcije spregnutog prijelaza protona i elektrona (PCET) u $\text{Ru}(\text{bpy})_3$ -fenol kompleksima te je pokazano da su promotivne vibracije koje mijenjaju udaljenost donora i akceptora važne za tuneliranje protona i u modelnim sustavima u otopinama gdje presudnu ulogu imaju vodikove veze.²⁶ Reakcija oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom također je primjer reakcije koja uključuje tuneliranje, a s obzirom na ovisnost KIE o temperaturi na koju se može utjecati promjenom sastava medija^{121,122} predstavlja dobar model za tuneliranje i promotivne vibracije u povezanim enzimskim sustavima.²¹

2.3. Dinamika vode

Unatoč jednostavnosti molekularne strukture i činjenici da je jedna od najmanjih molekula, voda posjeduje nevjerojatna svojstva koja je čine jedinstvenom. Iako je među najproučavanijim tvarima, znanstvenici još uvijek nisu pronašli odgovarajući model koji bi obuhvatio sva svojstva vode.^{31,123} Voda ima čak 73 anomalije koje se dijelom objašnjavaju postojanjem intermolekularnih vodikovih veza.^{31,124} Anomalan karakter vode očituje se u onim svojstvima vode u kojima se ona ponaša značajno drugačije od ostalih tekućina.^{28,31} Neočekivano visoke temperature tališta i vrelišta, povećanje volumena (smanjenje gustoće) prilikom smrzavanja, neočekivano visoka viskoznost i površinska napetost samo su neke od poznatijih anomalija vode. Život na Zemlji ovisi o vodi, zato ne začuđuje da su ljudi oduvijek fascinirani vodom. Rane civilizacije smatrale su vodu bitnim dijelom njihovih religija, a stari Grci uvrstili su je kao jedan od 4 elemenata od kojih je svijet sastavljen.

Londonski znanstvenik Henry Cavendish otkrio je da voda nastaje reakcijom vodika i kisika, a potom je 1781. godine odredio i sastav vode (vodik i kisik u omjeru 2:1). Latimer i Rodebush su 1920. godine na temelju Lewisove teorije, predložili postojanje vodikove veze među molekulama vode.¹²⁵ Ideju vodikove veze vrlo je rano prihvatio i o njoj pisao Linus Pauling (Nobelova nagrada za kemiju 1954., Nobelova nagrada za mir 1962.) u svojoj knjizi *The Nature of the Chemical Bond*.¹²⁶ Tijekom 20. stoljeća mnogi su se zapaženi fenomeni koji proizlaze iz interakcije vode s različitim otopljenim tvarima, ionima, organskim otapalima, proteinima i nukleinskim kiselinama pokušali objasniti. 1945. godine Frank i Evans su opisali utjecaj hidrofobnih skupina na okolne molekule vode na način da hidrofob mijenja strukturu vode u smjeru povećane „kristaliničnosti“ odnosno da voda gradi „mikroskopski ledeni brijeg“ oko hidrofoba (*iceberg model*).¹²⁷ Učinak „strukturiranja“ vode veći je u blizini većeg hidrofoba, a fenomen se objašnjava smanjenjem entropije sustava tj. povećanom uređenosti sustava. Watson i Crick su 1953. godine, prilikom utvrđivanja strukture deoksiribonukleinske kiseline (DNA) naglasili važnost hidratacije za konformaciju dvostruke uzvojnice.¹²⁸ Kauzmann 1959. godine uvodi koncept „hidrofobnosti“ kako bi objasnio slaganje polipeptidnih lanaca u stabilnu konformaciju nativnog proteina.¹²⁹ Ling je eksperimentalno utvrdio da gotovo sva voda u stanicama postoji u obliku polariziranih slojeva orijentiranih prema površini staničnih proteina te stoga pokazuje drugačija svojstva od „normalne“ tekuće vode.¹³⁰ Narten i sur.¹³¹ su 1967. godine kompletirali rendgensku difrakcijsku studiju tekuće vode i razvili model za strukturu vode koji je u skladu s rezultatima difrakcijskih mjerenja.

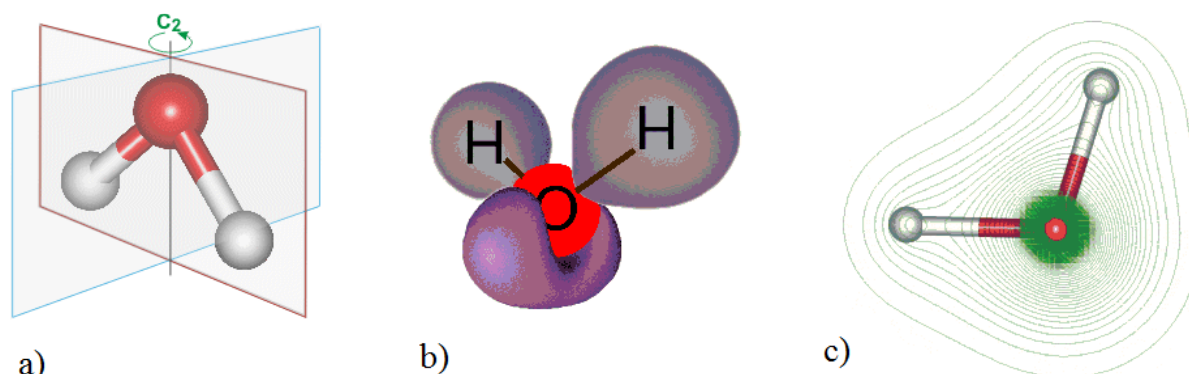
Difrakcijska mjerenja dala su podatke o prosječnom rasporedu atoma oko izabranog atoma kisika. Na temelju podataka određena je radijalna distribucijska funkcija za vodu koja predstavlja raspodjelu gustoće atoma (broj atoma po jedinici volumena, $\rho = N/V$) s obzirom na ishodišni atom. Rahman i Stilinger su 1971. opisali prvu molekularno-dinamičku studiju tekuće vode.¹³² Rezultati studije dali su sljedeće zaključke: a) struktura tekuće vode sastoji se od vrlo napregnute/deformirane mreže molekula povezanih vodikovih vezama koja nema puno sličnosti s kristalnom strukturom vode (ledom); b) difuzijski proces odvija se kontinuirano putem kooperativne interakcije susjednih molekula. Vodikove veze među susjednim molekulama stalno su podvrgnute određenom stupnju deformacije zbog nasumičnog gibanja molekula. Kad dođe do prenapregnutosti veze molekula vode se reorijentira prema drugoj molekuli koja je u povoljnijem položaju za vodikovu vezu.

Na temelju brojnih studija i računalnih simulacija u posljednjim desetljećima predložen je velik broj modela koji bi trebali dati zadovoljavajući opis svojstava vode i razjasniti njenu strukturu. Do sada nije pronađen model koji bi u potpunosti odgovarao svrsi, a oko mnogih pitanja postoje prijepori. Primjena nekih vrlo učestalih računalnih simulacija je kritizirana,¹³³ a nedostatak je i što mnoge eksperimentalne kao i teorijske tehnike nisu u mogućnosti opaziti nakupine (*clusters*, „grozdovi“) molekula vode te samo opisuju kratkotrajni okoliš oko pojedine molekule.³⁰ Chaplin je 2000. predložio model za strukturu vode u kojem su molekule vode povezane mrežom vodikovih veza u nakupine koji mogu poprimiti dvije forme, s većom i manjom gustoćom bez pucanja vodikovih veza.³¹ Nakupine molekula imaju ikosaedarsku strukturu, te pentamernu i heksamernu substrukturu i sadrže šupljine u koje se mogu uklopiti otopljene tvari. Model može objasniti anomalna svojstva vode i dobro se slaže s radijalnim distribucijskim funkcijama.

2.3.1. Vodikove veze i mehanizam reorijentacije vode

Vodikove veze među molekulama vode posljedica su same strukture molekula vode. Molekula vode je mala elektroneutralna molekula, s molekulskom formulom H_2O i molekulskim dijametrom oko 2,75 Å. Dva atoma vodika vezana su kovalentnom vezom na atom kisika tvoreći molekulu u obliku slova V. Molekula vode ima dvije ravnine simetrije i glavnu rotacijsku os, te pripada grupi točke C_{2v} (slika 2.12.a). S obzirom na 8 protona u jezgri, atom kisika jače privlači elektrone u molekuli vode te ima parcijalno negativan naboj, dok atomi vodika imaju parcijalno pozitivan naboj. Budući da centri pozitivnog i negativnog

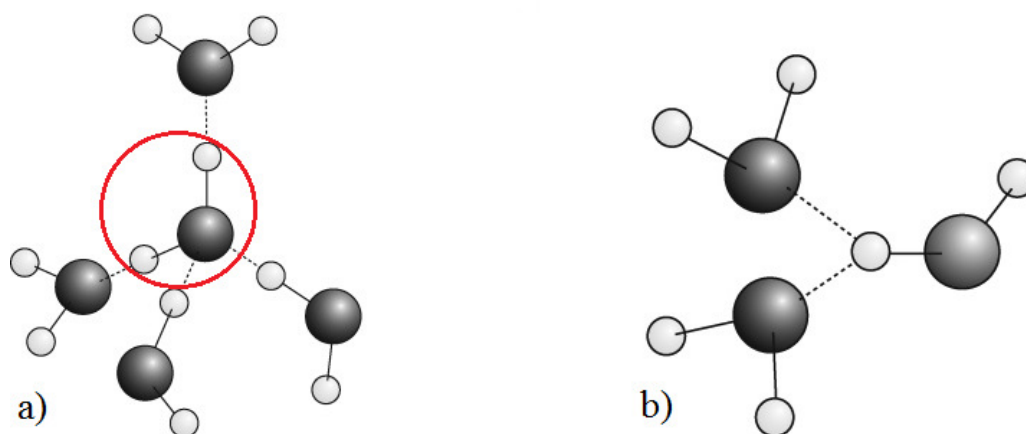
naboja leže na različitim mjestima u molekuli, voda ima dipolni moment i polarna je. Dva slobodna elektronska para molekule vode nisu „tetraedarski“ raspoređena u odnosu na kovalentne veze vodika i kisika nego su razmazana i bliža centru negativnog naboja na kisiku (slika 2.12.b i c).



Slika 2.12. a) Simetrije molekule vode. b) Razmazani negativni naboj dvaju slobodnih elektronskih parova. c) Elektronska gustoća značajno je veća oko atoma kisika. Preuzeto iz reference 134.

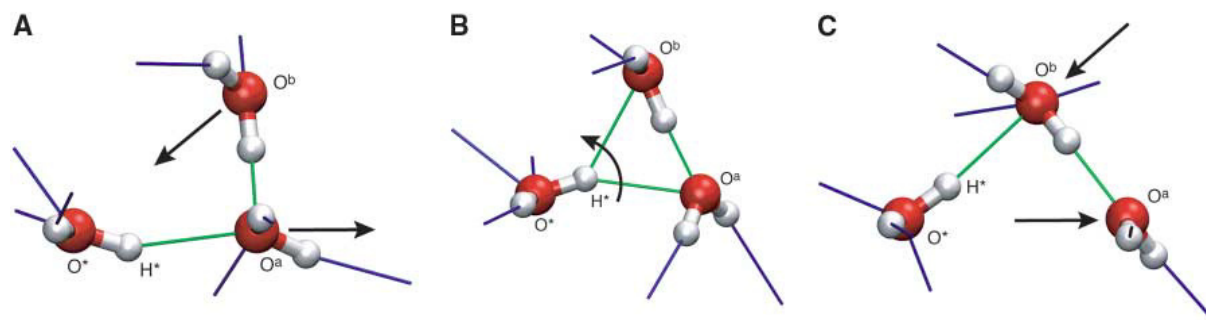
Vodikova veza nastaje kad atom kisika jedne molekule vode privuče vodikov atom susjedne molekule. Ta privlačna sila temelj je za stvaranje vodikove veze i najjača je kada su tri atoma koja sudjeluju u vodikovoj vezi $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ linearno postavljena i kada je udaljenost kisikovih atoma manja od 0,3 nm.¹³⁴ To znači da vodikov atom „sjedi“ otprilike na polovici udaljenosti između dva kisikova atoma, što se može zaključiti iz radijalne distribucijske funkcije za atome kisika u vodi.²⁷ Vodikova veza je slaba veza i nikada ne prelazi dvadesetinu jakosti $\text{O}-\text{H}$ kovalentne veze.¹³⁴ Ipak, dovoljno je jaka da izdrži termalne fluktuacije pri sobnoj i nižim temperaturama. Svaka molekula vode može formirati ukupno 4 vodikove veze – dvije preko svojih kovalentno vezanih vodika i dvije preko slobodnih elektronskih parova na kisiku koji privlači vodike susjednih molekula vode. Ove četiri vodikove veze optimalno se raspoređuju tetraedarski oko svake molekule vode (slika 2.13.a) i čine strukturu kakva se uobičajeno nalazi u ledu. Termalna gibanja u tekućoj vodi dovode do istezanja i svijanja te do pucanja i ponovnog uspostavljanja vodikovih veza, no ipak je u prosjeku zadržana tetraedarska struktura. S obzirom na mobilnost molekula u vodi, smatra se da nisu nužno sva 4 mjesta za vodikovu vezu popunjena. Rezultati neutronske raspršenja i računalnih simulacija pokazuju da u prosjeku svaka molekula vode ima 3,5 uspostavljenih vodikovih veza.²⁷ U čistoj tekućoj

vodi vodikova veza prosječno traje oko 1 ps, što znači da je mreža vodikovih veza zapravo dinamička struktura koja se na razini pikosekunde mijenja. U mreži vodikovih veza nastaju defekti zbog tzv. klimavih (*dangling*) OH veza koje vrlo brzo (< 200 fs) pucaju i trenutno se ponovno uspostavljaju.^{27,135}



Slika 2.13. a) Molekule vode su povezane mrežom vodikovih veza tako da pet molekula vode čini osnovnu strukturnu podjedinicu s molekulama raspoređenim u tetraedarskoj geometriji. b) Račvasta (*bifurcated*) vodikova veza je defekt u mreži vodikovih veza, a nastaje kada se jedan vodikov atom poveže sa dva kisika. Preuzeto iz reference 27.

Još jedan od defekata koji se događaju u mreži vodikovih veza jest račvasta (*bifurcated*) vodikova veza koja nastaje kad se pojavi peta molekula vode u tetraedarski uređenoj prvoj koordinacijskoj ljusci neke molekule vode.^{32,136,137} Peta molekula vode povezuje se sa središnjom molekulom vode dodatnom vodikovom vezom preko atoma koji već ima na sebi jednu vodikovu vezu (slika 2.13.b). Računalne simulacije pokazale su da nastanak račvaste vodikove veze predstavlja energetski povoljniji put između dvaju različitih tetraedarskih uređenja mreže vodikovih veza.¹³⁶ Laage i Hynes su 2006. godine predložili mehanizam reorijentacije vode koji je utemeljen na usklađenom pucanju i formiranju vodikovih veza ulaskom pete molekule vode u prvu koordinacijsku ljusku i stvaranjem račvaste vodikove veze (slika 2.14.).¹³⁷ Mehanizam reorijentacije vode odvija se putem nagle velike promjene kuta odnosno rotacije molekule (*large-amplitude angular jump*), a cijeli se proces događa na razini pikosekunde. Predloženi mehanizam naknadno je eksperimentalno potvrđen u vodi analizom spektra kvazi-elastičnog raspršenja neutrona (*quasi-elastic neutron scattering*) i 2D IR spektra vode.³²

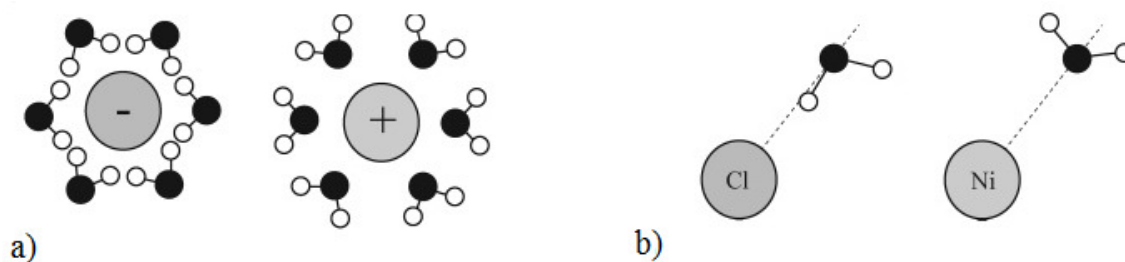


Slika 2.14. Mehanizam reorijentacije vode putem nagle velike promjene kuta. (A) Prikazane su tri molekule vode (označene sa *, ^a i ^b), povezane vodikovim vezama (zeleno). H* je povezan vodikovom vezom na O^a u prvoj koordinacijskoj ljusci, dok je O^b dalje u drugoj ljusci. Zbog fluktuacija mreže vodikovih veza O^a je prekoordiniran (5 veza), a O^b je podkoordiniran (3 veze). Događa se elongacija veze O* i O^a, a O^b se približava. (B) Približavanjem O^b nastaje račvasta vodikova veza s O* u kojoj su O^a i O^b jednako udaljeni od O*. Nagli zaokret O* dovodi do pucanja vodikove veze s O^a, dok se veza s O^b stabilizira zbog povoljnije orijentacije. (C) O^a se udaljava, a fluktuacije vodikove mreže vraćaju sustav u ravnotežu. Preuzeto iz reference 137.

Važno svojstvo vodikovih veza u vodi je njihova kooperativnost. Kada se stvori vodikova veza između dviju molekula vode događa se raspodjela elektronske gustoće što utječe na daljnje stvaranje vodikovih veza. Kod molekule vode koja je donor vodika u vodikovoj vezi dolazi do povećanja gustoće u području slobodnog elektronskog para što je čini boljim akceptorom vodika, a kod molekule vode koja je akceptor dolazi do smanjenja elektronske gustoće što je čini boljim donorem.¹³⁴ Kooperativnost vodikovih veza čini vodikove veze jačima, a jake vodikove veze dovode do slabljenja O–H kovalentne veze i povećanja njene duljine. Ove promjene O–H veze mogu se vidjeti kao pomaci u vibracijskom spektru tekuće vode u odnosu na spektar vode u plinovitom stanju.^{33,38,134} Pomaci vibracijskih linija O–H veze vode vrlo su informativni kada je u pitanju dinamika mreže vodikovih veza. O–H veza uključena u jaku vodikovu vezu vibrirati će nižom frekvencijom što dovodi do crvenog pomaka spektra (*red shift*) tj. pomaka prema manjim valnim brojevima, dok će O–H veza uključena u slabu vodikovu vezu vibrirati višom frekvencijom što dovodi do plavog pomaka spektra (*blue shift*) tj. pomaka prema većim valnim brojevima.^{32,33,38} Upotrebom odgovarajućih vibracijskih spektroskopskih tehnika moguće je pratiti utjecaj različitih tvari čija će prisutnost u vodi dovesti do promjene dinamike mreže vodikovih veza.

2.3.2. *Dinamika vode u prisutnosti iona*

Voda je, zahvaljujući svojoj polarnosti, izvrsno otapalo za elektrolite. Molekule vode uspostavljaju povoljnu Coulombsku interakciju s ionima i drugim polarnim tvarima. U skladu s uobičajenom slikom, voda će solvatirati katione orijentirajući svoje kisikove atome prema ionu, dok za anione vrijedi obrnuto (slika 2.15.). Ovakva orijentacija potvrđena je eksperimentalno, metodom raspršenja neutrona.¹³⁸



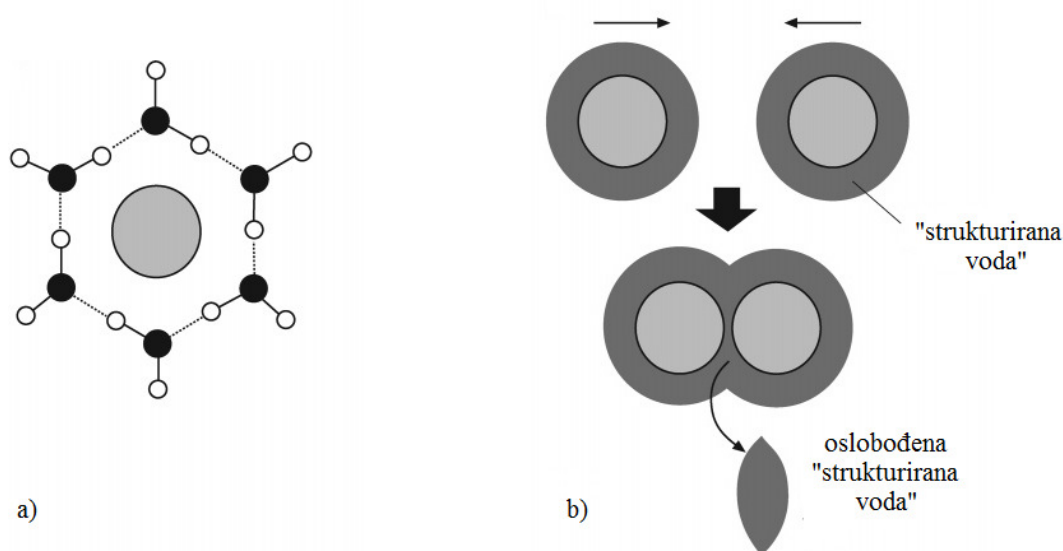
Slika 2.15. Solvatacija aniona i kationa u vodi. a) Uobičajena predodžba solvatacije aniona i kationa u vodi. b) Orijentacije molekula vode dobivene neutronske raspršenjem. Preuzeto iz reference 27.

Pitanje koje se postavlja u svezi hidratacije iona jest do koje mjere ono utječe tj. mijenja dinamiku mreže vodikovih veza u vodi. Dugo vremena se smatralo da ioni otopljeni u vodi imaju izrazito velik učinak na strukturu vodikovih veza u vodi te da neki od njih učvršćuju tu strukturu (*structure makers*), dok je drugi oslabljuju (*structure breakers*).^{27,29} Taj princip koristio se kao objašnjenje Hofmeisterova opažanja da neke soli dovode do taloženja albumina iz otopine (*salting-out*), dok druge soli pospješuju topljivost albumina (*salting-in*). Ideja o utjecaju iona na strukturu vode proširena je na model kozmotropa i kaotropa.^{27,29} Kozmotropi su tvari koje lokalno u otopini „uređuju“ strukturu vode koja postaje sličnija ledu i smanjuju topljivost drugih tvari, a kaotropi djeluju suprotno. Navedeni modeli postavljeni su na temelju makroskopskih svojstava (npr. viskoznosti i promjena entropije prilikom solvatacije), bez eksperimentalne evidencije direktnog utjecaja elektrolita na mrežu vodikovih veza. Mjerenja provedena modernim tehnikama femtosekundne vibracijske IR spektroskopije ukazuju da se promjena reorijentacijske dinamike molekula vode u mreži vodikovih veza događa samo u prvoj solvatnoj ljusci iona gdje je ona značajno usporena, što je eksperimentalno potvrđeno u slučaju halogenih aniona (Cl⁻, Br⁻, I⁻)¹³⁹ i ClO₄⁻ iona.¹⁴⁰ U

spomenutim mjerenjima nije dokazano učvršćivanje ili slabljenje mreže vodikovih veza u vodi pod utjecajem dodanih elektrolita.

2.3.3. Dinamika vode u prisutnosti hidrofobnih molekula

Hidrofobne molekule u vodi pod utjecajem su sile koja ih tjera da agregiraju,²⁷ tj. pokazuju tendenciju da se „drže na okupu“ u vodenoj sredini, što je fenomen poznat pod nazivom hidrofobna interakcija.¹⁴¹ Hidrofobna interakcija odgovorna je za neke važne biološke procese poput nastajanja membranskih fosfolipidnih dvosloja, smatanja hidrofobnih ostataka polipeptidnog lanca prema unutrašnjosti kompaktnog proteina te agregacije proteinskih podjedinica u kvarternu strukturu.^{27,141} Čak i male djelomično hidrofobne molekule poput metanola imaju tendenciju stvaranja klatrata u vodi što vodi dinamičkoj heterogenosti smjese.¹⁴² Još uvijek nije do kraja riješeno koji je mehanizam za hidrofobnu interakciju u pozadini ovih fenomena. Dugo se vremena hidrofobna interakcija objašnjavala Kauzmannovim modelom¹²⁹ po kojemu je uzrok hidrofobnog učinka entropijske naravi, što je povezano sa slikom hidrofobne hidratacije postavljene 1945. od Franka i Evansa.¹²⁷ Modeli su prikazani na slici 2.16.



Slika 2.16. a) Model „ledenog brijega“ (*iceberg model*) hidrofobne hidratacije prema Franku i Evansu. Hidrofob je zatvoren unutar uređenog „kaveza“ molekula vode. b) Kauzmannovo objašnjenje hidrofobne interakcije. Preuzeto iz reference 27.

Prema navedenim modelima, hidrofobi u vodi narušavaju mrežu vodikovih veza što je entalpijski nepovoljan proces. Da bi se energetski kompenziralo povećanje entalpije, molekule vode oko hidrofoba zauzimaju „uređeniju“ strukturu što zahtjeva ograničenje rotacijske i translacijske slobode molekula (smanjenje entropije). Frank-Evansov model tijekom desetljeća bio je eksperimentalno i teorijski propitivan, prvenstveno metodama neutronske raspršenja, kako bi se ustanovilo postoji li oko hidrofoba uređena struktura molekula vode. U navedenim studijama utvrđeno je da udaljenost molekula vode koje su u blizini hidrofoba približno odgovara udaljenostima molekula u čistoj vodi, što je doprinijelo sumnji u valjanost Frank-Evansova modela.¹⁴² U novije vrijeme Ben-Amotz i sur.¹⁴³ su mjerenjem ramanskog raspršenja u smjesama vode i niza alkohola različitih duljina hidrofobnih lanaca, metodom koja može razlučiti O–H skupine vode u hidratacijskoj ljusci hidrofoba od ostalih molekula vode (Raman-MCR, *Raman multivariate curve resolution*), utvrdili veću uređenost molekula vode u blizini hidrofoba. Povećana strukturiranost mreže vodikovih veza molekula vode u navedenom slučaju posljedica je svojstva molekula vode da se „uredno“ slože oko metilnih (CH₃) i metilenskih (CH₂) skupina hidrofobnog lanca alkohola bez narušavanja postojećih vodikovih veza u mreži molekula vode. Danas se primjenjuju mnoge moderne metode (2D IR spektroskopija, NMR, dielektrična relaksacijska spektroskopija, femtosekundna *pump-probe* spektroskopija...) i molekularno-dinamičke simulacije kako bi se razrješilo pitanje hidrofobne interakcije.^{36,144-148} Istraživanja s tetrametilureom pokazala su da molekule vode čak i u velikim koncentracijama hidrofobnih molekula zadržavaju libracijska gibanja, i djelomično rotacijska gibanja koja su značajno usporena.¹⁴⁶ U smjesama 1,4-dioksana i vode, pri množinskim udjelima vode $x_{\text{H}_2\text{O}} < 0,1$ mreža vodikovih veza je potpuno narušena, dok se pri višim udjelima vode ponovno uspostavlja dinamika nalik onoj u samoj vodi, uključujući kolektivna gibanja intermolekularnim vodikovim mrežama povezanih struktura.¹⁴⁴ U kontekstu ovoga istraživanja osobito je važan, inače unutar proučavanja hidrofobnosti uglavnom zaobiđeni aspekt interakcije djelomično hidrofobnih molekula s molekulama vode pri čemu vjerojatno nastaju C–H•••O vodikove veze,^{144,145,149-151} što je vidljivo u znatnim promjenama dijela IR spektra vode u području 3200 – 3600 cm⁻¹ (frekvencije istezanja O–H veza). Mizuno i sur.¹⁴⁵ utvrdili su promjene jakosti vodikovih veza u sustavu dioksana i vode u ovisnosti o koncentraciji dioksana. Hidratacija C–H grupa povezana je s plavim pomakom u frekvenciji C–H veze što upućuje na stvaranje C–H•••O vodikovih veza. Na temelju teorijskih

istraživanja,¹⁴⁹ zaključuje se da u biti nema temeljne razlike između općenito poznatih i razmatranih vodikovih veza ($\text{O-H}\cdots\text{O}$ primjerice) i $\text{C-H}\cdots\text{O}$ vodikovih veza. Treba napomenuti međutim, da su te interakcije ostale sasvim na rubu interesa ili i manje od toga, kod proučavanja vrlo složenog i biološki, biokemijski, dakako i fizikalno kemijski nemjerljivo važnog fenomena hidrofobnosti.

2.4. Kemijska kinetika i reakcijska dinamika

Kemijska kinetika proučava brzine kemijskih reakcija.^{109,110} Brzine kemijskih reakcija mogu biti ovisne o varijablama poput tlaka, temperature i dodatku katalizatora te se promjenom tih varijabli može utjecati na samu brzinu reakcije. Proučavanje brzine kemijske reakcije vodi k razumijevanju mehanizma reakcije i elementarnih koraka kojima se ona odvija. No, potrebno je znati da se reakcijski mehanizam niti jednom metodom ne može u potpunosti dokazati te da se uvijek radi o prihvaćenom ili utvrđenom mehanizmu (modelu), a ne nužno o stvarnom opisu događaja na molekulskoj razini. Cilj kinetičkih mjerenja je povezati makroskopska eksperimentalna zapažanja s promjenama koje se događaju na molekulskoj razini.

Reakcijska dinamika, s druge strane, proučava brzine kemijskih reakcija na molekulskoj razini.^{109,110} Molekule koje ulaze u kemijsku reakciju podliježu značajnim strukturnim i energetskim promjenama, dolazi do pucanja starih i stvaranja novih veza među skupinama atoma. Jedna od najprihvaćenijih teorija za razumijevanje konstanti brzina reakcije je teorija prijelaznog stanja (*transition state theory*, TST) u kojoj se podrazumijeva postojanje prijelaznog stanja na vrhu energetske barijere koju sustav mora prijeći prilikom transformacije iz reaktanata u produkte. Poznata je također teorija sudara (*collision theory*) koja daje uvide u pojedinosti reakcijskog mehanizma i najjednostavniji kvantitativni račun za konstante brzine reakcija.

2.4.1. Brzina i red kemijske reakcije

Brzina kemijske reakcije ovisna je o koncentracijama reaktanata i u većini slučajeva o temperaturi. Koncentracija reaktanata mijenja se kao funkcija vremena, te je uobičajeno brzina reakcije najveća na samom početku, a smanjuje se pri kraju reakcije odnosno ulaskom sustava u ravnotežu. Prvi korak u kinetičkoj analizi je odrediti stehiometriju reakcije, a temeljni podatci su koncentracije reaktanata i produkata u različitim vremenima od početka reakcije. Brzina kemijske reakcije definira se kao derivacija koncentracije reaktanata ili produkata po vremenu. Za neku reakciju s poznatom stehiometrijom:



koja se odvija pri konstantnom volumenu V , brzina nestajanja reaktanata R dana je izrazom $-d[R]/dt$, a brzina nastajanja produkata sa $d[P]/dt$, gdje R predstavlja reaktante A ili B , a P produkte C ili D . Iz stehiometrije reakcije slijedi:

$$\frac{d[D]}{dt} = \frac{1}{3} \frac{d[C]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{2} \frac{d[B]}{dt} \quad (2.32.)$$

Da bi se izbjegli različiti izrazi za brzinu jedne kemijske reakcije potrebno je definirati novu veličinu koja se zove doseg reakcije ξ i koja odgovara izrazu:

$$\xi = \frac{n_J - n_{J,0}}{\nu_J} \quad (2.33.)$$

gdje je s n_J označena množina neke tvari J, a s ν_J stehiometrijski koeficijent tvari J koji je negativan za reaktante, a pozitivan za produkte. Uz pomoć dosega reakcije može se definirati jedinstveni izraz za brzinu neke kemijske reakcije:

$$v = \frac{1}{V} \frac{d\xi}{dt} = \frac{1}{\nu_J} \frac{1}{V} \frac{dn_J}{dt} \quad (2.34.)$$

Za homogenu reakciju u konstantnom volumenu V , primjenom izraza $[J] = n_J/V$ dolazi se do sljedećeg oblika jednadžbe za brzinu reakcije:

$$v = \frac{1}{\nu_J} \frac{d[J]}{dt} \quad (2.35.)$$

S molarnim koncentracijama izraženim u mol dm^{-3} i vremenom u sekundama, jedinica za brzinu reakcije je $\text{mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$. Brzine reakcija često su proporcionalne koncentracijama reaktanata na određenu potenciju, pa se za reakciju dvaju reaktanata A i B općenito može pisati:

$$v = k[A]^a[B]^b \quad (2.36.)$$

gdje koeficijent proporcionalnosti k označava konstantu brzine reakcije. Konstanta brzine reakcije nije ovisna o koncentraciji reaktanata, ali ovisi drugim reakcijskim uvjetima kao što su primjerice temperatura i ionska jakost. Navedeni izraz naziva se zakonom za brzinu reakcije i određuje se eksperimentalno za svaku reakciju od interesa. Jednom kada je poznat zakon za brzinu reakcije i konstanta brzine, moguće je predvidjeti brzinu reakcije na temelju sastava smjese. Svaki predloženi mehanizam reakcije mora biti u skladu s eksperimentalno određenim zakonom za brzinu reakcije. U zakonu za brzinu reakcije potencije a i b nad koncentracijama reaktanata predstavljaju red reakcije s obzirom na dani reaktant, a ukupan red reakcije jednak je zbroju eksponenata $a + b$. Eksponenti iz kojih se određuje red reakcije

obično su cijeli brojevi, ali kod kompleksnijih mehanizama mogu biti izraženi i decimalnim brojem. Diferencijalni zakon za brzinu reakcije prvog reda dan je izrazom:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A] \quad (2.37.)$$

Kako bi se dobio izraz koji pokazuje ovisnost koncentracije reaktanata o vremenu potrebno je prethodnu jednadžbu integrirati pri čemu se dobije integrirani zakon za reakciju prvog reda:

$$\ln \frac{[A]}{[A]_0} = -kt ; \quad [A] = [A]_0 e^{-kt} \quad (2.38.)$$

gdje je $[A]_0$ početna koncentracija reaktanta A ($t = 0$).

Kada je to moguće, red reakcije se najjednostavnije određuje metodom izolacije u kojoj su koncentracije svih reaktanata osim jednog u velikom suvišku. Na taj način koncentracije ostalih reaktanata ostaju približno konstantne tijekom reakcije, a ako je s obzirom na manjinski reaktant reakcija prvog reda tada će izraz za brzinu reakcije biti:

$$v = k'[A] \quad (2.39.)$$

s konstantom $k' = k[B]_0$ koja se naziva konstantom pseudoprvog reda, dok je $[B]_0$ koncentracija reaktanta u suvišku. Metodom izolacije može se odrediti ovisnost brzine reakcije o koncentraciji svakog pojedinog reaktanta odnosno red reakcije za svaki reaktant te tako doći do ukupnog reda reakcije.

2.4.2. Arrheniusova jednadžba

Često eksperimentalno opažanje da se kemijske reakcije odvijaju brže pri višim temperaturama sadržano je u empirijskoj Arrheniusovoj jednadžbi koja vrijedi barem u ograničenom temperaturnom intervalu, a dana je u eksponencijalnom i logaritamskom obliku izrazima:^{1-3,109}

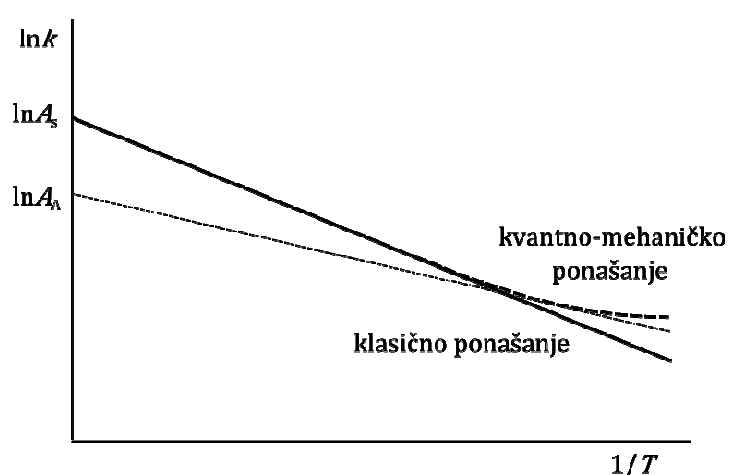
$$k = A \exp(-E_a/RT); \quad \ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (2.40.)$$

Logaritamski oblik jednadžbe prikazuje se grafički kao linearni prikaz $\ln k$ prema $1/T$, gdje se iz odsjeka pravca određuje Arrheniusov predeksponencijalni faktor A , a iz nagiba pravca aktivacijska energija E_a . Ove dvije veličine zajedno se nazivaju Arrheniusovi parametri. Veće vrijednosti aktivacijske energije upućuju na izraženiju ovisnost konstante brzine o temperaturi, a moguće su i negativne vrijednosti E_a koje su povezane sa smanjenjem

konstante brzine porastom temperature.¹⁰⁹ Aktivacijska energija je minimalan iznos energije koju sustav mora imati kako bi prešao iz reaktanata u produkte. Ako se reakcija bar djelomično odvija mehanizmom tuneliranja očekuje se da će vrijednosti Arrheniusovih parametara biti manje od semiklasičnih. Sustav koji tunelira postiže prijelaz od reaktantskog do produktnog stanja a da ne mora prijeći aktivacijsku barijeru (postići odgovarajuću energiju i konfiguraciju prijelaznog stanja koja odgovara semiklasičnoj slici prema Eyringu); tuneliranje se događa ispod energetske maksimuma koji odgovara aktivacijskoj Gibbsovoj energiji reakcije pa se očekuje manja E_a . Arrheniusov predeksponencijalni faktor A također će biti manji od semiklasično predviđene vrijednosti, što se jasnije može predložiti grafičkim prikazom na slici 2.17. Eksperimentalna potvrda zakrivljenja Arrheniusovog grafa pri niskim temperaturama može ukazivati na prisutnost tuneliranja.¹

Kod usporedbe parametara prilikom H i D izotopne zamjene, semiklasična teorija predviđa da razlika aktivacijskih energija $(E_a(D) - E_a(H))_s$ kod procesa prijelaza barijere (*over-the-barrier process*) neće biti veća od razlike energije nultih točaka $E_{0,H} - E_{0,D}$ te da će vrijednost omjera $(A_H/A_D)_s$ biti u rasponu od 0,5 do 1,4 s najvjerojatnijom vrijednosti oko 1 pri uobičajenim temperaturama. U slučaju tuneliranja, stvarni Arrheniusovi parametri za lakši izotop vodika više će odstupati od svojih semiklasično predviđenih vrijednosti što će za posljedicu imati:¹

$$E_a(D) - E_a(H) > (E_a(D) - E_a(H))_s; \quad A_H/A_D < (A_H/A_D)_s \quad (2.41.)$$



Slika 2.17. Utjecaj tuneliranja na Arrheniusove parametre. A_s je semiklasični Arrheniusov parametar, a A_A je Arrheniusov parametar za reakciju u kojoj je prisutno tuneliranje. U slučaju tuneliranja pri niskim temperaturama dolazi do zakrivljenja pravca $\ln k$ prema $1/T$.

Ova odstupanja od velikog su značaja za eksperimentalno dokazivanje slabog i umjerenog tuneliranja. Posebno se to odnosi na omjer A_H/A_D koji, ako ima vrijednost izvan semiklasičnog raspona, ukazuje na tuneliranje čak i kad su $E_a(D) - E_a(H)$ i k_H/k_D unutar semiklasičnih vrijednosti.¹ Pri vrlo niskim temperaturama reakcija se može odvijati isključivo tuneliranjem (ne može se dosegnuti aktivacijska energija, odnosno vjerojatnost za to je vrlo malena, vidi T u nazivniku eksponencijalnog člana Arrheniusova izraza) iz osnovnog stanja i u tom području su k_H i k_D temperaturno neovisne, pa aktivacijske energije i njihove razlike teže vrijednosti 0. U ovom slučaju radi se o velikim tunelskim korekcijama, a odnos Arrheniusovih parametara biti će suprotan onima izvedenim za umjereno tuneliranje:¹

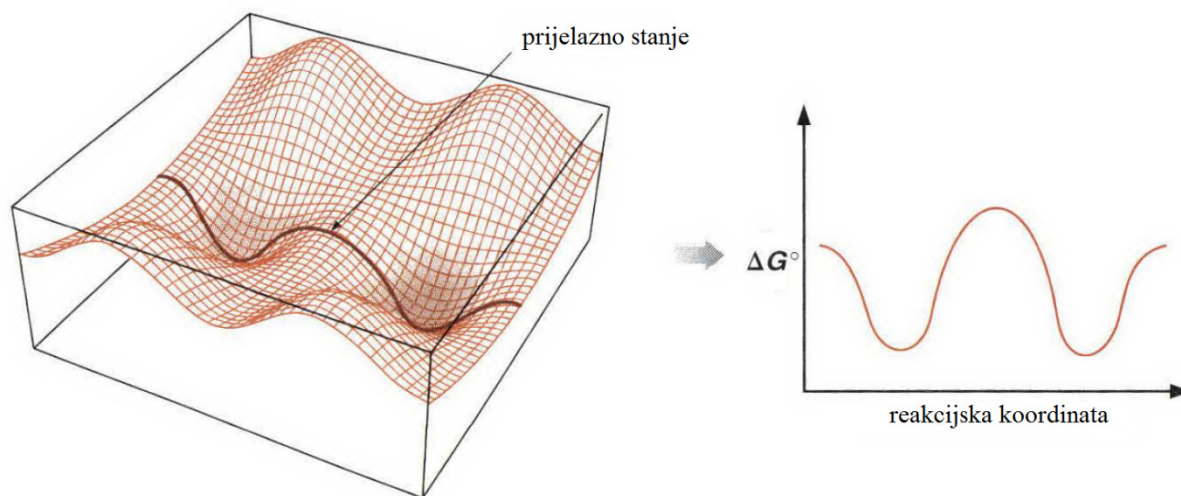
$$E_a(D) - E_a(H) < (E_a(D) - E_a(H))_s; \quad \frac{A_H}{A_D} > \left(\frac{A_H}{A_D}\right)_s \quad (2.42.)$$

2.4.3. Teorija prijelaznog stanja

Teorija prijelaznog stanja (*transition state theory*, TST) pretpostavlja prijelaz molekula reaktanata u produkte na način da prethodno postižu konfiguraciju s maksimalnom potencijalnom energijom koja se naziva prijelazno stanje.^{109,110,152} Prijelazno stanje predstavlja ključnu konfiguraciju na vrhu barijere kod koje je postignut takav raspored atoma (deformiranih veza i kuteva u molekulama reaktanata koje su u bliskom odnosu) da i minimalan pomak može dovesti do nastanka produkta. Nakupine (*clusters*, „grozdovi“) atoma molekula reaktanata koji su po energiji u blizini vrha barijere, ali ne posjeduju ključnu konfiguraciju prijelaznog stanja, nazivaju se aktiviranim kompleksom. Reakcijska koordinata obuhvaća sve pomake atoma reaktanata kao što su promjene udaljenosti i kuteva među atomima koji su izravno povezani s napredovanjem reakcije prema produktima. Na slici 2.18. prikazana je površina potencijalne energije i njena dvodimenzionalna projekcija prema reakcijskoj koordinati.

Razmatranje teorije prijelaznog stanja obično počinje s bimolekularnom reakcijom između reaktanata A i B gdje u brzom predravnoteži nastaje aktivirani kompleks $AB^\ddagger$, potom produkt C, prema kemijskoj jednadžbi:





Slika 2.18. Prikaz površine potencijalne energije i presjek kroz površinu potencijalne energije uzduž reakcijske koordinate. „Doline“ (udubljenja) površine odgovaraju stabilnim vrstama tj. reaktantima i produktima, a „brdo“ predstavlja energetske barijeru. Prijelaz preko barijere je energetski napovoljniji put između doline reaktanata i produkata, a konfiguracija na vrhu barijere naziva se prijelazno stanje. Preuzeto iz reference 110.

Brzina kojom nastaje produkt C direktno je proporcionalna koncentraciji i intrinzičnoj konstanti $k^\ddagger$ pretvorbe aktiviranog kompleksa $AB^\ddagger$ u produkt C:

$$\frac{d[C]}{dt} = k^\ddagger [AB^\ddagger] \quad (2.44.)$$

Prva postavka teorije prijelaznog stanja jest da su reaktanti u ravnoteži s aktiviranim kompleksom što se može izraziti termodinamičkom relacijom gdje je $K^\ddagger$ ravnotežna konstanta:

$$[AB^\ddagger] = K^\ddagger [A][B] \quad (2.45.)$$

Konstanta za brzinu pretvorbe reaktanata u produkte k se na temelju navedenih relacija može izraziti preko $k^\ddagger$ i $K^\ddagger$:

$$k = k^\ddagger K^\ddagger \quad (2.46.)$$

Konstanta brzine $k^\ddagger$ za pretvorbu aktiviranog kompleksa u produkte povezana je s vibracijom aktiviranog kompleksa frekvencije ν te ga vodi uzduž reakcijske koordinate kroz konfiguraciju prijelaznog stanja do produkata. No neće svaka oscilacija aktiviranog

kompleksa s frekvencijom ν dovesti do nastanka produkata jer raspored ostalih atoma u molekuli ili rotacijsko stanje možda nisu povoljni za prijelaz. Zbog toga se u teoriju prijelaznog stanja uvodi faktor κ koji se naziva transmisijски koeficijent. Može se pretpostaviti da će konstanta brzine $k^\ddagger$ za prijelaz aktiviranog kompleksa kroz prijelazno stanje do produkata biti proporcionalna frekvenciji vibracije ν i transmisijskom koeficijentu koji je u većini slučajeva približno jednak 1, prema sljedećoj relaciji:

$$k^\ddagger = \kappa \nu \quad (2.47.)$$

Ravnotežnu konstantu $K^\ddagger$ potrebno je odrediti statističko-mehaničkom analizom. Prijelazno stanje zbog svojeg kratkog vijeka trajanja (reda veličine trajanja jedne vibracije) nema Boltzmannovu razdiobu stanja te se ne može direktno primjeniti termodinamička ravnotežna relacija za $K^\ddagger$. Uz pomoć statističke mehanike može se izvesti da je $K^\ddagger$ proporcionalna drugoj ravnotežnoj konstanti $K^{\ddagger'}$ za koju vrijedi:

$$K^{\ddagger'} = \exp\left(-\frac{\Delta G^\ddagger}{RT}\right) \quad (2.48.)$$

a odnos između dviju ravnotežnih konstanti dan je izrazom:

$$K^\ddagger = \left(\frac{k_B T}{h \nu}\right) K^{\ddagger'} \quad (2.49.)$$

gdje su k_B i h Boltzmannova i Planckova konstanta. Na temelju navedenih izraza može se za konstantu brzine reakcije k izvesti poznata Eyringova jednadžba:

$$k = \kappa \left(\frac{k_B T}{h}\right) K^{\ddagger'} \quad (2.50.)$$

Eyringova jednadžba najčešće se koristi u obliku koji uključuje aktivacijsku Gibbsovu energiju $\Delta G^\ddagger$, te se primjenom relacije $\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$ može pisati:

$$k = \kappa \left(\frac{k_B T}{h}\right) \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H^\ddagger}{RT}\right) \quad (2.51.)$$

Navedeni izraz koristi se za eksperimentalno određivanje aktivacijskih parametara $\Delta G^\ddagger$, $\Delta H^\ddagger$ i $\Delta S^\ddagger$ koji se odnose na reakcijsku barijeru. Veličine parametara $\Delta H^\ddagger$ i $\Delta S^\ddagger$ daju informacije o razlikama entalpije i entropije prijelaznog stanja u odnosu na reaktante. U aktiviranom kompleksu neke su veze u reaktantima oslabljene te je postizanje prijelaznog stanja gotovo

uvijek endoterman proces. Osim jakosti veze, na aktivacijsku entalpiju može utjecati i otapalo na način da povoljne interakcije otapala i prijelaznog stanja smanjuju vrijednosti $\Delta H^\ddagger$. Aktivacijska entropija $\Delta S^\ddagger$ je mjera povećanja ili smanjenja uređenosti sustava tijekom postizanja prijelaznog stanja. $\Delta S^\ddagger$ može poprimiti pozitivne ili negativne vrijednosti ovisno o tome povećava li se ili smanjuje broj translacijskih, rotacijskih i vibracijskih stupnjeva slobode molekula reaktanata što je povezano s značajnijim pucanjem ili uspostavljanjem veza prilikom postizanja prijelaznog stanja. Aktivacijska Gibbsova energija često se koristi u korelacijskim analizama kada se dovode u vezu ravnotežne konstante reakcije s konstantama brzine. Takve korelacije obično daju linearan odnos $\ln K$ (što je jednako $-\Delta G^\circ/RT$) prema $\ln k$ (što je proporcionalno $-\Delta G^\ddagger/RT$) što znači da se termodinamički povoljnija reakcija odvija uz veće konstante brzine.

2.4.4. Kinetički izotopni učinak

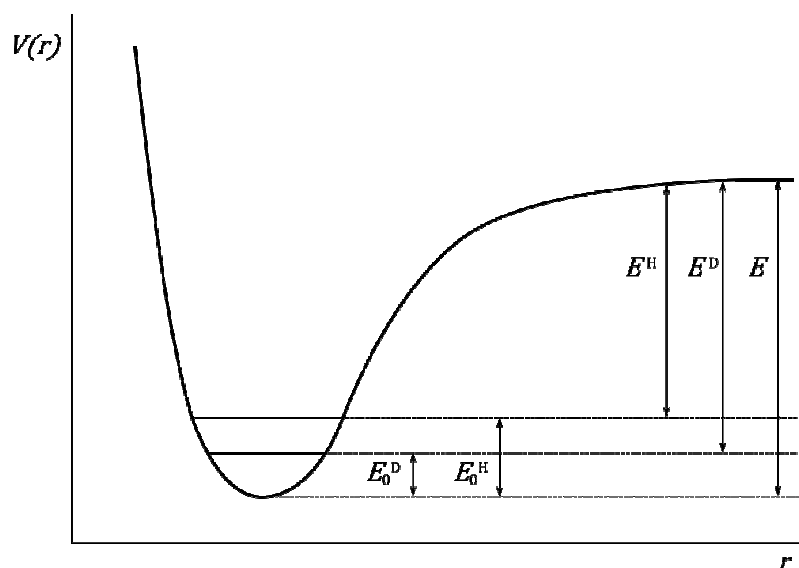
Kinetički izotopni učinak (KIE) može se definirati kao smanjenje brzine kemijske reakcije prilikom zamjene nekog atoma u reaktantu s odgovarajućim atomom težeg izotopa istog elementa.^{1,109,110,152,153} Određivanje kinetičkog izotopnog učinka važno je u analizi mehanizma reakcije jer može ukazati na veze koje pucaju i uspostavljaju se u prijelaznom stanju. Kada dolazi do pucanja veze u kojoj je napravljena izotopna zamjena tad se radi o primarnom kinetičkom izotopnom učinku, a kada je izmjereni učinak posljedica izotopne zamjene u vezi udaljenoj od one koja puca u prijelaznom stanju reakcije radi se o sekundarnom kinetičkom izotopnom učinku. Proučavanjem kinetičkih izotopnih učinaka mogu se dobiti vrijedne informacije o fenomenu tuneliranja. Za ovu svrhu najčešće se koriste izotopi vodika (H – protij, D – deuterij, T – tricij) jer su izotopni učinci vrlo izraženi zbog velikih razlika u masi izotopa vodika. Kinetički izotopni učinak izražava se kao omjer konstanti brzine, s time da je u brojniku uobičajeno konstanta brzine za reakciju s prirodno zastupljenijim izotopom, a u nazivniku konstanta brzine sa zamjenjenim izotopom. U slučaju izotopa vodika kinetički izotopni učinak označava se s k_H/k_D i prilikom pucanja X–H (X–D) veze taj omjer uobičajeno je veći od 1, a ako je manji od 1 radi se o inverznom izotopnom učinku.¹¹⁰ Izotopni učinak posljedica je razlike u frekvencijama vibracija molekule kada joj jedan od atoma zamijenimo odgovarajućim izotopom, a očituje se u razlici energija nulte točke:¹

$$E_{0,H} - E_{0,D} = \frac{1}{2} h(\nu_H - \nu_D) ; \quad v = 0 \quad (2.52.)$$

gdje su ν_H i ν_D vibracijske frekvencije molekula X–H i X–D u aproksimaciji harmoničkog oscilatora, a v je vibracijski kvantni broj. Frekvencija vibracija molekula je u aproksimaciji klasičnog harmoničkog oscilatora dana izrazom:

$$\nu_{H(D)} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k_{XH(D)}}{\mu_{XH(D)}}} ; \quad \mu_{XH(D)} = \frac{m_X m_{H(D)}}{m_X + m_{H(D)}} \quad (2.53.)$$

$k_{XH(D)}$ je konstanta jakosti veze u molekuli X–H (X–D) a $\mu_{XH(D)}$ je reducirana masa iste molekule, izračunana iz atomskih masa m_X i $m_{H(D)}$. Budući da je reducirana masa uvijek manja za X–H nego za X–D ($\mu_{XH} < \mu_{XD}$), frekvencija ν_H će biti veća od ν_D , a $E_{0,H}$ veća od $E_{0,D}$ što je prikazano na slici 2.19.



Slika 2.19. Krivulja potencijalne energije za disocijaciju veze u molekulama X–H i X–D. Različite energije nultih točaka $E_{0,H}$ i $E_{0,D}$ uzrok su različitih energija disocijacije E_H i E_D za ove dvije molekule.

Molekule X–H i X–D imaju različitu energiju disocijacije E_H i E_D , tako da je $E_D > E_H$, a to znači da će disocijacija X–D biti sporija i zahtijevati će veću aktivacijsku energiju u odnosu na disocijaciju X–H. Ako kinetičkom izotopnom učinku doprinosi samo razlika u energijama aktivacije koja proizlazi iz razlika u energijama nulte točke reaktanata, tada se radi o semiklasičnoj vrijednosti KIE koja je dana izrazom:¹

$$(k_H/k_D)_s = \exp \left[\frac{(E_{0,H} - E_{0,D})}{k_B T} \right] \quad (2.54.)$$

Za reakcije kod kojih u prijelaznom stanju dolazi do pucanja i uspostavljanja veze u kojoj sudjeluju atomi podvrgnuti izotopnoj zamjeni (H, D ili T) treba također uzeti u obzir i vibracije prijelaznog stanja koje su različite od onih u osnovnom stanju (slika 2.20.), te će razlika u energijama nulte točke za prijelazno stanje umanjiti iznos kinetičkog izotopnog učinka prema sljedećim jednadžbama:¹

$$(k_H/k_D)_s = \exp \left(\frac{\Delta E_0}{k_B T} \right) \quad (2.55.)$$

$$\Delta E_0 = (E_{0,H} - E_{0,D})_{\text{XH(D)}} - (E_{0,H} - E_{0,D})_{\ddagger} \quad (2.56.)$$

Ipak, ako se uključe u razmatranje i vibracije savijanja za reaktante i prijelazno stanje, vrijednosti kinetičkih izotopnih učinaka će biti veće i mogu se smatrati maksimalnim vrijednostima semiklasičnog KIE. U tablici 2.2. dane su uobičajene vrijednosti semiklasičnih KIE za jednostavnu disocijaciju X–H (X–D) veze i maksimalne vrijednosti KIE za najučestalije tipove veze heteroatoma i vodika.

Tablica 2.2. Semiklasični izotopni učinci za disocijaciju X–H i X–D veze i za pucanje X–H i X–D veze u reakciji koja napreduje preko prijelaznog stanja.

Vrsta veze	$(k_H/k_D)_s$ pri 298 K	$(k_H/k_D)_s^a$ pri 298 K
C–H	6,2	10
N–H	7,0	11
O–H	7,9	13
S–H	4,8	8

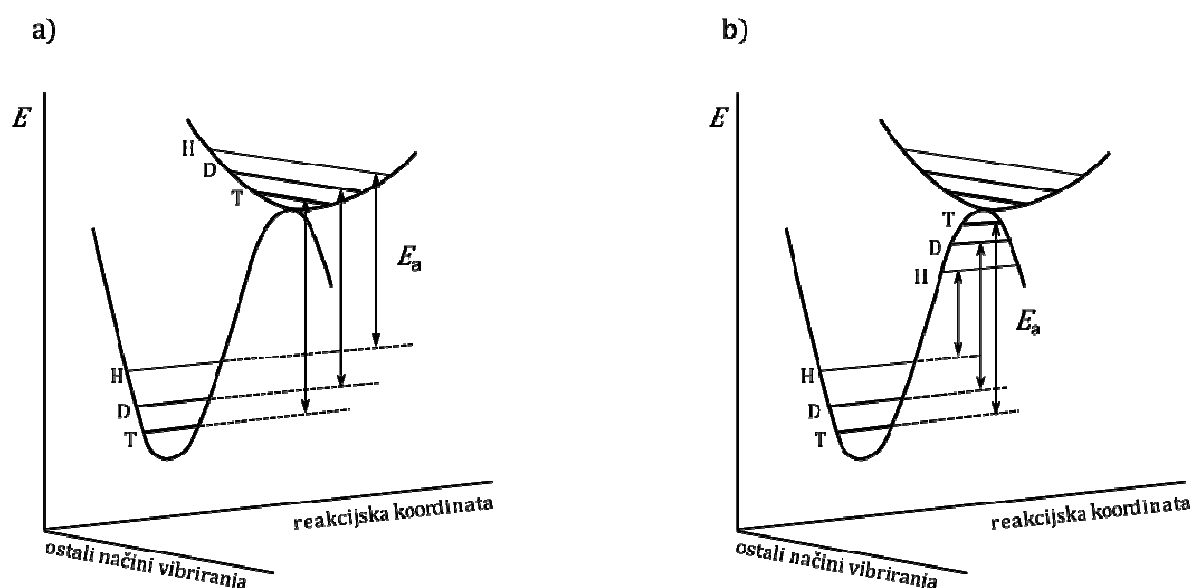
^a Uključene vibracije savijanja za reaktante i prijelazno stanje

Za molekule podvrgnute izotopnoj zamjeni krivulja potencijalne energije ostaje ista, budući da sile među atomima i molekulama ovise o privlačenju odnosno odbijanju njihovih naboja, a ne o njihovim masama. Prema de Broglievoj valno-čestičnoj teoriji, čestica lakšeg izotopa (manja m) imati će veću valnu duljinu, a s time i veću vjerojatnost tuneliranja. Fenomen tuneliranja, koji se ne uzima u obzir u semiklasičnom pristupu, uzrok je uobičajeno veće

reaktivnosti lakšeg izotopa (slika 2.20.). Zbog toga i očekivani izotopni učinci mogu biti veći od semiklasično predviđenih, prema relaciji:¹

$$\frac{k_H}{k_D} = \left(\frac{Q_t^H}{Q_t^D} \right) \left(\frac{k_H}{k_D} \right)_s \quad (2.57.)$$

gdje je $(k_H/k_D)_s$ semiklasični izotopni učinak, a Q_t^H/Q_t^D je omjer Bellovih tunelskih korekcijskih faktora koji je uvijek veći od 1. Izmjereni kinetički izotopni učinci koji premašuju vrijednosti predviđene semiklasičnom teorijom upućuju na fenomen tuneliranja u reakciji.



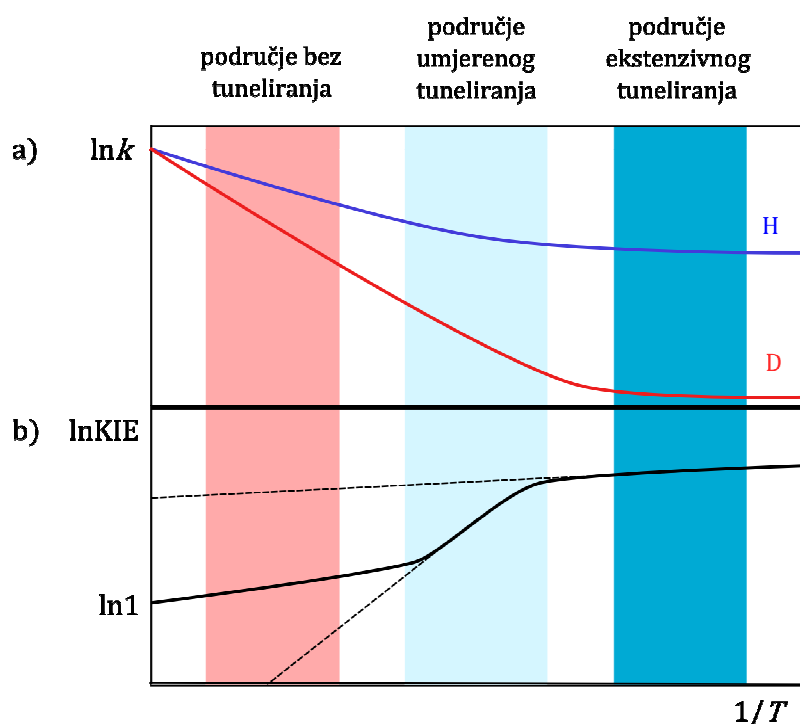
Slika 2.20. a) Dijagram reakcijske koordinate za semiklasičan prijelaz vodika i njegovih izotopa (H, D, i T). Aktivacijska energija jednaka je razlici u energijama nulte točke osnovnog i prijelaznog stanja za svaki izotop. Za osnovno stanje, energije nulte točke određene su uglavnom vibracijama istezanja reaktanata, a energije nulte točke prijelaznog stanja određene su svim vibracijama u prijelaznom stanju koje su ortogonalne na reakcijsku koordinatu. b) Primjena tunelske korekcije na teoriju prijelaznog stanja. Lakši izotopi tuneliraju pri nižim energijama ispod vrha barijere, pa im je i energija aktivacije za prijelaz niža. Preuzeto iz reference 2.

Temperaturna ovisnost KIE obično se prikazuje kao $\ln KIE$ prema recipročnoj temperaturi $1/T$ jer je $\ln KIE$ direktno povezan s razlikom aktivacijskih energija $E_a(D) - E_a(H)$ za prijelaz H i D preko sljedeće relacije:

$$\ln \text{KIE} = \ln \frac{A_H}{A_D} + \frac{E_a(D) - E_a(H)}{R} \frac{1}{T} \quad (2.58.)$$

koja proizlazi iz omjera Arrheniusovih izraza za konstante brzina k_H/k_D .

Analiza temperaturne ovisnosti KIE daje važne informacije o tuneliranju vodika u sustavu, što je predloženo na slici 2.21. pomoću Arrheniusovih prikaza $\ln k$ prema $1/T$ i $\ln \text{KIE}$ prema $1/T$ za protij (H) i deuterij (D), u tri različita temperaturna područja.³ U prvom području (više temperature) tuneliranje ne doprinosi reakciji pa su Arrheniusove ovisnosti za konstantu brzine linearne za oba izotopa. Odsječak na ordinati $\ln \text{KIE}$ odgovara prirodnom logaritmu omjera Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora A_H/A_D koji je u ovom slučaju jednak 1. U drugom području dolazi do tuneliranja lakšeg izotopa, što dovodi do zakrivljenja Arrheniusove ovisnosti za lakši izotop, a time i do temperaturno ovisnog KIE, s omjerom $A_H/A_D < 1$. Ovo je područje umjerenog tuneliranja. U trećem dijelu dijagrama, pri niskim temperaturama, tuneliraju oba izotopa (ekstenzivno tuneliranje), KIE je gotovo neovisan o temperaturi, a $A_H/A_D > 1$. U ovom području reakcija se uglavnom odvija tuneliranjem iz osnovnog stanja jer nema dovoljno termalne energije za pobuđivanje u viša stanja ili za prijelaz preko barijere.



Slika 2.21. a) Arrheniusov grafički prikaz $\ln k$ prema $1/T$ i b) $\ln \text{KIE}$ prema $1/T$ za reakcije prijelaza protija (H) i deuterija (D) u tri različita temperaturna područja. Preuzeto iz reference 8.

2.4.5. Pregled protona (*proton inventory*)

Pregled protona je metoda kojom se može utvrditi koliko se protona „premjestilo“ u reakcijskom koraku koji određuje brzinu kemijske reakcije (*rate-determining step*).¹¹⁰ Provodi se na način da se prati reakcija od interesa u nekom protičnom otapalu te u istom deuteriranom otapalu, odnosno ako se radi o vodenom mediju, provode se reakcije u H₂O i D₂O. Pretpostavka je da reaktanti posjeduju reaktivnu skupinu koja slobodno izmjenjuje protone/deuterone. Eksperiment uključuje određivanje konstante brzine reakcije koja uključuje promjenu u X–H(D) vezi u uvjetima u kojima su u otopini prisutne X–H i X–D molekule u određenom omjeru. Konstanta brzine za takvu reakciju biti će dana izrazom:¹¹⁰

$$k_x = k_H(1 - x) + k_Dx \quad (2.59.)$$

gdje x predstavlja množinski udio deuteriranog reaktanta X–D, k_H je konstanta brzine reakcije u H₂O ($x = 0$), a k_D u D₂O ($x = 1$). Kinetički frakcionacijski faktor za reakciju dan je s $\phi = k_D/k_H$ te se preuređivanjem navedene jednadžbe za k_x može dobiti:

$$k_x = k_H(1 - x + x\phi) \quad (2.60.)$$

Konstanta brzine za reakciju u smjesi protoniranog i deuteriranog otapala u odnosu na konstantu u protoniranom otapalu, kada je u reakciji prisutno više mjesta izmjene protona/deuteronu dana je omjerom:

$$\frac{k_x}{k_H} = \frac{\prod_i^\ddagger (1 - x + x\phi_i^\ddagger)}{\prod_i^r (1 - x + x\phi_i^r)} \quad (2.61.)$$

gdje se umnožak u brojniku odnosi na prijelazno stanje, dok se umnožak u nazivniku odnosi na reaktante. Omjeru konstanti doprinose sva izmjenjiva mjesta koja imaju frakcionacijske faktore različite od 1 u prijelaznom stanju i reaktantima. Obično, razlika frakcionacijskih faktora između reaktanata i prijelaznog stanja javlja se samo na onim mjestima u molekuli gdje dolazi do pucanja veze ili rehibridizacije, tj. mjestima odakle se protoni premještaju u prijelaznom stanju reakcije. Često se u praksi može pretpostaviti da su frakcionacijski faktori u reaktantu blizu 1, što posebno važi za jednostavne O–H i N–H veze, te se u takvim slučajevima može zanemariti nazivnik u prethodnom izrazu i dobiva se jednadžba:

$$\frac{k_x}{k_H} = (1 - x + x\phi_1)(1 - x + x\phi_2)(1 - x + x\phi_3) \dots \quad (2.62.)$$

Svaki frakcionacijski faktor ϕ odgovara određenom protonu koji je u „izmjeni“ u prijelaznom stanju reakcije, te će o broju protona koji su u „izmjeni“ ovisiti izgled prikaza k_x/k_H prema x . Prikaz će u slučaju premještanja jednog protona biti linearan, a u slučaju premještanja više protona biti zakrivljen. Na taj način pregled protona može dati vrijedne informacije o reakcijskom mehanizmu u slučaju kada je u koraku koji određuje brzinu reakcije uključeno gibanje protona.

2.4.6. Kinetički solni učinak

Utjecaj ionske jakosti otopine na konstantu brzine reakcije između iona naziva se kinetički solni učinak, te se izražava relacijom:¹⁰⁹

$$\log k = \log k_0 + 2Az_A z_B \sqrt{I_c} \quad (2.63.)$$

gdje je A Debye-Hückelova konstanta koja iznosi 0,509 u vodi pri 25 °C, z_A i z_B su nabojni brojevi, k_0 je konstanta brzine reakcije pri ionskoj jakosti $I_c = 0$, a I_c je ionska jakost otopine definirana s $I_c = \frac{1}{2}(c_A z_A^2 + c_B z_B^2)/c^\circ$, c je množinska koncentracija reaktanata A i B u otopini. Ako su reaktanti istovrsnog naboja tada će povećanje ionske jakosti dodatkom inertnih iona u reakcijski medij dovesti do povećanja konstante brzine, dok će kod reaktanata raznovrsnog naboja učinak biti suprotan. Analizom kinetičkog solnog učinka može se odrediti nabojni broj aktiviranog kompleksa $z_A z_B$ te se mogu odrediti nabojni brojevi iona (reaktanata) koji su uključeni u stvaranje aktiviranog kompleksa. Navedena relacija za kinetički solni učinak izvedena je na temelju teorije prijelaznog stanja i Debye-Hückelovog graničnog zakona, stoga vrijedi u području vrlo malih ionskih jakosti, obično do vrijednosti $I_c = 0,01$.

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Uporabljeni materijali i instrumenti

3.1.1. Materijali

U eksperimentalnom radu korištene su sljedeće krutine: natrijev L-askorbat ($> 99\%$, Sigma-Aldrich), askorbinska kiselina (*p.a.*, GEHE Pharma, Njemačka), kalijev heksacijanoferat(III) (*p.a.*, Merck), dinatrijev etilendiamintetraacetat ($\geq 99\%$ $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2 \text{H}_2\text{O}$, Fluka), natrijev klorid ($\geq 99,5\%$ NaCl , Merck), natrijev acetat ($\geq 99,5\%$ Merck), tetraetilamonijev klorid ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich), benziltrimetilamonijev klorid ($\geq 98\%$, Fluka), tetrapropilamonijev klorid ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich), tetrabutilamonijev klorid ($\geq 97\%$, Sigma-Aldrich), acetilkolin klorid ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) i parakvat diklorid hidrat ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich). Tetraetilamonijev klorid i acetilkolin klorid su prekrizalizirani iz etanola i dietil etera, a tetrapropilamonijev klorid i tetrabutilamonijev klorid iz acetona. Točne koncentracije otopina kvaternih amonijevih soli određivane su potenciometrijskom titracijom uz pomoć srebrovog nitrata (*p.a.*, Poch). Organska otapala korištena u pokusima su: 1,4-dioksan ($\geq 99,9\%$ Merck), acetonitril ($\geq 99,9\%$, Merck), etanol ($\geq 99,8\%$, Sigma-Aldrich), etanol-D ($99,5\%$ D, Sigma-Aldrich) i aceton (*p.a.*, Sigma-Aldrich). Od kiselina su korištene octena kiselina ($\geq 99,5\%$, Poch) i perklorna kiselina (70% , *p.a.*, Merck). Za kalibraciju pH-metra korištene su standardne puferske otopine $\text{pH} = 7,00$ i $\text{pH} = 4,00$ (*p.a.*, Merck). Za pripravu svih otopina i pokuse korištene su Ultra-čista voda i teška voda ($99,9\%$ D, Sigma-Aldrich) redestilirane, svježe prokuhane i minimalno 30 minuta propuhane strujom dušika ($99,999\%$ N_2 , Messer Croatia plin d.o.o.) kako bi se uklonili O_2 i CO_2 ($G < 2 \mu\text{S}$). Laboratorijsko posuđe korišteno u pripremi otopina je rebaždareno odmjerno posuđe, a za precizno dodavanje malih volumena ($V \leq 1000 \mu\text{L}$) korištene su automatske mikropipete Eppendorf od 1000, 200, 100 i $10 \mu\text{L}$ s odgovarajućim nastavcima. Za kinetička mjerenja korištene su kivete od kvarcnog stakla (Hellma 110-QS, 10mm).

3.1.2. Instrumenti

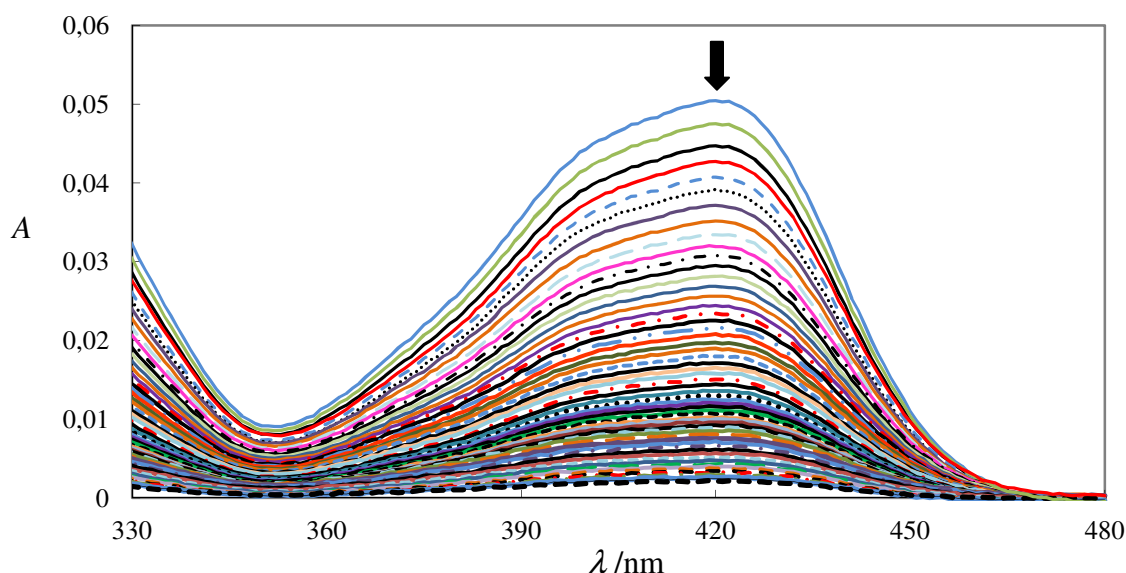
Instrumenti korišteni za mjerenje UV-Vis spektara i praćenje promjene apsorbancije u vremenu u kinetičkim mjerenjima su Hewlett-Packard HP 8453 spektrofotometar i S2000

Ocean Optics Inc. s izvorom zračenja Top Sensor Systems DH-2000-FHS. Oba spektrofotometra su opremljena termostatiranim nosačem kiveta Q-pod, Quantum Northwest Temperature Control s mogućnošću točnog namještanja i određivanja temperature ($\pm 0,1$ K) te magnetskog miješanja otopine u kiveti. Za mjerenje pH otopina korišten je pH-metar Mettler Toledo SP 230 i kombinirana pH-elektroda (Mettler Toledo, InLab Semi-Micro).

3.2. Metode

3.2.1. Kinetička mjerenja

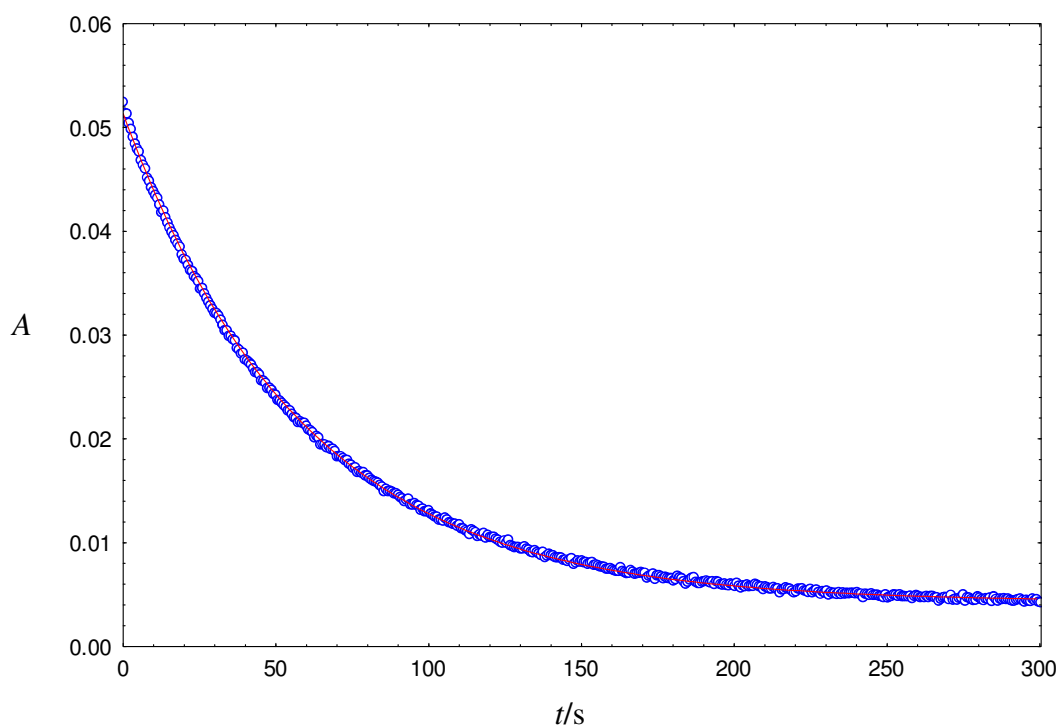
Spektrofotometrijsko određivanje konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona temelji se na mjerenju apsorbancije heksacijanoferat(III) iona na 420 nm u vremenu. Smanjenje apsorbancije na 420 nm proporcionalno je smanjenju koncentracije heksacijanoferat(III) iona u reakcijskoj smjesi (slika 3.1.). Valna duljina od 420 nm odgovara apsorpcijskom maksimumu $\lambda_{\max}$ heksacijanoferat(III) iona s molarnim apsorpcijskim koeficijentom $\varepsilon_{420 \text{ nm}} = 1000 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ u vodi. Nijedan od ostalih sudionika reakcije nema značajan molarni apsorpcijski koeficijent na toj valnoj duljini što je čini pogodnom za provođenje mjerenja. Promjena koncentracije heksacijanoferata(III) u otopini slijedi zakon za kinetike prvog reda.



Slika 3.1. Promjena UV/Vis spektra za reakciju askorbata i heksacijanoferata(III) u smjesi otapala 1,4-dioksan : $\text{H}_2\text{O} = 0,25 : 0,75$ v/v, na 298 K, tijekom 250 s. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$; $I_c = 0,0023$.

Konstante brzine reakcije određene su u uvjetima pseudo-prvog reda što se postiže dodatkom askorbata u suvišku, tj. u 20 puta većoj koncentraciji u odnosu na heksacijanoferat (III) ion, uzimajući u obzir stehiometriju reakcije askorbat : heksacijanoferat(III) = 1 : 2. U određenim uvjetima koncentracija askorbata bila je 15 ili 12 puta u suvišku što je također davalo zadovoljavajuće rezultate te je usporedbom s konstantama određenim u uvjetima većeg pseudo-suviška odstupanje bilo unutar eksperimentalne pogreške mjerenja. Prikaz kinetičkog mjerenja dan je na slici 3.2. Konstante brzine računaju se iz parova (A , t) podataka sakupljenih u barem pet poluvremena reakcije, kao kinetike pseudo-prvog reda, uz dobivenu standardnu pogrešku obično manju od 1%. Iz izmjerene konstante brzine pseudo-prvog reda (k_{obs}) i koncentracije askorbata koja je određena spektrofotometrijski, računa se konstanta brzine drugog reda (k_{HA}) prema izrazu:

$$k_{\text{HA}} = \frac{k_{\text{obs}}}{2 [\text{HAsc}^-]} \quad (3.1.)$$



Slika 3.2. Promjena apsorbancije heksacijanoferat (III) iona na 420 nm (plavi kružići) u vremenu, u reakciji askorbata i heksacijanoferata(III) u smjesi otapala acetonitril : H_2O = 1 : 1 v/v, na 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$; $I_c = 0,0023$.

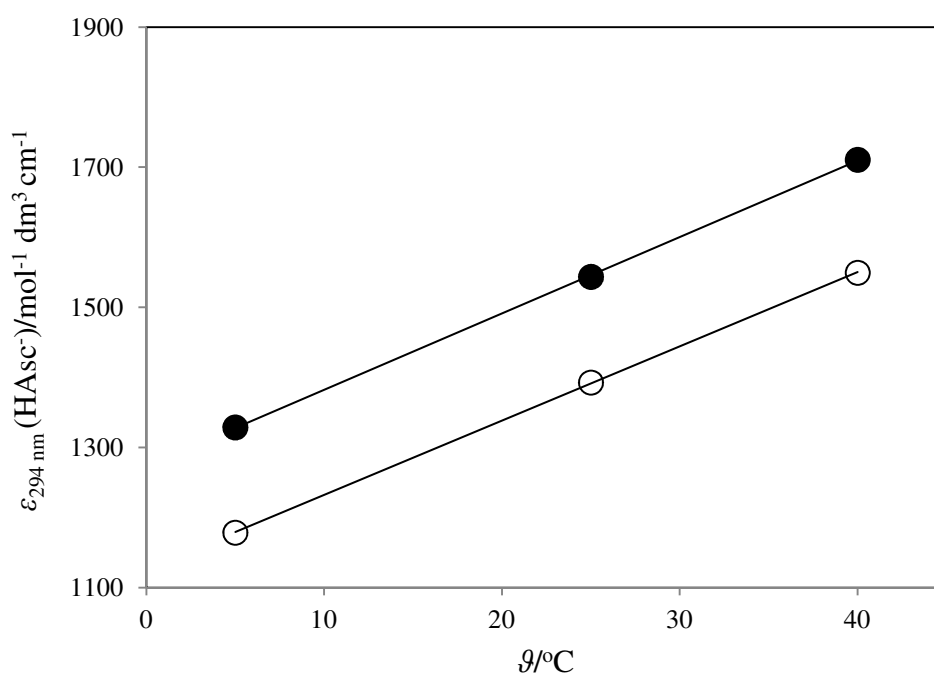
Konstanta brzine reakcije u danim reakcijskim uvjetima određena je kao srednja vrijednost barem tri mjerenja. Uobičajene koncentracije reaktanata u većini mjerenja u smjesama organskih otapala i vode su $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$ i $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. U smjesama 1,4-dioksana i vode kod omjera $\geq 0,25:0,75 \text{ v/v}$ dodana je askorbinska kiselina u koncentraciji $0,001 \text{ mol dm}^{-3}$ kako bi pH reakcijskog medija ostao približno 5,7. Na_2EDTA se dodaje u koncentraciji $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ kako bi se spriječila oksidacija askorbata do askorбил radikal aniona ($\text{Asc}^{\bullet-}$) u prisutnosti tragova metalnih iona i kisika.^{154,155} $\text{Asc}^{\bullet-}$ je vrlo reaktivan i može paralelno reducirati $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ione te uvesti pogrešku u mjerenje. $\text{Asc}^{\bullet-}$ se u kiselom brzo disproporcionira do askorbata i dehidroaskorbinske kiseline (DHA),¹⁰³ dok je u neutralnom disproporcionacija sporija pa je potreban veći oprez. Poznato je da Na_2EDTA vrlo učinkovito kompleksira metalne ione i na taj način osigurava stabilnost askorbata u reakcijskoj smjesi tijekom reakcije. Uklanjanje kisika postignuto je propuhivanjem vode strujom dušika prije pripreme otopina.

Kinetička mjerenja su izvođena tako da se prvo smjesa vode i organskog otapala (ili voda sa dodanom kvarternom amonijevom soli) uz dodatak Na_2EDTA termostatirala u kvarcnoj kiveti minimalno 20 minuta prije početka mjerenja uz miješanje magnetnim mješačem. Potom je neposredno prije početka kinetike dodan Na-askorbat (uobičajeno $9 \text{ }\mu\text{L}$ $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ otopine pripremljene otapanjem odgovarajuće mase Na-askorbata u vodu s dodatkom $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ Na_2EDTA), a reakcija je započeta dodatkom $9 \text{ }\mu\text{L}$ $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ otopine $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

3.2.2. Određivanje koncentracije askorbata

Koncentracija askorbata u kinetičkim mjerenjima određivana je spektrofotometrijski snimanjem Uv-Vis spektra nakon dodatka askorbata u reakcijsku smjesu, neposredno prije započinjanja reakcije. Askorbat ima apsorpcijski maksimum na $\lambda_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$, međutim u zadanim uvjetima mjerenja apsorbanca u maksimumu ima prevelike vrijednosti ($\epsilon(\text{HAsc}^-)_{265 \text{ nm}} \sim 14\,500$) pa je očitavana apsorbanca na 294 nm . Za spektrofotometrijsko određivanje askorbata potrebno je poznavati molarne apsorpcijske koeficijente na valnoj duljini 294 nm za sve reakcijske uvjete u kojima je reakcija askorbata i heksacijanoferat(III) iona provedena. Molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata $\epsilon(\text{HAsc}^-)$ određeni su eksperimentalno u vodi i teškoj vodi, u smjesi s organskim otapalima i uz dodatak kvarternih

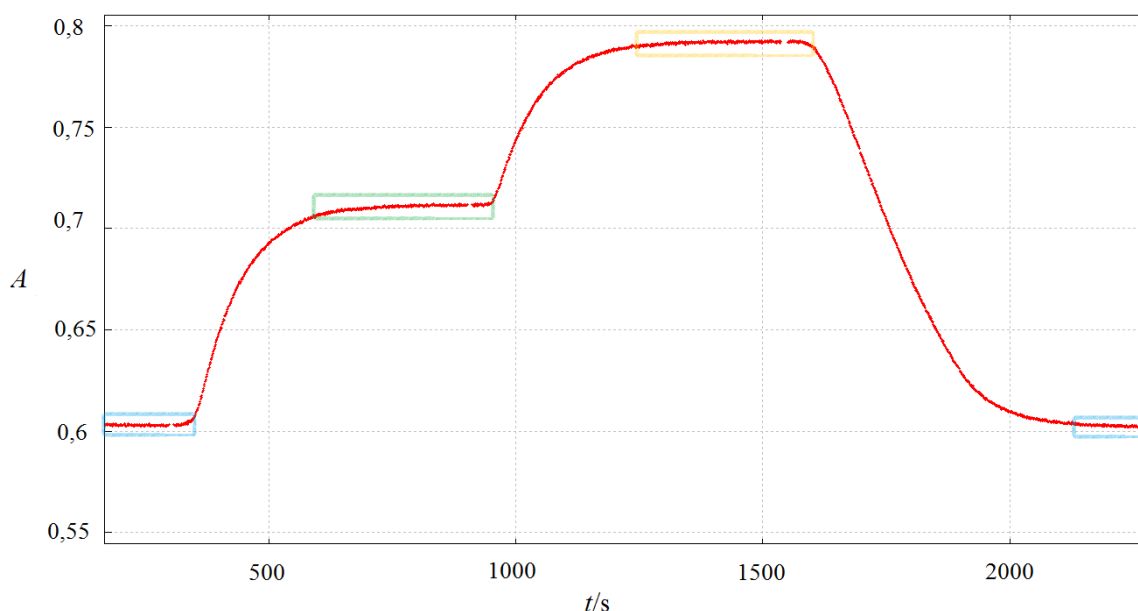
amonijevih soli, za temperaturni raspon u kojemu su napravljena kinetička mjerenja. Mjerena je apsorbancija $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ otopine Na-askorbata na 294 nm , na najnižoj temperaturi odabranog raspona, na $25,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ i na najvišoj temperaturi raspona te su primjenom Beer-Lambertova zakona izračunane vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata. Prikaz eksperimentalno određenih $\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ prema temperaturi daje linearnu ovisnost u svim provedenim mjerenjima, što je pokazano na primjeru temperaturene ovisnosti $\varepsilon(\text{HAsc}^-)_{294 \text{ nm}}$ u smjesi otapala acetonitril : voda = $0,10 : 0,90 \text{ v/v}$ za laku i tešku vodu (slika 3.3.). Iz jednadžbe pravca određeni su molarni apsorpcijski koeficijenti askorbata na ostalim temperaturama unutar raspona na kojima su napravljena kinetička mjerenja.



Slika 3.3. Ovisnost molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata o temperaturi u smjesi otapala acetonitril : $\text{H}_2\text{O} = 0,10 : 0,90 \text{ v/v}$ (●) i acetonitril : $\text{D}_2\text{O} = 0,10 : 0,90 \text{ v/v}$ (○); $r = 0,999$.

Mjerenja su provedena na način da je prvo u kvarcnoj kiveri pripremljena smjesa otapala i vode (H_2O ili D_2O) ili otopina kvarterne soli odgovarajuće koncentracije, koja je potom termostatirana minimalno 20 minuta, na najnižoj temperaturi raspona u kojem se određuje $\varepsilon(\text{HAsc}^-)$. Neposredno prije početka mjerenja u kiveru se dodaje $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ otopina Na-askorbata tako da konačna koncentracija odgovara $0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$. Nakon dodatka askorbata i ustaljenja apsorbancije, snima se spektar askorbata, potom se povisi temperatura termostata

na 25,0 °C. Nakon ustaljenja temperature, snima se spektar askorbata na 25,0 °C, te se povisi temperatura na najvišu vrijednost raspona u kojem se provodi mjerenje i ponovi postupak snimanja spektra. Kada se snimi spektar askorbata na najvišoj temperaturi raspona, temperatura se podesi na najnižu (početnu) vrijednost te se ponovno snimi spektar askorbata. Ovo drugo snimanje spektra askorbata na najnižoj temperaturi služi kao usporedba i eventualna korekcija apsorbancije askorbata zbog mogućnosti raspada askorbata tijekom mjerenja. Budući da su voda i pripremljene otopine, kao i kiveta u kojoj se provodi mjerenje, prethodno temeljito propuhane strujom dušika, raspad askorbata u ciklusu mjerenja je sveden na minimum te je korekcija uobičajeno iznosila < 2%. Prikaz opisanog mjerenja apsorbancije askorbata u ovisnosti o temperaturi dan je na slici 3.4.



Slika 3.4. Ovisnost apsorbancije askorbata ($\lambda = 294$ nm) o vremenu, u smjesi otapala acetonitril : D₂O = 0,10 : 0,90 v/v, određena pri temperaturama od 5,0 °C (plavo), 25,0 °C (zeleno), 40,0 °C (žuto) i 5,0 °C (plavo).

Određivanje molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata u smjesi otapala 1,4-dioksana i vode u omjeru 1 : 1 v/v provedeno je u uvjetima 0,0005 mol dm⁻³ Na-askorbata i 0,0005 mol dm⁻³ askorbinske kiseline kako bi se spriječio porast pH medija zbog većeg udjela 1,4-dioksana. Točna koncentracija askorbata prilikom mjerenja koju je potrebno poznavati da bi se izračunala vrijednost molarnog apsorpcijskog koeficijenta askorbata određena je računski

iz pK_a vrijednosti askorbinske kiseline pri različitim temperaturama, u smjesi otapala 1,4-dioksana i vode u omjeru 1 : 1 v/v, koje su poznate od prije.¹⁰⁵

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

Reakcija protonom spregnutog prijelaza elektrona (*proton coupled electron transfer* – PCET) ili alternativno prijenos vodikova atoma, kod oksidacije askorbatnog monoaniona (askorbata) heksacijanoferat(III) ionima, ranije proučavana u vodenoj sredini^{39,43} ovdje je ispitivana u miješanim otapalima, različitim smjesama vode i organskih otapala, prije svega u sustavima 1,4-dioksan-voda i acetonitril-voda, te u vodenoj sredini uz dodatak različitih kvarternih amonijevih iona. Provedenim eksperimentima pokazano je da se prijelaz protona u procesu odvija s 2-OH skupine askorbata na molekulu vode, zatim da se u procesu pojavljuju primarni kinetički deuterijski izotopni učinci, i ključno, da se dodatkom organskog otapala, kao i dodatkom kvarternih amonijevih iona u vodenu reakcijsku sredinu, dotadašnji pokazatelji da je u vodi režim reakcije preko reakcijske barijere (aktivacijski režim) mijenjaju u pokazatelje tunelskog režima tj. umjerenog tuneliranja vodika (*moderate hydrogen tunnelling*). Ključna eksperimentalna opažanja pritom obuhvaćaju znatno povećavanje kinetičkih izotopnih učinaka, te pojavu izotopnih razlika Arrheniusovih reakcijskih parametara odnosno pojavu izotopnih razlika aktivacijskih entalpija i aktivacijskih entropija u procesu, koje ukazuju i sukladne su odvijanju procesa u režimu tuneliranja vodika u ispitivanoj reakciji. Navedeni fenomeni opaženi su u opisanom istraživanju po prvi put uopće^{121,122} (porast KIE s dodatkom organskog otapala primijećen je i u istovremenom istraživanju interakcije askorbatnog monoaniona s TEMPO radikalom (2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloksil radikal), kod dodatka 1,4-dioksana u vodenu reakcijsku sredinu)¹⁰⁵ i susljedno objašnjavani^{121,122} utjecajem promjena dinamike vode do kojih dolazi dodatkom djelomično hidrofobnih molekula u vodenu sredinu i povezanošću te dinamike s reakcijskom koordinatom procesa prijelaza protona povezanog s prijelazom elektrona u ispitivanoj oksidoredukcijskoj reakciji.

4.1. Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode

4.1.1. Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionima u smjesama organskog otapala i vode jest PCET proces

Reakcija oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u vodi^{39,43} odvija se u dva reakcijska koraka od kojih je prvi PCET proces u kojem dolazi do usklađenog prijelaza elektrona s askorbata na heksacijanoferat(III) ion i protona s askorbatne 2-OH skupine na molekulu vode. PCET mehanizam je potvrđen na temelju izmjerenog kinetičkog izotopnog učinka (KIE) te iz provedene termokemijske analize,⁴³ a budući da promjena reakcijskog medija može utjecati na mehanizam reakcije potrebno je provjeriti odvija li se oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode također PCET procesom. Za tu svrhu potrebno je utvrditi ponovno postoje li kinetički izotopni učinci kao u vodi, i provesti termokemijsku analizu za navedenu reakciju, ovoga puta u smjesama odabranih organskih otapala i vode.

Kinetički izotopni učinak za oksidaciju askorbata heksacijanoferat(III) ionom u vodi određen je eksperimentalno i iznosi 4,6 (0,1).⁴³ Na temelju izmjerenog KIE isključen je prijelaz elektrona kojim bi nastao protonirani askorobil radikal (HAsc•) kao prvi korak u reakciji. Prijelaz protona sa HAsc• u drugom koraku bio bi brz, budući da je $pK_a(\text{HAsc}^\bullet) = -0,45$,^{39,156} i ne bi doveo do pojave KIE. Analogno ispitivanju u vodi, provedeno je određivanje KIE za istu reakciju u smjesama organskog otapala i vode te uz prisutnost kvarternih amonijevih soli. Od organskih otapala u smjesi s vodom kao reakcijski medij primijenjeni su 1,4-dioksan, acetonitril, etanol i aceton u različitim volumnim udjelima (v/v), a od kvarternih amonijevih soli tetraetilamonijev klorid (TEACl), tetrapropilamonijev klorid (TPACl), tetrabutilamonijev klorid (TBACl), benziltrimetilamonijev klorid (BTMACl), acetilkolin klorid (AChCl) i parakvat diklorid hidrat (PQCl₂) u vodi, u različitim množinskim koncentracijama. U svim navedenim reakcijskim medijima, za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom izmjeren je $\text{KIE} \geq 4,6$ što opravdava da se po istoj logici kao i za reakciju u vodi isključi mogućnost prijelaza elektrona (ET) kao prvog reakcijskog stupnja odnosno ET/PT stupnjevito mehanizma za navedenu reakciju. Budući da se na temelju izmjerenog KIE ne može eliminirati i PT/ET stupnjeviti mehanizam, potrebno je provesti termokemijsku analizu.

Termokemijskom analizom uspoređuju se vrijednosti standardne reakcijske Gibbsove energije (ΔG°) odgovarajućih stupnjevitih PT/ET i ET/PT reakcija i eksperimentalno određene aktivacijske reakcijske Gibbsove energije ($\Delta G^\ddagger$), budući da je uvijek $\Delta G^\ddagger \geq \Delta G^\circ$. Za termokemijsku analizu reakcije oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskih otapala i vode potrebno je poći od termokemijske analize za istu reakciju u vodi.⁴³

Termokemijska analiza reakcije oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u vodi:

Susljedni (stupnjeviti) prijelaz elektrona i protona, ET/PT

Početni ET s askorbatnog monoaniona HAsc^- u stupnjevitom ET/PT procesu dovodi do nastajanja vrlo reaktivnog međuprodukta, protoniranog askorbil radikala $\text{HAsc}^\bullet$, što se može prikazati polureakcijom:



te se iz poznatog redukcijskog elektrodnog potencijala $E^\circ(\text{HAsc}^\bullet/\text{HAsc}^-) = 0,720 \text{ V}^{104}$ može odrediti da je ΔG° ovog procesa 69,5 kJ/mol. Nastali protonirani askorbil radikal $\text{HAsc}^\bullet$ u sljedećem PT stupnju brzo otpušta proton ($\text{p}K_a = -0,45$, $\Delta G^\circ = -2,6 \text{ kJ/mol}$) pri čemu nastaje askorbil radikal anion $\text{Asc}^{\bullet-}$. U ovom stupnjevitom procesu početni ET je korak koji određuje brzinu reakcije, ali budući da dobivena ΔG° premašuje eksperimentalno određenu aktivacijsku Gibbsovu energiju $\Delta G^\ddagger = 62,3 (0,3) \text{ kJ/mol}$ u vodi, ovaj reakcijski put se može isključiti.

Susljedni (stupnjeviti) prijelaz protona i elektrona, PT/ET

Početni PT s askorbatnog monoaniona HAsc^- u stupnjevitom PT/ET procesu daje askorbatni dianion Asc^{2-} što se može prikazati polureakcijom:



te se iz poznate vrijednosti $\text{p}K_a = 11,34^{157}$ (pri $I_c = 0,1$) može odrediti da je ΔG° ovog procesa 64,7 kJ/mol. U sljedećem ET koraku askorbatni dianion Asc^{2-} otpušta elektron ($E^\circ(\text{Asc}^\bullet/\text{Asc}^{2-}) = 0,019 \text{ V}$, $\Delta G^\circ = 1,83 \text{ kJ/mol}$) pri čemu nastaje askorbil radikal anion $\text{Asc}^{\bullet-}$. U ovom slučaju početni PT je korak koji određuje brzinu reakcije, no dobivena ΔG° premašuje

eksperimentalno određenu aktivacijsku Gibbsovu energiju $\Delta G^\ddagger = 62,3$ (0,3) kJ/mol u vodi, te se i ovaj reakcijski put može isključiti.

Konačno, budući da je $\Delta G^\ddagger = 62,3$ kJ/mol za reakciju izračunana na temelju eksperimentalno određenih konstanti brzine reakcije u uvjetima primijenjenim u ovom istraživanju, uzimajući u obzir da je ta vrijednost manja od odgovarajuće vrijednosti za parcijalne procese koji bi mogli upravljati brzinom procesa (to jest predstavljati stupanj koji „određuje“ ili „kontrolira“ brzinu, u literaturi označen obično kao RDS, *rate determining step* ili RCS, *rate controlling step*) u slučaju stupnjevitog mehanizma (početna disocijacija protona s askorbatnog monoaniona te početni prijelaz elektrona s tog aniona opisanih u termokemijskoj analizi), a budući da vrijedi $\Delta G^\ddagger \geq \Delta G^\circ$, valja zaključiti da je promatrana reakcija doista PCET proces. U slučaju smjesa organskog otapala i vode u omjeru 1 : 1 v/v utvrđeno je analogno, budući da su ΔG° vrijednosti početnih ET i PT procesa još i veće u odnosu na vrijednosti u vodi (primjerice za PT je reakcijska Gibbsova energija $\Delta G^\circ = 76,5$ kJ/mol ($pK_a = 12,4$) u smjesi acetonitril : voda = 1 : 1 v/v), dok je eksperimentalno određena aktivacijska Gibbsova energija $\Delta G^\ddagger = 65,8$ kJ/mol.

4.1.2. Prijelaz protona u procesu odvija se s 2-OH skupine askorbata na molekulu vode

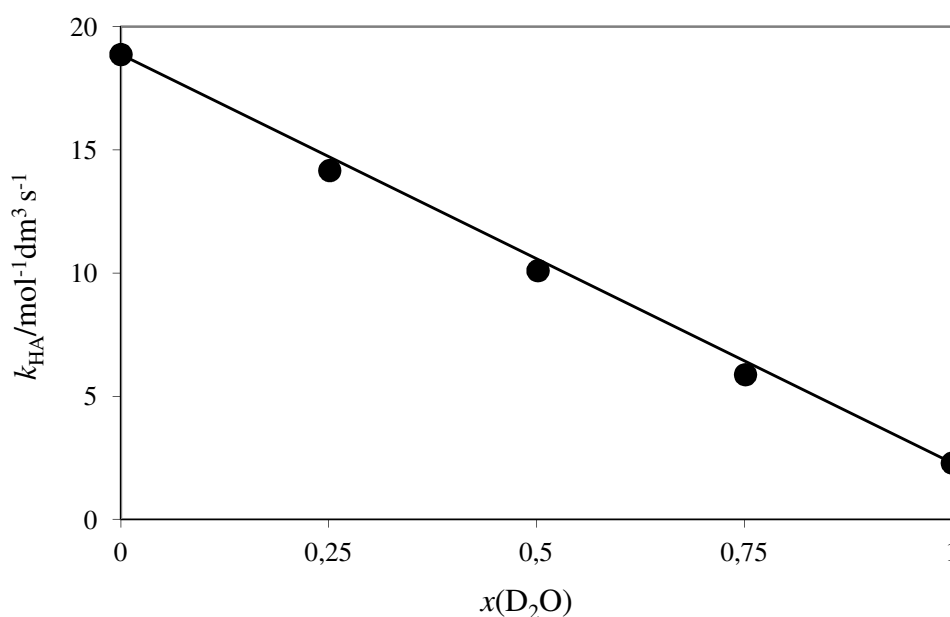
Rezultat ranijeg ispitivanja mehanizma procesa prijelaza protona u ovoj reakciji u vodi, primjenom metode pregleda protona (*proton inventory*, vidi poglavlje 2.4.5.), dobiven određivanjem ovisnosti konstanti brzine za reakciju o množinskom udjelu D_2O u H_2O pokazuje zakrivljenost navedene ovisnosti o množinskom udjelu D_2O .⁴³ Budući da bi prijelaz protona sa 2-OH skupine askorbata direktno na molekulu heksacijanoferat(III) iona (prijelaz jednog jedinog protona) davao, u skladu s općenito poznatim i prihvaćenim teorijskim i eksperimentalnim uvidima,¹¹⁰ linearnu ovisnost, što ovdje nije slučaj, može se zaključiti da u ispitivanoj reakciji molekula vode djeluje kao proton akceptor.

U smjesama organskog otapala i vode, određivanjem ovisnosti konstanti brzine za reakciju o množinskom udjelu D_2O u H_2O , dobivena je također zakrivljenost navedene ovisnosti o množinskom udjelu D_2O (tablica 4.1. i slika 4.1.). Takav tip ovisnosti upućuje na uključenost više od jednog protona u prijelazu, što ovdje neposredno znači da prijelaz protona nije možebitno s 2-OH skupine askorbata na heksacijanoferat(III) ion, koji u procesu prelazi u heksacijanoferat(II) ion te bi mogao biti potencijalni proton akceptor. Prema tome, prijelaz

protona u ispitivanoj reakciji u smjesama otapala odvija se na molekulu vode.^{43,121} U svrhu dobivanja detaljnije slike ispitan je i utjecaj acetatnih iona na konstantu brzine u smjesama organskog otapala i vode (tablice 4.2. i 4.3.). Dobiveni su posve analogni rezultati kao i u slučaju reakcije u vodi: mogući utjecaj acetatnog iona na proces pokazuje da nema relevantne promjene ni izotopnog učinka niti konstante brzine procesa koja bi se mogla očekivati kada bi acetatni anion čija je mnogo veća bazičnost vidljiva iz razlike pK_a acetatnog iona prema pK_a vode ($pK_a(\text{CH}_3\text{COOH}) = 4,75$, $pK_a(\text{H}_3\text{O}^+) = -1,74$, u vodi, pri 298 K), bio uključen u proces. Budući da i brzina prijelaza protona s nekoga proton donora na neki proton akceptor, kao i kinetički izotopni učinak u tom procesu, ovisi o bazičnosti proton akceptora (i o razlici pK_a vrijednosti između proton donora i akceptora, međutim u ovom slučaju proton donor je u oba potencijalna procesa isti), moglo bi se očekivati da će uključivanje u reakciju acetatnog iona dovesti do ubrzanja procesa. Kod usporedbe konstanti brzine proveden je pokus s jednakom koncentracijom natrijevog klorida kako bi ionska jakost bila jednaka onoj u pokusu s acetatom. Konstante brzine su u pokusu s NaCl bile gotovo jednake onima s Na-acetatom što ukazuje na to da acetatni ioni nisu djelovali kao proton akceptor u ispitivanoj reakciji. S obzirom na to da je acetat 6,5 pK_a jedinica bazičniji od vode može se zaključiti da je prijelaz protona na vodu energetski povoljniji, što je moguće objasniti prijelaznom konfiguracijom gdje se molekula vode nalazi između redoks partnera⁴³ (slika 2.7., poglavlje 2.1.3.). U slučaju predložene konfiguracije, mehanizam ove PCET reakcije će biti jednosmjerni PCET koji je energetski povoljniji od dvosmjernog, što je posljedica manje reorganizacijske energije λ (vidi poglavlje 2.1.).

Tablica 4.1. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi acetonitril : voda = 1 : 1 v/v kod različitih množinskih udjela D₂O u H₂O, pri 298 K, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$; $I_c = 0,0023$.

$x(\text{D}_2\text{O})$	$k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,0000	18,93	18,87 (0,05)
	18,82	
	18,86	
0,2512	14,17	14,16 (0,02)
	14,17	
	14,14	
0,5016	10,16	10,09 (0,12)
	10,17	
	9,95	
0,7512	5,88	5,88 (0,03)
	5,90	
	5,85	
1,000	2,27	2,29 (0,02)
	2,31	
	2,28	



Slika 4.1. Ovisnost konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi acetonitril : voda = 1 : 1 v/v o množinskom udjelu D_2O u H_2O (*proton inventory*), pri 298 K, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablice 4.1.

Tablica 4.2. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi acetonitril : voda = 1 : 1 v/v u prisutnosti $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ natrijevog acetata i natrijevog klorida pri 298 K.

	MeCN - H_2O		MeCN - D_2O		KIE
	k_{HA} / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$	k_{HA} / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1}$	
NaCl	151,7		22,7		
	148,1	149,5 (2,0) ^a	21,3	22,3 (0,8) ^a	6,70 (0,27)
	148,7		22,8		
Na-acetat	142,4		21,6		
	141,4	141,5 (0,8) ^b	21,4	21,6 (0,1) ^b	6,55 (0,05)
	140,7		21,6		

^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{NaCl}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$.

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na-acetat}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$ ($\text{p}K_a(\text{CH}_3\text{COOH}) = 6,01$,¹⁰⁵ MeCN:H₂O = 1:1 v/v, 298 K; $\text{p}K_a(\text{CH}_3\text{COOH}) = 6,53$,^{*} MeCN : $\text{D}_2\text{O} = 1 : 1$ v/v, 298 K). ^{*}Rezultat iz laboratorija.

Tablica 4.3. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v u prisutnosti 0,3 mol dm⁻³ natrijevog acetata i natrijevog klorida pri 298 K.

	$k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
NaCl	273,4	274,9 (2,3) ^a
	273,7	
	277,5	
Na-acetat	283,8	282,9 (4,0) ^b
	278,5	
	286,3	

^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{NaCl}) = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$.

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0002 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na-acetat}) = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$, ($\text{p}K_{\text{a}}(\text{CH}_3\text{COOH}) = 6,30$,¹⁰⁵ 1,4-dioksan : H₂O = 1 : 1 v/v, 298 K)

Sveukupno, i pregled protona za ispitivanu reakciju u smjesi otapala acetonitril : voda = 1 : 1 v/v koji pokazuje konkavno zakrivljenu ovisnost konstante brzine k_{HA} o množinskom udjelu D₂O u H₂O (slika 4.1.) te upućuje na uključenost više od jednog protona u prijelaznom stanju reakcije, i izostanak utjecaja acetata na brzinu i izotopne učinke u reakciji, u skladu je s ispitivanjem provedenim za oksidaciju askorbata heksacijanoferat(III) ionom u vodi, te predstavlja dodatnu potvrdu da se radi o istom reakcijskom mehanizmu.

4.1.3. Utjecaj malih ionskih jakosti ($I_c \leq 0,01$) na konstantu brzine reakcije u smjesama organskog otapala i vode

Ispitan je učinak malih ionskih jakosti ($I_c \leq 0,01$) na konstantu brzine reakcije oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v i acetonitril : voda = 1 : 1 v/v, u neutralnom pH području. Ionska jakost varirana je dodatkom soli Na₂EDTA u rasponu koncentracija od 0,0001 do 0,002 mol dm⁻³ u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v te 0,0001 do 0,00282 mol dm⁻³ u smjesi otapala acetonitril : voda = 1 : 1 v/v. Rezultati kinetičkih mjerenja prikazani su u tablicama 4.4. i 4.5.

Ionske jakosti navedenih mjerenja odgovaraju području u kojem vrijedi granični Debye-Hückelov zakon. S obzirom da su oba reaktanta negativno nabijena, dodatak soli imati će za posljedicu povećanje brzine reakcije što je u skladu s očekivanim primarnim kinetičkim

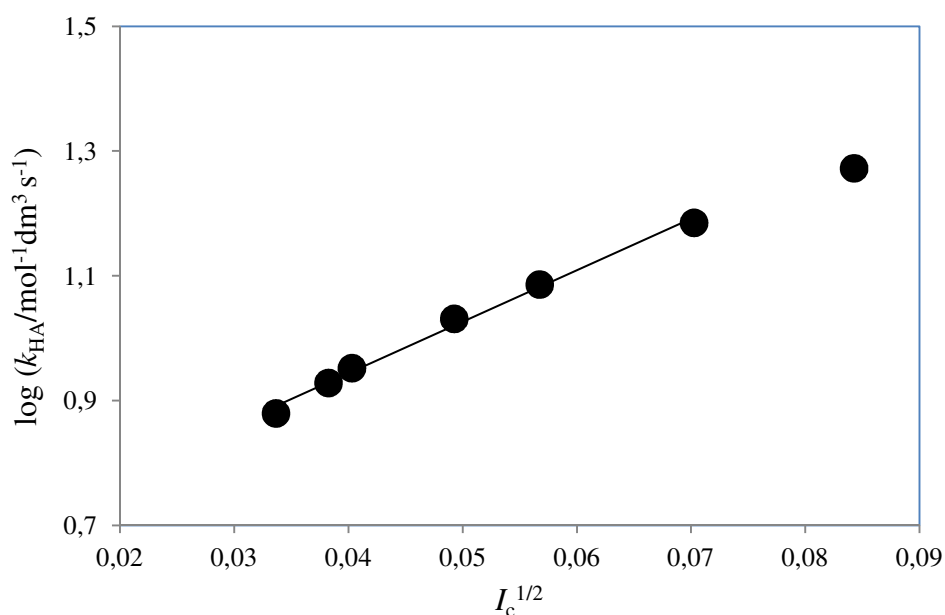
solnim učinkom za reakciju između reaktanata istovrsnog naboja (vidi poglavlje 2.4.6.). Dobiveni rezultati mjerenja prikazani su grafički kao ovisnosti $\log k_{\text{HA}}$ o korijenu ionske jakosti $I_c^{1/2}$ prema Brønsted-Debye-Hückelovom izrazu u graničnom Debye-Hückelovom području ($I_c \leq 0,01$). Iz nagiba i odsječka pravaca (slike 4.2. i 4.3.) određeni su naboji reaktanata (z_A i z_B) i konstante $k_{\text{HA},0}$ pri ionskoj jakosti $I_c = 0$ (tablica 4.6.).

Tablica 4.4. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v kod različitih ionskih jakosti pri 298 K, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$.

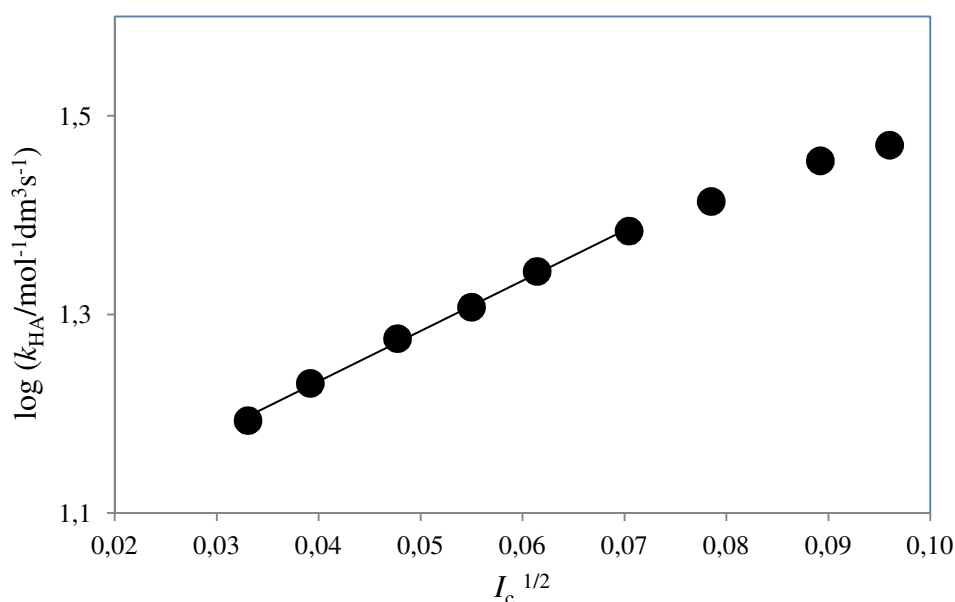
$c(\text{Na}_2\text{EDTA})/\text{mol dm}^{-3}$	I_c	$k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,00010	0,00132	7,75	7,57 (0,15)
		7,49	
		7,48	
0,00020	0,00146	8,57	8,47 (0,16)
		8,56	
		8,29	
0,00025	0,00162	9,03	8,95 (0,11)
		8,99	
		8,83	
0,00050	0,00243	10,7	10,7 (0,1)
		10,8	
		10,7	
0,00075	0,00322	12,1	12,2 (0,1)
		12,3	
		12,2	
0,00130	0,00494	15,2	15,3 (0,1)
		15,3	
		15,4	
0,00200	0,00710	18,7	18,7 (0,1)
		18,8	
		18,7	

Tablica 4.5. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi otapala acetonitril : voda = 1 : 1 v/v kod različitih ionskih jakosti pri 298 K, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{Na}_2\text{EDTA})/\text{mol dm}^{-3}$	I_c	$k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,00010	0,00110	15,6	15,6 (0,1)
		15,6	
		15,7	
0,00025	0,00153	16,9	17,0 (0,3)
		17,4	
		16,7	
0,00050	0,00228	18,9	18,9 (0,1)
		18,8	
		18,9	
0,00075	0,00302	20,5	20,3 (0,2)
		20,2	
		20,2	
0,00100	0,00377	22,2	22,0 (0,2)
		22,0	
		21,9	
0,00140	0,00496	24,2	24,2 (0,2)
		24,4	
		24,1	
0,00180	0,00616	26,1	25,9 (0,4)
		26,2	
		25,5	
0,00240	0,00796	28,3	28,5 (0,2)
		28,7	
		28,5	
0,00282	0,00922	29,4	29,6 (0,3)
		29,9	
		29,4	



Slika 4.2. Ovisnost $\log(k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1})$ o korijenu ionske jakosti za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v, pri 298 K, u neutralnom, $r = 0,994$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005\text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,005\text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005\text{ mol dm}^{-3}$. Podatci iz tablice 4.4.



Slika 4.3. Ovisnost $\log(k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1}\text{dm}^3\text{s}^{-1})$ o korijenu ionske jakosti za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi otapala acetonitril : voda = 1 : 1 v/v, pri 298 K, u neutralnom, $r = 0,998$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005\text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005\text{ mol dm}^{-3}$. Podatci iz tablice 4.5.

Tablica 4.6. Parametri dobiveni iz ovisnosti $\log(k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1})$ o korijenu ionske jakosti za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v i acetonitril : voda = 1 : 1 v/v pri 298 K, u neutralnom. Podatci iz tablica 4.4. i 4.5. i slika 4.2. i 4.3.

	1,4-dioksan - H ₂ O	MeCN - H ₂ O
nagib	8,25 (0,32)	5,07 (0,12)
odsječak	0,61 (0,02)	1,03 (0,01)
$z_A z_B^a$	2,96 (0,12)	3,28 (0,08)
$k_{\text{HA},0}^b/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	4,11 (0,15)	10,72 (0,15)

^a z_A i z_B su naboji reaktanata

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

Ovisnosti $\log k_{\text{HA}}$ o korijenu ionske jakosti $I_c^{1/2}$ za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v i acetonitril : voda = 1 : 1 v/v, prikazane na slikama 4.2. i 4.3., pokazuju linearnost ($r = 0,994$ i $r = 0,998$) u području ionskih jakosti do $I_c = 0,005$. U navedenom području dobiveni su nagibi pravaca 8,25 (0,32) za 1,4-dioksan i vodu i 5,07 (0,12) za acetonitril i vodu. Iz vrijednosti dielektričnih konstanti i gustoća 1,4-dioksana i acetonitrila određene su Debye-Hückelove A konstante za smjese otapala (tablica D.23. u Dodatku) u kojima su izvršena mjerenja te su izračunani produkti naboja reaktanata $z_A z_B$ (tablica 4.6.). Dobivene vrijednosti produkata naboja reaktanata koji iznose 2,96 (0,12) za smjesu otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v i 3,28 (0,08) za smjesu otapala acetonitril : voda = 1 : 1 v/v upućuju na to da su u području ionskih jakosti do $I_c = 0,005$ reaktanti u reakciji askorbatni monoanion i heksacijanoferat(III) ion (očekivani $z_A z_B = 3$). U području ionskih jakosti $I_c > 0,005$ u obje ispitivane smjese otapala dolazi do blagog zakrivljenja ovisnosti $\log k_{\text{HA}}$ o korijenu ionske jakosti $I_c^{1/2}$ odnosno izmjerene konstante brzine su manje od onih očekivanih iz linearne ovisnosti. Na temelju ovih opažanja može se pretpostaviti da u smjesama navedenih organskih otapala i vode pri $I_c > 0,005$ zbog smanjenja polarnosti medija dolazi do stvaranja ionskih parova vjerojatno između kationa Na^+ i $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ iona. S obzirom na to da utjecaj ionskih parova na mehanizam i brzinu reakcije nije istražen, sva daljnja mjerenja provođena su pri ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$ ili manjoj tj. u području u kojem je potvrđen PCET proces oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom.

4.1.4. Utjecaj različitih udjela organskog otapala u vodi na konstante brzine i kinetički izotopni učinak u reakciji

Reakcija oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom provedena je u različitim reakcijskim uvjetima s obzirom na volumne udjele (v/v) u smjesama 1,4-dioksana, acetonitrila, etanola i acetona s H₂O/D₂O te su određene konstante brzine i odgovarajući kinetički izotopni učinci. Rezultati prikazani u tablicama 4.7. – 4.10. pokazuju vrijednosti određene pri 298 K.

Mjerenja u smjesama 1,4-dioksana i vode, napravljena su u rasponu od 0,03 : 0,97 v/v do 1 : 1 v/v (tablica 4.7.). Već u uvjetima 1,4-dioksan : voda = 0,03 : 0,97 v/v primjetno je usporenje reakcije što se očituje u smanjenju konstante brzine reakcije od vrijednosti 71 (1)⁴³ za reakciju u vodi na 55,5 (0,6). Povećanjem udjela 1,4-dioksana smanjenje k_{HA} je sve izrazitije u H₂O i u D₂O. Isti trend uočen je i na konstantama brzine oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama otapala acetonitrila i vode (tablica 4.8.), etanola i vode (tablica 4.9.) i acetona i vode (tablica 4.10.). S druge strane, povećanjem udjela organskog otapala u reakcijskom mediju, dolazi do povećanja kinetičkog izotopnog učinka u odnosu na vrijednost u vodi od 4,6 (0,1). Tako se u smjesama 1,4-dioksana i vode KIE mijenja od vrijednosti 5,42 (0,10) u uvjetima 0,05 : 0,95 v/v do 7,87 (0,12) u uvjetima 1 : 1 v/v (tablica 4.7.), a slične vrijednosti dobivene su i u smjesama otapala acetonitrila i vode (tablica 4.8.), etanola i vode (tablica 4.9.) i acetona i vode (tablica 4.10.).

Smanjenje k_{HA} za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode u odnosu na proces u vodi povezano je s povećanjem aktivacijske Gibbsove energije tj. reakcijske barijere $\Delta G^\ddagger$ što je i eksperimentalno potvrđeno (vidi poglavlje 4.1.5.). Prema Marcusovom izrazu $\Delta G^\ddagger$ ovisi o reakcijskoj Gibbsovoj energiji ΔG° i reorganizacijskoj energiji λ .^{49,58} Smanjenjem polarnosti reakcijskog medija dolazi do smanjenja reorganizacijske energije λ jer je slabija interakcija nabijenih reaktanata s okolnim otapalom. Manja λ bi prema Marcusovom izrazu odgovarala povećanju k_{HA} , no smanjenje λ može biti kompenzirano povećanjem ΔG° . $E^\circ([Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-})$ se prelaskom iz vode u medij 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v smanjuje za 120 mV što bi moglo upućivati na povećanje ΔG° u reakciji. Ipak, promjena ΔG° se ne može točno utvrditi zbog nedostatnih informacija o promjeni $E^\circ(Asc^{\bullet-}, H^+/HAsc^-)$ prilikom prelaska iz vodene sredine u smjese organskog otapala i vode.

Tablica 4.7. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod različitih udjela 1,4-dioksana, pri 298 K, u neutralnom; $I_c = 0,0023$.

1,4-dioksan : voda (v/v)	1,4-dioksan - H ₂ O		1,4-dioksan - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
0,03 : 0,97	55,9				
	55,7	55,5 (0,6) ^a			
	54,8				
0,05 : 0,95	47,1		8,87		
	47,8	47,3 (0,5) ^a	8,71	8,73 (0,14) ^a	5,42 (0,10)
	46,9		8,60		
0,08 : 0,92	37,8				
	39,0	38,7 (0,7) ^a			
	39,2				
0,10 : 0,90	33,3		5,50		
	33,5	33,5 (0,3) ^a	5,39	5,43 (0,05) ^a	6,17 (0,08)
	33,8		5,42		
0,12 : 0,88	29,3				
	29,1	29,3 (0,2) ^a			
	29,4				
0,15 : 0,85	24,7		3,78		
	24,0	24,2 (0,4) ^a	3,65	3,72 (0,06) ^a	6,51 (0,17)
	24,0		3,72		
0,25 : 0,75	14,5		2,00		
	14,8	14,5 (0,2) ^b	2,02	1,97 (0,05) ^b	7,36 (0,21)
	14,4		1,92		
0,35 : 0,65	14,5		1,93		
	9,1				
	9,0	9,1 (0,1) ^b			
0,40 : 0,60	9,2				
	8,7		1,12		
	8,5	8,6 (0,1) ^b	1,16	1,14 (0,02) ^b	7,54 (0,19)
0,50 : 0,50	8,6		1,14		
	10,7		1,34		
	10,8	10,7 (0,1) ^b	1,38	1,36 (0,02) ^b	7,87 (0,12)
	10,7		1,36		

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

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

Tablica 4.8. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod različitih udjela acetonitrila, pri 298 K, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

MeCN : voda (v/v)	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
0,05 : 0,95	51,1		9,25		
	52,5	52,2 (1,0)	9,14	9,30 (0,19)	5,61 (0,16)
	53,0		9,52		
0,10 : 0,90	43,5		6,65		
	42,6	43,1 (0,6)	6,61	6,63 (0,02)	6,50 (0,10)
	43,1		6,62		
0,25 : 0,75	23,7		2,84		
	23,2	23,4 (0,2)	2,88	2,87 (0,03)	8,15 (0,11)
	23,4		2,88		
0,40 : 0,60	19,1		2,26		
	18,8	18,8 (0,3)	2,21	2,22 (0,03)	8,47 (0,26)
	18,4		2,19		
0,50 : 0,50	18,9		2,27		
	18,8	18,9 (0,1)	2,31	2,29 (0,02)	8,25 (0,09)
	18,9		2,28		

Tablica 4.9. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod različitih udjela etanola, pri 298 K, u neutralnom; $I_c = 0,0015$.

EtOH(D) : voda (v/v)	EtOH - H ₂ O		EtOD - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
0,05 : 0,95	53,7		9,91		5,42 (0,02)
	53,5	53,6 (0,1) ^a	9,86	9,89 (0,03) ^a	
	53,6		9,89		
0,10 : 0,90	47,2		8,26		5,72 (0,06)
	47,1	46,9 (0,4) ^b	8,20	8,20 (0,05) ^b	
	46,4		8,16		
0,50 : 0,50	11,28		1,46		7,90 (0,22)
	11,31	11,30 (0,02) ^a	1,37	1,43 (0,04) ^a	
	11,31		1,42		
			1,45		

^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,00075 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$,
 $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$

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

Tablica 4.10. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetona i vode kod različitih udjela acetona, pri 298 K, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

acetone : voda (v/v)	acetone - H ₂ O		acetone - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{HA}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
0,05 : 0,95	45,7		8,83		5,33 (0,12)
	46,2	46,2 (0,6)	8,67	8,67 (0,16)	
	46,8		8,52		
0,50 : 0,50	6,63		0,779		8,62 (0,13)
	6,75	6,68 (0,06)	0,765	0,775 (0,009)	
	6,66		0,782		

U tablicama 4.11., 4.12. i 4.13. prikazane su konstante brzine u H₂O i D₂O i kinetički izotopni učinci u smjesama 1,4-dioksana i vode korigirane s obzirom na razlike u dielektričnim konstantama i gustoćama medija koje ovise o sastavu smjese otapala, a sadržane su u Debye-Hückelovoj *A* konstanti.¹⁵⁸ *A* konstante za različite udjele 1,4-dioksana u vodi izračunane su iz poznatih vrijednosti za dielektrične konstante i gustoće čistog 1,4-dioksana i vode (vidi tablicu D.23. u Dodatku). Korigirane konstante i kinetički izotopni učinci pokazuju isti trend s obzirom na dodatak 1,4-dioksana u vodu kao i prije korekcije što ukazuje da zapaženo povećanje KIE ne ovisi samo o promjeni polarnosti medija već i o drugim aspektima sustava.

Tablica 4.11. Konstante brzine ($I_c = 0,0023$) i korigirane konstante brzine ($k_{0,HA}$, $I_c = 0$) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i H₂O kod različitih udjela 1,4-dioksana, pri 298 K, u neutralnom.

1,4-dioksan : H ₂ O (v/v)	<i>A</i>	$k_{HA}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ $I_c = 0,0023$	$k_{0,HA}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ $I_c = 0^c$
0,00 : 1,00 ^{a,d}	0,509	71,3 (0,7)	50,9 (0,7)
0,03 : 0,97 ^a	0,532	55,5 (0,6)	38,7 (0,6)
0,05 : 0,95 ^a	0,549	47,3 (0,5)	32,9 (0,5)
0,08 : 0,92 ^a	0,575	38,7 (0,7)	26,5 (0,7)
0,10 : 0,90 ^a	0,594	33,5 (0,3)	22,6 (0,3)
0,12 : 0,88 ^a	0,614	29,3 (0,2)	19,5 (0,2)
0,15 : 0,85 ^a	0,646	24,2 (0,4)	15,8 (0,4)
0,25 : 0,75 ^b	0,776	14,5 (0,2)	8,7 (0,2)
0,35 : 0,65 ^b	0,955	9,1 (0,1)	4,8 (0,1)
0,40 : 0,60 ^b	1,072	8,6 (0,1)	4,2 (0,1)
0,50 : 0,50 ^b	1,392	10,7 (0,1)	4,2 (0,1)

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

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

^c konstante brzine ekstrapolirane na ionsku jakost $I_c = 0$, s obzirom na razlike u dielektričnim konstantama i gustoćama između odgovarajućih smjesa otapala 1,4-dioksana i vode koje su sadržane u Debye-Hückelovoj *A* konstanti¹⁵⁸

^d podatak iz reference 43

Tablica 4.12. Konstante brzine ($I_c = 0,0023$) i korigirane konstante brzine ($k_{0,HA}$, $I_c = 0$) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i D₂O kod različitih udjela 1,4-dioksana, pri 298 K, u neutralnom.

1,4-dioksan : D ₂ O (v/v)	A	$k_{HA}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$k_{0,HA}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
		$I_c = 0,0023$	$I_c = 0^c$
0,00 : 1,00 ^{a,d}	0,540	15,5 (0,1)	10,8 (0,1)
0,05 : 0,95 ^a	0,581	8,73 (0,14)	5,94 (0,14)
0,10 : 0,90 ^a	0,628	5,43 (0,05)	3,59 (0,05)
0,15 : 0,85 ^a	0,681	3,72 (0,06)	2,35 (0,06)
0,25 : 0,75 ^b	0,813	1,97 (0,05)	1,14 (0,05)
0,40 : 0,60 ^b	1,115	1,14 (0,02)	0,54 (0,02)
0,50 : 0,50 ^b	1,440	1,36 (0,02)	0,53 (0,02)

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

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

^c konstante brzine ekstrapolirane na ionsku jakost $I=0$, s obzirom na razlike u dielektričnim konstantama i gustoćama između odgovarajućih smjesa otapala 1,4-dioksana i vode koje su sadržane u Debye-Hückelovoj A konstanti¹⁵⁸

^d podatak iz reference 43

Tablica 4.13. Kinetički izotopni učinci ($I_c = 0,0023$) i korigirani kinetički izotopni učinci ($I_c = 0$) za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod različitih udjela 1,4-dioksana, pri 298 K, u neutralnom.

1,4-dioksan : voda (v/v)	KIE	KIE ₀ ^c
0,00 : 1,00 ^{a,d}	4,60 (0,06)	4,70 (0,06)
0,05 : 0,95 ^a	5,42 (0,10)	5,54 (0,10)
0,10 : 0,90 ^a	6,17 (0,08)	6,30 (0,08)
0,15 : 0,85 ^a	6,51 (0,17)	6,72 (0,17)
0,25 : 0,75 ^b	7,36 (0,21)	7,60 (0,21)
0,40 : 0,60 ^b	7,54 (0,19)	7,78 (0,19)
0,50 : 0,50 ^b	7,87 (0,12)	7,92 (0,12)

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

^b $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$

^c KIE pri $I_c = 0$

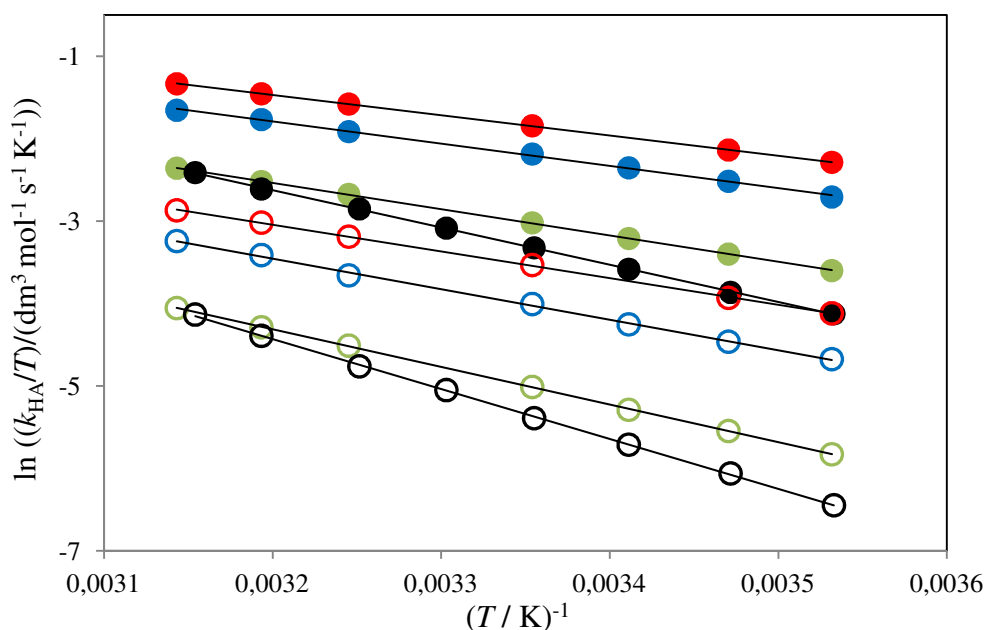
^d podatak iz reference 43

Postupno povećanje vrijednosti KIE s povećanjem udjela organskog otapala u reakcijskom mediju uočeno je za sva ispitivana otapala i predstavlja značajan nalaz koji zajedno s aktivacijskim parametrima (vidi poglavlje 4.1.5.) reakcije oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom govori u prilog fenomena tuneliranja protona u sustavu. Dodatak organskog otapala u vodu već u omjeru 0,05 : 0,95 v/v dovodi do bitne promjene KIE koji iznosi 5,42 (0,10) za smjesu 1,4-dioksana i vode, 5,61 (0,16) u slučaju acetonitrila i vode, 5,42 (0,02) za etanol i vodu i 5,33 (0,12) za aceton i vodu (tablice 4.7. do 4.10.). Smanjenje polarnosti reakcijskog medija izazvano dodatkom organskog otapala u vodu dovodi do povećanja udaljenosti reaktanata istovrsnog naboja što doprinosi povećanju udaljenosti između donora i akceptora protona u PCET procesu.¹² Na taj način donor i akceptor protona dolaze u nepovoljniji položaj za prijelaz protona, što će biti izraženije u slučaju prijelaza deuterija zbog njegove veće mase odnosno slabijeg prekrivanja valnih funkcija donora i akceptora. Posljedica navedenog je porast KIE s obzirom na povećanje udjela organskog otapala. No smanjenje polarnosti medija ipak ne može objasniti zapažene promjene jer između primijenjenih otapala postoje značajne razlike u polarnosti ($\epsilon_r(1,4\text{-dioksan}) = 2,25$, $\epsilon_r(\text{acetonitril}) = 37,5$), dok su promjene KIE i aktivacijskih parametara približno iste. Cjelovito objašnjenje može se dati u okviru markusianskog modela tuneliranja^{4-6,8,76,115,117} koje uzima u obzir dinamičke aspekte sustava donor-proton-akceptor kao i dinamiku neposrednog okoliša sustava koji tunelira.

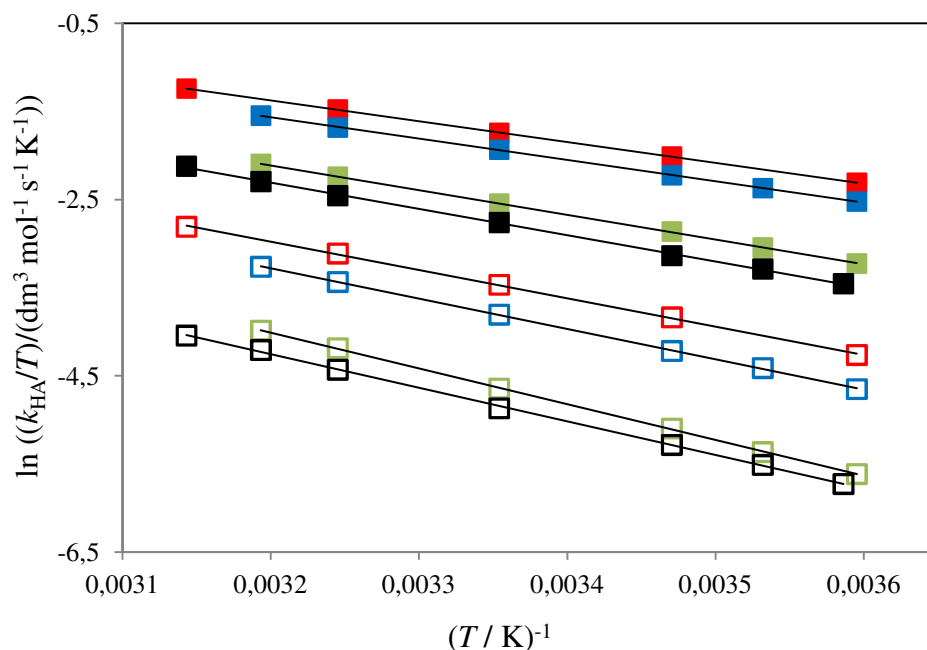
4.1.5. Aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u smjesama organskog otapala i vode

Određeni su aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata i heksacijanoferata(III) u smjesama 1,4-dioksana i vode, acetonitrila i vode te etanola i vode u omjerima 0,05 : 0,95 v/v do 1 : 1 v/v. Mjerenja su provedena u smjesama organskih otapala s lakom (H_2O) i teškom (D_2O) vodom, u neutralnom ($\text{pH} = 5,7$, $\text{pD} = 6,2$), pri ionskoj jakosti uobičajeno $I_c = 0,0023$. Konstante brzine u lakoj i teškoj vodi, te kinetički izotopni učinci određeni su u ovisnosti o temperaturi unutar temperaturnog raspona od 278 do 318 K, u različitim smjesama organskog otapala i vode. Rezultati mjerenja prikazani su u tablicama D.1. – D.11. u Dodatku. Izmjerene konstante brzine u ovisnosti o temperaturi prikazane su prema Eyringovoj i Arrheniusovoj jednadžbi (slike 4.4. do 4.9.) te su određeni odgovarajući aktivacijski parametri. Eyringovi aktivacijski parametri $\Delta H^\ddagger$, $\Delta S^\ddagger$ i $\Delta G^\ddagger$ i izotopne razlike aktivacijskih parametara $\Delta\Delta H^\ddagger$ i $\Delta\Delta S^\ddagger$

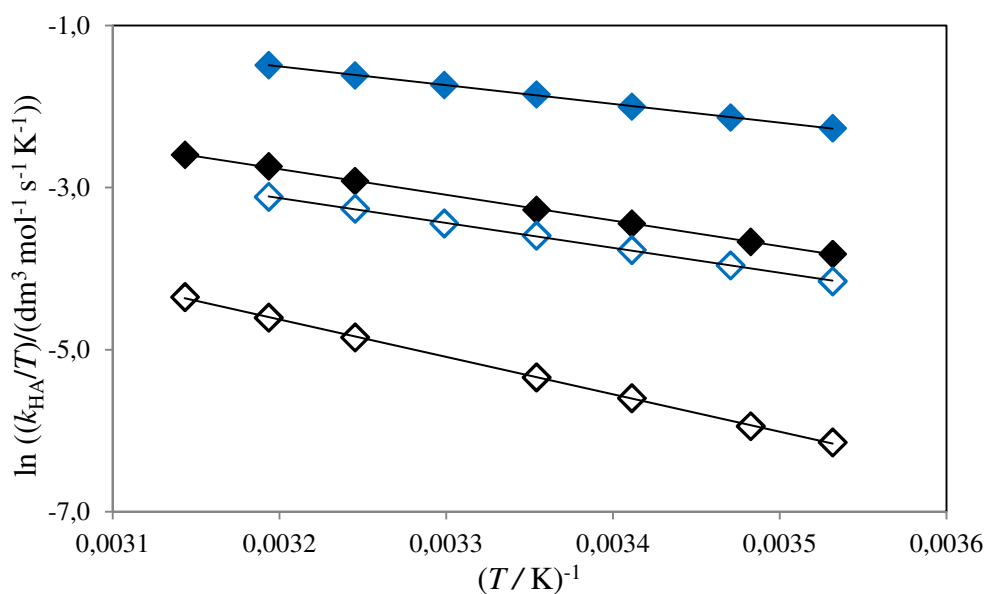
za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode, acetonitrila i vode te etanola i vode prikazani su u tablicama 4.14., 4.15. i 4.16., a Arrheniusovi aktivacijski parametri E_a i A i izotopni omjer predeksponencijalnih faktora A_H/A_D u tablicama 4.17., 4.18. i 4.19. Na slikama 4.10. do 4.12. prikazane su temperaturne ovisnosti kinetičkih izotopnih učinaka za pojedine smjese otapala i vode (vidi poglavlje 2.4.4.).



Slika 4.4. Eyringova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (●), 0,10 : 0,90 v/v (●), 0,25 : 0,75 v/v (●) i 1 : 1 v/v (●) u H₂O (puni kružići) i D₂O (prazni kružići) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.1. – D.4.



Slika 4.5. Eyringova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (■), 0,10 : 0,90 v/v (■), 0,25 : 0,75 v/v (■) i 1 : 1 v/v (■) u H₂O (puni kvadratići) i D₂O (prazni kvadratići) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.5.- D.7. i D.9.



Slika 4.6. Eyringova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod 0,10 : 0,90 v/v, $I_c = 0,0023$ (◆) i 1 : 1 v/v $I_c = 0,0015$ (◆) u H₂O (puni rombići) i D₂O (prazni rombići) u neutralnom. Podatci iz tablica D.10. i D.11.

Tablica 4.14. Eyringovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod različitih udjela 1,4-dioksana, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.1. – D.4. i iz ovisnosti na slici 4.4.

1,4-dioksan : voda (v/v)		$\Delta H^\ddagger /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta S^\ddagger /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹	$\Delta G^{\ddagger a} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta H^{\ddagger b} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta S^{\ddagger c} /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹
0,05 : 0,95	H ₂ O	20,4 (0,1)	-144,4 (0,3)	63,5 (0,1)	6,5 (0,2)	7,8 (0,8)
	D ₂ O	26,9 (0,2)	-136,6 (0,7)	67,7 (0,3)		
0,10 : 0,90	H ₂ O	22,4 (0,4)	-140,7 (1,2)	64,4 (0,5)	8,4 (0,6)	12,9 (2,1)
	D ₂ O	30,8 (0,5)	-127,8 (1,7)	68,9 (0,7)		
0,25 : 0,75	H ₂ O	26,6 (0,1)	-133,7 (0,4)	66,4 (0,2)	11,5 (0,2)	22,3 (0,7)
	D ₂ O	38,1 (0,2)	-111,4 (0,6)	71,4 (0,2)		
0,50 : 0,50	H ₂ O	37,6 (0,2)	-99,0 (0,7)	67,1 (0,3)	12,7 (0,4)	25,6 (1,4)
	D ₂ O	50,3 (0,4)	-73,4 (1,2)	72,2 (0,5)		

^a 298,15 K; ^b $\Delta\Delta H^\ddagger = \Delta H^\ddagger(D) - \Delta H^\ddagger(H)$; ^c $\Delta\Delta S^\ddagger = \Delta S^\ddagger(H) - \Delta S^\ddagger(D)$

Tablica 4.15. Eyringovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod različitih udjela acetonitrila, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.5. – D.9. i iz ovisnosti na slici 4.5.

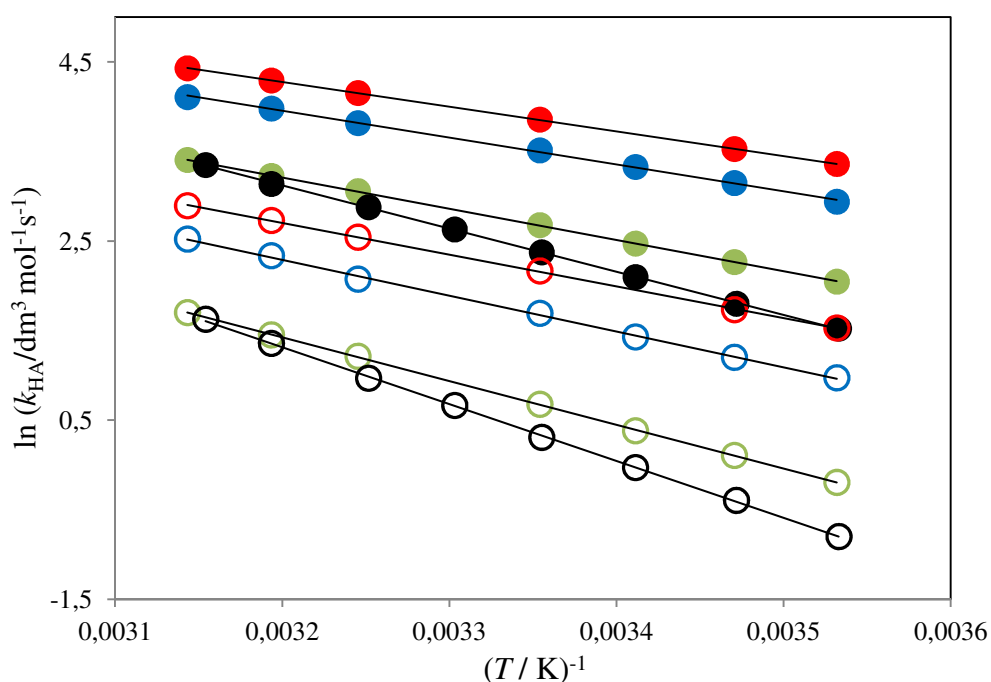
MeCN : voda (v/v)		$\Delta H^\ddagger /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta S^\ddagger /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹	$\Delta G^{\ddagger a} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta H^{\ddagger b} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta S^{\ddagger c} /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹
0,05 : 0,95	H ₂ O	19,7 (0,1)	-146,0 (0,3)	63,2 (0,1)	7,1 (0,4)	9,4 (1,2)
	D ₂ O	26,8 (0,3)	-136,6 (1,2)	67,5 (0,5)		
0,10 : 0,90	H ₂ O	20,1 (0,1)	-146,2 (0,4)	63,7 (0,2)	8,6 (0,2)	13,1 (0,8)
	D ₂ O	28,7 (0,2)	-133,1 (0,7)	68,3 (0,3)		
0,25 : 0,75	H ₂ O	23,3 (0,1)	-140,4 (0,3)	65,2 (0,1)	10,5 (0,2)	17,7 (0,8)
	D ₂ O	33,8 (0,2)	-122,7 (0,7)	70,4 (0,3)		
0,40 : 0,60	H ₂ O	24,6 (0,2)	-137,9 (0,7)	65,8 (0,3)	10,5 (0,4)	17,4 (1,2)
	D ₂ O	35,1 (0,3)	-120,5 (1,0)	71,0 (0,4)		
0,50 : 0,50	H ₂ O	24,8 (0,3)	-137,3 (1,0)	65,8 (0,4)	6,9 (0,4)	5,9 (1,5)
	D ₂ O	31,7 (0,3)	-131,4 (1,1)	70,9 (0,5)		

^a 298,15 K; ^b $\Delta\Delta H^\ddagger = \Delta H^\ddagger(D) - \Delta H^\ddagger(H)$; ^c $\Delta\Delta S^\ddagger = \Delta S^\ddagger(H) - \Delta S^\ddagger(D)$

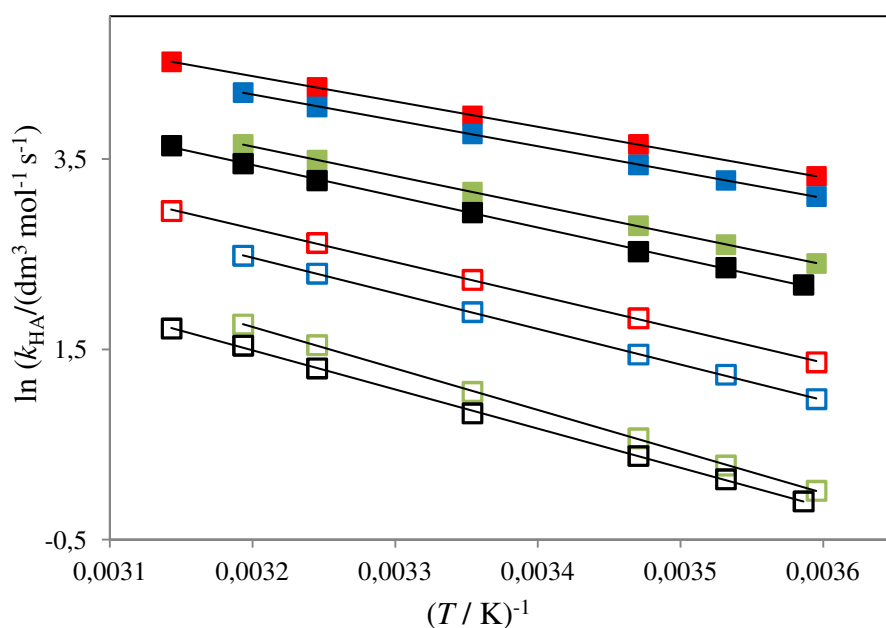
Tablica 4.16. Eyringovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod različitih udjela etanola, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.10. i D.11. i iz ovisnosti na slici 4.6.

EtOH : voda (v/v)		$\Delta H^\ddagger /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta S^\ddagger /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹	$\Delta G^{\ddagger a} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta H^{\ddagger b} /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta S^{\ddagger c} /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹
0,10 : 0,90	H ₂ O	19,2 (0,2)	-148,6 (0,6)	63,5 (0,3)	6,4 (0,3)	7,0 (1,0)
	D ₂ O	25,6 (0,2)	-141,6 (0,8)	67,8 (0,3)		
0,50 : 0,50	H ₂ O	26,4 (0,2)	-136,0 (0,7)	67,0 (0,3)	11,9 (0,4)	22,7 (1,2)
	D ₂ O	38,3 (0,3)	-113,3 (1,0)	72,1 (0,4)		

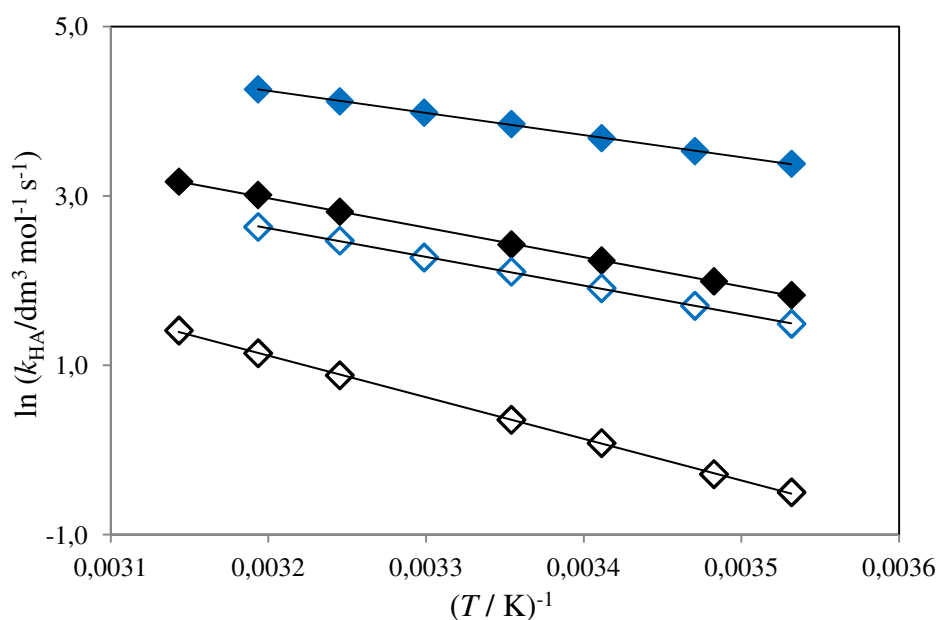
^a 298,15 K; ^b $\Delta\Delta H^\ddagger = \Delta H^\ddagger(D) - \Delta H^\ddagger(H)$; ^c $\Delta\Delta S^\ddagger = \Delta S^\ddagger(H) - \Delta S^\ddagger(D)$



Slika 4.7. Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (●), 0,10 : 0,90 v/v (●), 0,25 : 0,75 v/v (●) i 1 : 1 v/v (●) u H₂O (puni kružići) i D₂O (prazni kružići) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.1. – D.4.



Slika 4.8. Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (■), 0,10 : 0,90 v/v (■), 0,25 : 0,75 v/v (■) i 1 : 1 v/v (■) u H₂O (puni kvadratići) i D₂O (prazni kvadratići) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.5. – D.7. i D.9.



Slika 4.9. Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod 0,10 : 0,90 v/v, $I_c = 0,0023$ (◆) i 1 : 1 v/v $I_c = 0,0015$ (◆) u H₂O (puni rombići) i D₂O (prazni rombići) u neutralnom. Podatci iz tablica D.10. i D.11.

Tablica 4.17. Arrheniusovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod različitih udjela 1,4-dioksana, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.1. – D.4. i iz ovisnosti na slici 4.7.

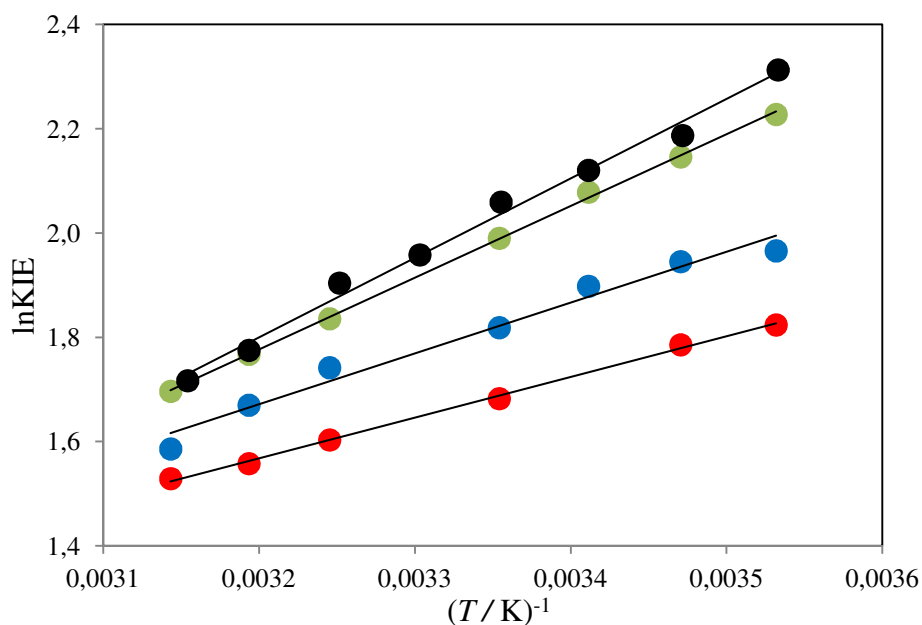
1,4-dioksan : voda (v/v)		$E_a/\text{kJ mol}^{-1}$	$10^6 A/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	A_H/A_D
0,05 : 0,95	H ₂ O	22,9 (0,1)	0,48 (0,01)	0,39 (0,03)
	D ₂ O	29,4 (0,2)	1,24 (0,10)	
0,10 : 0,90	H ₂ O	24,9 (0,4)	0,76 (0,11)	0,21 (0,05)
	D ₂ O	33,3 (0,5)	3,60 (0,73)	
0,25 : 0,75	H ₂ O	29,0 (0,1)	1,8 (0,1)	0,07 (0,01)
	D ₂ O	40,6 (0,2)	25,7 (0,2)	
0,50 : 0,50	H ₂ O	40,1 (0,2)	114 (10)	0,046 (0,008)
	D ₂ O	52,8 (0,4)	2476 (367)	

Tablica 4.18. Arrheniusovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod različitih udjela acetonitrila u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.5. – D.9. i iz ovisnosti na slici 4.8.

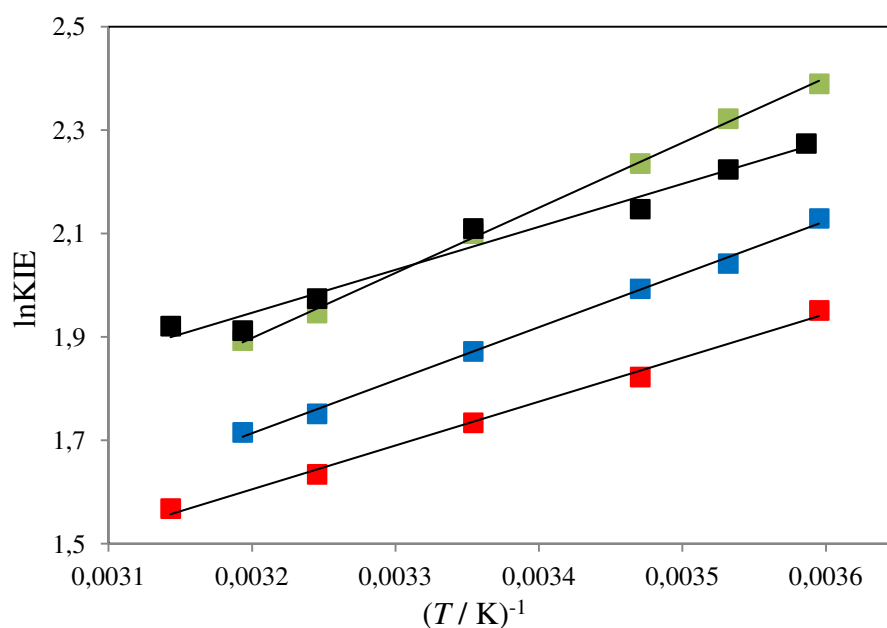
MeCN : voda (v/v)		$E_a/\text{kJ mol}^{-1}$	$10^6 A/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	A_H/A_D
0,05 : 0,95	H ₂ O	22,1 (0,1)	0,40 (0,01)	0,32 (0,04)
	D ₂ O	29,3 (0,3)	1,24 (0,16)	
0,10 : 0,90	H ₂ O	22,6 (0,1)	0,39 (0,02)	0,21 (0,02)
	D ₂ O	31,1 (0,2)	1,86 (0,14)	
0,25 : 0,75	H ₂ O	25,8 (0,1)	0,77 (0,03)	0,12 (0,01)
	D ₂ O	36,2 (0,2)	6,48 (0,55)	
0,40 : 0,60	H ₂ O	27,1 (0,2)	1,05 (0,09)	0,12 (0,02)
	D ₂ O	37,6 (0,3)	8,50 (1,01)	
0,50 : 0,50	H ₂ O	27,3 (0,3)	1,13 (0,14)	0,49 (0,09)
	D ₂ O	34,2 (0,3)	2,31 (0,31)	

Tablica 4.19. Arrheniusovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod različitih udjela etanola, u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Određeno na temelju podataka iz tablica D.10. i D.11. i iz ovisnosti na slici 4.9.

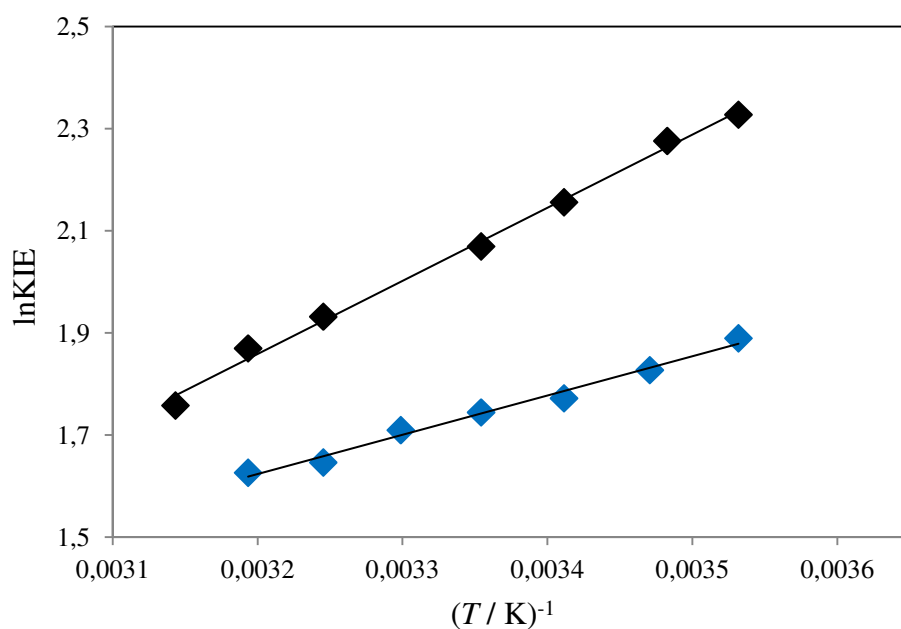
EtOH : voda (v/v)		$E_a/\text{kJ mol}^{-1}$	$10^6 A/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	A_H/A_D
0,10 : 0,90	H ₂ O	21,7 (0,2)	0,29 (0,02)	0,43 (0,05)
	D ₂ O	28,1 (0,2)	0,67 (0,06)	
0,50 : 0,50	H ₂ O	28,9 (0,2)	1,34 (0,12)	0,065 (0,010)
	D ₂ O	40,8 (0,3)	20,5 (2,44)	



Slika 4.10. Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama 1,4-dioksana i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (●), 0,10 : 0,90 v/v (●), 0,25 : 0,75 v/v (●) i 1 : 1 v/v (●) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.1. – D.4.



Slika 4.11. Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama acetonitrila i vode kod 0,05 : 0,95 v/v (■), 0,10 : 0,90 v/v (■), 0,25 : 0,75 v/v (■) i 1 : 1 v/v (■) u neutralnom; $I_c = 0,0023$. Podatci iz tablica D.5. – D.7. i D.9.



Slika 4.12. Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u smjesama etanola i vode kod 0,10 : 0,90 v/v, $I_c = 0,0023$ (◆) i 1 : 1 v/v $I_c = 0,0015$ (◆) u neutralnom. Podatci iz tablica D.10. i D.11.

Važnost određivanja i analize aktivacijskih parametara jest u tome što mogu ukazati na tuneliranje u reakciji. Usporedbom s reakcijom askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodi, dodatak organskog otapala u reakcijsku smjesu izazvao je promjenu reakcijskog režima iz prijelaza preko barijere (*over-the-barrier*) u režim tuneliranja. To se može zaključiti usporedbom izotopnih omjera predeksponencijalnih faktora A_H/A_D koji za omjer otapala 0,05 : 0,95 v/v u vodi iznosi 0,39 (0,03) za 1,4-dioksan-vodu i 0,32 (0,04) za acetonitril-vodu što je značajno izvan semiklasičnog okvira 0,5 – 1,4.¹ Za veće udjele 1,4-dioksana u vodi A_H/A_D je još izrazitije smanjen i to sve do vrijednosti 0,046 (0,008) za 1,4-dioksan-vodu u omjeru 1 : 1 v/v. S povećanjem udjela acetonitrila u vodi A_H/A_D pada do vrijednosti 0,12 (0,02) za omjer 0,40 : 0,60 v/v da bi se potom za omjer acetonitrila i vode 1 : 1 v/v povećao na 0,49 (0,09). Dodatkom etanola u vodu u omjeru 0,10 : 0,90 v/v A_H/A_D je 0,43 (0,05) što je malo ispod granice od 0,5, dok za etanol i vodu u omjeru 1 : 1 v/v iznosi 0,065 (0,010). Tuneliranju u prilog govore i izotopne razlike aktivacijskih parametara $\Delta\Delta H^\ddagger$ koje za sve omjere 1,4-dioksana, acetonitrila i etanola u vodi daju vrijednosti značajno veće od semiklasične vrijednosti 5,1 kJ/mol.¹ U slučaju 1,4-dioksana i vode $\Delta\Delta H^\ddagger$ vrijednosti su u rasponu od 6,5 (0,2) kJ/mol za 0,05 : 0,95 v/v do 12,7 (0,4) kJ/mol za omjer 1 : 1 v/v. Za acetonitril i vodu $\Delta\Delta H^\ddagger$ vrijednosti se kreću od 7,1 (0,4) kJ/mol za 0,05 : 0,95 v/v do 10,5 (0,4) kJ/mol za omjer 0,40 : 0,60 v/v, te 6,9 (0,4) kJ/mol za 1 : 1 v/v. U smjesi etanola i vode 0,10 : 0,90 v/v $\Delta\Delta H^\ddagger$ iznosi 6,4 (0,3) kJ/mol, a za 1 : 1 v/v 11,9 (0,4) kJ/mol. Navedene vrijednosti aktivacijskih parametara za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom zajedno s ranije navedenim kinetičkim izotopnim učincima (vidi poglavlje 4.1.4.) ukazuju na tuneliranje protona u PCET procesu dodatkom organskog otapala u sustav već u udjelu 0,05 : 0,95 v/v. Daljnjom analizom aktivacijskih parametara za reakciju u uvjetima organsko otapalo : voda = 0,05 : 0,95 v/v, može se primijetiti da se aktivacijska Gibbsova energija $\Delta G^\ddagger$ koja odgovara visini reakcijske barijere promijenila za ~ 1 kJ/mol u odnosu na vrijednost od 62,3 (0,3)⁴³ kJ/mol u vodi. Također, ako se uzme u obzir da volumni udjeli od 0,05 : 0,95 v/v za navedene primjere odgovaraju množinskim koncentracijama u rasponu od 0,5 do 1 mol dm⁻³ što je otprilike jedna do dvije molekule organskog otapala na 100 molekula vode, postavlja se pitanje na koji način molekule organskog otapala dovode do promjene režima reakcije. Mala promjena visine barijere teško može objasniti ulazak reakcije u režim tuneliranja, što upućuje na mogućnost utjecaja širine barijere na promjenu režima u reakciji. Širina barijere može se povećavati s povećanjem udaljenosti donora i akceptora protona u reakciji tj. neposredan

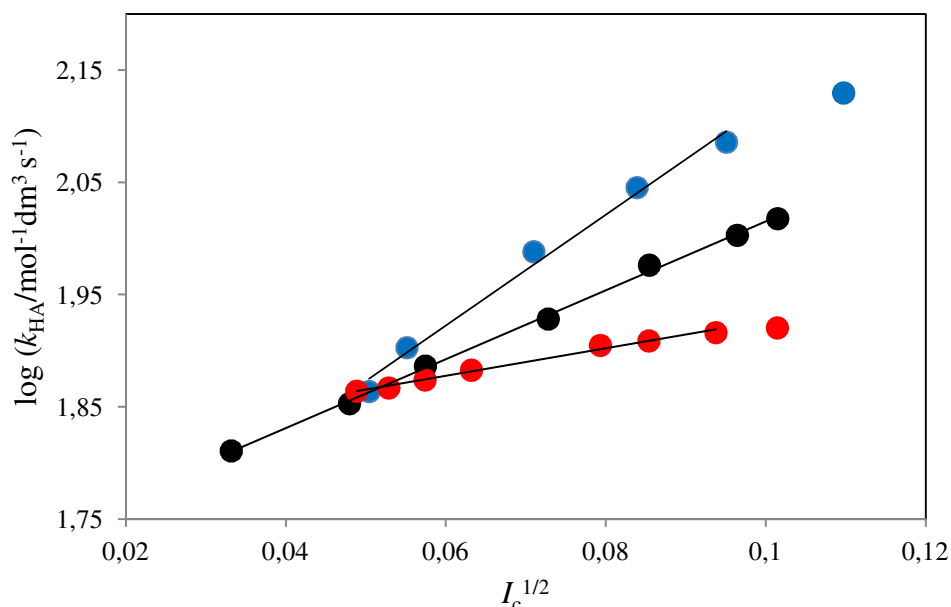
okoliš donor-akceptorskog sustava može putem promotivnih vibracija utjecati na njihovu međusobnu udaljenost (vidi poglavlje 2.2.4.). Ovaj koncept sadržan je u markusianskom modelu tuneliranja^{4-6,8,76,115,117} koji je primijenjen prvotno na enzimatske sustave, a potom i na reakcije u otopinama.²⁶ S obzirom na predloženu konfiguraciju prijelaznog stanja za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom, može se pretpostaviti da je molekula vode koja se nalazi između redoks partnera umrežena putem vodikovih veza s molekulama vode koje okružuju reakcijski sustav. Na taj način promjene u kolektivnim gibanjima vode koje se događaju zbog prisutnosti molekula organskog otapala mogu utjecati na aktivacijski proces.

4.2. Oksidacija askorbata heksacijanoferat(III) ionom u prisutnosti kvarternih amonijevih soli

4.2.1. Utjecaj malih koncentracija kvarternih amonijevih soli na konstantu brzine ($I_c \leq 0,01$)

Ispitan je učinak dodatka malih koncentracija benziltrimetilamonij klorida (BTMACl) i tetrabutilamonij klorida (TBACl) na konstantu brzine reakcije oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u neutralnom pH području. Ionska jakost u navedenim mjerenjima odgovara području u kojem vrijedi granični Debye-Hückelov zakon. Rezultati kinetičkih mjerenja prikazani su u tablicama D.20. – D.22. u Dodatku i na slici 4.13.

Dodatak kvarternih amonijevih soli dovodi do povećanja brzine reakcije što je očekivano s obzirom na negativan naboj obaju reaktanata. Ipak, učinak kvarternih kationa značajno se razlikuje od učinka metalnog kationa Na^+ koji u graničnom Debye-Hückelovom području ($I_c \leq 0,01$) daje pravac s nagibom ~ 3 što odgovara umnošku naboja reaktanata $z_A z_B = 3$ za askorbat i heksacijanoferat(III) ion.⁴³ Za pravac dobiven dodatkom BTMACl određen je nagib značajno veći od 3, dok je u slučaju TBACl nagib pravca značajno manji od 3.



Slika 4.13. Ovisnost $\log(k_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1})$ o korijenu ionske jakosti za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti benziltrimetilamonij klorida (●) $r = 0,989$, natrij klorida (●) $r = 0,999$ (podatci iz reference 43) i tetrabutilamonij klorida (●) $r = 0,991$ pri 298 K, u neutralnom. Podatci iz tablica D.20. – D.22. u Dodatku.

Odstupanje od nagiba (nagib je efektivno, po iznosu, umnožak $z_A z_B$, naboja reaktanata A i B u ionskoj reakciji) Debye-Hückelovog pravca u ispitivanoj reakciji, koji u slučaju reakcije askorbata s heksacijanoferat(III) ionima u vodi, u prisutnosti iona neutralne soli (NaCl) iznosi 3, i u skladu je s interakcijom (molekulske) čestice naboja -1 (askorbat) s česticom naboja -3 (heksacijanoferat(III) ion), može se objasniti kako slijedi. U slučajevima, primjerice, prisutnih kvarternih iona BTMACl i TBACl, promijenjeni iznos nagiba pravca upućuje na nastajanje ionskih parova sastavljenih od heksacijanoferat(III) aniona i kvarternih kationa. Nastajanje tih ionskih parova uvijek dovodi do smanjenja brzine ionske reakcije, što se očituje u smanjenju nagiba pripadnog Debye-Hückelovog pravca, to jest u smanjenju umnoška $z_A z_B$, naboja reaktanata A i B u reakciji. To je u slučaju dodatka TBACl u reakcijsku otopinu vidljivo, dok stanovito odstupanje od linearnosti dolazi od činjenice da kod dovoljno malih koncentracija kvarternih iona ostaje dio heksacijanoferat(III) iona koji nisu u ionskom paru s kvarternim ionima, te produkt $z_A z_B$, u tom slučaju za dio reakcije još uvijek iznosi 3, dok za onaj dio procesa koji ide preko ionskih parova $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, TBACl taj produkt $z_A z_B$, odnosno nagib pravca iznosi 2 (prisutna je kombinacija dvaju procesa). Stanje $z_A z_B = 2$ s druge strane, u potpunosti je ostvareno kod onih koncentracija kvarternih iona kod kojih je sav heksacijanoferat(III) u ionskom paru s odgovarajućim kationima.

Međutim, u slučaju BTMACl, eksperimentalno je utvrđeno da je nagib Debye-Hückelove ovisnosti stalno veći od 3 (vidi sliku 4.13.) i da ta ovisnost također više nije linearna. To se objašnjava činjenicom da se nastajanjem ionskog para mijenja redukcijski potencijal E° heksacijanoferat(III) iona,¹⁵⁹ to jest, zbog elektrostatičkog utjecaja kationa u ionskom paru, redukcijski potencijal aniona postaje pozitivniji, što onda dovodi (usporedi s termokemijskom analizom u poglavlju 4.1.1.) do povećanja brzine reakcije zbog smanjenja ΔG° , standardne slobodne energije reakcije (što se može također vidjeti promotri li se izraz za reakcijsku aktivacijsku Gibbsovu energiju u poznatom Marcusovom izrazu za konstantu brzine reakcije, poglavlje 2.2.4). Taj utjecaj pozitivnog naboja u ionskom paru na E° te time i na ΔG° reakcije, i konačno na brzinu reakcije, u slučaju ionskog para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, BTMACl nadmašuje utjecaj ionske jakosti otopine na isti ionski par, koji u skladu s Debye-Hückelovim izrazom, dovodi do smanjenja brzine reakcije ($z_A z_B = 2$, umjesto 3 kad nema ionskih parova). Drukčije rečeno, u slučaju $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, BTMACl para gdje od dva spomenuta utjecaja prevladava utjecaj sparivanja na E° te time i na ΔG° , kod para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, TBACl prevladava utjecaj ionske jakosti na visinu aktivacijske barijere reakcije. Analogno, E° se promijeni i u

slučaju ionskog para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, TBACl, ali ondje je povećanje brzine reakcije dijelom poništeno smanjenjem uzrokovanim nastajanjem ionskog para i susljednim usporenjem, odnosno smanjenjem umnoška ($z_A z_B = 2$) naboja reagirajućih čestica. Naime, promjena E° do koje dolazi zbog nastajanja ionskog para ovisi o elektrostatičkoj interakciji koja pak ovisi i o gustoći naboja partnera u paru, odnosno o geometriji (strukтури i razdiobi naboja) iona. Gustoća naboja i udaljenost centara naboja tako je manja kod voluminoznog TBACl nego kod mnogo manjeg BTMACl, pa se može očekivati slabija interakcija u slučaju TBACl, i manje povećanje brzine reakcije. To je upravo ono što je i eksperimentalno opaženo, odnosno dobivena je rezultanta dva suprotna utjecaja na brzinu procesa u sustavu.

4.2.2. Utjecaj većih koncentracija kvarternih amonijevih soli na konstantu brzine i kinetički izotopni učinak

Ispitan je utjecaj različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli na reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u vodenoj otopini, u neutralnom. Određene su konstante brzine u lakoj i teškoj vodi i odgovarajući kinetički izotopni učinci na 298 K uz dodatak 0,01, 0,1 i 1 mol dm⁻³ tetraetilamonij klorida (TEACl), 0,1, 0,5 i 1 mol dm⁻³ benziltrimetilamonij klorida (BTMACl), 0,5 mol dm⁻³ tetrapropilamonij klorida (TPACl), 0,1 mol dm⁻³ tetrabutilamonij klorida (TBACl), 0,1 mol dm⁻³ acetilkolin klorida (AChCl) i 0,006 mol dm⁻³ parakvat diklorid hidrata (PQCl₂). Rezultati su prikazani u tablici 4.20. Kvarterne amonijeve soli u ispitanom koncentracijskom rasponu u pravilu dovode do ubrzanja reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u odnosu na reakciju u vodi bez dodatka soli što se može objasniti asocijacijom kvarternog kationa i aktiviranog kompleksa koji je izrazito negativno nabijen.¹²²

Tablica 4.20. Konstante brzine i kinetički izotopni učinci reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli, pri 298 K.

	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
$c(\text{TEACl}) =$ 0,01 mol dm ⁻³	108		21,2		
	109	109 (1) ^a	21,1	21,1 (0,1) ^a	5,15 (0,02)
	109		21,1		
$c(\text{TEACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	161		22,2		
	162	161 (1) ^a	22,3	22,2 (0,1) ^a	7,25 (0,02)
	161		22,2		
$c(\text{TBACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	95		13,3		
	93	95 (1) ^b	13,4	13,5 (0,3) ^b	7,04 (0,16)
	96		13,8		
$c(\text{BTMACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	328		50,8		
	331	328 (3) ^c	50,0	50,8 (0,6) ^c	6,46 (0,09)
	325		51,3		
$c(\text{AChCl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³			51,0		
	276		47,4		
	279	276 (2) ^c	47,8	46,7 (1,3) ^c	5,91 (0,16)
	276		46,6		
	274		45,0		
$c(\text{BTMACl}) =$ 0,5 mol dm ⁻³	433		58,1		
	437	438 (6) ^c	58,3	58,2 (0,1) ^c	7,53 (0,11)
	445		58,2		
$c(\text{TPACl}) =$ 0,5 mol dm ⁻³	75		7,3		
	79	77 (2) ^b	7,3	7,3 (0,0) ^b	10,55 (0,26)
	77		7,3		
$c(\text{TEACl}) =$ 1 mol dm ⁻³	118		11,8		
	119	119 (0) ^a	11,8	11,8 (0,1) ^a	10,08 (0,07)
	119		11,7		
$c(\text{BTMACl}) =$ 1 mol dm ⁻³	384		48,9		
	397	391 (7) ^c	48,7	48,8 (0,1) ^c	8,01 (0,19)
	392		48,8		
$c(\text{PQCl}_2) =$ 0,006 mol dm ⁻³	793		142		
	763	786 (20) ^d	143	141 (2) ^e	5,57 (0,17)
	801		138		

^a $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$;

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

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

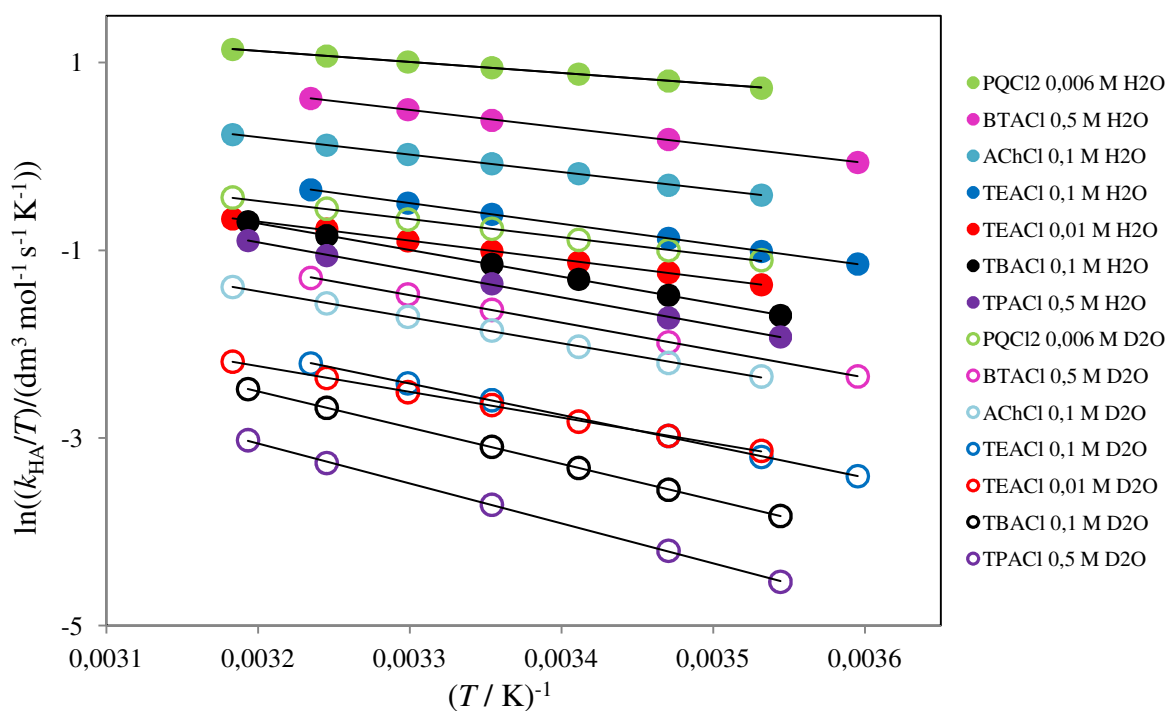
^d $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$;

^e $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$.

Dodatkom kvarternih amonijevih soli u reakcijski medij u svim ispitivanim koncentracijama zapaženo je povećanje kinetičkog izotopnog učinka u odnosu na reakciju u vodi bez dodatka soli. Taj nalaz je na prvi pogled neobičan jer je u suprotnosti s ranije određenim djelovanjem metalnih kationa (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) na reakciju askorbata i heksacijanoferat (III) iona koji su doveli do smanjenja KIE u odnosu na vrijednost u vodi.⁴³ Primjerice, dodatak $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ NaCl smanjuje KIE sa 4,6 (0,1) na 3,8 (0,1) dok se dodatkom $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ TEACl KIE poveća na 9,5 (0,1). Učinak metalnog kationa Na^+ objašnjen je nastankom trimolekularnog asocijacijskog kompleksa na način da prvo nastaje ionski par $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}, \text{Na}^+$ koji se potom asocira sa HAsc^- u trimolekularni kompleks. Prisutnost Na^+ iona u konfiguraciji prijelaznog stanja putem elektrostatičke interakcije čini konfiguraciju rigidnom i omogućuje učinkovito tuneliranje obaju izotopa (ekstenzivno tuneliranje) i manji KIE. Prisutnost kvarternih amonijevih kationa u blizini prijelazne konfiguracije ne dovodi do optimalne konfiguracije koja bi omogućila ekstenzivno tuneliranje, ali može utjecati na strukturu i dinamiku neposrednog okoliša tj. okolnih molekula vode putem promotivnih vibracija. U pravilu veće koncentracije kvarternih amonijevih soli i dulji alkilni lanci na kvarternom kationu daju veće vrijednosti KIE. U skladu s navedenim, najveće su vrijednosti KIE određene uz dodatak $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ TPACl i $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$ TEACl i iznose redom 10,6 (0,3) i 10,1 (0,1).

4.2.3. Aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom u prisutnosti kvarternih amonijevih soli

Određeni su aktivacijski parametri za reakciju oksidacije askorbata i heksacijanoferata(III) u prisutnosti 0,01 i 0,1 mol dm⁻³ tetraetilamonij klorida (TEACl), 0,1 i 0,5 mol dm⁻³ benziltrimetilamonij klorida (BTMACl), 0,5 mol dm⁻³ tetrapropilamonij klorida (TPACl), 0,1 mol dm⁻³ tetrabutilamonij klorida (TBACl), 0,1 mol dm⁻³ acetilkolin klorida (AChCl) i 0,006 mol dm⁻³ parakvat diklorid hidrata (PQCl₂). Za svaku navedenu koncentraciju kvarterne amonijeve soli provedena su mjerenja u lakoj (H₂O) i teškoj (D₂O) vodi, u neutralnom (pH = 5,7, pD = 6,2), osim u slučaju PQCl₂ gdje je pH bio 3,3, a pD = 4,0. Konstante brzine za reakciju u lakoj i teškoj vodi, te kinetički izotopni učinci određeni su u ovisnosti o temperaturi unutar temperaturnog raspona od 278 do 314 K. Rezultati mjerenja prikazani su u tablicama D.12. – D.19. u Dodatku. Izmjerene konstante brzine u ovisnosti o temperaturi prikazane su prema Eyringovoj i Arrheniusovoj jednadžbi (slike 4.14. i 4.15.) te su određeni odgovarajući aktivacijski parametri.



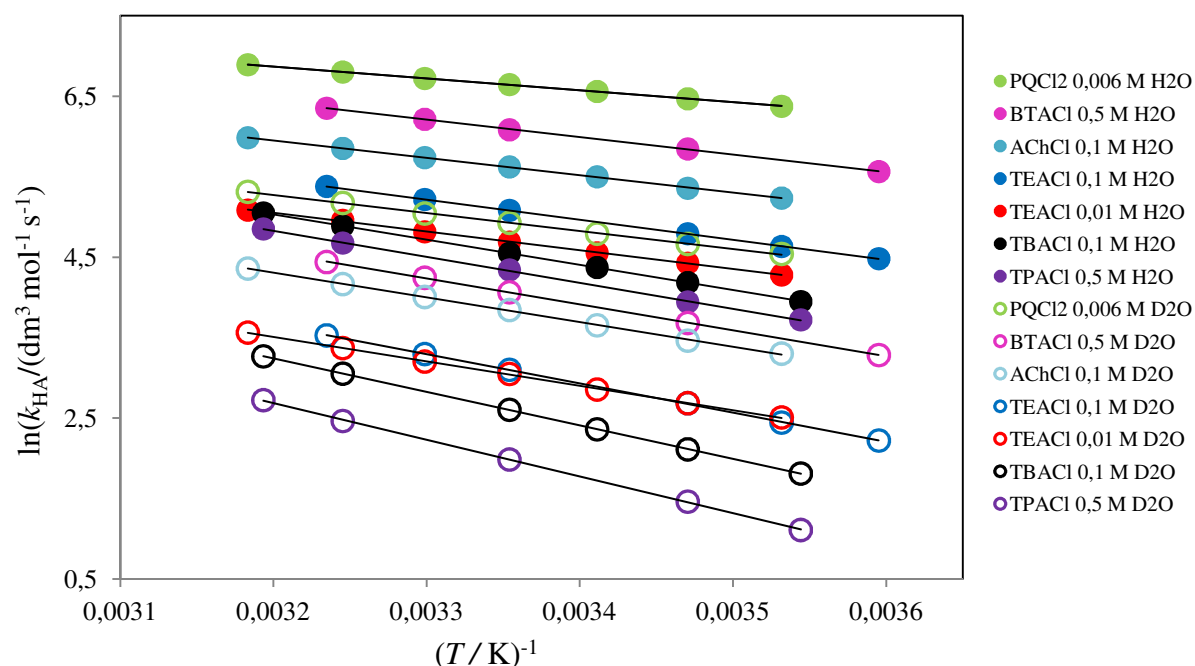
Slika 4.14. Eyringova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli. Podatci iz tablica D.12. – D.19.

Eyringovi aktivacijski parametri $\Delta H^\ddagger$, $\Delta S^\ddagger$ i $\Delta G^\ddagger$ i izotopne razlike aktivacijskih parametara $\Delta\Delta H^\ddagger$ i $\Delta\Delta S^\ddagger$ za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli prikazane su u tablici 4.21., a Arrheniusovi aktivacijski parametri E_a i A i izotopni omjer predeksponencijalnih faktora A_H/A_D u tablici 4.22. Na slici 4.16. prikazana je temperaturna ovisnost kinetičkih izotopnih učinaka za navedene uvjete (vidi poglavlje 2.4.4.), a na slici 4.17. odnos izotopnih razlika aktivacijskih parametara $\Delta\Delta H^\ddagger$ i $\Delta\Delta S^\ddagger$ za reakciju u prisutnosti kvarternih amonijevih soli u rasponu koncentracija 0,01 – 0,10 mol dm⁻³ te u smjesama 1,4-dioksan : voda = 0,05 : 0,95 v/v, acetonitril : voda = 0,05 : 0,95 v/v i acetonitril : voda = 0,10 : 0,90 v/v.

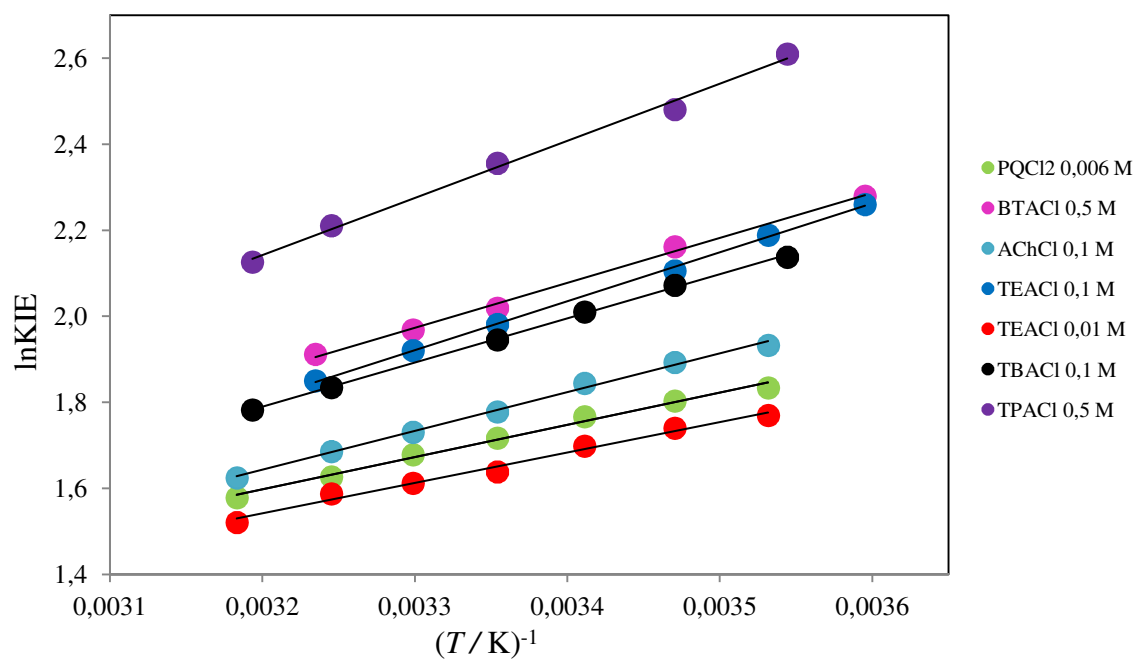
Tablica 4.21. Eyringovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli. Određeno na temelju podataka iz tablica D.12. – D.19. i iz ovisnosti na slici 4.14.

		$\Delta H^\ddagger /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta S^\ddagger /$ J K ⁻¹ mol ⁻¹	$\Delta G^\ddagger a /$ kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta H^\ddagger b$ /kJ mol ⁻¹	$\Delta\Delta S^\ddagger c$ /J K ⁻¹ mol ⁻¹
$c(\text{TEACl}) =$ 0,01 mol dm ⁻³	H ₂ O	16,8 (0,4)	-149,4 (0,7)	61,4 (0,3)	5,9 (0,3)	6,0 (1,0)
	D ₂ O	22,7 (0,2)	-143,4 (0,7)	65,5 (0,3)		
$c(\text{TEACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	H ₂ O	18,3 (0,1)	-141,3 (0,2)	60,4 (0,1)	9,5 (0,2)	15,2 (0,7)
	D ₂ O	27,8 (0,2)	-126,1 (0,7)	65,3 (0,3)		
$c(\text{TBACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	H ₂ O	23,6 (0,1)	-128,0 (0,3)	61,7 (0,1)	8,5 (0,1)	12,4 (0,4)
	D ₂ O	32,1 (0,1)	-115,6 (0,3)	66,6 (0,1)		
$c(\text{BTMACl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	H ₂ O	12,3 (0,2)	-155,7 (0,6)	58,6 (0,2)	8,7 (0,2)	13,8 (0,8)
	D ₂ O	21,0 (0,2)	-141,9 (0,6)	63,3 (0,3)		
$c(\text{AChCl}) =$ 0,1 mol dm ⁻³	H ₂ O	15,5 (0,1)	-146,3 (0,5)	59,1 (0,2)	7,5 (0,3)	10,4 (1,0)
	D ₂ O	23,0 (0,3)	-135,9 (0,9)	63,5 (0,4)		
$c(\text{BTMACl}) =$ 0,5 mol dm ⁻³	H ₂ O	15,6 (0,2)	-141,8 (0,6)	57,9 (0,3)	8,7 (0,2)	12,3 (0,8)
	D ₂ O	24,3 (0,2)	-129,5 (0,5)	63,0 (0,2)		
$c(\text{TPACl}) =$ 0,5 mol dm ⁻³	H ₂ O	24,6 (0,2)	-126,5 (0,8)	62,3 (0,3)	11,1 (0,5)	17,7 (1,6)
	D ₂ O	35,7 (0,4)	-108,8 (1,4)	68,1 (0,6)		
$c(\text{PQCl}_2) =$ 0,006 mol dm ⁻³	H ₂ O	9,2 (0,1)	-158,8 (0,4)	56,5 (0,2)	6,8 (0,2)	8,7 (0,8)
	D ₂ O	16,0 (0,2)	-150,1 (0,6)	60,8 (0,3)		

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



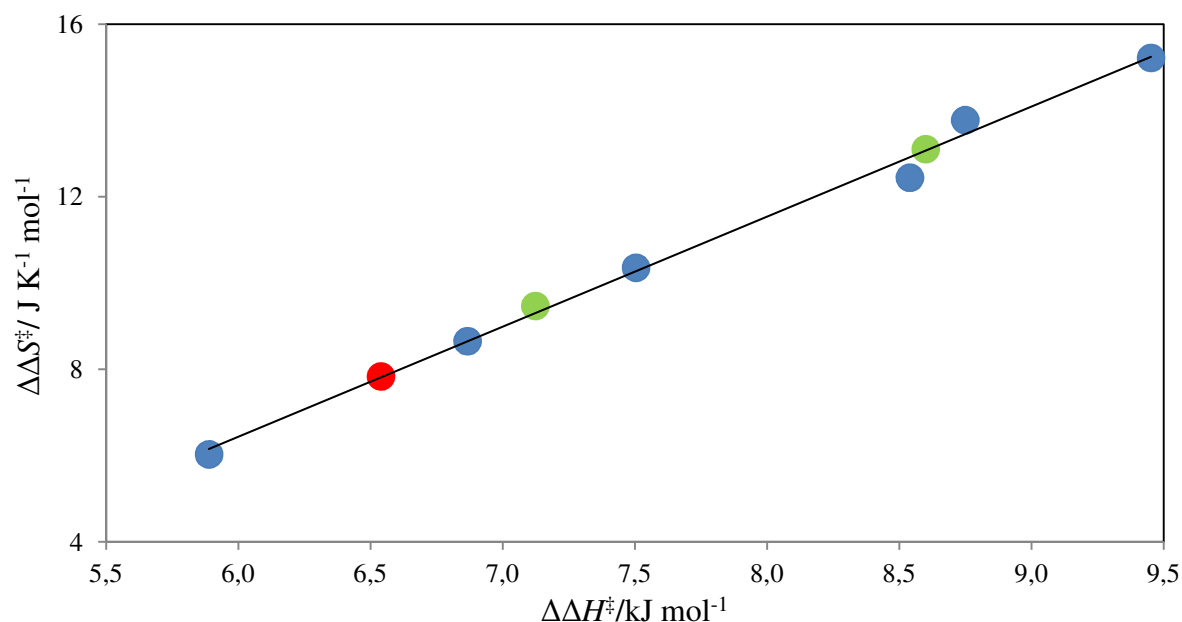
Slika 4.15. Arrheniusova ovisnost za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli. Podatci iz tablica D.12. – D.19.



Slika 4.16. Ovisnost $\ln KIE$ o recipročnoj temperaturi za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli. Podatci iz tablica D.12. – D.19.

Tablica 4.22. Arrheniusovi aktivacijski parametri za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli. Određeno na temelju podataka iz tablica D.12. – D.19. i iz ovisnosti na slici 4.15.

		$E_a/\text{kJ mol}^{-1}$	$10^6 A/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	A_H/A_D
$c(\text{TEACl}) = 0,01 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	19,3 (0,2)	0,265 (0,022)	0,48 (0,06)
	D_2O	25,2 (0,2)	0,547 (0,049)	
$c(\text{TEACl}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	20,7 (0,1)	0,69 (0,02)	0,16 (0,01)
	D_2O	30,2 (0,2)	4,30 (0,33)	
$c(\text{TBACl}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	26,0 (0,1)	3,45 (0,10)	0,22 (0,01)
	D_2O	34,6 (0,1)	15,42 (0,49)	
$c(\text{BTMACl}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	14,7 (0,2)	0,123 (0,009)	0,19 (0,02)
	D_2O	23,4 (0,2)	0,642 (0,050)	
$c(\text{AChCl}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	18,0 (0,1)	0,39 (0,02)	0,29 (0,03)
	D_2O	25,5 (0,3)	1,34 (0,14)	
$c(\text{BTMACl}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	18,1 (0,2)	0,65 (0,05)	0,23 (0,02)
	D_2O	26,8 (0,1)	2,85 (0,17)	
$c(\text{TPACl}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	27,1 (0,3)	4,2 (0,4)	0,12 (0,02)
	D_2O	38,2 (0,4)	35,4 (6,2)	
$c(\text{PQCl}_2) = 0,006 \text{ mol dm}^{-3}$	H_2O	11,6 (0,1)	0,109 (0,003)	0,45 (0,04)
	D_2O	18,5 (0,2)	0,242 (0,020)	



Slika 4.17. Ovisnost izotopnih razlika aktivacijske entropije $\Delta\Delta S^\ddagger$ o aktivacijskoj entalpiji $\Delta\Delta H^\ddagger$ za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti koncentracija kvarternih amonijevih soli u rasponu 0,01 – 0,10 mol dm⁻³ (●), u smjesi 1,4-dioksan : voda = 0,05 : 0,95 v/v (●), i u smjesama acetonitril : voda = 0,05 : 0,95 v/v i 0,10 : 0,90 v/v (●). Podatci iz tablica 4.14., 4.15. i 4.21.

Analiza Eyringovih i Arrheniusovih aktivacijskih parametara za reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona u prisutnosti različitih koncentracija kvarternih amonijevih soli upućuje na ulazak reakcije u režim tuneliranja. Tome u prilog govore izotopni omjeri Arrheniusovih predeksponencijalnih faktora A_H/A_D koji odstupaju od semiklasičnih vrijednosti 0,5 – 1,4. U slučaju 0,01 mol dm⁻³ TEACl vrijednost A_H/A_D je 0,48 (0,06), što je tik ispod donje granice, dok je kod većih koncentracija kvarternih amonijevih soli vrijednosti A_H/A_D značajnije smanjene, sve do 0,12 (0,02) za 0,5 mol dm⁻³ TPACl. Izotopne razlike aktivacijskih parametara $\Delta\Delta H^\ddagger$ također u svim navedenim uvjetima potvrđuju tuneliranje u reakciji budući da su vrijednosti $\Delta\Delta H^\ddagger$ značajno veće od semiklasično predviđenih 5,1 kJ/mol. Zajedno s ranije utvrđenim kinetičkim izotopnim učincima (vidi poglavlje 4.2.2.), tuneliranje izazvano dodatkom kvarternih amonijevih soli u reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona dobro je utemeljeno.

4.3. Povezanost dinamike vode i tuneliranja protona u PCET procesu oksidacije askorbata heksacijanoferat(III) ionom

Uzeti u cjelini, različiti uvidi dobiveni ovim istraživanjem mehanizma reakcije protonom spregnutog prijelaza elektrona kod oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionima upućuju na sljedeću opću sliku:

A) mehanizam reakcije kakav je opažen u ranijim istraživanjima u vodenoj reakcijskoj sredini^{39,43} u osnovi se ne mijenja ali reakcija iz aktivacijskog režima ulazi u režim tuneliranja protona, prijelazom iz vodene reakcijske sredine u smjese vode i organskih otapala ili dodatkom kvarternih amonijevih iona u vodenu reakcijsku sredinu; pritom se opaža i neočekivano i iznenađujuće povećanje kinetičkih izotopnih učinaka u procesu, i

B) prijelaz protona u procesu povezan je s dinamikom vode, odnosno dinamički je povezan s femtosekundnim gibanjima molekularnog sustava vode kao temeljnog dijela reakcijske sredine, gdje dodatak djelomično hidrofobnih molekularnih sustava, ovdje organskih otapala i kvarternih amonijevih iona, dovodi do dinamičkih promjena koje bivaju povezane s reakcijskom koordinatom usklađenog (*concerted*) elektronsko-protonskog prijelaza u ispitivanoj reakciji.

C) Proces kojim dinamika vode utječe na dinamiku usklađenog protonsko-elektronskog prijelaza u ispitivanoj reakciji (opisan niže u nastavku) u osnovi je iste naravi u svim ispitivanim reakcijskim sredinama s dodatkom djelomično hidrofobnih molekularnih sustava, to jest ne razlikuje se u biti utjecaj dinamike vode na dinamiku prijelazne konfiguracije u reakciji, u miješanim organskim otapalima s relativno malim udjelom organske sastavnice od utjecaja dinamike vode u vodenoj sredini s dodanim kvarternim amonijevim ionima. To je vidljivo na slici 4.17. gdje svi primijenjeni sustavi s djelomično hidrofobnim molekularnim komponentama pripadaju istom pravcu, odnosno istoj međusobnoj ovisnosti eksperimentalno određenih izotopnih razlika $\Delta\Delta H^\ddagger$ (D,H) i $\Delta\Delta S^\ddagger$ (D,H) u reakciji, što uvjerljivo upućuje da je u pitanju isti proces.

S obzirom na mehanizam procesa, treba napomenuti da u bimolekularnoj interakciji askorbatnog aniona i heksacijanoferat(III) aniona dolazi do protonom spregnutog prijelaza elektrona s askorbata na heksacijanoferat(III) ion, te s tim prijelazom elektrona usklađenog prijelaza protona s 2-OH skupine askorbatnog monoaniona na molekulu vode; pritom, molekula vode koja sudjeluje u tom prijelazu kao proton akceptor, dio je prijelazne konfiguracije i nalazi se između askorbata i heksacijanoferat(III) iona i taj mehanizam^{43,121,122}

u osnovi se *ne mijenja* dodatkom djelomično hidrofobnih sustava u vodenu reakcijsku sredinu. Međutim, upravo zbog te činjenice, opažene značajne promjene kinetičkih izotopnih učinaka do kojih dolazi dodatkom organskih otapala kao što su 1,4-dioksan, acetonitril i ostali, te dodatkom relativno malih koncentracija kvarternih amonijevih iona ne bi se mogle objasniti semiklasičnim pristupom u kojem su promjene izotopnih učinaka posljedica promjena jakosti veza između proton donora, proton akceptora i protona u prijelaznom stanju aktivacijskog procesa (što se, u okvirima TST teorije može interpretirati i kao stupanj „prijenosa“ protona s donora na akceptor u prijelaznom stanju), odnosno bez uzimanja u obzir specifičnosti povezanih s procesom tuneliranja u kojem dolaze do izražaja dinamika i kvantno mehanički aspekti sustava.

S obzirom na ključne fenomene opažene pri ispitivanju utjecaja dodatka djelomično hidrofobnih molekularnih sustava u vodenu reakcijsku sredinu, u prvom redu temperaturne ovisnosti opaženih KIE koje nije moguće objasniti unutar semiklasičnog pristupa analizi KIE i koja upućuje na tuneliranje protona, a zatim i s obzirom na značajni porast kinetičkih izotopnih učinaka, moglo bi se pokušati te rezultate objasniti pomoću poznatog modela tunnelske korekcije koju je uveo Bell.¹ Poteškoću bi pritom mogla predstavljati činjenica da uz relativno vrlo malene promjene visine eksperimentalno opažene reakcijske barijere, reda veličine 1 kJ/mol (što je blizu redu veličine eksperimentalne pogreške) dolazi do izrazitog tuneliranja. Na tuneliranje utječu i visina barijere¹⁰⁹ i širina barijere u procesu prijelaza, međutim veću ulogu ima pritom širina barijere,^{8,11,12,16,22,44} kao što je već objašnjeno ranije (vidi poglavlje 2.2.4.), budući da je, kako za tuneliranje kao kvantno-mehanički fenomen, tako i za opažene izotopne učinke kao posljedicu kod tuneliranja, ključno potencijalno prekrivanje protonskih valnih funkcija (proton se ovdje tretira kvantno mehanički), to jest valne funkcije protona na donoru i protonske valne funkcije protona na akceptoru.

Navedene aspekte uzima u obzir markusianski model tuneliranja primijenjen izvorno kod enzimskih reakcija (većina enzimskih procesa prijelaza protona, kao i vodika i hidridnog iona uključuje tuneliranje¹⁶). Markusianski model^{4-6,8,20,76,115,117} uzima u obzir dinamičke aspekte kako sustava, to jest dinamiku promjene širine barijere zbog oscilacija donorsko-akceptorskog sustava, tako i povezanost s dinamikom okoliša, a to znači u enzimskim sustavima uzimanje u obzir femtosekundno do pikosekundnih vibracija u enzimu povezanih s donorsko-akceptorskim sustavom, tzv. promotivne vibracije.^{9,12-14,21-26,116,118} Za promotivne vibracije pretpostavka je da mogu biti povezane s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona, što

onda dovodi do fluktuacije širine reakcijske barijere za prijelaz protona (vodika, hidridnog iona) i efektivnog probiranja (*sampling*) konfiguracija spremnih za tuneliranje (*tunnelling-ready configurations*, TRS). Posljedica mogućnosti probiranja, za razliku od hipotetičke statične barijere jest upravo mogućnost dosezanja konfiguracija spremnih za tuneliranje, što se onda eksperimentalno manifestira kao temperaturna ovisnost izotopnih učinaka i izotopne razlike u Arrheniusovim parametrima ili odgovarajuće izotopne razlike u eksperimentalno određenim aktivacijskim entalpijama i entropijama procesa.

Analogno dinamičkom utjecaju enzimskog okoliša na dinamiku aktivnog mjesta u enzimskom procesu i povezanosti dinamike enzima s reakcijskom koordinatom za prijelaz protona, može se očekivati i utjecaj dinamike okoliša za reakcijski sustav u otopini, pa se onda analogno može primijeniti markusianski model za cjelovitu analizu tuneliranja (*Marcus full-tunnelling model*) kako bi se objasnilo eksperimentalna opažanja u ispitivanom sustavu.

Ključno pitanje pritom biti će do kojih promjena dinamike vode dolazi u kontaktu vode s hidrofobnim dijelovima molekula, budući da je voda prije svega vrlo složeni i dinamički strukturirani sustav molekula povezanih vodikovim vezama, gdje dinamika prostorne mreže vodikovih veza, ali i individualnih molekula vode egzistira na mnogo razina. Kvantitativno inače, najvažnija je razina dinamike restrukturiranja trodimenzionalne mreže vodikovim vezama povezanih molekula vode, reorijentacijska dinamika vode^{32,137} koja se odvija unutar pikosekundne vremenske razdiobe, ali ona nije ovdje od posebnog interesa. Gibanja za koja bi se moglo očekivati da bi bila relevantna za ispitivani sustav, te spregnuta s reakcijskom koordinatom sustava, a koja bi morala uključivati oscilacije vodikovom vezom povezane vode (proton akceptora u procesu) uključene u prijelaznu konfiguraciju protonsko-elektronskog usklađenog procesa i 2-OH skupine askorbata (proton donora u procesu) bit će najvjerojatnije vibracije OH skupine vode, odnosno promjene u režimu tih vibracija do kojih dolazi kod interakcija s parcijalno hidrofobnim molekulama (o naravi tih interakcija, uključujući pitanje C–H•••O vodikovih veza^{149,150,160} vidi također u poglavlju 2.3.3.). To su vibracije koje se, uz ostale u IR spektru vode, vide kao široka vrpca koja obuhvaća karakteristične frekvencije za vodu na 3280 i 3470 cm⁻¹. Dodatkom dioksana primjerice, u vodu, zbog interakcije između dioksana i vode pojavljuje se nova vrpca kod 3585 cm⁻¹;^{144,145,161} slično se događa i kod dodatka acetonitrila^{160,162} i drugih otapala i kod dodatka kvarternih iona.¹⁶³ Ta se vibracijska gibanja do kojih dolazi zbog spomenutih interakcija molekula vode i hidrofobnih dijelova molekule organskog otapala prenose mehanizmom rezonantno povezanih intermolekularnih

vibracija¹⁶⁴ kroz „lanac“ vodikovim vezama povezanih molekula vode, i na taj način u njih može biti uključena i molekula vode u prijelaznoj konfiguraciji. Posebno je pitanje ovdje fenomen kooperativnosti kod vodikovih veza¹⁶⁵ i odnos tog fenomena prema fenomenu intermolekularnog rezonantnog sprežanja vibracija, ali to pitanje izlazi iz okvira ovog istraživanja. Prema teorijskim rezultatima Hammes-Schiffer i sur.⁹⁸ porast frekvencije promotivnih vibracija koji se manifestira kao porast frekvencije oscilacija između donorskog i akceptorskog sustava u prijelaznoj konfiguraciji, dovodi do porasta kinetičkog izotopnog učinka procesa.^{16,44,98} Upravo taj porast KIE je ono što je ovdje eksperimentalno opaženo i što upućuje na opisanu ulogu i djelovanje hidrofobnog dijela organske molekule (alkilne skupine kod kvarternih iona i 1,4-dioksana primjerice); time je ujedno otvoren put za objašnjavanje tog neočekivanog porasta izotopnih učinaka kod dodatka organskog otapala ili kvarternih iona u vodenu sredinu u istraživanoj PCET reakciji. Koliko je poznato, do ovog opažanja tijekom ovdje opisanog i raspravljenog istraživanja, sličan fenomen opažen je tek u reakciji askorbatnog monoaniona s TEMPO radikalom (2,2,6,6-tetrametilpiperidiniloksil radikal) u smjesama 1,4-dioksan-voda,¹⁰⁵ dok su Hay i sur.²¹ polazeći od dijela objavljenih rezultata iz ovog istraživanja ispitali utjecaj hidrostatskog tlaka na dinamiku reakcije u prisutnosti kvarternih iona, da bi također zaključili kako se dobiveni (analogni ovdje prikazanim) rezultati s obzirom na tuneliranje vodika u sustavu, mogu objasniti uzimanjem u obzir hipoteze promotivnih vibracija. Međutim, ovdje prikazani rezultati donose dvije bitne novosti; prvo, povezuje se utjecaj dodanog organskog otapala s promjenama dinamike vode u smjesama, i drugo, otkriva se, iz korelacije izotopnih razlika $\Delta\Delta H^\ddagger(\text{D,H})$ i $\Delta\Delta S^\ddagger(\text{D,H})$ u reakciji da proces u prisutnosti neutralnih molekula organskog otapala mora imati istu fizikalnu pozadinu kao i onaj u prisutnosti nabijenih čestica kvarternih iona. Ta fizikalna pozadina, kao što je već rečeno, vrlo vjerojatno promotivne su vibracije povezane s utjecajem parcijalno hidrofobnih molekula na dinamiku vode, pobliže, intermolekularnu rezonancijsku dinamiku OH skupine vode. U tom kontekstu moguće je govoriti o novom aspektu unutar mnogostrukog fenomena hidrofobnosti, to jest o povezanosti hidrofobnih svojstava i tuneliranja vodika u PCET procesima.

§ 5. ZAKLJUČAK

Istraživanjem utjecaja dodanih djelomično hidrofobnih molekula (izabranih organskih otapala 1,4-dioksana, acetonitrila, etanola i acetona) i niza kvarternih amonijevih soli s različitim duljinama hidrofobnih alkilnih lanaca na PCET reakciju oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom u vodi, dobiveni su novi uvidi o ponašanju PCET sustava prilikom promjene sastava vodene reakcijske sredine. Ti uvidi, dobiveni ovdje po prvi put uopće, upućuju na povezanost dinamike vode (promijenjene u prisutnosti djelomično hidrofobnih molekula) s PCET procesom i tuneliranjem vodika u ispitivanoj reakciji. Na temelju dobivenih rezultata mogu se istaknuti sljedeći zaključci:

1) U reakciji protonom spregnutog prijelaza elektrona (PCET) u prvom stupnju oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom, u različitim smjesama vode i organskih otapala (prije svega u sustavima 1,4-dioksan-voda i acetonitril-voda), te u vodenoj sredini uz dodatak različitih kvarternih amonijevih iona, na temelju provedenih eksperimenata „pregleda protona“ i ispitivanjem utjecaja acetata, može se zaključiti da se događa prijelaz protona s 2-OH skupine askorbata na molekulu vode, koja se u prijelaznoj konfiguraciji nalazi između redoks partnera, analogno rezultatima za reakciju u vodi.

2) Rezultati ispitivanja utjecaja malih ionskih jakosti ($I_c \leq 0,01$) u smjesama organsko otapalo : voda = 1 : 1 v/v upućuju na to da su u području ionskih jakosti do $I_c = 0,005$ reaktanti u reakciji askorbatni monoanion i heksacijanoferat(III) ion (očekivani $z_A z_B = 3$), dok u području ionskih jakosti $I_c > 0,005$ najvjerojatnije dolazi do stvaranja ionskih parova zbog smanjenja polarnosti medija. Dodatkom kvarternih amonijevih soli u vodenu reakcijsku sredinu, pri ionskim jakostima $I_c \leq 0,01$ dolazi do nastajanja ionskih parova sastavljenih od heksacijanoferat(III) aniona i kvarternih kationa koji u slučaju TBACl dovode do očiglednog smanjenja brzine reakcije (očekivani $z_A z_B = 2$), dok je u slučaju BTMACl smanjenje brzine reakcije zbog nastanka ionskih parova prikriveno jer je izraženiji učinak ubrzanja zbog smanjenja ΔG° reakcije kao posljedice promjene E° kod nastajanja ionskih parova. Različiti učinak kvarternih amonijevih soli u graničnom Debye-Hückelovom području može se objasniti njihovom različitom strukturom odnosno raspodjelom gustoće naboja te posljedicama na stvaranje ionskih parova s heksacijanoferat(III) ionima.

3) Dodatkom organskog otapala, kao i dodatkom kvarternih amonijevih iona u vodenu reakcijsku sredinu, dotadašnji pokazatelji da je u vodi prisutan aktivacijski režim reakcije (režim prijelaza reakcijske barijere) mijenjaju se u pokazatelje tunelskog režima odnosno umjerenog tuneliranja vodika. Ključna eksperimentalna opažanja koja upućuju na taj zaključak su znatno povećani primarni kinetički izotopni učinci (KIE) u usporedbi s reakcijom u vodi, te pojava izotopnih razlika Arrheniusovih reakcijskih parametara A_H/A_D manjih od semiklasično predviđenih, odnosno pojava izotopnih razlika aktivacijskih entalpija većih od semiklasičnih, koje ukazuju i sukladne su odvijanju procesa u režimu tuneliranja vodika u ispitivanoj reakciji.

4) Navedeni pokazatelji tuneliranja u sustavu (povećani KIE, izotopni omjeri A_H/A_D manji od semiklasično predviđenih) kao i temperaturne ovisnosti opaženih KIE, odnosno izotopne razlike $\Delta\Delta H^\ddagger$ (D,H), mogu se objasniti u okviru markusianskog modela tuneliranja koji uzima u obzir dinamičke aspekte sustava, to jest dinamiku promjene širine barijere zbog oscilacija donorsko-akceptorskog sustava (promotivne vibracije) spregnutih s dinamikom okoliša. Za PCET reakciju askorbata i heksacijanoferat(III) iona to bi značilo da dinamika okolnih molekula vode može biti povezana putem mreže vodikovih veza s molekulom vode koja se u prijelaznoj konfiguraciji nalazi između redoks partnera i na taj način dovesti do promjene režima reakcije iz aktivacijskog u tunelski.

5) Dinamika okolnih molekula vode za koju bi se moglo očekivati da bi bila relevantna za ispitivani sustav, te spregnuta s reakcijskom koordinatom sustava, a koja bi morala uključivati oscilacije molekule vode uključene u prijelaznu konfiguraciju protonsko-elektronskog usklađenog procesa, jest vibracijska dinamika OH skupine vode. Ta su vibracijska gibanja vode promijenjena interakcijom s hidrofobnim dijelovima molekula organskog otapala ili kvarternih kationa te se prenose mehanizmom rezonantno povezanih intermolekularnih vibracija kroz „lanac“ vodikovim vezama povezanih molekula vode, i na taj način u njih može biti uključena i molekula vode u prijelaznoj konfiguraciji. Porast frekvencije promotivnih vibracija koji se manifestira kao porast frekvencije oscilacija između donorskog i akceptorskog sustava u prijelaznoj konfiguraciji, dovodi, u skladu s teorijskim predviđanjima/računima do porasta kinetičkog izotopnog učinka u procesu prijelaza protona. Upravo taj porast KIE je ono što je ovdje eksperimentalno opaženo i što upućuje na opisanu povezanost hidrofobnosti i dinamike vode te promotivnih vibracija i tuneliranja vodika u PCET procesu oksidacije askorbatnog monoaniona heksacijanoferat(III) ionom. Ujedno, to

može značiti da se radi i o mnogo općenitijem fenomenu, što ostaje za dalje istraživanje, napose uzme li se u obzir da su ovdje izloženi uvidi značajna novost i u kontekstu pitanja utjecaja djelomično hidrofobnih molekula na dinamiku vode, te odnosa dinamike vode i dinamike enzimskih reakcija, budući da se ispitivana reakcija smatra vrlo dobrim modelnim sustavom u odnosu na askorbatne peroksidaze i citokrom b_{561} sustave.

§ 6. LITERATURNI IZVORI

1. R. P. Bell. *The tunnel effect in chemistry*, Chapman and Hall, London, 1980.
2. A. Kohen i J. P. Klinman. *Acc. Chem. Res.* **31** (1998) 397–404.
3. 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, 744–764.
4. J. P. Klinman. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1757** (2006) 981–987.
5. J. P. Klinman. *Chem. Phys. Lett.* **471** (2009) 179–193.
6. Z. D. Nagel i J. P. Klinman. *Nat. Chem. Biol.* **5** (2009) 543–550.
7. M. P. Meyer, D. R. Tomchick i J. P. Klinman. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105** (2008) 1146–1151.
8. J. P. Klinman i A. Kohen. *Annu. Rev. Biochem.* **82** (2013) 471–496.
9. S. Hay, M. J. Sutcliffe i N. S. Scrutton. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104** (2007) 507–512.
10. M. J. Sutcliffe, L. Masgrau, A. Roujeinikova, L. O. Johannissen, P. Hothi, J. Basran, K. E. Ranaghan, A. J. Mulholland, D. Leys i N. S. Scrutton. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **361** (2006) 1375–1386.
11. S. Hay, L. O. Johannissen, M. J. Sutcliffe i N. S. Scrutton. *Biophys. J.* **98** (2010) 121–128.
12. C. R. Pudney, L. O. Johannissen, M. J. Sutcliffe, S. Hay i N. S. Scrutton. *J. Am. Chem. Soc.* **132** (2010) 11329–11335.
13. S. Hay i N. S. Scrutton. *Nat. Chem.* **4** (2012) 161–168.
14. C. R. Pudney, A. Guerriero, N. J. Baxter, L. O. Johannissen, J. P. Waltho, S. Hay i N. S. Scrutton. *J. Am. Chem. Soc.* **135** (2013) 2512–2517.
15. S. Hammes-Schiffer. *Acc. Chem. Res.* **39** (2006) 93–100.
16. S. Hammes-Schiffer. *Biochemistry* **52** (2013) 2012–2020.
17. J. P. Layfield i S. Hammes-Schiffer. *Chem. Rev.* **114** (2014) 3466–3494.
18. A. Wu, E. A. Mader, A. Datta, D. A. Hrovat, W. T. Borden i J. M. Mayer. *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 11985–11997.
19. M. H. V Huynh i T. J. Meyer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** (2004) 13138–13141.
20. A. Kohen. *Acc. Chem. Res.* **48** (2015) 466–473.
21. S. M. Kandathil, M. D. Driscoll, R. V Dunn, N. S. Scrutton i S. Hay. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **16** (2014) 2256–9.
22. L. O. Johannissen, S. Hay i N. S. Scrutton. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 30775–30782.
23. S. D. Schwartz. *Top. Curr. Chem.* **337** (2013) 189–208.

24. S. D. Schwartz i V. L. Schramm. *Nat Chem Biol* **5** (2009) 551–558.
25. D. Antoniou i S. D. Schwartz. *J. Phys. Chem. B* **115** (2011) 15147–15158.
26. L. O. Johannissen, T. Irebo, M. Sjödin, O. Johansson i L. Hammarström. *J. Phys. Chem. B* **113** (2009) 16214–16225.
27. P. Ball. *Chem. Rev.* **108** (2008) 74–108.
28. P. Ball. *Nature* **452** (2008) 291–292.
29. P. Ball i J. E. Hallsworth. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17** (2015) 8297–8305.
30. M. Chaplin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7** (2006) 861–866.
31. M. Chaplin. *Biophys. Chem.* **83** (2000) 211–221.
32. D. Laage, G. Stirnemann, F. Sterpone i J. T. Hynes. *Acc. Chem. Res.* **45** (2012) 53–62.
33. H. J. Bakker i J. L. Skinner. *Chem. Rev.* **110** (2010) 1498–1517.
34. M. D. Fayer. *Acc. Chem. Res.* **45** (2012) 3–14.
35. R. A. Nicodemus, S. A. Corcelli, J. L. Skinner i A. Tokmakoff. *J. Phys. Chem. B* **115** (2011) 5604–5616.
36. S. Schrödle, B. Fischer, H. Helm i R. Buchner. *J. Phys. Chem. A* **111** (2007) 2043–2046.
37. H. M. A. Rahman, G. Hefter i R. Buchner. *J. Phys. Chem. B* **116** (2012) 314–323.
38. D. A. Schmidt i K. Miki. *J. Phys. Chem. A* **111** (2007) 10119–10122.
39. N. Kagayama, M. Sekiguchi, Y. Inada, H. D. Takagi i S. Funahashi. *Inorg. Chem.* **33** (1994) 1881–1885.
40. J. M. Leal, P. L. Domingo, B. Garcia i S. Ibeas. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **89** (1993) 3571–3577.
41. B. Bänisch, P. Martinez, D. Uribe, J. Zuluaga i R. Van Eldik. *Inorg. Chem.* **30** (1991) 4555–4559.
42. R. J. Campion, C. F. Deck, P. King i A. C. Wahl. *Inorg. Chem.* **6** (1967) 672–681.
43. C. J. Brala, V. Pilepić, I. Sajenko, A. Karković i S. Uršić. *Helv. Chim. Acta* **94** (2011) 1718–1731.
44. S. Hammes-Schiffer. *J. Am. Chem. Soc.* **137** (2015) 8860–8871.
45. D. R. Weinberg, C. J. Gagliardi, J. F. Hull, C. F. Murphy, C. a. Kent, B. C. Westlake, A. Paul, D. H. Ess, D. G. McCafferty i T. J. Meyer. *Chem. Rev.* **112** (2012) 4016–4093.
46. M. H. V Huynh i T. J. Meyer. *Chem. Rev.* **107** (2007) 5004–5064.
47. J. J. Warren, T. A. Tronic i J. M. Mayer. *Chem. Rev.* **110** (2010) 6961–7001.
48. R. I. Cukier i D. G. Nocera. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **49** (1998) 337–369.
49. S. Y. Reece i D. G. Nocera. *Annu. Rev. Biochem.* **78** (2009) 673–699.
50. R. A. Binstead, B. A. Moyer, G. J. Samuels i T. J. Meyer. *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 2897–2899.

51. C. Costentin, D. H. Evans, M. Robert, J.-M. Savéant i P. S. Singh. *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 12490–12491.
52. M. Sjödin, S. Styring, B. Akermark, L. Sun i L. Hammarström. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **357** (2002) 1471–1479; discussion 1478–1479, 1511.
53. P. Delahay, M. Pourbaix i P. Van Rysselberghe. *J. Chem. Educ.* **27** (1950) 683.
54. F. H. Westheimer. *Chem. Rev.* **45** (1949) 419–451.
55. K. B. Wiberg. *Chem. Rev.* **55** (1955) 713–743.
56. J. Hudis i R. W. Dodson. *J. Am. Chem. Soc.* **78** (1956) 911–913.
57. R. A. Marcus. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **15** (1964) 155.
58. R. A. Marcus i N. Sutin. *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Bioenerg.* **811** (1985) 265–322.
59. D. C. Borgis, S. Lee i J. T. Hynes. *Chem. Phys. Lett.* **162** (1989) 19–26.
60. D. Borgis i J. T. Hynes. *J. Chem. Phys.* **94** (1991) 3619–3628.
61. S. Hammes-Schiffer i A. V. Soudackov. *J. Phys. Chem. B* **112** (2008) 14108–14123.
62. R. I. Cukier. *J. Phys. Chem.* **98** (1994) 2377–2381.
63. X. G. Zhao i R. I. Cukier. *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 945–954.
64. R. I. Cukier. *J. Phys. Chem* **99** (1995) 16101–16115.
65. R. I. Cukier. *J. Phys. Chem.* **100** (1996) 15428–15443.
66. J.-Y. Fang i S. Hammes-Schiffer. *J. Chem. Phys.* **106** (1997) 8442–8454.
67. H. Decornez i S. Hammes-Schiffer. *J. Phys. Chem. A* **104** (2000) 9370–9384.
68. S. Hammes-Schiffer. *Acc. Chem. Res.* **34** (2001) 189–237.
69. C. Turro, C. K. Chang, G. E. Leroi, R. I. Cukier i D. G. Nocera. *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 4013–4015.
70. J. P. Kirby, N. A. van Dantzig, C. K. Chang i D. G. Nocera. *Tetrahedron Lett.* **36** (1995) 3477–3480.
71. J. A. Roberts, J. P. Kirby i D. G. Nocera. *J. Am. Chem. Soc.* **117** (1995) 8051–8052.
72. Y. Deng, J. A. Roberts, S.-M. Peng, C. K. Chang i D. G. Nocera. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **36** (1997) 2124–2127.
73. J. P. Kirby, J. A. Roberts i D. G. Nocera. *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 9230–9236.
74. J. A. Roberts, J. P. Kirby, S. T. Wall i D. G. Nocera. *Inorganica Chim. Acta* **263** (1997) 395–405.
75. E. Hatcher, A. Soudackov i S. Hammes-Schiffer. *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 18565–18574.
76. M. J. Knapp, K. Rickert i J. P. Klinman. *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 3865–3874.
77. M. P. Meyer i J. P. Klinman. *Chem. Phys.* **319** (2005) 283–296.
78. S. Hammes-Schiffer i N. Iordanova. *Biochim. Biophys. Acta* **1655** (2004) 29–36.
79. C. Costentin, M. Robert i J. M. Savéant. *J. Electroanal. Chem.* **588** (2006) 197–206.

80. J. J. Concepcion, J. W. Jurss, M. K. Brennaman, P. G. Hoertz, A. O. T. Patrocinio, N. Y. Murakami Iha, J. L. Templeton i T. J. Meyer. *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1954–1965.
81. A. Magnuson, M. Anderlund, O. Johansson, P. Lindblad, R. Lomoth, T. Polivka, S. Ott, K. Stensjö, S. Styring, V. Sundström i L. Hammarström. *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1899–1909.
82. I. Batinić-Haberle, J. S. Rebouças i I. Spasojević. *Antioxidants Redox Signal.* **13** (2010) 877–918.
83. R. Gupta i A. S. Borovik. *J. Am. Chem. Soc.* **125** (2003) 13234–13242.
84. C. R. Goldsmith, A. P. Cole i T. D. P. Stack. *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 9904–9912.
85. M. J. Baldwin i V. L. Pecoraro. *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 11325–11326.
86. C. R. Goldsmith, R. T. Jonas i T. D. P. Stack. *J. Am. Chem. Soc.* **124** (2002) 83–96.
87. M. Rakowski Dubois i D. L. Dubois. *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1974–1982.
88. J. L. Dempsey, B. S. Brunschwig, J. R. Winkler i H. B. Gray. *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1995–2004.
89. C. J. Cramer i W. B. Tolman. *Acc. Chem. Res.* **40** (2007) 601–608.
90. T. J. Meyer, M. H. V Huynh i H. H. Thorp. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **46** (2007) 5284–5304.
91. C. Tommos i G. T. Babcock. *Acc. Chem. Res.* **31** (1998) 18–25.
92. R. A. Marcus. *Pure Appl. Chem.* **69** (1997) 13–30.
93. S. Hammes-Schiffer. *Energy Environ. Sci.* **5** (2012) 7696–7703.
94. P. M. Kiefer i J. T. Hynes. *Solid State Ionics* **168** (2004) 219–224.
95. S. Hammes-Schiffer i A. A. Stuchebrukhov. *Chem. Rev.* **110** (2010) 6939–6960.
96. A. Soudackov i S. Hammes-Schiffer. *J. Chem. Phys.* **113** (2000) 2385–2396.
97. E. Hatcher, A. Soudackov i S. Hammes-Schiffer. *J. Am. Chem. Soc.* **129** (2007) 187–196.
98. S. J. Edwards, A. V Soudackov i S. Hammes-Schiffer. *J. Phys. Chem. A* **113** (2009) 2117–2126.
99. T. F. Markle, I. J. Rhile i J. M. Mayer. *J. Am. Chem. Soc.* **133** (2011) 17341–17352.
100. M. Zhang, T. Irebo, O. Johansson i L. Hammarstrom. *J. Am. Chem. Soc.* **133** (2011) 13224–13227.
101. J. M. Mayer. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **55** (2004) 363–390.
102. D. D. M. Wayner i V. D. Parker. *Acc. Chem. Res.* **26** (1993) 287–294.
103. B. H. Bielski, A. O. Allen i H. A. Schwarz. *J Am Chem. Soc.* **3** (1981) 3516–3518.
104. J. J. Warren i J. M. Mayer. *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 7546–7547.
105. I. Sajenko, V. Pilepić, C. Jakobušić Brala i S. Uršić. *J. Phys. Chem. A* **114** (2010) 3423–3430.
106. D. Vuina, V. Pilepić, D. Ljubas, K. Sanković, I. Sajenko i S. Uršić. *Tetrahedron Lett.* **48** (2007) 3633–3637.
107. D. Njus, M. Wigle, P. M. Kelley, B. H. Kipp i H. B. Schlegel. *Biochemistry* **40** (2001) 11905–11911.

108. D. Njus i P. M. Kelley. *FEBS Lett.* **284** (1991) 147–151.
109. P. W. Atkins i J. de Paula. *Atkins' Physical Chemistry*, 10. izdanje, Oxford University Press, Oxford, 2014.
110. E. V. Anslyn i D. A. Dougherty. *Modern Physical Organic Chemistry*, University Science Books, Sausalito California, 2006.
111. F. Hund. *Z. Phys.* **43** (1927) 805–826.
112. D. Roston, Z. Islam i A. Kohen. *Molecules.* **18** (2013) 5543–5567.
113. A. M. Kuznetsov i J. Ulstrup. *Can. J. Chem.* **77** (1999) 1085–1096.
114. M. J. Knapp i J. P. Klinman. *Eur. J. Biochem.* **269** (2002) 3113–3121.
115. Z. D. Nagel i J. P. Klinman. *Chem. Rev.* **106** (2006) 3095–3118.
116. L. O. Johannissen, S. Hay, N. S. Scrutton i M. J. Sutcliffe. *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 2631–2638.
117. C. M. Cheatum i A. Kohen. *Top. Curr. Chem.* **337** (2013) 1–40.
118. S. Hay, C. R. Pudney, M. J. Sutcliffe i N. S. Scrutton. *Chem. Phys. Chem.* **9** (2008) 1875–1881.
119. C. R. Pudney, S. Hay, C. Levy, J. Pang, M. J. Sutcliffe, D. Leys i N. S. Scrutton. *J. Am. Chem. Soc.* **131** (2009) 17072–17073.
120. S. Hay i N. S. Scrutton. *Biochemistry* **47** (2008) 9880–9887.
121. A. Karković, C. J. Brala, V. Pilepić i S. Uršić. *Tetrahedron Lett.* **52** (2011) 1757–1761.
122. C. Jakobišić Brala, A. Karković, I. Sajenko, V. Pilepić i S. Uršić. *Zeitschrift für Phys. Chemie* **226** (2012) 29–46.
123. C. H. Cho, S. Singh i G. W. Robinson. *Faraday Discuss.* **103** (1996) 19–27.
124. K. Stokely, M. G. Mazza, H. E. Stanley i G. Franzese. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107** (2010) 1301–1306.
125. W. M. Latimer i W. H. Rodebush. *J. Am. Chem. Soc.* **42** (1920) 1419–1433.
126. L. Pauling. *The Nature of the Chemical Bond*, 3. izdanje, Cornell University Press, New York, 1960.
127. H. S. Frank i M. W. Evans. *J. Chem. Phys.* **13** (1945) 507–532.
128. J. D. Watson i F. H. C. Crick. *Nature* **171** (1953) 737–738.
129. W. Kauzmann. *Adv. Protein Chem.* **14** (1959) 1–63.
130. G. N. Ling. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **125** (1965) 401–417.
131. A. H. Narten, M. D. Danford i H. A. Levy. *Discuss. Faraday Soc.* **43** (1967) 97–107.
132. A. Rahman i F. E. Stillinger. *J. Chem. Phys.* **55** (1971) 3336–3359.
133. A. Brodsky. *Chem. Phys. Lett.* **261** (1996) 563–568.
134. M. Chaplin, Water structure and science, http://www1.lsbu.ac.uk/water/water_sitemap.html (preuzeto 30. lipnja 2016.)

135. J. D. Eaves, J. J. Loparo, C. J. Fecko, S. T. Roberts, A. Tokmakoff i P. L. Geissler. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102** (2005) 13019–22.
136. F. Sciortino, A. Geiger i H. E. Stanley. *Nature* **354** (1991) 218–221.
137. D. Laage, J. T. Hynes. *Science* **311** (2006) 832–835.
138. A. K. Soper, G. W. Neilson, J. E. Enderby i R. A. Howe. *J. Phys. C Solid State Phys.* **10** (1977) 1793–1801.
139. M. F. Kropman i H. J. Bakker. *Science*. **291** (2001) 2118–2120.
140. A. W. Omta, M. F. Kropman, S. Woutersen i H. J. Bakker. *Science*. **301** (2003) 347–349.
141. B. W. Blokzijl i J. B. F. N. Engberts. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **32** (1993) 1545–1579.
142. S. Dixit, J. Crain, W. C. K. Poon, J. L. Finney i A. K. Soper. *Nature* **416** (2002) 829–832.
143. J. G. Davis, K. P. Gierszal, P. Wang i D. Ben-Amotz. *Nature* **491** (2012) 582–585.
144. T. Q. Luong, P. K. Verma, R. K. Mitra i M. Havenith. *J. Phys. Chem. A* **115** (2011) 14462–14469.
145. K. Mizuno, S. Imafuji, T. Fujiwara, T. Ohta i Y. Tamiya. *J. Phys. Chem. B* **107** (2003) 3972–3978.
146. A. A. Bakulin, C. Liang, T. la Cour Jansen, D. A. Wiersma, H. J. Bakker i M. S. Pshenichnikov. *Acc. Chem. Res.* **42** (2009) 1229–1238.
147. S. Schrödle, G. Hefter i R. Buchner. *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 5946–5955.
148. A. A. Bakulin, M. S. Pshenichnikov, H. J. Bakker i C. Petersen. *J. Phys. Chem. A* **115** (2011) 1821–1829.
149. Y. Gu, T. Kar i S. Scheiner. *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 9411–9422.
150. H. C. Chang, J. C. Jiang, C. W. Chuang, J. S. Lin, W. W. Lai, Y. C. Yang i S. H. Lin. *Chem. Phys. Lett.* **410** (2005) 42–48.
151. H. C. Chang, J. C. Jiang, W. C. Tsai, G. C. Chen i S. H. Lin. *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 3302–3307.
152. T. H. Lowry i K. Schueller Richardson, *Mechanism and Theory in Organic Chemistry*, 3. izdanje, Harper & Row, New York, 1987.
153. K. J. Laidler. *Chemical kinetics*, 3. izdanje, Harper & Row Publishers, Inc., New York, 1987.
154. D. Miller, G. R. Buettner i S. D. Aust. *Free Radic. Biol. Med.* **8** (1990) 95–108.
155. G. R. Buettner i B. A. Jurkiewicz. *Radiat. Res.* **145** (1996) 532–541.
156. G. P. Laroff, R. W. Fessenden i R. H. Schuler. *J. Am. Chem. Soc.* **94** (1972) 9062–9073.
157. M. M. T. Khan i A. E. Martell. *J. Am. Chem. Soc.* **89** (1967) 4176–4185.
158. J. H. Espenson, *Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*, 2. izdanje, McGraw-Hill, New York, 1995.
159. A. J. Fry. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12** (2010) 14775–14781.

-
160. P. Perera, M. Wyche, Y. Loethen i D. Ben-Amotz. *J. Am. Chem. Soc.* **130** (2008) 4576–4577.
161. V. A. Sirotkin, B. N. Solomonov, D. A. Faizullin i V. D. Fedotov. *J. Struct. Chem.* **41** (2001) 997–1003.
162. D. Cringus, T. L. C. Jansen, M. S. Pshenichnikov i D. A. Wiersma. *J. Chem. Phys.* **127** (2007) 1–12.
163. H.-C. Chang, J. Jiang, C. Chang, J. Su, C. Hung, Y.-C. Liou i S. H. Lin. *J. Phys. Chem. B* **112** (2008) 4351–4356.
164. S. Woutersen i H. J. Bakker, *Nature*, **402** (1999) 507.
165. W. A. P. Luck. *J. Mol. Struct.* **448** (1998) 131–142.

§ 7. DODATAK

Tablica D.1. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 0,05 : 0,95 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	1,4-dioksan - H_2O		1,4-dioksan - D_2O		KIE
	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	
10,0	29,1		4,69		
	28,9	28,8 (0,3)	4,59	4,61 (0,07)	6,25 (0,12)
	28,4		4,55		
15,0	34,0		5,61		
	33,8	34,0 (0,2)	5,72	5,66 (0,06)	6,01 (0,07)
	34,3		5,66		
25,0	47,1		8,87		
	47,8	47,3 (0,5)	8,71	8,73 (0,14)	5,42 (0,10)
	46,9		8,60		
35,0	63,5		12,7		
	64,1	63,6 (0,5)	12,9	12,7 (0,2)	5,01 (0,10)
	63,1		12,5		
40,0	73,5		15,2		
	72,9	73,2 (0,3)	15,4	15,3 (0,1)	4,77 (0,05)
	73,3		15,3		
45,0	84,4		18,3		
	83,6	83,9 (0,4)	18,2	18,1 (0,2)	4,64 (0,07)
	83,6		17,8		

Tablica D.2. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 0,10 : 0,90 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	1,4-dioksan - H_2O		1,4-dioksan - D_2O		KIE
	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{dm}^3 \text{s}^{-1}$	
10,0	19,0		2,65		
	18,8	18,9 (0,1)	2,63	2,65 (0,01)	7,13 (0,05)
	18,9		2,65		
15,0	23,0		3,33		
	23,7	23,3 (0,4)	3,27	3,33 (0,05)	7,00 (0,16)
	23,1		3,38		
20,0	27,9		4,19		
	27,1	27,9 (0,7)	4,13	4,18 (0,04)	6,67 (0,19)
	28,6		4,20		
25,0	33,3		5,50		
	33,5	33,5 (0,3)	5,39	5,43 (0,05)	6,17 (0,08)
	33,8		5,42		
35,0	44,7		8,04		
	45,7	45,4 (0,7)	7,90	7,96 (0,08)	5,70 (0,10)
	46,0		7,94		
40,0	52,9		10,29		
	53,8	53,5 (0,5)	10,35	10,34 (0,07)	5,17 (0,06)
	53,7		10,39		
45,0	61,1		12,38		
	61,4	60,8 (0,8)	12,22	12,45 (0,35)	4,88 (0,15)
	59,9		12,85		

Tablica D.3. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 0,25 : 0,75 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	1,4-dioksan - H_2O		1,4-dioksan - D_2O		KIE
	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
10,0	7,85		0,832		
	7,92	7,74 (0,18)	0,830	0,823 (0,014)	9,40 (0,27)
	7,67		0,806		
	7,51				
15,0	9,63		1,12		
	9,45	9,63 (0,14)	1,12	1,11 (0,02)	8,68 (0,20)
	9,80		1,10		
	9,63				
20,0	12,0		1,46		
	11,7	11,8 (0,2)	1,45	1,46 (0,01)	8,08 (0,11)
	11,8		1,47		
25,0	14,5		2,00		
	14,8	14,5 (0,2)	2,02	1,97 (0,05)	7,36 (0,21)
	14,4		1,92		
	14,5		1,93		
35,0	21,5		3,46		
	21,3	21,3 (0,2)	3,39	3,36 (0,12)	6,34 (0,23)
	21,0		3,24		
40,0	25,6		4,44		
	25,0	25,2 (0,3)	4,23	4,27 (0,15)	5,90 (0,22)
	25,1		4,15		
45,0	29,5		5,38		
	30,6	30,1 (0,5)	5,50	5,48 (0,07)	5,49 (0,12)
	30,5		5,50		
	29,9		5,54		

Tablica D.4. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala 1,4-dioksan : voda = 1 : 1 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,001 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	1,4-dioksan - H_2O		1,4-dioksan - D_2O		KIE
	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	k_{HA} / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ / $\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
9,9	4,52		0,454		
	4,56	4,58 (0,08)	0,438	0,449 (0,010)	10,20 (0,28)
	4,66		0,456		
14,9	6,02		0,665		
	6,12	6,04 (0,11)	0,687	0,673 (0,012)	8,97 (0,23)
	6,14		0,667		
	5,89				
20,0	8,03		0,987		
	8,22	8,15 (0,11)	0,964	0,971 (0,014)	8,39 (0,16)
	8,20		0,961		
24,9	10,7		1,34		
	10,8	10,7 (0,1)	1,38	1,36 (0,02)	7,87 (0,12)
	10,7		1,36		
29,6	13,9		1,94		
	14,0	13,9 (0,1)	1,96	1,94 (0,02)	7,16 (0,10)
	13,7		1,92		
34,4	17,8		2,66		
	17,9	17,8 (0,2)	2,61	2,63 (0,03)	6,77 (0,10)
	17,5		2,63		
40,0	23,1		3,90		
	23,2	23,0 (0,3)	3,89	3,88 (0,01)	5,93 (0,07)
	22,7		3,87		
43,9	28,5		5,10		
	28,4	28,5 (0,3)	5,20	5,09 (0,12)	5,60 (0,15)
	28,8		4,96		
	28,0				

Tablica D.5. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala acetonitril : voda = 0,05 : 0,95 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,0	27,8		3,87		
	27,2	27,6 (0,4)	3,87	3,91 (0,07)	7,06 (0,16)
	27,9		3,99		
15,0	38,9		6,17		
	38,5	38,6 (0,3)	6,26	6,21 (0,05)	6,22 (0,06)
	38,4		6,22		
25,0	51,1		9,25		
	52,5	52,2 (1,0)	9,14	9,30 (0,19)	5,61 (0,16)
	53,0		9,52		
35,0	70,5		13,6		
	70,2	70,3 (0,2)	13,8	13,7 (0,1)	5,13 (0,05)
	70,1		13,7		
45,0	92,8		18,9		
	92,4	92,0 (1,0)	19,4	19,2 (0,2)	4,79 (0,08)
	90,8		19,3		

Tablica D.6. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala acetonitril : voda = 0,10 : 0,90 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,0	22,3		2,63		
	22,4	22,3 (0,1)	2,70	2,66 (0,03)	8,38 (0,11)
	22,3		2,66		
			2,63		
10,0	26,3		3,43		
	26,6	26,5 (0,1)	3,52	3,43 (0,08)	7,73 (0,19)
	26,5		3,35		
15,0	31,2		4,23		
	31,1	31,1 (0,1)	4,26	4,24 (0,02)	7,33 (0,03)
	31,1		4,24		
25,0	43,5		6,65		
	42,6	43,1 (0,6)	6,61	6,63 (0,02)	6,50 (0,10)
	43,1		6,62		
35,0	57,4		9,94		
	57,0	57,2 (0,2)	9,92	9,93 (0,01)	5,76 (0,02)
	57,2		9,93		
40,0	66,5		11,9		
	66,7	66,6 (0,1)	12,0	12,0 (0,1)	5,55 (0,04)
	66,7		12,1		

Tablica D.7. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala acetonitril : voda = 0,25 : 0,75 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,0	11,1		1,00		
	11,0	11,1 (0,1)	1,01	1,01 (0,01)	10,99 (0,15)
	11,1		1,03		
10,0	13,4		1,31		
	13,6	13,5 (0,1)	1,34	1,32 (0,01)	10,22 (0,11)
	13,5		1,32		
15,0	16,6		1,75		
	16,3	16,4 (0,2)	1,76	1,76 (0,01)	9,32 (0,10)
	16,4		1,77		
25,0	23,7		2,84		
	23,2	23,4 (0,2)	2,88	2,87 (0,03)	8,15 (0,11)
	23,4		2,88		
35,0	32,8		4,62		
	32,7	32,8 (0,1)	4,75	4,68 (0,06)	7,01 (0,10)
	32,9		4,68		
40,0	38,3		5,79		
	38,3	38,6 (0,6)	5,74	5,81 (0,09)	6,64 (0,14)
	39,2		5,91		

Tablica D.8. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala acetonitril : voda = 0,40 : 0,60 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,0	8,66		0,733		
	8,61	8,63 (0,03)	0,738	0,737 (0,003)	11,71 (0,07)
	8,61		0,739		
10,0	10,3		1,02		
	10,4	10,3 (0,1)	1,01	1,02 (0,01)	10,10 (0,08)
	10,4		1,01		
15,0	12,7		1,27		
	12,8	12,8 (0,1)	1,35	1,32 (0,04)	9,67 (0,33)
	12,9		1,34		
25,0	19,1		2,26		
	18,8	18,8 (0,3)	2,21	2,22 (0,03)	8,47 (0,26)
	18,4		2,19		
35,0	26,4		3,63		
	27,0	26,7 (0,3)	3,67	3,65 (0,02)	7,32 (0,09)
	26,7		3,65		
40,0	31,6		4,51		
	31,5	31,6 (0,1)	4,54	4,59 (0,11)	6,88 (0,16)
	31,6		4,71		

Tablica D.9. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala acetonitril : voda = 1 : 1v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	MeCN - H ₂ O		MeCN - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,7	8,7		0,89		
	8,8	8,8 (0,1)	0,92	0,91 (0,01)	9,67 (0,25)
	9,0		0,91		
10,0	10,5		1,13		
	10,5	10,6 (0,1)	1,17	1,14 (0,02)	9,30 (0,23)
	10,7		1,13		
15,0	12,6		1,46		
	12,5	12,5 (0,1)	1,44	1,46 (0,02)	8,56 (0,15)
	12,5		1,49		
25,0	18,9		2,27		
	18,8	18,9 (0,1)	2,31	2,29 (0,02)	8,25 (0,09)
	18,9		2,28		
35,0	26,5		3,74		
	26,4	26,4 (0,1)	3,62	3,67 (0,06)	7,19 (0,12)
	26,3		3,65		
40,0	31,4		4,68		
	31,5	31,5 (0,1)	4,66	4,66 (0,02)	6,76 (0,04)
	31,7		4,64		
45,0	37,8		5,49		
	38,1	38,1 (0,3)	5,59	5,58 (0,09)	6,83 (0,11)
	38,3		5,66		

Tablica D.10. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala etanol : voda = 0,10 : 0,90 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0023$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	EtOH - H ₂ O		EtOH - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
10,0	29,9		4,39		
	28,7	29,3 (0,6)	4,47	4,44 (0,05)	6,60 (0,16)
	29,4		4,45		
15,0	33,8		5,58		
	34,4	34,1 (0,3)	5,41	5,49 (0,12)	6,21 (0,15)
	34,1		5,49		
	34,2				
20,0	39,7		6,85		
	39,8	39,7 (0,1)	6,66	6,75 (0,13)	5,88 (0,12)
	39,7		6,75		
25,0	47,2		8,26		
	47,1	46,9 (0,4)	8,20	8,20 (0,05)	5,72 (0,06)
	46,4		8,16		
30,0	53,8		9,70		
	53,4	53,6 (0,3)	9,75	9,70 (0,06)	5,53 (0,05)
	53,6		9,66		
35,0	60,2		11,81		
	62,4	61,4 (1,1)	11,86	11,83 (0,04)	5,20 (0,10)
	61,5		11,83		
40,0	71,4		14,24		
	71,2	70,8 (0,8)	14,02	13,92 (0,29)	5,09 (0,12)
	69,4		13,55		
	70,7		13,87		
	71,0				

Tablica D.11. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u smjesi otapala etanol : voda = 1 : 1 v/v pri različitim temperaturama, na ionskoj jakosti $I_c = 0,0015$, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00075 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	EtOH - H ₂ O		EtOH - D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
10,0	6,14		0,606		
	6,31	6,22 (0,09)	0,603	0,607 (0,004)	10,25 (0,16)
	6,31		0,611		
	6,15				
	6,17				
14,0	7,05		0,750		
	7,33	7,32 (0,26)	0,771	0,752 (0,018)	9,73 (0,42)
	7,57		0,735		
20,0	9,40		1,10		
	9,33	9,37 (0,04)	1,07	1,09 (0,01)	8,60 (0,11)
	9,37		1,09		
25,0	11,28		1,46		
	11,31	11,30 (0,02)	1,37	1,43 (0,04)	7,90 (0,22)
	11,31		1,42		
			1,45		
35,0	16,51		2,38		
	16,67	16,66 (0,14)	2,50	2,41 (0,07)	6,91 (0,21)
	16,79		2,37		
40,0	20,03		3,12		
	20,58	20,31 (0,27)	3,16	3,13 (0,03)	6,49 (0,10)
	20,32		3,12		
45,0	23,82		4,09		
	23,94	23,76 (0,21)	4,14	4,10 (0,04)	5,80 (0,07)
	23,53		4,07		

Tablica D.12. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,01 mol dm⁻³ tetraetilamonij klorida (TEACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
10,0	70,2		12,2		
	73,8	72,2 (1,8)	12,1	12,3 (0,2)	5,87 (0,18)
	72,6		12,5		
15,0	84,3		14,7		
	82,9	83,6 (0,7)	14,6	14,7 (0,1)	5,69 (0,08)
	83,7		14,7		
20,0	95,3		17,6		
	94,9	95,1 (0,2)	17,1	17,4 (0,2)	5,47 (0,11)
	95,1		17,4		
25,0	108,4		21,2		
	108,8	108,7 (0,2)	21,1	21,1 (0,1)	5,15 (0,02)
	108,8		21,1		
30,0	124,2		24,9		
	122,6	123,4 (0,8)	24,4	24,6 (0,2)	5,02 (0,08)
	123,5		24,6		
35,0	142,6		29,2		
	142,1	142,3 (0,3)	28,9	29,1 (0,2)	4,89 (0,04)
	142,3		29,1		
41,0	162,9		35,2		
	159,3	161,5 (2,0)	35,4	35,3 (0,1)	4,58 (0,06)
	162,4		35,3		

Tablica D.13. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,1 mol dm⁻³ tetraetilamonij klorida (TEACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
5,0	88,5		9,25		
	88,4	88,4 (0,1)	9,18	9,23 (0,04)	9,58 (0,04)
	88,4		9,25		
10,0	103,5		11,53		
	102,3	102,9 (0,6)	11,54	11,53 (0,01)	8,92 (0,07)
	102,9		11,52		
15,0	120,8		14,54		
	120,3	120,5 (0,3)	14,80	14,67 (0,13)	8,21 (0,11)
	120,5		14,68		
25,0	161,1		22,25		
	161,6	161,2 (0,4)	22,25	22,22 (0,05)	7,25 (0,02)
	160,9		22,16		
30,0	185,0		27,00		
	184,0	184,5 (0,5)	27,07	27,03 (0,03)	6,83 (0,03)
	184,5		27,03		
36,0	215,2		34,08		
	217,2	216,8 (1,4)	34,01	34,08 (0,07)	6,36 (0,04)
	218,0		34,15		

Tablica D.14. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,1 mol dm⁻³ tetrabutilamonij klorida (TBACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
9,0	52,9		6,19		
	50,6	51,9 (1,2)	6,01	6,12 (0,10)	8,48 (0,24)
	52,2		6,16		
15,0	65,7		8,23		
	65,6	65,7 (0,1)	8,34	8,27 (0,06)	7,94 (0,06)
	65,8		8,25		
20,0	78,8		10,59		
	79,5	79,2 (0,4)	10,63	10,61 (0,02)	7,46 (0,04)
	79,4		10,61		
25,0	94,9		13,35		
	93,3	94,6 (1,2)	13,40	13,52 (0,25)	7,00 (0,16)
	95,6		13,80		
35,0	130,9		21,41		
	132,7	132,6 (1,7)	20,95	21,18 (0,23)	6,26 (0,10)
	134,3		21,19		
40,0	159,0		25,81		
	152,5	156,2 (3,3)	26,23	26,27 (0,04)	5,94 (0,17)
	157,0		26,78		

Tablica D.15. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ benziltrimetilamonij klorida (BTMACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H_2O		D_2O		KIE
	k_{HA} $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	k_{HA} $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
5,0	218		25,8		
	216	218 (2)	25,8	25,8 (0,1)	8,45 (0,08)
	219		26,0		
10,0	238		31,9		
	243	241 (3)	30,0	31,0 (1,0)	7,77 (0,26)
	243		31,2		
15,0	267		36,2		
	264	269 (6)	36,3	36,4 (0,3)	7,39 (0,17)
	275		36,8		
25,0	328		50,8		
	331	328 (3)	50,0	50,8 (0,6)	6,46 (0,09)
	325		51,3		
30,0			51,0		
	362		59,5		
	370	368 (5)	59,4	59,1 (0,6)	6,23 (0,10)
36,0	371		58,4		
	408		72,9		
	408	409 (1)	73,3	71,8 (1,5)	5,70 (0,12)
	410		70,5		
			70,6		

Tablica D.16. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,1 mol dm⁻³ acetilkolin klorida (AChCl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
10,0	187		27,8		
	189	188 (1)	27,3	27,2 (0,7)	6,91 (0,18)
	188		26,4		
15,0	215		32,0		
	213	212 (3)	32,1	31,9 (0,3)	6,65 (0,12)
	208		31,5		
			32,2		
20,0	251		39,1		
	234	244 (10)	38,1	38,6 (0,5)	6,32 (0,27)
	238		38,8		
	254				
25,0	276		47,4		
	279	276 (2)	47,8	46,7 (1,3)	5,91 (0,16)
	276		46,6		
	274		45,0		
30,0	304		56,2		
	316	310 (6)	54,3	54,9(1,1)	5,65 (0,16)
	311		54,3		
35,0	350		64,8		
	346	348 (2)	64,4	64,5 (0,3)	5,40 (0,04)
	348		64,2		
41,0	397		79,1		
	403	397 (5)	77,5	78,2 (0,8)	5,08 (0,06)
	392		78,1		

Tablica D.17. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ benziltrimetilamonij klorida (BTMACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,00015 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,000025 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H_2O		D_2O		KIE
	k_{HA} $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	k_{HA} $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	$\bar{k}_{\text{HA}}$ $/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$	
5,0	263		26,4		
	259	261 (2)	26,9	26,7 (0,2)	9,76 (0,12)
	261		26,8		
15,0	342		39,7		
	345	345 (4)	39,9	39,8 (0,1)	8,67 (0,13)
	349		39,8		
25,0	433		58,1		
	437	438 (6)	58,3	58,2 (0,1)	7,53 (0,11)
	445		58,2		
30,0	505		69,1		
	499	499 (6)	69,2	69,7 (1,1)	7,16 (0,16)
	494		71,0		
36,0	570		83,9		
	590	574 (15)	84,2	84,8 (1,3)	6,77 (0,20)
	561		86,2		

Tablica D.18. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,5 mol dm⁻³ tetrapropilamonij klorida (TPACl), pri različitim temperaturama, u neutralnom. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$T/^\circ\text{C}$	H₂O		D₂O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
9,0	41,7		3,04		
	42,1	41,3 (1,1)	3,03	3,04 (0,01)	13,59 (0,35)
	40,1		3,04		
15,0	52,5		4,33		
	51,5	51,6 (0,9)	4,30	4,32 (0,02)	11,94 (0,22)
	50,7		4,32		
25,0	75,1		7,32		
	79,1	76,9 (2,0)	7,26	7,29 (0,03)	10,55 (0,26)
	76,5		7,29		
35,0	108,1		11,63		
	107,1	107,3 (0,8)	11,83	11,76 (0,11)	9,12 (0,10)
	106,6		11,82		
40,0	129,2		15,17		
	126,7	127,8 (1,3)	15,30	15,24 (0,07)	8,39 (0,10)
	127,6		15,26		

Tablica D.19. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona i kinetički izotopni učinci u prisutnosti 0,006 mol dm⁻³ parakvat diklorid hidrata (PQCl₂), pri različitim temperaturama. $c(\text{H}_2\text{Asc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$ $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{HClO}_4) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$ u H₂O, $c(\text{HClO}_4) = 0,0001 \text{ mol dm}^{-3}$ u D₂O.

$T/^\circ\text{C}$	H ₂ O		D ₂ O		KIE
	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	k_{HA} /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	$\bar{k}_{\text{HA}}$ /mol ⁻¹ dm ³ s ⁻¹	
10,0	636		94,3		
	606	615 (14)	94,8	94,6 (0,3)	6,50 (0,20)
	612		94,6		
	607				
15,0	644		108		
	692	671 (20)	106	107 (2)	6,27 (0,21)
	679		108		
	668				
20,0	728		123		
	725	726 (2)	124	122 (3)	5,95 (0,11)
	725		119		
25,0	793		142		
	763	786 (20)	143	141 (2)	5,57 (0,17)
	801		138		
30,0	850		153		
	874	845 (22)	159	156 (3)	5,42 (0,17)
	823		157		
	835				
35,0	905		178		
	929	923 (16)	175	180 (3)	5,13 (0,12)
	935		181		
41,0	1025		208		
	973	1001 (26)	208	205 (5)	4,88 (0,17)
	1004		200		

Tablica D.20. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona kod različitih koncentracija benziltrimetilamonij klorida (BTMACl), u neutralnom, pri 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0003 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00004 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{BTMACl})/\text{mol dm}^{-3}$	I_c	$\bar{k}_{\text{HA}}^*/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,0005	0,0025	73,1 (0,7)
0,0010	0,0030	80,0 (1,0)
0,0030	0,0050	97,4 (0,9)
0,0050	0,0070	111,1 (1,5)
0,0070	0,0090	121,9 (1,8)
0,0100	0,0120	134,8 (1,3)

* Rezultati iz ovog laboratorija.

Tablica D.21. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona kod različitih koncentracija natrij klorida (NaCl), u neutralnom, pri 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_c	$\bar{k}_{\text{HA}}^a/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0 ^b	0,0011	64,7 (0,5)
0	0,0023	71,3 (0,7)
0,001	0,0033	77,0 (0,9)
0,003	0,0053	84,8 (1,1)
0,005	0,0073	94,7 (1,1)
0,007	0,0093	100,7 (1,5)
0,010	0,0103	104,2 (1,5)

^a Rezultati iz reference 43.

^b 0,0001 M Na₂EDTA.

Tablica D.22. Konstante brzine reakcije askorbata i heksacijanoferat(III) iona kod različitih koncentracija tetrabutilamonij klorida (TBACl), u neutralnom, pri 298 K. $c(\text{NaHAsc}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 0,00005 \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Na}_2\text{EDTA}) = 0,0005 \text{ mol dm}^{-3}$.

$c(\text{TBACl})/\text{mol dm}^{-3}$	I_c	$\bar{k}_{\text{HA}}/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$
0,0001	0,0024	73,1 (0,8)
0,0005	0,0028	73,6 (1,2)
0,0010	0,0033	74,9 (0,3)
0,0017	0,0040	76,4 (1,3)
0,0040	0,0063	80,3 (0,5)
0,0050	0,0073	81,1 (1,5)
0,0065	0,0088	82,5 (1,1)
0,0080	0,103	83,3 (1,4)

Tablica D.23. Debye-Hückelove A konstante izračunane za različite smjese 1,4-dioksana s lakom (H_2O) i teškom (D_2O) vodom iz poznatih gustoća i dielektričnih konstanti, pri 298 K.

1,4-dioksan:voda (v/v)	$A(\text{H}_2\text{O})$	$A(\text{D}_2\text{O})$
0,00 : 1,00	0,509	0,540
0,03 : 0,97	0,532	
0,05 : 0,95	0,549	0,581
0,08 : 0,92	0,575	
0,10 : 0,90	0,594	0,628
0,12 : 0,88	0,614	
0,15 : 0,85	0,646	0,681
0,25 : 0,75	0,776	0,813
0,35 : 0,65	0,955	
0,40 : 0,60	1,072	1,115
0,50 : 0,50	1,392	1,440

§ 8. ŽIVOTOPIS

Ana Karković Marković

Datum i mjesto rođenja: 24.09.1985., Split

Obrazovanje:

2011. -	Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Doktorski studij kemije, smjer fizikalna kemija
2004. - 2009.	Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
2000. - 2004.	Gimnazija Hvar, opći smjer

Radno iskustvo:

travanj 2010. -	asistentica na Zavodu za fizikalnu kemiju, FBF
(kolovoz 2014. - studeni 2015.)	(porodiljni dopust)

Znanstveni radovi u časopisima:

1. A. Karković, C. Jakobušić Brala, V. Pilepić, S. Uršić, *Tetrahedron Lett.* **52** (2011) 1757.
2. C. Jakobušić Brala, V. Pilepić, I. Sajenko, A. Karković, S. Uršić, *Helv. Chim. Acta*, **94** (2011) 1718.
3. C. Jakobušić Brala, A. Karković, K. Klepac, A. M. Vučinović, V. Pilepić, S. Uršić, *Z. Phys. Chem.*, **225** (2011), 821.
4. C. Jakobušić Brala, A. Karković, I. Sajenko, V. Pilepić, S. Uršić, *Z. Phys. Chem.* **226** (2012) 29.

5. C. Jakobušić Brala, I. Fabijanić, A. Karković Marković, V. Pilepić, *Computational And Theoretical Chemistry*, **1049** (2014) 1.
6. A. Karković Marković, C. Jakobušić Brala, I. Fabijanić, V. Pilepić, S. Uršić, *Hydrogen tunnelling and molecular hydrophobic interfaces: an unpercieved feature related to hydrophobicity*, predano za tisak.

Priopćenja znanstvenim skupovima:

1. A. Karković Marković, C. Jakobušić Brala, V. Pilepić, S. Uršić, *Simpozij studenata doktorskih studija PMF-a*, Zagreb, 2016.
2. A. Karković Marković, I. Fabijanić, C. Jakobušić Brala, V. Pilepić, M. Barbarić, S. Uršić, *2nd Zagreb International Conference on Pharmaceutical Sciences: Sharing a vision towards better and safe medicines*, Zagreb, 2013.
3. A. Karković Marković, Đ. Benčić, M. Barbarić, Z. Šindrak, C. Jakobušić Brala, *2nd Zagreb International Conference on Pharmaceutical Sciences: Sharing a vision towards better and safe medicines*, Zagreb, 2013.
4. A. Karković, C. Jakobušić Brala, V. Pilepić, S. Uršić, *XXII. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2011.
5. C. Jakobušić Brala, A. Karković, I. Sajenko, S. Uršić, *XXII. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2011.
6. C. Jakobušić Brala, A. Karković, K. Klepac, A. M. Vučinović, S. Uršić, *XXII. Hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera*, Zagreb, 2011.