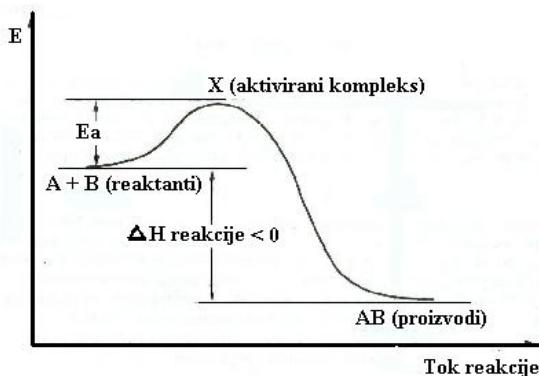


ODREĐIVANJE ENERGIJE AKTIVACIJE ZA REAKCIJU

HIDROLIZE SAHAROZE U KISELOJ SREDINI

Jednačina koja povezuje osnovne termodinamičke funkcije $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ (gde je ΔG promena slobodne energije, ΔH promena entalpije, T absolutna temperatura i ΔS promena entropije) omogućava predviđanje ne samo topotnih efekata jednog hemijskog procesa nego i njegove spontanosti. Naime ako je razlika $\Delta H - T\Delta S$ negativna, $\Delta G < 0$, reakcija je egzergona i spontana, ako je $\Delta G = 0$ reakcija je u ravnoteži dok je za $\Delta G > 0$ reakcija endergona i ne odvija se spontano. Brojne reakcije čije je $\Delta G < 0$, se međutim ne odigravaju spontano. Tako na primer, iako je reakcija oksidacije glukoze spontana, dobro je poznato da se glukoza u prisustvu kiseonika iz vazduha spontano ne oksiduje.

Da bi se ma koja reakcija odigrala mora doći do efikasnog sudara između molekula reaktanata. Za taj sudar neophodno je uložiti energiju koja se naziva energija aktivacije, E_a . Pri sudaru nastaje visokoenergetski nepostojani aktivirani kompleks, X , koji se u zavisnosti od tipa i uslova reakcije može razložiti na konačni proizvod ili polazne reaktante (slika 1).



Slika 1. Energetski dijagram za reakciju $A+B \rightleftharpoons X \rightarrow AB$. Razlika energije proizvoda i reaktanata je negativna. E_a – energija aktivacije predstavlja razliku energije aktiviranog kompleksa i reaktanata.

Brzina hemijske reakcije predstavlja promenu koncentracije reaktanata (ili proizvoda) u jedinici vremena, $v = \pm \frac{\Delta[A]}{\Delta t}$ ($\Delta[A]$ – promena koncentracije; Δt – promena vremena).

Brzina hemijske reakcije zavisi od: prirode reaktanata, koncentracije reaktanata, temperature, dodirne površine faza (kod heterogenih reakcija), zračenja, katalizatora. Pri konstantnoj temperaturi brzina homogene reakcije $A + B \rightarrow AB$ srazmerna je proizvodu koncentracije reaktanata (zakon o dejstvu masa) $v = k [A] [B]$, gde je $[A]$ koncentracija reaktanta A, $[B]$ koncentracija reaktanta B, k konstanta brzine hemijske reakcije. Ona je brojno jednaka brzini reakcije pri jediničnim koncentracijama reaktanata. Kako je temperatura mera srednje kinetičke energije molekula, sa porastom temperature povećava se kinetička energija reaktanata, usled čega verovatnoća za efikasne sudare raste i brzina hemijske reakcije raste. Uticaj temperature na porast brzine hemijske reakcije dat je Arrhenius-ovom jednačinom

$$k = Ae^{-E_a/RT}, \quad (1)$$

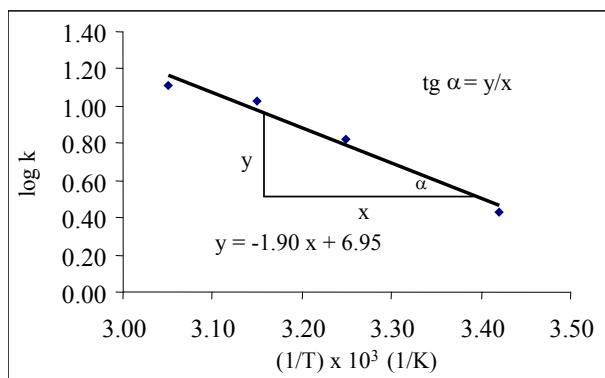
(gde je A Arrhenius-ova konstanta proporcionalnosti (faktor učestalosti), e - osnova prirodnog logaritma, E_a - energija aktivacije, R - gasna konstanta ($8,314 \text{ J/Kmol}$) T -apsolutna temperatura, k - konstanta brzine hemijske reakcije, tj. konstanta proporcionalnosti u izrazu za brzinu hemijske reakcije $v = k [A] [B]$

Logaritmovanjem jednačine (1) dobijamo jednačinu:

$$\log k = -\frac{E_a}{2,3R} \cdot \frac{1}{T} + \log A \quad (2) \quad \text{koja odgovara jednačini prave}$$

$$y = a \cdot x + b$$

Ako se dakle konstruiše grafik zavisnosti $\log k$ od $\frac{1}{T}$, iz jednačine prave se može lako odrediti nagib $a = -\frac{E_a}{2,3R}$ i izračunati energija aktivacije.



Slika 2. Grafik zavisnosti $\log k$ od $1/T$.

Ukoliko jednačina prave nije dostupna onda se nagib računa kao $a = \frac{y_B - y_A}{x_B - x_A}$ ¹,

gde su A i B dve izabrane tačke na pravoj, a $x_{A(B)}$ i $y_{A(B)}$ njihove koordinate.

Polazeći od Arrhenius-ove jednačine i odnosa k_1 na temperaturi T_1 i k_2 na temperaturi T_2 može se doći do logaritamskog oblika jednačine

$$\log \frac{k_1}{k_2} = \frac{Ea}{2,3R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \right) \quad (3)^2 \quad \text{odakle je} \quad Ea = \frac{-2,3RT_2 T_1}{T_2 - T_1} \log \frac{k_1}{k_2} \quad (4)$$

Jednačina (4) omogućava određivanje energije aktivacije određivanjem konstanti brzine (k_1 i k_2) na samo dve različite temperature T_1 i T_2 .

Energija aktivacije je uvek pozitivna (to je energija koju treba uložiti).

¹ Nagib je $\tan \alpha = \frac{y}{x} = \frac{y_B - y_A}{x_B - x_A}$

² Nekajek konstantabrzinenekereakcijenatemperaturiT₁, ak₂konstantabrzinenekereakcijenatemperaturiT₂, sledidaje

$\frac{k_1}{k_2} = \frac{\frac{Ae^{-Ea/RT}}{1}}{\frac{Ae^{-Ea/RT}}{2}} = e^{-Ea/RT_1} \cdot e^{-(Ea/RT_2)} = e^{-(Ea/R)(1/T_1 - 1/T_2)}, \quad \text{pa je logaritamski oblik log} \frac{k_1}{k_2} = \frac{-Ea}{2,3R} \left(\frac{T_2 - T_1}{T_2 T_1} \right) \text{ sledidaje}$

$Ea = \frac{-2,3RT_2 T_1}{T_2 - T_1} \log \frac{k_1}{k_2}$

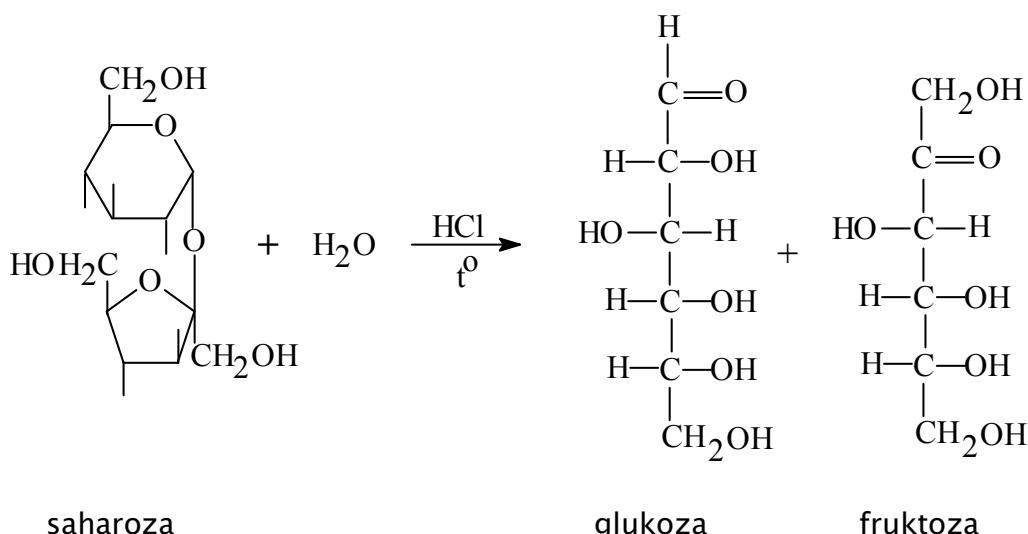
Određivanje energije aktivacije za reakciju hidrolize saharoze u prisustvu H⁺ jona

a) Svaki student će izvesti reakciju hidrolize saharoze u prisustvu H⁺ jona na dve različite temperature i pomoću jednačine (4) izračunati energiju aktivacije te reakcije.

b) Studenti će razmeniti rezultate dobijene na različitim temperaturama, uneti ih u tabelu 3., nacrtati pravu zavisnosti log k od 1/T · 10³ i izračunati energiju aktivacije, pomoću jednačine 2.

Princip:

Saharoza je neredukujući disaharid, koji hidrolizom daje dva redukujuća šećera: glukozu i fruktozu (slika 3). Određivanje energije aktivacije hidrolize saharoze podrazumeva merenje brzine hemijske reakcije, što znači merenje promene koncentracije redukujućih šećera (glukoze i fruktoze) dobijenih hidrolizom saharoze u kiseloj sredini na određenoj temperaturi. Preko jednačine (4) može se izračunati energija aktivacije merenjem brzine na samo dve temperature. Energija aktivacije se može odrediti i kao nagib prave dobijene merenjem brzine na više različitih temperatura i crtanjem prave zavisnosti log k od 1/T.³



Slika 3. Reakcija hidrolize saharoze u kiseloj sredini.

³Kako je reakcija hidrolize saharoze (pridatim koncentracijama reaktanata) reakcija prvog reda = k [saharoze]. Merenjem brzine reakcije lako se izračuna k : k = v/[saharoze], azati tim log k.

Reagensi:

DNS reagens (16 g NaOH i 10 g dinitrosalicilne kiseline se rastvori u 300 mL vode, a 300 g K, Na-tartarata u 200 mL vode. Posle rastvaranja rastvori se pomešaju i razblaže vodom do 1 L); rastvor glukoze (0,9 g/L) sa fruktozom (0,9 g/L); rastvor saharoze (5 g/L); HCl (2,5 g/L); NaOH (5 g/L).

Pribor:

Epruvete, pipete, vodeno kupatilo, kolorimetar.

Postupak:

DNS reaguje samo sa redukujućim šećerima i gradi obojeno jedinjenje čija se koncentracija može odrediti kolorimetrijski pomoću standardne krive koja se konstruiše prema tabeli 1.

Tabela 1. Postupak za pripremanje rastvora za konstruisanje standardne krive

| Epruveta | 5 mmol/L glukoze i 5 mmol/L fruktoze (mL) | Dest. H ₂ O (mL) | DNS reagens (mL) | c (μmol/mL) | A ₅₄₀ |
|-------------|---|-----------------------------|------------------|-------------|------------------|
| Slepa proba | 0,0 | 1,0 | 1,0 | 0,0 | |
| 1 | 0,2 | 0,8 | 1,0 | 1,0 | |
| 2 | 0,4 | 0,6 | 1,0 | 2,0 | |
| 3 | 0,6 | 0,4 | 1,0 | 3,0 | |
| 4 | 0,8 | 0,2 | 1,0 | 4,0 | |
| 5 | 1,0 | 0,0 | 1,0 | 5,0 | |

Rastvori pripremljeni prema tabeli 1. se ostave 5 minuta u ključalom vodenom kupatilu, a zatim očita njihova apsorbanca na 540 nm (ili uz odgovarajući kolorimetrijski filter) u odnosu na slepu probu (upisati vrednosti apsorbance u tabelu). Nacrtajte krivu zavisnosti apsorbance od koncentracije redukujućih šećera (μmol/mL).

Postupak za određivanje brzine hidrolize saharoze u prisustvu H⁺ jona dat je u tabeli 2.

Tabela 2. Postupak za određivanje brzine hidrolize saharoze u prisustvu H⁺ jona

| Rastvori | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | |
|--------------------------------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|
| | Test uzorak | sp |
| Saharoza (14,62 μmol/mL) | 1 mL | 1 mL |
| H ₂ O | / | 0,1mL | / | 0,1mL | / | 0,1mL | / | 0,1mL |
| Temperatura | 20°C | | 40°C | | 60°C | | 70°C | |
| HCl | 0,1mL | / | 0,1mL | / | 0,1mL | / | 0,1mL | / |
| Vreme inkubacije | 10 min | | 10 min | | 10 min | | 10 min | |
| NaOH | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL | 0,5mL |

* Svaki uzorak ima svoju slepu probu (sp). Slea proba je uzorak u kome ne vrši hidroliza saharoze (umesto HCl-a dodata je voda).

Reakcija hidrolize se nakon 10 minuta prekida dodatkom NaOH. Kako bi se očitala apsorbanca (manja od 1) neke od uzoraka je potrebno razblažiti vodom kao što sledi:

Uzorak 2 i sp2 (inkubirani na 40 °C) – razblaženje 1:1 (uzorak:voda)

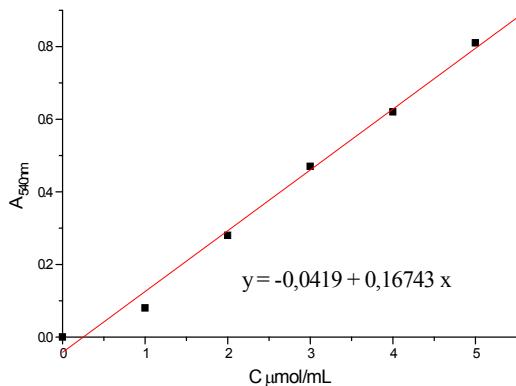
Uzorak 3 i sp3 (inkubirani na 60°C) – razblaženje 1:3 (uzorak:voda)

Uzorak 4 i sp4 (inkubirani na 70°C) – razblaženje 1:5 (uzorak:voda)

Od ovako razblaženih uzoraka odmeriti po 1 mL i dodati po 1 mL DNS reagensa. Epruvete staviti u ključalo vodeno kupatilo u toku 5 min, a zatim izmeriti apsorbancu na 540 nm (ili uz odgovarajući filter) u odnosu na slepu probu.

Sastandardne krive očitljivosti koncentracijera redukujućih šećera izati mu u obzir razblaženje uzoraka i pomnožiti dobijene koncentracije sa 2,4,6 zauzorka 2,3,4 redom.

U tabelu 3. uneti sledeće podatke: temperaturu (u °C), izračunatu temperaturu u K (273+ temperatura u °C), koncentraciju redukujućih šećera, c, izračunatu sa standardne krive (slika 3.), izračunatu brzinu reakcije (podeliti c red. šećera sa vremenom reakcije, 10 minuta), izračunatu konstantu brzine, k (iz $v = k \times c_{\text{saharoze}}$ je $k = v / c_{\text{saharoze}}$; koncentracija saharoze je data u tabeli 2. i iznosi 14,62 μmol/mL) i izračunati vrednost za log k.



Slika 3. Zavisnost A(540nm) od koncentracije ($\mu\text{mol}/\text{mL}$) redukujućih šećera
Jednačina prave: $y = -0,0419 + 0,16743 x$

Tabela 3. Izračunavanje brzine hidrolize saharoze u prisustvu H^+ jona

| $t(^{\circ}\text{C})$ | $T(\text{K})$ | $(1/T) \times 10^3$ ($1/K$) (osa x, slika 2.) | c redukujućih šećera ($\mu\text{mol}/\text{mL}$) | v ($\mu\text{mol}/\text{mLmi}-\text{n}$) | k | $\log k$ (osa y, slika 2.) |
|-----------------------|---------------|---|---|---|-----|-------------------------------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Konstruisati grafik zavisnost $\log K$ od $1/T$ i izračunati energiju aktivacije.

Literatura:

- Kask, U. Rawn, J. D, **General chemistry**, Wm. C. Brown Publishers, 1993
- Montgomery, R., Swenson, C.A., **Quantitative problems in the biochemical sciences**, Ed. II, W.H. Freeman Company, San Francisco, 1976.
- Voet ,D., Voet ,J., **Biochemistry**, Ed. II, John Wiley & Sons, 1995.

Prezime
ime_____

i Vežba 2

Grupa_____

Overava:

Datum_____