

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
katedra farmaceutické technologie



Vliv lipofility substrátů a tenzidů na účinnost micelární hydrolýzy
p-nitrofenylalkanoátů N-alkylpyridinium bromidy
(rigorózní práce)

The influence of lipophility of p-nitrophenylacanoates and N-alkylpyridinium bromides
on micelar hydrolysis effectivity

Touto cestou chci velmi poděkovat panu pplk. doc. Ing. Jiřímu Cabalovi, CSc. a panu doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za cenné rady, vstřícnost a trpělivost při provádění experimentů, rovněž děkuji za uvedení do problematiky a za konzultace a připomínky, kterými přispěli k sepsání této rigorózní práce.

1. ÚVOD	4
2. CÍL PRÁCE	5
3. TEORETICKÁ ČÁST	6
3.1 Tenzidy	6
3.1.1 Tenzidy jako látky snižující povrchové napětí.....	6
3.1.2 Traubeho pravidlo.....	6
3.1.3 Klasifikace tenzidů.....	7
3.1.4 Kritická micelární koncentrace.....	8
3.1.5 Strukturní typy micel	9
3.1.6 Hydrofilně-lipofilní rovnováha tenzidu – HLB.....	10
3.2 Micelární katalýza	11
3.2.1 Charakteristika.....	11
3.2.2 Modely micelární katalýzy	12
3.2.3 Micelárně katalyzované hydrolyzy esterů	15
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
4.1 Použité chemikálie	17
4.2 Přístroje a zařízení	17
4.3 Základní roztoky.....	18
4.4 Postupy a metodiky.....	18
5. VÝSLEDKY	21
6. KOMENTÁŘ A DISKUZE	25
6.1 Komponenty a podmínky reakce.....	25
6.2 Zpracování dat.....	26
6.3 Zhodnocení hydrolytické účinnosti	27
7. ZÁVĚRY	33
8. SOUHRN	34
9. LITERATURA	35

1. ÚVOD

Toxické chemické sloučeniny charakteru organofosfátů jsou neustále reálnou hrozbou pro lidstvo. Mezinárodní Úmluva zakazuje použití těchto látek jako chemických zbraní, nicméně tyto látky mohou být zneužity teroristy a nelze zabránit ani průmyslovým haváriím v oblasti výroby a nakládání s organofosforovými pesticidy.

Dojde-li ke kontaminaci osob těmito látkami, je nutné v co nejkratším čase provést očistu, aby se zabránilo rozvoji závažných zdravotních problémů. Prvotní dekontaminace osob dnes spočívá v použití práškových látek působících na adsorpčním principu či kapalin na principu chemickém.

V celosvětovém měřítku probíhá řada výzkumů, jak co nejrychleji a nejúčinněji provést dekontaminaci osob, aniž by přitom došlo k nevratnému poškození jejich zdraví. V posledních desetiletích jsou v tomto směru studovány micelární systémy, které jsou schopny urychlovat hydrolýzu organofosforových sloučenin. Urychlení této rozkladné reakce je podmíněno vznikem a existencí micel tenzidů.

2. CÍL PRÁCE

1) v teoretické části

- podat ucelený přehled o vlastnostech kationických tenzidů
- shrnout základní poznatky o reakcích hydrolyticky citlivých substrátů v micelárním prostředí

2) v experimentální části

- provést orientační měření rychlosti hydrolytických reakcí p-nitrofenylalkanoátů v prostředí micel kationických tenzidů se strukturou n-alkylpyridinium bromidů
- pokusit se odvodit vztah mezi strukturou substrátů, tenzidů a rychlostí jejich hydrolytických reakcí

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Tenzidy

3.1.1 Tenzidy jako látky snižující povrchové napětí

Společnou vlastností všech tenzidů je jejich povrchová aktivita. Tyto látky se hromadí na fázovém rozhraní, ovlivňují zde energetické poměry, což se projeví zejména snížením povrchového napětí. Aby byla látka povrchově aktivní, musí být tvořena hydrofilní a hydrofobní částí (tzv. amfifilní, difilní či ambifilní struktura), dále musí vykazovat výrazný dipólový moment a hydrofobní část musí být dostatečně velká.

Povrchové molekuly dané kapaliny jsou vnitřním tlakem vtahovány dovnitř a povrch má snahu se zmenšit na minimum. **Povrchové napětí** γ je síla, která působí na jednotkové délce fázového rozhraní ve směru omezení povrchu kapaliny. Jednotkou povrchového napětí je $N.m^{-1}$ a směřuje vždy tangenciálně k povrchu kapaliny.

S rostoucí koncentrací tenzidu dochází k poklesu povrchového napětí daného roztoku. Tuto závislost popisuje Szyszkowského rovnice [1]:

$$\frac{\gamma}{\gamma_0} = 1 - B \ln\left(\frac{c+A}{A}\right) \quad [\text{rov.1}]$$

γ – povrchové napětí roztoku

γ_0 – povrchové napětí čistého rozpouštědla

A – konstanta, v homologické řadě stoupá přibližně geometrickou posloupností s počtem uhlíkových atomů

B – konstanta, pro danou homologickou řadu má stejnou hodnotu

3.1.2 Traubeho pravidlo

U látek s charakterem tenzidů bylo zjištěno, že povrchová aktivita těchto látek narůstá se zvyšujícím se počtem atomů uhlíku. Na snížení povrchového napětí přibližně o stejnou hodnotu postačí 3,1krát menší koncentrace tenzidu, který je v homologické řadě o jednu CH_2 skupinu bohatší [2].

3.1.3 Klasifikace tenzidů

Tenzidy se nejčastěji klasifikují podle charakteru jejich hydrofilní části, rozlišujeme 4 základní skupiny:

anionické tenzidy – podle hlavní funkční skupiny je lze dále rozdělit:

- a) *karboxylové kyseliny a jejich soli*
- b) *deriváty kyseliny sírové*
- c) *deriváty sulfonových kyselin*
- d) *deriváty kyseliny fosforečné*

kationické tenzidy – většinou obsahují kladně nabitý atom dusíku

- a) *kvarterní amonné soli* – mají permanentní náboj
- b) *aminy* – náboj jen při nižších hodnotách pH
- c) *sulfoniové, fosfoniové a arsoniové zásady*

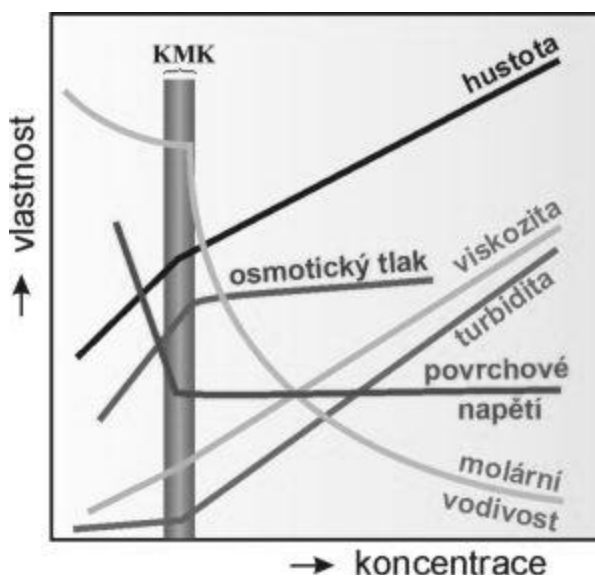
amfoterní tenzidy – obsahují kyselou i alkalickou skupinu, náboj je závislý na hodnotě pH prostředí, patří sem např. *alkylbetainy* (při fyziologickém pH jsou kationaktivní)

neionogenní tenzidy – ve vodném prostředí nedisociují

- a) *soli karboxylových kyselin a vícevazných kationtů*
- b) *alkoholy* (s dostatečně velkou hydrofobní částí)
- c) *estery*
- d) *etery*

3.1.4 Kritická micelární koncentrace

Dosažení takového množství tenzidu v soustavě, kdy dochází k seskupování jeho molekul do micel, se projeví jako prudká změna v mnoha fyzikálních a užitkových vlastnostech [3]. Zlom na křivkách je natolik ostrý, že tato koncentrace byla označena za kritickou.



Obr. 1: Koncentrační závislost fyzikálních vlastností;
(KMK – kritická micelární koncentrace) [3]

Při vyšších koncentracích byl v některých případech zaznamenán další zlom na křivkách, hovoří se o tzv. *druhé kritické micelární koncentraci*. Příčinou jsou změny v typu agregace, interakce micela - micela, monomer - micela, apod. [4].

Hodnota KMK se pro různé látky pohybuje v rozmezí 10^{-5} až 10^{-3} mol.dm⁻³. S prodlužujícím se uhlovodíkovým řetězcem hodnota KMK klesá. Závislost KMK na počtu uhlíků lze v homologické řadě tenzidů vyjádřit následujícím vztahem, který je matematickou formulací výše zmíněného Traubeho pravidla:

$$\ln KMK = A - B \cdot n_c \quad [\text{rov. 2}]$$

A – konstanta dané homologické řady závislá na teplotě, povaze a množství hydrofilních skupin a na substituentech v uhlovodíkovém řetězci

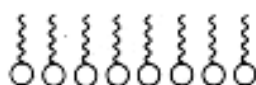
B – konstanta měnící se s počtem iontových skupin

n_c – počet uhlíků

KMK se zvyšuje rozvětvením uhlovodíkového řetězce, dále také výskytem dvojných vazeb, polární substitucí v alkylovém řetězci a přemístěním iontové skupiny od konce do středu řetězce. Naopak připojení benzenového jádra k řetězci snižuje KMK [4].

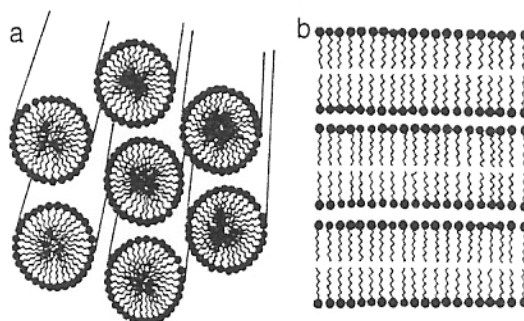
3.1.5 Strukturní typy micel

Podle množství tenzidu přidaného do soustavy může nastat několik možností jejich uspořádání. Nejprve dochází k adsorpci na fázovém rozhraní, vytváří se tzv. **monomolekulární povrchový film** (viz obr. 2).



Obr. 2: Monomolekulární povrchový film

Pokud zvýšíme koncentraci tenzidu a dosáhneme tzv. **kritické micelární koncentrace** (KMK), začnou se molekuly tenzidu seskupovat do micel. Při koncentracích vyšších než KMK, se mohou vytvořit dva typy strukturního uspořádání micel: a) **hexagonální micely** b) **lamelární micely**



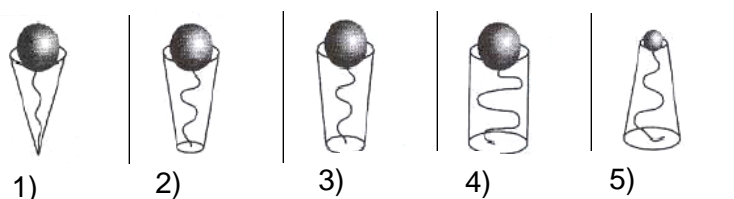
Obr. 3: Hexagonální (a), lamelární (b) uspořádání

Geometrie molekuly tenzidu má vliv na vznikající typ micely. Vlivnými parametry jsou zejména tvar a rozměry hydrofobní a hydrofilní domény tenzidu. Při predikci micelárního typu je ke kvantifikaci vlivu obou částí tenzidu využíván tzv. **critical packing parameter (CPP)**, do češtiny přeložitelný jako kritický pokrývací parametr, poměr natěsnání či surfaktantový parametr. Tento parametr se vyjadřuje jako $v/\Sigma \cdot l$, kde „v“ znamená molekulární objem tenzidu, Σ je prostor

zaujímaný hlavou tenzidu a „l“ značí délku hydrofobní části. Hodnoty CPP určují tvar vzniklých agregátů [5]:

$v/\Sigma * l < 0.33$	vznikají sférické micely ve vodě
$0.33 < v/\Sigma * l < 0.5$	tyčové micely ve vodě
$0.5 < v/\Sigma * l < 2$	lamelární fáze v soustavě v/o
$2 < v/\Sigma * l < 3$	tyčové micely v oleji
$3 < v/\Sigma * l$	sférické micely v oleji

Na obrázku 4 je znázorněno, jakou část prostoru zabírají jednotlivé typy molekul tenzidů, a podle toho vznikají výše uvedené agregáty.



Obr. 4: Geometrie stavebních jednotek micel [5]

Tuto teorii lze aplikovat jen na silně zředěné roztoky micel, kde se neuplatňují mezimicelární interakce.

3.1.6 Hydrofilně-lipofilní rovnováha tenzidu – HLB

Hodnota HLB (hydrophilic-lipophilic balance) byla poprvé definována již v roce 1949 jako vzájemný poměr hydrofilní a lipofilní části tenzidu, pomocí něhož lze vysvětlit chování tenzidu na rozhraní fází [6]. Systém HLB platí zejména pro neionické tenzidy.

HLB a výše zmíněný CPP popisují tutéž vlastnost, přičemž pro popis chování tenzidů na fázovém rozhraní je v praxi častěji využíván koncept HLB. Existuje několik možností, jak zjistit hodnotu HLB: výpočtem na základě struktury, odhadem podle chování tenzidu ve vodě, pomocí kapalinové a plynové chromatografie anebo stanovením tzv. „vodného čísla“ [7].

Vysoké hodnoty HLB mají hydrofilní surfaktanty s velkou rozpustností ve vodě, zatímco surfaktanty s nízkou hodnotou HLB jsou málo rozpustné ve vodě.

Hodnoty HLB mohou být počítány podle různých empirických vzorců a jsou vyjadřovány čísly v nastavitelných stupnicích. Nejčastěji je používán vztah založený na příspěvcích jednotlivých skupin v molekule [8].

Skupina	HLB	Skupina	HLB
-SO ₄ Na	38,7	-CH-	-0,475
-COOK	21,1	-CH ₂ -	-0,475
-COONa	19,1	-CH ₃	-0,475
≡N	9,4	=CH-	-0,475
-COOH	2,1	-CF ₂ -	-0,87
-OH	1,9	-CF ₃	-0,87
-O-	1,3	-(CH ₂ CH ₂ O)-	0,33
		-(CH ₂ CH ₂ CH ₂ O)-	-0,15

Tab. 1: Příspěvky strukturálních skupin pro výpočet HLB

$$\text{HLB} = 7 + \Sigma (\text{příspěvků jednotlivých skupin})$$

Hodnoty HLB v této stupnici mají rozsah 0 – 50 (dle Daviese); stupnice od 0 do 20 (dle Griffina) slouží pro popis HLB u tenzidů neionických.

3.2 Micelární katalýza

3.2.1 Charakteristika

Micely vytváří specifické mikroprostředí pro průběh chemické reakce. Např. normální micela tvořená kationickými tenzidy má kladně nabitý povrch tvořený hlavami molekul tenzidů, tento povrch poutá záporné protiionty, hovoří se o tzv. elektrické dvojvrstvě [9]. Ta je tvořena vrstvou vnitřní neboli Sternovou, což jsou hlavy molekul tenzidů a okludovaná voda, vnější vrstva se označuje jako Gouy - Chapmanova a zahrnuje protiionty a solvatační obal z vody. Substrát, zejména je-li lipofilní molekulou, je vtahován do jádra micely a částečně zasahuje do Sternovy vrstvy, kdežto činidlo způsobující rozklad substrátu má charakter nukleofilu a orientuje se v Gouy – Chapmanově vrstvě. Jedná se o dynamické mikroprostředí, jednotlivé micely neustále vznikají a zanikají.

Reakce v micelárním prostředí může být desetkrát až stokrát (v některých případech 10^3 až 10^4 krát) urychlena či zpomalena. Micelární katalýza je podobná katalýze enzymatické [10]. Zásadní rozdíl spočívá v rigidním, přísně specifickém prostředí enzymové katalýzy, kdežto katalýza micelární probíhá v dynamickém systému.

Bazická hydrolyza esteru probíhá mechanismem nukleofilní substituce. Tento typ reakce může probíhat dvojím reakčním mechanismem. S_N1 – monomolekulární nukleofilní substituce probíhá dvojstupňově, rychlost probíhající reakce určuje jen substrát. S_N2 – bimolekulární nukleofilní substituce probíhá v jednom stupni, rychlost reakce určuje substrát a činidlo. U bimolekulárních reakcí, při nichž je nukleofilní činidlo v takovém přebytku, že se jeho koncentrace během reakce prakticky nemění, vyhovují kinetická data rovnici pro reakci prvního řádu [11].

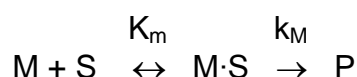
V micelárním prostředí díky hydrofobním interakcím dochází k solubilizaci substrátu (esteru). Koncentrování substrátu v micelární fázi spolu se zvýšenou koncentrací hydroxidového iontu při povrchu kationické micely (v důsledku kompenzace jejího kladného náboje) je podstatou micelární katalýzy hydrolyzy esterů [12]. Pokud je hydrolyza katalyzována hydroxidovými ionty (nezávisí na koncentraci zásady), jde o tzv. specificky bazickou katalýzu [13].

3.2.2 Modely micelární katalýzy

Popis dějů micelárně katalyzovaných reakcí není jednotný a neustále se vyvíjí. Existuje několik různých modelů:

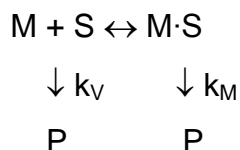
Model dle Menger – Portnoy

Zde je aplikován popis průběhu enzymatických reakcí Michaelis – Mentenové na kinetiku katalyzovaných reakcí [14]. Vychází z předpokladu, že micely M před vlastní katalýzou vytvářejí se substrátem S nekovalentní komplex M·S, který podléhá reakci za vzniku produktů P:



kde K_m a k_M jsou rychlostní konstanty micelární fáze. (K_m je konstantou rovnovážnou. Už pro svůj rozměr mol na litr.)

Obdobně se popisuje mechanismus vlivu nereaktivních solí na průběh micelárně katalyzované reakcí:

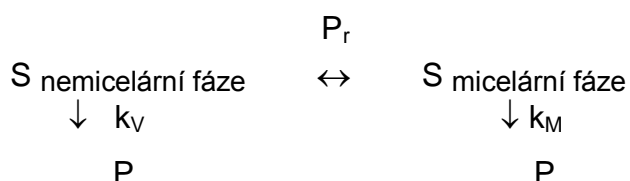


kde k_V a k_M jsou rychlostní konstanty v nemicelární a v micelární fázi.

Předpokládá se, že reakční místo ve Sternově vrstvě může být obsazeno buď reaktivní iontovou částicí nebo inhibujícím iontem.

Model dle Berezina

Asociace molekul substrátu s micelami je zde spíše chápána jako rozdělení substrátu mezi micelární a nemicelární fázi. Jedná se o dvoufázový systém, ve kterém celková rychlost reakce je součtem rychlostí dílčích dějů probíhajících nezávisle v obou pseudofázích. Rozdělování reagentů mezi micelární a vodnou pseudofází má dle autora charakter extrakční rovnováhy [15]:

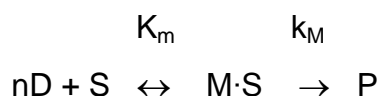


kde P_r je rozdělovací konstanta.

Nevýhodou tohoto modelu je, že distribuce iontů mezi pseudofázemi za přítomnosti micel ionických tenzidů nemá povahu extrakční, ale spíše iontově – výměnné rovnováhy.

Model dle Piszkiwicze

Tento model vychází z předpokladu, že substrát a jednotlivé molekuly PAL agregují za tvorby micel ($M \cdot S$), které poté mohou podléhat reakci za vzniku produktu:



Předpokládá se, že micelárně katalyzované reakce mohou být chápány jako modely allosterických enzymů [16].

Model dle Romsteda

V tomto případě se spojilo Berezino pojetí s představami Stigtera o rozdělování malých hydrofilních iontů [17]. Tato představa spočívá v tom, že tvorba Sternovy vrstvy se u micel uskutečňuje mechanismem iontové výměny. Selektivita vázání iontů je vyjádřena hodnotou konstanty iontové výměny. Romstedův model je dokonalejší v tom, že umožňuje i popis elektrostatických efektů, které jsou spojeny s přítomností a vlivem micel ionických tenzidů na kinetiku reakcí. Tento model je však nevhodný u pufovaných roztoků, kde se za konstantní pokládá vnitřní micelární koncentrace OH^- iontů. Romstedův zjednodušený model vyjadřuje celkovou koncentraci OH^- iontů jakou součet dílčích koncentrací v obou pseudofázích.

Model dle Quina a Chaimoviche

Vychází se z pojetí, že vázání není uskutečňováno na vazebném místě, ale volně podél povrchu micel. Sternova vrstva micel je nasycena protiionty, kde stupeň neutralizace povrchového náboje micely zůstává konstantní. Tento model je zcela obecný a dá se použít k popisu kinetiky většiny micelárně katalyzovaných reakcí [18].

Spojená představa Quina – Chaimoviche a Berezina umožňuje analyticky popsat závislost pozorované rychlostní konstanty na podmínkách reakce, jakými jsou např. koncentrace tenzidu, pH reakční směsi, koncentrace iontových nebo neutrálních činidel a koncentrace přítomných nereaktivních solí. Tato představa také umožňuje vyjádření lokální koncentrace reaktivních částic (např. OH^-), které by mohly mít vliv na micely reaktivních solí tenzidu. V případě kationických tenzidů se hromadí hydroxylové ionty u povrchu micel a vedou k ionizaci kovalentně vázaných skupin.

3.2.3 Micelárně katalyzované hydrolýzy esterů

Jedním z důvodů, proč jsou v posledních desetiletích tyto typy reakcí studovány, je schopnost micelárních systémů urychlovat hydrolýzu fosfátů a fosfonátů. Je studována možnost jejich využití k likvidaci nervově paralytických látek, jako jsou bojové látky sarin, soman, VX nebo insekticidy paraoxon a parathion.

Lawin a kolektiv [19] popsali štěpení řady p-nitrofenylkarboxylátových esterů s alkyly C6 až C14 polymerním tenzidem poly[(N-(n-dodecyl)-4-vinylpyridinium-co-N-ethyl-4-vinylpyridinium)] bromidem. Tento typ tenzidu štěpil uvedené substráty rozdílnou rychlostí, přičemž maximum je u C8.

V další studii od Iglease [20] byl hydrolyzován ethylcyklohexanonkarboxylát řadou alkyltrimethylamoniových tenzidů a neionickými tenzidy typu ethoxylovaných lineárních alkoholů při různých pH. Oba typy tenzidů působí v silně kyselém prostředí jako inhibitory hydrolýzy. V neutrálním a mírně alkalickém prostředí tato schopnost zůstala jen tenzidům neionickým.

Další studií tenzidů se zabýval Xie a kol. [21]. Zde byly štěpeny p-nitrofenylpikolinát a p-nitrofenylacetát v prostředí obsahujícím cetyltrimethylamonium bromid a beta-cyklodextrin. Jak micely tenzidu, tak cyklodextrin jsou schopny inkludovat karboxylové substráty a nukleofilně je štěpit. Rozdělení substrátů do jednotlivých prostředí se řídilo jejich lipofilitou a poměrem složek ve směsi.

Ghosh a jeho spolupracovníci [22] ve své práci sledovali hydrolýzu p-nitrofenylacetátu v prostředí trimethylamonium bromidu a řady různě substituovaných benzhydroxámových kyselin. Tyto systémy vykazovaly při nukleofilním štěpení tzv. alfa-efekt, což je děj doprovázený vznikem trimolekulárního komplexu substrát – nukleofil – voda. Toto uspořádání reaktivního intermediátu vede tak jako i zde k abnormálnímu růstu rychlosti reakce.

Khan a Ismail [23] studovali hydrolýzu fenylbenzoátu a fenylsalicylátu v alkalickém prostředí v přítomnosti cetyltrimethylamonium bromidu a řady

neionických tenzidů typu ethoxylovaných lineárních alkoholů Růst koncentrace neionických tenzidů ve směsi byl příčinou poklesu rychlosti hydrolyzy substrátu.

Z hlediska vojenského využití jsou zajímavé práce popisující rozklad esterů kyselin fosforu v micelárním prostředí. Tyto látky podléhají hydrolyze podstatně obtížněji nežli estery karboxylových kyselin a pokud jsou získané kinetické parametry příznivé lze předpokládat, že daný micelární systém bude úspěšně rozkládat i organofosforové bojové otravné látky.

Práce Ghoshe a kol. [24] popisuje kombinovaný účinek micelárního prostředí prezentovaného cetyltrimethylamonium bromidem a řady alkyl a aryl hydroxamových kyselin jako nukleofilů při hydrolyze organofosforového pesticidu paraoxonu.

Práce Scrimina a spol. [25] se zabývala studiem hydrolytických reakcí tri a dialkyl fosfátů v neutrálním a mírně alkalickém prostředí. Jako nukleofilní činidla byly použity měďnaté komplexy tetramethylethyldiaminu a N-n-hexadecyl-N,N',N'-trimethylethyldiaminu v prostředí cetyltrimethylamonium dusičnanu. Tento typ reakcí je použitelný k dekontaminaci povrchů citlivých na jinak vysoké pH dekontaminačních směsí (hliník, jeho slitiny – letecká technika).

V práci ruských autorů [26] byl hydrolyzován p-nitrofenylethylmethylfosfonát řadou kationických tenzidů obsahujících v molekule imidazolový cyklus. Této struktuře je autory přičítáno to, že takto substituované tenzidy se chovají jako tzv. supernukleofily, což jsou činidla mající abnormální hydrolytické schopnosti. Imidazolový cyklus je častou komponentou aktivních míst esteráz.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

Kationické tenzidy – připraveny vlastní syntézou na KTOX FVZ

- decylpyridinium bromid
- dodecylpyridinium bromid
- tetradecylpyridinium bromid
- hexadecylpyridinium bromid
- oktadecylpyridinium bromid

P-nitrofenylalkanoáty – zakoupeny v čistotě p.a. u firmy Sigma-Aldrich

- p-nitrofenylacetát
- p-nitrofenylbutyrát
- p-nitrofenylkaprylát
- p-nitrofenylkaprát
- p-nitrofenyllaurát
- p-nitrofenylmyristát
- p-nitrofenylpalmitát
- p-nitrofenylstearát

- | | |
|--------------------------------------|-----------------|
| • aceton – p.a. | Merck Darmstadt |
| • uhličitan sodný, dekahydrát – p.a. | Lachema Brno |
| • kyselina chlorovodíková - p.a. | Lachema Brno |
| • pyrofosfát sodný - p.a. | Lachema Brno |
| • p-nitrofenol - p.a. | Lachema Brno |

4.2 Přístroje a zařízení

- spektrofotometr Hewlett-Packard HP8453
- termostat Julabo F25HE
- titrátor automatický Metrohm Titrino 751 GPD
- pipety automatické Brand
- kyvety skleněné pro fotometrii

4.3 Základní roztoky

- tlumivý roztok karbonátový, pH10
- roztoky p-nitrofenylalkanoátů
- roztoky N-alkylpyridinium bromidů

4.4 Postupy a metodiky

a) výpočet rychlostních konstant

Údaje o změnách absorbance uložené v paměti fotometru byly manuálně převedeny do programu MS Excel a z nich vypočtena pozorovaná rychlostní konstanta pseudoprvního řádu metodou popsanou Guggenheimem [27]. Uvedený postup vychází z předpokladu platnosti rovnice 1:

$$A_{t+\Delta t} = A_t * \exp^{(-k_{\text{poz}} * \Delta t)} + A_{t\infty} * (1 - \exp^{(-k_{\text{poz}} * \Delta t)}) \quad [\text{rov. 1}]$$

kde: $A_{t+\Delta t}$ = absorbance v čase $t+\Delta t$

A_t = absorbance v čase t

\exp = základ přirozených logaritmů

k_{poz} = pozorovaná rychlostní konstanta

Δt = časový interval mezi dvěma po sobě následujícími měřeními

$A_{t\infty}$ = absorbance v čase $t = \text{nekonečno}$

Tento vztah je rovnicí přímky se směrnici $\exp(-k_{\text{poz}} * \Delta t)$ a absolutním členem $A_{t\infty} * (1 - \exp(-k_{\text{poz}} * \Delta t))$. Data získaná od jednoho měření byla v MS Excel vepsána do dvou sloupců, přičemž druhý sloupec byl posunut časově vpřed o jednu hodnotu Δt . Takto vynesena data byla vzata do bloku a zobrazena v bodovém grafu typu XY. Zobrazenými body byla proložena spojnice trendu s výpisem rovnice regrese a hodnotou spolehlivosti. Získané směrnice z rovnice regrese byly využity k výpočtu rychlostní konstanty k_{poz} ze vztahu $\exp(-k_{\text{poz}} * \Delta t)$ [27].

b) fotometrická titrace p-nitrofenolu a výpočet jeho acidobazické disociační konstanty

- byl připraven $5 \cdot 10^{-5}$ M roztok p-nitrofenolu ve 20 ml 0,1 M roztoku pyrofosfátu sodného
- roztok byl vlit do titrační nádoby automatického titrátoru a z jeho byrety byl titrován 1 M roztokem HCl tak, aby po každém přidavku nevznikla větší změna pH než 0,5
- po každém přidavku HCl bylo vyčkáno až se hodnota pH stabilizuje a poté byly z roztoku odebrány 2 ml a převedeny do fotometrické kyvety
- kyveta byla vložena do fotometru a byla změřena absorbance při 400 nm
- každá hodnota pH a jí odpovídající absorbance byly zaznamenány
- titrace byla vedena v rozsahu pH 10 až 5,8
- poté byl proveden výpočet acidobazické disociační konstanty metodou nelineární regrese s použitím programu Statistica, č. verze 5.1 (fy StatSoft)
- před započítáním výpočtu byly korigovány hodnoty absorbance na objem roztoku zvětšený o přidané titrační činidlo
- výpočet byl proveden podle následujícího vztahu:

$$A = (A_{\max} + A_{\min} * 10^{-(pK_{a1}-pH)}) / (1 + 10^{-(pK_{a1}-pH)}) \quad [\text{rov. 2}]$$

kde: A = absorbance při dané hodnotě pH

A_{\min} = minimální hodnota absorbance

A_{\max} = maximální hodnota absorbance

pK_{a1} = acidobazická disociační konstanta jednosytné kyseliny

- upřesňovanými parametry byly A_{\min} , A_{\max} a pK_{a1}

c) stanovení absorbančního koeficientu p-nitrofenolu

- byla připravena sada 25 ml odměrných baněk naplněných roztokem 0,05 M karbonátového pufru o pH10, ve kterém bylo rozpuštěno postupně vzrůstající množství p-nitrofenolu tak, že byla vytvořena koncentrační řada od 0 do $3 \cdot 10^{-5}$ M
- z baněk byly odebírány roztoky do fotometrických kyvet a postupně proměřeny
- ze získaných dvojic absorbance – koncentrace byl v programu MS Excel vypočten absorbanční koeficient metodou lineární regrese

d) měření kinetiky hydrolýzy p-nitrofenylalkanoátů

- od všech p-nitrofenylalkanoátů byly připraveny 0,01M roztoky v acetonu
- od všech N-alkylpyridinium bromidů byly připraveny 0,1M roztoky
- roztoky tenzidů byly potom naředěny do koncentračních řad od 0,1 do $1 \cdot 10^{-6}$ M s krokem jeden řád
- reakční směs vkládaná v kyvetě do fotometru byla tvořena 250 μ l karbonátového pufru, 250 μ l roztoku tenzidu a 5 μ l roztoku substrátu
- kyveta a roztoky mimo substrátu byly předem vytemperovány na 50°C
- měření změny absorbance roztoku v kyvetě bylo prováděno v programovém modu KINETICS při 400 nm, použité kyvety měly optickou dráhu 1 cm
- měření bylo prováděno v temperovaném držáku kyvet
- změna absorbance s časem byla sledována tak dlouho, dokud křivka vykreslovaná během měření na monitoru fotometru nedosáhla své ploché části asymptoticky se blížící maximální hodnotě absorbance
- měření, u kterých nebylo dosaženo alespoň čtyř poločasů reakce, byla opakována v delším časovém intervalu

5. VÝSLEDKY

Rychlostní konstanty pseudoprvního řádu (sec^{-1}) hydrolyzy p-nitrofenylalkanoátů N-alkylpyridinium bromidy (CT – koncentrace tenzidu, R = C10, C12, C14, C16, C18); podmínky reakce: pH10; 0,05M Na_2CO_3 ; 50°C

Tab. 1: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-acetát**

p-nitrofenyl-acetát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0307	0,0009	0,0265	0,0007	0,0329	0,0007	0,0790	0,0016	0,0617	0,0007
-2,30	0,0324	0,0007	0,0364	0,0006	0,0587	0,0009	0,0323	0,0009	0,0602	0,0008
-3,30	0,0325	0,0006	0,0626	0,0010	0,0684	0,0011	0,0325	0,0007	0,0389	0,0008
-4,30	0,0300	0,0007	0,0337	0,0006	0,0407	0,0003	0,0257	0,0004	0,0500	0,0003
-5,30	0,0349	0,0006	0,0260	0,0004	0,0392	0,0003	0,0244	0,0005	0,0412	0,0007
-6,30	0,0320	0,0002	0,0260	0,0003	0,0260	0,0004	0,0359	0,0004	0,0277	0,0003

Tab. 2: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-butyřát**

p-nitrofenyl-butyřát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0231	0,0006	0,0128	0,0004	0,0147	0,0007	0,0341	0,0008	0,0250	0,0007
-2,30	0,0271	0,0006	0,0183	0,0005	0,0261	0,0007	0,0383	0,0006	0,0653	0,0014
-3,30	0,0170	0,0006	0,0134	0,0005	0,0149	0,0005	0,0300	0,0004	0,0226	0,0006
-4,30	0,0195	0,0007	0,0163	0,0005	0,0278	0,0004	0,0158	0,0007	0,0210	0,0005
-5,30	0,0194	0,0005	0,0160	0,0005	0,0095	0,0010	0,0207	0,0005	0,0276	0,0002
-6,30	0,0190	0,0003	0,0129	0,0005	0,0171	0,0004	0,0154	0,0005	0,0160	0,0004

Tab. 3: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-kaprylát**

p-nitrofenyl-kaprylát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0094	0,0003	0,0045	0,0003	0,0157	0,0004	0,0374	0,0007	0,0230	0,0007
-2,30	0,0037	0,0004	0,0051	0,0005	0,0438	0,0007	0,0446	0,0007	0,0727	0,0024
-3,30	0,0006	0,0005	0,0015	0,0005	0,0046	0,0005	0,0560	0,0008	0,0558	0,0007
-4,30	0,0002	0,0003	0,0038	0,0005	0,0045	0,0004	0,0121	0,0005	0,0086	0,0007
-5,30	0,0013	0,0003	0,0044	0,0003	0,0033	0,0004	0,0055	0,0003	0,0005	0,0003
-6,30	0,0038	0,0004	0,0059	0,0004	0,0047	0,0005	0,0104	0,0012	0,0074	0,0005

Tab. 4: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-kaprát**

p-nitrofenyl-kaprát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0106	0,0004	0,0038	0,0005	0,0152	0,0006	0,0350	0,0007	0,0241	0,0007
-2,30	0,0005	0,0005	-0,0003	0,0002	0,0399	0,0007	0,0731	0,0012	0,0878	0,0028
-3,30	0,0000	0,0005	0,0004	0,0005	0,0013	0,0001	0,0383	0,0008	0,0272	0,0004
-4,30	0,0003	0,0010	0,0000	0,0002	0,0002	0,0001	0,0009	0,0002	0,0050	0,0001
-5,30	0,0006	0,0006	-0,0002	0,0002	-0,0003	0,0002	0,0020	0,0001	0,0011	0,0001
-6,30	-0,0001	0,0002	0,0004	0,0001	0,0000	0,0002	0,0013	0,0002	0,0000	0,0001

Tab. 5: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-laurát**

p-nitrofenyl-laurát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0176	0,0005	0,0088	0,0005	0,0071	0,0004	0,0264	0,0004	0,0233	0,0008
-2,30	0,0032	0,0009	0,0004	0,0003	0,0222	0,0008	0,0028	0,0005	0,0398	0,0007
-3,30	0,0012	0,0014	0,0041	0,0015	0,0011	0,0002	0,0075	0,0009	0,0185	0,0003
-4,30	0,0032	0,0017	0,0041	0,0022	0,0017	0,0002	0,0070	0,0006	0,0021	0,0002
-5,30	0,0040	0,0027	0,0017	0,0005	0,0004	0,0004	0,0062	0,0002	0,0046	0,0015
-6,30	0,0018	0,0019	neměř.		0,0026	0,0009	0,0009	0,0002	0,0026	0,0011

Tab. 6: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-myristát**

p-nitrofenyl-myristát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0040	0,0008	0,0043	0,0004	0,0085	0,0005	0,0217	0,0007	0,0173	0,0009
-2,30	0,0033	0,0008	0,0003	0,0002	0,0095	0,0004	0,0117	0,0004	0,0136	0,0006
-3,30	0,0022	0,0019	0,0089	0,0012	-0,0004	0,0003	0,0061	0,0009	0,0031	0,0005
-4,30	0,0039	0,0017	0,0075	0,0029	0,0039	0,0008	0,0021	0,0001	0,0025	0,0005
-5,30	0,0080	0,0036	0,0027	0,0007	0,0003	0,0006	0,0020	0,0002	0,0030	0,0004
-6,30	zanedb.		0,0025	0,0011	0,0010	0,0006	0,0012	0,0002	0,0034	0,0010

Tab. 7: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-palmitát**

p-nitrofenyl-palmitát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0080	0,0026	0,0022	0,0004	0,0212	0,0006	0,0135	0,0003	0,0211	0,0009
-2,30	0,0046	0,0019	0,0009	0,0005	0,0063	0,0003	0,0037	0,0001	0,0029	0,0004
-3,30	0,0025	0,0017	0,0025	0,0014	0,0021	0,0007	0,0022	0,0002	0,0024	0,0002
-4,30	0,0048	0,0028	0,0000	0,0028	0,0045	0,0015	0,0004	0,0002	0,0015	0,0004
-5,30	0,0053	0,0037	-0,0002	0,0024	0,0049	0,0037	0,0020	0,0002	0,0035	0,0006
-6,30	0,0042	0,0018	0,0014	0,0031	0,0010	0,0006	0,0016	0,0002	0,0020	0,0004

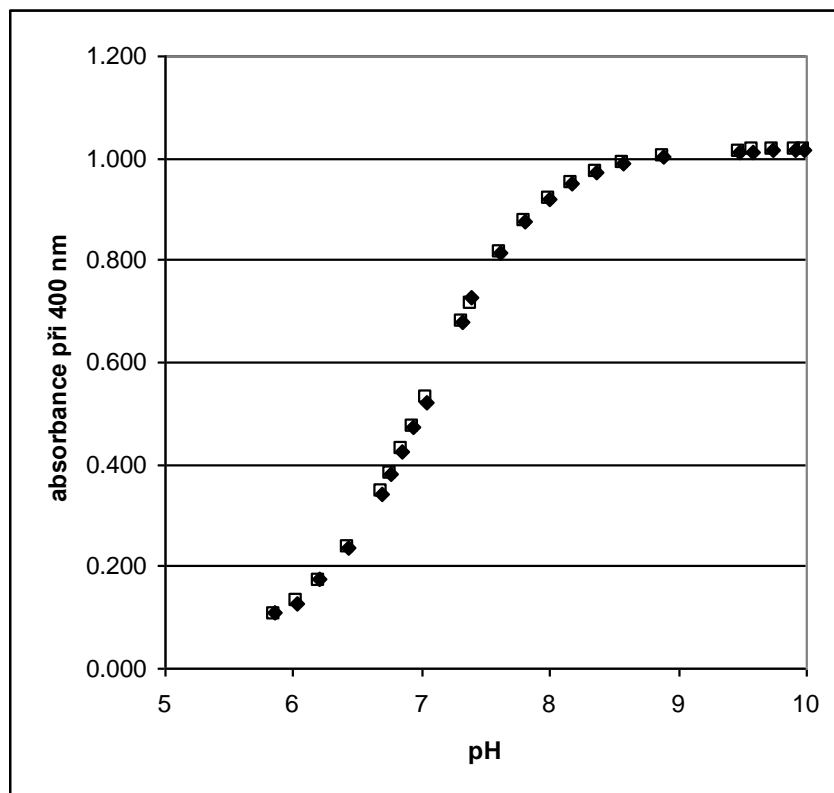
Tab. 8: Rychlostní konstanty pro **p-nitrofenyl-stearát**

p-nitrofenyl-stearát

log CT	C10	σ	C12	σ	C14	σ	C16	σ	C18	σ
-1,30	0,0232	0,0020	-0,0002	0,0004	0,0107	0,0005	0,0100	0,0004	0,0077	0,0011
-2,30	0,0077	0,0020	0,0014	0,0005	0,0036	0,0002	0,0052	0,0003	0,0045	0,0003
-3,30	0,0043	0,0011	0,0032	0,0008	0,0018	0,0004	0,0028	0,0002	0,0039	0,0002
-4,30	0,0015	0,0015	0,0070	0,0015	0,0027	0,0008	0,0017	0,0003	0,0001	0,0004
-5,30	0,0041	0,0020	0,0037	0,0010	0,0017	0,0004	0,0016	0,0002	0,0023	0,0003
-6,30	zanedb.		0,0032	0,0017	0,0039	0,0005	0,0023	0,0003	0,0044	0,0006

Obr. 1: Stanovení acidobazické disociační konstanty p-nitrofenolu

(pH10, 50°C; 0,05M Na₂CO₃, koncentrace p-nitrofenolu 5.10⁻⁵ M)

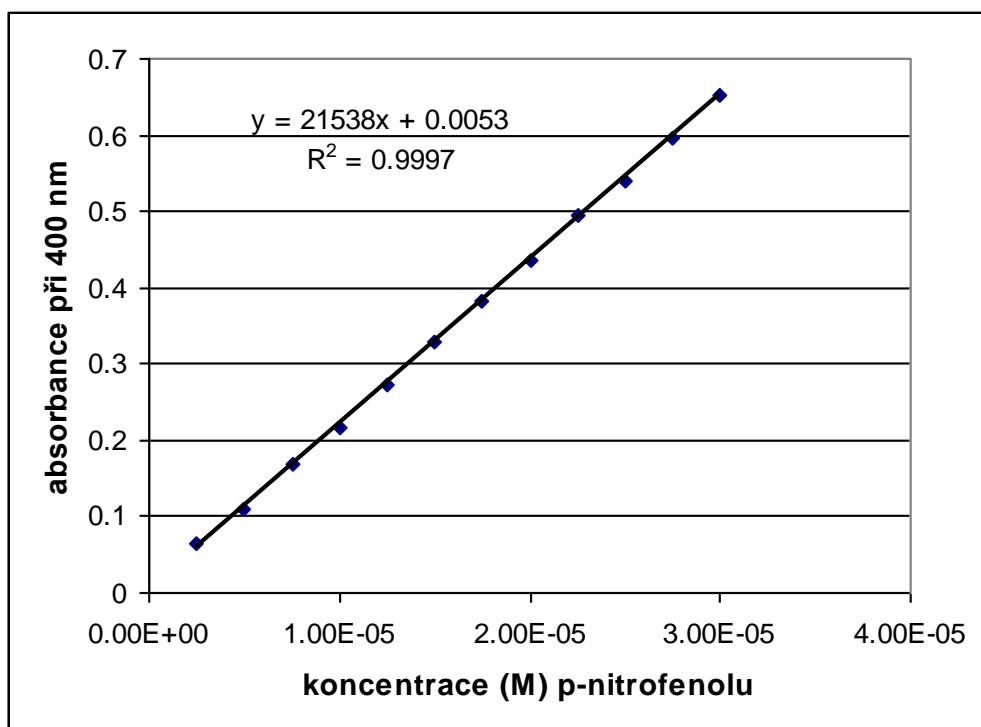


Parametry získané nelineární regresí

	hodnota	σ
A _{max}	1.017	0.001
A _{min}	0.046	0.004
pKa1	7.005	0.007

Obr. 2: Stanovení absorbančního koeficientu p-nitrofenolu

(pH10, 50°C, 0,05M Na₂CO₃)



Parametry získané lineární regresi:

absorbanční koeficient	σ
$2,15 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	$0,01 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

6. KOMENTÁŘ A DISKUZE

6.1 Komponenty a podmínky reakce

Výběr tenzidů

Pyridiniové kationické tenzidy byly zvoleny pro měření jako výchozí člen v připravované řadě heteroareniových kationických tenzidů, u kterých se též počítá s introdukcí nukleofilně aktivních funkčních skupin do jejich molekul

Výběr substrátů

P-nitrofenylalkanoáty byly zvoleny jako tradiční typ substrátů pro hydrolytické studie; jejich preference v této práci plyne ze snadné dostupnosti (mimo C6 kyseliny jsou všechny komerčně dostupné), monitoring hydrolýzy nevyžaduje nákladnou aparaturu a ve světové literatuře je pro tyto látky dostatek srovnávacích dat

Volba použitého pH a pufru

Hodnota pH10 byla zvolena jako kompromisní hodnota vyhovující jak časové efektivitě práce, tak požadavku manuální zvladatelnosti pokusu

Dalším požadavkem bylo, aby ze složek použitého pufru reagoval se substrátem pouze hydroxylový ion, tj. aby reakce probíhala mechanismem specificky bazické katalýzy; tomuto požadavku na základě experimentálního ověření vyhovoval karbonátový pufr, u kterého nebyla rychlost hydrolýzy závislá na koncentraci uhličitanového aniontu

Volba použité vlnové délky při kinetických měřeních a volba koncentrace substrátů

Z použitých alkanoátů byl v hydrolytické reakci odštěpován p-nitrofenol, který se za použitého pH stával okamžitě p-nitrofenolátovým aniontem

Absorbanční maximum této ionizované formy bylo nalezeno ve shodě s literaturou při vlnové délce 400 nm; výška tohoto maxima je závislá na koncentraci fenolu a stupni jeho ionizace

Dalšími měřeními bylo zjištěno, že absorbanční koeficient p-nitrofenolu při pH10 je $2,15 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Z hodnoty absorbančního koeficientu pak byla odvozena použitá koncentrace substrátů a to tak, aby po úplné hydrolýze byla absorbance v rozmezí 0,4 až 0,9

Dále byla zjištěna acidobazická disociační konstanta fenolu $pK_{a1} = 7,05$; tato je v dobré shodě s údaji udávanými v literatuře (7,00 – 7,15) [28]; z této hodnoty lze vyvodit, že při pH vyšších jak 9 je hodnota absorbance aciditou roztoku ovlivnitelná jen v zanedbatelné míře (méně jak 1%)

Volba teploty reakční směsi

Teplota 50°C byla zvolena s ohledem na tzv. Krafftovu teplotu nejvyšších členů homologické řady pyridinium bromidů

Pro použité látky jsou v literatuře uváděny hodnoty uvedené v následující tabulce:

Tab. 9: Vybrané hodnoty Krafftovy teploty [29]

tenzid	$T_{\text{Krafft}} [^{\circ}\text{C}]$
N-decylpyridinium bromid	-15.5
N-dodecylpyridinium bromid	0.0
N-tetradecylpyridinium bromid	15.5
N-hexadecylpyridinium bromid	31.0
N-oktadecylpyridinium bromid	46.5

Při nižší teplotě než je Krafftova není tenzid schopen vytvořit micely, protože se ho nedokáže rozpustit dostatečné množství.

6.2 Zpracování dat

Volba metody zpracování hrubých experimentálních dat

- Guggenheimova metoda je vhodná pro zpracování jakýchkoliv kinetických dat, která pocházejí z reakcí prvního nebo pseudoprvního řádu.

Nespornou výhodou této metody je, že pomocí ní lze zpracovat i data, která nemají zaznamenaný počátek ani konec reakce.

Vzhledem k tomu, že se jedná o metodu linearizační, slouží kontrola linearity dat při výpočtu též jako kontrola zachování předpokládaného mechanismu reakce.

Další výhodou je, že metoda využívá k získání dat postupy lineární regrese a je tedy využitelná např. v prostředí MS Excel a nevyžaduje speciální programové vybavení.

6.3 Zhodnocení hydrolytické účinnosti

Hydrolýza substrátů při premicelárních koncentracích tenzidů

- hodnoty rychlostních konstant hydrolýzy substrátů byly zjišťovány v rozsahu koncentrací tenzidů $5 \cdot 10^{-7} \text{M}$ až 0.05M

- vzhledem k nejnižší hodnotě CMC (stearylpyridinium bromid – $1,6 \cdot 10^{-4} \text{M}$) je zřejmé, že rychlostní konstanty tří nejmenších koncentrací tenzidu byly dány jen působením neagregovaného tenzidu a spontánní hydrolýzou vyvolanou jen pH prostředím

- protože závislosti rychlostní konstanty na koncentraci tenzidu v tomto rozsahu koncentrací nevykazovaly téměř žádný vzestup, lze dosažené hodnoty přičíst na vrub jen spontánní hydrolýze

- součtem všech konstant v tomto úseku pro jednotlivé substráty a jejich zprůměrováním byly vypočteny rychlostní konstanty spontánní hydrolýzy, které byly později využity k výpočtu koeficientů zrychlení reakcí v micelárním prostředí

Rychlostní konstanty hydrolýzy substrátu za premicelárních koncentrací tenzidu shrnuje tab. 10:

Tab. 10:

substrát	rychlostní konstanta [sec^{-1}]
p-nitrofenylacetát	0.0328
p-nitrofenylbutyrát	0.0182
p-nitrofenylkaprylát	0.0050
p-nitrofenylkaprát	0.0007
p-nitrofenyllaurát	0.0029
p-nitrofenylmyristát	0.0030
p-nitrofenylpalmitát	0.0024
p-nitrofenylstearát	0.0028

Hydrolýza substrátů v roztocích micelizovaných tenzidů

- počáteční známky nárůstu rychlostních konstant byly spojovány s překročením CMC. Jejich hodnoty byly do tab. 11 převzaty z literatury [29].

Tab. 11: Hodnoty CMC použitých tenzidů

tenzid	CMC [M]
decylpyridinium bromid	$4,69 \cdot 10^{-2}$
dodecylpyridinium bromid	$1,12 \cdot 10^{-2}$
tetradecylpyridinium bromid	$2,69 \cdot 10^{-3}$
hexadecylpyridinium bromid	$6,44 \cdot 10^{-4}$
oktadecylpyridinium bromid	$1,54 \cdot 10^{-4}$

- u mnohých dvojic tenzid – substrát však došlo k tomuto nárůstu při desetkrát až stokrát nižších koncentracích tenzidu než je uváděná CMC

Tab. 12: Změny rychlostních konstant

	p-nitrofenyl-							
	acetát	butyrát	kaprylát	kaprát	laurát	myristát	palmitát	stearát
C10PyBr		2	2	1	1		2	1
C12PyBr	3.4		1.4	2.4	3.4	3.4	2.4	3.4
C14PyBr	1.7		0.7	0.7	0.7	1.7	-0.3	-0.3
C16PyBr	-0.9	1.1	1.1	1.1	-0.9	1.1	-0.9	
C18PyBr	-0.5	-0.5	0.5	0.5	0.5	-0.5	-1.5	



micelizace se opožďuje za CMC
micelizace předbíhá CMC

možné příčiny nesouladu:

- srovnávací hodnoty CMC byly získány převážně z roztoků s nulovou solností a neutrálním pH, kdežto reakční směs byla tvořena 0,05 M uhličitanem sodným a pH bylo 10

- další ovlivňující složkou mohly být karboxylové kyseliny uvolněné ze substrátu, které mají od laurátu výše znatelnou vlastní povrchovou aktivitu.

Tab. 13: Log CMC karboxylových kyselin [30]

tenzid	log CMC
natrium laurát	-1.60
natrium myristát	-2.17
natrium palmitát	-2.74
natrium stearát	-3.30

- uvolnění hydrolyzou a neutralizace těchto látek však může působit spíše posun hydrolytické aktivity k vyšším hodnotám koncentrací tenzidu, protože způsobí vysrážení ekvivalentního množství kationického tenzidu

- dřívější nástup hydrolytické aktivity i u tenzidů bez funkčních skupin s nukleofilní aktivitou připouštějí autoři Mukerjee a Lindman [31, 32]; hydrolytickou aktivitu podle těchto zdrojů mohou mít už i agregáty na úrovni tetramerů tenzidů.

- bylo očekáváno, že závislost mezi hodnotami hydrolytických rychlostních konstant a koncentrací tenzidu se bude řídit Menger – Portnoyovou rovnicí, která je obdobou Michaelisovy rovnice v enzymologii [14]:

$$k_{\text{poz}} = \frac{k_0 + k_{\text{max}} \cdot \frac{K}{N}(C_T - \text{CMC})}{\frac{K}{N}(C_T - \text{CMC}) + 1} \quad [\text{rov. 3}]$$

k_0 – rychlostní konstanta spontánní hydrolyzy

k_{max} – limitní rychlostní konstanta při $C_T = \infty$

K – disociační konstanta komplexu micela – substrát

N – agregační číslo (počet molekul tenzidu v jedné micelle)

C_T – koncentrace tenzidu

CMC – kritická micelární koncentrace

- u značného počtu dvojic substrát - tenzid však průběh funkce neměl asymptotický charakter, ale vznikala křivka s výrazným maximem

- z rozložení hodnot v tabulce je patrné, že efekt vzniku maxima je vázán na tenzidy s vyšší délkou lipofilního alkyly a substráty s kratší nebo střední délkou alkyly mastné kyseliny

Lokalizace maxim na funkčních závislostech rychlostní konstanta hydrolyzy – koncentrace tenzidu; C_T uváděno jako (-) log C_T uvedeno v tab. 14:

Tab. 14:

	p-nitrofenyl-							
	acetát	butyrát	kaprylát	kaprát	laurát	myristát	palmitát	stearát
C10PyBr								
C12PyBr	3.3					3.3		4.3
C14PyBr	3.3		2.3	2.3	2.3	2.3		
C16PyBr		2.3	3.3	2.3				
C18PyBr		2.3	2.3	2.3	2.3			

- tuto anomálii vysvětlil v r. 1973 Bunton [33]:

předpokládá, že při vysokých koncentracích kationického tenzidu vznikají micely, které neobsahují substrát, avšak na svém povrchu koncentrují nukleofilně aktivní anionty (v případě této studie hydroxylové); tyto anionty, poutané na micely bez substrátu se pak nezapojují do hydrolyzy a vzrůstající koncentrace tenzidů tak ztrácí svůj efekt

- aby bylo dále možno použít k popisu těchto hydrolyz Menger – Portnoyovu rovnici, doplnil ji Bunton o kvadratický člen ve jmenovateli:

$$k_{\text{poz}} = \frac{k_0 + k_{\text{max}} \cdot \frac{K}{N} (C_T - \text{CMC})}{\frac{K}{N} (C_T - \text{CMC}) + \left(\frac{a}{N^2} * (C_T - \text{CMC})^2 \right)} \quad [\text{rov.4}]$$

- tato rovnice je principiálně i funkčně shodná s rovnicí Haldaneovou pro popis inhibice enzymu nadbytkem substrátu [34].

Absolutní hydrolytická výkonnost dvojic substrát – tenzid

- dosažená nejvyšší rychlostní konstanta bez ohledu na výchozí rychlostní konstantu spontánní hydrolyzy

Tab. 15: Nejvyšší dosažené hodnoty rychlostních konstant

tenzid	substrát	$k_{\text{poz}} [\text{sec}^{-1}]$
hexadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl acetát	0,079
hexadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprylát	0,056
hexadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprát	0,073
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl acetát	0,061
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl butyrát	0,065
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprylát	0,072
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprát	0,087

Při hodnocení absolutní výkonnosti dvojic tenzid – substrát je zjevné, že úspěšné jsou jen tenzidy s nejdelšími alkyly a substráty s malou nebo střední délkou alkylu mastné kyseliny.

Relativní hydrolytická výkonnost dvojic substrát – tenzid

- poměr mezi nejvyšší dosaženou hodnotou rychlostní konstanty a konstantou spontánní hydrolyzy. Jako úspěšné byly hodnoceny dvojice, u kterých došlo k více jak desetinásobnému zvýšení rychlosti hydrolyzy oproti stavu bez tenzidu.

Tab. 16: Poměry mezi nejvyšší dosaženou hodnotou rychlostní konstanty a konstantou spontánní hydrolyzy

tenzid	substrát	$k_{\text{poz}}/k_{\text{sh}}$
tetradecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprát	52
hexadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprát	95
hexadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprylát	11
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprát	114
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl kaprylát	14
oktadecylpyridinium bromid	p-nitrofenyl laurát	13

Z uvedených nejvyšších hodnot relativní účinnosti je patrné, že oproti absolutnímu hodnocení došlo v sestavě úspěšných dvojic k některým změnám. Sestava úspěšných tenzidů byla rozšířena o tetradecylpyridinium bromid a v oblasti substrátů se jako nejlépe hydrolyzovatelné jeví jen typy se střední velikostí alkylu mastné kyseliny.

V obou typech hodnocení se velmi dobře uplatnily oktadecylpyridinium bromid a hexadecylpyridinium bromid s p-nitrofenyl-kaprylátem a p-nitrofenyl-kaprátém.

Hodnoty dosažené p-nitrofenyl-kaprátém a oktadecylpyridinium bromidem jsou nejvyššími hodnotami v celé sestavě výsledků. Koncentrace $5 \cdot 10^{-3} \text{M}$ tohoto tenzidu dokázala urychlit rozklad p-nitrofenyl-kaprátu téměř stovacetkrát a bylo dosaženo rychlostní konstanty $0,0878 \text{ sec}^{-1}$, což odpovídá poločasu cca 8 sekund.

7. ZÁVĚRY

1. Zvolená metodika umožnila provést orientační zmapování interakcí dvou homologických řad substrátů a tenzidů
2. V hodnocené řadě substrátů se ukázalo, že efektivně hydrolyzovatelné jsou jen látky se střední délkou alkylu a pravděpodobně i střední hodnotou lipofility
3. V testované řadě tenzidů je zjevné, že úspěšnými micelárními katalyzátory jsou jen nejvyšší členy homologické řady
4. Uvedené zjištění zřejmě v budoucnu povede k záměně protiiontu pyridinií, protože Krafftovy teploty C16 a C18 pyridinium bromidů jsou 31 a 46,5°C, což tyto látky diskvalifikuje z použití jako katalyzátorů už při laboratorní teplotě. Náhrada bromidu chloridem povede v homologické řadě pyridinových tenzidů k průměrnému snížení Krafftovy teploty o 10°C

8. SOUHRN

Předmětem této práce bylo na homologických řadách N-alkylpyridinií a p-nitrofenylkarboxylátů ověřit vzájemný vliv délky alkylových řetězců na rychlost hydrolytické reakce. V řadě N-alkylpyridinií byl testován pyridinium bromid s délkami alkylového řetězce C10, 12, 14, 16 a 18. Tyto tenzidy byly otestovány s p-nitrofenylacetátem, -butyrátem, -kaprylátem, -kaprátem, -laurátem, -myristátem, -palmitátem a -stearátem. Nejvyšších hodnot v celé sestavě výsledků bylo dosaženo kombinací p-nitrofenyl-kaprátu a oktadecylpyridinia bromidu. Koncentrace $5 \cdot 10^{-3} \text{M}$ tohoto tenzidu dokázala urychlit rozklad p-nitrofenyl-kaprátu téměř stovacetkrát a bylo dosaženo rychlostní konstanty $0,0878 \text{ sec}^{-1}$, což odpovídá poločasu cca 8 vteřin. Jako úspěšné micelární katalyzátory se osvědčily oktadecylpyridiniumbromid a hexadecylpyridinium bromid. Nejlépe hydrolyzovatelné byly substráty se střední délkou alkylu.

9. LITERATURA

- [1] SZYSZKOWSKI, B. *Experimentelle Studien der Fiber Kapillaren Eigenschaften der Wässerigen Lösungen von Fettsäuren*. Z. Phys. Chem. 64, (1908), 385 - 415
- [2] TRAUBE, I. *Ueber die Capillaritätsconstanten organischer Stoffe in wässerigen Lösungen*. Justus Liebig's Ann. Chem., 265, (1891), 27-55
- [3] BLAŽEJ, A. A KOL. *Tenzidy*. Alfa, SNTL, Bratislava 1977, 481 s.
- [4] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online] výkladový slovník, VŠCHT Praha, verze 1.0, 2005 [cit. 19. 10. 2006]
http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/
- [5] PILENI, M. P. *Structure and reactivity in reverse micelles*. Elsevier, Amsterdam 1989, 30 s.
- [6] GRIFFIN, W. C. *Classification of Surface Active Agents by HLB*. J. Soc. Cosmetic Chemists, vol. 1, (1949), 311-320
- [7] PIROCHOVÁ, Z., BLAŽEJ, A. *Antistatické vlastnosti etylénoxidových aduktů*. In: VIII. celoštát. konf. textil. chemikův, Žilina 1971, 64 s.
- [8] Davies J.T., Rideal E.K.: *Interfacial Phenomena. 2nd Ed.* Academic Press, London 1963, 480 s.
- [9] STERN, O. *The Theory of the Electrolytic Double Layer*. Z. Elektrochem. 30, (1924), 508 - 516
- [10] TRNKOVÁ, L. *Multimediální učební texty*. [online] Masarykova Univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Katedra teoretické a fyzikální chemie [cit. 28. 11. 2006]
<http://cheminfo.chemi.muni.cz/ktfch/trnkova/bfch/pdf/uloha3.pdf>
- [11] ČERVINKA, O. A KOLEKTIV. *Mechanismy organických reakcí*, druhé, přepracované vydání, Praha SNTL, 1981, 536 s.
- [12] CIBULKA, R., HAMPL, F., LIŠKA, F., *Příprava a využití amfifilních oximů odvozených od azinů*, Chem. Listy, 92, (1998), 469 – 474
- [13] BARTOVSKÁ, L., *Chemická kinetika*, Praha VŠCHT, 2008, 253 s.
- [14] MENGER, F. M., PORTNOY, C. E., *Chemistry of reactions proceeding inside molecular aggregates*, J. AM. Chem. Soc., 89, (1967), 4698-4703
- [15] BEREZIN, I. V., MARTINEK, K., YATSIMIRSKII, A. K., *Physicochemical Foundations of Micellar Catalysis*, Russ. Chem. Rev., 42, (1973), 787–802

- [16] PISZKIEWICZ, D., *Cooperativity in bimolecular micelle – catalyzed reactions – inhibition of catalysis by high concentrations of detergent*, J. Am. Chem. Soc., 99, (1977), 7695
- [17] ROMSTED R. L., *Obščaja kinetičeskaja teorija uskorenija reakcij meždu organičeskimi cubctratami i gidrofilnymi ionami v micelljarnych sistémeh*. Moskva: Mittal K. (Ed.), 1980, 247
- [18] QUINA F., CHAIMOVICH H., *Ion exchange in micellar solutions. 1. Conceptual framework for ion exchange in micellar solutions*, J. Phys. Chem., 83, (1979), 1844-1850
- [19] LAWIN, L.R., FIFE, W.K., TIAN, C.X. *Hydrolysis of p-nitrophenyl esters in the presence of polymer micelles. Selectivity and biphasic behavior with increasing ester concentration*, Langmuir, 16, (2000), 3583-3587
- [20] IGLESIAS, E. *Ethyl cyclohexanone-2-carboxylate in aqueous micellar solutions. 1. Ester hydrolysis in cationic and nonionic micelles*. J. Phys. Chem. B, 2001, 105 (42), 10287-10294
- [21] XIE, J.Q., ZHANG, Y., DU, J. *Micelle catalyzed hydrolysis of carboxylic acid esters in water-beta-cyclodextrin-cetyltrimethylammonium bromide systems*. J. Disp. Scic. Technol., 24, (2003), 97-101
- [22] GHOSH, K.K., SIMANENKO, Y., SATNAMI, M.L., et al. *Alpha-effect of hydroxamate ions in micellar mediated reactions of p-nitrophenyl acetate*. Ind. J. Chem. B. Org. Chem. Med. Chem., 43, (2004), 1990-1994
- [23] KHAN, M.N., ISMAIL, E. *Effects of non-ionic and mixed non-ionic-cationic micelles on the rate of aqueous cleavages of phenyl benzoate and phenyl salicylate in alkaline medium*. J. Phys. Org. Chem., 17, (2004), 376-386
- [24] GHOSH, K.K., SATNAMI, M.L., SINHA, D. *Dephosphorylation of paraoxon by hydroxamate ions in micellar media*. Tetrahedron Lett., 45, (2004), 9103-9105
- [25] SCRIMIN, P., GIRLANDA, G., TECILLA, P., et al.: *Comparative reactivities of phosphate ester cleavages by metallomicelles*. Langmuir, 12, (1996), 6235-6241
- [26] SIMANENKO, Y.S., KARPICHEV, E.A., PROKOP'EVA, T.M., et al. *Functional detergents containing an imidazole ring and typical fragments of alpha-nucleophiles underlying micellar systems for cleavage of esters of phosphorus acids*. Rus. J. Org. Chem., 40, (2004), 206-218
- [27] GUGGENHEIM E. A: *On the determination of the velocity constant of a unimolecular reaction*. Phil. Mag., 2, (1926), 538-543

- [28] RAPPORT, Z., *Handbook of Tables for organic compound identification*, CRC Press, Boca Raton, 1976, 564 s.
- [29] VAN OS, N. M., HAAK, J. R., RUPERT, L. M., (Eds.) *Physico-Chemical Properties of Selected Anionic Cationic and Nonionic Surfactants*, Elsevier, Amsterdam, 1993, 608 s.
- [30] MUKERJEE, P., MYSELS, K. J., *Critical Micelle Concentrations of Aqueous Surfactant Systems*, National Bureau of Standards: Washington-DC, 1971, 230 s
- [31] MUKERJEE, P.: *Size distribution of small and large micelles. Multiple equilibrium analysis*, J. Phys. Chem. 76, (1972), 565
- [32] LINDMAN, B. – BRUN, B.: *Translational motion in aqueous sodium octanoate solutions*, J. Colloid. Interface. Sci. 42, (1973), 388
- [33] BUNTON, C. A.: *Micellar Catalysis and Inhibition*, In: Progress in Solid State Chemistry, Vol. 8, New York, 1973, 239
- [34] HALDANE, J. B. S., BRIGGS, G. E., *A Note on the Kinetics of Enzyme Action*, Biochem. J. 19, (1925), 338–339