

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

**Diplomová práce**



Kationické tenzidy jako hydrolytické micelární katalyzátory

Hradec Králové 2013

Petra Janošcová

Vznik práce byl částečně podpořen projektem SVV 2013-267-001.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

15. 5. 2013 v Hradci Králové

.....

Petra Janošcová

Touto cestou bych ráda poděkovala panu PharmDr. Janu Markovi Ph.D. a panu prof. PharmDr. Martinu Doležalovi, Ph.D. za vedení diplomové práce a cenné rady při jejím zhotovování. Dále děkuji panu pplk. prof. Ing. Jiřímu Cabalovi, CSc. za rady a pomoc při zpracování výsledků v experimentální části a za úvod do problematiky. Také děkuji rodičům za důvěru a podporu během celého studia.

## Summary

### **Cationic surfactants as the hydrolytic micellar catalysts**

Petra Janošcová

The effectiveness of hydrolytic cleavage of the pesticide fenitrothionin cationic surfactants micellar media has been tested. All used surfactants increased the rate of fenitrothionhydrolysis, which was the evidence of micellar catalysis. For some surfactants decreases has been evident at the highest rate of hydrolysis concentrations. It has been the result of a phenomenon called the effect of empty micelles. High hydrolytic performance was achieved with surfactants contained ionisable hydroxyl groups in the molecule. The most significant increase of kinetic rate has been observed with benzoxonium surfactant.

## Souhrn

### **Kationické tenzidy jako hydrolytické micelární katalyzátory**

Petra Janošcová

Byla testována hydrolytická účinnost řady kationických tenzidů při rozkladu organofosforového pesticidu fenitrothionu. Všechny testované tenzidy zvyšovaly rychlost rozkladu fenitrothionu, což bylo důkazem probíhající micelární katalýzy. U některých látek byl patrný pokles rychlosti hydrolýzy při nejvyšších koncentracích, což bylo důsledkem jevu nazývaného efekt prázdných micel. Nejvyšší hydrolytické výkonnosti bylo dosaženo u tenzidů, které v molekule obsahovaly ionizovatelné hydroxylové skupiny. Zcela kromobyčejnou výkonnost vykazoval farmaceuticky významný tenzid benzoxonium.

# Obsah

<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>2. TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>10</b>
2.1. Tenzidy.....	10
2.1.1. Tenzidy obecně .....	10
2.1.2. Historie tenzidů .....	10
2.1.3. Povrchová aktivita tenzidů .....	11
2.1.4. Traubeho pravidlo.....	11
2.1.5. Krafftova teplota.....	12
2.1.6. Chemická struktura tenzidů .....	12
2.1.7. Klasifikace tenzidů .....	13
2.2. Micely .....	14
2.2.1. Kritická micelární koncentrace .....	14
2.2.2. Struktura micel.....	16
2.2.3. Principy micelární katalýzy.....	18
2.3. Pesticidy .....	19
2.3.1. Co jsou pesticidy.....	19
2.3.2. Rozdělení pesticidů .....	19
2.3.3. Organofosforové insekticidy.....	20
2.3.4. Fenitrothion.....	20
2.4. Otravné látky s nervově paralytickým účinkem.....	21
2.4.1. Charakteristika.....	21
2.4.2. Mechanismus účinku NPL .....	22
2.4.3. Brány vstupu.....	24
2.4.4. Subjektivní a objektivní příznaky akutní intoxikace .....	24
<b>3. CÍL PRÁCE</b> .....	<b>25</b>
<b>4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
4.1. Měření kritické micelární koncentrace .....	26
4.1.1. Princip stanovení CMC .....	26
4.1.2. Aparatura .....	26
4.1.3. Vlastní postup měření CMC.....	27
4.1.4. Výpočet CMC.....	27

4.2. Metodika měření kinetiky micelárně katalyzovaných hydrolyz ..	28
4.2.1. Použité chemikálie .....	28
4.2.2. Podmínky měření .....	30
4.2.3. Postup měření .....	30
4.2.4. Rychlostní konstanty .....	31
4.3. Výsledky .....	32
4.3.1. Hodnoty CMC .....	32
4.3.2. Kinetika micelárně katalyzovaných hydrolyz .....	33
4.3.2.1. Cetyltrimethylamonium-bromid .....	33
4.3.2.2. Dodecyltrimethylamonium-bromid .....	35
4.3.2.3. Dodecyl-bis(2-hydroxyethyl)methylamonium-chlorid .....	35
4.3.2.4. Hexadecylpyridinium-chlorid .....	35
4.3.2.5. Dodecylpyridinium-chlorid .....	36
4.3.2.6. Hexadecylbenzyl-dimethylamonium-chlorid .....	36
4.3.2.7. Dodecylbenzyl-dimethylamonium-bromid .....	36
4.3.2.8. Dodecyl-2-fenylethyl-dimethylamonium-bromid .....	37
4.3.2.9. Hexadecyl-2-fenylethyl-dimethylamonium-bromid .....	37
4.3.2.10. Dodecylbenzyl-bis(2-hydroxyethyl)amonium-chlorid .....	37
<b>5. DISKUSE A KOMENTÁŘ .....</b>	<b>38</b>
5.1. Zpracování dat .....	38
5.2. Zhodnocení hydrolytické účinnosti .....	38
<b>6. ZÁVĚR .....</b>	<b>42</b>
<b>CITOVANÁ LITERATURA .....</b>	<b>43</b>

## Seznam použitých zkratk

CMC – kritická micelární koncentrace

PAL – povrchově aktivní látka

CPP – kritický pakovací parametr (criticalpacking parametr)

CNS – centrální nervová soustava

NPL – nervově paralytické látky

AChE – acetylcholinesterasa

i.v. – intravenosní

BuChE – butyrylcholinesterasa

CTABr – cetyltrimethylamonium-bromid

DTMABr – dodecyltrimethylamonium-bromid

DHeMACl – dodecyl-bis(2-hydroxyethyl)methylamonium-chlorid

HPyrCl – hexadecylpyridinium-chlorid

DPyrCl – dodecylpyridinium-chlorid

HBMACl – hexadecylbenzylmethylamonium-chlorid

DBMABr – dodecylbenzylmethylamonium-bromid

DFeMABr – dodecyl-2-fenylethylmethylamonium-bromid

HFeMABr – hexadecyl-2-fenylethylmethylamonium-bromid

DBHeACl – dodecylbenzyl-bis(2-hydroxyethyl)amonium-chlorid



# 1. Úvod

Tenzidy jsou již tradiční dlouhodobě známé a využívané látky v nejrůznějších průmyslových odvětvích, jako je farmacie, potravinářství, kosmetika a v neposlední řadě jsou běžnou součástí domácností, jako jsou například nejrůznější mycí a čisticí prostředky. Jejich charakteristickou vlastností je, že snižují povrchové napětí na rozhraní dvou fází.

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na hydrolytickou aktivitu kationických tenzidů různých chemických struktur vůči modelové organofosforové sloučenině fenitrothionu, který se po dlouhou dobu používal jako širokospektrální pesticid. V popředí zájmu bylo sledování závislosti změny délky hydrofobního alifatického řetězce a struktury hydrofilní části tenzidu. Fenitrothion byl stanoven jako vzorová látka, díky jeho strukturální podobnosti s organofosforovými nervově paralytickými otravnými látkami.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Tenzidy

#### 2.1.1. Tenzidy obecně

Tenzidy jsou látky, které snižují povrchové napětí rozpouštědel, a tím usnadňují smáčení a odstranění nečistot. Podstatou povrchové aktivity je molekulární struktura tenzidu, složená z polárně odlišných částí. Hydrofilní polární skupina je orientována směrem k molekule rozpouštědla, druhá nepolární část struktury tenzidu směrem k nepolární části smáčeného povrchu. Tím dochází ke snižování povrchového napětí. (1)

Organické molekuly difilního charakteru (část molekuly je polární a část molekuly je nepolární), jinak také tenzidy či surfaktanty, představují aplikačně nejvýznamnější skupinu povrchově aktivních látek (PAL), zejména díky jejich schopnosti samovolně agregovat ve vodném roztoku do tvarů koloidní velikosti, zvaných micely. Ty vznikají od určité koncentrace PAL v roztoku, tzv. kritické micelární koncentrace (CMC). Rozpustnost mnoha organických PAL silně závisí na teplotě. Pro dosažení CMC je tak nutná i dostatečně vysoká teplota, při níž rozpustnost dosahuje hodnoty CMC (Krafftova teplota). Nad touto teplotou rozpustnost PAL prudce stoupá díky tvorbě micel v roztoku. (2)

#### 2.1.2. Historie tenzidů

Za první tenzid je možné považovat mýdlo (sodná nebo draselná sůl vyšších mastných kyselin), jehož historický původ není zcela jasný a které se začalo používat ve větším měřítku až v 18. století po Leblancově objevu výroby sody. Základní surovinou byly přírodní oleje a tuky. Objevila se možnost zesílení jejich pracího účinku přidávkem zásad, silikátů a fosfátů. (3)

Ve 20. letech 20. století uvedla firma Th. Goldschmidt AG na trh parciální estery vícemocných alkoholů s vyššími alifatickými kyselinami. Jako první prací prostředky se uplatnily sulfátové alifatické alkoholy přírodního původu a později i původu syntetického. (3)

S dalším rozvojem chemie se rozšiřovalo spektrum tenzidů a hlavně využití etoxylace umožnilo vyrábět kvalitativně novou řadu tenzidů

neionogenního typu. V nynější době je kladen důraz i na ekologické kvality nových tenzidů, to znamená hlavně na biologickou odbouratelnost. (3)

### **2.1.3. Povrchová aktivita tenzidů**

Společnou vlastností tenzidů je schopnost hromadit se na rozhraní fází. Už při nízké koncentraci mění energetické poměry na fázovém rozhraní a to se projevuje hlavně snížením povrchového napětí. Tyto vlastnosti jsou determinovány chemickou strukturou jejich molekul, které mají asymetrický bipolární charakter s výrazným dipólovým momentem. V zásadě obsahují vždy dvě části – lipofilní a hydrofilní. Látky s touto strukturou molekuly se nazývají amfipatické nebo také amfifilní. Lipofilní je nepolární část nebo části molekuly tenzidu, odpuzující vodu a v její přítomnosti se snaží vytvořit takovou prostorovou konfiguraci s ostatními lipofilními složkami ve vodném systému, aby jejich vzájemná orientace umožnila tvorbu „lipofilních kontaktů“, prostřednictvím nevazebných interakcí. Z této oblasti interakcí jsou molekuly vody vytlačovány. Uvedené skupiny umožňují rozpustnost lipofilní části molekuly v nepolárních rozpouštědlech. (3; 4; 5)

Naproti tomu hydrofilní části molekuly mají afinitu k vodě a ve vodném prostředí jsou v různé míře hydratovány. Míra hydratace polární části tenzidu je přímo úměrná její polaritě. Tato amfifilnost způsobuje, že v roztocích tenzidů se uplatňují vzájemné interakce typu vanderWaalsovských sil nejen mezi molekulami tenzidu, ale i mezi jednotlivými částmi molekul tenzidu s rozpouštědlem. Jelikož nejběžnějším rozpouštědlem je voda, je nejčastěji charakterizováno chování tenzidu v jeho vodném roztoku. (3; 4)

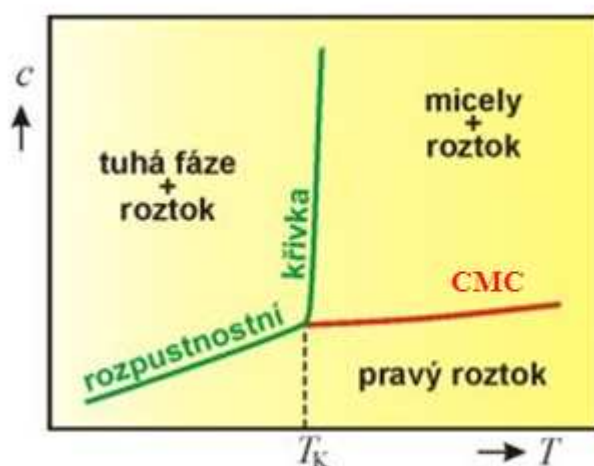
### **2.1.4. Traubeho pravidlo**

Popisuje vliv délky alkylovaného řetězce na povrchovou aktivitu tenzidu, respektive na snížení povrchového napětí kapaliny.

U látek s charakterem tenzidů bylo zjištěno, že povrchová aktivita těchto látek narůstá se zvyšujícím se počtem atomů uhlíku v lipofilním alkylovém řetězci. Na snížení povrchového napětí přibližně o stejnou hodnotu postačí zhruba 3,1-krát nižší koncentrace tenzidu, než která je v homologické řadě bohatší o jednu  $-CH_2-$  skupinu. (6)

### 2.1.5. Krafftova teplota

Je teplota, při níž rozpustnost (tj. koncentrace nasyceného roztoku) ve vodě omezeně rozpustné povrchově aktivní látky s amfifilní stavbou molekul dosáhne kritické micelární koncentrace. Při nízkých teplotách je koncentrace nasyceného roztoku nižší než kritická micelární koncentrace, takže se nemohou tvořit micely. Od Krafftovy teploty ( $T_K$ ) v důsledku tvorby micel, rozpustnost povrchově aktivní látky velmi rychle stoupá. (7)



Obr. 1 Teplotní závislost rozpustnosti a kritické micelární koncentrace povrchově aktivní látky v okolí Krafftovy teploty (7)

### 2.1.6. Chemická struktura tenzidů

Jak již bylo výše zmíněno, tenzidy obsahují vždy složku lipofilní a hydrofilní. Lipofilní složku molekuly tvoří zpravidla uhlovodíkové zbytky alifatických řetězců alkanů a alkenů nebo zbytky aromatických sloučenin, přednostně alkylovaných aromatických sloučenin (alkylbenzeny, alkylfenoly, alkylnaftaleny), kyselina abietová. Další možností je polymerovaný propylenglykol nebo silikonové řetězce. (3)

Hydrofilní části molekuly tenzidu mohou ve vodném roztoku disociovat, tehdy je hydrofilní částí molekuly tenzidu kationt, resp. aniont, nebo se chovají jako anolyt a jejich náboj je závislý na pH prostředí. Jako polární skupinu schopnou disociace nalézáme v tenzidech nejčastěji  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{O}-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,

-NH<sub>2</sub> a kvartérní aminoskupina. Pokud polární skupina disociaci nepodléhá, jedná se o neionogenní tenzid. Příkladem takových skupin jsou např. -O-, -COO-, -SO<sub>2</sub>NH-, -CONH-, -OH, dále řetězce polyethylenglykolové, polyglycerolové, polyglukosové, cyklické sorbitu, glukosa, sacharosa, glycerol, glykol, pentaerythritol, kyselina citrónová a další. Možné jsou i kombinace těchto struktur, jako např. polyethylenglykolový řetězec navázaný na částečně esterifikovaný glycerol, glykol, případně anhydridy sorbitolu. (3)

Podle schopností tenzidů disociovat ve vodě se rozlišují tenzidy na ionické a neionické. Skupina ionických se dále člení na tenzidy anionické, kationické a amfolytické. (3)

### **2.1.7. Klasifikace tenzidů (8; 9)**

#### ***Anionické tenzidy***

Jejich aktivita je dána záporně nabitou částí molekuly. Podle jejich struktury rozlišujeme následující 4 skupiny:

- deriváty karboxylových kyselin
- deriváty sulfonových kyselin
- deriváty kyseliny sírové
- deriváty kyseliny fosforečné

#### ***Kationické tenzidy***

Aktivita kationických tenzidů je dána kladně nabitou částí molekuly. Jejich význam spočívá především v desinfekčních a antiseptických účincích. Této skupině tenzidů je věnována experimentální část mé diplomové práce.

#### ***Amfolytické tenzidy***

Amfoterní tenzidy obsahují v nedisociovatelné části své molekuly jak anion, tak kation, čímž je dána jejich unikátní vlastnost, a sice možnost kombinovat je s kationickými i s anionickými tenzidy.

### **Neionické tenzidy**

Obsahují jako polární skupiny aminoskupiny, etherické a především hydroxylové skupiny, které tvoří s molekulami vody vodíkové můstky, což umožňuje rozpustnost těchto látek ve vodě. (1)

## **2.2. Micely**

### **2.2.1. Kritická micelární koncentrace**

Jsou-li amfifilní látky přítomny v disperzním médiu v nízké koncentraci, existují odděleně a mají velikost částic pod hranicí koloidních soustav. Se vzrůstající koncentrací, v oblasti kritické micelární koncentrace, proběhne jejich shlukování za vzniku micel. Tyto stavy jsou vratné, neboť jejich náležitým zředěním vznikne opět pravý roztok. Kritické micelární koncentrace je dosaženo, jsou-li vlastní disperze i mezifáze nasycena amfifilní látkou. Jakékoliv dodání látky nad tuto koncentrační hranici vede k tvorbě micel. V oblasti CMC se prudce mění řada fyzikálních vlastností soustavy, jako vodivost, povrchové napětí, osmotický tlak, hustota, a další. Důvodem je změna homogenní soustavy na heterogenní. (10)

**Kritickou micelární koncentraci ovlivňuje:** (11; 12)

- **Délka a struktura uhlovodíkového řetězce**

Hodnota CMC s rostoucí délkou uhlovodíkového řetězce klesá. V homologické řadě ionogenních micelárních koloidů může být závislost CMC na počtu uhlíků  $n_c$  vyjádřena vztahem:

$$\ln \text{CMC} = A - B \cdot n_c$$

**A** .... konstanta dané homologické řady, která je 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 atomů uhlíků

- **Vlastnosti hydrofilní skupiny**

Vliv hydrofilní skupiny na CMC je dán její povahou a zejména nábojem. U látek se stejnou délkou uhlovodíkového řetězce je CMC u neionogenních PAL nižší než u ionických. CMC neionických tenzidů závisí na rozměrech a povaze hydrofilní skupiny. U ionických jsou rozdíly mezi různými hydrofilními skupinami malé. (11; 12)

- **Vlastnosti protiiontů**

Vliv protiiontů vzniklých disociací na hodnotu CMC závisí především na jejich mocenství. CMC klesá se zvyšujícím se nábojem protiiontů. (11; 12)

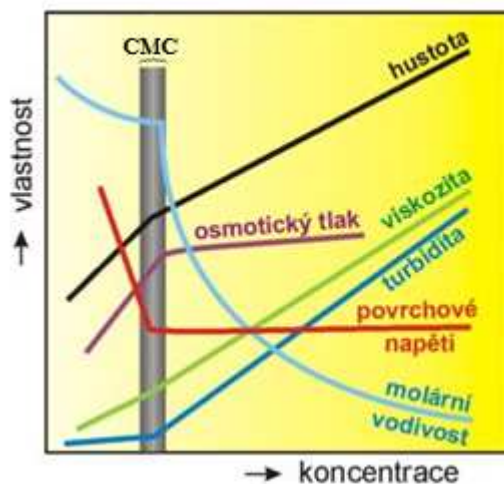
- **Přítomnost dalších látek v roztoku**

Hodnotu CMC snižuje přítomnost jednoduchých anorganických elektrolytů tím více, čím vyšší je koncentrace elektrolytu a čím vyšší je mocenství opačně nabitého iontu. Vliv elektrolytů na CMC neionogenních micelárních koloidů je méně výrazný než u ionogenních typů. (11; 12)

- **Teplota a tlak**

S rostoucí teplotou se hodnota CMC může zvyšovat (obvykle u kationických micelárních koloidů) nebo snižovat (obvykle u neionických typů) a teplotní závislost CMC může vykazovat i zřetelné minimum. Vliv tlaku na CMC je poměrně malý i v oblastech velmi vysokých tlaků. (11; 12)

Při kritické micelární koncentraci se v důsledku vzniku micel mění řada fyzikálně-chemických vlastností roztoků micelárních koloidů. Na obrázku 2 jsou znázorněny jednotlivé změny veličin v bodě kritické micelární koncentrace. (11; 12)



Obr. 2 Vliv koncentrace tenzidu na fyzikální vlastnosti roztoku (11)

### 2.2.2. Struktura micel

Podle množství a polaritý tenzidu v roztoku vznikají strukturálně odlišné micely. Nejčastěji vznikají **micely sférické**, ve zředěných vodných roztocích tenzidů při hodnotách CMC. Uhlovodíkové, tedy hydrofobní řetězce směřují dovnitř micely a vytváří tak její jádro. Hydrofilní polární skupiny pak směřují na její povrch. (13)

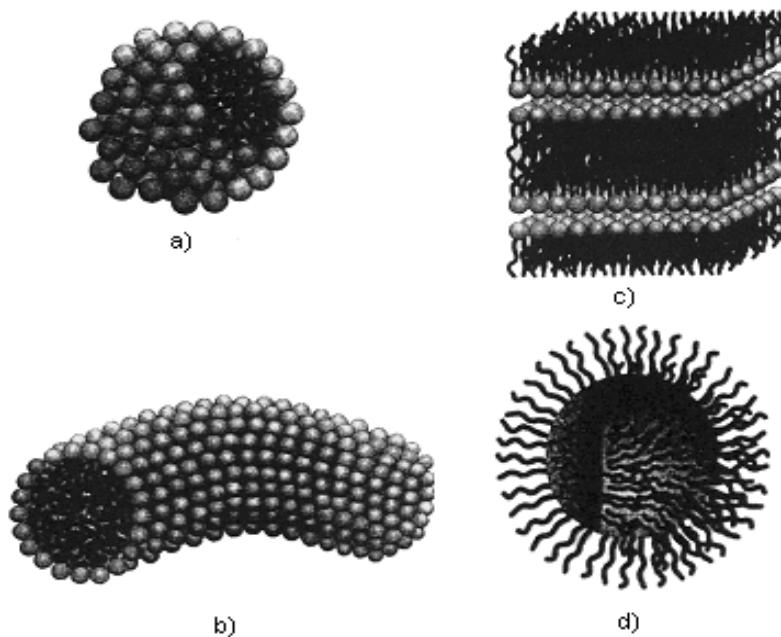
Tenzidy mají schopnost tvořit micely i v nepolárním prostředí. Vznikají pak tzv. **reverzní micely**, u nichž hydrofobní část tenzidu směřuje na povrch micely a hydrofilní směrem dovnitř.

Při zvyšujících se koncentracích tenzidů vznikají složitější micelární útvary, např:

**Lamelární micela**

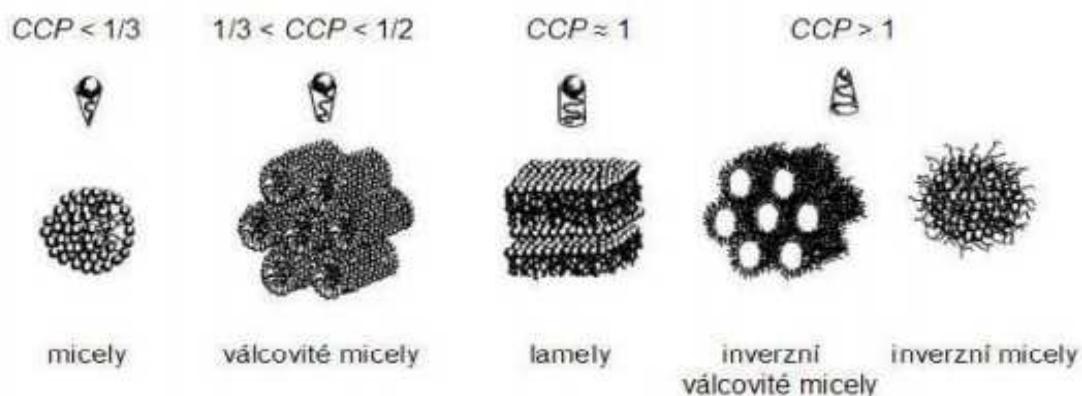
**Hexagonální micela**





Obr. 3 Tvary micel a) sférická micela, b) hexagonální micela, c) lamelární micela, d) reverzní micela (14)

Vznik určitého typu micel není však podmíněn jen samotnou koncentrací tenzidů, ale i jinými vlastnostmi, jako je i geometrický tvar jednotlivých micel. Tuto vlastnost zohledňuje tzv. criticalpacking parametr (CPP), který zahrnuje délku alkylového řetězce, velikost polární hlavy a celkový objem molekuly. Z hodnot CPP se dá předpokládat tvar vznikajících micel. (15)



Obr. 4 Vzájemná souvislost struktury amfifilní molekuly a typu vznikajícího agregátu (14)

### 2.2.3. Principy micelární katalýzy

Micelární systémy jsou schopny ovlivňovat rychlost chemických reakcí a to velmi významně v obou směrech. V případě katalytického působení micel tenzidů se rychlost chemických reakcí může zvýšit či snížit o jeden a v některých případech až o čtyři řády. Takový jev pak nazýváme jako micelární katalýza respektive micelární inhibice. (16)

Katalytické působení micel je spojeno s několika ději:

- Místní koncentrování reagujících látek buďto v povrchu micely nebo v jejím těsném okolí v důsledku solubilizace a elektrostatických interakcí. Následkem toho se zvyšuje pravděpodobnost aktivní srážky oproti podmínkám v okolním roztoku.
- Polarizace molekul na povrchu micely vede ke zvýšené reaktivitě.
- Změna reakční schopnosti reagentů při přechodu z vodné fáze do micel, která může být vyvolána vlivem prostředí, především vzájemným elektrostatickým působením mezi reagujícími látkami a povrchovým nábojem micely.
- Účinnost micelární katalýzy a inhibice roste s hydrofóbností reagentů. (17)

Mechanismus působení micelární katalýzy je mnohdy shodný s enzymaticky katalyzovanými reakcemi, ale s tím rozdílem, že micelární prostředí je jednoznačně dynamickým systémem, protože jednotlivé micely neustále vznikají a zanikají. Enzymaticky katalyzované reakce probíhají v neměnném prostředí enzymu. Druhým zásadním rozdílem je, že enzymy vykazují substrátovou specifitu, zatímco reakce v micelárním prostředí probíhají prakticky neselektivně. (18)

Micelární mikroprostředí je možno také využít ke zvýšení selektivity reakcí, čehož se využívá tam, kde mohou probíhat dvě paralelní reakce a micely upřednostňují jednu z nich tím, že ji urychlují a druhou inhibují. Micely lze uplatnit také jako stereoselektivní katalyzátory, kdy se využívá různého prostorového zapojení izomerů do micely. (17)

## 2.3. Pesticidy

### 2.3.1. Co jsou pesticidy

Pod pojmem pesticidy rozumíme určité chemické látky, popř. mikroorganismy (bakterie, houby, viry a mykoplazmata), které jsou určeny k hubení a regulaci škůdců, jako je plevel, ryby, houby, bakterie, hmyz a zvířata (např. hlodavci). Termín škůdci je zde tedy užíván v širokém slova smyslu. (19)

Většina pesticidů je syntetického původu, speciálně vyvinutých pro jejich toxické působení a vlastnosti. Pesticidy se skládají z chemicky účinné látky a z látek pomocných. Tyto pomocné látky mohou být stejně toxické jako samotná aktivní látka pesticidů či dokonce ještě toxičtější. Malé množství pesticidů je založeno na přirozeně se vyskytujících mikroorganismech a extraktech z rostlin. Geneticky modifikované pesticidy vyrobené z přírodních mikroorganismů se nyní velmi rychle rozvíjí. (19)

Používání pesticidů je jednou z možností jak zajistit výživu lidstva, má však zároveň nepříznivý vliv na životní prostředí. Může způsobit znečištění vod i ovzduší, znehodnocení půdy, intoxikaci zemědělských produktů, poškození či hubení užitečných živočichů i vegetace. Pro člověka představuje největší nebezpečí chronické působení pesticidů. Mnohé jsou těžko rozložitelné, vytvářejí dlouhodobá rezidua a mohou se kumulovat v organismu. (1)

### 2.3.2. Rozdělení pesticidů (20)

#### 1. **Zoocidy** – k hubení živočišných škůdců

- a) insekticidy – hmyz
- b) akaricidy – roztoči
- c) nematocidy – hlístice
- d) rodenticidy – hlodavci
- e) moluscocidy – měkkýši

#### 2. **Fytocidy** – k hubení nežádoucích rostlin

- a) herbicidy – plevele
- b) arboricidy – dřeviny
- c) muscocidy – mechy

- d) algicidy – řasy
- e) lichenocidy – lišejníky

3. **Fungicidy** – k hubení houbových chorob

4. **Baktericidy** – k hubení bakterií

### 2.3.3. Organofosforové insekticidy

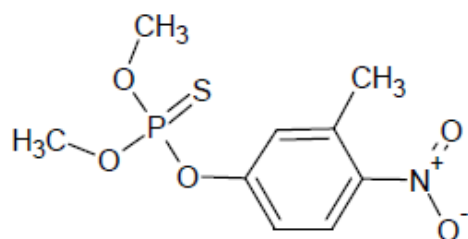
Nejužívanějšími insekticidy jsou organofosforové insekticidy. Působí jako nervové jedy blokováním enzymu acetylcholinesterasy. Některé přípravky účinkují systémově. Mezi nejvýznamnější patří estery kyseliny fosfonové, fosforečné, thiofosforečné a dithiofosforečné. Jsou to typické nervové jedy, které u živočichů rozrušují CNS, čímž tento živočich ztratí orientaci a uhyne. Většina těchto látek byla často vedlejšími produkty vojenského výzkumu v oblasti chemických zbraní. (1)

Profesní nebo úmyslné expozice vůči pesticidům představuje závažné nebezpečí pro zdraví. Proto mají studie jejich degradace zásadní význam pro léčbu otrav organofosfáty. Je žádoucí, aby dekontaminační proces byl účinný, rychlý, poskytoval netoxické reakční produkty a byl součástí nosiče, který je ekologicky bezpečný. (21)

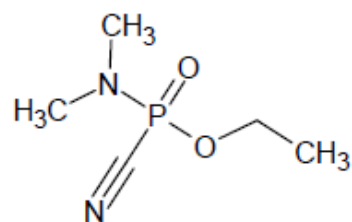
### 2.3.4. Fenitrothion

Fenitrothion je ester fosforothionátu s chemickým názvem *O,O*-dimethyl-*O*-(3-methyl-4-nitrofenyl)-thiofosfát. Byl využíván jako širokospektrální insekticid organofosforového typu ve formě olejové suspenze pod názvem Metathion 50 či Sumithion Super. Dnes už se nevyrábí.

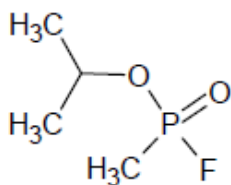
Fenitrothion je strukturně blízký chemickým bojovým látkám s nervově paralytickým účinkem, jako je např. tabun (*O*-ethyl-dimethylaminokyanofosfát), sarin (*O*-isopropylmethylfluorofosfonát) a soman (*O*-1,2,2-trimethylpropylmethylfluorofosfonát). Díky této vlastnosti byl zvolen jako modelová látka pro mou diplomovou práci.



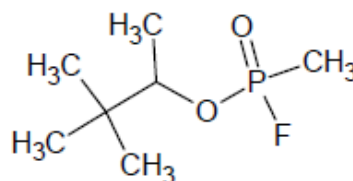
fenitrothion



tabun



sarin



soman

Obr. 5 Chemické struktury (22)

## 2.4. Otravné látky s nervově paralytickým účinkem

### 2.4.1. Charakteristika

Nervově paralytické látky (NPL) patří mezi organické sloučeniny fosforu, vyznačující se vysokou toxicitou vůči savcům. Jsou nejvýznamnější a nejnebezpečnější skupinou bojových chemických látek. Vyznačují se vedle vysoké toxicity rychlým nástupem účinku a průnikem do organismu všemi branami vstupu. Jejich syntéza je poměrně snadná i levná a jsou vojensky i teroristicky snadno zneužitelné. Dělí se na dvě velké skupiny, které jsou obecně označovány jako G látky a V látky. (23)

Sloučeniny podobné základní struktury se používají v průmyslu jako změkčovadla, hydraulické kapaliny, pro nehořlavé úpravy, ve veterinární či humánní medicíně jako léčiva či sloučeniny k výzkumu nervových funkcí. Nejširšího použití dosáhly tyto látky v zemědělství jako insekticidy. (23)

#### 2.4.2. Mechanismus účinku NPL

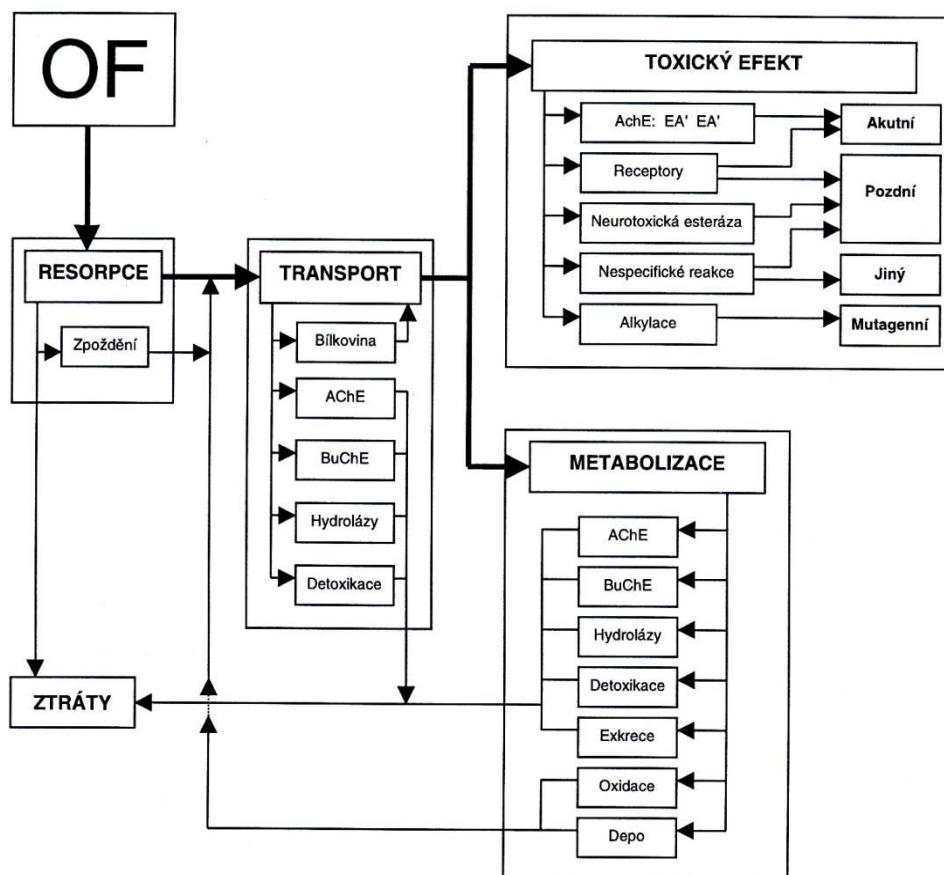
Za primární poruchu při akutní intoxikaci NPL můžeme označit inhibici acetylcholinesterasy (AChE), která za fyziologických podmínek štěpí mediátor nervového vzruchu acetylcholin. NPL inhibují AChE mechanismem vazby na její aktivní místo, které představuje katalytické centrum enzymu. (24)

Inhibice AChE vede k narušení cholinergního přenosu nervového vzruchu cestou nahromadění acetylcholinu na receptorech s následným dlouhodobým nadměrným drážděním cholinergních receptorů. Klinickým důsledkem nadměrného dráždění cholinergních receptorů jsou v závislosti na jejich lokalizaci a typu muskarinové, nikotinové a centrální klinické příznaky, které jsou typické pro akutní fázi intoxikace. (23)

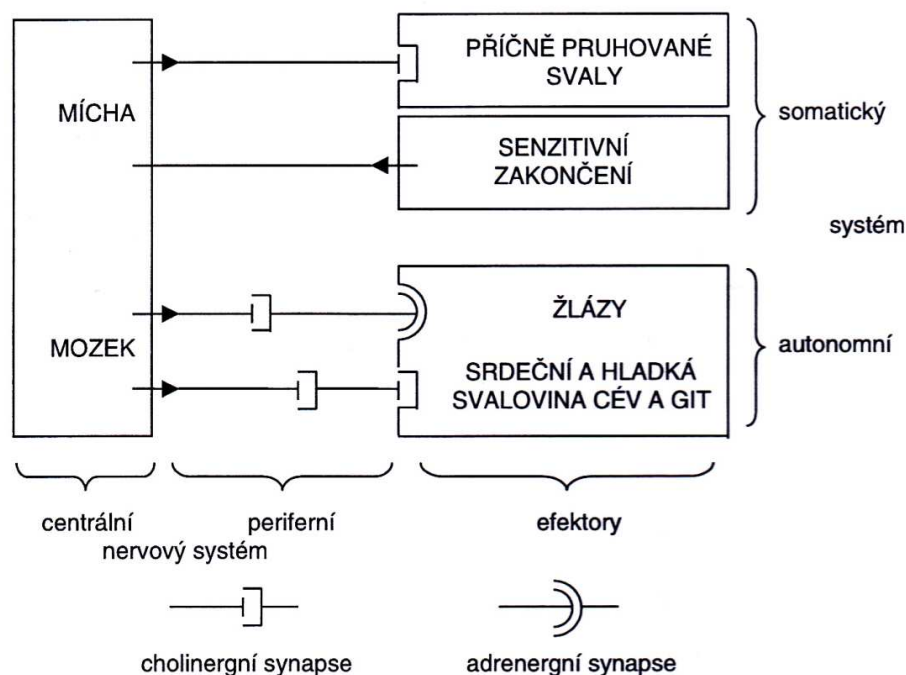
Spontánní znovuobnovení aktivity (reaktivace) inhibovaného enzymu probíhá velmi pomalu, stejně jako syntéza AChE *de novo*. Reaktivaci inhibované AChE je možné urychlit látkami, které se nazývají reaktivátory. (23)

Po vstupu NPL do intoxikovaného organismu zde probíhají čtyři hlavní fáze účinku NPL: resorpce, transport, metabolizace a vlastní toxický efekt, (obr. 6). Vlastní toxický efekt je realizován jen zlomkem podané dávky NPL, zbytek podané dávky představují ztráty, vznikající nejrůznějším způsobem. Ztráty mohou dosáhnout podle druhu NPL až 99%. Při expozici NPL je kromě i. v. podání pozorováno zpoždění, které je dáno průnikem NPL biologickými bariérami. V transportním systému (krevním oběhu) reaguje NPL s cholinesterasami a dalšími enzymy. Jsou to především butyrylcholinesterasa (BuChE), karboxylesterasy a fosforylfosfatasy v plazmě. Vazba NPL na ostatní esterasy nevyvolává na rozdíl od inhibice AChE žádné klinické příznaky intoxikace, takže tyto esterázy působí vlastně jako „vychytávači“ NPL a zabraňují tak rozvoji klinických příznaků intoxikace tím, že na sebe vážou část dávky NPL, která vstoupila do vnitřního prostředí intoxikovaného organismu, a vyřazují ji z vlastního toxického účinku. Krevním oběhem je NPL zanesena na místo metabolického a toxického efektu. Metabolizace zahrnuje detoxikační reakce, ale v některých případech (hlavně u organofosforových insekticid) je vlastní látka oxidována a vzniklý derivát, který je toxičtější, je znovu vyplaven do krve a může způsobit novou vlnu intoxikace. Na místě toxického efektu

(centrální a periferní nervový systém, nervosvalové ploténky) NPL inhibuje AChE, která již nemůže štěpit acetylcholin a na cholinergních synapsích (obr. 7) se projeví důsledky jeho zvýšené koncentrace. (23)



Obr. 6 Schematické znázornění základních dějů při účinku organofosfátů včetně NPL (23)



Obr. 7 Schematické znázornění cholinergních synapsí v organismu (23)

### 2.4.3. Brány vstupu

NPL pronikají do organismu sliznicí dýchacích cest ve formě par nebo aerosolu, zažívacím traktem se zamořenou potravou a vodou, spojivkami i neporušenou kůží. (24)

### 2.4.4. Subjektivní a objektivní příznaky akutní intoxikace

Časné příznaky (porucha zraku, slzení a zarudnutí spojivek, slinění, pocení a sekrece z nosu, bolesti hlavy, potíže s dechem, pocity tíhy na hrudi a slabosti, fascikulace v oblasti kontaminované kůže, nauzea, případné zvracení) vyžadují okamžité odmoření zasažených míst a první pomoc svépomocí nebo vzájemnou pomocí (podání antidot z autoinjektoru). Příznaky charakteristické pro závažnou intoxikaci (výrazná mióza, těžká dušnost spojená s poruchou dýchání hlavně ve výdechové fázi (prodloužený výdech), místní či generalizované svalové tonicko-klonické křeče následované paralýzou kosterního svalstva, samovolný odchod stolice a moči, ztráta vědomí) zasažený není schopen si poskytnout první pomoc. (25)



### 3. Cíl práce

V teoretické části bylo cílem práce shrnout vlastnosti a využití povrchově aktivních látek. Dále zákonitosti vzniku micel a popis principu micelární katalýzy.

V experimentální části bylo cílem provedených kinetických měření zjistit, jsou-li vybrané látky výhodné pro použití jako hydrolytické micelární katalyzátory pro rozklad organofosforového pesticidu fenitrothionu. Zjistit vliv délky hydrofobního řetězce, (konkrétně rozdílu mezi tenzidy se 16 nebo 12 uhlíky v řadě) a rovněž vliv hydrofilních substituentů. Potvrdit hypotézu vlivu struktury na schopnost účinně rozkládat esterovou vazbu použitého pesticidu. Následně porovnání závislosti rychlosti rozkladu na hodnotě kritické micelární koncentrace použitého tenzidu.

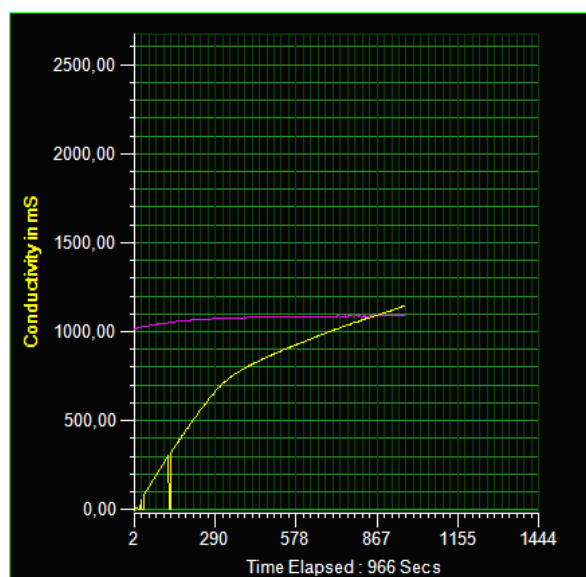
## 4. Experimentální část

### 4.1. Měření kritické micelární koncentrace

#### 4.1.1. Princip stanovení CMC

Kritická micelární koncentrace byla stanovena pomocí konduktometrické metody, kde sledujeme závislost vodivosti roztoku na stoupající koncentraci vybraného tenzidu.

Při dosažení CMC v roztoku tenzidu dochází k výraznému zpomalení nárůstu vodivosti roztoku, což se na jinak lineární závislosti projeví zlomem přímky, (graf 1).



Graf 1 Závislost vodivosti [uS] na koncentraci tenzidu [mol.l<sup>-1</sup>]

#### 4.1.2. Aparatura

CMC byla měřena konduktometricky za použití: konduktometru Tristar Orion, Thermo Scientific, USA; konduktometrické cely 013005MD, Thermo Scientific, USA; lineární pumpy Lineomat, VEB MLW Labortechnik Ilmenau, Německo; magnetické míchačky AREX, VELP Scientifica Srl, Itálie a termostatu U1, VEB MLW Prüfgeräte-Werk Medingen, Německo.

Jednotlivé komponenty sestavy na sebe navazovaly následujícím způsobem: Lineární pumpa byla osazena 5 ml jednorázovou stříkačkou zakončenou jehlou o vnějším průměru 1,2 mm, která byla prodloužena PE kanylou na 12 cm.

Pumpa byla nastavena na rychlost dávkování stupně C10 (0,2 ml/min). Kanylou vytékal roztok tenzidu do objemu 8 ml destilované vody umístěné ve speciální nádobě. Do nádoby byla dále ponořena konduktometrická cela a magnetické míchadlo. Nádoba byla umístěna do termostatovacího pláště vyhřívaného připojeným termostatem. Teplota vody v plášti byla nastavena na teplotu vyšší, než byla předpokládána Krafftova teplota nejvyššího člena homologické řady tenzidu. Termostatovací plášť byl posazen na pracovní desku míchačky, která zabezpečovala okamžité promíchání vznikajícího roztoku, díky magnetickému míchadlu. Konduktometrická cela byla připojena ke konduktometru, který byl propojen s PC. Konduktometr byl za provozu ovládán programem Star Plus Navigator, který umožňoval kontinuální sběr dat.

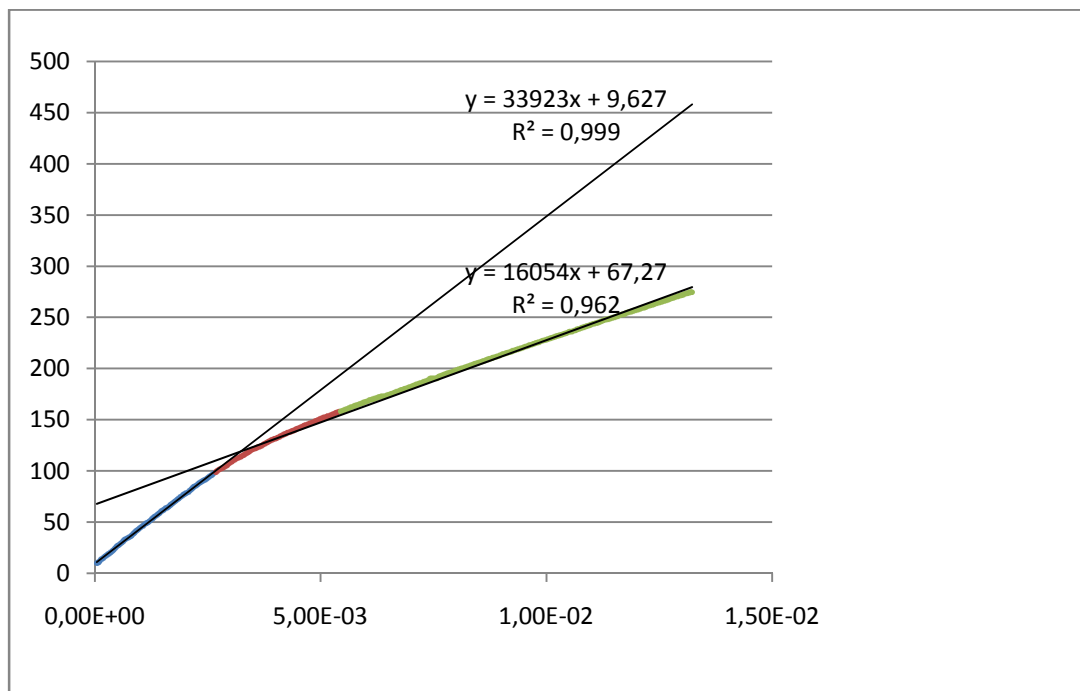
#### **4.1.3. Vlastní postup měření CMC**

Injekční stříkačka byla naplněna roztokem tenzidu a vložena do pracovního prostoru lineární pumpy. Koncentrace tenzidu byla odhadnuta z hodnot CMC strukturně blízkých již testovaných látek (soli benzalkonia). PE kanyla byla ponořena na dno nádoby s destilovanou vodou a bylo spuštěno míchání. Na PC byl nastaven program Star Plus Navigator a v něm programová sekvence Continuous measurement. Dále byla nastavena celková doba měření (20 minut), interval odečítání dat (3 s) a rozsah měřených vodivostí. Po té bylo odstartováno měření a spuštěna lineární pumpa. Měření bylo ukončeno spotřebováním titračního roztoku ve stříkačce, nebo pokud byl na křivce jasně patrný zlom a obě lineární ramena titrační křivky byla zhruba stejně dlouhá.

#### **4.1.4. Výpočet CMC**

Data naměřená v programu Star Plus Navigator byla zkopírována do programu MS Excel. V MS Excel byla pak provedena transformace časové osy na koncentrační osu podle parametrů definujících měření (startovní objem destilované vody v kádince, koncentrace titračního roztoku tenzidu, rychlost dávkování roztoku). V dalším kroku byla titrační křivka rozdělena na tři části – dolní lineární část, oblast zlomu a horní lineární část. Obě lineární části křivky byly proloženy přímkou, u které MS Excel vypočítal rovnici přímky a koeficient determinace, přičemž každá část obsahovala minimálně 50 experimentálních

dvojic koncentrace/vodivost. Ze získaných rovnic přímk byl vypočten jejich průsečík na ose x (koncentrační osa), který odpovídal právě hodnotě CMC.



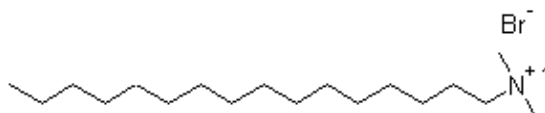
Graf 2 Odečtení hodnoty CMC na ose x proložením průsečíku dvou přímek

## 4.2. Metodika měření kinetiky micelárně katalyzovaných hydrolýz

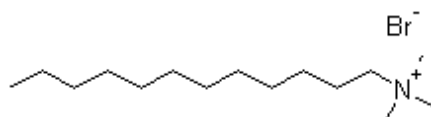
### 4.2.1. Použité chemikálie

K testování kinetiky hydrolýz byly použity látky, u nichž byla očekávána dostatečná hydrolytická aktivita, vzhledem k již dříve prováděným měřením:

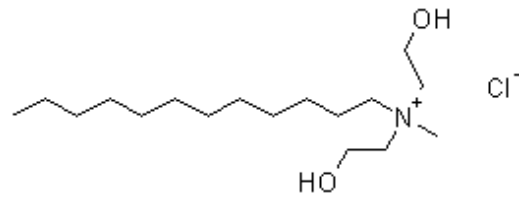
cetyltrimethylamonium-bromid



dodecyltrimethylamonium-bromid



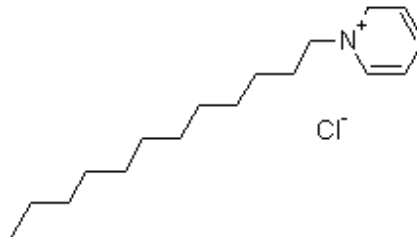
dodecyl-bis(2-hydroxyethyl)methylamonium-chlorid



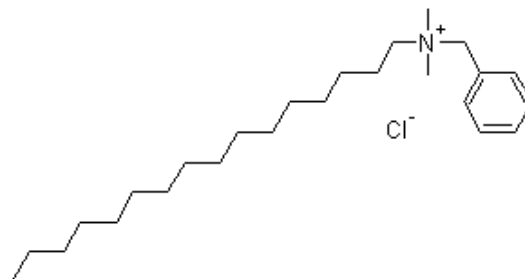
hexadecylpyridinium-chlorid



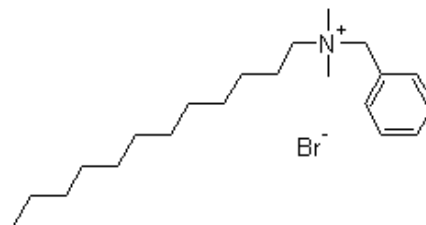
dodecylpyridinium-chlorid



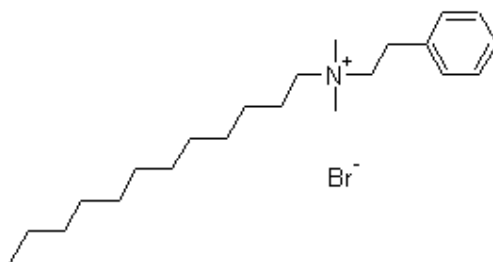
hexadecylbenzyltrimethylamonium-chlorid



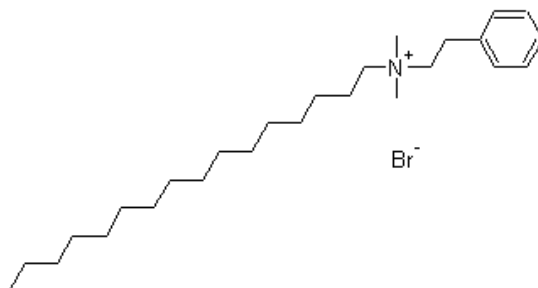
dodecylbenzyltrimethylamonium-bromid



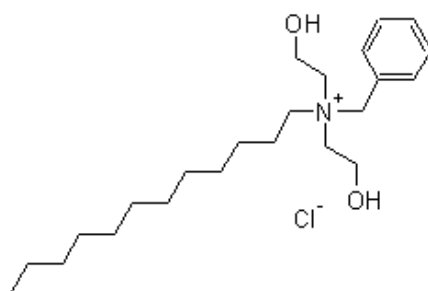
dodecyl-2-fenylethyldimethylamonium-bromid



hexadecyl-2-fenylethyldimethylamonium-bromid



dodecylbenzyl-bis(2-hydroxyethyl)amonium-chlorid



Za substrát byl zvolen fenitrothion, jenž je strukturálně podobný NPL.

#### 4.2.2. Podmínky měření

Pro měření byla zvolena teplota 50 °C, aby bylo dosaženo Krafftovy teploty u všech použitých tenzidů. K zajištění požadované teploty byl použit Termostat U1 (Medingen, Dresden, Německo). Dále bylo zvoleno pH 11, vhodné pro urychlení reakcí.

Samotné měření bylo realizováno pomocí fotometrické metody, tedy sledování změny absorbance připraveného roztoku v čase.

#### 4.2.3. Postup měření

Pro měření byl připraven roztok fenitrothionu v methanolu o koncentraci  $10^{-2}$  mol.l<sup>-1</sup>.

Dále roztoky tenzidů, které byly připraveny rozpuštěním v destilované vodě o koncentraci  $10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$  nebo  $10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ , na základě jejich hodnoty CMC, ze kterých byly dále naředěny po půl řádech až do koncentrace  $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  nebo  $10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ .

Karbonátový pufr o koncentraci  $0,05 \text{ mol.l}^{-1}$  vznikl rozpuštěním 2,65 g uhličitanu sodného v 0,5 l destilované vody. Pomocí titrátoru bylo upraveno pH na 11 pomocí zředěné kyseliny chlorovodíkové.

Do kyvety bylo postupně přidáváno 250  $\mu\text{l}$  roztoku karbonátového pufru, 250  $\mu\text{l}$  tenzidu odpovídající koncentrace a nakonec 10  $\mu\text{l}$  roztoku fenitrothionu v methanolu. Obsah kyvety byl následně homogenizován a vložen do fotometru. Všechny součásti směsi, krom roztoku substrátu byly předem vytemperovány na 50  $^{\circ}\text{C}$ . Rovněž vlastní měření probíhalo při teplotě 50  $^{\circ}\text{C}$ .

Měření změn absorbance v čase probíhalo do té doby, než byl rozdíl sousedních hodnot absorbancí s přibývajícím časem minimální.

Měření bylo provedeno při vlnové délce 400 nm, s použitím kyvet o tloušťce 1 cm s pomocí spektrofotometru Helios alpha (Thermoelectroncorporation, Anglie). Naměřená data byla zpracována v programu ThermoScientific Vision pro UV-visible spectrophotometer software (Thermo Fischer Scientific, USA).

#### 4.2.4. Rychlostní konstanty

Údaje závislosti změny absorbance v čase získané z měření byly převedeny do programu MS Excel a rychlostní konstanta byla vypočtena podle postupu popsaného Guggenheimem, s platností rovnice: (26)

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

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

$A_t$  = absorbance v čase  $t$

Exp = základ přirozeného logaritmu

$k_{\text{poz}}$  = pozorovaná rychlostní konstanta

$\Delta t$  = časový interval mezi dvěma po sobě následujícími měřeními

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

Tento vztah je rovnicí přímky se směrnici  $\exp(-k_{\text{poz}} \cdot \Delta t)$  a absolutním členem  $A_{t\infty} \cdot (1 - \exp(-k_{\text{poz}} \cdot \Delta t))$ . Data z měření byla převedena do MS Excel ve dvou sloupcích tak, aby byl druhý sloupec posunut o jeden řádek nahoru. Tento posun představuje jednu hodnotu  $\Delta t$ . Takto vzniklá tabulka byla převedená do bodového grafu typu XY. Body byla proložena spojnice trendu s rovnicí regrese a hodnotou spolehlivosti. Získaná směrnice byla použita pro výpočet rychlostních konstant ze vztahu  $\exp(-k_{\text{poz}} \cdot \Delta t)$ . Rychlostní konstanty byly přepočteny na poločas reakce. (27)

### 4.3. Výsledky

#### 4.3.1. Hodnoty CMC

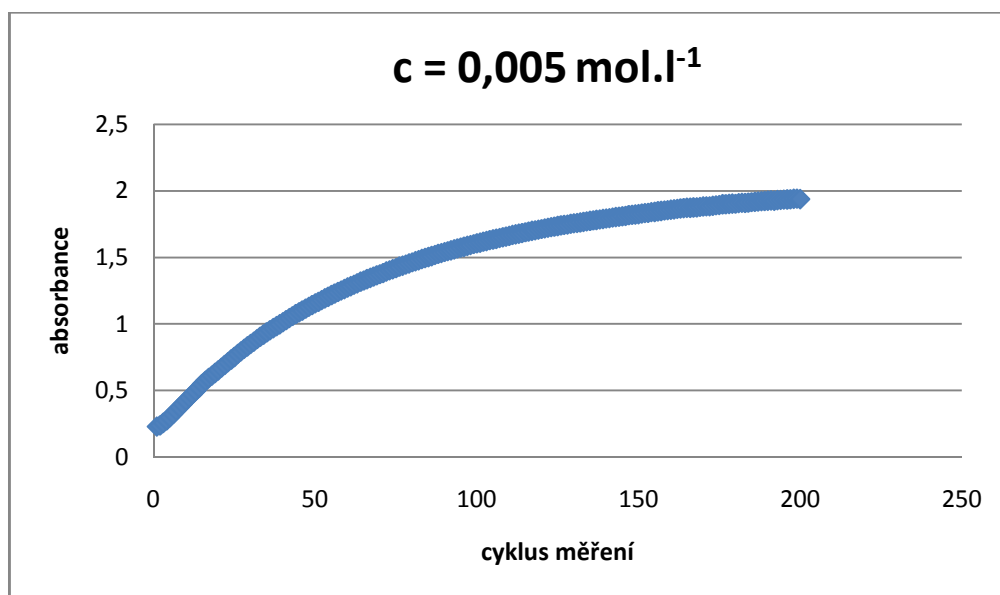
Tenzid	CMC [mol.l <sup>-1</sup> ]
CTABr	$9,75 \cdot 10^{-4}$
DTMABr	$2,43 \cdot 10^{-2}$
DHeMACl	$2,14 \cdot 10^{-2}$
HPyrCl	$6,91 \cdot 10^{-4}$
DPyrCl	$1,31 \cdot 10^{-2}$
HBMACl	$1,51 \cdot 10^{-3}$
DBMABr	$8,71 \cdot 10^{-3}$
DFeMABr	$4,20 \cdot 10^{-3}$
HFeMABr	$7,10 \cdot 10^{-4}$
DBHeACl	$5,83 \cdot 10^{-3}$



## 4.3.2. Kinetika micelárně katalyzovaných hydrolýz

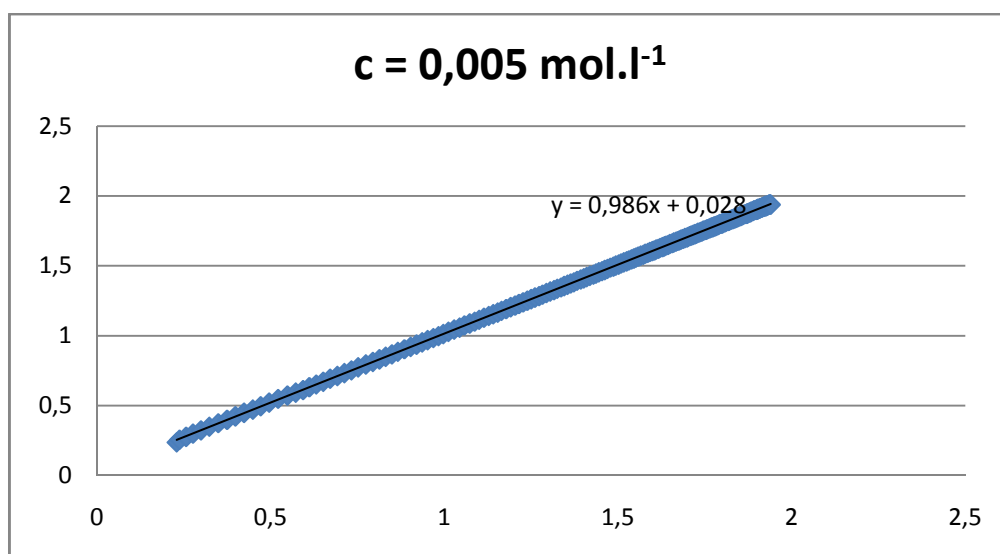
### 4.3.2.1. Cetyltrimethylamonium-bromid

Spektrofotometrickým měřením byly získány hodnoty změny absorbance v čase  $t$  připravených roztoků s obsahem různých koncentrací tenzidu. V grafickém znázornění je vidět, že měření probíhalo do té doby, kdy se hodnota absorbance již výrazně neměnila.



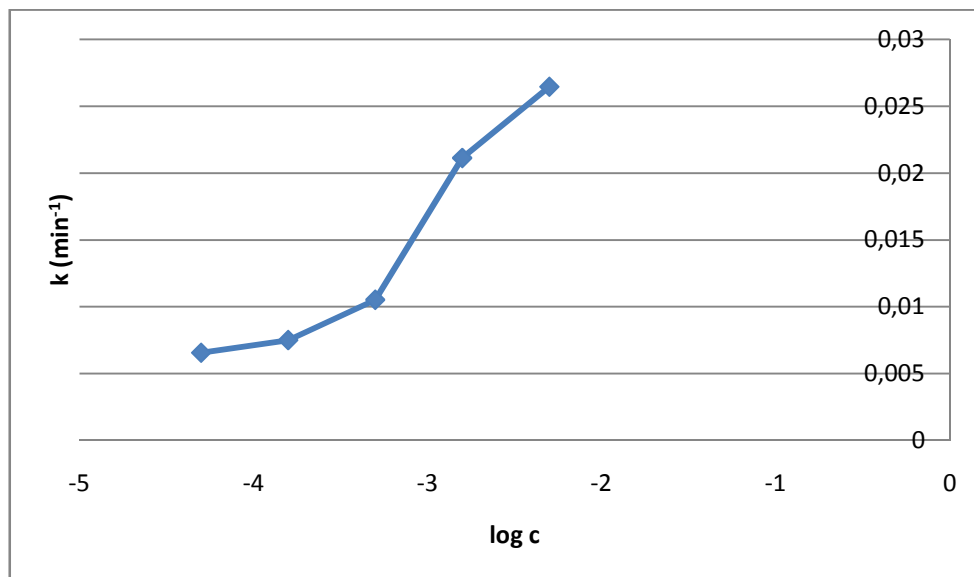
Graf 3 Závislost absorbance v čase (1 cyklus = 32s)

S využitím Guggenheimovy metody byl vytvořen graf, ze kterého jsme získali směrnici pro výpočet rychlostních konstant.



Graf 4 Směrnice přímky

Takto bylo postupováno u všech koncentrací tenzidů. Získané rychlostní konstanty byly dosazeny do grafu v závislosti na log koncentrace.



Graf 5 Závislost rychlostních konstant na log c

Výsledné rychlostní konstanty cetyltrimethylamonium-bromidu pro jednotlivé koncentrace:

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
<b>0,005</b>	0,0264	26,22
<b>0,0016</b>	0,0211	32,82
<b>0,0005</b>	0,0105	65,83
<b>0,00016</b>	0,0075	92,23
<b>0,00005</b>	0,0066	105,44

#### 4.3.2.2. Dodecyltrimethylamonium-bromid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0133	52,25
0,016	0,0106	65,36
0,005	0,0057	122,15
0,0016	0,0056	124,65
0,0005	0,0054	127,25

#### 4.3.2.3. Dodecyl-bis(2-hydroxyethyl)methylamonium-chlorid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0329	21,06
0,016	0,0531	13,06
0,005	0,0310	22,36
0,0016	0,0132	52,50
0,0005	0,0108	64,45

#### 4.3.2.4. Hexadecylpyridinium-chlorid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,005	0,0293	23,21
0,0016	0,0196	35,29
0,0005	0,0100	69,27
0,00016	0,0056	124,65
0,00005	0,0050	138,85

#### 4.3.2.5. Dodecylpyridinium-chlorid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0111	62,47
0,016	0,0122	56,69
0,005	0,0053	131,84
0,0016	0,0050	138,39
0,0005	0,0050	138,39

#### 4.3.2.6. Hexadecylbenzyltrimethylammonium-chlorid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,016	0,0273	25,42
0,005	0,0325	21,32
0,0016	0,0239	28,99
0,0005	0,0139	49,78
0,00016	0,0069	100,84

#### 4.3.2.7. Dodecylbenzyltrimethylammonium-bromid

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0202	34,36
0,016	0,0202	34,36
0,005	0,0090	76,77
0,0016	0,0063	110,03
0,0005	0,0052	134,54

**4.3.2.8. Dodecyl-2-fenylethyldimethylamonium-bromid**

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0211	32,82
0,016	0,0230	30,12
0,005	0,0175	39,57
0,0016	0,0054	127,44
0,0005	0,0049	142,46

**4.3.2.9. Hexadecyl-2-fenylethyldimethylamonium-bromid**

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,05	0,0283	24,48
0,016	0,0215	32,26
0,005	0,0113	61,54
0,0016	0,0064	109,029
0,0005	0,0050	138,85

**4.3.2.10. Dodecylbenzyl-bis(2-hydroxyethyl)amonium-chlorid  
(Benzoxonium-chlorid)**

Koncentrace tenzidu [mol.l <sup>-1</sup> ]	k [min <sup>-1</sup> ]	T <sub>1/2</sub> [min]
0,005	0,1640	4,23
0,0016	0,0484	14,32
0,0005	0,0077	89,73
0,00016	0,0054	127,25
0,00005	0,0048	145,47

## 5. Diskuse a komentář

### 5.1. Zpracování dat

Pro zpracování dat byla využita Guggenheimova metoda (28). Tuto metodu je výhodné použít pro zpracování dat pocházejících z reakcí prvního a pseudoprvního řádu. Dalším důvodem je, že pomocí této metody lze zpracovat i data, která nemají zaznamenán počátek ani konec reakce a je vhodná i z hlediska získávání dat postupy lineární regrese, lze ji tedy použít v programu MS Excel a není potřeba speciální programové vybavení.

### 5.2. Zhodnocení hydrolytické účinnosti

Měření kinetiky hydrolyz bylo prováděno u koncentrací tenzidů  $10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$  nebo  $10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ , na základě jejich hodnoty CMC, ze kterých byly dále naředěny po půl řádech až do koncentrace  $10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$  nebo  $10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ . Po jejich smísení s karbonátovým pufrům v kyvetě v poměru 1:1 byla výsledná koncentrace tenzidů poloviční.

Při nejnižších koncentracích, pod hranicí CMC byly rychlostní konstanty dány pouze spontánní hydrolyzou způsobenou pH, teplotou prostředí a působením neagregovaných molekul tenzidů.

Pozorovatelný nárůst rychlostních konstant byl většinou kolem hodnoty koncentrace  $0,0016 \text{ mol.l}^{-1}$  nebo  $0,0005 \text{ mol.l}^{-1}$ , tedy po překročení CMC.

Předpokladem byla platnost Menger–Portnoyovy rovnice, která je obdobou Michaelisovy rovnice v enzymologii, tedy závislosti mezi hodnotami hydrolytických konstant a koncentrací tenzidu. (29)

$$k_{\text{poz}} = \frac{k_0 + k_{\text{max}} \cdot \frac{K}{N} (C_T - \text{CMC})}{\frac{K}{N} (C_T - \text{CMC}) + 1}$$

$k_0$  = rychlostní konstanta spontánní hydrolyzy

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

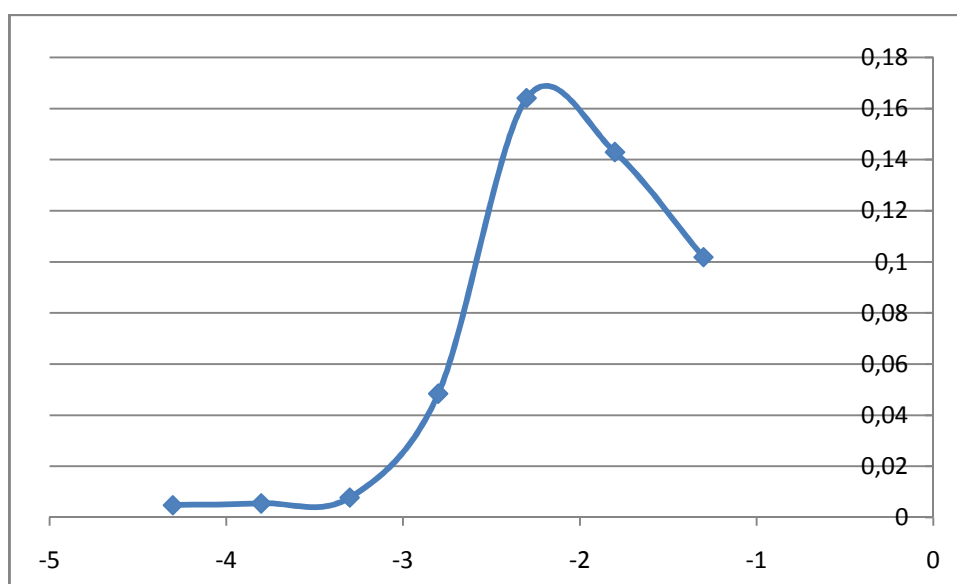
$K$  = disociační konstanta komplexu micela – substrát

$N$  = agregační číslo (počet molekul tenzidu v jedné micelle)

$C_T$  = koncentrace tenzidu

CMC = kritická micelární koncentrace

U některých systémů tenzid/substrát vznikala křivka s výrazným maximem, nikoli asymptotická. Tento jev se vyskytoval nezávisle na délce alkylu, tenzidu či substrátu.



Graf 6 Průběh funkce s maximem hodnoty rychlostní konstanty

Tento jev byl vysvětlen C. A. Buntonem. Bunton tvrdí, že při vysokých koncentracích kationického tenzidu vznikají micely, které z důvodu svého nadbytku neobsahují substrát, ale díky přítomnosti jejich kladně nabitého povrchu poutají rovněž anionty z roztoku, tyto anionty poutané na micely bez substrátu se pak nezapojují do hydrolýzy. Rostoucí koncentrace tenzidu tedy ztrácí svůj efekt. Proto Bunton doplnil Menger-Portnoyovu rovnici o kvadratický člen ve jmenovateli. (30)

$$k_{\text{poz}} = \frac{k_0 + k_{\text{max}} \cdot \frac{K}{N}(C_T - \text{CMC})}{\frac{K}{N}(C_T - \text{CMC}) + \frac{a}{N^2} * (C_T - \text{CMC})^2}$$

Doplněním rovnice o zmíněný kvadratický člen se rovnice stává shodnou s rovnicí Haldaenovou, která v enzymologii popisuje inhibici enzymu nadbytkem substrátu. (31)

### Hydrolytická účinnostenzid/substrát

<b>C12</b>			
<b>Tenzid</b>	<b><math>k_{\text{pozmax}}[\text{min}^{-1}]</math></b>	<b><math>C_{\text{max}}[\text{mol.l}^{-1}]</math></b>	<b><math>T_{1/2}[\text{min}]</math></b>
<b>DTMABr</b>	0,0133	0,050	52,25
<b>DBMABr</b>	0,0202	0,050	34,36
<b>DFeMABr</b>	0,0230	0,016	30,12
<b>DPyrCl</b>	0,0122	0,016	56,69
<b>DBHeACl</b>	0,1640	0,005	4,23
<b>DHeMACl</b>	0,0531	0,016	13,06

Tab. 1 Nejvyšší dosažené hodnoty rychlostních konstant pseudoprvního řádu pro hydrolyzu fenitrothionu testovanými tenzidy se 12 uhlíky v řadě

<b>C16</b>			
<b>Tenzid</b>	<b><math>k_{\text{pozmax}}[\text{min}^{-1}]</math></b>	<b><math>C_{\text{max}}[\text{mol.l}^{-1}]</math></b>	<b><math>T_{1/2}[\text{min}]</math></b>
<b>CTABr</b>	0,0264	0,005	26,22
<b>HBMACl</b>	0,0325	0,005	21,32
<b>HFeMABr</b>	0,0283	0,050	24,48
<b>HPyrCl</b>	0,0299	0,005	23,21

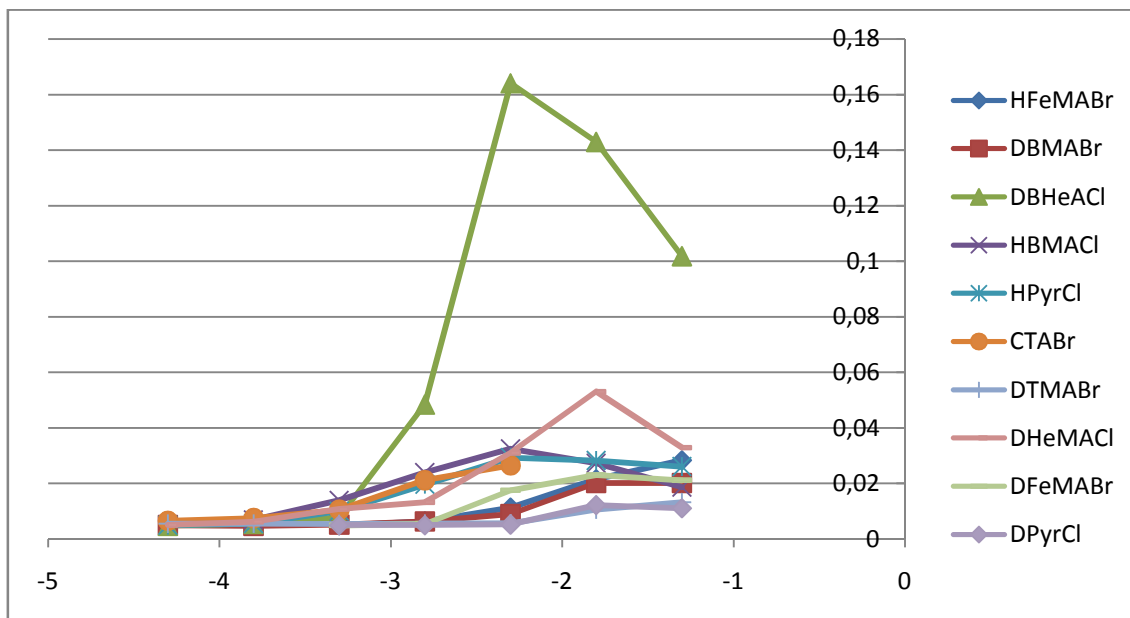
Tab. 2 Nejvyšší dosažené hodnoty rychlostních konstant pseudoprvního řádu pro hydrolyzu fenitrothionu testovanými tenzidy se 16 uhlíky v řadě



$K_{\text{pozmax}}$  – dosažená maximální pozorovaná rychlostní konstanta pseudoprvního řádu

$C_{\text{max}}$  – molární koncentrace tenzidu, při které bylo dosaženo  $k_{\text{pozmax}}$

$T_{1/2}$  – poločas reakce



Graf 7 závislost rychlostních konstant jednotlivých tenzidů na log c

Na rychlost hydrolyzy má vliv řada strukturálních rysů tenzidových molekul. Změna délky alkylového lipofilního řetězce o čtyři methylenové skupiny (z C12 na C16) u pyridinií, benzalkonií a trimethylamonií způsobuje nárůst rychlosti reakce cca o dvojnásobek. Zavedení fenylové skupiny do kationické hlavy tenzidu nezpůsobuje výraznější změny v reaktivitě tenzidu ve srovnání s tenzidy typu trimethylamonií. Naopak připojení dvou 2-hydroxyethylových skupin ke kvartérnímu dusíku vede k dosti výraznému nárůstu reaktivity. U C12 benzalkonií o víc jak osminásobek a u C12 trimethylamonií o více jak čtyřnásobek. Mezi C12 trimethylamoniem a C12 benzalkoniem není v reaktivitě významného rozdílu, ale mezi jejich 2-hydroxyethylovanými analogy je rozdíl více jak dvojnásobný ve prospěch benzalkonia.

Je patrné, že zavedení 2-hydroxyethylové a fenylové funkční vede k jistému zvýšení reaktivity, avšak jejich kooperací v rámci struktury jednoho tenzidu lze dosáhnout podstatně vyššího nárůstu reakční rychlosti.

## 6. Závěr

Z naměřených hodnot byl potvrzen předpoklad, že hydrolytická účinnost stoupá s rostoucím počtem uhlíků v alkylovém řetězci. Byl zjištěn i vliv struktury hydrofilní části tenzidu na hydrolytickou účinnost. Nejlepší účinnost se prokázala u látek obsahujících 2-hydroxyethylovou a fenylovou skupinu ve své molekule. Z experimentálních dat se jako nejlepší kationický tenzid k urychlení hydrolyzy pesticidu fenitrothionu jeví benzoxonium-chlorid [dodecylbenzyl-bis(2-hydroxyethyl)amonium-chlorid], který urychlil reakci více než 29x oproti spontánní hydrolyze, což potvrzuje předešlé tvrzení o vztahu struktury tenzidu a rychlosti micelární katalýzy.

## Citovaná literatura

1. KIZLINK, J. *Technologie chemických látek II. Zpracování ropy, paliva a petrochemie, chemické speciality, pesticidy, dezinfekční látky, tenzidy, plasty a kaučuk, aditiva a pomocné chemikálie, výbušniny, biotechnologie, organizace pro chemii*. 1. vyd. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2001, p. 209-421. ISBN 80-214-2013-8.
2. STRNADOVÁ, H.; KVÍTEK, L. Vliv pufru na tvorbu micel vybraných povrchově aktivních látek. *Chemické listy*. 2009, vol. 103, p. 315-319.
3. CHALABALA, M. et. al. *Technologie léků*. 2. , přepracované a doplněné vydání. Praha: Galén, 2001, p. 408. ISBN 80-7262-128-9.
4. SHAW D.; CORCORAN, T. Surface Activity and Micelle Formation. [Online] [Citace: 22. 4. 2013.], [http://www.csupomona.edu/~sjanz/physical\\_chemistry/chm\\_352\\_labs/cmc.pdf](http://www.csupomona.edu/~sjanz/physical_chemistry/chm_352_labs/cmc.pdf).
5. LÁZNÍČKOVÁ, A.; ĐOUBAL, S.; GASPARIČ, J.; DITTRICH, M. *Fyzikální chemie pro posluchače farmacie. Díl 2*. Praha: Karolinum, 1997, p. 126. ISBN 80-7184-447-0.
6. TRAUBE, I. Über die Kapillaritätskonstanten organischer Stoffe in wässriger Lösung. *Annu. Chem. Liebings*. 1891, vol. 265, p. 27-55.
7. [Online] [Citace: 4. 12 2012.], [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/krafftova\\_teplota.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/krafftova_teplota.html).
8. CULLUM, D. C. *Introduction to surfactant analysis*. 1. vyd. London: Blackie Academic & Professional, 1994, p. 352. ISBN 0-7514-0025-4.
9. ŠMIDRKAL, J. Tenzidy a detergenty dnes. *Chemické listy*. 1999, vol. 93, p. 421-427.

10. LÁZNIČKOVÁ, A.; KUBÍČEK, V. *Základy fyzikální chemie: Vybrané kapitoly pro posluchače Farmaceutické fakulty*. 2. přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2008, p. 168. ISBN 978-80-246-1511-0.
11. [Online] [Citace: 5. 12. 2012.], [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/kriticka\\_micelarni\\_koncentrace.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/kriticka_micelarni_koncentrace.html).
12. Kinetic studies of some esters and amides in presence of micelles, [Online] [Citace: 22. 4. 2013.], [http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/3938/7/07\\_chapter%201.pdf](http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/3938/7/07_chapter%201.pdf).
13. BLAŽEJ, A. et al. *Tenzidy*. 1. vyd. Bratislava: ALFA, 1977, p 481. ISBN 63-173-77.
14. IRZ - Integrovaný registr znečišťování. [Online] [Citace: 5. 12. 2012.], [http://www.irz.cz/irz/latky/oktylfenoly\\_a\\_oktylfenol\\_ethoxylaty.html](http://www.irz.cz/irz/latky/oktylfenoly_a_oktylfenol_ethoxylaty.html).
15. HAMPL, F. Biomimetika - organizované vrstvy, liposomy. [Online] [Citace: 5. 12. 2012.] [http://www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2005/6\\_Hampl.pdf](http://www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2005/6_Hampl.pdf).
16. Využití tenzidů v analytické chemii. [Online] [Citace: 6. 12. 2012.], [http://users.prf.jcu.cz/sima/vybrane\\_kapitoly/tenzidy\\_anal.htm](http://users.prf.jcu.cz/sima/vybrane_kapitoly/tenzidy_anal.htm).
17. [Online] [Citace: 6. 12 2012.], [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/micelarni\\_katalyza.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/micelarni_katalyza.html).
18. BUNTON, C. A.; ROBINSON, L.; SEPULVEDA, L. Structural effect upon catalysis by cationic micelles. *J. org. Chem.* 1970, vol. 89, p. 108-114.
19. HURST, P.; HAY, A.; DUDLEY, N. *The pesticide Handbook*. 1. vyd. London: Journeyman, 1991, p. 358. ISBN 1-85172-041-3.
20. *Mendelova univerzita v Brně*. [Online] [Citace: 3. 1. 2013.], [http://web2.mendelu.cz/af\\_217\\_multitext/ke\\_stazeni/regulace/fytotoxicita.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_217_multitext/ke_stazeni/regulace/fytotoxicita.pdf).

21. TIWARI, S; GHOSH, K. K.; MAREK, J.; KUČA, K. Cationic Micellar-Catalyzed Hydrolysis of Pesticide Fenitrothion Using. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2010, vol. 7, no. 3. p 194-199.
22. CABAL, J.; BAJGAR, J. Tabun - Návrat po padesáti letech. *Chemické listy*. 1999, vol. 93, p. 27-31.
23. PATOČKA, J. et al. *Vojenská toxikologie*. Praha: Grada, 2004, p. 178. 80-247-0608-3.
24. KASSA, J.; KRS, O.; CABAL, J. *Základy vojenské toxikologie a ochrany proti BCHL pro posluchače VLA JEP farmaceutického směru*. Hradec Králové: Vojenská lékařská akademie Jana Evangelisty Purkyně, 1992, p. 185.
25. KASSA, J. *Základy vojenské toxikologie a ochrany proti bojovým chemickým látkám role 1-4*. Hradec Králové: Vojenská lékařská akademie J.E. Purkyně, 2003, p. 50. 80-85109-66-2.
26. CABAL, J.; KUČA, J.; MÍČOVÁ, J. Kinetics of decomposition of organophosphate Fenitrothion by decontaminating foam-making blends. *J. Appl. Biomedicine*. 2007, vol. 5, p. 167-170.
27. CABAL, J.; MÍČOVÁ, J.; KUČA, K. Kinetics of hydrolysis of organophosphate soman by cationic. *J. Appl. Biomed.* 2010, vol. 8, p. 1-6.
28. GUGGENHEIM, E. A. On the determination of the velocity constant of a unimolecular reaction. *Philos. Mag.* 1926, vol. 2, p. 538-543
29. MENGER, F. M.; PORTNOY, C. E. Chemistry of reactions proceeding inside molecular aggregates. *J. Am. Chem. Soc.* 1967, vol. 89, no 14., p. 4698-4703.
30. BUNTON, C. A. Micellar Catalysis and Inhibition. *Progress in Solid State Chemistry*. 1973, vol 8, p. 239-281.
31. BRIGGS, G. E.; HALDANE, J. B. S. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochem. J.*, 1925, vol. 103, p. 338-339.

32. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1259181/pdf/biochemj01157-0177.pdf>. [Online] [Citace: 22. 4 2013.]