

PRILOG KINETICI HIDROLIZE ORGANOFOSFORNIH SPOJEVA

B. UHLIK i K. WEBER

Veterinarski institut i Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Primljeno 23. IX 1965)

Hidroliza organofosfornih spojeva sarina, tabuna i diizopropilfluorofosfata (DFP) istraživana je kinetički u razrijeđenim vodenim otopinama, u različnim pokusnim uvjetima. Za određivanje koncentracije aktivne nehidrolizirane tvari služila su mjerenja intenziteta fluorescencije oksidacionih produkata indola, koji se stvaraju pri oksidaciji »katalitičkim« utjecajem organofosfornog spoja, u prisutnosti alkalične otopine natrijeva perborata.

Kinetička mjerenja su vršena kod različitih temperatura, u vodenim otopinama, u prisutnosti pufera, raznih alkohola i inhibitora. Određivani su temperaturni kvocijenti, energije aktivacija i vremena poluraspada radi provjeravanja reda reakcija tih hidrolitičkih procesa.

Rezultati izvršenih eksperimenata mogu poslužiti za praktično prosuđivanje stabilnosti navedenih spojeva u vodenim otopinama.

Glavna svrha ovog rada bila je da se utvrde pokusni uvjeti koji pospješuju ili sprečavaju hidrolizu organofosfornih spojeva sarina, tabuna i diizopropilfluorofosfata (DFP), da se u brojčanim vrijednostima izraze brzine kojima se zbivaju hidrolitičke razgradnje tih tvari u različnim eksperimentalnim uvjetima i, konačno, da se odrede temperaturni kvocijenti i energije aktivacija nekih reakcija koje su provedene kod različitih temperatura.

Hidroliza je najjednostavnija kemijska reakcija kojom se spomenuti spojevi mogu prevesti u manje ili više neotrovne razgradne produkte. Načini proučavanja mehanizma hidrolitičke razgradnje sarina, tabuna i DFP mogu se svrstati u dvije glavne grupe. U prvu grupu mogu se uključiti kinetička istraživanja encimatskih hidroliza, in vivo ili in vitro (1-10), a u drugu grupu, u koju spadaju istraživanja iznesena u ovom prikazu, spadaju proučavanja mehanizma neencimatskih hidroliza u kiselom, neutralnom ili alkalnom mediju, u prisutnosti ili odsutnosti dodatka efekorskog karaktera (sarin: 11-17; tabun: 18-22; DFP: 23-29).

Metode mjerenja brzine hidrolitičke razgradnje navedenih organofosforinih spojeva zasnivaju se na mjerenjima brzine opadanja koncentracije aktivne tvari ili brzine stvaranja jednog od produkata hidrolize. Sarin i DFP se hidrolizom cijepaju na fluorovodičnu kiselinu, pa se brzina ove reakcije obično određuje mjerenjem brzine stvaranja spomenute kiseline. (12–15, 17, 23, 29, 30) Tabun se u kiselom mediju hidrolizira na dimetilamin i organofosforini ostatak, a u alkalnom mediju na HCN, pa se brzina njegove razgradnje može pratiti mjerenjima brzine stvaranja ovih dvaju produkata. (3, 6, 7, 11, 21, 22, 30)

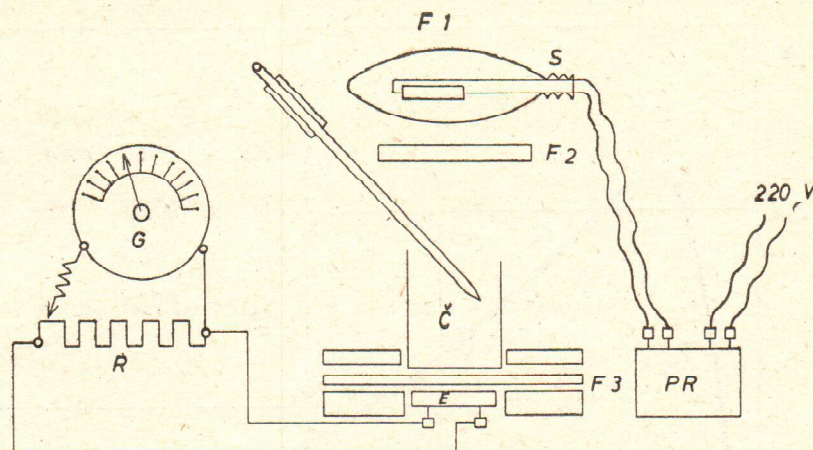
Za mjerenje brzina hidrolitičkih razgradnji navedenih spojeva najčešće se primjenjuju, pored titrimetrijskih, dilatometrijske i kolorimetrijske metode. (5, 24, 28, 31, 32) Mi smo brzine hidrolitičkih razgradnji sarina, tabuna i DFP određivali mjerenjima brzine opadanja koncentracije aktivne, nehidrolizirane tvari metodom fluorescencije (31–34), koja se zasniva na ubrzanoj oksidaciji indola, pomoću natrijeva perborata, u prisutnosti organofosforinog spoja kao prenosioca kisika. U tim reakcijama organofosforini spoj ima ulogu katalizatora, ali samo fenomenološki, jer se kod prenošenja kisika hidrolizira, dakle kemijski mijenja.

METODA RADA

Poznato je da pod utjecajem ultraljubičastog svjetla valne dužine 365 nm viši oksidacioni produkti indola (indoksil i indigo bijelo) pokazuju intenzivnu zelenkastu fluorescenciju. (32, 33) U normalnim okolnostima, tj. u odsutnosti pozitivnih katalizatora, oksidacija indola u indoksil odvija se relativno sporo. Razni spojevi, među kojima i sarin, tabun i DFP djeluju kao aktivatori ove reakcije. Naši su pokusi pokazali da je kod primjene sarina i tabuna kao »katalizatora« reakcije oksidacije intenzitet fluorescencije proporcionalan s koncentracijom organofosforinog spoja unutar koncentracijskih granica u kojima su vršena eksperimentiranja. Ova činjenica iskorištena je pri određivanju koncentracije neraspadnutog organofosforinog spoja na taj način, da je kao mjerilo koncentracije aktivnog spoja u času mjerenja uzet maksimalni intenzitet fluorescencije, tj. maksimalni otklon galvanometra fotoelektrične mjerne aparature koja je shematski prikazana na slici 1.

Kod DFP, kod kojega je utvrđeno da ne postoji linearan odnos između maksimalnih intenziteta fluorescencije i koncentracije, nalazili smo koncentracije nehidroliziranog dijela aktivne tvari u različitim vremenskim razmacima iz baždarne krivulje.

Kvantitativni odnosi između maksimalnih intenziteta fluorescencije indolskog sistema i koncentracije organofosforinog spoja kao katalizatora te fluorescencije, iskorišteni su za određivanje brzina hidrolize sarina, tabuna i DFP u različitim fizikalno kemijskim uvjetima. Postupak je bio ovaj:



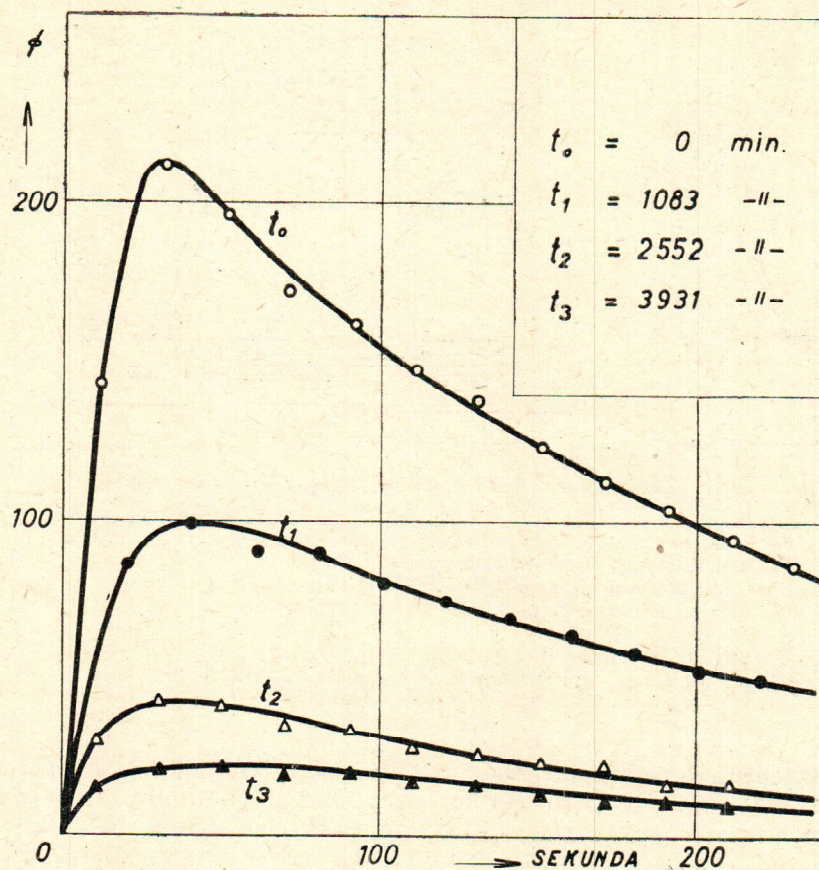
Sl. 1. Shema fotoelektrične aparature za mjerenje fluorescencije

- F₁ Balon visokotlačne živine svjetiljke (filter od nikaljoksidnog stakla)
 F₂ filtar za primarno svjetlo (5–10% otopina bakrenog sulfata)
 F₃ žuti filtar za apsorpciju primarnog svjetla
 Ž ultraljubičasta Hg svjetiljka UVIOL VTF
 Č čaša od 100 ml u kojoj se vrši indolska reakcija
 R reostat
 E selenov fotoelement
 G galvanometar, osjetljivost $6,9 \cdot 10^{-9}$ ampera po crtici skale
 KP klip-pipeta za dodavanje reakcione otopine

Pr. redene su reakcione otopine, u kojima su se odvijali hidrolitički procesi i koje su u svim pokusima imale isti volumen (100 ml) i istu početnu koncentraciju aktivne tvari ($5 \cdot 10^{-3}$ vol. %). Ove su otopine držane u termostatu na temperaturi pokusa (25° C, 35° C, odnosno 45° C). Kao mjerilo koncentracije organofosfornog spoja u neko određeno vrijeme uzet je maksimalni otklon galvanometra odnosno maksimalni intenzitet fluorescencije u času mjerenja, izražen u postocima (Φ_m) s obzirom na početnu vrijednost (u reakciono vrijeme $t = 0$) kad je maksimalni intenzitet fluorescencije $\Phi_m = 100\%$.

U različnim vremenskim razmacima vađeni su klip-pipetom iz termostata alikvotni volumeni reakcionih otopina i dodavani indolskoj otopini u cilju izazivanja fluorescentne reakcije. Indolske otopine imale su u svim pokusima isti konačni volumen (50 ml) i konstantan sastav s obzirom na koncentraciju indola (0,02%), natrijeva perborata (0,1%) i acetona (10%).

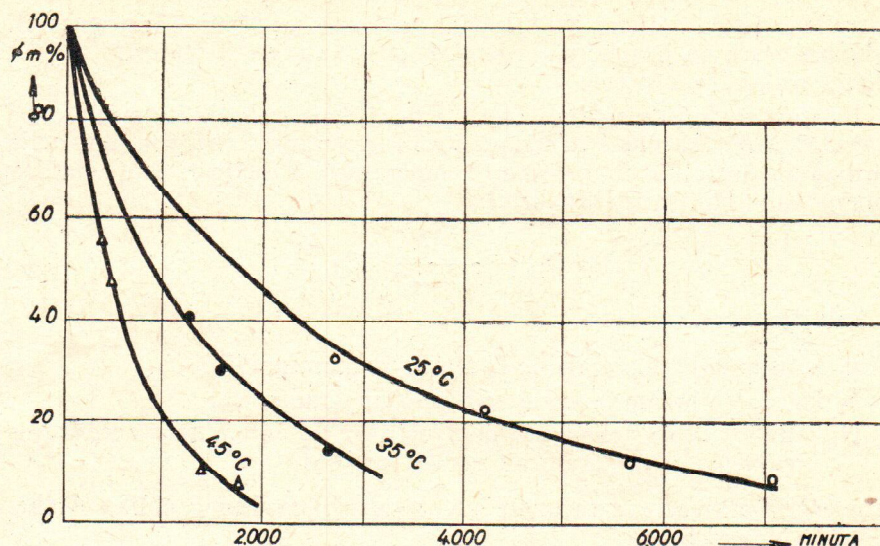
Tok fluorescentnih reakcija (porast, maksimum i opadanje intenziteta fluorescencije) izazvanih dodavanjem alikvotnog dijela reakcione otopine u otopinu indola praćen je očitavanjima otklona galvanometra u razmacima od 10 ili 20 sekundi.



Sl. 2. Tok fluorescentnih reakcija, u različnim vremenskim razmacima, kod hidrolize 0,005% vodene otopine sarina, u prisutnosti 18 vol. % pufera pH 3, pri temperaturi 35°C

Na slici 2 grafički je prikazan tok fluorescentnih reakcija u reakcionom vremenu t_0 , t_1 , t_2 i t_3 , u pokusu istraživanja hidrolize 0,005% vodene otopine sarina, u prisutnosti 18 vol. % fosfatnog pufera pH 3, pri temperaturi 35°C. Iz dijagrama se vidi da intenzitet fluorescencije na početku reakcije naglo raste, postizava maksimum, a zatim postepeno opada. Najviša tačka na svakoj krivulji (maksimalni intenzitet fluorescencije) predstavlja mjerilo koncentracije nehidroliziranog spoja u pripadno reakciono vrijeme.

Na slici 3 prikazan je, primjera radi, odnos maksimalnog intenziteta fluorescencije (Φ_m) i reakcionog vremena kod hidrolize 0,005% vodene otopine sarina, u prisutnosti 45 vol. % citratnog pufera pH 3, pri temperaturama 25°, 35° i 45°. Iz dijagrama se vidi kako maksimalni intenzitet



Sl. 3. Ovisnost maksimalnog intenziteta fluorescencije (Φ_m %) o reakcionom vremenu kod hidrolize 0.005% vodene otopine sarina u prisutnosti 45 vol. % pufera pH 3

fluorescencije postaje sve manji, zbog neprekidnog opadanja koncentracije organofosfornog spoja.

Vrijednosti maksimalnog intenziteta fluorescencije, izmjerene u vremenskim razmacima, korištene su za izračunavanje specifičnih brzina hidrolitičkih razgradnji. Utvrđeno je da su istraživani hidrolitički procesi reakcije prvog reda, jer eksperimentalne vrijednosti zadovoljavaju jednadžbu za određivanje konstante brzine reakcije:

$$0,4343.k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x} \quad (a)$$

u kojoj je

k konstanta reakcije

a početna koncentracija tvari

x koncentracija tvari koja je reagirala u vremenu t

$a - x$ koncentracija ishodne tvari nakon vremena t

Mi smo u svojim pokusima reakciono vrijeme (t) izražavali u minutama, a umjesto koncentracija uvrštavali u formulu maksimalne intenzitete fluorescencija (tj. maksimalne otklone galvanometra).

Kod nekih hidrolitičkih reakcija provjeravan je red reakcije pomoću tzv. vremena poluraspada $t^{1/2}$

$$t^{1/2} = \frac{\log 2}{k \cdot 0,4343} \quad (b)$$

Utvrđeno je da vrijeme poluraspada ne ovisi o početnoj koncentraciji ishodne tvari, pa je time potvrđeno da su istraživani hidrolitički procesi doista reakcije prvog reda.

Pomoću srednjih vrijednosti specifičnih brzina reakcija izmjerenih kod 25°, 35° i 45° izračunati su temperaturni kvocijenti i energija aktivacija pripadnih hidrolitičkih procesa. Temperaturni kvocijenti izračunati su prema van't Hoffovoj jednadžbi:

$$\log Q_{10} = \frac{10}{T_2 - T_1} \log \frac{k_2}{k_1} \quad (c)$$

u kojoj je

k_1 konstanta brzine reakcije kod niže temperature T_1 ,

k_2 konstanta brzine reakcije kod više temperature T_2 ,

Q_{10} van't Hoffov temperaturni kvocijent, tj. omjer konstanti brzina reakcija za temperaturnu razliku od 10° C,

a energija aktivacije izračunate su pomoću integriranog oblika Arrheniusove jednadžbe:

$$\Delta H = \frac{2,303 \cdot R \cdot T_2 \cdot T_1}{T_2 - T_1} \log \frac{k_2}{k_1} \quad (d)$$

u kojoj je

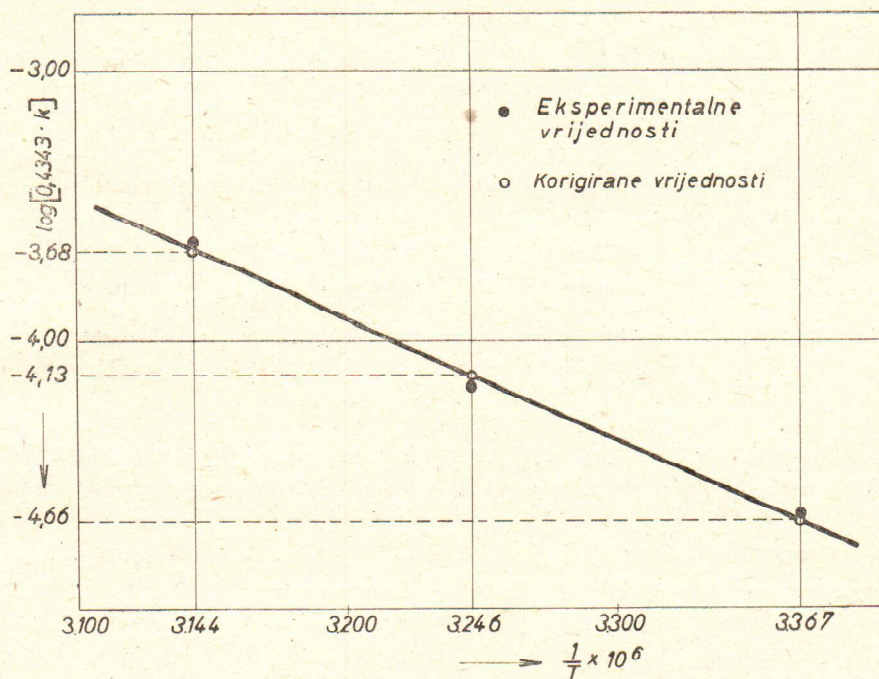
ΔH reakciona enthalpija (promjena toplinskog sadržaja u cal/mol)
 R plinska konstanta

Energije aktivacije izračunate su i grafički, iz nagiba pravca koji prikazuje odnos između logaritama konstanti brzina određenih kod tri različite temperature i recipročnih vrijednosti pripadnih apsolutnih temperatura

$$\frac{\Delta H}{4,573} = \operatorname{tg} \alpha = \frac{\log k_1 - \log k_2}{\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}} \quad (e)$$

Ovaj način izračunavanja energije aktivacije je ispravniji, jer se metodom najmanjih kvadrata može izvršiti korekcija položaja tačkaka odnosno nagiba pravca i tako izračunati korigirane vrijednosti konstanta brzina. To je osobito prikladno onda, kad eksperimentalno dobivene vrijednosti konstanta brzine, uvrštene u formule (c) i (d), ne daju iste numeričke vrijednosti za temperaturne kvocijente i energije aktivacije u pojedinim temperaturnim intervalima.

Na slici 4 prikazana je, za ilustraciju, korekcija položaja tačkaka pravca koji prikazuje odnos logaritama konstanta brzina i recipročnih vrijednosti apsolutnih temperatura u pokusu hidrolize 0,005% vodene otopine sarina pri temperaturama 25°, 35° i 45° C.



Sl. 4. Korekcija položaja tačaka, koji prikazuje odnos između logaritama konstanti brzina i recipročnih vrijednosti apsolutnih temperatura, kod hidrolize 0,005% vodene otopine sarina, pri temperaturama 25°, 35° i 45° C

Iz dijagrama se vidi da se korigirane vrijednosti konstanta brzina za pojedine temperature dobiju antilogaritmiranjem vrijednosti ordinata korigiranih tačaka.

EKSPERIMENTALNI PODACI

I Spontana hidroliza vodenih otopina sarina, tabuna i DFP

0,005 vol. % vodene otopine sarina, tabuna i DFP podvrgnute su spontanoj hidrolizi pri temperaturama 25°, 35° i 45° C. U tablici 1 prikazane su vrijednosti specifičnih brzina hidroliza dobivene uvrštavanjem eksperimentalnih podataka u jednadžbu za izračunavanje konstante brzine reakcije 1. reda (formula a).

Iz iznesenih podataka se vidi da je pri svim temperaturama najveća brzina spontane hidrolize tabuna, a najmanja sarina. Povišenje temperature djeluje u smislu povećanja specifičnih brzina hidrolitičkih reakcija.

Tablica 1.

Specifične brzine spontane hidrolize 0,005% vodenih otopina sarina, tabuna i DFP pri temperaturama 25°, 35° i 45° C

Temperatura	0,4343 · k		
	Sarin	Tabun	DFP
25°	2,22.10 ⁻⁵	3,63.10 ⁻⁴	4,19.10 ⁻⁵
35°	6,88.10 ⁻⁵	9,10.10 ⁻⁴	1,38.10 ⁻⁴
45°	2,16.10 ⁻⁴	2,67.10 ⁻³	4,03.10 ⁻⁴

Tablica 2.

Korigirani temperaturni kvocijenti (Q_{10}) i energije aktivacije (ΔH) spontane hidrolize 0,005% vodenih otopina sarina, tabuna i DFP, u temperaturnom intervalu od 25–45° C

Organofosforni spoj	Q_{10}	$\Delta H(\text{cal/mol})$
Sarin	2,951	19.660
Tabun	2,501	16.807
DFP	3,100	20.810

U tablici 2 prikazane su korigirane vrijednosti temperaturnih kvocijenata i energije aktivacije za spontanu hidrolizu 0,005% vodenih otopina sarina, tabuna i DFP, u temperaturnom intervalu od 25–45° C.

Iz tablice se vidi da su najveći temperaturni kvocijent (Q_{10}) i najveća energija aktivacije (ΔH) utvrđeni kod spontane hidrolize DFP. Interesantno je da je energija aktivacije za hidrolizu DFP veća nego za hidrolizu sarina, premda je i specifična brzina hidrolize DFP veća. Budući da se u opisanim pokusima radi o reakcijama koje su vršene uz jednake eksperimentalne uvjete, vjerojatno je da su i brojevi sudara molekula bili približno isti. To ukazuje na mogućnost, da pored energije aktivacije, upravo sterički faktor utječe na specifičnu brzinu spontane hidrolize DFP.

II Hidroliza 0,005% vodenih otopina sarina, tabuna i DFP u prisutnosti rastućih koncentracija metanola, etanola i izopropanola

Vodne otopine sarina, tabuna i DFP navedenih koncentracija podvrgnute su hidrolizi u prisutnosti 18 vol. %, 45 vol. % i 63 vol. % metanola, etanola i izopropanola u reakcionim otopinama. Dobivene vrijedno-

Tablica 3.

Specifična brzina hidrolize 0,005% vodenih otopina sarina, tabuna i DFP u prisutnosti 18, 45 i 63 vol. % čistog metanola, etanola i izopropanola pri temperaturi 35° C

Alkohol		0,4343 · k		
Vrst	konc.	Sarin	Tabun	DFP
Metanol	18%	6,470.10 ⁻⁵	5,240.10 ⁻⁴	4,166.10 ⁻⁵
	45%	2,360.10 ⁻⁵	2,560.10 ⁻⁴	0,936.10 ⁻⁵
	63%	2,760.10 ⁻⁵	1,510.10 ⁻⁴	—
Etanol	18%	6,500.10 ⁻⁵	4,840.10 ⁻⁴	2,665.10 ⁻⁵
	45%	1,760.10 ⁻⁵	1,540.10 ⁻⁴	—
	63%	9,780.10 ⁻⁶	7,370.10 ⁻⁵	—
Izopropanol . . .	18%	4,830.10 ⁻⁵	3,830.10 ⁻⁴	2,338.10 ⁻⁶
	45%	1,330.10 ⁻⁵	9,680.10 ⁻⁵	—
	63%	6,680.10 ⁻⁶	4,280.10 ⁻⁵	—

sti specifičnih brzina hidroliza prikazane su u tablici 3. Iz navedenih podataka izlazi da alkoholi imaju negativno efektorsko djelovanje na hidrolizu istraživanih organofosfornih spojeva. Specifične brzine hidrolitičkih razgradnji smanjuju se s povećavanjem koncentracije jednog te istog alkohola i porastom molekularne težine alkohola. Iste koncentracije bilo kojeg od upotrijebljenih alkohola najjače inhibiraju hidrolizu DFP, a najmanje hidrolizu tabuna. Prema tome, tabun je najotporniji prema inhibitorskom djelovanju upotrijebljenih alkohola, za njim dolazi sarin i na koncu DFP.

III Hidroliza 0,005% vodene otopine sarina u prisutnosti rastućih koncentracija pufera

Istraživana je kinetika hidrolitičke razgradnje 0,005% vodene otopine sarina, pri temperaturama 25°, 35° i 45° C, u prisutnosti 18 vol. %, 45 vol. % i 63 vol. % citratnog pufera pH 3 i fosfatnog pufera pH 5 (puferi po Sørensen i Clarku). Budući da su mjerenja vršena pri različitim temperaturama, izračunate su također i energije aktivacije i temperaturni kvocijenti pojedinih hidrolitičkih procesa, za temperaturni interval 25–45° C. Rezultati mjerenja prikazani su u tablici 4.

Kao što se iz navedenih podataka vidi, sniženje pH reakcione otopine djeluje promotorski na brzinu hidrolize sarina koja je to veća što je niži pH reakcione otopine i što je veća koncentracija upotrijebljenog pufera. Spomenuti uvjeti djeluju u smislu snižavanja temperaturnih kvocijenata i energiju aktivacije u istraživanom temperaturnom inter-

Tablica 4.

Specifične brzine hidrolize 0,005% vodenih otopina sarina u prisutnosti rastućih koncentracija pufera pH 3 i pH 5 u reakcionoj otopini, pri temperaturi 25°, 35° i 45° C. Pregled pripadnih (korigiranih) energija aktivacija i temperaturnih kvocijenata za temperaturni interval 25–45° C

Vrst	Pufer		°C	0,4343.k	ΔH cal/mol	Q ₁₀
	Količina (vol. %)					
pH 3	18%		25	1,375.10 ⁻⁴	12,548	1,978
			35	2,816.10 ⁻⁴		
			45	5,380.10 ⁻⁴		
	45%		25	1,610.10 ⁻⁴	13,543	2,086
			35	3,180.10 ⁻⁴		
			45	6,960.10 ⁻⁴		
	63%		25	1,963.10 ⁻⁴	12,465	1,969
			35	3,686.10 ⁻⁴		
			45	7,526.10 ⁻⁴		
pH 5	18%		25	4,710.10 ⁻⁵	13,314	2,062
			35	8,820.10 ⁻⁵		
			45	20,100.10 ⁻⁵		
	45%		25	8,047.10 ⁻⁵	16,331	2,430
			35	1,632.10 ⁻⁴		
			45	4,600.10 ⁻⁴		
	63%		25	1,140.10 ⁻⁴	13,895	2,129
			35	2,266.10 ⁻⁴		
			45	6,597.10 ⁻⁴		

valu, a to je u skladu s povećanjem specifičnih brzina hidrolize sarina u tim uvjetima. Neočekivane vrijednosti energija aktivacija i temperaturnih kvocijenata utvrđene su kod hidrolize u prisutnosti 45 vol. % pufera pH 3 i pH 5. Te su vrijednosti veće od vrijednosti koje su utvrđene u pokusima sa 18 vol. % i 63 vol. % spomenutog pufera.

IU Hidroliza 0,005% vodene otopine sarina u prisutnosti anilina, fenola, KJ, KBr i KCl

Istraženo je efektorsko djelovanje različitih koncentracija anilina, fenola, KJ, KBr i KCl na brzinu hidrolitičke razgradnje 0,005% vodene otopine sarina. Rezultati ovih eksperimenata prikazani su u tablici 5.

Tablica 5.

Efektorsko djelovanje anilina, fenola, KJ, KBr i KCl na brzinu hidrolize 0,005% vodene otopine sarina pri temperaturi 35° C

Vrst	Efektor	
	Koncentracija u reakcionoj otopini	0,4343.k
Anilin	5.10 ⁻³ mola	4,290.10 ⁻⁵
	10.10 ⁻³	5,180.10 ⁻⁵
	20.10 ⁻³	8,050.10 ⁻⁵
	30.10 ⁻³	1,160.10 ⁻⁴
Fenol	3.10 ⁻² mola	7,913.10 ⁻⁵
	6.10 ⁻²	7,280.10 ⁻⁵
	15.10 ⁻²	7,642.10 ⁻⁵
Kalijev jodid	1.10 ⁻⁶ mola	7,240.10 ⁻⁵
	1.10 ⁻⁴	8,926.10 ⁻⁵
Kalijev bromid	1.10 ⁻³ mola	8,912.10 ⁻⁵
	1.10 ⁻¹	10,098.10 ⁻⁵
Kalijev klorid	1.10 ⁻³ mola	7,440.10 ⁻⁵
	1.10 ⁻¹	7,770.10 ⁻⁵

Iz podataka u spomenutoj tablici vidi se da anilin, KJ i KBr djeluju kao pozitivni efektori na hidrolizu vodene otopine sarina. Njihovo promotorsko djelovanje raste s porastom koncentracije, u istraživanom koncentracijskom području. Djelovanje otopine KJ promatrano je u koncentracijskom području od 1,10⁻⁶ do 1,10⁻⁴ mola u reakcionoj otopini, jer u većim koncentracijama kalijev jodid djeluje kao jako gasilo fluorescencije. Fenol i KCl, u navedenim koncentracijskim granicama, ne utječu znatnije na promjenu specifične brzine hidrolitičke razgradnje sarina.

ZAKLJUČAK

Na temelju iznesenih eksperimentalnih podataka mogu se izvesti ovi zaključci:

Pri svim temperaturama istraživanja najveća je brzina spontane hidrolize vodene otopine tabuna, manja diizopropilfluorofosfata (DFP), a najmanja sarina. Iz ovoga izlazi da je sarin najstabilniji, a tabun najlabilniji od navedena tri spoja.

Specifične brzine spontanih hidroliza vodenih otopina sarina, tabuna i DFP rastu s povišenjem temperature.

Brzine hidrolitičkih razgradnji navedenih organofosfornih spojeva smanjuju se dodatkom alkohola. Inhibitorski efekt je to jači što je veća koncentracija alkohola i njegova molekularna težina. To je utvrđeno u eksperimentima s metanolom, etanolom i izopropanolom. Iste koncentracije jednog te istog alkohola najjače inhibiraju hidrolizu DFP, manje hidrolizu sarina, a najmanje hidrolizu tabuna. Iz toga slijedi da je tabun najotporniji, a DFP najosjetljiviji prema inhibitorskom djelovanju upotrijebljenih alkohola.

Citratni pufer pH 3 i fosfatni pufer pH 5 djeluju promotorski na hidrolizu vodene otopine sarina. Brzina hidrolize sarina raste sniženjem pH reakcione otopine i povećanjem koncentracije (ionske jakosti) upotrijebljenog pufera.

Anilin, kalijev jodid i kalijev bromid, u koncentracijskim granicama u kojima su vršena istraživanja, također djeluju u smislu povećanja specifične brzine hidrolitičke razgradnje sarina. Kalijev jodid djeluje kao jako gasilo fluorescencije, pa su eksperimentiranja vršena u koncentracijskim granicama od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ mola u reakcionoj otopini.

Fenol i kalijev klorid u promatranim koncentracijskim granicama nemaju znatnijeg utjecaja na promjenu specifične brzine hidrolitičke razgradnje sarina kod 35°C .

Najveće vrijednosti temperaturnih kvocijenata (Q_{10}) i energija aktivacija (ΔH) izraženih u kalorijama/mol utvrđene su kod spontane hidrolize DFP, a najmanje kod spontane hidrolize tabuna. Iako je specifična brzina spontane hidrolize DFP, uz iste eksperimentalne uvjete, veća od brzine spontane hidrolize sarina, značajno je da je i energija aktivacije veća. To pokazuje da pored energije aktivacije upravo sterički faktor utječe na specifičnu brzinu spontane hidrolize DFP.

Sniženje pH reakcione otopine dodatkom pufera pH 5 i pH 3 kao i povećanje koncentracije jednog te istog pufera djeluje u smislu snižavanja vrijednosti temperaturnih kvocijenata i energija aktivacija hidrolitičke razgradnje sarina, u temperaturnom intervalu u kojem su vršena istraživanja, a to je u skladu s pripadnim povišenjem specifičnih brzina hidroliza ovog spoja uz spomenute uvjete.

Svi ovi istraživani hidrolitički procesi su u kinetičkom pogledu reakcije prvog reda, jer

- a) eksperimentalni podaci zadovoljavaju jednadžbu za izračunavanje konstanti brzina prvog reda,
- b) vrijeme poluraspada $t_{1/2}$ nije ovisno o početnoj koncentraciji organofosfornog spoja, i
- c) postoji linearna ovisnost između reakcionog vremena i logaritma koncentracije aktivne tvari (neraspadnutog dijela organofosfornog spoja) u času mjerenja.

Literatura

1. *Adie, P. D., Hoskin, F. C. G., Trick, G. S.*: Can. J. Biochem. and Physiol., **34** (1956) 80.
2. *Augustinson, K. B., Heimbürger, G.*: Acta Chem. Scand., **8** (1954) 753.
3. *Augustinson, K. B., Heimbürger, G.*: Acta Chem. Scand., **8** (1954) 762.
4. *Augustinson, K. B., Heimbürger, G.*: Acta Chem. Scand., **8** (1954) 915.
5. *Augustinson, K. B., Heimbürger, G.*: Acta Chem. Scand., **8** (1954) 1533.
6. *Pochet, A.*: Ann. Soc. Roy. Sci. Med. et Nat. Bruxelles, **8** (1955) 206.
7. *Hoskin, F. C. G., Trick, G. S.*: Can. J. Biochem. and Physiol., **33** (1955) 963.
8. *Mounter, L. A., Dien, L. T. H.*: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **87** (1954) 40.
9. *Mounter, L. A., Baxter, R. F., Chanutin, A.*: J. Biol. Chem., **215** (1955) 699.
10. *Mounter, L. A.*: J. Biol. Chem., **215** (1955) 705.
11. *Epstein, J.*: Publ. Health Rep., **71** (1956) 955.
12. *Epstein, J., Bauer, V. E., Saxe, M., Demek, M. M.*: J. Am. Chem. Soc., **78** (1956) 4068.
13. *Epstein, J., Rosenblatt, D. H.*: J. Am. Chem. Soc., **80** (1958) 3596.
14. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **11** (1957) 1131.
15. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **12** (1958) I, 723.
16. *Larsson, L., Bergner, P. E.*: Arkiv Kemi, **13** (1958) 143.
17. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **12** (1958) 1226.
18. *Holmstedt, B., Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **5** (1951) 1179.
19. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **6** (1952) 1470.
20. *Larsson, L.*: Congr. Intern. Biochim., Resumes communs., 2^e Congr., Paris (1952) 438.
21. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **7** (1953) 306.
22. *Larsson, L.*: Acta Chem. Scand., **12** (1958) 783.
23. *Waters, W. A., De Worms, C. G. M.*: J. Chem. Soc., **2** (1949) 926.
24. *Kilpatrick, M., Kilpatrick, M. L.*: J. Phys. & Colloid. Chem., **53** (1949) 1371.
25. *Kilpatrick, M. L., Kilpatrick, M.*: J. Phys. & Colloid. Chem., **53** (1949) 1385.
26. *Wagner-Jauregg, T., Hackley, B. E.*: J. Am. Chem. Soc., **75** (1955) 2125.
27. *Wagner-Jauregg, T., Hackley, B. E., Lies, T. A., Owens, O., Proper, R.*: J. Am. Chem. Soc., **77** (1955) 922.
28. *Hackley, B. E., Plapinger, R., Stolberg, K., Wagner-Jauregg, T.*: J. Am. Chem. Soc., **79** (1957) 3030.
29. *Halmann, H.*: J. Chem. Soc., (1959) 305.
30. Reports: Analyt. Chem., **29** (1957) 21 A.
31. *Gehauf, B., Goldenson, J.*: Analyt. Chem., **29** (1957) 276.
32. *Cherry, R. H., Foley, G. M., Badget, C. O., Eanes, R. D., Smith, H. R.*: Analyt. Chem., **30** (1958) 1239.
33. *Goldenson, J.*: Analyt. Chem., **29** (1957) 877.
34. *Weber, K., Valić, F.*: Arhiv hig. rada, **8** (1957) 39.

Summary

ON THE KINETICS OF THE HYDROLYSIS OF
ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS

Chemical kinetics of the hydrolytic breakdown of sarin, tabun and DFP in water solutions under various experimental conditions was studied. The concentration of the compounds in solutions during hydrolysis was estimated by the photoelectric measurement of the fluorescence intensity which occurs as the result of the effectoric action of the active substance on the indol oxydation reaction. The experimental data led to the following conclusions:

At all temperatures studied (25°, 35° and 45° C) the highest was the rate of the spontaneous hydrolysis of tabun, the lower that of DFP, and the lowest that of sarin. It follows that sarin is the most stable and tabun the most labile compound among them.

The specific rates of the spontaneous hydrolysis of sarin, tabun and DFP increase with the temperature and decrease in the presence of alcohols. The inhibitory effect of alcohols increases with the concentration and molecular weight which was established in the experiments with methanol, ethanol and isopropanol. The same concentrations of the same alcohol have the strongest effect on the hydrolysis of DFP, less effect on the hydrolysis of sarin and the least on that of tabun.

Citrate buffer pH 3 and phosphate buffer pH 5 exert a promotory effect on the hydrolysis of sarin: the rate of reaction increases with the acidity of the solution and with the ionic strength of the buffer used. The effect of these buffers on tabun and DFP was not studied.

Aniline, potassium iodide and bromide in concentrations studied also increase the specific rate of sarin hydrolysis. Potassium iodide acts as a strong quenching agent on the fluorescence reaction so that the experiments had to be carried out with the concentrations ranging between 1.10^{-6} and 1.10^{-4} moles of KJ in the reaction solution.

Neither phenol nor potassium chloride have a significant influence on the change of the specific rate of the hydrolysis of sarin at 35° C.

The highest temperature quotients (Q_{10}) and energies of activation (ΔH), expressed in cal/mol were found in the hydrolysis of DFP and the least in the hydrolysis of tabun. In spite of the fact that the specific rate of the hydrolysis of DFP was found to be higher than that of sarin under the same experimental conditions, the energy of activation of the former was found higher too. It can be consequently derived that the steric factor affects the specific rate of the spontaneous hydrolysis of DFP.

The lowering of pH as well as the increase of the ionic strength of the buffer decrease the temperature quotient and the energy of activation of the hydrolysis of sarin at 25°, 35° and 45° C respectively. This is in accordance with the corresponding increase of the specific rate of the hydrolysis of this compound under above mentioned experimental conditions.

All processes studied are first order reactions because 1) experimental data satisfy the equation for the determination of the specific rate of the first order reaction, 2) the time of half decay ($t_{1/2}$) is independent of the concentration of the compound at the beginning of the reaction, and 3) there exists a linearity between the time which elapses from the beginning of the reaction and the logarithm of the concentration of the active substance (intact part of the organophosphorus compound) at the time of measurement.

*Veterinary Institute
and
Institute for Medical Research
incorporating the Institute
of Industrial Hygiene,
Zagreb*

*Received for publication
September 23, 1965.*