

Relaties tussen omzettingssnelheid en chemische structuur, hulpmiddel bij bepaling van milieu-risico's van verontreinigde waterbodems

Inleiding

Een groot aantal organische verbindingen kan onder milieuomstandigheden worden omgezet (getransformeerd) dan wel afgebroken (gemineraliseerd) door een aantal uiteenlopende processen. Ruwweg kan een drietal categorieën worden onderscheiden:

1. Biodegradatie; omzetting door levende organismen.



Dr. ir. W. J. G. M. PEIJNENBURG
Rijksinstituut voor de Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM), Laboratorium voor Ecotoxicologie

2. Fotochemische omzettingen; omzettingsreacties geïnitieerd door bestraling met licht. In het algemeen zijn hierbij twee typen te onderscheiden; directe en indirecte (reactie met fotochemisch geëxciteerde moleculen) transformaties.

3. Chemische omzettingsprocessen: afbraakprocessen die niet direct door levende organismen teweeg worden gebracht.

Wel moet hierbij worden opgemerkt dat het vaak moeilijk is om een strikte scheiding aan te brengen tussen biologische en chemische omzettingen.

Het belang van elk van de drie omzettingroutes varieert sterk en is vooral afhankelijk van milieufactoren en stofeigenschappen. Zo zijn bijvoorbeeld fotochemische omzettingen belangrijk voor verbindingen in de gasfase, terwijl de bijdrage van deze processen aan de verwijdering van stoffen uit de bodem in het algemeen gering is.

Chemische processen kunnen op hun beurt opnieuw in ruwweg 3 categorieën worden verdeeld:

1. Oxydatieve reacties: een elektron-deficiënte verbinding (oxydant) ontvangt elektronen van een te oxyderen verbinding.
2. Reductieve omzettingen: een reactie waarbij elektronen worden overgedragen van een elektronendonor (reductant) naar een te reduceren verbinding.
3. Chemische hydrolysereacties.

Vanwege de diversiteit van de hierboven genoemde processen is het niet eenvoudig om algemene uitspraken te doen over de mate van persistentie van een bepaalde verbinding. Gezien de vele factoren die een invloed hebben op omzettingssnelheden, is het zelfs maar beperkt mogelijk om onder laboratoriumcondities gemeten

Samenvatting

Bij het beoordelen van de risico's van stoffen voor waterbodems ontbreekt het vaak aan kennis over omzettingroutes van organische verbindingen in vooral anaërobe waterbodems. In deze bijdrage wordt een overzicht gegeven van ontwikkelde methodes voor het berekenen van omzettingssnelheden en gevormde omzettingsprodukten in anaërobe waterbodems. Allereerst wordt een beperkt overzicht gegeven van de huidige stand van zaken in de ontwikkeling en het gebruik van Quantitatieve Structuur Activiteits Relaties (QSARs). Vervolgens wordt een aantal omzettingen behandeld die een belangrijke rol kunnen spelen bij de verwijdering van verschillende klassen van hydrofobe verbindingen uit waterbodems. Getoond wordt hoe voor deze processen QSARs zijn ontwikkeld die gebruikt kunnen worden voor zowel het berekenen van omzettingssnelheden als voor het voorspellen van de aard van de gevormde omzettingsprodukten. Tenslotte wordt een aantal toepassingen van de ontwikkelde relaties behandeld. Deze toepassingen liggen vooral op het gebied van het in een vroeg stadium onderkennen van potentieel in waterbodems persistente verbindingen en het stellen van prioriteiten voor sanering van verontreinigde bodems c.q. waterbodems.

snelheden door te vertalen naar reële veldwaardes.

Om toch uitspraken te kunnen doen over het lot van organische stoffen in de verschillende milieucompartmenten is het nodig om een aantal goed gevalideerde en eenvoudig te gebruiken procesmodellen beschikbaar te hebben voor het berekenen van processnelheden en het voorspellen van de te verwachten omzettingsprodukten. Daarvoor wordt momenteel een snel toenemend aantal Quantitatieve Structuur Activiteits Relaties (QSARs) ontwikkeld, die door wetenschappers, beleidsmakers en de industrie gebruikt kunnen worden voor het voorspellen van zowel de effecten als het gedrag van stoffen in het milieu. Om het belang van QSARs te onderstrepen is door Borman [1] berekend dat van slechts 1% van de op dit moment geproduceerde verbindingen, de benodigde parameters voor het schatten van milieuchemische transport- en omzettingssnelheden gemeten zijn. Voor zogenaamde 'nieuwe' stoffen ontbreken deze parameters nagenoeg volledig, waardoor men voor het beoordelen van het lot van deze stoffen in nog grotere mate aangewezen is op het gebruik van QSARs. Andere toepassingen van QSARs liggen op het gebied van het opvullen van ontbrekende gegevens zoals bij de prioriteitsstelling voor nader onderzoek naar potentieel gevaarlijke stoffen en op het gebied van het opstellen van snelle risicoschattingen in geval van calamiteiten. Tevens kunnen QSARs een belangrijke rol vervullen bij de studie naar reactiemechanismen [2]. Hierbij wordt uitgegaan van het principe dat als het mogelijk is om voor een bepaalde groep van stoffen een QSAR op te stellen, al deze stoffen via hetzelfde mechanisme actief zijn. Omgekeerd kan door het opstellen van

een QSAR het inzicht in de onderliggende mechanismen aanzienlijk worden vergroot (zogenaamde black-box benadering).

De basis van QSARs is de samenhang die bestaat tussen enerzijds stof-specifieke eigenschappen en milieu-omstandigheden en anderzijds de moleculaire structuur van een verbinding. QSARs bestaan dan ook uit een drietal basiselementen [2]: een karakteristieke biologische of fysisch-chemische eigenschap, een of meerdere chemische parameters die deze karakteristieke eigenschap beïnvloeden en een mathematische relatie tussen beiden. In de meest eenvoudige vorm ziet een QSAR er als volgt uit:

$$[KE] = k \cdot [P_1]^a \cdot [P_2]^b \cdot [P_3]^c \quad (1)$$

Ofwel, na Log-transformatie:

$$\text{Log } [KE] = a \cdot \text{Log } [P_1] + b \cdot \text{Log } [P_2] + c \cdot \text{Log } [P_3] + \text{Log } [k] \quad (2)$$

In dit voorbeeld is KE de karakteristieke eigenschap; P_1 , P_2 en P_3 zijn de parameters die een invloed uitoefenen op KE, terwijl k , a , b en c constanten zijn. In het algemeen is de werkwijze bij het opstellen van een QSAR als volgt: nadat men het vermoeden heeft gekregen dat er een relatie bestaat tussen een bepaalde stofeigenschap en de structuur van een bepaalde groep van verbindingen, wordt een aantal stoffen uit deze groep geselecteerd. Vervolgens wordt van deze trainingsset de te beschrijven stofeigenschap gemeten (of deze data worden uit de literatuur gehaald). Tevens worden van deze stoffen de parameterwaarden berekend of gemeten. Hierna wordt in het algemeen een lineaire regressie uitgevoerd om de best-passende waarden van de constanten te berekenen. Tenslotte, en dit wordt vaak buiten beschouwing gelaten,

moet het zo ontwikkelde QSAR-model zowel intern (leave one out-methode) als extern (vergelijken van gemeten en berekende waarden voor niet in de trainingsset opgenomen verbindingen) worden gevalideerd [3].

Uiteraard kennen de hierboven beschreven procedures een aantal beperkingen. De meeste hiervan worden veroorzaakt door het feit dat de methodologie voor het ontwikkelen van QSARs nog niet volledig ontwikkeld is, terwijl in sommige gevallen de beschikbare methoden niet juist worden toegepast. Een veel gemaakte fout is het opnemen van meer chemische parameters dan verantwoord is, waardoor relaties worden verkregen waarmee het mogelijk is om voor niet in de dataset opgenomen verbindingen voorspellingen te doen met een nauwkeurigheid die groter is dan de meetnauwkeurigheid. Andere fouten zijn het weglaten van zogenaamde uitbijters en het niet vergelijkbaar zijn van de uitgangsgesgevens. Verder is het vaak moeilijk om verbindingen met meerdere functionele groepen eenduidig in een bepaalde categorie van stoffen in te delen. Gezien de pragmatische keuze die in het algemeen gedaan is voor een stofgerichte QSAR-ontwikkeling in plaats van een systeem of procesgerichte aanpak, wordt het dan moeilijk om te beoordelen welke structuur-activiteitsrelaties voor een dergelijke stof toepasbaar zijn. Zoals weergegeven door Hoornstra [2] worden in het algemeen met de hierboven beschreven methoden grootte-orde-indicaties verkregen.

Aangezien gebleken is dat het bij het beoordelen van de risico's verbonden aan de aanwezigheid van organische stoffen in waterbodems vaak ontbreekt aan kennis over het lot van deze verbindingen, wordt in deze bijdrage een overzicht gegeven van uitgevoerd experimenteel onderzoek, gericht op de ontwikkeling van QSARs voor het berekenen van omzettingssnelheden in anaërobe waterbodems en het voorspellen van de hierbij gevormde producten. De resultaten van dit onderzoek worden beschreven en een aantal toepassingen wordt nader toegelicht. Deze toepassingen liggen vooral in het stellen van prioriteiten voor sanering van verontreinigde waterbodems, het stellen van prioriteiten voor nader onderzoek en het in een vroeg stadium onderkennen van potentieel in waterbodems persistente verbindingen. Toepassingen voor relatief gemakkelijk afbreekbare verbindingen liggen in het onderkennen van de mogelijkheid van vorming van meer-toxische omzettingssproducten.

2. Materialen en methoden

2.1. Materialen

De gebruikte materialen en methoden zijn gedetailleerd beschreven in [4]. De toegepaste methodieken bestonden uit het in het laboratorium incuberen van geselecteerde organische verbindingen in anaërobe sediment-water-mengsels van wisselende oorsprong en daardoor ook wisselende sediment-karakteristieken; per sediment-water-mengsel werd gelijktijdig een aantal afzonderlijke batches ingezet. Op vooraf bepaalde tijdstippen werd in een van de batches de reactie gestopt (door toevoegen van een overmaat acetonitril), waarna de nog aanwezige hoeveelheid uitgangsstof door middel van extractie van het sediment werd verwijderd. Met behulp van gangbare chemische analysetechnieken werden tenslotte de restconcentratie van de uitgangsstof en de aard en hoeveelheid van eventueel gevormde omzettingssproducten bepaald. Restconcentraties werden steeds gerelateerd aan de beginconcentratie op het tijdstip $t = 0$; uitgegaan werd van een beginconcentratie van ongeveer 10^{-6} M.

2.2. Methodes

Zoals zojuist weergegeven werd in de uitgevoerde experimenten van elke onderzochte verbinding de restconcentratie (C_t) bepaald als functie van de tijd en relatief ten opzichte van de beginconcentratie (C_0). Aangezien uit analyses van plots van (C_0/C_t) versus de reactietijd voor de meeste onderzochte verbindingen minimaal tijdens het begin van de experimenten, een pseudo-eerste orde reactieverloop kon worden afgeleid, werd $\ln (C_0 / C_t)$ uitgezet als functie van de reactietijd. De pseudo-eerste orde reactiesnelheidsconstante k , is gelijk aan de helling van deze lijn:

$$k = 1 / t \cdot \ln (C_0 / C_t) \quad (3)$$

Lineaire regressie werd uitgevoerd voor het berekenen van de waarde van k , en van het 90% betrouwbaarheidsinterval [5]. Met behulp van vergelijking 4 werd tenslotte de karakteristieke halfwaardetijd voor anaërobe omzetting berekend:

$$t_{1/2} = \ln (2) / k \quad (4)$$

3. Resultaten en discussie

3.1. Experimenteel

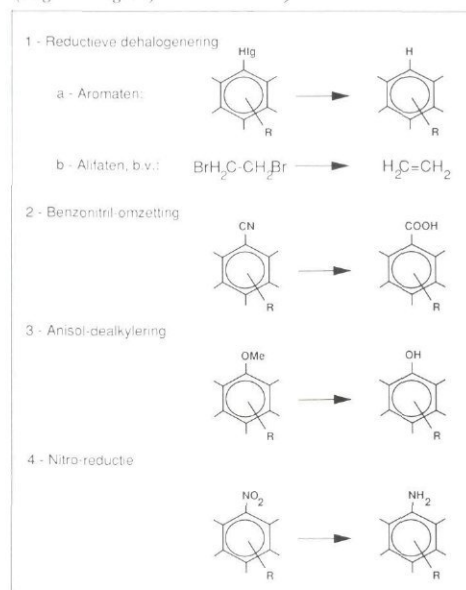
De onderzochte anaërobe omzettingen, c.q. de onderzochte stofgroepen, zijn schematisch weergegeven in afbeelding 1. De selectiecriteria op grond waarvan tot de in afb. 1 weergegeven keuze is gekomen, waren de volgende;

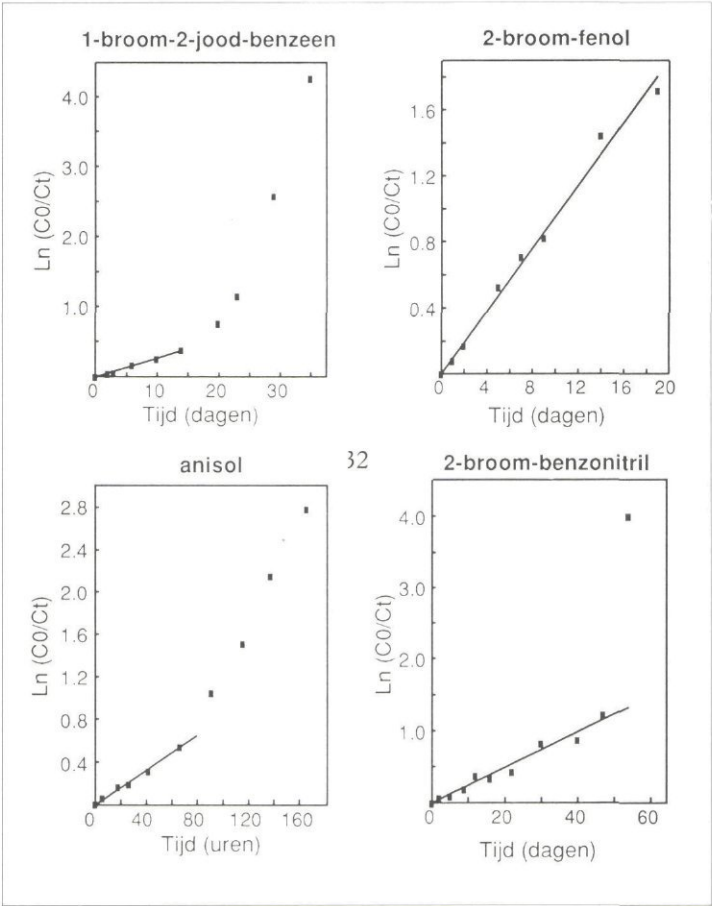
1. De reductieve dehalogenering van alifatische en aromatische halogeenverbindingen werd onderzocht omdat enerzijds bekend is dat gehalogeneerde koolwaterstoffen algemeen voorkomen in de meeste milieucompartmenten en zelfs accumuleren in sedimenten, terwijl anderzijds gebleken is dat tot op heden nog relatief weinig kennis beschikbaar is over het lot van deze verbindingen. Van met name de meervoudig gesubstitueerde halogeenverbindingen wordt aangenomen dat anaërobe dehalogenering nagenoeg de enige omzettingroute is die onder milieumomstandigheden een significante bijdrage levert aan de verwijdering van deze verbindingen. In het algemeen leidt dehalogenering tot de vorming van minder hydrofobe omzettingssproducten die in het algemeen minder toxisch zijn, minder geneigd tot bioaccumulatie en beter beschikbaar voor verdere afbraak. Zo is de reductieve dehalogenering van met name de meervoudig gehalogeneerde verbindingen vaak de snelheidsbepalende stap voor de uiteindelijke verwijdering van deze verbindingen uit het milieu.

2. De anaërobe omzetting van gesubstitueerde benzonitrillen werd onderzocht omdat eerdere resultaten lieten zien dat dit type verbindingen, afhankelijk van de aard en de plaats van eventueel aanwezige substituenten, kan persisteren in waterbodems. Bovendien zijn ook deze verbindingen toxisch voor waterorganismen terwijl een groot aantal bestrijdingsmiddelen nitril-groepen bevat [6]. Ook voor deze verbindingen geldt dat anaërobe omzetting de totale afbraak initieert.

3. Aromatische verbindingen met

Afb. 1 - Onderzochte anaërobe omzettingssprocessen (Hlg = halogeen, R = substituent).





Afb. 2 - Een aantal karakteristieke pseudo-eerste orde afbraakcurves. Let op: de schaalverdeling voor zowel de x-als de y-as verschilt.

O-methyl substituenten zijn de belangrijkste componenten van lignine en worden metabolisch gevormd uit tyrosine en phenylalanine. Recent is door Palm *et al.* [7] aangetoond dat onder aërobe omstandigheden deze produkten worden gevormd door alkylering van de overeenkomstige fenolen. Dealkylering leidt tot de vorming van acetaat, een belangrijk intermediair in anaërobe milieus [8].

4. Nitro-reductie werd onderzocht vanwege de potentiële milieusico's van nitroverbindingen. Zo bevat een aantal veelgebruikte pesticides, één of meerdere nitrogroepen. Eerder uitgevoerde studies suggereren dat nitro-reductie een strikt abiotische omzetting is [9-11].

In afbeelding 2 is een aantal typische afbraakcurves weergegeven, zoals gemeten in een sediment-water-systeem afkomstig uit de Loosdrechtse Plassen [4]. Uitgezet is steeds $\ln(C_0/C_t)$ als functie van de incubatietijd. Voor alle onderzochte verbindingen kan het reactieverloop minimaal tijdens het begin van het afbraakproces benaderd worden als een pseudo-eerste orde afbraakproces. Na een periode van wisselende lengte vindt vervolgens een

duidelijke versnelling van de afbraak plaats. Tot op heden is nog geen sluitend bewijs verkregen volgens welk proces de in afb. 2 weergegeven curves verkregen worden. Mogelijke verklaringen, waarmee het totale reactieverloop goed kan worden beschreven, zijn enerzijds een initieel abiotisch omzettingproces, na een lag-periode van wisselende lengte gevolgd door een strikt biotische transformatie en anderzijds een meer complex proces waarbij naast afbraak ook sorptie aan het sediment een belangrijke rol speelt. Bij dit laatste model worden een twee sorptie-plaatsen onderscheiden; sorptie aan actieve en aan niet-actieve plaatsen. Naast

intrinsieke afbraaksnelheden (stof-afhankelijk) spelen in dit model de snelheden van sorptie en desorptie en de octanol-water partitie-coëfficiënt een grote rol [12]. In het laatste model is het omzettingproces zelf hoogstwaarschijnlijk een enzymatisch proces.

In tabel I is voor een aantal aromatische verbindingen de ¹⁰Log van de gemeten initiële omzettingssnelheid, weergegeven. De waarde van de regressiecoëfficiënt varieerde van 0,90-0,99, de standaarddeviatie van de Log k-waarden is in alle gevallen kleiner dan 0,1. Zoals blijkt uit tabel I verlopen nitro-reductie en anisol-dealkylering in het algemeen vrij snel, de snelheden van reductieve dehalogenering en benzonitril-transformatie zijn in het algemeen enkele ordes van grootte lager. Ondanks het feit dat in tabel I maar van een klein aantal verbindingen de anaërobe omzettingssnelheid is weergegeven, is duidelijk dat de structuur van de verbinding een grote invloed op de reactiviteit heeft. Voor elk van de onderzochte omzettingen was het verschil tussen de maximale en minimale omzettingssnelheid enkele ordes van grootte. Zo blijken vooral de ortho-gesubstitueerde benzonitril-derivaten beduidend langzamer te reageren dan de overeenkomstige meta- en para-gesubstitueerde verbindingen. Dit betekent niet alleen dat ortho-gesubstitueerde benzonitrillen persistent zullen zijn in anaërobe waterbodems (zelfs meer persistent dan bijvoorbeeld sommige gechlorideerde benzenen); het geeft ook een extra aanwijzing voor de eerder geuite veronderstelling dat we hier te maken hebben met een enzymatisch omzettingproces [13]. Een dergelijke aanwijzing werd ook verkregen voor het proces van dealkylering van gesubstitueerde anisolen. Vervanging van de methyl-groep door een andere alkyl-groep remde de omzetting volledig. Ook vervanging van het O-atoom door hetzij een S- dan wel een N-atoom

TABEL I – ¹⁰Log getransformeerde initiële omzettingssnelheden (min⁻¹) van een aantal geselecteerde benzeen-derivaten en de daaruit berekende halfwaardetijden (dagen) [4,11].

A. - Reductieve dehalogenering			B.- Benzonitril-omzetting		
Verbinding	Log k	t _{1/2}	Verbinding	Log k	t _{1/2}
3-joodfenol	-3,39	1,2	3,4,5-trifluorbenzonitril	-3,96	3,7
2,4,6-tribroomfenol	-3,88	3,7	3-hydroxybenzonitril	-4,57	17,9
2,6-dibroomfenol	-4,18	7,3	2-fluorbenzonitril	-5,24	83,7
2,4,6-trichloorfenol	-4,64	21,0	2-chloorbenzonitril	-5,49	148,8
1,2-dichloorbenzeen	< -6,50	> 1.500	2-methylbenzonitril	-6,11	620,1
C.-Anisol-dealkylering			D.-Nitro-reductie		
Verbinding	Log k	t _{1/2}	Verbinding	Log k	t _{1/2}
4-nitroanisol	-2,91	0,4	1,4-dinitrobenzeen	-2,21	0,1
3-joodanisol	-3,59	1,9	4-nitroacetofenon	-2,77	0,3
methoxychlor	-3,92	4,0	4-broomnitrobenzeen	-2,96	0,4
2-hydroxyanisol	-4,04	5,3	nitrobenzeen	-3,00	0,5
4-cyanoanisol	-4,50	15,2	4-nitrotolueen	-3,15	0,8

zorgde voor een totale inhibitie van de dealkylering. Deze waarnemingen, in combinatie met een gevonden structuur-activiteitsrelatie waarin de octanol-water partitie-coëfficiënt een belangrijke rol speelt, kunnen goed verklaard worden door een enzymatisch proces waarbij sorptie aan een actieve plaats de omzetting initieert. Vervolgens is een specifieke interactie tussen het O-atoom en het actieve enzym nodig voor dealkylering; de afwezigheid van hetzij het O-atoom, hetzij de methyl-groep remt mogelijk één van beide processtappen.

3.2. Ontwikkeling van QSARs

Op basis van het bovenstaande zal het duidelijk zijn dat de verschillende anaërobe omzettingen via verschillende mechanismen verlopen; er worden verschillende producten gevormd met verschillende intrinsieke snelheden. Daarom was het ook noodzakelijk om voor elk onderzocht omzettingproces een verschillende QSAR op te stellen; hoewel dit vanuit praktisch oogpunt gezien duidelijke voordelen met zich mee zou brengen was snel duidelijk dat het vooralsnog niet mogelijk is om uniforme rekenmodellen voor sedimentomzettingen op te stellen.

Voor de ontwikkeling van individuele QSARs is allereerst gezorgd dat een uitgebreide dataset met omzettingssnelheden beschikbaar was. Hiertoe werden per omzetting minimaal 20 stoffen geselecteerd met als primaire selectiecriteria het verkrijgen van een maximale variatie in aanwezige substituenten (zowel qua aard als aantal en lokatie binnen het molecuul), en daarmee een maximale variatie in chemische reactiviteit en fysische eigenschappen.

Vervolgens werden voor elk omzettingproces de gemeten omzettingssnelheden gecorreleerd aan een aantal structuurparameters. De volgende parameters werden hierbij in beschouwing genomen:

1. In het geval van reductieve dehalogenering: de bindingssterkte van de te verbreken koolstof-halogen binding (BS). Deze parameter werd gekozen omdat verbreking van de koolstof-halogen binding de snelheidsbepalende stap bij deze reactie is. Het lijkt dan ook logisch om te veronderstellen dat de reactie langzamer verloopt naarmate de bindingssterkte toeneemt. Per type koolstof-halogen binding werd één vaste waarde voor BS gebruikt.

2. Enkel voor de alifatische halogeenverbindingen: de sommatie van de Taft-sigma-constanten van de verschillende substituenten (σ^*). Deze parameter beschrijft de (elektronische) veldeffecten

van de aanwezige substituenten en zo hun invloed op de reactiesnelheid.

3. Eveneens alleen voor de alifatische koolwaterstoffen: het verschil in hybridisatie-energie, voor en na elektronenoverdracht, van het koolstofatoom waar de reductie plaatsvindt (BE). Dit om een onderscheid te kunnen maken in reactiviteit tussen bijvoorbeeld gesubstitueerde alkenen en alkanen.

4. Voor alle benzeen-derivaten: de sommatie van de Hammett σ -constanten van alle substituenten (σ). σ is de klassieke descriptor voor het beschrijven van de invloed van substituenten op de eigenschappen van een bepaalde verbinding [14].

5. De sommatie van de inductieve constanten van de substituenten (σ_I). Hoewel sterk gecorreleerd aan σ , werd deze parameter toch meegenomen omdat al snel bleek dat elektronische effecten van enorm belang waren bij de onderzochte omzettingen. σ_I Beschrijft het elektronzuigend-karakter van een bepaalde substituent. Het effect van σ_I neemt snel af met toenemende afstand tot het reactiecentrum. Met behulp van σ_I kan dan ook een onderscheid worden gemaakt tussen enerzijds ortho- en anderzijds meta- en para-substituenten.

6. De sommatie van de sterische factoren van de aanwezige substituenten (E_s). Deze parameter is uitgebreid beschreven door Leo and Hansch [15].

7. De octanol-water partitie-coëfficiënt van de onderzochte verbinding (Kow). Dit omdat, zoals hierboven aangegeven, hydrofobe interacties tussen de om te zetten verbinding en reactant, van groot belang kunnen zijn.

8. In geval van gesubstitueerde benzonitrillen: de pKa van het overeenkomstige benzoëzuur. Aangezien in het geval van benzonitril-omzetting de feitelijke reactie niet binnen de benzeenring plaats heeft, kunnen de Hammett-constanten van de substituenten niet gebruikt worden. pKa werd gekozen als een parameter omdat de factoren die een invloed uitoefenen op pKa-waarden, vergelijkbaar zijn met de invloedsfactoren in het geval van benzonitril-omzetting.

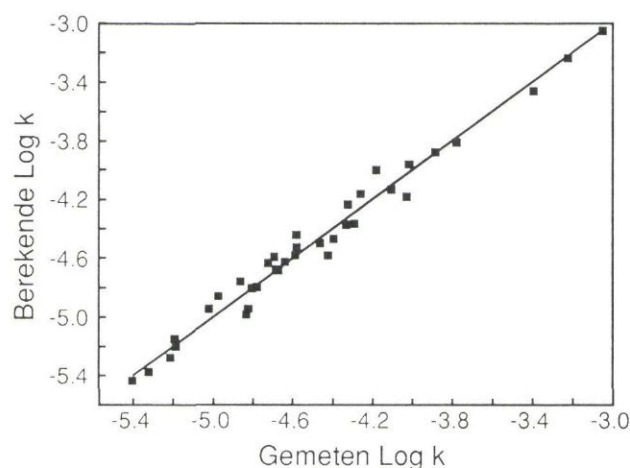
Met behulp van lineaire en meervoudige regressie werden verschillende correlaties verkregen tussen de hierboven beschreven parameters en de $^{10}\log$ van de gemeten omzettingssnelheden. De waarde van de regressiecoëfficiënt, R^2 , werd gebruikt als indicatie van de 'goodness of fit'. Significantie-niveaus voor toevoeging van een extra parameter

werden berekend volgens de procedure beschreven door Moroney [16]. Voor de onderzochte halogeenverbindingen met meerdere halogeenatomen werd in een iteratieve procedure gecorrigeerd voor de bijdrage van de minder-reactieve halogeenatomen op de totale reactiesnelheid [17]. Hierdoor is het mogelijk om met behulp van de aldus verkregen QSAR de reductieve omzettingssnelheid van een meervoudige gehalogeneerde verbinding te berekenen door de bijdrage van alle halogeenatomen op te tellen. Door het in relatieve zin vergelijken van de bijdrage van elk aanwezig halogeenatoom kan vergelijking 5 tevens gebruikt worden voor het voorspellen van precieze aard en hoeveelheid van de gevormde omzettingproducten (voorspelling selectiviteit van de omzetting).

Als voorbeeld van QSARs die met behulp van bovenstaande methodieken werden verkregen, geeft de volgende vergelijking de relatie weer tussen de gemeten initiële reductiesnelheden van aromatische koolwaterstoffen en een aantal structuurparameters [17]:

$$\log k_{\text{init.}} = -0,057 (\pm 0,002) \cdot \text{BS} + 3,72 (\pm 0,17) \cdot \sigma_{\text{I,o}} + 1,26 (\pm 0,06) \cdot \sigma_{\text{I,m,p}} - 1,26 (\pm 0,05) \cdot \sigma - 1,18 (\pm 0,11) \quad (5)$$

De getallen tussen haakjes geven de berekende standaarddeviatie voor elk van de parameters weer. R^2 was gelijk aan 0,966, het aantal gebruikte stoffen was 36. De relatie kon worden verbeterd door te corrigeren voor sorptie aan het sediment; door het incuberen van een zevental gehalogeneerde aromaten in een negental uiteenlopende sediment-water-mengsels kon de relatie bruikbaar worden gemaakt voor het berekenen van reductiesnelheden van willekeurige halogeenverbindingen in willekeurige anaërobe waterbodems [17]. Zoals blijkt uit vergelijking 5 hebben elektronische factoren van de substituenten een eminente invloed op de snelheidsbepalende stap van het dehalogeneringsproces. Dit allereerst omdat een duidelijk significante bijdrage werd verkregen van zowel de Hammett σ -constanten als de inductieve constanten, σ_I . Bovendien werd de 'beste' vergelijking verkregen door een onderscheid te maken tussen de inductieve bijdragen van enerzijds de ortho- ($\sigma_{\text{I,o}}$) en anderzijds de meta- en para-substituenten ($\sigma_{\text{I,m,p}}$). Omdat in absolute zin de waarden van ($\sigma_{\text{I,o}}$) en ($\sigma_{\text{I,m,p}}$) voor een bepaalde substituent gelijk zijn, laat het verschil in descriptor waarden van een factor 3 (3,72 versus 1,26) tussen deze beide parameters duidelijk het afzwakken zien van de



Afb. 3 - Verband tussen gemeten en met behulp van vergelijking 5 berekende initiële dehalogeneringssnelheden (min^{-1}) van aromatische koolwaterstoffen.

elektronische effecten van substituenten met toenemende afstand tot het reactiecentrum. In afbeelding 3 is grafisch het verband weergegeven tussen de gemeten en de met behulp van vergelijking 5 berekende reductiesnelheden.

Ook voor de onderzochte benzonitrillen bleek een groot verschil in gevoeligheid voor de plaats van de substituenten waarneembaar. Dit noodzaakte tot het opstellen van een tweetal relaties voor respectievelijk de ortho- en de meta- en para-gesubstitueerde verbindingen. Voor de meta- en para-gesubstitueerde verbindingen werd na correctie voor sorptie, de volgende 'beste' vergelijking verkregen ($n = 16$):

$$\text{Log } k = -0,50 (\pm 0,04) \cdot \text{Log } K_{ow} - 0,45 (\pm 0,14) \cdot \text{pKa} + 0,35 (\pm 0,18) \cdot \sigma_{I,m,p} - 3,35 (\pm 0,08) \quad (6)$$

De waarde van de regressiecoëfficiënt was voor deze vergelijking gelijk aan 0,97. Aangezien de R^2 -waarde voor de gemeten pseudo-eerste orde reactiesnelheidsconstantes een gemiddelde waarde had van ongeveer 0,92 geeft vergelijking 6 een duidelijk voorbeeld van een QSAR waarbij overfitting van de gebruikte dataset optreedt. Dit hoewel een berekening van de significantieniveaus aantoonde dat elk van de 3 gebruikte parameters, een significante verbetering van de relatie oplevert. Gezien de geconstateerde overfitting levert vergelijking 7 waarschijnlijk een meer realistische beschrijving van de reële situatie. Vergeleken met vergelijking 6 is hierbij de minst significante parameter buiten beschouwing gelaten (R^2 voor deze vergelijking is gelijk aan 0,92):

$$\text{Log } k = -0,48 (\pm 0,06) \cdot \text{Log } K_{ow} - 0,86 (\pm 0,12) \cdot \text{pKa} - 1,57 (\pm 0,12) \quad (7)$$

3.3. Toepassingen

Een aantal toepassingen van de ontwikkelde relaties is al eerder aangegeven. Het ging vooral om het berekenen van anaërobe omzettingssnelheden van stoffen waarvoor geen velddata aanwezig zijn. Onder andere is dit het geval voor zogenaamde 'nieuwe stoffen'. Daarnaast kunnen de relaties gebruikt worden bij het opvullen van hiaten bij de prioritering van onderzoek naar potentieel gevaarlijke stoffen en bij het opstellen van snelle risicoschattingen in geval van calamiteiten. Meer specifiek op de huidige sedimentproblematiek gerichte toepassingen zijn onder andere het in een vroeg stadium onderkennen van potentieel in waterbodems persistente verbinding en het stellen van prioriteiten voor sanering van verontreinigde waterbodems. Zo kan met behulp van de ontwikkelde relaties eenvoudig worden nagegaan of van specifieke verontreinigingsgevallen al dan niet verwacht mag worden dat de in de anaërobe waterbodem aanwezige organische verbindingen relatief snel door natuurlijke processen zullen worden omgezet tot minder potentieel toxische en minder potentieel accumulerende omzettingsproducten. Illustratief hiervoor zijn de meervoudig gehalogeneerde dioxines. Berekeningen uitgevoerd met vergelijking 5 laten niet alleen zien dat dit type verbindingen slechts zeer langzaam in waterbodems zullen worden omgezet, ook blijkt dat in geval van reductieve dehalogenering bij voorkeur reactie optreedt op de peri-plaatsen, wat uiteindelijk zal leiden tot preferente vorming van 2378-TCDD, het meest toxische dioxine-congeneer. Dit houdt in dat in geval van een verontreiniging met dit type verbindingen op termijn een toename van de potentiële milieurisico's verwacht mag

worden, wat de noodzaak tot sanering verhoogt.

Toepassingen voor relatief gemakkelijk afbreekbare verbindingen zijn onder andere te vinden in het in een vroeg stadium onderkennen van de mogelijkheid van vorming van meer-toxische omzettingsproducten.

Literatuur

1. Borman, S. (1990). *Chemical & Engineering News*, 20.
2. Hoornstra, J. S. (1988). *Structuur-activiteitsrelaties bij de beoordeling van milieu-risico's: niet ideaal, wel nuttig*. H₂O, 636-639.
3. Tosato, M. L. e.a. (1991). *Multivariate modelling of the rate constant of the gas-phase reaction of haloalkanes with the hydroxyl radical*, in: J. Hermens en A. Opperhuizen (eds.), *QSAR in Environmental Toxicology-IV*. Elsevier, Amsterdam, 307-326.
4. Peijnenburg, W. J. G. M. e.a. (1992). *Reductive transformations of halogenated aromatic hydrocarbons in anaerobic water-sediment systems: kinetics, mechanisms and products*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 287-299.
5. Morrison, D. T. (1976). *Multivariate statistical methods*, 2nd ed. McGraw-Hill Book Co., New York, NY.
6. Worthing, C. R. en Walker, S. B. (eds.) (1987). *The pesticide manual*. Croydon.
7. Palm, H. e.a. (1991). *Methylation products of chlorophenols, catechols and hydroquinones in soil and earthworms of sawmill environments*. *Chemosphere*, 23, 263-267.
8. Mah, R. A. e.a. (1976). In: Schlegel, H. G. en Barnea, J. (eds.). *Microbial energy conversion*, Göttingen.
9. Macalady, D. L. e.a. (1986). *Abiotic reduction reactions of anthropogenic organic chemicals in anaerobic systems: a critical review*. *J. Contaminant Hydrology*, 1, 1.
10. Wolfe, N. L. e.a. (1987). *Physical and chemical factors that influence the anaerobic degradation of methyl parathion in sediment systems*. *Environ. Sci. Technol.*, 6, 827-837.
11. Wolfe, N. L. and Delgado, M. C. (1992). *Structure-activity relationships for the reduction of substituted nitrobenzenes in anaerobic sediments*. *Environ. Toxicol. Chem.*, toegezonden voor publicatie.
12. Weber, E. J. and Wolfe, N. L. (1987). *Kinetic studies of the reduction of aromatic azo compounds in anaerobic sediment/water systems*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 6, 911-919.
13. Masunaga, S. en Wolfe, N. L. (1991). *Transformations of benzonitriles in anaerobic sediments, proceedings 21 st. symposium on analytical chemistry*. Jekyll Island, Georgia, USA, 20-22 mei 1991.
14. Hermens, J. L. M. (1989). *The handbook of environmental chemistry, vol. 2 part E. Reactions and processes*. Hutzinger O. (ed.), Berlin, Springer-Verlag, pp. 111-162.
15. Leo, A. J. en Hansch, C. (1979). *Substituent constants for correlation analysis in chemistry and biology*. New York, J. Wiley and Sons.
16. Moroney, M. J. (1956). *Facts from figures*. Harmondsworth, Penguin books.
17. Peijnenburg, W. J. G. M. e.a. (1992). *QSARs for predicting reductive transformation rate constants of halogenated aromatic hydrocarbons in anoxic sediment systems*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 300-314.

• • •