

# VU Research Portal

## Quantitative Structure-Activity Relationships for soil Ecotoxicity

Giesen, D.

2012

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Giesen, D. (2012). *Quantitative Structure-Activity Relationships for soil Ecotoxicity: Development Validation Optimization*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam]. Ipskamp B.V.

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## Samenvatting

Verontreiniging met organische chemicaliën is een wereldwijd probleem, dat de structuur en het functioneren van ecosystemen bedreigt. Voor het bepalen van het mogelijke risico van industriële chemicaliën voor organismen en levensgemeenschappen in de bodem vormen statistische modellen, zoals kwantitatieve structuur-werkingsrelaties (QSARs), een mogelijk alternatief voor de tijdrovende toxiciteitstesten. QSARs maken gebruik van fysisch-chemische eigenschappen van een reeks verwante stoffen en relateren deze aan een gedefinieerde toxicologische effectconcentratie in het milieu, zoals een  $EC_{50}$  voor het effect op de reproductie van bodemvertebraten. Gegevens verkregen uit gestandaardiseerde toxiciteitstesten, zoals die met de springstaart *Folsomia candida*, één van de meest gevoelige taxa voor bodemverontreiniging, vormen derhalve de basis voor QSARs. De n-octanol-water verdelingscoëfficiënt ( $\log K_{ow}$ ) wordt traditioneel beschouwd als een goede parameter om van de toxiciteit van hydrofobe organische chemicaliën te voorspellen en stoffen te classificeren op basis van hun giftigheid. Dit is gebaseerd op het feit dat de werking van dergelijke stoffen, niet-polaire narcose die tot stand komt door verstoring van celmembranen en mogelijke interactie met membraangeïntegreerde complexen, vooral wordt gestuurd door hun lipofiliteit. Voor deze stoffen blijkt de  $EC_{50}$ , uitgedrukt op basis van de vrij opgeloste concentratie van deze stoffen in het bodemvocht (poriewater), goed te correleren met hun lipofiliteit ofwel vetoplosbaarheid waarvoor de  $\log K_{ow}$  een maat is. Deze vrij opgeloste concentratie in het poriewater wordt daarom verondersteld indicatief te zijn voor de biologische beschikbaarheid van deze stoffen.

In hoofdstuk 2 van dit proefschrift zijn QSARs ontwikkeld voor de toxiciteit van negen chloorbenzenen voor *F. candida*. De QSARs gebruiken de  $EC_{10}$  en  $EC_{50}$  voor het effect op de reproductie van *F. candida* na 28 dagen blootstelling in standaard toxiciteitstesten in een natuurlijke standaardbodem LUF2.2 en in OECD kunstgrond. Voor beide eindpunten werden twee aparte QSAR regressie modellen verkregen, omdat de stoffen in verschillende mate bonden bleken te worden aan de organische stof in de twee testgronden. Om de geschatte vrij opgeloste concentraties waarop de QSAR was gebaseerd te valideren, werden ze ook gemeten met behulp van zogenaamde vaste fase micro extractie (solid-phase microextraction: SPME).

Dit is gedaan in LUFA2.2 grond, bij concentraties corresponderend met beide toxicologische effectconcentraties. De gemeten concentraties in het poriewater konden de geschatte waarden niet bevestigen, hetgeen aantoont dat het belangrijk is de sorptie van deze stoffen nauwkeurig te meten en het achterliggende mechanisme nader te onderzoeken.

In hoofdstuk 3 zijn op dezelfde wijze drie anilines and vijf gechloreerde anilines getest om QSARs te ontwikkelen voor hun toxiciteit voor *F. candida* in de LUFA2.2 en OECD gronden. Voor beide toxicologische eindpunten werden in beide gronden goede correlaties gevonden met de  $\log K_{ow}$ . SPME metingen voor dichlooraniline, trichlooraniline, tetrachlooraniline en pentachlooraniline bevestigden echter alleen voor de twee hoogst gechloreerde congenere de geschatte vrij opgeloste concentraties in het poriewater. De afname in de biobeschikbare concentraties van dichlooraniline was zo groot dat voor de chlooranilines geen QSARs konden ontwikkeld op basis van de gemeten concentraties.

Toxiciteitmodellen voor de schatting van het milieurisico organische chemicaliën worden meestal gebaseerd op de aan het begin van de test toegevoegde concentratie. De vrij opgeloste concentratie in het poriewater is echter onderhevig aan dynamische processen, zoals afbraak, sorptie en verdamping. Hoofdstuk 4 probeert dit probleem te benaderen door  $EC_{10}$  en  $EC_{50}$  waarden voor de toxiciteit van acht chloorbenzenen en vier chlooranilines voor *F. candida* te relateren aan vrij opgeloste concentraties in het poriewater die gemeten zijn na 0, 14 en 28 dagen. De lager gechloreerde verbindingen vertoonden een significant verlies in de tijd, terwijl de concentraties in het poriewater stabiel waren voor de stoffen met een hoge mate van chlorering en hoge  $\log K_{ow}$ . Voor de chloorbenzenen konden QSARs worden ontwikkeld op basis van het geometrisch gemiddelde van de concentraties gemeten op de drie tijdstippen, hetgeen correspondeert met de gemiddelde effectieve concentratie over de 28 dagen durende test. Voor de chlooranilines was dit echter niet mogelijk door het grote verlies van vooral dichlooraniline; de concentraties van tetra- en pentachlooraniline bleven wel stabiel gedurende 28 dagen.

Verschillen in de toxiciteit van stoffen en in de vrij opgeloste concentraties in het poriewater kunnen vaak verklaard worden door gebruik te maken van de  $\log K_{ow}$  als maat voor de lipofiliteit van een stof en  $\log K_{oc}$  als maat voor de binding aan organisch koolstof. In hoofdstuk 5 is geprobeerd de

ontwikkelde QSARs te optimaliseren voor de chloorbenzenen, die werken volgens het principe van niet-polaire narcose, en de chlooranilines die werken volgens polaire narcose. Daartoe zijn liposoom-water verdelingscoëfficiënten ( $\log K_{lipw}$ ) gemeten als een alternatief voor de  $\log K_{ow}$  terwijl bodemspecifieke  $\log K_{oc}$  waarden zijn bepaald voor de binding van deze stoffen aan de organische stof in de LUFA2.2 en OECD gronden. Vervolgens is een model ontwikkeld gebaseerd op gemeten concentraties. De SPME metingen lieten een flink verschil zien in de vrij opgeloste concentraties in het poriewater van de twee testgronden, dat alleen verklaard kon worden door het verschil in watergehalte. In hoofdstuk 5 is een uniforme QSAR voor de twee gronden en beide series chemicaliën ontwikkeld door de concentraties in het poriewater te corrigeren voor het watergehalte van de gronden.

In hoofdstuk 6 is een microarray test gebruikt om het genexpressie profiel te bepalen van *F. candida* na 2 dagen blootstelling aan concentraties die overeenkomen met de  $EC_{50}$  voor het effect op de reproductie in een 28 dagen standaard test. Hiertoe werden testen uitgevoerd met aniline en 5 chlooranilines als stoffen met een mogelijke remmende werking op de protonen-keten, terwijl 1,2,3,4-tetrachloorbenzeen werd meegenomen als controle voor stoffen die werken volgens het mechanisme van niet- polaire narcose. Gebaseerd op de specifieke response van clusters van zogenaamde 'classifier' genen werd tetrachlooraniline geïdentificeerd als ontkoppelaar terwijl de lager gechlorideerde chlooranilines geen significant verschil in genexpressie profiel vertoonden in vergelijking met de inerte referentiestof. De response op pentachlooraniline vertoonde overeenkomsten met die op tetrachlooraniline, maar kon niet onderscheiden worden van dat voor de stoffen met niet-polaire werking.

Dit proefschrift beschrijft de validatie en optimalisatie van QSARs voor toxiciteitstesten met bodemorganismen. Het laat zien dat voor een betrouwbare QSAR niet alleen de structuur en eigenschappen van een chemische stof in beschouwing moeten worden genomen, maar dat ook de eigenschappen van de testmatrix van belang zijn. Daarnaast wordt aangetoond dat een classificatie van stoffen op basis van werkingsmechanisme uiteindelijk alleen maar bepaald kan worden door de fysiologische en moleculairbiologische response van het testorganisme mee te nemen. Geen van deze factoren kan op zichzelf de toxiciteit verklaren,

maar integratie van de verschillende elementen kan leiden tot een solide basis voor verder onderzoek en een betrouwbare evaluatie van nieuwe chemische stoffen.