

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIËNE  
BILTHOVEN

Rapport nr. 719101016

**Extrapolatie van lab naar veld: de  
invloed van milieufactoren op de anaërobe  
transformatiesnelheid van chloorfenolen**

W.J.G.M. Peijnenburg, N. Riezebos en J.H. Verboom

Juni 1994

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van het Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Stoffen, Veiligheid, Straling van het ministerie voor Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, in het kader van het project ECOROUTING (projectnummer 719101).

**VERZENDLIJST**

- 1 Directoraat-Generaal Milieubeheer, Directie Stoffen, Veiligheid, Straling
- 2 Plv. Directeur-Generaal Milieubeheer, Dr. Ir. B.C.J. Zoeteman
- 3 Dr. J. de Bruijn, DGM
- 4 Drs. C. Cheung, Universiteit van Amsterdam, vakgroep Milieu- en Toxicologische Chemie
- 5 Prof. Dr. H. Govers, Universiteit van Amsterdam, vakgroep Milieu- en Toxicologische Chemie
- 6 Dr. J. Hermens, RITOX
- 7 Depôt van Nederlandse publicaties en Nederlandse bibliografiën
- 8 Directie RIVM
- 9 Sectordirecteur Stoffen en Risico's, Dr. Ir. G. de Mik
- 10 Hoofd Laboratorium voor Ecotoxicologie, Prof. Dr. H.A.M. de Kruijf
- 11 Hoofd Afdeling Voorlichting en Public Relations, Mw. Drs. J.A.M. Lijdsman-Schrijvenaars
- 12 Dr. Ir. D. van de Meent (Laboratorium voor Ecotoxicologie)
- 13 Dr. J. Struijs (Laboratorium voor Ecotoxicologie)
- 14-17 Laboratorium voor Ecotoxicologie, afdeling Milieuchemie
- 18-20 Auteurs
- 21 Bureau projecten- en rapportregistratie
- 22 Bibliotheek RIVM
- 23 Bibliotheek RIVM, depôt ECO
- 24-30 Bureau rapportenbeheer

**INHOUD**

VERZENDLIJST .....	ii
INHOUD .....	iii
SUMMARY .....	v
SAMENVATTING .....	vi
1 ALGEMENE INLEIDING .....	1
2 STOFEIGENSCHAPPEN, BRONNEN EN EMISSIES .....	3
2.1 Stofeigenschappen .....	3
2.2 Bronnen en emissies .....	4
3 VERSPREIDING EN OMZETTING .....	6
3.1 Algemeen .....	6
3.2 Gedrag in de lucht .....	6
3.3 Gedrag in de bodem .....	7
3.4 Gedrag in oppervlaktewater en waterbodem .....	9
4 REDUCTIEVE DEHALOGENERING .....	12
4.1 Een belangrijk afbraakproces .....	12
4.2 Reactiemechanisme .....	12
4.3 Kinetiek .....	14
5 KWANTITATIEVE STRUCTUUR-ACTIVITEITSRELATIES (QSARs) ...	16
5.1 Ontstaan en gebruik van QSARs .....	16
5.2 QSARs voor de reductieve dehalogenering .....	17
6 MATERIALEN EN METHODEN .....	19

6.1	Reagentia . . . . .	19
6.2	Sediment-water monsters . . . . .	19
6.3	Kinetische experimenten . . . . .	21
6.4	Chemische analyse . . . . .	22
6.5	Dataverwerking . . . . .	22
7	RESULTATEN EN DISCUSSIE . . . . .	24
7.1	Inleiding . . . . .	24
7.2	Structuur van het chloorfenol congeneer . . . . .	28
7.3	Concentratie 2,4-dichloorfenol . . . . .	32
7.4	Herkomst/aard sediment . . . . .	33
7.5	Sediment-waterverhouding . . . . .	37
7.6	Temperatuur . . . . .	39
7.7	pH . . . . .	42
8	CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN . . . . .	47
	LITERATUUR . . . . .	49
	BIJLAGE I: Apparatuurgegevens en analyseomstandigheden . . . . .	55

## SUMMARY

The fate of chlorophenols and related haloaromatics is under anaerobic conditions mainly determined by the rate constant for reductive dehalogenation. Apart from the structure of the chlorophenol congener incubated, these rate constants depend on both environmental factors and the activity of the reactant.

In this report the first results of a study on the effect of compound-specific and environment-specific factors on rates of reductive dehalogenation, are shown. The study was carried out to assess the extend to which it is possible to extrapolate rate constants obtained under laboratory conditions to realistic circumstances.

Several chlorophenol congeners were incubated in sediment-water systems, while varying the following conditions:

- structure and concentration of the chlorophenol congener;
- nature/origin of the sediment;
- sediment to water ratio;
- temperature;
- pH.

In all cases the concentration-time pseudo-first order rate constants were derived from the concentration-time profile assessed using HPLC-UV.

Measured half-lives range from 8 till 214 days and tended to increase with increasing concentrations of the compound incubated, decreasing sediment concentrations, decreasing temperature and both increasing and decreasing pH-values of the sediment. 3,4-Dichlorophenol was shown to be the most persistent of the chlorophenol congeners incubated, while the trichlorophenols were the most easily dechlorinated. The nature and the origin of the sediment and the sediment to water ratio were of minor importance. Also the influence of the pH is limited within the relevant pH-range. Except for the structure of the chemical to be transformed, also its concentration and especially the temperature the most environmentally relevant factors influencing rates of reduction.

It is recommended to further investigate the factors given above and also to include additional chemicals.

## SAMENVATTING

Het lot van chloorfenolen en andere haloaromaten wordt in het anaërobe milieu vooral bepaald door de snelheid van reductieve dehalogenering. Deze snelheid is, naast de structuur van de desbetreffende chloorfenol congeneer, mede afhankelijk van milieu-factoren en de activiteit van de reactant.

In dit rapport worden de eerste resultaten besproken van onderzoek dat is uitgevoerd naar de invloed van stof- én milieu-gerelateerde factoren op anaërobe omzettingssnelheden. Dit onderzoek is uitgevoerd om na te gaan in hoeverre in het lab gemeten snelheden kunnen worden geëxtrapoleerd naar reële veldsituaties.

Diverse chloorfenolen zijn geïncubeerd in sediment-watersystemen, waarbij de volgende factoren zijn gevarieerd:

- structuur en concentratie van het chloorfenol congeneer;
- aard/herkomst van het sediment;
- sediment-waterverhouding;
- temperatuur;
- pH.

In alle gevallen is het concentratie-tijd verloop gevolgd met behulp van HPLC-UV, waaruit vervolgens een pseudo-eerste orde afbraaksnelheidsconstante kon worden bepaald.

De gemeten halfwaardetijden varieerden van minimaal 8 tot maximaal 214 dagen, en namen toe met toenemende concentratie, verlaging van de sedimentconcentratie, dalende temperatuur en verhoging/verlaging van de natuurlijke pH van het sediment. Van de onderzochte chloorfenol congenen bleek 3,4-dichloorfenol het meest persistent te zijn, terwijl daarentegen de trichloorfenolen het snelst gedechloriseerd werden. De aard/herkomst van het sediment en de sediment-waterverhouding blijken het minst van invloed te zijn op de dehalogeneringssnelheid. Ook de pH-invloed is beperkt binnen het milieurelevante pH-traject. Behalve de structuur van de om te zetten verbinding, zijn de concentratie van de verbinding en vooral de temperatuur de meest milieurelevante invloedsfactoren. Aanbevolen wordt om bovengenoemde factoren verder te onderzoeken - met name de temperatuur en pH - en hierbij ook andere verbindingen te betrekken. Naar verwachting kunnen met deze aanvullende gegevens de in het lab gemeten omzettingssnelheden inderdaad naar veldomstandigheden worden geëxtrapoleerd.

## 1 ALGEMENE INLEIDING

Vanaf het moment dat een verbinding in het milieu wordt geëmitteerd, bepalen verspreidings- en omzettingsprocessen het lot van deze stof in de verschillende milieucompartmenten. Het hangt van de snelheid van deze processen af of verbindingen zullen accumuleren en invloed kunnen uitoefenen op de organismen die daar voorkomen.

Omzettingsprocessen zijn vooral van belang omdat ze de concentratie van de uitgangsstof aanzienlijk kunnen verlagen. Bovendien zijn de ontstane metabolieten in veel gevallen minder persistent en minder toxisch, waardoor het milieurisico van deze stoffen afneemt.

Voor chloorfenolen en vele andere milieugevaarlijke stoffen is het anaërobe milieu (o.a. waterbodems en aquifers) een belangrijke 'sink', daar deze veelal hydrofobe verbindingen hier gemakkelijk kunnen accumuleren. In dit compartiment is anaërobe afbraak het enige dominante verdwijningsproces en speelt dus een belangrijke rol in de verwijdering van milieugevaarlijke stoffen uit het milieu.

De snelheid van anaërobe afbraak is in beginsel afhankelijk van twee hoofdfactoren die op hun beurt weer bepaald worden door 'sub'factoren [1]:

1. - **activiteit** van de om te zetten verbinding en van de reactant;
  - intrinsieke reactiviteit
  - concentratie
  - milieufactoren
2. - **beschikbaarheid** van de om te zetten verbinding en van de reactant;
  - milieufactoren

Aromatische verbindingen, waaronder chloorfenolen, kunnen onder anaërobe omstandigheden reductief gedehalogeneerd worden. De dehalogeneringssnelheid in sediment-watersystemen kan aan de hand van de chemische structuur van een haloaromaat voorspeld worden met behulp van kwantitatieve structuur-activiteitsrelaties (QSARs). Onder veldcondities is de afbraaksnelheid echter niet alleen afhankelijk van de structuur van de om te zetten verbinding (intrinsieke activiteit), maar ook van de concentratie, de activiteit van de reactant en van allerlei milieufactoren. Om QSARs te kunnen extrapoleren naar veldcondities dienen deze invloedsfactoren hierin betrokken te worden.

De uitgevoerde experimenten die in dit rapport zijn beschreven zijn dan ook gericht om een antwoord te geven op de vraag: wat zijn de belangrijkste invloedsfactoren op de reductieve dehalogeneringssnelheid van chloorfenolen in anaërobe sediment-watersystemen? De chloorfenolen vertegenwoordigen hierbij de groep van de chlooraromaten en zijn geselecteerd op basis van hun fysisch-chemische eigenschappen om de invloed van milieu- en stofgerelateerde factoren goed te kunnen bestuderen in een relatieve korte tijd.

De onderzochte invloedsfactoren zijn:

- structuur van de om te zetten verbinding;
- concentratie van de om te zetten verbinding;
- aard/herkomst van het sediment;
- sediment-waterverhouding;
- temperatuur;
- pH.

Het doel van deze experimenten is: inzicht verkrijgen in de belangrijkste factoren die de anaërobe omzettingssnelheid van chlooraromaten beïnvloeden, zodat de met behulp van QSARs voorspelde snelheden beter geëxtrapoleerd kunnen worden naar veldcondities.

In dit rapport wordt eerst in het kort de theoretische achtergrond van chloorfenolen geschetst; stoffeigenschappen, bronnen en emissies van chloorfenolen komen aan bod in hoofdstuk 1, waarna in hoofdstuk 2 de belangrijkste verspreidings- en omzettingroutes in de verschillende milieucompartimenten worden beschreven. Vervolgens wordt in hoofdstuk 3 dieper ingegaan op het belangrijkste omzettingsproces in anaërobe sedimenten: reductieve dehalogenering. Hoofdstuk 4 sluit het theoretische gedeelte af met een korte uitleg over QSARs. Daarna begint het experimentele gedeelte met in hoofdstuk 5 de materialen en methoden, gevolgd door de resultaten en discussie van de uitgevoerde experimenten (hoofdstuk 6). Tenslotte worden in het laatste hoofdstuk de belangrijkste conclusies opgesomd en waar mogelijk worden enkele aanbevelingen gedaan.

## 2 STOFEIGENSCHAPPEN, BRONNEN EN EMISSIES

### 2.1 Stofeigenschappen

Chloorfenolen vormen een groep van in totaal 19 verbindingen en kenmerken zich door een basisstructuur die bestaat uit een benzeenring waaraan een hydroxylgroep en 1 tot maximaal 5 chlooratomen zijn gekoppeld.

In tabel 2.1 zijn enkele milieurelevante fysisch-chemische basisgegevens van de 19 chloorfenolen vermeld.

Tabel 2.1 Fysisch chemische eigenschappen van chloorfenolen [2]

Verbinding	Smeltpunt (°C)	Kookpunt (°C)	Dichtheid 15/18 °C (g/mL)	Dampdruk (mm Hg)	Oplosb.* water (20 °C) mg/L	pKa	log K <sub>ow</sub>
2-MCP <sup>1</sup>	9.3	175	1.24	0.8	1730	8.48	2.17
3-MCP	33.5	214	1.24	0.1	681	9.37	2.5
4-MCP	43-44	220	1.31	0.1	553	8.97	2.6
2,3-DCP <sup>2</sup>	58-60	206	-	0.15	114	7.58	3.19
2,4-DCP	45	210	-	0.1	146	7.85	2.75
2,5-DCP	56-58	211	-	0.1	681	7.59	3.2
2,6-DCP	68-69	219-220	-	0.08	192	6.89	2.8
3,4-DCP	66-68	145-146	-	-	42	8.62	3.37
3,5-DCP	68	233	-	-	28	8.27	3.52
2,3,4-TCP <sup>3</sup>	77-79	subl.	-	0.008	5.7	7.04	4.07
2,3,5-TCP	62	248-249	1.49	0.008	8.1	6.75	4.21
2,3,6-TCP	58	272	1.49	0.008	37	6.06	3.88
2,4,5-TCP	67	253	1.50	0.008	14	7.04	3.72
2,4,6-TCP	69	246	1.49	0.008	28	6.35	3.69
3,4,5-TCP	101	275	-	0.008	4.9	7.73	4.39
2,3,4,5-TeCP <sup>4</sup>	116-118	subl.	-	0.001	0.3	6.22	4.95
2,3,4,6-TeCP	69-70	164	1.60	0.001	4.4	5.22	4.1
2,3,5,6-TeCP	114-116	310	-	0.001	0.4	5.24	4.9
PCP <sup>5</sup>	188-190	309-310	1.85	0.0001	0.14	4.74	4.75

\* = oplosbaarheid van de niet gedissocieerde vorm

1 = monochloorfenol

2 = dichloorfenol

3 = trichloorfenol

4 = tetrachloorfenol

5 = pentachloorfenol

## 2.2 Bronnen en emissies

Industriële productie van chloorfenolen vindt in Nederland niet plaats. Directe en indirecte toepassingen van chloorfenolen zijn, althans in Nederland, de laatste jaren sterk afgenomen en zijn momenteel vrijwel nihil, op toepassing van pentachloorfenyllauraat in de textiel- en kunstvezelindustrie (sponzen) na. In tabel 2.2 is een overzicht gegeven van de emissies vanuit de diverse bedrijfstakken en vanuit diffuse bronnen naar het milieu in Nederland (1987).

Tabel 2.2: Bronnen en emissies van chloorfenolen in Nederland in 1987 in ton/jaar [2]

Bronnen	Bodem diffuus	Lucht	Oppervlakte- water	Aantal bronnen
<u>Monochloorfenol</u>				
● drinkwaterbereiding			< 0.05	
<u>Dichloorfenol</u>				
● huishoudens diffuus			0.08	
● bedrijven diffuus			0.08	
<u>Trichloorfenol</u>				
● lederindustrie			0.08	ca. 45
● huishoudens diffuus			0.07	> 1000
● bedrijven diffuus			0.07	> 1000
● papierindustrie			< 0.25	ca. 35
<u>Tetrachloorfenol</u>				
● huishoudens diffuus			0.2	> 1000
● bedrijven diffuus			0.2	> 1000
<u>Pentachloorfenol</u>				
● champignonteelt	0.25		0.4	> 100
● huishoudens*			0.3	> 1000
● bedrijven diffuus			0.3	> 1000
● lederindustrie			0.15	ca. 45
● papierindustrie			< 0.1	ca. 35
● textiel**	5	2.1	2.6	> 1000
● bestrijdingsmiddelen	0.5-1.0			> 1000
● zuiveringsslib	< 0.02			> 1000
● hout t.g.v. gebruik verleden		ca. 35		> 1000
● hout t.g.v. import		ca. 13		> 1000
● verbranding stedelijk afval		0.04		12
<u>Chloorfenolen</u>				
● afbraak/omzetting bestrijdingsmiddelen	< 2		< 0.17	> 1000
● "De Novo"-synthese*** industriële processen			< 0.10	> 100
<b>Totaal</b>	<b>7</b>	<b>50</b>	<b>5</b>	

\* Inclusief pentachloorfenyllauraat uit sponzen

\*\* Pentachloorfenyllauraat (uitgedrukt in hoeveelheid PCP)

\*\*\* Chlorering van fenol tot chloorfenolen

De emissies naar bodem en oppervlaktewater bedragen respectievelijk 7 en 5 ton per jaar. De emissie naar lucht is beduidend hoger en bedraagt naar schatting 50 ton per jaar en wordt veroorzaakt door uitdamping uit hout dat in het verleden met pentachloorfenol is verduurzaamd en door de import van met pentachloorfenol behandeld hout en houtprodukten.

De bijdrage door grensoverschrijdende emissies via het oppervlaktewater en de lucht bedraagt naar schatting respectievelijk maximaal 10 ton en 14 ton per jaar. Import van met chloorfenolen behandelde materialen anders dan hout (leer, textiel, lijm, papier) is een beperkte bron van chloorfenolen in Nederland. Deze materialen belanden uiteindelijk veelal in het stedelijk afval. Met dit afval wordt naar schatting 54 ton chloorfenolen, hoofdzakelijk PCP, afgevoerd. Hiervan wordt ca. 18 ton door verbranding vernietigd, ca. 35 ton wordt gestort, terwijl papier dat wordt hergebruikt meer dan 1 ton chloorfenolen bevat (op jaarbasis) [2].

### 3 VERSPREIDING EN OMZETTING

#### 3.1 Algemeen

Een groot aantal organische verbindingen kan onder milieuomstandigheden worden omgezet (getransformeerd) dan wel afgebroken (gemeneraliseerd) door een aantal uiteenlopende processen. Ruwweg kan een drietal categorieën worden onderscheiden [3]:

1. Biodegradatie; omzetting (gekatalyseerd) door microorganismen (voor een overzicht zij verwezen naar Neilson [4]).
2. Fotochemische omzettingen; abiotische omzettingsreacties geïnitieerd door bestraling met licht.
3. Chemische omzettingsprocessen; afbraakprocessen die niet direct door levende organismen teweeg worden gebracht [5].

Hierbij dient opgemerkt te worden dat het vaak moeilijk is om een strikte scheiding aan te brengen tussen met name biologische en chemische omzettingen. Het belang van elk van de drie omzettingroutes varieert aanzienlijk en is in het bijzonder afhankelijk van milieufactoren en stoffeigenschappen. Zo zijn bijvoorbeeld fotochemische omzettingen belangrijk voor stoffen in de gasfase, terwijl de bijdrage van deze processen aan de afbraak van in de bodem aanwezige verbindingen over het algemeen gering is. Zowel chemische als biologische processen kunnen op hun beurt opnieuw in ruwweg drie groepen worden verdeeld:

1. oxidatieve reacties: een electrondeficiënte verbinding (oxidant) ontvangt electronen van een te oxideren verbinding;
2. reductieve omzettingen: een reactie waarbij electronen worden overgedragen van een electronendonor (reductant) naar een te reduceren verbinding;
3. hydrolyse reacties.

#### 3.2 Gedrag in de lucht

In de atmosfeer komen chloorfenolen in het algemeen in gasvormige toestand voor. Chloorfenolen kunnen uit de lucht worden verwijderd door droge of natte depositie. De snelheid van depositie hangt af van de (chemische) eigenschappen van de deponerende stof en van de weersomstandigheden (atmosferische stabiliteit).

Daarnaast kunnen chloorfenolen worden verwijderd door chemische reacties: atmosferische omzetting van chloorfenolen vindt plaats door reactie met OH-radicalen [6], via fotolyse [7] en in mindere mate door reactie met verontreinigde componenten zoals  $\text{NO}_2$  [8]. De schatting van de verwijderingssnelheid door droge depositie is  $5 \cdot 10^{-2}$  -  $5 \cdot 10^{-3}$  % per uur, door natte depositie 0.04 - 1.1 % per uur, door radicaalreacties 0.04 - 0.7 % per uur en door fotolyse tot 6% per uur. Hieruit volgt dat voor chloorfenolen de verblijftijd varieert van 13 uur tot maximaal een maand, waardoor er geen transport naar de stratosfeer zal optreden en dientengevolge geen beïnvloeding van stratosferisch ozon te verwachten is.

### **3.3 Gedrag in de bodem**

#### Verspreiding.

Vervluchtiging vanuit de bodem is voor chloorfenolen een verwaarloosbaar proces [9,10]. De sorptie in het water/bodem-systeem wordt tot uitdrukking gebracht in de bodem-water-distributiecoëfficiënt  $K_d$ . De grootte van  $K_d$  hangt af van de stofeigenschappen en bodemeigenschappen zoals pH, organisch stofgehalte, kationen-omwisselingscapaciteit (CEC) en kleigehalte.

Voor de neutrale chloorfenolmolekulen gelden in het algemeen andere sorptiemechanismen dan voor de gedissocieerde fenolaatanionen. De sorptie van de neutrale chloorfenolmolekulen wordt gezien als een vorm van hydrofobe sorptie [11,12]. Deze kan worden beschreven met behulp van de volgende vergelijkingen:

$$K_{oc} = a \cdot K_{ow}^b \quad (3.1)$$

$$K_d = K_{oc} \cdot f_{oc} \quad (3.2)$$

$$K_d = f_{oc} \cdot a \cdot K_{ow}^b \quad (3.3)$$

waarin:  $K_{ow}$  = de octanol-water partiticoëfficiënt  
 $K_{oc}$  = de adsorptiecoëfficiënt  
 $f_{oc}$  = de fractie organisch koolstof  
 a en b = constante

Als de pH van de bodem in de buurt van de pKa van een stof of daarboven ligt, moet rekening worden gehouden met de dissociatie van het desbetreffende chloorfenol. Door Schellenberg et al. [13] werd voornoemde relatie (3.3) aangepast tot:

$$K_d = f_{nd} \cdot f_{oc} \cdot a \cdot K_{ow}^b \quad (3.4)$$

waarin:  $f_{nd}$  = de fractie niet-gedissocieerde molekulen  
 $f_{nd} = 1 / [1 + 10^{(pH - pKa)}]$

Door te corrigeren voor de fractie gedissocieerde molekulen kon de gemeten distributiecoëfficiënt redelijk worden benaderd.

Behalve sorptie van niet-gedissocieerde molekulen kan ook sorptie van de fenolaat-anionen optreden. Van belang bij fenolaatsorptie zijn de pH, het organisch stofgehalte van de bodem en de ionsterkte van het bodemvocht of grondwater [14]. De sorptie van gedissocieerde molekulen is echter onvoldoende onderzocht om een kwantitatieve voorspelling mogelijk te maken, maar blijkt voor tetra- en pentachloorfenol een factor 15 tot 30 lager te zijn dan hydrofobe sorptie [12].

Samenvattend kan worden gesteld dat de mobiliteit van chloorfenolen in de bodem afhankelijk is van stof- en bodemeigenschappen en kan uiteenlopen van zeer mobiel (lage pKa, hoge pH en lage  $K_{ow}$ ) tot vrijwel immobiel (hoge pKa, lage pH en hoge  $K_{ow}$ ).

### Omzetting.

In de bodem treedt chemische (abiotische) omzetting op [15,16], maar deze is van minder belang dan de biologische omzetting. Aërobe en anaërobe mineralisatie is beschreven voor de monochloorfenolen, 2,4-DCP en PCP en alleen anaërobe mineralisatie voor 2,4,5-TCP.

Meestal kan het omzettingsproces in de bodem bij lage substraatconcentraties worden beschreven met een pseudo-eerste orde kinetiek. De afbraaksnelheid lijkt met name bij

sterkere sorptie van de chloorfenolen (in gronden met een hoog organisch stofgehalte en/of lage zuurgraad) beperkt te worden door de desorptiesnelheid [17].

Alle literatuurgegevens tesamen wijzen op halfwaardetijden bij aërobe biodegradatie van chloorfenolen van enkele tot tientallen dagen; deze gelden echter alleen voor aëroob gestimuleerde systemen en kunnen in het milieu derhalve langer zijn. Hierbij hebben de mono- en dichloorfenolen kortere halfwaardetijden dan de hogere gechlorideerde fenolen. Met name de fenolen met alleen chloorsubstituenten op de meta-plaats worden traag omgezet.

Over anaërobe biodegradatie is daarentegen veel minder bekend. In rijstvelden werden halfwaardetijden van 10 tot 70 dagen gerapporteerd [18]. Bij onderzoek in aquifers werd onder methanogene omstandigheden omzetting van chloorfenol congenereen aangetoond met halfwaardetijden van 13 (alle MCPs en 2,4-DCP) tot honderden dagen (enkele DCPs en 2,4,5-TCP) [19].

### **3.4 Gedrag in oppervlaktewater en waterbodem**

#### Verspreiding.

Vervluchtiging van chloorfenolen vanuit de waterfase speelt nagenoeg geen rol van betekenis. Hoewel de dampdruk en de wateroplosbaarheid van de niet-gedissocieerde vorm van sommige chloorfenolen (met name PCP), een indicatie zijn voor een niet te verwaarlozen transport vanuit de waterfase naar de lucht, wordt dit proces gecontroleerd door de associatie in water en is dus pH-afhankelijk. Echter in het pH-traject relevant voor de Nederlandse situatie, is PCP goed oplosbaar en is vervluchtiging verwaarloosbaar ten opzichte van andere processen zoals adsorptie en degradatie [2].

Adsorptie aan gesuspendeerde deeltjes en sediment is belangrijk voor transport door het aquatische milieu en voor verwijdering vanuit de waterkolom naar de waterbodem. De mate van adsorptie is afhankelijk van de  $K_{ow}$  en van de speciatie van het molecuul, wat weer afhankelijk is van de  $pK_a$  van de desbetreffende verbinding én van de pH van het aquatische milieu.

Adsorptie aan MCPs is in de meeste gevallen verwaarloosbaar evenals adsorptie aan anorganische deeltjes [13]. Echter in het mariene milieu moet rekening worden gehouden met sorptie van het fenolaat-ion geassocieerd met een anorganisch kation [14].

### Omzetting.

In water is de abiotische omzetting in het algemeen van groter belang dan de biotische. Met name fotolyse vormt een belangrijke chemische omzettingroute voor chloorfenolen in het aquatische milieu. Slooff et al. [2] geven een korte samenvatting van de studies naar deze fotochemische omzetting.

Over de biologische afbraak van chloorfenolen onder aërobe omstandigheden is zeer veel gepubliceerd. Reineke [20] geeft een overzicht van het effect van chloorsubstitutie op de afbraak van aromaten en de mogelijke degradatiemechanismen. Hoger gechlloreerde fenolen zijn in het algemeen relatief moeilijk afbreekbaar [21] en bij de lager gechlloreerde blijkt vooral de positie van de substituenten aan de ring van invloed te zijn.

Indien andere omzettings- en uitwisselingsprocessen traag verlopen wordt het lot van de lagere chloorfenolen vooral bepaald door aërobe microorganismen. De halfwaardetijd kan variëren van een dag tot een maand, sterk afhankelijk van milieufactoren en vooral van de voorgeschiedenis van het desbetreffende oppervlaktewater ten aanzien van de aard en niveau van voormalige blootstelling aan organische microverontreinigingen. Van de hoger gechlloreerde fenolen is de halfwaardetijd belangrijk langer en daarom zijn voor deze verbindingen interacties met vaste deeltjes en abiotische omzettingen meer lotsbepalend dan biodegradatie.

Onder anaërobe omstandigheden kunnen chloorfenolen reductief gedechlloreerd worden. Deze reactie verloopt bij methanogene condities en werd voor PCP waargenomen in ondergelopen grond in verband met de rijstteelt [22]. Ook in de anaërobe gistingstank van een rwzi werd sequentiële reductieve chloorverwijdering waargenomen [23]. Voor een overzicht zij verwezen naar Tiedje et al. [24]. Verschillende onderzoekers [19,25] hebben de reductieve dehalogenering van mono-, di- en trichloorfenol, gevolgd door mineralisatie, aangetoond in waterbodems. Anaërobe afbraak van laag gechlloreerde fenolen door bacteriën is in het algemeen langzamer dan aërobe processen. Belangrijk voor het water/waterbodemsysteem lijken de aanwijzingen dat hoger gechlloreerde aromaten in het anaërobe compartiment gemakkelijker worden omgezet dan de lager gechlloreerde derivaten, hetgeen consistent is met de hypothese dat bij de dechloreringsreactie energie vrijkomt wat weer gekoppeld is aan het metabolisme van het substraat [26]. Deze tendens is dus tegengesteld aan die in het aërobe compartiment. Daarom mag worden verwacht

dat bij afwezigheid van nieuwe emissies van chloorfenolen naar het aquatische milieu, deze stoffen op termijn (maanden-jaren) uit het sediment zullen verdwijnen.

Er is echter nog maar weinig bekend over de dehalogeneringsprocessen die op kunnen treden in het anaërobe milieu. Reductieve dehalogenering is aangetoond in allerlei laboratoriumstudies, maar om te kunnen voorspellen wat er het milieu gebeurt, zal de invloed van milieufactoren goed onderzocht moeten worden. In het volgende hoofdstuk zal daarom eerst uitgebreider op dit milieurelevante afbraakproces worden ingegaan.

## 4 REDUCTIEVE DEHALOGENERING

### 4.1 Een belangrijk afbraakproces

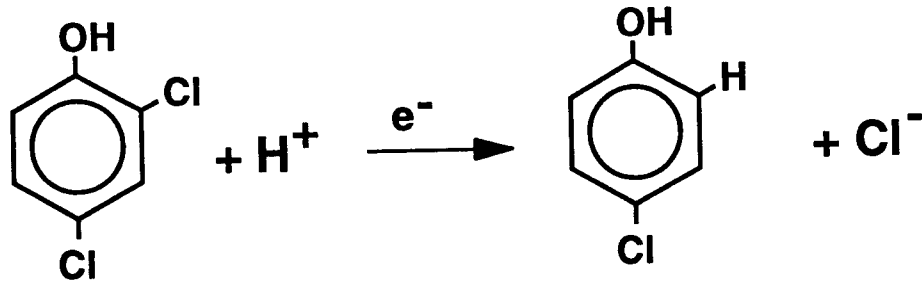
De gehalogeneerde aromatische verbindingen vormen een belangrijke groep van vervuilers, daar ze in grote hoeveelheden in het milieu terecht komen, toxisch en persistent zijn en kunnen accumuleren in sedimenten en biota [27].

In de toplaag van de bodem en het oppervlaktewater, gaat het afbraakproces van gechloreerde en andere gehalogeneerde aromaten relatief langzaam [28,29], waardoor deze verbindingen door de grond kunnen diffunderen en, mogelijk, de aquifers kunnen vervuilen [19,24]. De diepere bodemlagen zijn vaak anaëroob of ze worden dat wanneer ze verontreinigd raken met gemakkelijk te oxideren substraten. In deze anaërobe zones kunnen haloaromatische verbindingen echter worden afgebroken middels reductieve dehalogenering [30,31]. Deze anaërobe afbraak is daarom belangrijk als gehalogeneerde aromaten de verzadigde zone of sedimenten bereiken. Het is een laatste redmiddel om de aquifers tegen deze verontreiniging te beschermen [19].

Reductieve dehalogenering is bovendien een belangrijk afbraakproces omdat het voor verschillende stofgroepen de initiële, snelheidsbepalende, stap is in de uiteindelijk mineralisatie van deze verbindingen. Daar komt nog bij dat de gedehalogeneerde producten vaak polairder zijn, in mindere mate accumuleren in het anaërobe milieu en dienvolgens beter beschikbaar zijn voor verdere degradatie (mineralisatie) in het aërobe milieu. Dit geldt met name voor de hoger gechloreerde aromaten. Deze verbindingen breken aëroob niet of nauwelijks af, terwijl ze onder anaërobe omstandigheden relatief snel reductief gedechloreerd kunnen worden [24].

### 4.2 Reactiemechanisme

Reductieve dehalogeneringsreacties worden geïnitieerd door een electronentransport van een electronendonor naar het halogeenatoom [32]. Het nettoresultaat is de vervanging van een halogeensubstituent met een waterstofatoom. Voor een voorbeeld van een reductieve dehalogeneringsreactie, zie figuur 4.1.



Figuur 4.1 : Reductieve dehalogenering van 2,4-dichloorfenol

Reductieve dechlorering is aangetoond voor verscheidene aromatische verbindingen waaronder chloorfenolen [9,19,33-36], chloorbenzenen [37,38], chloorbenzoaten [36,39, 40], chlooranilines [41] en de pesticiden diuron (3-[3,4-dichloorfenyl]-1,1-dimethylurea) [42], chloornitrofen [43] en 2,4,5-T (2,4,5-trichloorfenoxy-acetaatzuur) [44].

Reductieve dechlorering kan plaats vinden in uiteenlopende gereduceerde incubatiesystemen, waaronder zuiveringsslib [33-35,45-47], sedimenten [42,46], bodems [9,43] en anaërobe microbiologische systemen, [36,39,44,48,49].

In het algemeen wordt aangenomen dat biodegradatie het dominante verdwijningsproces is voor haloaromaten in anaërobe milieus. Vaak wordt er een 'acclimatiserings'periode waargenomen voordat er een duidelijk waarneembare degradatie optreedt. Volgens de hypothese van Linkfield et al. [50] wordt deze periode veroorzaakt door de benodigde tijdsduur voor de synthese van specifieke enzymen, en beïnvloeden vooral de chemische structuur en concentratie van het gehalogeneerde substraat de lengte van deze periode. De ontdekking dat ook abiotische bijdragen het lot van omzettingsreacties beïnvloeden is relatief nieuw [51]. Zo kunnen abiotische processen juist in genoemde acclimatiseringsperiode een belangrijke rol spelen in de afbraak van gehalogeneerde organische verbindingen. Recent is aangetoond dat bacteriële overgangsmetaal-coenzymen de reductieve dechlorering van polygechloreerde ethenen en benzenen katalyseren [52]. Ook is in een enkele geval fotochemische reductie aangetoond onder andere voor pentachloorfenol, waarbij tetra- en trichloorfenol als producten werden gevormd [53].

Het is echter niet mogelijk om een strikt onderscheid te maken tussen biotische en abiotische processen. De rol van microorganismen wordt steeds meer beschouwd als het leveren van actieve biomolekulen en het behouden van de benodigde redoxcondities voor reductie [5].

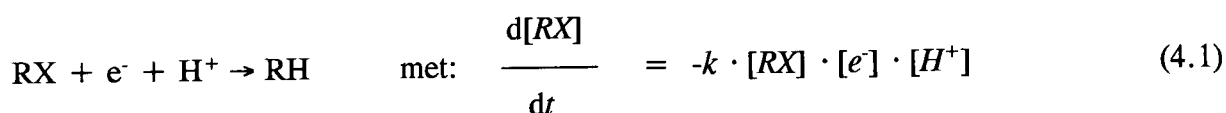
Er is slechts weinig bekend over de anaërobe bacteriën die betrokken zijn bij de reductieve dehalogenering, mede doordat het tot op heden onmogelijk is gebleken om hiervan reïncultures te isoleren. Verscheidene onderzoekers [23,34,50] tonen aan dat er meerdere microorganismen betrokken zijn bij de dehalogenering van chlooraromaten. Hun activiteit is in het algemeen specifiek voor het type substituent en de positie aan de aromatische ring.

Verschillende studies hebben aangetoond dat de reductiesnelheid van een specifieke halogeenverbinding afhankelijk is van milieufactoren, zoals de heersende redoxpotentiaal (sterk reducerende methanogene omstandigheden bevorderen de reductieve dehalogenering) en de sediment-water verhouding; voor een overzicht wordt verwezen naar Suflita [54]. Daarnaast is in andere studies [37,38] aangetoond dat fysische en chemische kenmerken van de uitgangsstoffen zélf correleren met de waargenomen reductiesnelheden onder specifieke omstandigheden. Zo blijken dehalogeneringsmechanismen gemakkelijker te verlopen wanneer de aromatische ring gesubstitueerd is met electron-destabiliserende groepen zoals carboxyl-, hydroxyl-, amino-, of cyanogroepen. Ook chemische bindingen met een stikstofatoom of een ethergroep aan de aromatische kern bevorderen bovengenoemde reactie.

De karakterisering van de verschillende milieuparameters en de verschillende intrinsieke chemische eigenschappen is dan ook een belangrijk hulpmiddel bij het vaststellen van het aandeel van de reductieve reactieroutes in de totale afbraak van milieuvreemde verbindingen.

### **4.3 Kinetiek**

Voor de reductieve dehalogeneringsreactie kan een snelheidsvergelijking worden opgesteld, met een reactiesnelheidsconstante  $k$ :



Onder gegeven omstandigheden kunnen  $[\text{e}^-]$  en  $[\text{H}^+]$  in het algemeen als constant worden beschouwd. De volgende vergelijking wordt dan verkregen, met  $k$  als pseudo-eerst orde reactiesnelheidsconstante:

$$\frac{d[\text{RX}]}{dt} = -k \cdot [\text{RX}] \quad \text{ofwel:} \quad \frac{d[\text{RX}]}{[\text{RX}]} = -k \cdot dt \quad (4.2)$$

Uit vergelijking (4.2) kan geconcludeerd worden dat de reactiesnelheid alleen afhankelijk is van de snelheidsconstante en  $[\text{RX}]$ . Vergelijking (4.2) kan als volgt geïntegreerd worden:

$$\int_{[\text{RX}]_0}^{[\text{RX}]_t} \frac{d[\text{RX}]}{[\text{RX}]} = \int_0^t -k \cdot dt \rightarrow \ln \frac{[\text{RX}]_0}{[\text{RX}]_t} = k \cdot t \quad (4.3)$$

Uit deze vergelijking blijkt dat door het uitzetten van  $\ln([\text{RX}]_0/[\text{RX}]_t)$  als functie van de reactietijd, een rechte lijn door de oorsprong verkregen wordt, met als richtingscoëfficiënt de snelheidsconstante  $k$ . Als  $\ln[\text{RX}]_t$  uitgezet wordt als functie van de tijd is dit ook een rechte lijn, met als intercept  $\ln[\text{RX}]_0$ :

$$\ln [\text{RX}]_t = \ln [\text{RX}]_0 - k \cdot t \quad (4.4)$$

Tenslotte kan de halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ) voor de reductieve dehalogenering van de onderzochte verbinding met de volgende formule bepaald worden:

$$t_{1/2} = \ln (2) / k \quad (4.5)$$

## 5 KWANTITATIEVE STRUCTUUR-ACTIVITEITSRELATIES (QSARs)

### 5.1 Ontstaan en gebruik van QSARs

Teneinde de snelheden van afbraak- en omzettingsprocessen van, met name 'nieuwe', stoffen in het milieu betrouwbaar te kunnen voorspellen, dienen voor elk van de in paragraaf 3.1 genoemde processen kwantitatieve relaties beschikbaar te zijn tussen enerzijds de processnelheden en de milieuomstandigheden en anderzijds structuurparameters van de te onderzoeken verbindingen. Een dergelijke relatie die dit probeert te bewerkstelligen wordt een kwantitatieve structuur-activiteitsrelatie genoemd, of kortweg een QSAR [55-57].

Om het belang van QSARs te onderstrepen is door Borman [58] 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 het milieu in nog grotere mate aangewezen is op het gebruik van QSARs. Verder kunnen QSARs ingezet worden bij [59]:

- het vaststellen van prioriteiten voor nader onderzoek van potentieel gevaarlijke stoffen;
- het opstellen van een snelle risicoschatting in geval van een calamiteit;
- de keuze van vervolgstudie dat voor een bepaalde verbinding nuttig of noodzakelijk is (giftigheid, biologische afbreekbaarheid).

Tevens kunnen QSARs een belangrijke rol vervullen bij de studie naar reactiemechanismen [55]. Hierbij wordt uitgegaan van het principe dat indien het mogelijk is om voor een bepaalde groep van verbindingen 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).

QSARs bestaan uit een drietal basiselementen: een karakteristieke biologische of fysisch-chemische eigenschap, een of meerdere chemische parameters die deze karakteristieke eigenschap beïnvloeden en een mathematische relatie tussen beiden. De grondslag voor deze methode is ontwikkeld door Hansch en Fujita [60] en ziet er in de meest eenvoudige vorm als volgt uit:

$$[KE] = k \cdot [P_1]^a \cdot [P_2]^b \cdot [P_3]^c \quad (5.1)$$

Door een logarithmische transformatie kan deze relatie omgezet worden in een lineaire vergelijking:

$$\log[KE] = a \cdot \log[P_1] + b \cdot \log[P_2] + c \cdot \log[P_3] + \log[k] \quad (5.2)$$

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  $c$  constantes zijn.

Beperkingen van het gebruik van QSARs, zoals bijvoorbeeld veroorzaakt door een onvolledige of onjuist gebruikte methodologie, en het probleem om stoffen met meerdere functionele groepen in een bepaalde categorie in te delen, zorgen ervoor dat alleen grootte-orde-indicaties verkregen kunnen worden [55].

## **5.2 QSARs voor de reductieve dehalogenering**

Er zijn de laatste jaren verscheidene structuur-activiteitsrelaties ontwikkeld voor het voorspellen van biodegradatie-, fotolyse-, oxidatie-, reductie- dan wel hydrolysesnelheden van verschillende stofgroepen in de diverse milieucompartimenten. Voor een overzicht wordt verwezen naar Hermens en Opperhuizen [61] en naar Peijnenburg [59]. Echter, voor de meeste van de onderzochte omzettingsprocessen zijn alleen kwalitatieve relaties beschikbaar.

Er zijn momenteel weinig geschikte methoden waarmee reductiesnelheden in aquatische milieus kunnen worden voorspeld. Nog maar recent zijn door Peijnenburg et al. [62-65]

QSARs gepubliceerd voor de reductieve dehalogenering van zowel alifatische als aromatische koolwaterstoffen in anaërobe sediment-watersystemen. Met behulp van deze QSARs kan een goede voorspelling worden gedaan van de afbraaksnelheid van deze verbindingen in anaërobe sediment-water systemen.

Echter, de scope van de tot op heden ontwikkelde QSARs kan aanzienlijk worden uitgebreid. Dit vanwege het feit dat voor een aantal aromatische en heterocyclische verbindingen nieuw te ontwikkelen structuurparameters nodig zijn.

Daarnaast moet er onderzoek gedaan worden naar milieu- en stofgerelateerde factoren, die deze omzettingssnelheden aanzienlijk kunnen beïnvloeden. Hierdoor wordt het (uiteindelijk) mogelijk om de in het laboratorium gemeten snelheden te extrapoleren naar veldcondities, zoals waterbodems. Bovendien kan er op deze manier meer inzicht worden verkregen in de reactiemechanismen van deze verbindingen wanneer ze in het milieu terecht komen.

Met het bovenstaande als doel zijn een aantal experimenten uitgevoerd waarbij chloorfenolen onder allerlei factoren zijn geïncubeerd in verschillende anaërobe sediment-water-systemen.

## 6 MATERIALEN EN METHODEN

### 6.1 Reagentia

De onderzochte chloorfenolen zijn afkomstig van Aldrich (Brussel, België), Janssen Chimica (Beerse, België) en van Fluka (Buchs, Zwitserland).

Stockoplossingen van deze verbindingen werden gemaakt in HPLC-kwaliteit methanol (J.T. Baker, Deventer, Nederland). Acetonitril van HPLC-kwaliteit (Rathburn Chemicals LTD, U.K.) werd tenslotte gebruikt om de afbraakreactie te stoppen en om de restconcentratie uitgangsstof c.q. de eventueel ontstane producten te extraheren van het sediment.

### 6.2 Sediment-water monsters

De sediment-water mengsels zijn afkomstig van in totaal 8 verschillende plassen en langzaam stromende rivieren in Nederland en de Verenigde Staten. Monsters werden genomen door het, onder water, afschrappen van de bovenste 5 tot 10 cm van de waterbodem in een afsluitbare glazen pot. De potten werden volledig gevuld met sediment-mengsel en afgesloten onder het wateroppervlak. De afzonderlijk verzamelde sediment-mengsels werden in het laboratorium gezeefd over een 1 mm zeef en verdeeld over een aantal luchtdicht af te sluiten 1 L-flessen (per fles ongeveer 250 g sediment-mengsel). Hierna werden de flessen gevuld met het apart verzamelde oppervlaktewater en minimaal 2 weken bewaard in het donker bij 20 °C. Per fles werd de sediment-waterverhouding en het totale gehalte aan C, H en N bepaald. De sediment-waterverhouding bepaling werd uitgevoerd (in drievoud) door het pipetteren van 10 mL van het intensief geschudde homogene mengsel in een vooraf gewogen petrischaal. Gedurende 24 uur werd het water verdampt in een droogstoof bij een temperatuur van 80 °C. Voor en na de verdamping werden de schaal-tjes opnieuw gewogen, waarna de sediment-waterverhouding berekend kon worden met de formule:

$$S/W = [(M_1 - M_2) / (M_3 - M_2)] \quad (6.1)$$

Hierin is:

$S/W$  : de sediment-waterverhouding van het sediment-water mengsel ( $g \cdot g^{-1}$ ).

- $M_1$  : de massa van de petrischaal na drogen van het sediment-water mengsel (g).  
 $M_2$  : de massa van de lege petrischaal (g).  
 $M_3$  : de massa van de petrischaal vóór drogen van het sediment-water mengsel (g).

Aan de sediment-water mengsels waarvan de invloed van de pH werd bestudeerd werden, afhankelijk van de natuurlijke pH van het mengsel, kleine hoeveelheden zoutzuur (1 M.) of natronloog (1 M.) toegevoegd. Dit werd net zolang herhaald totdat de pH een bepaalde constante waarde behield. De pH van de verschillende sediment-watersystemen werd gedurende het experiment regelmatig gemeten. Dit was nodig omdat de pH niet gedurende het hele experiment constant bleef maar langzaam naar de oorspronkelijke pH terugkeerde (pH-buffering van het sediment). Bij deze experimenten is zoveel mogelijk in een stikstofatmosfeer gewerkt.

Eén sediment-water mengsel, afkomstig van Schoonrewoerdse Wiel, werd gesteriliseerd door middel van  $\gamma$ -bestraling. Indien niet anders aangegeven is voor de overige experimenten Nieuwersluis-sediment als standaard sediment-water mengsel gebruikt.

In sediment-watersystemen vindt reversibele sorptie plaats. Door Weber en Wolfe [66] is een model ontwikkeld waarbij uitgegaan wordt van het feit dat omzetting alleen optreedt op slechts een beperkt aantal reactieve plaatsen op het sediment. Dit houdt in dat, analoog aan de principes van biobeschikbaarheid, alleen de opgeloste fractie van de uitgangsverbinding beschikbaar is voor afbraak. Dit houdt tevens in dat naast de snelheid van afbraak ook de desorptiesnelheid bepalend is voor de overall-verdwijnsnelheid van de contaminant uit het anaërobe milieu.

Uitgaande van de veronderstelling dat omzettingssnelheden kleiner zijn dan de (de)sorptiesnelheid kan met behulp van het organisch koolstofgehalte, de sedimentconcentratie, temperatuur en diverse fysisch/chemische stoffeigenschappen ( $K_{ow}$ , wateroplosbaarheid, dampspanning) de distributie van een verbinding over de verschillende fasen (als gas/opgelost in water/geadsorbeerd aan sediment) worden berekend [67]. Deze auteurs gaan daarbij uit van de relatie  $K_{oc} = 0.411 \cdot K_{ow}$ , hetgeen een goede benadering is voor de distributie van chloorfenolen. Als de verdeling over de verschillende fasen bekend is, kan de experimentele afbraaksnelheidsconstante ( $k_{exp}$ ) als volgt gecorrigeerd worden voor sorptie:

$$\log k_{\text{corr}} = \log k_{\text{exp}} + \log \left[ 1 + \frac{[\text{ads}] + [\text{gas}]}{[\text{diss}]} \right] \quad (6.2)$$

Hierin is:

- [ads] : percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment
- [gas] : percentage van de verbinding in de gasfase
- [diss] : percentage van de verbinding in de waterfase

Bovenstaande formule is dan ook gebruikt om de uit dit onderzoek voortgekomen dehalogeneringssnelheden te corrigeren voor sorptie aan het sediment. Er is echter geen correctie uitgevoerd voor de pH-afhankelijkheid van sorptie.

### **6.3 Kinetische experimenten**

Alle kinetische experimenten werden uitgevoerd volgens de Standard Operating Procedure ECO/084/02 [68]. Een monsterserie werd ingezet door achtereenvolgens:

1. - toevoegen van 9 mL van het gehomogeniseerde sediment-water mengsel aan een tien- tot vijftiental monsterflesjes (20 mL);
2. - injecteren van 9  $\mu\text{L}$  stockoplossing (de te onderzoeken chloorfenol opgelost in methanol);
3. - onmiddellijk luchtdicht afsluiten van de monsterflesjes met een schroefdop en bijbehorend teflon gecoat septum.

Tijdens deze handelingen werden de monsterflesjes doorgeleid met stikstof om ervoor te zorgen dat de sediment-water mengsels zoveel mogelijk anaëroob bleven. Na homogenisering werden de flesjes stilstaand bewaard in het donker bij 20 °C. De sediment-water mengsels waarvan de invloed van de temperatuur werd bestudeerd, werden geplaatst in een koelkast (4 °C), in klimaatkamers (13 en 21 °C) dan wel in een niet-operationele schudincubator (32 °C). Twee tot drie keer per week werd de temperatuur gemeten en genoteerd.

Op gezette tijden, afhankelijk van de verwachte reactiviteit van de testverbinding, werd aan een van de flesjes uit de serie 4 mL acetonitril toegevoegd teneinde de afbraakreactie te stoppen en de testverbinding te desorberen van het sediment. Na intensieve

menging en centrifuge (3200 g) werd het afgescheiden supernatant tot analyse in een afgesloten flesje bewaard bij -20 °C. Na ontdooien van de serie werden de flesjes wederom gehomogeniseerd en gecentrifugeerd (2100 g), waarna ze geanalyseerd konden worden.

#### **6.4 Chemische analyse**

Met behulp van HPLC met UV-detectie werden de acetonitril-extracten per monsterserie geanalyseerd op uitgangsstof en mogelijke produkten, waarna een integrator de bijbehorende piekoppervlaktes berekende. De analyses werden in duplo uitgevoerd. Voor specificaties van de gebruikte apparatuur en HPLC-analyseomstandigheden wordt verwezen naar bijlage 1.

De relatieve restconcentraties van de onderzochte chloorfenol werden berekend door de piekoppervlaktes van deze verbinding op een bepaald tijdstip ( $C_t$ ) te vergelijken met die van het nulmonster ( $C_0$ ). Absolute concentraties konden verkregen worden door de berekende piekoppervlaktes te delen door de piekoppervlakte van de stockoplossing en deze uitkomst vervolgens te vermenigvuldigen met de concentratie van deze stockoplossing.

#### **6.5 Dataverwerking**

Zoals beschreven in de vorige paragraaf was de gemeten parameter in deze experimenten gelijk aan de resterende hoeveelheid uitgangsstof op een bepaald tijdstip ( $C_t$ ) ten opzichte van de aanwezige hoeveelheid op tijdstip  $t = 0$  ( $C_0$ ). Aangezien uit analyses van plots van ( $C_0/C_t$ ) versus de reactietijd voor de meeste verbindingen - minimaal tijdens het begin van de experimenten - een pseudo-eerste orde reactieverloop kon worden afgeleid, werd de natuurlijke logaritme van deze verhouding [ $\ln (C_0/C_t)$ ] uitgezet als functie van de reactietijd ( $t$ ). De pseudo-eerste orde afbraaknelheidsconstante,  $k$ , is gelijk aan de helling van deze lijn en kan worden weergegeven als (zie ook paragraaf 3.3):

$$k = 1 / t \cdot \ln (C_0/C_t) \quad (6.3)$$

Met behulp van lineaire regressie werd  $k$  berekend. Het bijbehorende 90% betrouwbaarheidsinterval (B.I.) kon berekend worden door de standaardafwijking van  $k$  te vermenig-

vuldigen met de bijbehorende t-waarde ( $t = \text{aantal meetpunten} - 2$ ) uit de t-verdelings-tabel [69].

Tenslotte kon voor alle afbraakprocessen de karakteristieke halfwaardetijd worden berekend volgens vergelijking 4.5 uit paragraaf 4.3.

## 7 RESULTATEN EN DISCUSSIE

### 7.1 Inleiding

In allerhande experimenten heeft men reductieve dehalogenering van gechlorideerde aromaten kunnen aantonen en kon men hieruit afbraaksnelheidsconstanten berekenen. Ook is het mogelijk gebleken om deze snelheidsconstanten redelijk te voorspellen aan de hand van de chemische structuur van een haloaromaat. Om echter meer te kunnen bepalen hoe snel deze verbindingen uit het *milieu* kunnen verdwijnen, moet er meer onderzoek gedaan worden naar factoren die de dehalogeneringssnelheid beïnvloeden. In deze experimenten is gekozen voor de volgende invloedsfactoren:

1. structuur van de om te zetten verbinding; deze factor is van belang omdat de structuur van het molecuul in de eerste plaats de potentiële afbraaksnelheid in het anaërobe milieu bepaalt;
2. concentratie van de om te zetten verbinding; deze factor is belangrijk omdat juist persistente stoffen vaak in het anaërobe compartiment accumuleren waardoor de concentraties daar aanzienlijk kunnen oplopen;
3. aard/herkomst van het sediment; in het ene aquatische ecosysteem kan de sedimentsamenstelling in grote mate verschillend zijn dan in het andere. Van belang is daarom om te onderzoeken of sedimenteigenschappen en -'bewoners' invloed uitoefenen op de afbraaksnelheid van gechlorideerde aromaten;
4. sediment-waterverhouding; in het aquatische milieu kan de verhouding tussen de hoeveelheid sediment en water aanzienlijk variëren. Deze factor wordt onderzocht omdat het de (de)sorptiesnelheid en de biologische beschikbaarheid van de om te zetten verbinding kan beïnvloeden;
5. temperatuur; de temperatuur van het sediment is een factor die continu fluctueert en is van belang omdat verwacht wordt dat het in belangrijke mate de bacterie-/enzymactiviteit bepaalt;
6. pH; deze laatste parameter wordt onderzocht omdat deze grootte samen met de  $pK_a$  van een zuur of base de mate van dissociatie/associatie bepaalt, hetgeen weer

van invloed is op de mate van sorptie en biologische beschikbaarheid. Bovendien heeft de pH directe invloed op de bacterie(-activiteit).

Bovengenoemde factoren zijn op laboratoriumschaal onderzocht door per experiment één chloorfenol congener te incuberen in een sediment-water mengsel, waarbij telkens 1 variabele werd gevarieerd. De belangrijkste sedimentkarakteristieken van de in totaal 9 verschillende sediment-water mengsels, zijn opgesomd in tabel 7.1.

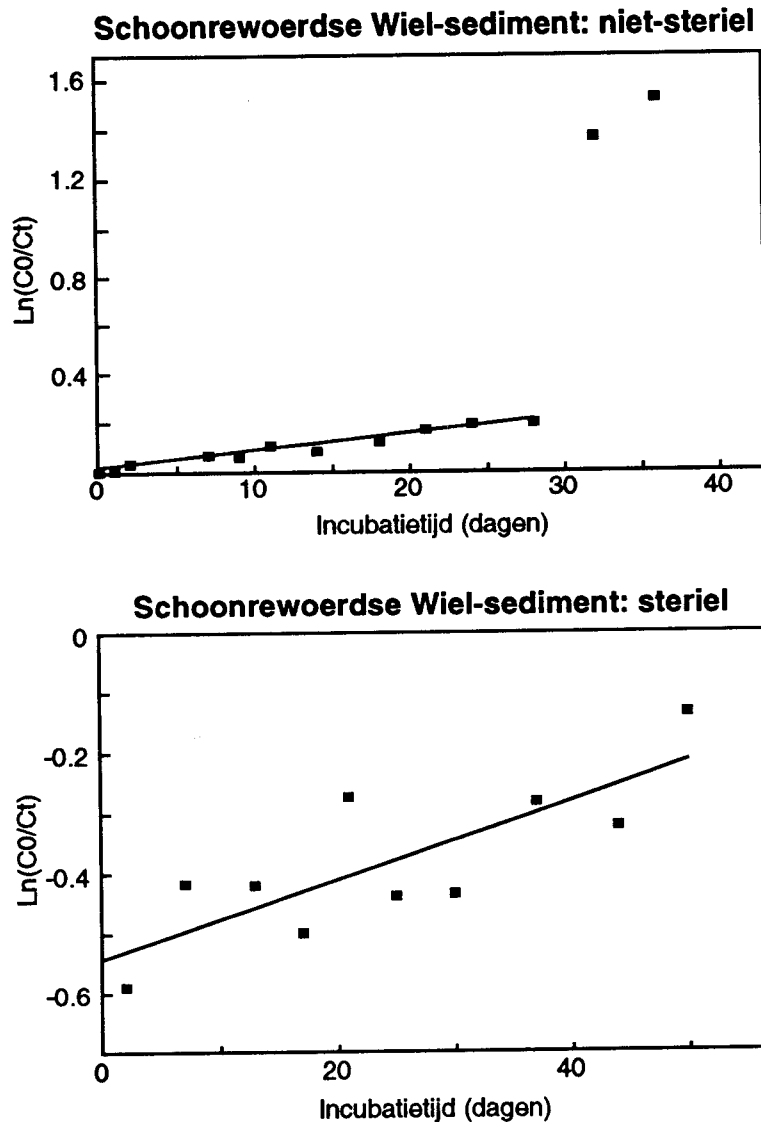
Tabel 7.1 : De sediment-waterverhouding (S/W) en organisch koolstofgehalte (OC) van de verschillende sediment-watersystemen

Sediment	S/W (g · g <sup>-1</sup> )	OC (%)
Son	0.103	5.0
Nieuwersluis	0.118	4.9
Loosdrechtse Plassen	0.060	20.4
Plas Vechten	0.367	1.1
Maas	0.339	0.4
Beaver-Dam	0.058	3.7
Mengsel	0.182	2.1
Schoonrewoerdse Wiel	0.089	12.8
Kromme Rijn	0.219	4.0

Met behulp van de sediment-waterverhouding en het organisch koolstofgehalte uit deze tabel en enkele fysisch-chemische eigenschappen van de om te zetten chloorfenol (tabel 1.1), konden de berekende omzettingssnelheden gecorrigeerd worden voor sorptie (formule 6.2). In de meeste gevallen werd Nieuwersluis als standaard sediment gebruikt.

In alle gevallen konden de afbraakcurves herleid worden tot een tweetal karakteristieke afbraakprocessen. Aan de hand van een aanvullend experiment kon een plausible verklaring gevonden worden voor deze opgetreden processen. Hiervoor werden twee sediment-water mengsels afkomstig van Schoonrewoerdse Wiel gebruikt waarvan er één was gesteriliseerd door middel van  $\gamma$ -straling. Figuur 7.1 laat de afbraakcurves zien van 2,4-

dichloorfenol zoals die zijn gemeten in het steriele en niet-steriele sediment-water mengsel.



Figuur 7.1 : Pseudo-eerste orde afbraakcurves van 2,4-dichloorfenol in een steriel ( $\gamma$ -bestraald) en niet-steriel sediment-water mengsel afkomstig van Schoonrewoerdse Wiel

Steeds is de natuurlijke logaritme uitgezet van de uitgangskonzentratie gedeeld door de concentratie op tijdstip  $x$  (y-as) als functie van de incubatietijd (x-as). In beide sediment-watersystemen kan het reactieverloop - het eerste afbraakproces in het niet-steriele sediment - benaderd worden als een pseudo-eerste orde afbraakproces. De experimentele

afbraaksnelheidsconstante  $k_{\text{exp}}$  is hierbij gelijk aan de helling van deze lijn. In tabel 7.2 zijn deze gemeten constanten naast elkaar gezet.

Zoals blijkt uit tabel 7.2 zijn de initiële afbraaksnelheidsconstanten in beide gevallen, binnen de experimentele fout, gelijk; dit impliceert dat het initiële afbraakproces niet direct door micro-organismen wordt veroorzaakt of beïnvloed.

Tabel 7.2 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $\log k_{\text{exp}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in Schoonrewoerdse Wiel-sediment met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ )

Schoonrewoerdse Wiel	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	$t_x^*$ (dagen)	$t_{1/2}$ (dagen)	$r^2$	$n$
Steriel	$-5.34 \pm 0.24$	NW**	106	0.630	10
Niet-steriel	$-5.31 \pm 0.06$	28	98	0.956	11

\*:  $t_x$  = karakteristieke periode voordat versnelde afbraak plaatsvindt

\*\* : NW =  $t_x$  niet (significant) waargenomen tijdens de bestudeerde reactietijd (56 d.)

In het niet-steriele mengsel trad na een periode van 29 dagen ( $t_x$ ) een duidelijke versnelling van de afbraak op, terwijl in het steriele sediment geen versnelling kon worden waargenomen binnen de incubatieperiode van 56 dagen.

Waarschijnlijk treedt eerst een abiotisch afbraakproces op dat, na een karakteristieke adaptatieperiode van wisselende lengte ( $t_x$ ), overheerst wordt door een sneller biologisch degradatieproces. In steriele sediment-watersystemen, waar het aantal microorganismen sterk is gereduceerd, treedt geen significante biodegradatie op of de adaptatieperiode wordt sterk verlengd, waardoor abiotische afbraak het belangrijkste verdwijningsproces blijft.

Het is echter niet mogelijk om strikt abiotische afbraakprocessen te onderscheiden, daar microorganismen altijd nodig zullen zijn om natuurlijke ecosystemen anaëroob te houden. Hoewel de resultaten op deze manier verklaard kunnen worden, moet rekening worden gehouden met het feit dat andere processen - waarbij naast afbraak ook sorptie een belangrijke rol speelt - niet uitgesloten zijn.

## 7.2 Structuur van het chloorfenol congeener

De structuur van het om te zetten haloaromaat heeft een grote invloed op de reductieve dehalogeneringssnelheid, hetgeen voor een belangrijk deel wordt bepaald door het type, aantal en plaats van de substituent(en) aan de aromatische ring. Zoals weergegeven in de tabellen 7.3 en 7.4 voor de reductieve dehalogenering van enkele tri-, di- en monochloorfenolen, kan de aanwezigheid van chloorsubstituenten leiden tot een verschil in halfwaardetijd van ruim een halve orde van grootte.

Tabel 7.3 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{exp.}$ ) met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ ) voor reductieve dehalogenering van een aantal chloorfenolen in Nieuwersluis-sediment. Tevens zijn de ontstane dehalogeneringsproducten vermeld

Uitgangsstof	Produkt(en)	$k_{exp}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x^*$ (dagen)	$r^2$	$n$
2,3,6-TCP	2,3-, 2,5-DCP, 3-MCP	0.023	30	13	0.855	6
2,4,5-TCP	3,4-DCP	0.008	85	14	0.983	4
2,4-DCP	4-MCP	0.011	65	11	0.909	7
2,5-DCP	3-MCP	0.010	67	NW**	0.582	8
3,4-DCP	3-MCP	0.004	195	NW	0.935	10
2-MCP	fenol	0.019	36	22	0.985	6
4-MCP	fenol	0.015	46	12	0.946	5

\*:  $t_x$  geeft de benodigde tijdsperiode aan voordat versnelde afbraak plaatsvindt

\*\* : NW = periode  $t_x$  niet (significant) waargenomen gedurende de bestudeerde reactietijd

Uit tabel 7.3 kan worden afgeleid dat de uitgangsstoffen selectief worden gedehalogeneerd tot lagere chloorfenolen of fenol. Zo werd 2,4-dichloorfenol in alle experimenten afgebroken tot specifiek 4-chloorfenol, terwijl 2-chloorfenol niet als produkt kon worden aangetoond. Als voorbeeld van een karakteristieke afbraakcurve is in figuur 7.2 een concentratie-tijd profiel gegeven dat berekend is op basis van de experimentele afbraaksnelheidsconstanten van 2,4-dichloorfenol en 4-chloorfenol.

Bovengenoemde selectieve dechlorering van chloorfenolen in verschillende anaërobe media is ook aangetoond in andere studies [23,34,70,71,72].

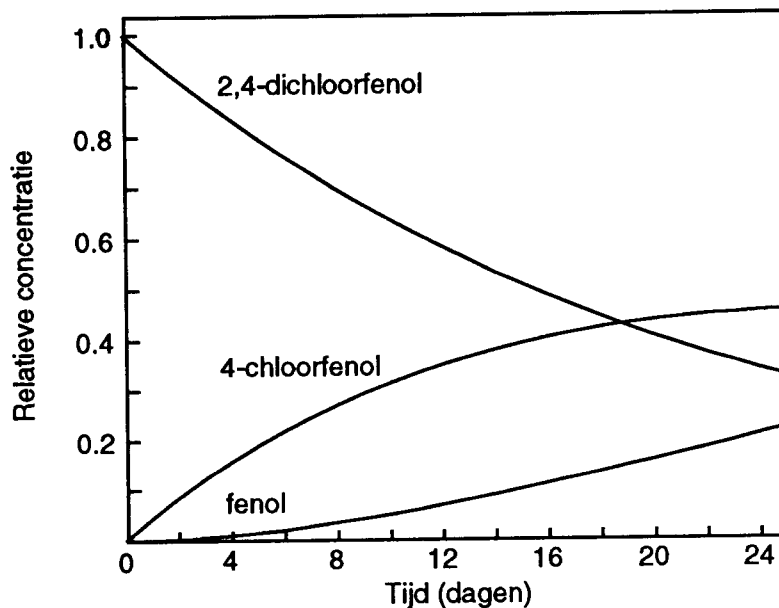
Tabel 7.4 : De voor sorptie gecorrigeerde logarithmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{corr.}}$ ) en de verdeling van de desbetreffende verbinding over de verschillende fasen (Nieuwersluis-sediment bij 20 °C) voor de dehalogenering van een aantal chloorfenolen

Verbinding	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> (%)	[diss] <sup>b</sup> (%)	[ads] <sup>c</sup> (%)	$\log k_{\text{corr}}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ )
2,3,6-TCP	$-4.79 \pm 0.20$	0.00	17.90	82.10	-4.05
2,4,5-TCP	$-5.25 \pm 0.17$	0.00	8.76	91.24	-4.19
2,4-DCP	$-5.13 \pm 0.13$	0.00	28.59	71.41	-4.59
2,5-DCP	$-5.15 \pm 0.35$	0.22	28.53	71.26	-4.60
3,4-DCP	$-5.61 \pm 0.08$	0.02	71.30	28.67	-5.46
2-MCP	$-4.87 \pm 0.06$	0.33	75.74	23.92	-4.75
4-MCP	$-4.98 \pm 0.15$	0.07	56.58	43.36	-4.74

- a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase  
 b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase  
 c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment

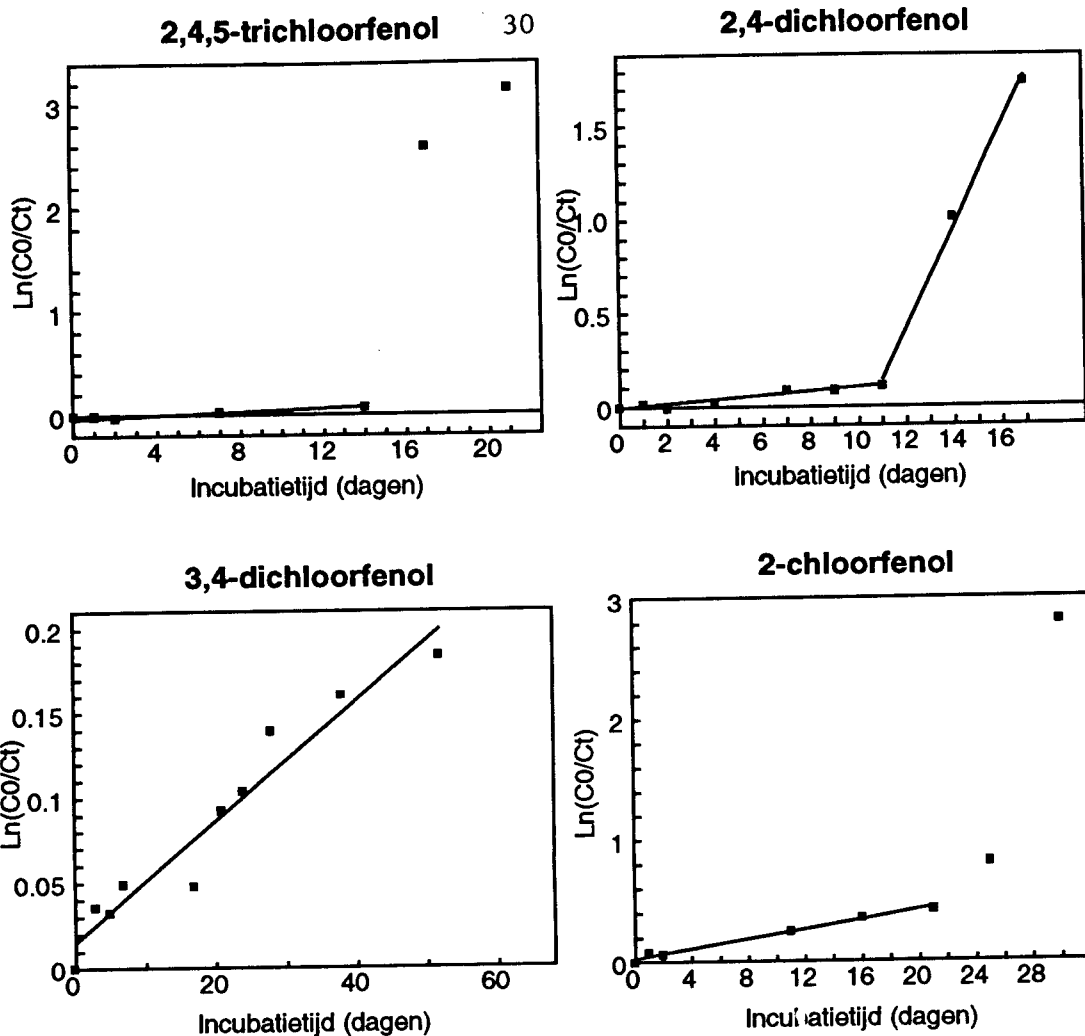
### Afbraak 2,4-dichloorfenol

Sediment: Nieuwersluis



Figuur 7.2 : Concentratie-tijd curves voor de dehalogenering van 2,4-dichloorfenol en vorming van respectievelijk 4-chloorfenol en fenol in anaëroob Nieuwersluis-sediment bij 20°C

Vergelijking van  $t_x$  met de selectieve omzetting van de uitgangsstof en bijbehorende afbraaksnelheidsconstante leverde geen verband op. Figuur 7.3 geeft een aantal karakteristieke pseudo-eerste orde afbraakcurves weer voor enkele chloorfenolen uit tabel 7.3.



Figuur 7.3 : Een aantal karakteristieke eerste-orde afbraakcurves van enkele chloorfenolen in Nieuwersluis-sediment bij 20°C

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 ( $t_x$ ) vindt in de meeste gevallen een duidelijke versnelling van de afbraak plaats, hetgeen waarschijnlijk duidt op biodegradatie zoals dat uit de vorige paragraaf is voorgesteld.

De relatieve verdwijnsnelheden van de onderzochte **monochloorfenolen** zijn bij benadering ongeveer gelijk, zeker nadat ze gecorrigeerd zijn voor sorptie met behulp van vergelijking 7.2 uit het vorige hoofdstuk; tabel 7.4 geeft een overzicht hiervan. In de literatuur [34] wordt voor de MCPs in bodems en sedimenten een snelheid van dehalogenering gevonden van: *ortho* > *para* > *meta*. In deze experimenten is de meta congener (3-MCP) niet als uitgangsstof onderzocht; maar als product blijkt *m*-chloorfenol inderdaad

persistent te zijn gedurende de incubatieperiode van zowel 2,3,6-TCP als van 2,5- en 3,4-DCP.

Wat betreft de **dichloorfenolen** zijn relatieve verdwijnsnelheden gemeten in de volgorde: 2,4-/2,5-DCP > 3,4-DCP. Uit de ontstane producten (respectievelijk 4-MCP, 3-MCP en nogmaals 3-MCP) blijkt dat hierbij dechlorering optrad van het substituent in de volgorde *ortho* > *para* > *meta*. In andere studies [34,70] kon echter de selectiviteit voor de meta-dechlorering niet van de para-positie worden onderscheiden.

De **trichloorfenolen**, tenslotte, werden het snelst omgezet van de onderzochte verbindingen, hetgeen duidelijk te zien is in tabel 7.4 waar de snelheidsconstanten gecorrigeerd zijn voor sorptie aan het sediment. Beide trichloorfenolen werden daarbij zover afgebroken tot dat alle *ortho*-substituenten waren gedechlorerd. 2,3,6-trichloorfenol werd hierbij dus omgezet in 2,3- en 2,5-DCP, waaruit na verloop van tijd 3-MCP werd gevormd. 2,4,5-trichloorfenol tenslotte, werd omgezet in 3,4-dichloorfenol, hetgeen ook het geval was in een studie naar de anaërobe omzetting van trichloorfenolen in zuiveringsslib [72]. Ook zij constateerden dat 3,4-dichloorfenol persistent was gedurende het experiment, waardoor accumulatie optrad.

De mate van selectiviteit voor de dehalogenering van chloorfenolen en andere halofenolen, is waarschijnlijk afhankelijk van:

1. - elektronische effecten (met name tijdens het initiële afbraakproces); inductieve, electronzuigende, effecten blijken een dominante rol te spelen tijdens de snelheidsbepalende stap van de reductie (electrontransport naar het halogeenatoom) en overtreffen het stabiliteitseffect als gevolg van mesomerie. Peijnenburg et al. [65] hebben dit aan kunnen tonen met behulp van de door hun opgestelde relatie tussen enkele structuurparameters en de reductieve omzettingssnelheid. Hieruit bleek ook dat sterische hindering van de substituent(en) een geringe invloed had.
2. - de enzymatische activiteit van specifieke microorganismen (mogelijk van belang tijdens het tweede afbraakproces). Het feit dat sedimenten geadapteerd kunnen worden aan reductieve dehalogenering van gechlorde aromaten, pleit voor een aantal onderzoekers [73,74] dat dechlorering in sedimenten een biologisch beïnvloed proces is.

### 7.3 Concentratie 2,4-dichloorfenol

Om de invloed van de substraatconcentratie op de reductieve dehalogeneringssnelheid te bestuderen is 2,4-dichloorfenol in vijf verschillende concentraties geïncubeerd in een vijftal identieke sediment-watersystemen bij 20 °C. De resultaten hiervan worden weergegeven in tabel 7.5.

Tabel 7.5 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{exp}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in Nieuwersluis-sediment met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ )

Concentratie (mol.l <sup>-1</sup> )	$k_{\text{exp}}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x^*$ (dagen)	$r^2$	$n$
$1.00 \cdot 10^{-3}$	0.004	192	NW**	0.782	14
$1.00 \cdot 10^{-4}$	0.009	80	40	0.631	11
$9.89 \cdot 10^{-6}$	0.011	65	11	0.909	7
$5.15 \cdot 10^{-6}$	0.046	15	12	0.903	5
$1.00 \cdot 10^{-6}$	0.030	23	NW	0.938	8

\*:  $t_x$  = karakteristieke periode voordat versnelde afbraak plaatsvindt

\*\* : NW =  $t_x$  niet (significant) waargenomen tijdens de bestudeerde reactietijd

Onder de gebruikte (laboratorium)omstandigheden blijkt 2,4-dichloorfenol langzamer af te breken naarmate de concentratie toeneemt: van  $1 \cdot 10^{-6}$  tot  $1 \cdot 10^{-3}$  molair neemt de afbraaksnelheid af met ruwweg een factor 100. Berekend kan worden dat maximaal een hoeveelheid van zo'n  $2.5 \cdot 10^{-3}$  mmol per liter sediment-mengsel per dag kan worden omgezet. De karakteristieke tijdsperiode  $t_x$  varieert van minimaal 11 tot maximaal meer dan 40 dagen en kan bij de hoogste en laagste concentratie niet worden waargenomen. Tabel 7.6 geeft een overzicht van de log-getransformeerde omzettingssnelheden met bijbehorende betrouwbaarheidsinterval en de snelheden na correctie voor sorptie.

Tabel 7.6 : De voor sorptie gecorrigeerde logaritmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{corr.}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in Nieuwersluis-sediment en de verdeling van deze stof over de verschillende fasen

Concentratie (mol/l)	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> %	[diss] <sup>b</sup> %	[ads] <sup>c</sup> %	$\log k_{\text{corr}}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ )
$1.00 \cdot 10^{-3}$	$-5.60 \pm 0.12$	0.00	28.59	71.41	-5.06
$1.00 \cdot 10^{-4}$	$-5.22 \pm 0.22$	0.00	28.59	71.41	-4.68
$9.89 \cdot 10^{-6}$	$-5.13 \pm 0.13$	0.00	28.59	71.41	-4.59
$5.15 \cdot 10^{-6}$	$-4.50 \pm 0.21$	0.00	29.16	70.83	-3.96
$1.00 \cdot 10^{-6}$	$-4.68 \pm 0.09$	0.00	28.59	71.41	-4.13

a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase

b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase

c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment

Omdat de concentratie van de om te zetten verbinding niet opgenomen is in de formule voor sorptie-correctie (7.2) veranderen de onderlinge verschillen in anaërobe omzettingssnelheden hierdoor dus niet.

Ook in geval van microbiële afbraak is de concentratie van het om te zetten substraat van belang [4]:

- hoge concentraties kunnen toxisch zijn voor zowel de bacteriën die zorgen voor de methanogene omstandigheden als voor de organismen die betrokken zijn bij de omzetting; in beide gevallen zal geen reductieve dehalogenering kunnen optreden;
- bij lage concentraties kan groei van de organismen optreden, waardoor de afbraak steeds sneller zal verlopen totdat nagenoeg al het substraat omgezet is;
- bij zeer lage concentraties (< drempelwaarde) kan biodegradatie nauwelijks of niet optreden.

In het eerste en het laatste geval zal ook na verloop van tijd geen versnelde afbraak (biodegradatie) te zien zijn. De resultaten van de hoogste en laagste onderzochte concentraties waarbij  $t_x$  niet wordt waargenomen (tabel 7.5), sluiten hierbij aan. Met name bij de lage concentraties blijft abiotische afbraak een belangrijke omzettingroute.

#### 7.4 Herkomst/aard sediment

Om de invloed van het sediment op de afbraaksnelheid van chloorfenolen in het aquatisch milieu te bestuderen, is 2,4-dichloorfenol geïncubeerd in een negental sediment-water-systemen. Bij de selectie van de te gebruiken sedimenten is voornamelijk gelet op de variatie in organisch koolstofgehalte, daar dit voor een groot gedeelte de mate van sorptie bepaalt en daaraan gekoppeld de mate van beschikbaarheid voor reactie. In tabel 7.1 is een overzicht gegeven van enkele belangrijke karakteristieke parameters van de onderzochte sediment-watersystemen.

Het verschil in de sediment-concentraties van deze mengsels is onderling niet bijzonder groot; minimaal 0.06 en maximaal 0.37 g·g<sup>-1</sup>. Ook het organisch koolstofgehalte verschilde ruwweg een halve orde van grootte, met het Maas-sediment als laagste en het Loosdrechtse Plassen-sediment als hoogste waarde.

In tabel 7.7 is de experimentele omzettingssnelheid gegeven voor 2,4-dichloorfenol, evenals de halfwaardetijd en de karakteristieke adaptatieperiode in de verschillende sedimenten.

Tabel 7.7 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{exp}$ ) van 2,4-dichloorfenol in verschillende sedimenten, met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ )

Sediment	$k_{exp}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x^{**}$ (dagen)	$r^2$	$n$
Son	0.089	8	NW***	0.924	8
Nieuwersluis	0.046	15	12	0.903	5
Loosdrechtse Plassen	0.033	21	NW	0.871	6
Plas Vechten	0.018	39	18	0.856	10
Maas	0.016	43	16	0.808	9
Beaver-Dam	0.015	46	NW	0.992	12
Mengsel	0.007	89	NW	0.687	10
Schoonrewoerdse Wiel	0.007	98	28	0.956	11
Kromme Rijn	----*	--	NW	----	--

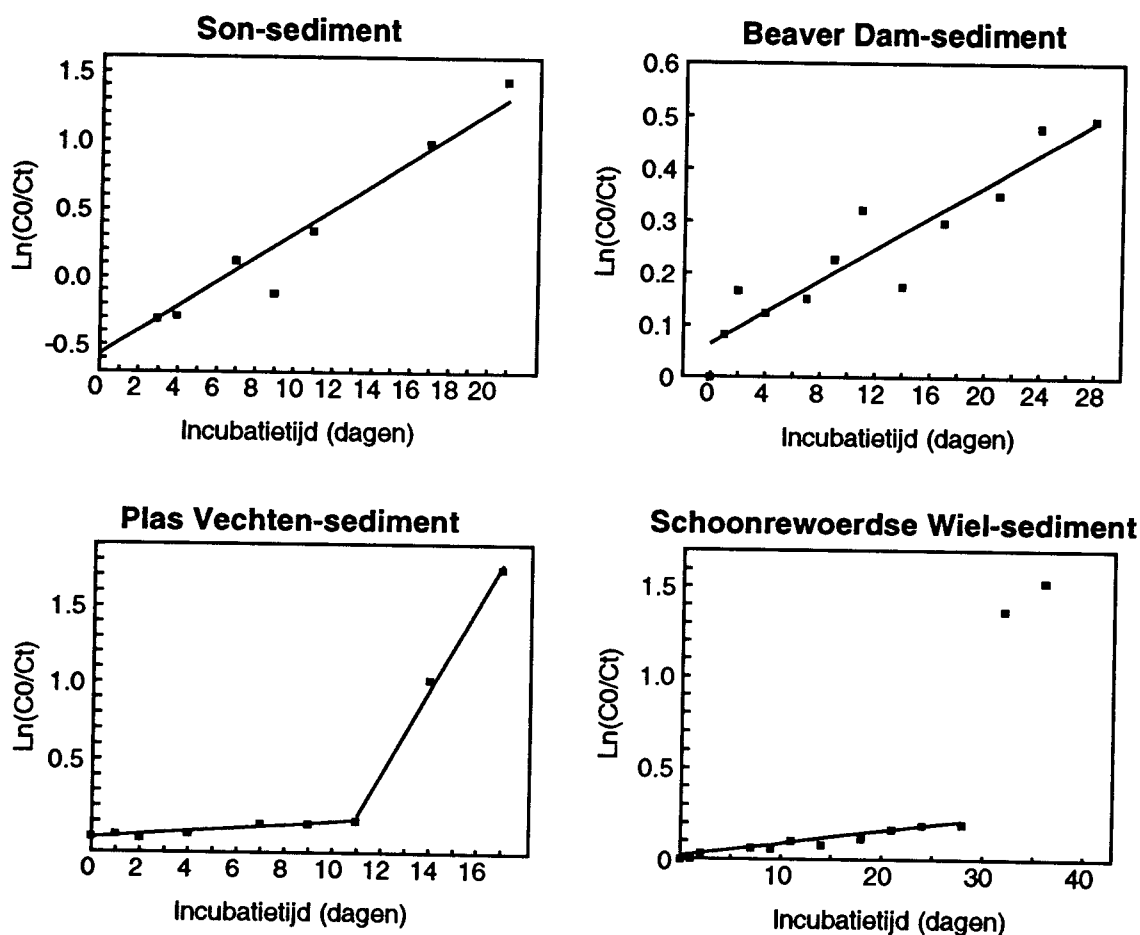
\*: in dit sediment is geen significante afbraak van 2,4-dichloorfenol gevonden gedurende de reactietijd (32 d.)

\*\* :  $t_x$  geeft de benodigde tijdsperiode aan voordat versnelde afbraak plaatsvindt

\*\*\*: NW = periode  $t_x$  niet (significant) waargenomen gedurende de bestudeerde reactietijd

Uit deze tabel blijkt dat de halfwaardetijd varieert van 8 dagen in het Son-sediment tot 98 dagen in het Schoonrewoerdse Wiel-sediment; een maximaal verschil in reactiviteit van ruim een orde van grootte. In het sedimentmengsel afkomstig van Kromme Rijn, werd geen afbraak van 2,4-dichloorfenol aangetoond. Het sediment bleek niet (meer) actief te zijn, mogelijk ten gevolge van aërobie. In deze discussie wordt dit sediment daarom verder buiten beschouwing gelaten.

Verder blijkt uit tabel 7.7 dat niet in alle sedimenten een tweede (versnelde) afbraakproces plaatsvindt, althans niet binnen de onderzochte reactietijd (minimaal 32 dagen). In figuur 7.4 zijn een aantal karakteristieke pseudo-eerste orde afbraakcurves gegeven zoals gemeten in verschillende sediment-watersystemen.



Figuur 7.4 : Een aantal karakteristieke pseudo-eerste orde afbraakcurves van 2,4-dichloorfenol in verschillende sediment-watersystemen

In het Son-sediment wordt 2,4-DCP volledig omgezet door het eerste omzettingsproces. Het tweede omzettingsproces kan niet worden waargenomen, omdat naar alle waarschijnlijkheid de verbinding al geheel is gedehalogeneerd voordat  $t_x$  is bereikt. Een andere mogelijkheid is dat  $t_x$  dusdanig klein is dat de waargenomen omzetting juist het snelle tweede afbraakproces voorstelt, hetgeen impliceert dat in de natuurlijke situatie adaptatie heeft plaatsgevonden.

Ook in het Beaver-Dam sediment vindt alleen het eerste afbraakproces plaats. Dit verloopt echter vrij traag waardoor het niet onwaarschijnlijk is dat op de langere termijn deze eerste degradatieproces overgaat op de tweede.

Daarentegen kan bij de overige twee sediment-mengsels wel een duidelijk versneld afbraakproces worden aangetoond na een periode van respectievelijk 18 en 28 dagen voor Plas Vechten- en Schoonrewoerdse Wiel-sediment (figuur 7.4).

Aangezien in alle negen sediment-mengsels dezelfde verbinding in gelijke concentraties is toegevoegd, worden de verschillen in de afbraaksnelheidsconstanten ( $k$ ) en in de lengte van de waargenomen 'acclimatiserings'perioden ( $t_x$ ) hierdoor niet veroorzaakt. De variabelen  $k$  en  $t_x$  worden echter waarschijnlijk wel beïnvloed door de verschillende sedimenteigenschappen (tabel 7.1) en aan eventuele eerdere blootstelling aan 2,4-DCP of verwante verbindingen. Dit is ook aangetoond in verscheidene andere studies [23,34,70].

Lineaire regressie waarin de log-getransformeerde omzettingssnelheid werd gecorrigeerd aan het log-getransformeerde koolstofgehalte (tabel 7.1) leverde echter geen direct verband op; dit in tegenstelling tot eerder onderzoek naar de dechlorering van hexachloor-ethaan [62]. Tabel 7.8 geeft de voor sorptie gecorrigeerde logarithmen van de afbraaksnelheidsconstanten aan evenals de distributie van 2,4-dichloorfenol over de verschillende fasen.

Tabel 7.8 : De voor sorptie gecorrigeerde logaritmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{corr.}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in de verschillende sedimenten en de verdeling van deze stof over de verschillende fasen

Sediment	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> %	[diss] <sup>b</sup> %	[ads] <sup>c</sup> %	$\log k_{\text{corr}}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ )
Son	-4.21 $\pm$ 0.10	0.00	31.88	68.12	-3.71
Nieuwersluis	-4.50 $\pm$ 0.21	0.00	29.16	70.83	-3.96
Loosdrechtse Plassen	-4.63 $\pm$ 0.04	0.00	17.25	82.75	-3.87
Plas Vechten	-4.91 $\pm$ 0.12	0.01	30.72	69.28	-4.40
Maas	-4.95 $\pm$ 0.16	0.01	59.74	40.25	-4.73
Beaver-Dam	-4.98 $\pm$ 0.10	0.01	54.29	45.71	-4.71
Mengsel	-5.27 $\pm$ 0.21	0.00	36.92	63.07	-4.83
Schoonrewoerdse Wiel	-5.31 $\pm$ 0.06	0.00	17.81	82.19	-4.56
Kromme Rijn	----*	0.00	19.67	80.33	----

\*: in dit sediment is geen significante afbraak van 2,4-dichloorfenol gevonden binnen de incubatietijd

a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase

b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase

c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment

Deze tabel laat zien dat ook na correctie voor sorptie, het verschil tussen de dechloreringsnelheden nagenoeg gelijk blijft. Dit veronderstelt dat binnen een marge van ruwweg een factor 5, de omzettings-snelheden min of meer onafhankelijk zijn van het type sediment.

## **7.5 Sediment-waterverhouding**

Behalve de aard van het sediment is ook de concentratie van het sediment van belang om meer inzicht te krijgen in het anaërobe afbraakproces van organische verbindingen in de bodem en het aquatische milieu. Hiertoe is één sediment-watersysteem de sediment-water-verhouding gevarieerd, waarbij de overige parameters constant gehouden werden (temperatuur, concentratie en structuur van de om te zetten verbinding, aard van het sediment). Tabel 7.9 geeft de resultaten van dit experiment weer.

Tabel 7.9 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{exp.}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in Nieuwersluis-sediment met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode vóór versnelde afbraak ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ ) bij verschillende sediment-waterverhoudingen

S/W-verhouding (g/g)	$k_{\text{exp}}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x$ (dagen)	$r^2$	$n$
1 : 5.2	0.043	16	18	0.985	6
1 : 8.5	0.046	15	12	0.903	5
1 : 10	0.011	65	11	0.909	7
1 : 13	0.022	31	15	0.641	6
1 : 33	0.029	24	29	0.853	9

Deze tabel laat een klein verschil in de afbraaksnelheidsconstanten zien: minimaal 0.011 en maximaal 0.046 per dag. Deze experimentele  $k$ -waarden vertonen op het eerste gezicht geen verband met bijbehorende sediment-water verhoudingen. Het beeld wordt echter enigszins vertekend doordat als gevolg van een groot verschil in sediment-concentratie ook de mate van sorptie verschillend is. In tabel 7.10 zijn de log-getransformeerde snelheidsconstanten hiervoor gecorrigeerd.

Tabel 7.10 : De voor sorptie gecorrigeerde logaritmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{corr.}}$ ) van 2,4-dichloorfenol in Nieuwersluis-sediment met verschillende sediment-water verhoudingen en de verdeling van deze stof over de verschillende fasen

S/W-verhouding (g/g)	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in min <sup>-1</sup> ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> %	[diss] <sup>b</sup> %	[ads] <sup>c</sup> %	$\log k_{\text{corr}}$ ( $k$ in min <sup>-1</sup> )
1 : 5.2	-4.53 $\pm$ 0.06	0.00	17.85	82.15	-3.78
1 : 8.5	-4.50 $\pm$ 0.21	0.00	29.16	70.83	-3.96
1 : 10	-5.13 $\pm$ 0.13	0.00	28.59	71.41	-4.59
1 : 13	-4.81 $\pm$ 0.47	0.00	16.33	83.67	-4.03
1 : 33	-4.70 $\pm$ 0.13	0.01	67.46	32.53	-4.53

- a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase  
b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase  
c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment

Na correctie voor sorptie zijn de verschillen in afbraaksnelheid iets groter geworden, maar belangrijker is dat er nu een trend te zien is waarin de afbraaksnelheid geleidelijk

aan afneemt met afnemende sedimentconcentratie. Gezien het geringe verschil in de snelheidsconstanten en het vrij grote betrouwbaarheidsinterval kan het bovenstaande niet met alle zekerheid vastgesteld worden. Plausibele verklaringen voor deze geconstateerde relatie kunnen zijn:

- bij een hoge sedimentconcentratie treedt sneller anaërobie op; de bacteriën die hier zorg voor dragen, hebben een grotere C-bron tot hun beschikking die ze nodig hebben voor hun metabolisme en waardoor zuurstof gereduceerd wordt tot CO<sub>2</sub>. Als alle zuurstof verbruikt is worden vervolgens respectievelijk nitraat en sulfaat gereduceerd. Hierna zal de redoxpotentiaal verder dalen waardoor - de voor reductie noodzakelijke - methanogene omstandigheden gecreëerd worden;
- bij een hoge sediment-concentratie zijn simpelweg meer 'reagentia' aanwezig, waardoor het afbraakproces sneller kan verlopen.

Wat betreft de 'acclimatiserings'periode  $t_x$  kan gezegd worden dat die in alle gevallen waargenomen is. Ruwweg (binnen het betrouwbaarheidsinterval) blijft deze periode bij de hoge sediment-concentraties gelijk (gemiddeld 14 dagen). Bij de laagste sediment-water verhouding (1 : 33) treedt echter een duidelijke verlenging op ( $t_x = 29$  d.) voordat er versnelde afbraak plaatsvindt. Een mogelijke verklaring hiervoor sluit aan bij de bovengenoemde punten: doordat er eerst anaërobe omstandigheden gecreëerd moeten worden zullen de microorganismen die betrokken zijn bij de reductieve dechlorering - en relatief in een klein aantal aanwezig zijn - zich pas later kunnen ontwikkelen, waardoor de adaptatietijd toeneemt.

## **7.6   Temperatuur**

Gedurende de jaargetijden kunnen de temperaturen in anaërobe sedimenten aanzienlijk variëren. Zo kan de temperatuur van sediment dat direct aan de zon wordt blootgesteld in de zomer oplopen tot 50 °C. Daarentegen kunnen in de winter deze temperaturen dalen tot zo'n 5 °C [25]. Deze fluctuaties kunnen de anaërobe afbraakprocessen van milieu-relevante organische verbindingen in belangrijke mate beïnvloeden. Om het lot van deze toxische stoffen in het milieu te kunnen voorspellen, is het daarom noodzakelijk om de invloed van de temperatuur op anaërobe omzettingssnelheden daarbij te betrekken.

In tabel 7.11 zijn de experimentele omzettingssnelheden en halfwaardetijden voor de reductieve dehalogenering van 2,4,5-trichloorfenol en 2,4-dichloorfenol in anaëroob Nieuwersluis-sediment gegeven als functie van de temperatuur.

Tabel 7.11 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{exp}$ ) met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ )

Verbinding	Temperatuur (°C)	$k_{exp}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x^d$	$r^2$	$n$
2,4,5-TCP	01-06	---- <sup>a</sup>	---	NW <sup>c</sup>	----	16
2,4,5-TCP	11-14	0.009	77	27	0.903	7
2,4,5-TCP	18-22	0.008	85	14	0.983	4
2,4,5-TCP	31-34	0.022	32	11	0.876	7
2,3,6-TCP	03-07	---- <sup>b</sup>	---	27 <sup>c</sup>	----	9
2,3,6-TCP	08-10	---- <sup>b</sup>	---	28	----	9
2,3,6-TCP	13-14	0.013	54	28	0.850	11
2,3,6-TCP	18-22	0.023	30	13	0.855	6
2,3,6-TCP	30-32	0.018	39	19	0.617	7
2,4-DCP	01-06	---- <sup>c</sup>	---	NW	----	18
2,4-DCP	11-14	0.015	45	23	0.828	6
2,4-DCP	18-22	0.011	65	11	0.909	7
2,4-DCP	31-34	0.018	38	NW	0.694	9

- a: onder de gegeven omstandigheden is, binnen de incubatietijd (57 d.), geen significante afbraak van 2,4,5-TCP aangetoond.
- b: onder de gegeven omstandigheden is, binnen de karakteristieke tijdsperiode  $t_x$ , geen significante initiële afbraak van 2,3,6-TCP aangetoond.
- c: onder de gegeven omstandigheden is, binnen de incubatietijd (69 d.), geen significante afbraak van 2,4-DCP aangetoond.
- d:  $t_x$  = karakteristieke tijdsperiode voordat versnelde afbraak plaatsvindt.
- e: NW =  $t_x$  niet (significant) waargenomen binnen de bestudeerde reactietijd.

Uit de in tabel 7.11 gepresenteerde gegevens blijkt - met name de lage - temperatuur een belangrijke invloedsfactor te zijn. Zowel voor 2,4-dichloorfenol als voor 2,4,5-trichloorfenol wordt in de temperatuurrange van 1 tot 6 °C (gemiddeld 4 °C) geen reductieve dehalogenering aangetoond binnen respectievelijk 69 en 57 dagen. Voor 2,4-dichloorfenol werd dit ook aangetoond door Kohring et al. [25]; binnen de temperatuurrange van 5 tot 50 °C kon 2,4-dichloorfenol initieel worden afgebroken tot 4-chloorfenol

waarbij tussen 15 en 30 °C de snelheid exponentieel toenam gevolgd door een "grillige" daling. In het geval van 2,3,6-trichloorfenol wordt bij temperaturen tot 10 °C geen initiële afbraak waargenomen. Wel blijkt daarentegen dat bij deze temperaturen versnelde biotransformatie optreedt na een adaptatieperiode van ongeveer 27 dagen. Verhoging van de temperatuur verkort deze periode enigzins.

Wat betreft de adaptatieperioden alvorens versnelde bioafbraak optreedt, is voor 2,4,5-trichloorfenol een dalende trend te constateren van > 57 naar 11 dagen bij toenemende temperatuur. Voor 2,4-dichloorfenol geldt hetzelfde (een afname van > 69 naar 11 d.), zij het dat bij 31-34 °C deze karakteristieke periode niet meer wordt waargenomen. Kohring et al. [25] namen een soortgelijk verloop waar. In het geval van 2,3,6-trichloorfenol is de daling van adaptatietijd minder spectaculair: van 28 dagen bij temperaturen lager dan 14 °C tot 13 dagen bij 20 °C.

Tabel 7.12 : De voor sorptie gecorrigeerde logaritmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{\text{corr}}$ ) en de verdeling van de desbetreffende verbinding over de verschillende fasen

Verbinding	Temp.* (°C)	$\log k_{\text{exp}} \pm \text{B.I.}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> (%)	[diss] <sup>b</sup> (%)	[ads] <sup>c</sup> (%)	$\log k_{\text{corr}}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ )
2,4,5-TCP	04	----**	0.00	06.56	93.44	----
2,4,5-TCP	13	-5.20 $\pm$ 0.13	0.00	10.45	89.55	-4.22
2,4,5-TCP	21	-5.25 $\pm$ 0.17	0.00	08.76	91.24	-4.19
2,4,5-TCP	32	-4.82 $\pm$ 0.15	0.00	08.76	91.24	-3.76
2,3,6-TCP	04	----**	0.00	24.16	75.84	----
2,3,6-TCP	09	----**	0.00	46.04	53.96	----
2,3,6-TCP	13	-5.05 $\pm$ 0.13	0.00	18.57	81.43	-4.32
2,3,6-TCP	20	-4.79 $\pm$ 0.20	0.00	17.90	82.10	-4.05
2,3,6-TCP	31	-4.90 $\pm$ 0.38	0.00	24.16	75.84	-4.29
2,4-DCP	04	----**	0.00	22.63	77.37	----
2,4-DCP	13	-4.97 $\pm$ 0.23	0.00	32.74	67.26	-4.48
2,4-DCP	21	-5.13 $\pm$ 0.13	0.00	28.59	71.41	-4.59
2,4-DCP	32	-4.89 $\pm$ 0.19	0.00	28.59	71.41	-4.35

\*: gemiddelde temperatuur

\*\* : in dit sediment is geen significante afbraak aangetoond

a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase

b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase

c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment

De temperatuur blijkt niet zo van invloed te zijn op het sorptiegedrag van chloorfenolen, waardoor de snelheidsconstanten na correctie relatief niet veranderen (tabel 7.12). In het milieurelevante temperatuurtraject (ruwweg van 5 tot 20 °C) speelt de temperatuur een belangrijke rol bij de afbraak van chloorfenolen en andere haloaromaten in het anaërobe milieu. De temperatuur beïnvloedt enerzijds direct het chemische dehalogeneringsproces als gevolg van een energetisch effect, anderzijds beïnvloedt de temperatuur in het microbiologische proces zowel de samenstelling en de activiteit van de anaërobe microorganismen als de enzym-gekatalyseerde reactie.

## 7.7    pH

Verbindingen die kunnen ioniseren staan onder sterke invloed van de pH, terwijl neutrale verbindingen nauwelijks worden beïnvloed [75]. Zwakke zuren en zwakke basen blijken de grootste gevoeligheid te vertonen voor pH-veranderingen in de range zoals die normaal voorkomt in bodem en oppervlaktewater (pH 4.5-7.5). De algemene regel is dat de neutrale vorm van een zuur sterker adsorbeert dan het anion. Voor organische zuren beginnen adsorptieprocessen een belangrijke rol te spelen wanneer de pH van de oplossing zo'n 1 à 1.5 eenheid hoger is dan de  $pK_a$ -waarde van het desbetreffende zuur.

Om de invloed van de pH te bestuderen in anaërobe sediment-watersystemen is 2,4-dichloorfenol in twee sediment-mengsels bij vier verschillende pH's geïncubeerd. Deze sedimenten hadden van nature een pH van 6.5 (Nieuwersluis) en 4.8 (Son). Bovendien zijn - als referentie - dezelfde handelingen uitgevoerd voor 1-chloor-4-jood-benzeen; eveneens een haloaromaat die echter niet kan ioniseren. Tabel 7.13 geeft de resultaten van deze experimenten weer.

Tabel 7.13 : De experimenteel bepaalde afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{exp.}$ ) met bijbehorende halfwaardetijd ( $t_{1/2}$ ), de karakteristieke tijdsperiode ( $t_x$ ), de correlatiecoëfficiënt van de regressielijn ( $r^2$ ) en het aantal meetpunten ( $n$ )

Verbinding	Sed.	pH-range	$k_{exp}$ (dag <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (dagen)	$t_x^a$ (dagen)	$r^2$	$n$
2,4-DCP	N.S.	4.1 - 5.2	0.003	214	NW <sup>b</sup>	0.947	9
2,4-DCP	N.S.	5.3 - 5.8	0.003	211	21	0.899	8
2,4-DCP	N.S.	6.4 - 6.6	0.011	65	11	0.909	7
2,4-DCP	N.S.	6.7 - 7.8	0.018	38	NW	0.936	6
1Cl-4I-benzeen	N.S.	4.9 - 5.1	0.003	240	NW	0.841	9
1Cl-4I-benzeen	N.S.	5.5 - 5.8	0.009	80	NW	0.883	13
1Cl-4I-benzeen	N.S.	6.4 - 6.8	0.023	31	NW	0.855	12
1Cl-4I-benzeen	N.S.	6.7 - 7.8	0.026	26	NW	0.964	14
2,4-DCP	Son	4.7 - 4.9	0.089	8	NW	0.924	8
2,4-DCP	Son	4.7 - 5.7	0.016	42	20	0.840	7
2,4-DCP	Son	6.7 - 6.9	0.014	51	24	0.784	11
2,4-DCP	Son	7.3 - 8.0	NG <sup>c</sup>	NG	NG	NG	NG
1Cl-4I-benzeen	Son	4.5 - 4.9	0.005	128	NW	0.661	10
1Cl-4I-benzeen	Son	4.7 - 5.8	0.009 <sup>d</sup>	79	NW	0.940	8
1Cl-4I-benzeen	Son	6.8 - 7.0	0.019 <sup>d</sup>	37	NW	0.701	14
1Cl-4I-benzeen	Son	7.9 - 8.0	0.401 <sup>d</sup>	2	NW	0.912	6

a:  $t_x$  = karakteristieke periode voordat versnelde afbraak plaatsvindt

b: NW =  $t_x$  niet (significant) waargenomen tijdens de bestudeerde reactietijd

c: NG = deze serie is niet gemeten a.g.v. een te hoge concentratie aan opgeloste humuszuren waardoor problemen bij de HPLC-analyse optraden

d: deze series zijn in enkelvoud gemeten om vervuiling van de HPLC-kolom zoveel mogelijk te beperken

In Nieuwersluis-sediment neemt de afbraaksnelheid toe met stijgende pH. Voor beide verbindingen is deze toename ongeveer gelijk en het maximale snelheidsverschil blijft kleiner dan één orde van grootte.

Ook in het Son-sediment geldt voor 1-chloor-4-jood-benzeen dat de anaërobe afbraaksnelheid toeneemt bij stijgende pH. Voor 2,4-dichloorfenol lijkt echter het omgekeerde het geval: bij een pH van 4.8 wordt 2,4-dichloorfenol het snelst gede-chloreerd tot 4-chloorfenol met een halfwaardetijd van slechts 8 dagen.

Voor 2,4-dichloorfenol wordt in de helft van de gevallen een versnelde afbraak waargenomen na 11 tot maximaal 24 dagen. Deze versnelling wordt niet aangetoond voor 1-

chloor-4-joodbenzeen. Waarschijnlijk zijn voor de dehalogenering van 1-chloor-4-joodbenzeen weer andere micro-organismen betrokken dan voor 2,4-dichloorfenol.

Uit de resultaten van tabel 7.13 blijkt dat, onafhankelijk van de  $pK_a$ -waarde en dus onafhankelijk van het feit of de om te zetten verbinding zich in de gedissocieerde of geassocieerde (adsorberende) vorm bevindt, de omzettingssnelheid van 2,4-dichloorfenol een maximum vertoont rondom de natuurlijke pH-waarde van het desbetreffende sediment. De  $pK_a$  van 2,4-dichloorfenol (7.85) is echter nog dusdanig hoog dat de invloed van dissociatie/associatie niet erg groot kan zijn.

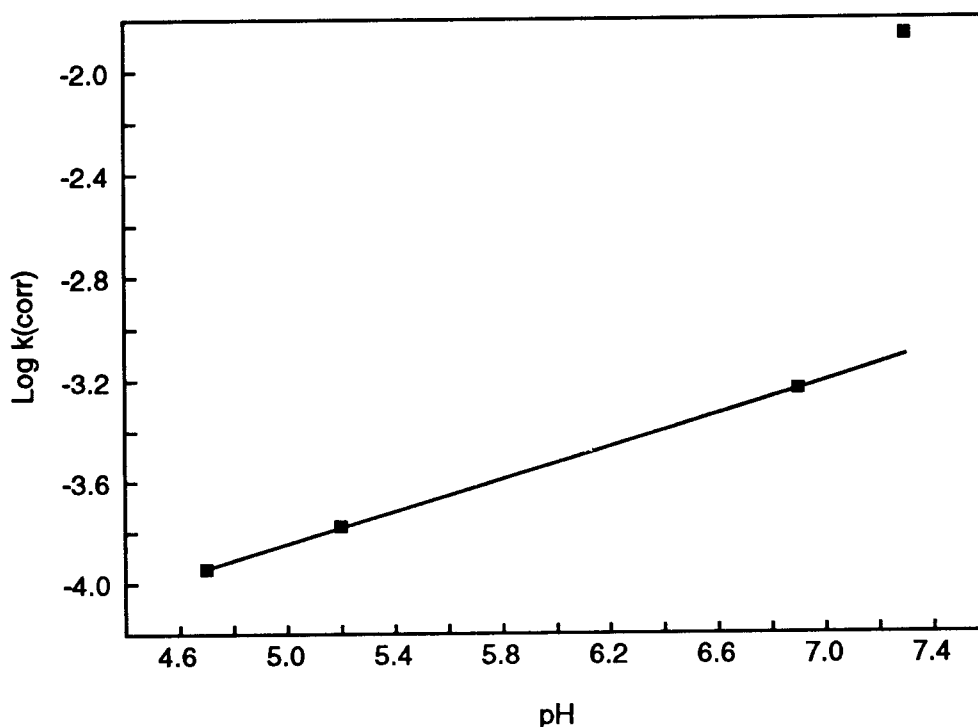
Tabel 7.14 : De voor sorptie gecorrigeerde logaritmen van de afbraaksnelheidsconstanten ( $k_{corr.}$ ) in Nieuwersluis- en Son-sediment met verschillende pH-waarden en de verdeling van de verbindingen over de verschillende fasen

Verbinding	Sed.	pH (gem.)	$\log k_{exp} \pm$ B.I. ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ ) (90%)	[gas] <sup>a</sup> %	[diss] <sup>b</sup> %	[ads] <sup>c</sup> %	$\log k_{corr}$ ( $k$ in $\text{min}^{-1}$ )
2,4-DCP	N.S.	4.5	$-5.65 \pm 0.07$	0.00	28.87	71.12	-5.12
2,4-DCP	N.S.	5.5	$-5.64 \pm 0.12$	0.00	39.23	60.77	-5.24
2,4-DCP	N.S.	6.5	$-5.13 \pm 0.13$	0.00	28.59	71.41	-4.59
2,4-DCP	N.S.	7.0	$-4.90 \pm 0.12$	0.00	36.53	63.47	-4.46
1Cl-4I-benzeen	N.S.	5.0	$-5.70 \pm 0.14$	0.05	03.71	96.24	-4.27
1Cl-4I-benzeen	N.S.	5.6	$-5.22 \pm 0.09$	0.07	05.77	94.16	-3.98
1Cl-4I-benzeen	N.S.	6.5	$-4.81 \pm 0.10$	0.05	03.87	96.08	-3.39
1Cl-4I-benzeen	N.S.	7.0	$-4.74 \pm 0.04$	0.06	05.17	94.77	-3.45
2,4-DCP	Son	4.8	$-4.21 \pm 0.10$	0.00	31.88	68.12	-3.71
2,4-DCP	Son	5.2	$-4.95 \pm 0.18$	0.00	28.58	71.42	-4.40
2,4-DCP	Son	6.8	$-5.02 \pm 0.14$	0.00	19.63	80.37	-4.32
2,4-DCP	Son	7.5	NG <sup>d</sup>	--	--	--	NG
1Cl-4I-benzeen	Son	4.7	$-5.42 \pm 0.22$	0.04	03.33	96.62	-3.95
1Cl-4I-benzeen	Son	5.2	$-5.22 \pm 0.09$	0.05	03.65	96.30	-3.78
1Cl-4I-benzeen	Son	6.9	$-4.88 \pm 0.15$	0.03	02.26	97.70	-3.24
1Cl-4I-benzeen	Son	7.9	$-3.56 \pm 0.15$	0.03	02.02	97.95	-1.86

- a: [gas] = percentage van de verbinding in de gasfase  
b: [diss] = percentage van de verbinding in de waterfase  
c: [ads] = percentage van de verbinding dat geadsorbeerd is aan het sediment  
d: NG = niet gemeten

In tabel 7.14 zijn de afbraaksnelheidsconstanten van beide verbindingen gecorrigeerd voor sorptie. Aangezien bij deze correctie geen rekening is gehouden met de pH van het sediment-watersysteem blijven de onderlinge verschillen ongeveer hetzelfde. De verschillen tussen beide aromaten worden daarentegen wel groter, daar 1-chloor-4-jood-benzeen met name een grotere  $K_{ow}$  heeft.

In figuur 7.5 zijn ter illustratie de log-getransformeerde afbraaksnelheidsconstanten van 1-chloor-4-jood-benzeen uitgezet als functie van de gemiddelde pH van het Son-sediment.



Figuur 7.5 : Een karakteristieke curve voor 1-chloor-4-jood-benzeen waarin de voor sorptie gecorrigeerde logarithme van de afbraaksnelheidsconstante is uitgezet als functie van de pH in Son-sediment

Uit deze curve blijkt dat  $\log k_{corr}$  lineair toeneemt in het pH-traject van 4.7 tot 6.9, waarna een duidelijke versnelling optreedt. Deze snelheidstoename duidt waarschijnlijk op basische hydrolyse: boven een pH van ongeveer 7, is de concentratie aan OH-ionen dusdanig hoog dat het joodatoom gesubstitueerd wordt door een hydroxylgroep en 4-chloorfenol gevormd wordt. Deze snelle reactie kon echter niet worden aangetoond omdat tijdens analyse niet naar deze verbinding gekeken is. Het is mogelijk dat - bij een hoge

pH - basische hydrolyse een belangrijke omzettingroute vormt voor andere haloaromaten, maar dit valt buiten de scope van dit onderzoek.

Een complicatie die optreedt bij de poging om de pH-afhankelijkheid van anaërobe omzettingssnelheden te onderzoeken, is dat de pH ook de concentraties beïnvloedt van de reducerende agentia die betrokken zijn bij de abiotische reductieve dehalogenering. pH-afhankelijkheid wordt dus in sommige gevallen wel waargenomen, maar kan tot op heden niet eenduidig worden verklaard mede doordat de identiteit van de actieve reducerende agentia nog niet bekend is. Wolfe et al. [76] rapporteerden dat er binnen de natuurlijke pH-range geen pH-afhankelijkheid kon worden waargenomen voor de reductie van methyl parathion in sediment-watersystemen.

In deze experimenten is, in de pH-range van ruwweg 5.5 - 7.5, de pH-invloed inderdaad beperkt. Buiten deze range treedt een aanzienlijke versnelling of vertraging van de afbraak op afhankelijk van de natuurlijke pH van het sediment.

## 8 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Met behulp van de uitgevoerde experimenten, aangevuld met wat er in de literatuur is gepubliceerd over chloorfenolen en reductieve dehalogenering, is meer inzicht verkregen in de factoren die de anaërobe afbraak van haloaromaten beïnvloeden.

Onder anaërobe omstandigheden kunnen chloorfenolen reductief gedehalogeneerd worden; een afbraakreactie waar zowel abiotische als biotische processen bij betrokken zijn. Door het optreden van deze omzetting kunnen de concentraties van bovengenoemde verbindingen in het anaërobe milieu aanzienlijk worden verminderd. De dehalogenerings-snelheid blijkt echter in belangrijke mate te worden beïnvloed door verschillende stof- en milieugerelateerde factoren:

1. - de structuur van de om te zetten verbinding is een belangrijke invloedsfactor: de vorm van het molecuul met daaraan het type, aantal maar vooral de plaats van de substituenten bepalen namelijk de potentiële snelheid van de dehalogeneringsreactie (intrinsieke reactiviteit);
2. - de concentratie is een relevante invloedsfactor wanneer deze - bijvoorbeeld in geval van accumulatie - een kritische waarde overschrijdt (ongeveer 1 mM): boven deze waarde treedt een duidelijke vertraging van de afbraak op en kan de afbraak zelfs geheel tot stilstand komen, doordat deze concentratie toxisch is voor de organismen die de anaërobe omstandigheden bewerkstelligen dan wel toxisch is voor de microorganismen die betrokken zijn in het dehalogeneringsproces.
3. - het sediment zelf en de sediment-waterverhouding hebben slechts een beperkte invloed op de anaërobe afbraaksnelheid;
4. - ook de pH-invloed is gering binnen het milieurelevante pH-traject (5.5 - 7.5);
5. - de temperatuur is de belangrijkste (meest milieurelevante) invloedsfactor op de anaërobe afbraaksnelheid: bij lage temperaturen van het sediment ( $< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) treedt een dusdanige snelheidsafname op, dat het niet ondenkbaar is dat onder bepaalde (winterse) omstandigheden er in het geheel geen sprake zal zijn van significante afbraak. Voor een gedeelte wordt dit veroorzaakt doordat bij deze lage

temperaturen de microbiële activiteit dermate laag is dat de sediment-suspensie aëroob is en reductieve dehalogenering dus niet kan optreden.

Aanbevolen wordt om bovengenoemde invloedsfactoren verder te onderzoeken en hierbij ook andere verbindingen te betrekken.

Extra aandacht verdient de temperatuur-parameter, waar meer verschillende en meerdere milieurelevante temperaturen (bijvoorbeeld 8 °C - de vrijwel constante temperatuur van het diepe grondwater) onderzocht dienen te worden.

Tenslotte is het aan te bevelen om de effecten van de pH op anaërobe omzettingssnelheden uitvoeriger te onderzoeken, met name met die haloaromaten die een pKa hebben tussen de 3 en 5. Momenteel is het effect van de pH op de reductieve dehalogenering nog niet eenduidig te verklaren en kunnen - in een basisch milieu - ook basische hydrolyseprocessen mogelijk relevant zijn.

Wanneer er meer gegevens beschikbaar zijn omtrent bovengenoemde invloedsfactoren, is het wellicht mogelijk om het tot nu toe verkregen inzicht te gebruiken voor het corrigeren van de experimenteel gemeten omzettingssnelheden. Op deze manier kunnen dan de (met QSARs) voorspelde omzettingssnelheden beter geëxtrapoleerd worden naar werkelijke anaërobe omstandigheden zoals die in het milieu voorkomen.

## LITERATUUR

1. **Peijnenburg, W.J.G.M.**, 'Afbraak van organische verbindingen in anaërobe sedimenten; de invloed van milieufactoren op anaërobe omzettingssnelheden'. In: *Kontaminanten in bodems en sediment; sorptie en biologische beschikbaarheid. Proceedings van het symposium gehouden op 29 april 1993 te Ede.*, in press.
2. **Slooff, W. et al.**, *Basisdocument chloorfenolen*, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1990 (RIVM-rapport nr. 710401003).
3. **Peijnenburg, W.J.G.M.**, 'De waterbodem als chemisch reactievat en bioreactor; Relatie tussen chemische structuur en anaërobe omzettingssnelheid'. In: *Waterbodems, te vies om aan te pakken?; Proceedings van het symposium gehouden op 20 en 21 februari 1992 te Ede*, Den Haag, 1992, p. 124-133 (KNCV Symposia-reeks nr. 5).
4. **Neilson, A.H.**, 'A Review; the biodegradation of halogenated compounds', *J. Appl. Bact.* 69 (1990), p. 445-470.
5. **Wolfe, N.L. en D.L. Macalady**, 'New perspectives in aquatic redox chemistry: Abiotic transformations of pollutants in groundwater and sediments', *J. Contam. Hydrol.* 9 (1992), p. 17-34.
6. **Rinke, M. en C. Zetzsch**, 'Rate constants for the reaction of the OH radicals with aromatics: benzene, phenol, aniline and 2,4,5-trichlorobenzene', *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 88 (1984), p. 83-93.
7. **Bunce, N.J. et al.**, 'Laboratory experiments to assess the importance of photochemical transformation during atmospheric transport of chlorinated pollutants', *Paper presented at the 80-th Annual Meeting of APCA, June 21-26 1987, New York*, 1987, Paper 87-96.2.
8. **Nojima, K. en S. Kanno**, 'Studies on the photochemistry of aromatic hydrocarbons VII; Photochemical reaction of p-dichlorobenzene with nitrogenoxides in air', *Chemosphere* 9 (1980), p. 437-440.
9. **Murthy, N.B.K. et al.**, 'Degradation of pentachlorophenol (PCP) in aerobic and anaerobic soil', *J. Environ. Sci. Health.* B14 (1979), p. 1-14.
10. **Lagas, P. et al.**, *Gedrag en effecten van chloorfenolen in de bodem*, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1988 (RIVM-rapport nr. 728603003).
11. **Karickhoff, S.W.**, 'Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils', *Chemosphere* 10 (1981), p. 833-846.

12. **Lagas, P.**, 'Sorption of chlorophenols in the soil', *Chemosphere* 17 (1988) 2, p. 205-216.
13. **Schellenberg, K. et al.**, 'Sorption of chlorinated phenols by natural sediments and aquifer materials', *Environ. Sci. Technol.* 18 (1984), p. 652-657.
14. **Westall, J.C. et al.**, 'Influence of pH and ionic strength on the aqueous-nonaqueous distribution of chlorinated phenols', *Environ. Sci. Technol.* 19 (1985), p. 193-198.
15. **Erickson, D.C. et al.**, 'Abiotic loss of chemicals in soil', *Hazard. Waste Hazard. Mater.* 5 (1988), p. 121-128.
16. **Kaufmann, D.D.**, 'Degradation of pentachlorophenol in soil, and by soil organisms', *Environ. Sci. Res.* 12 (1978), p. 27-39.
17. **Verschoor, A.J. et al.**, *Biologische reiniging van grond vervuild met pentachloorfenol volgens de landfarming-methode*, ICW, Wageningen, 1988 (ICW nota 1932).
18. **Kuwatsuka, S. en M. Igarashi**, 'Degradation of PCP in soils II; The relationship between the degradation of PCP and the properties of soils, and the identification of the degradation products of PCP', *Soil Sci. Plant Nutr.* 21 (1975), p. 405-414.
19. **Gibson, S.A. en J.M. Suflita**, 'Extrapolation of biodegradation results to groundwater aquifers: reductive dehalogenation of aromatic compounds', *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (1986), p. 681-688.
20. **Reineke, W.**, 'Microbial degradation of halogenated aromatic compounds. In: Gibson, D.T. (ed.), *Microbial degradation of organic compounds*, Vol. 13 (1984), p. 319-361.
21. **Banerjee, S.**, 'Interrelationship between biodegradability, toxicity and structure of chlorophenols. In: Kaiser, K.L.E. (ed.), *QSAR in Environmental Toxicology - II*, (1987) p. 17-23.
22. **Ide, A. et al.**, 'Decomposition of pentachlorophenol in paddy soil', *Agric. Biol. Chem.* 35 (1972), p. 306-316.
23. **Zhang, X. en J. Wiegel**, 'Sequential anaerobic degradation of 2,4-dichlorophenol in freshwater sediments', *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990), p. 119-1127.
24. **Tiedje, J.M. et al.**, 'Anaerobic degradation of chlorinated aromatic hydrocarbons', *Dev. Ind. Microbiol.* 27 (1987), p. 117-127.
25. **Kohring, G.-W. et al.**, 'Anaerobic biodegradation of 2,4-dichlorophenol in freshwater lake sediments at different temperatures', *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), p. 348-353.

26. **Mohn, W.W. en J.M. Tiedje**, 'Strain DCB-1 conserves energy for growth for reductive dechlorination coupled to formate oxidation', *Arch. Microbiol.* 153 (1990), p. 267-271.
27. **Keith, L.H. en W.A. Telliard**, 'Priority pollutants. I. A perspective view', *Environ. Sci. Technol.* 13 (1979), p. 416-423.
28. **Ettinger, M.B. en C.C. Ruchhoft**, 'Persistence of chlorophenols in polluted river waters and sewage dilutions', *Sewage Ind. Wastes* 22 (1950), p. 1214-1217.
29. **Schauerle, W. et al.**, 'Long-term fate of organochlorine xenobiotics in aquatic ecosystems', *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 5 (1982), p. 560-569.
30. **Suflita, J.M et al.**, 'Anaerobic biodegradations of pollutant chemicals in aquifers', *J. Ind. Microbiol.* 3 (1988), p. 179-194.
31. **Young, L.Y.**, 'Anaerobic degradation of aromatic compounds'. In: Gibson D.T. (ed.), *Microbial degradation of organic compounds*, M. Dekker, Inc., New York, 1984, p. 487-523.
32. **Vogel, T.M. et al.**, 'Transformations of halogenated aliphatic compounds', *Environ. Sci. Technol.* 21 (1987), p. 722-736.
33. **Boyd, S.A. et al.**, 'Anaerobic biodegradation of phenolic compounds in digested sludge', *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (1983), p. 50-54.
34. **Boyd, S.A. en D.R. Shelton**, 'Anaerobic biodegradation of chlorophenols in fresh and acclimated sludge', *Appl. Environ. Microbiol.* 47 (1984), p. 272-277.
35. **Mikesell, M.D. en S.A. Boyd**, 'Complete reductive dechlorination and mineralization of pentachlorophenol by anaerobic microorganisms', *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (1986), p. 861-865.
36. **Genthner, B.R.S. et al.**, 'Anaerobic degradation chloroaromatic compounds in aquatic sediments under a variety of enrichment conditions', *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), p. 1466-1476.
37. **Bosma, T.N.P. et al.**, 'Reductive dechlorination of all trichloro- and dichlorobenzene isomers', *FEMS Microbial Ecology* 53 (1988), p. 223-229.
38. **Fatherpure, B.Z. et al.**, 'Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri- and dichlorobenzenes in anaerobic sewage sludge', *Appl Environ. Microbiol.* 54 (1988), p. 327-330.
39. **Suflita, J.M. et al.**, 'Dehalogenation: A novel pathway for the anaerobic biodegradation of haloaromatic compounds', *Science* 218 (1982), p. 1115-1117.

40. **Stevens, T.O. et al.**, 'Physiological characterization of strain DCB-1, a unique dehalogenating sulfidogenic bacterium', *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (1988), p. 2938-2943.
41. **Struijs, J. en J.E. Rogers**, 'Reductive dehalogenation of dichloroanilines by anaerobic microorganisms in fresh and dichlorophenol-acclimated pond sediment', *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), p. 2527-2531.
42. **Attaway, H.H. et al.**, 'Dehalogenation of selected phenylurea herbicides by anaerobic pond sediment', *J. Environ. Sci. Health B17* (1982), p. 683-699.
43. **Yamada, T. en T. Suzuki**, 'Occurrence of reductive dechlorination products in a paddy field soil treated with CNP (chloronitrofen)', *J. Pestic. Sci.* 8 (1983), p. 437-443.
44. **Suflita, J.M. et al.**, 'Dechlorination of (2,4,5-trichlorophenoxy) acetic acid by anaerobic microorganisms', *J. Agric. Food Chemistry* 32 (1984), p. 218-221.
45. **Hakulinen, R. en M. Salkinoja-Salonen**, 'Treatment of pulp and paper industry wastewaters in an anaerobic fluidized bed reactor', *Process Biochem.* 27 (1982), nr. 2, p. 18-22.
46. **Horowitz, A. et al.**, 'Anaerobic degradation of aromatic compounds in sediments and digested sludge', *Dev. Indust. Microbiol.* 23 (1982), p. 435-444.
47. **Guthrie, M.A. et al.**, 'Pentachlorophenol biodegradation II', *Water Res.* 18 (1984), p. 451-461.
48. **Bollag, J.-M. en S. Russel**, 'Aerobic versus anaerobic metabolism of halogenated anilines by a *Paracoccus* sp', *Appl. Environ. Microbiol.* 3 (1976), p. 65-73.
49. **Genthner, B.R.S. et al.**, 'Characterization of anaerobic dechlorinating consortia derived from aquatic sediments', *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), p. 1472-1476.
50. **Linkfield, T.G. et al.**, 'Characterization of the acclimation period before anaerobic dehalogenation of halobenzoates', *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), p. 2773-2778.
51. **Reinhard, M. et al.**, 'Reduction of haloacetic hydrocarbons by natural sediments and minerals under anaerobic conditions'. *Int. Congr. Pac. Basin Soc., Honolulu, HI, Dec. 17-22, 1989* (abstract).
52. **Gantzer, C.J. en L.P. Wackett**, 'Reductive dechlorination catalyzed by bacterial transition-metal coenzymes', *Environ. Sci. Technol.* 25 (1991), p. 715-722.
53. **Wong, A.S. en D.G. Crosby**, 'Photodecomposition of pentachlorophenol in water', *J. Agric. Food Chem.* 29 (1981), p. 125-130.

54. **Suflita, J.M.**, 'Factors influencing the reductive dehalogenation of haloorganic pollutants'. In: *Driving force in the environment. Proceedings 197th National Meeting, American Chemical Society, Dallas TX, April 9-14 1989*, Vol. 29 (1989) nr. 1, p. 90-91 (paper no. 47).
55. **Hoorstra, J.S.**, 'Structuur-activiteitsrelaties bij de beoordeling van milieurisico's: niet ideaal, wel nuttig', *H<sub>2</sub>O* 21 (1988), p. 636-639.
56. **Walton, B.T. en T. Mill**, 'Structure-activity relationships in environmental toxicology and chemistry', *Environ. Toxicol. Chem.* 7 (1988), p. 403-404.
57. **Nirmalakhandan, N. en R.E. Speece**, 'Structure-activity relationships; Quantitative techniques for predicting the behavior of chemicals in the ecosystem', *Environ. Sci. Technol.* 22 (1988), p. 606-615.
58. **Borman, S.**, *Chemical & Engineering News* 20 (1990).
59. **Peijnenburg, W.J.G.M.**, *Beoordelingssysteem nieuwe stoffen: Schattingsroutes voor omzettingssnelheden*, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1989 (RIVM-rapport nr. 718708001).
60. **Hansch, C. en T. Fujita**, *J. Am. Chem. Soc.* 17 (1964), p. 1616-1626.
61. **Hermens, J.L.M. en A. Opperhuizen (ed.)**, *QSAR in environmental toxicology -IV; Proc. 4th Int. Workshop, 16-20 Sept. 1990*, Elsevier, Amsterdam, 1991.
62. **Peijnenburg W.J.G.M. et al.**, *The development of a structure-activity relationship for the reduction of halogenated aliphatic hydrocarbons in anaerobic sediment-water systems*, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1989 (RIVM-rapport nr. 718817002).
63. **Peijnenburg, W.J.G.M. et al.**, *The development of a structure-activity relationship for the reduction of halogenated aromatic hydrocarbons in anaerobic sediment-water systems*, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1990 (RIVM-rapport nr. 718907002).
64. **Peijnenburg, W.J.G.M. et al.**, 'Reductive transformations of halogenated aromatic hydrocarbons in anaerobic water-sediment systems: Kinetics, mechanisms and products', *Environ. Toxicol. Chem.* 11 (1991), p. 289-300.
65. **Peijnenburg, W.J.G.M. et al.**, 'QSARs for predicting reductive transformation rate constants of halogenated aromatic hydrocarbons in anoxic sediment systems', *Environ. Toxicol. Chem.* 11 (1991), p. 301-314.
66. **Weber, E.J. en N.L. Wolfe**, 'Kinetic studies of the reduction of aromatic azo compounds in anaerobic sediment/water systems', *Environ. Toxicol. Chem.* 6 (1987), p. 911-919.

67. Mackay, D. et al., 'Evaluating the environmental behavior of chemicals with a level III fugacity model', *Chemosphere* 14 (1985) nr. 3/4, p. 335-374.
68. SOP nr. ECO/084/02; Voorschrift voor de bepaling van de pseudo-eerste orde omzettingssnelheid van organische verbindingen in anaërobe sediment-water mengsels, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven, 1993, 6 p.
69. Bos, D.J.P. et al., *Statistische tabellen*, J. Dijkstra, Groningen, p. 35.
70. Hale, D.D. et al., 'Reductive dechlorination of dichlorophenols by nonadapted and adapted microbial communities in pond sediments', *Microb. Ecol.* 20 (1990), p. 185-196.
71. Carey, J.H. en M.E. Fox, 'Anaerobic degradation of chlorophenols in soils and sediments', *Abstracts, 68th Annual Conference*, Chemical Institute of Canada, p. 41.
72. Madson, T. en J. Aamand, 'Anaerobic transformation and toxicity of trichlorophenols in a stable enrichment culture', *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992), p. 557-561.
73. Horowitz, A. et al., 'Reductive dehalogenation of halobenzoates by anaerobic lake sediment microorganisms', *Appl. Environ. Microbiol.* 45 (1983), p. 1459-1465.
74. Kuhn, E.P. en J.M. Suflita, 'Sequential reductive dehalogenation of chloroanilines by microorganisms from a methanogenic aquifer', *Environ. Sci. Technol.* 23 (1989), p. 348-352.
75. Lyman, W.J., 'Adsorption coefficients for soils and sediments'. In: Lyman, W.J. et al. (ed.), *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*, McGraw-Hill, New York, 1982, p. 4-1 - 4-33.
76. Wolfe, N.L. et al., 'Physical and chemical factors that influence the anaerobic degradation of methyl parathion in sediment systems', *Environ. Toxicol. Chem.* 6 (1987), p. 827-837.

**BIJLAGE I: Apparatuurgegevens en analyseomstandigheden***HPLC-systeem:*

- Pomp: CM 4000, Milton Roy
- Autosampler: Promis, Spark Holland
- U.V.-detector: SM 4000, Milton Roy

*Gebruikte HPLC-kolommen:*

- Chromsper 5 Pesticides, 100 \* 3 mm, Chrompack
- Vydac 201 TPB-5, 100 \* 3 mm, Chrompack
- PRP-1, 150 \* 4,1 mm, Hamilton
- Lichrosorb RP18, 7  $\mu$ m, 100 mm

*HPLC-omstandigheden:*

- Eluens: Acetonitril/Milli Q water pH 4
- Injectievolume: 30-35  $\mu$ L
- Golflengte: 215-230 nm

*Overige gebruikte apparatuur:*

- Centrifuge: Minifuge GL 4400  
Heraeus Ghrist
- pH-meter: E 603  
Metrohm Herisau, Zwitserland