

De droom van elke waterbehandelaar: QSAR's?

Roberta Hofman (KWR), Jan Peter van der Hoek (Waternet; TU Delft)

Het is ondoenlijk om voor elk nieuw stofje in bronnen voor drinkwater testen uit te voeren om na te gaan hoe dit stofje het beste verwijderd zou kunnen worden. Mogelijk bieden nieuwe rekenkundige methoden, waarmee statistisch verbanden tussen bijvoorbeeld eigenschappen en gedrag van een stof worden berekend (QSAR's), hier uitkomst. QSAR's staan nog in de kinderschoenen; er is nog veel validatie nodig en dat vereist weer heel veel goed gedocumenteerde data. KWR verkent de mogelijkheden om al deze data in een internationale database te gaan verzamelen.

Analysetechnieken kunnen steeds meer stoffen in steeds lagere concentraties meten. Bovendien worden er steeds meer stoffen op de markt gebracht, die uiteindelijk in het water belanden. Er worden dan ook voortdurend nieuwe stoffen in bijvoorbeeld afvalwater of bronnen voor drinkwater aangetroffen. Dat leidt automatisch tot vragen als 'vormen deze stoffen een risico voor het milieu of de gezondheid', 'moeten ze uit het water verwijderd worden', en 'zo ja, hoe dan?' Om voor elk nieuw type molecuul testen uit te voeren in laboratoria of in pilot-opstellingen is veel te duur. Daarom zijn wetenschappers naarstig op zoek naar alternatieve methoden. Als je beschikt over een grote set data met eigenschappen van moleculen en hun gedrag in bepaalde omstandigheden, kun je proberen statistisch vast te stellen welke eigenschappen corresponderen met welk gedrag. Bij een nieuw type molecuul hoef je dan alleen informatie over die eigenschappen te verzamelen, om te kunnen voorspellen hoe het zich zal gedragen. Een dergelijke onderzoeksmethode, gebaseerd op het gebruik van computermodellen, wordt *in silico* genoemd, naar analogie van *in vivo* en *in vitro*. Zo'n statistische relatie tussen eigenschappen en activiteit of gedrag noemt men een Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) of een Quantitative Structure Property Relationship (QSPR). Het verschil tussen QSAR's en QSPR's is klein, en in het vervolg van dit artikel bedoelen we met de term 'QSAR' steeds beide.

De laatste jaren zijn QSAR's steeds meer in de belangstelling komen te staan. Vooral in de waterzuivering zouden QSAR's erg nuttig kunnen zijn. Daarom organiseerde KWR Watercycle Research Institute onlangs een workshop in het kader van het TAPES project (Transnational Action Program on Emerging Substances), mede gefinancierd door Interreg NWE IV-B (European Regional Development Funding), waar internationale experts voorbeelden gaven van toepassingen van QSAR's, de mogelijkheden, uitdagingen en zaken die nodig zijn om ze succesvol te kunnen toepassen in waterzuivering.

Het opstellen en valideren van QSAR's

Voorbeelden van eigenschappen van moleculen die gebruikt kunnen worden bij het opstellen van QSAR's zijn hydrofobiciteit, oplosbaarheid, molecuulmassa en lading (als functie van de pH). Er kan ook gekeken worden naar de moleculaire structuur van een verbinding.

Computerprogramma's kunnen een twee- of driedimensionale structuur van een molecuul uitrekenen. De structuur en eigenschappen van een molecuul bepalen zijn gedrag. Voorbeelden van gedrag van moleculen zijn (eco)toxiciteit, adsorptie op bepaalde oppervlakken, en het gedrag in zuiveringsprocessen als membraanfiltratie en (geavanceerde) oxidatie.

Simona Kovarich (S-IN Soluzioni Informatiche Srl; Italië) en Bas Wols (KWR) gaven tijdens de workshop een overzicht van hoe QSAR's kunnen worden opgesteld en gevalideerd. Bij het opstellen van een QSAR wordt een grote set data van zoveel mogelijk stoffen verzameld, waarna met behulp van statistische rekenmethoden wordt bepaald welke eigenschappen welk gedrag beïnvloeden, en hoe sterk die invloed is. Dit wordt samengevat in een wiskundig model, dat die relatie beschrijft. Er zijn twee manieren om zo'n model te valideren: intern en extern.

Bij interne validatie wordt een deel van de gegevens niet meegenomen bij het opstellen (het 'trainen') van een QSAR. Vervolgens wordt bij deze kleine set gegevens gekeken in hoeverre het model klopt. Aangezien deze gegevens waarschijnlijk op dezelfde manier zijn verkregen als de set waarop de QSAR is gebaseerd, is de kans vrij groot dat de validatie klopt, maar dat wil niet automatisch zeggen dat de QSAR ook onder andere omstandigheden bruikbare voorspellingen geeft.

Bij externe validatie wordt een onafhankelijke dataset gebruikt voor de validatie. Daardoor kan externe validatie soms een beter beeld geven van de toepasbaarheid van een QSAR en van de factoren die de betrouwbaarheid van de QSAR beïnvloeden.

Toepassing van QSAR's

Het potentiële toepassingsgebied van QSAR's is breed. Willie Peijnenburg (RIVM) gaf een overzicht van het gebruik in risk assessments (wat zijn de risico's en hoe groot zijn ze?). Bij de implementatie van de Europese verordening REACH (Registratie, Evaluatie, Autorisatie en Restrictie van Chemische Stoffen) is het nadrukkelijk de bedoeling dierproeven zoveel mogelijk te beperken. Daarbij bieden QSAR's interessante mogelijkheden. Wel zijn er veel data nodig om relevante 'eindpunten' voor studies te kunnen definiëren: welk effect van een stof (waarvoor is die toxisch) ga je proberen te correleren aan bijvoorbeeld de moleculaire structuur van een molecuul? Bovendien zijn er op dit moment nog niet zo veel modellen beschikbaar die dit verband kunnen aantonen. Ook is het moeilijk om relevante data los te krijgen van bijvoorbeeld de farmaceutische industrie. Onder meer bij de wetgever bestaat er grote belangstelling voor de ontwikkeling van QSAR's. Daarmee wordt het namelijk veel eenvoudiger om normen te stellen voor bepaalde stoffen.

Bij het toepassen van QSAR's op zuiveringsprocessen zijn in principe twee strategieën mogelijk:

- een black-box-benadering, waarbij men alleen kijkt naar wat er ingaat en wat er uitkomt (hoeveel wordt er verwijderd?)
- een grey-box-benadering, waarbij wordt geprobeerd het mechanisme van het proces dat plaatsvindt te begrijpen en waarbij QSAR's worden ingezet om relevante procesparameters te voorspellen.

De eerste benadering is vrij ruw en geeft geen inzicht in de processen die daadwerkelijk optreden. Bovendien is de uitkomst bij deze methode sterk afhankelijk van de omstandigheden. Bas Wols heeft de black-box-benadering toegepast op nanofiltratie. Hier bleek bijvoorbeeld het molaire volume van een stof een belangrijke descriptor te zijn. Er werden prima voorspellingen verkregen, maar die waren alleen geldig voor één type membraan in één bepaalde watermatrix. Dit hoeft geen probleem te zijn. Zo liet Eric Dickenson (Southern Nevada Water Authority) zien dat het correleren van de verwijderingsefficiëntie van organische stoffen in een rwzi aan de hydrofobiciteit van die stoffen een prima voorspelling geeft voor vergelijkbare rwzi's. De hydrofobiciteit wordt hierbij gedefinieerd als de K_{ow} : de verdelingscoëfficiënt van een stof over octanol en water. Hierbij moet men zich wel realiseren dat andere omstandigheden (een ander type natuurlijk organisch materiaal of slib) heel andere resultaten kunnen opleveren.

Bij de grey-box-benadering wordt een QSAR op een deelgebied toegepast, bijvoorbeeld om een reactiesnelheidsconstante te bepalen. Een dergelijke benadering werd gepresenteerd door Daisuke Minekata (Michigan Technological University) en Bas Wols (KWR), die beiden QSAR's hebben toegepast om reactiesnelheidsconstanten te bepalen voor reacties met hydroxyl-radicalen. Zulke reacties treden bijvoorbeeld op bij geavanceerde oxidatieprocessen.

Door de reactiesnelheidsconstante in te voeren in kinetische modellen is te voorspellen hoe snel een oxidatieproces zal verlopen, of zelfs wat voor type bijproducten er zal ontstaan. Op deze manier draagt het opstellen van QSAR's bij aan een beter begrip van de processen die optreden. Dit bleek ook duidelijk uit de presentatie van David de Ridder (TU Delft). Bekend was al dat de grootte van een molecuul een belangrijke factor, die bepaalt hoe succesvol nanofiltratie of *reversed osmosis* kan zijn in de verwijdering van dat molecuul. Nu blijkt echter dat die factor niet alléén bepalend is: ook de hydrofobiciteit heeft een niet te verwaarlozen invloed. Evenzo gaf de QSAR-benadering waardevolle informatie over de factoren die een rol spelen bij adsorptie op actieve kool. Dit is in overeenstemming met onderzoeksresultaten van Joop Hermens (Universiteit Utrecht); Hermens liet zien hoe je zowel een black-box-(ofwel algemene) benadering als een grey-box-(ofwel lokale) benadering kunt gebruiken om adsorptieprocessen te beschrijven en te voorspellen. De keuze hangt ook af van het doel waarvoor de QSAR gebruikt moet worden. Om bijvoorbeeld een indruk te krijgen van welk type klei mogelijk geschikte adsorptie geeft, is het vaak al voldoende om een niet-gevalideerd model te gebruiken, dat de relatie beschrijft tussen enerzijds de polariteit van een stof en het feit of het een proton-acceptor of -donor is, en anderzijds het type klei.

Conclusies

QSAR's staan nog aan het begin van hun ontwikkeling. Als we in staat zijn om goede QSAR's op te stellen ontstaan er eindeloze mogelijkheden. Zo kunnen QSAR's helpen bij:

- het uitvoeren van risks assessments met nieuwe moleculen zonder dat veel dierproeven nodig zijn;
- het opstellen van goede wetgeving (normeringen);

- het kiezen of ontwikkelen van zuiveringsprocessen voor afvalwater of drinkwater;
- het beter begrijpen van reactieprocessen

Voorlopig zijn we echter nog lang niet zo ver. Een algemene, black–box-benadering geeft snel resultaten, maar is beperkt toepasbaar. Een meer specifieke, op het mechanisme gebaseerde benadering vergt meer inspanning, maar geeft betrouwbaardere informatie, ook doordat rekening gehouden kan worden met de omstandigheden. Bovendien geeft een specifieke benadering ook meer gedetailleerde informatie over het mechanisme zelf.

Bij waterzuivering spelen naast het type proces en de eigenschappen van de organische stof in kwestie ook andere parameters een belangrijke rol, zoals de samenstelling van de watermatrix. Voor de nabije toekomst moeten we ons dan ook niet richten op QSAR's die met grote betrouwbaarheid voorspellen welke zuivering voor welke component het meest geschikt is. Het is beter om te proberen de mechanismen die optreden te doorgronden, en daar QSAR's voor te ontwikkelen. De resultaten daarvan zijn dan in te passen in andere modellen, die wel rekening kunnen houden met de omstandigheden (zoals bijvoorbeeld een model dat geavanceerde oxidatieprocessen, membraanfiltratie of adsorptie op actieve kool beschrijft).

Om goede QSAR's te verkrijgen zijn heel veel data nodig en. Bovendien is het van belang dat we goed kunnen vaststellen onder welke omstandigheden een QSAR kan worden toegepast. Dit betekent dat vaak validatie nodig is, waarvoor ook weer uitgebreide datasets nodig zijn, inclusief informatie over hoe die data verkregen zijn. Het zou goed zijn om een database op te stellen waarin dit soort informatie (gedocumenteerde data) wordt verzameld. Door hiervoor gebruik te maken van internationale kennis kunnen onderzoeksgroepen over de hele wereld hiervan gebruik maken om hun eigen QSAR's te trainen en te valideren. Dan kan het scala toepassingsmogelijkheden een ware vlucht nemen. KWR gaat de mogelijkheden om een dergelijke database op te stellen verkennen.