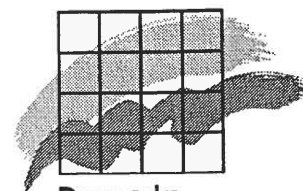


Miljøministeriet



Danmarks
Miljøundersøgelser

Udvikling af QSARs på anilinderivater

Development of QSARs for
aniline and its derivatives

Faglig rapport fra DMU, nr. 80

Fei Chen Fredenslund
Charlotte Nielsen
Afdeling for Systemanalyse
Benny Køppen
Afdeling for Miljøkemi

Miljøministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser
Juni 1993

Datablad

- Titel:** Udvikling af QSARs på anilinderivater
Development of QSARs for aniline and its derivatives
- Forfattere:** Fei Chen Fredenslund, Charlotte Nielsen, Benny Køppen
Afdelingsnavne: Afdeling for Systemanalyse, Afdeling for Miljøkemi
- Serietitel og nummer:** Faglig rapport fra DMU, nr. 80
- Udgiver:** Miljøministeriet,
Danmarks Miljøundersøgelser©
- Udgivelsesår:** Juni 1993
- Layout:** Else Snitker
Tegninger: Fei Chen Fredenslund
- Bedes citeret:** Fredenslund, F.C., Nielsen, C. & Køppen, B. (1993): Udvikling af QSARs på anilinderivater. Danmarks Miljøundersøgelser. 80 s. - Faglig rapport fra DMU, nr. 80.
- Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse.
- Emneord:** Oktanol-vand fordelingskoefficienten, anilinderivater, HPLC-metoden, OECD guidelines, QSAR, UNIFAC
- ISBN:** 87-7772-112-8
ISSN: 0905-815X
Papirkvalitet: Multicopy, 90 g
Tryk: Grafisk Service, RISØ
Oplag: 100
Sideantal: 80
Pris: 85 Dkr. (incl. 25% moms, excl. forsendelse)
- Købes hos:** Danmarks Miljøundersøgelser
Afdeling for Systemanalyse
Frederiksborgvej 399
Postbox 358
4000 Roskilde
Tlf. 46 30 12 00 - Fax 46 30 11 14

Indhold 3

Forord 5

Sammendrag 7

Summary 9

1 Indledning 11

- 1.1 Baggrund og formål 11
- 1.2 Kort om aniliner og QSAR 12

2 Oktanol-vand fordelingskoefficienten, P_{ow} 14

- 2.1 Definition 14
- 2.2 Anvendelse af P_{ow} 15
 - 2.2.1 Vandopløselighed 15
 - 2.2.2 Adsorptionskoefficient 15
 - 2.2.3 Biokoncentrationsfaktor 16

3 Metoder til bestemmelse af $\log P_{ow}$ 17

- 3.1 Beregningsmetoder 17
- 3.2 Målemetoder 18
 - 3.2.1 Ryste-kolbe metoden 18
 - 3.2.2 Langsom omrøring til ligevægt 20
 - 3.2.3 HPLC 21
 - 3.2.4 TLC 28

4 Eksperimentel bestemmelse af $\log P_{ow}$ for aniliner 30

- 4.1 HPLC-metoden 30
 - 4.1.1 De anvendte stoffer, referencestoffer og aniliner 30
 - 4.1.2 Apparatur og prøvebetingelser 32
 - 4.1.3 Måleprocedure 33
- 4.2 Ryste-kolbe metoden 33
 - 4.2.1 Solventer 33
 - 4.2.2 Måleprocedure 34
- 4.3 Resultater 34
 - 4.3.1 HPLC-metoden 34
 - 4.3.2 Ryste-kolbe metoden 37
- 4.4 Diskussion og konklusion 38

5 Eksperimentelle $\log P_{ow}$ -værdier for aniliner anvendt til estimering af UNIFAC-parametre 46

- 5.1 UNIFAC-modellen 46
- 5.2 $\log P_{ow}$ beregning vha. UNIFAC-modellen 47

5.3	Parameterestimering	48
5.3.1	Program til parameterestimering	48
5.3.2	γ_w^∞ til estimering af interaktionsparametre	49
5.4	Opnåede resultater	50
5.4.1	Interaktionsparametre	50
5.4.2	Log P_{ow} beregnet vha. UNIFAC-modellen	53
5.5	Diskussion og konklusion	60

Referenceliste 70

Appendix A 73

Appendix B 77

Danmarks Miljøundersøgelser 80

Forord

Denne rapport indeholder undersøgelsesresultater af projektet "Anvendelse af QSARs på anilinderivater". Projektet er udført i samarbejde med Miljøstyrelsen og finansieret af Miljøstyrelsen og Danmarks Miljøundersøgelser. Projektet er udført af Charlotte Nielsen og Fei Chen Fredenslund, Afdeling for Systemanalyse ved Danmarks Miljøundersøgelser, samt Benny Køppen, Afdeling for Miljøkemi, Danmarks Miljøundersøgelser.

I denne rapport beskrives den eksperimentelle bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienter for 34 forskellige aniliner ved hjælp af HPLC-metoden, samt anvendelse af UNIFAC-modellen til beregning af oktanol-vand fordelingskoefficienter for 33 aniliner. En korrelation mellem biokoncentrationsfaktorer og oktanol-vand fordelingskoefficienter gennemgås kort.

Projektets forløb er fulgt af en styringsgruppe bestående af:

Ole K. Jensen (formand)
Miljøstyrelsen, Kemikaliekontoret

Jay Niemelä
Miljøstyrelsen, Kontoret for Renere Teknologi og Produkter

Henrik Tyle
Miljøstyrelsen, Kemikaliekontoret

John Holten-Andersen
Danmarks Miljøundersøgelser, Afdeling for Systemanalyse

Fei Chen Fredenslund
Danmarks Miljøundersøgelser, Afdeling for Systemanalyse

En særlig tak til Institut for Kemiteknik ved Danmarks Tekniske Højskole, som har bidraget med både praktisk hjælp og tilbud om PC-program for UNIFAC modellen.

Sammendrag

Rapporten beskriver definitionen af oktanol-vand fordelingskoefficienten, P_{ow} , samt brugen af den i biologiske sammenhænge. Forskellige eksperimentelle metoder til bestemmelse af P_{ow} gennemgås.

Højtryksvæskerkromatografi-metoden (HPLC) er anvendt til at bestemme oktanol-vand fordelingskoefficienter for 34 forskellige aniliner. De opnåede resultater sammenlignes med data, der dels stammer fra ryste-kolbe forsøg og dels fra andre HPLC-forsøg. Afvigelserne mellem de målte $\log P_{ow}$ -værdier og $\log P_{ow}$ bestemt ved ryste-kolbe metoden er i gennemsnit 9,2%. Afvigelse størrelse og fortegn afhænger af den substituentgruppe, der er på anilinmolekylet.

UNIFAC-modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter for aromatiske stoffer er undersøgt. Dels beregnes $\log P_{ow}$ -værdier for 33 aniliner vha. UNIFAC-modellen med de eksisterende gruppeinteraktionsparametre, og dels beregnes $\log P_{ow}$ for de samme stoffer, hvor nye værdier for seks af interaktionsparametrene er blevet estimeret. De seks gruppeinteraktionsparametre, der er estimeret, er: a_{ACCL-H_2O} , $a_{H_2O-ACCL}$, $a_{ACNO_2-H_2O}$, $a_{H_2O-ACNO_2}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$, $a_{H_2O-ACCH_3}$.

$\log P_{ow}$ beregnet vha. UNIFAC med de eksisterende parametre har en relativ gennemsnitlig afvigelse fra de eksperimentelle værdier på 44,8%. Ved at indføre de nye parametre og beregne $\log P_{ow}$ igen reduceres denne afvigelse til 14,8%. I gennemsnitlige absolutte afvigelser er dette en ændring fra 0,76 log enheder til 0,20 log enheder.

En korrelation mellem biokoncentrationsfaktoren, $\log BCF$, og oktanol-vand fordelingskoefficienten, $\log P_{ow}$, er foretaget.

Summary

The definitions of the octanol/water partition coefficient, P_{ow} , and its biological significance are described. Various experimental methods for the determination of P_{ow} are discussed.

The octanol/water partition coefficients for 34 different anilines are determined by means of the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The obtained data are compared with some literature data, which have been determined in other laboratories by means of either HPLC measurement or shaking-flask measurement. An average deviation of 9,2% occurs by comparing our experimental data with shaking-flask measurements. The sizes and tendencies of deviations vary with different substitute groups on aniline molecule.

In general, the UNIFAC model can predict octanol/water partition coefficients of aromatic compounds. Thus, the UNIFAC model with existing interaction parameters is applied to estimate $\log P_{ow}$ for 33 anilines. Based on our experimental data, six interaction parameters of the UNIFAC model have been reestimated. They are a_{ACCL-H_2O} , $a_{H_2O-ACCL}$, $a_{ACNO_2-H_2O}$, $a_{H_2O-ACNO_2}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$, and $a_{H_2O-ACCH_3}$.

The average relative error between experimental data and estimations with the UNIFAC model using existing interaction parameters is 44,8%. The error is reduced to 14,8%, when the new interaction parameters are introduced. Correspondingly, the average absolute error is changed from 0,76 log unit to 0.20 log unit.

A correlation for the bioconcentration factor and the octanol/water partition coefficient, $\log BCF - \log P_{ow}$, is also performed.

1 Indledning

1.1 Baggrund og formål

Når man undersøger, hvordan et kemisk stof indvirker på miljøet, er de hydrofobe egenskaber meget vigtige. Stoffets hydrofobicitet er afgørende for, om stoffet er opløseligt i ikke polære medier (f.eks. om det er fedtopløseligt), eller om det er vandopløseligt. Hvis stoffet er hydrofob, kan det optages og kan potentielt akkumuleres i levende organismer.

Oktanol-vand blandinger, der består af en apolær og en polær (vandig) fase, benyttes som model på biologiske systemer, idet den apolære oktanolfase repræsenterer de lipofile faser i et biologisk system. Oktanol-vand fordelingskoefficienten, P_{ow} , er derfor en vigtig parameter ved bedømmelse af et stofs biologiske effekt, da den beskriver, hvordan stoffet vil fordele sig mellem lipofile og vandige faser.

Man har fundet, at oktanol-vand fordelingskoefficienten kan korreleres med biologiske data, hvorved det bliver muligt at estimere et kemisk stofs biologiske aktivitet og toksikologiske effekt på miljøet. Allerede i 1964 fandt Fujita og Hansch (1964), at der er en sammenhæng mellem et stofs struktur og størrelsen af $\log P_{ow}$. De fandt, at et stofs molekyler kan deles op i funktionelle grupper, der hver især bidrager additivt til det samlede molekyles $\log P_{ow}$ -værdi. Da $\log P_{ow}$, som nævnt, kan korreleres med biologiske data, kan man få en sammenhæng mellem stoffernes struktur og deres aktivitet i et biologisk system, hvilket kaldes kvantitative struktur-aktivitets relationer (QSAR).

Oktanol-vand fordelingskoefficienter kan f.eks. korreleres med biokoncentrationsfaktoren (BCF), der fortæller hvor meget af et stof, der akkumuleres i en given akvatisk organisme i forhold til, hvor stor koncentrationen af stoffer er i det omgivende vand. $\log P_{ow}$ kan desuden korreleres med stoffers opløselighed i vand, S_w , og adsorptionskoefficienten, K_{oc} . Oktanol-vand fordelingskoefficienten er derfor en meget anvendelig parameter i miljømæssige sammenhænge. $\log P_{ow}$ -værdierne kan bestemmes indirekte ved omvendt-fase højtryksvæskechromatografi (RP-HPLC).

Målet med dette projekt er at bestemme oktanol-vand fordelingskoefficienter, P_{ow} , for anilin og derivater af anilin. Fordelingskoefficienterne skal, efter den eksperimentelle bestemmelse, først og fremmest anvendes til at udvikle QSAR-modeller.

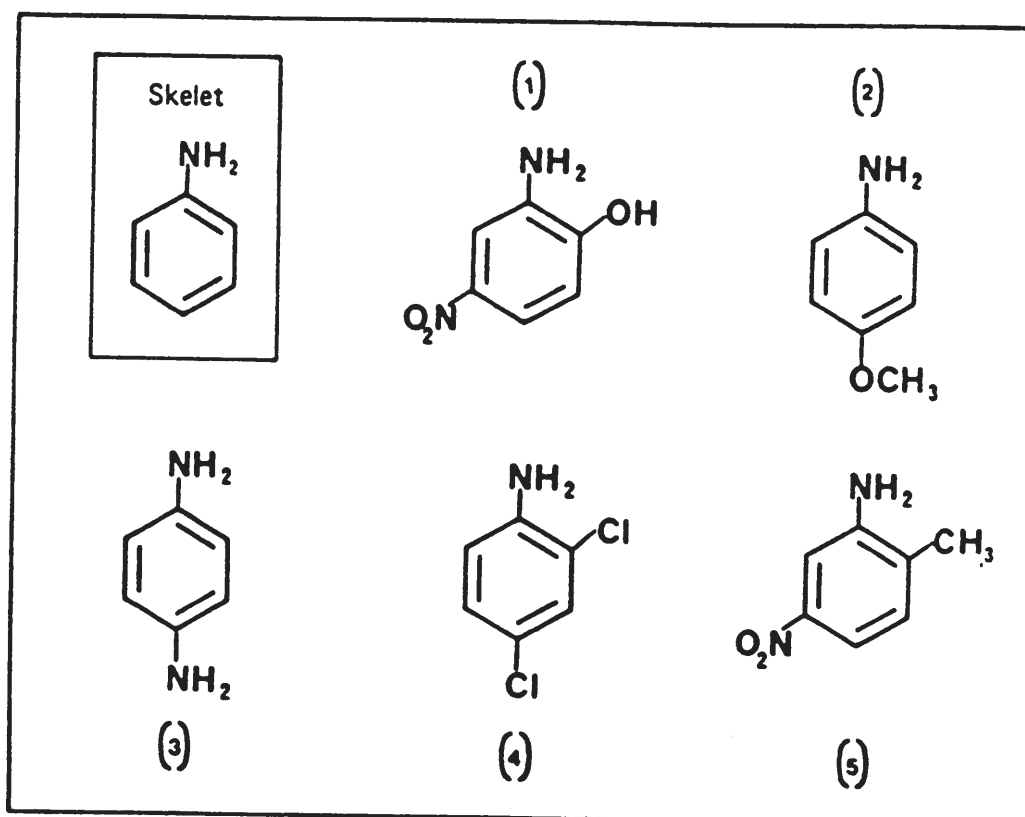
1.2 Kort om aniliner og QSAR

Aniliner

Anilin og derivater af anilin er aromatiske aminer. Derivaterne indeholder substituentter, som f. eks. chlor, nitro-, methyl- eller hydroxygrupper, jvnf. figur 1.1. Aniliner er basiske stoffer.

Aniliner er vigtige kommercielle produkter, der bruges i store mængder. Aniliner benyttes bl.a. som intermediere stoffer i farveindustrien og til pesticidfremstilling. Aniliner anvendes desuden til at fremstille antioxidantter og antidegradanter i gummiproduktion og de bruges til fremstilling af epoxy-forbindelser.

Aniliner er meget toksiske forbindelser. De optages nemt og hurtigt gennem huden. De er farlige at indtage såvel som at indånde. Aniliners toksiske virkning er, at de omdanner blodets hæmoglobin til methemoglobin, der ikke afgiver ilt til vævet. Hvis indholdet af methemoglobin i blodet bliver for højt, dør man af iltmangel. Ved udsættelse for små mængder anilin i længere tidsrum, kan man få symptomer som bleghed og træthed. Grænseværdien for anilindampe er 0,5 ppm ved 8 timers daglig eksponering.



Figur 1.1
Eksempel på en homogen gruppe af stoffer til en QSAR-model.

Da aniliner er toksiske, er det vigtigt at få nogle korrelationer, der nemt og hurtigt kan give et estimat af disse stoffers indvirkning på miljøet.

QSAR

QSAR er forkortelsen af det engelske udtryk, Quantitative Structure-Activity-Relationship. QSAR er matematiske korrelationer, der beskriver, hvordan kemiske stoffer påvirker biologiske systemer (det vil sige, hvilken aktivitet stofferne udviser i systemet) på baggrund af stoffernes strukturelle opbygning.

Kemiske stoffer kan anses for at være opbygget af forskellige funktionelle grupper, der hver især bidrager til et stofs samlede biologiske effekt, ligesom Fujita et al.(1964) foreslog i 1964 og Leo et al. (1971) beskrev yderligere i 1971. Stofferne kan således have samme skelet, men får med forskellige substituent, forskellig virkning på biologiske systemer.

Forudsætningen for at kunne opstille en QSAR-model er, at der eksisterer en kemisk homogen gruppe af stoffer med en veldefineret biologisk aktivitet. Det vil sige, at man for eksempel for en given organisme, har kendskab til biokoncentrationsfaktoren BCF, for denne stofgruppe eller måske LC_{50} . En homogen gruppe klassificeres ved, at stofferne har samme grundskelet, men forskellige substituent. I figur 1.1 er der givet et eksempel på, hvordan en sådan gruppe kan sammensættes.

Man skal være opmærksom på, at en QSAR-model ikke giver eksakte værdier for de biologiske effekter, hvormed et kemisk stof påvirker omgivelserne, men derimod giver et estimat af denne effekt.

Hvis QSAR-modellen forudsiger, at et stof er belastende for miljøet, f. eks. ved en høj BCF-værdi, er det nødvendigt at undersøge dette stof nærmere. Ovennævnte estimater kan nemlig ikke erstatte eksperimentelle bestemmelser af de biologiske aktiviteter. QSAR er en hurtig og billig måde til at indkredse hvilke kemiske stoffer, der kan tænkes at være farlige for miljøet, og QSAR kan derfor bruges som et værktøj til at bestemme hvilke stoffer, det er nødvendigt at undersøge nærmere. Det er en meget stor hjælp, hvis man er i stand til at begrænse mængden af de stoffer, der kræver en nærmere biologisk undersøgelse, da dette er tidskrævende processer.

Et vigtig forudsætning for at udvikle god QSAR er, at der eksisterer kvalitetsdata til at give meget præcise matematiske udtryk. Et andet aspekt er, at de stoffer, der undersøges, helst skal tilhøre samme stofgruppe. Jo flere typer af stoffer, man forsøger at besk-

rive med en og samme matematiske relation, des mere upræcis kan man forvente, at modellen er.

2 Oktanol-vand fordelingskoefficienten

2.1 Definition

Oktanol-vand fordelingskoefficienten, P_{ow} er defineret som forholdet mellem et givet stofs koncentration i hhv. oktanol- og vandfasen i et ligevægtsystem. Fordelingskoefficienten er derfor en dimensionsløs størrelse.

$$P_{ow} = \frac{\text{konc. af stof i oktanolfasen}}{\text{konc. af stof i vandfasen}} \quad (2.1)$$

I litteraturen betegnes oktanol-vand fordelingskoefficienten enten ved K_{ow} eller P_{ow} . Her anvendes P_{ow} , da Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) guidelines for testing Chemicals (OECD 1989) bruger denne betegnelse.

Størrelsen af oktanol-vand fordelingskoefficienten P_{ow} ligger oftest i et interval mellem 10^{-3} og 10^7 , jvnf. Lyman's Handbook (Lyman et al. 1982). Man benytter derfor oftest de logaritmerede værdier for P_{ow} , der således er beliggende i intervallet fra -3 til 7.

Man skal være opmærksom på, at parameteren P_{ow} ikke er det samme som forholdet mellem et stofs opløselighed i vand og i oktanol. Der gælder nemlig, ifølge Lyman et al. (1982), at oktanol-fasen indeholder 2.3 mol/l vand og vandfasen indeholder $4.5 \cdot 10^{-3}$ mol/l oktanol ved ligevægt mellem de to faser.

Fordelingskoefficienter, $\log P_{ow}$, kan enten bestemmes vha. beregningsmodeller, eller ved eksperimentelle målinger. Eksperimentelt kan man bestemme $\log P_{ow}$ enten direkte ved f. eks. ryste-kolbe metoden eller indirekte ved f.eks. omvendt-fase højtryksvæskrokromatografi (RP-HPLC). Se afsnit 3 for en gennemgang af metoder til bestemmelse af $\log P_{ow}$.

2.2 Anvendelse af P_{ow}

Ved kendskab til et stofs oktanol-vand fordelingskoefficient har man mulighed for at estimere andre nyttige parametre for stoffet. Lyman et al. (1982) har i sin håndbog, givet adskillige korrelationer mellem $\log P_{ow}$ og hhv. vandopløselighed, S_w , adsorptionskoefficienten, K_{oc} og biokoncentrationsfaktoren, BCF. Alle korrelationerne følger simple lineære udtryk som

$$\log G = a \log P_{ow} + b \quad (2.2)$$

hvor G står for hhv. $1/S_w$, K_{oc} og BCF. a og b er konstanter. Korrelationen fremkommer på basis af stoffer, hvor både parameteren G og fordelingskoefficienten P_{ow} er kendte. Der opnås kun lineære relationer, der beregner parametrene med tilstrækkelig præcision, hvis korrelationerne er baseret på stoffer, der ligner hinanden strukturelt. I det nedenstående gives nogle få eksempler på sådanne korrelationer fra Lymans bog.

Når korrelationen mellem P_{ow} og G er fundet, kan den bruges til at estimere parametren, G, for stoffer hvor denne størrelse ikke er kendt, men hvor man kender værdien af P_{ow} .

2.2.1 Vandopløselighed

Et stofs vandopløselighed har betydning for, hvordan stoffet transporteres rundt i et biologisk system. Jo mere vandopløseligt stoffet er, des mindre evne har det til at bioakkumulere. Nedenstående udtryk viser et eksempel på sammenhængen mellem alkaners opløselighed i vand, S_w , og deres oktanol-vand fordelingskoefficienten. Enheden for S_w er mol/L.

$$\log \frac{1}{S_w} = 1.237 \log P_{ow} + 0.248 \quad (2.3)$$

Korrelationen er lavet på basis af 16 forskellige alkaner.

2.2.2 Adsorptionskoefficient

Adsorptionskoefficienten, K_{oc} , beskriver transporten af et stof i jordbund og sedimenter. K_{oc} er defineret som forholdet mellem

hvor meget stof der absorberes til organisk kulstof i jordbund eller sediment, og hvor stor koncentrationen af stoffet er i en vandig opløsning af jordbund eller sediment.

$$K_{oc} = \frac{\mu\text{g adsorberet stof} / \text{g organisk kulstof}}{\mu\text{g stof} / \text{mL opløsning}} \quad (2.4)$$

Nedenstående udtryk er et eksempel fra Lyman's håndbog (Lyman et al. 1982) på sammenhængen mellem $\log K_{oc}$ og $\log P_{ow}$ for forskellige aromatiske forbindelser.

$$\log K_{oc} = 0.937 \log P_{ow} - 0.006 \quad (2.5)$$

Korrelationen er lavet på baggrund af 19 aromatiske forbindelser, hvor både K_{oc} og P_{ow} var kendt på forhånd.

2.2.3 Biokoncentrationsfaktor

Biokoncentrationsfaktoren, BCF, beskriver akkumulation af stoffer i akvatiske organismer. BCF er defineret som forholdet mellem den mængde af et stof, der er i en organisme i forhold til den mængde stof, der er i det omgivende vand.

$$BCF = \frac{\text{konc. af stof i organisme}}{\text{konc. af stof i vand}} \quad (2.6)$$

Som et eksempel på denne parameters korrelation med oktanol-vand fordelingskoefficienter, finder man i Lymans håndbog følgende udtryk, hvor BCF er bestemt ved undersøgelse af *Daphnia pulex*.

$$\log BCF = 0.7520 P_{ow} - 0.4362 \quad (2.7)$$

Relationen er fundet på baggrund af 6 forskellige stoffer.

P_{ow} kan også korreleres med andre biologiske størrelser som f.eks. LC_{50} (dødelig koncentration for 50% af testet organisme), som beskrevet af Blum og Speece (1990) og Nirmalakhandan og Speece

(1988). P_{ow} en meget vigtig parameter, idet man kan give et estimat af et stofs biologiske effekt på baggrund af korrelationerne. Korrelationerne kan kun findes, når man har kendskab til tilstrækkelig mange stoffer, hvor både P_{ow} og de biologiske størrelser er kendt.

3 Metoder til bestemmelse af $\log P_{ow}$

I de foregående afsnit er det beskrevet, hvad $\log P_{ow}$ kan benyttes til. I dette afsnit beskrives, hvorledes man kan bestemme oktanolvand fordelingskoefficienten dels ved beregning og dels ved eksperimentelle målinger.

3.1 Beregningsmetoder

Som kort omtalt, beskrev Fujita et al. (1964), allerede i 1964, at $\log P_{ow}$ kan beregnes ved at addere konstante værdier for diverse forskellige funktionelle grupper, der indgår i et givet stofs molekyler. Leo, Hansch, og Elkins (1971) fortsatte arbejdet med at bestemme disse gruppeværdier, der kaldes substituentkonstanter, og udgav dem på tabelform i 1971. $\log P_{ow}$ kan således beregnes fra Leo og Hansch's formel:

$$\log P_{ow} = \sum_i a_i f_i + \sum_j b_j F_j \quad (3.1)$$

f_i er substituentkonstanten og F_j er en korrektionsfaktor, der eksempelvis korrigerer for, at molekylet indeholder en ringslutning eller en dobbelt binding. a_i og b_j beskriver frekvensen hvormed en gruppe eller korrektion optræder i molekylet.

På tilsvarende vis præsenterede Rekker, i 1974, en additiv beregningsmetode, der ligeledes er baseret på en opsplitning af molekyler i funktionelle grupper:

$$\log P_{ow} = \sum_i a_i f_i + \sum (\text{korrektionsled}) \quad (3.2)$$

a_i beskriver også her, hvor ofte en gruppe optræder i det pågældende molekyle, men f_i er en substituentkonstant, hvis værdi ikke er den samme som for Leo og Hansch's formel. Det sidste led i formelen korrigerer for diverse interaktioner i molekylet. De to formler bygger på samme princip, men de anvendte konstanter i de to formler er ikke ens. Rekkers metode er kort beskrevet i OECD guidelines (OECD 1989).

De to metoder kan benyttes til at få et estimat af $\log P_{ow}$, og kan for mange stoffer beregne værdier, der er i god overensstemmelse med eksperimentelle data. Modellernes anvendelighed er dog begrænset, idet præcisionen, hvormed $\log P_{ow}$ kan beregnes for ioniserbare stoffer, og stoffer der indeholder hydrogenbindinger, ikke er god.

Metoderne er meget kompakte, og der er mange konstanter, som man skal kunne overskue for at kunne udføre beregningerne korrekt. Derfor er metoderne lidt svære at håndtere. Beregningsmetoden er dog meget anvendelig, når man ønsker at bestemme fordelingskoefficienter eksperimentelt. Man kan, vha. de beregnede værdier, få et meget kvalificeret gæt på hvilken værdi fordelingskoefficienten vil have, det betyder, at man bedre kan planlægge eksperimenterne og dermed spare en del tid.

3.2 Målemetoder

Der eksisterer flere eksperimentelle metoder til bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienten, P_{ow} . Dels findes der metoder, hvor P_{ow} måles direkte, og dels hvor P_{ow} bestemmes indirekte vha. korrelation med målte data. Ryste-kolbe metoden og langsom omrøring til ligevægt tilhører førstnævnte metoder, mens højtryksvæskrokromatografi (HPLC) og tyndlagskromatografi (TLC) tilhører sidstnævnte.

3.2.1 Ryste-kolbe metoden

Fremgangsmåden for bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienten for et givet stof vha. ryste-kolbe metoden, er, at man blander oktanol, vand og prøvestof i en glaskolbe. Man får et to-fase system, hvor prøvestoffet vil fordele sig mellem oktanol-fasen og vandfasen. Fordelingskoefficienten bestemmes herefter ved at analysere, hvor stor koncentrationen af prøvestof er i de to faser. For at opnå den rigtige værdi af P_{ow} er det meget vigtigt, at systemet er i ligevægt.

Man sikrer, at oktanol-vand blandingen kommer til ligevægt, ved at lukke glaskolben og ryste den grundigt i en vis tid. Samtidig skal man sørge for at opretholde en konstant temperatur af blandingen, da man ellers vil ændre ligevægtsbetingelserne. Præcis hvor længe man skal ryste kolben, er det svært at give et konkret svar på. Leo et al. (1971) angiver, at det kun er nødvendigt at ryste blandingen i ca. fem minutter for at opnå ligevægt, hvorimod Papp et al. (1982), i sine undersøgelser har rystet prøverne i 30 minutter.

Man skal, jvnf. Leo et al. (1971), være opmærksom på, at man kan ryste blandingen for kraftigt, så der dannes emulsioner. Visse kemiske stoffer danner meget nemt emulsioner. Emulsionerne skal helst fjernes, da faserne ellers vil være forurenede med hinanden. En sådan forurening medfører, at analysen af prøvestoffets indhold i faserne vil blive upræcis. Emulsionerne kan almindeligvis fjernes enten ved centrifugering eller ved at lade blandingen stå i lang tid.

Hvad enten der er opstået emulsioner eller ej, så er det fornuftigt at centrifugere blandingen for at sikre en ordentlig faseadskillelse. Herefter udtages en prøve af den ene eller af begge faser. Oftest udtages en prøve af den vandige fase, mens koncentrationen af prøvestoffet i den oktanol fase fås som differencen mellem startmængden af prøvestoffet og den analyserede mængde i vandfasen.

Analysemetoden må vælges efter hvilket stof, der undersøges, da det ikke er muligt at detektere alle stoffer lige effektivitet med en given analysemetode. Hvis man undersøger flere stoffer, kan det således være nødvendigt at anvende flere analysemetoder.

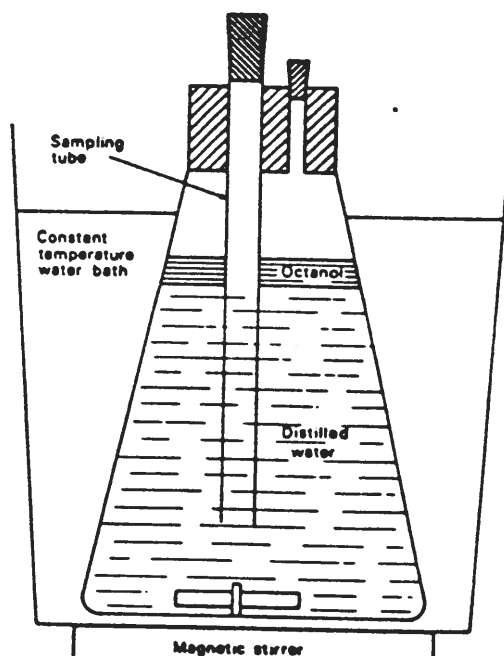
Ifølge Veith et al. (1979) og Brooke et al. (1986) er ryste-kolbe metoden ikke præcis nok for høje P_{ow} -værdier (log P_{ow} -værdier over 4). Det vil sige for meget hydrofobe stoffer, hvor stoffet vil fordele sig, så der kun er en meget lille mængde prøvestof i den vandige fase. Detektion af prøvestof bliver upræcis, dels da koncentrationen af prøvestof i sig selv er meget lille, og dels da oktanolkoncentrationen i vandfasen er høj sammenlignet med prøvestoffet.

Ryste-kolbe metoden er den klassiske og mest ligefremme måde til bestemmelse af P_{ow} , men den er meget tidskrævende. Det kan tage lang tid at opnå ligevægt i oktanol-vand systemet, og man skal bruge tid på en efterfølgende analyse af mindst den ene fase. Ydermere kan der, som nævnt, opstå komplikationer p.gr.a. emulsionsdannelser.

Metoden er meget følsom overfor urenheder, dels kan det ændre ligevægtsbetingelserne, og dels kan det forstyrre selve detekteringen af prøvestof-indholdet i faserne. Det gode ved metoden er, at den er billig, hvis man har det fornødne analyseudstyr og, at man opnår P_{ow} -værdierne direkte. Ifølge Klein et al. (1988) kan denne metode anvendes for $\log P_{ow}$ -værdier mellem -2 og 4.

3.2.2 Langsom omrøring til ligevægt

En metode baseret på en langsom omrøring til ligevægt af et oktanol-vand fordelingsystem er beskrevet af Brooke et al. (1986). Metoden bygger på samme principper som ryste-kolbe metoden. Det vil sige, man opnår ligevægt mellem de to faser, og analyserer derefter indholdet af prøvestof i faserne. I denne metode bliver



Figur 3.1

Skitse af forsøgsopstilling til langsom omrøring til ligevægt

selve blandingsproceduren udført ved en meget langsom omrøring af systemet, vha. en magnetisk omrører. Ligevægt opnås derfor meget langsomt, hvilket vil sige op til 2-3 dage. Til gengæld kan man undgå emulsionsdannelse. Ligesom for ryste-kolbe metoden er det vigtigt at opretholde en konstant temperatur for at sikre konstante ligevægtsbetingelser.

Ved langsom omrøring er det muligt, p.g.a. de mindre voldsomme bevægelser, at have et glasrør i kolben, igennem hvilket prøven af

vandfasen kan udtages uden at blive forurenset med oktanol-fasen. En skitse af en sådan forsøgsopstilling er vist i figur 3.1. Efter at have udtaget prøven skal denne, som det var tilfældet for ryste-kolbe metoden, analyseres for at bestemme koncentrationerne af prøvestoffet i de to faser.

Fordelen ved langsom omrøring til ligevægt er, at man undgår forurening af den ene fase med den anden, mens man samtidig undgår emulsioner. Derimod er denne metode endnu mere tidskrævende end ryste-kolbe metoden. Metoden har ellers de samme ulemper som ryste-kolbe metoden, nemlig stor følsomhed overfor urenheder i prøvestoffet samt, at det er nødvendigt at finde en passende analysemetode.

3.2.3 HPLC

Da de ovenfor omtalte metoder er karakteriseret ved at være både langsomme og tidskrævende, har der været et behov for at finde alternative metoder. HPLC har i den forbindelse vist sig som en hurtig metode til indirekte bestemmelse af $\log P_{ow}$. Det har således vist sig, at der er ligheder mellem den fordelingsproces, der foregår i et oktanol-vand system og den fordelingsproces, der foregår ved HPLC med en vandig mobil fase, hvilket er beskrevet af Haky og Young (1984). De fandt, at $\log P_{ow}$ -data for givne stoffer kunne korreleres med resultater opnået for de samme stoffer ved måling på HPLC. HPLC er derfor en indirekte metode til bestemmelse af fordelingskoefficienter, hvor det ikke er nødvendigt med nogen efterfølgende analyser.

HPLC er en kromatografisk separationsteknik, og som det gælder for alle kromatografiske teknikker, består systemet af en mobil og en stationær fase, der ikke er blandbare. For HPLC-metodens vedkommende er det to ikke-blandbare væsker, der er hhv. mobil fase og stationær fase. Den mobile fase betegnes ofte som eluenten.

Princippet i HPLC-metoden er, at injiceret prøvestof transporteres med eluenten gennem den kromatografiske kolonne. Stoffet vil under denne proces fordele sig mellem de to faser. Den tid stoffet er om at bevæge sig gennem kolonnen, retentionstiden, vil afhænge af hvor længe stoffets molekyler opholder sig i den stationære fase i forhold til eluenten. Hvordan et stof påvirkes af de to faser, afhænger af stoffets fysisk-kemiske natur.

Hvis et stof overhovedet ikke tilbageholdes af den stationære fase, vil det bevæge sig igennem kolonnen på samme tid som et molekyle i eluenten. Denne tid betegnes som kolonnens dødtid, jvnf. Hansen et al. (1987) og Klein et al. (1988). For at opnå den rigtige tid, som prøvestoffets molekyler har opholdt sig i den stationære

fase, skal man derfor subtrahere dødtiden, t_0 , fra den samlede retentionstid, t_r .

Kapacitetsfaktoren, for det injicerede stof, er en størrelse der beskriver, hvordan stoffet fordeler sig i mellem den mobile og den stationære fase. Kapacitetsfaktoren, k' , er givet ved forholdet mellem den tid prøvestoffet opholder sig i hhv. den stationære og den mobile fase.

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} \quad (3.3)$$

k' er kapacitetsfaktoren, t_r er den samlede retentionstid for prøvestoffet og t_0 er dødtiden for kolonnen. Dødtiden bestemmes ofte, som retentionstiden for en vandig opløsning af natriumnitrat, da det antages, at dette stof ikke tilbageholdes af den stationære fase.

Indenfor væskechromatografien taler man om hhv. normal-fase HPLC og omvendt-fase HPLC. Normal-fase HPLC anvender en eluent, der er mindre polær end den stationære fase. I omvendt-fase HPLC er det eluenten der er den mest polære. Forkortelsen for omvendt-fase er HPLC er RP-HPLC, der stammer fra det engelske udtryk "Reversed-Phase HPLC". De generelle principper i HPLC er beskrevet af Hansen et al. (1987).

Anvendelse af HPLC til bestemmelse af $\log P_{ow}$ vha. RP-HPLC, er beskrevet af flere (Unger et al. 1978, Haky og Young 1984, Eadsforth og Moser 1983). Der anvendes en kolonne med et fast bæremateriale, hvortil der er coated en apolær væske, den stationære fase. Som eluent anvendes en vandig buffer opløsning, som er den polære væske. Der anvendes bufferopløsninger for at undertrykke visse stoffers evne til at ionisere sig. I HPLC-apparatet har man derfor et system bestående af en polær og en apolær fase, ligesom det er tilfældet i oktanol-vand systemet.

Adskillige (Eadsforth og Moser 1983, Unger et al. 1978, Haky og Young 1984) har fundet, at der er en lineær sammenhæng mellem kapacitetsfaktorer bestemt ved RP-HPLC målinger og oktanol-vand fordelingskoefficienter, P_{ow} . Det vil sige, at $\log P_{ow}$ kan beskrives vha. følgende korrelation:

$$\log P_{ow} = a \log k' + b \quad (3.4)$$

Korrelationen i udtryk (3.4) kan findes vha. referencestoffer, hvor man på forhånd kender $\log P_{ow}$ -værdier. Disse er bestemt ved ryste-kolbe metoden. Man måler kapacitetsfaktorerne for stofferne vha. RP-HPLC og fremstiller dernæst en referencekurve, der viser sammenhængen mellem de kendte $\log P_{ow}$ -værdier og de målte kapacitetsfaktorer. Ud fra denne kurve finder man den ligning, der bedst beskriver sammenhængen mellem de to parametre. På denne måde får man en lineær korrelation, der gør det muligt at estimere $\log P_{ow}$ for stoffer, hvor disse endnu ikke er kendt. Man skal blot måle disse stoffers kapacitetsfaktorer, og indsætte dem i korrelationen.

Hver eneste måling af kapacitetsfaktorer skal mindst gentages to gange for at mindske måleusikkerheden. Referencekurven skal fremstilles daglig for at sikre, at forsøgsbetingelserne er stabile. Fremgangsmåden er nøje beskrevet i den internationale standardmetode OECD guideline nr. 117. Målingerne ved RP-HPLC giver reproducerbare resultater, der kan varierer ca. 0.05 log enheder pr. måling, jvnf. Braumann (1986).

Man skal være opmærksom på, at jo mere referencestofferne strukturelt ligner prøvestofferne, jo bedre en korrelation opnås der, jvnf. Klein et al. (1988). Hvis man ikke kan finde referencestoffer, der ligner prøvestofferne af struktur, så skal man i det mindste sikre sig, at referencestofferne har $\log P_{ow}$ -værdier, der ligger på hver side af prøvestoffernes. Det er meget bedre at interpolere end at ekstrapolere. Ifølge OECD guideline nr. 117 skal man anvende mindst 6 referencestoffer, hvis $\log P_{ow}$ skal dække et rimeligt stort interval.

Ifølge Eadsforth og Moser (1983) afviger $\log P_{ow}$ -værdier fundet ved RP-HPLC med op til 1 log enhed fra værdier fundet vha. ryste-kolbe metoden, og han pointerer, at afvigelsen kan blive endnu mindre, hvis referencestoffernes struktur minder om prøvestoffernes. Haky og Young (1964) og Harnisch et al. (1983) har begge rapporteret $\log P_{ow}$ -værdier fundet ved RP-HPLC, der kun afviger 0.2 log enheder fra ryste-kolbe resultaterne. Metoden er, ifølge Klein et al. (1988), anvendelig til $\log P_{ow}$ -værdier, der ligger mellem 0 og 6.

Omvendt-fase højtryksvæskrokromatografi (RP-HPLC) er en meget hurtig metode til indirekte bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienter. Metoden er desuden forholdsvis ufølsom over for urenheder i prøvestoffet. RP-HPLC har yderligere den fordel, at metoden kan automatiseres. Det vil sige automatisk injektion af prøvestoffer og automatisk opsamling af måledata vha. integrator og computer.

I litteraturen er det blevet diskuteret meget, hvilken stationær fase, der er bedst egnet til P_{ow} bestemmelser vha. RP-HPLC. Det er blevet undersøgt ved hvilken eluentsammensætning, man opnår de bedst korrelationer mellem $\log P_{ow}$ og $\log k'$. Desuden har man diskuteret, om man skal foretage en ekstrapolation af de målte kapacitetsfaktor, ved en given eluentsammensætning, til en eluentsammensætning på 100% vand.

Stationær fase

Kommercielle kolonner hvor organisk stof, i form af C_{18} -kæder, er kemisk bundet til bærematerialet, der er en silica gel, er af mange blevet anvendt til bestemmelse af $\log P_{ow}$ -værdi. Kolonnerne kaldes ODS-kolonner og er blandt andet beskrevet af Eadsforth og Moser (1983), Klein et al. (1988), og Haky og Young (1984). Den kemiske binding af det organiske stof til silica gelens overflade foregår ved en derivatisering af silanogruyperne, som beskrevet af Hansen et al. (1987).

Man kan ikke være sikker på at derivatisere silicaens overflade 100%, og der vil derfor stadig være enkelte frie silanolgrupper. De frie silanolgrupper, som er svagt sure, kan, som beskrevet af El Tayar et al. (1988), Braumann (1986), Haky og Young (1984), og Horvath and Melander (1977), danne hydrogenbindinger med visse stoffer, bl.a aminer. Toppene på kromatogrammerne vil isåfald ikke være symmetriske.

Hydrogenbindingseffekten kan mindskes ved tilsættelse af et additiv, som beskrevet af El Tayar et al. (1988). Additivet, som f. eks. er en amin, vil selv binde sig til de frie silanolgrupper og derved forhindre, at de injicerede prøvestoffer danner hydrogenbindinger med disse.

C_{18} -kæderne, i de kommercielle kolonner, minder mere om alkaner end om alkoholer, og derfor er disse kolonner, ifølge Unger et al. (1978) og Könemann et al. (1979), ikke så gode modeller for oktanol-fasen i oktanol-vand systemet. De har derfor istedet benyttet kolonner, hvor bærematerialet er mættet med oktanol som den stationær fase, hvilket, ifølge Unger et al. (1978), giver bedre korrelationer mellem $\log k'$ og $\log P_{ow}$.

Det vanskeliggør målingerne ved RP-HPLC at benytte oktanol som stationær fase. Kolonnen skal først gennemstrømmes med oktanol i en vis tid for at sikre, at bærematerialet er mættet med oktanol. HPLC-systemet bliver mere ustabil, når der benyttes oktanol frem for C_{18} -kæder, da oktanol meget nemt vaskes ud af kolonnen sammen med eluenten. Det betyder, at der er sværere at opretholde konstante forsøgsbetingelser. Man er nødt til at mætte

eluenten med oktanol for så godt som muligt at forhindre udvaskelse af oktanolen, jvnf Unger et al. (1978).

Andre mener, at de kommercielle ODS-kolonner er at foretrække. Man opnår, ifølge Edasforth og Moser (1983), gode lineære korrelationer mellem $\log P_{ow}$ og $\log k'$, hvor de fundne $\log P_{ow}$ -værdier maksimalt afviger 1 log enhed fra værdier bestemt ved ryste-kolbe metoden. Det vil sige, at man godt kan benytte C_{18} -kæder som model på den hydrofobe oktanolfase. ODS-kolonner er mere stabile end oktanolkolonner, hvilket sikrer mere ensartet forsøgsbetingelser ved brug af disse. Ydermere kan man, ifølge Köne-mann et al. (1979), eluere mere hydrofobe stoffer med ODS-kolonner, da C_{18} -kæderne ikke tilbageholder de hydrofobe stoffer, nær så kraftigt som oktanol.

Braumann (1986) gør opmærksom på, at forskellige stationære faser med kemiske bundet alkyler kan give forskellige kapacitetsfaktorer. Klein et al. (1988) mener derimod ikke, at det har nogen væsentlig betydning, om man benytter en silica gel coated med enten C_{18} eller C_8 . Man kan dog nok, ud fra Braumanns undersøgelse, konkludere, at eksperimenternes reproducerbarhed er størst, hvis alle benytter C_{18} -kæder som stationær fase.

Ofte er det nødvendigt at benytte en eluent med buffer system for at kunne få ioniserbare stoffer på deres neutrale form. Man skal i denne sammenhæng være opmærksom på, at silica gelen, hvorpå den stationære fase er coated, kun tåler pH-værdier, der ligger mellem 2 og 8.

Der er blevet afprøvet kolonner indeholdende andre stationære faser end C_{18} -kæder eller oktanol. Bl.a beskriver Ascah and Feibush (1990), en stationær fase, hvor nucleofile grupper er kemisk bundet tæt ved silica overfladen sådan, at de konkurrerer med prøvestofferne om at lave hydrogenbindinger med silanolgrupperne. Det vil sige, at det er en form for additiv, der er kemisk bundet til silica overfladen i stedet for, at man tilsætter additiver til eluenten. Det viser sig, at denne stationære fase laver færre hydrogenbindinger med prøvestofferne end almindelige C_{18} -kolonner, men hydrogenbindingseffekten undertrykkes ikke helt, da man stadig observerer asymmetriske kromatografiske toppe for visse stoffer. En fordel ved denne kolonne er, at den tåler pH-værdier helt op til 9. Andre mere specielle kolonner, som f.eks en kolonne med polystyren-divinylbenzen som stationær fase og en glyceryl-coated porekolonne, er beskrevet af hhv. Lambert og Wright (1989), og Miyake et al. (1988).

OECD guidelines nr. 117 anbefaler, at man bruger kommercielle kolonner. De kommercielle kolonner er let tilgængelige, og giver gode korrelationer mellem $\log P_{ow}$ og $\log k'$. RP-HPLC-metoden er

mindre tidskrævende, når man bruger C_{18} -kolonner frem for oktanol mættede kolonner, og hvis alle benytter denne form for kolonner, vil man opnå en større ensartethed mellem de anvendte forsøgsbetingelser.

Eluentsammensætning

Hvis man skal have et system, der minder så meget om oktanol-vand systemet som muligt, så skal man naturligvis benytte rent vand som eluent. det er imidlertid ikke muligt i praksis, idet rent vand giver meget lange retentionstider for hydrofobe stoffer. For at omgå problemet med de lange retentionstider, tilsættes en såkaldt modifier til eluenten. Modifier begrebet er forklaret af Hansen et al. (1987), og går i korthed ud på, at man tilsætter et organisk stof til den polære vandfase, hvorved eluentens polaritet ændres. Når der sker en ændring i eluentens polaritet, vil det betyde, at prøvestoffet vil fordele sig anderledes mellem stationær og mobil fase. Konsekvensen er, at retentionstiden bliver mindre for de hydrofobe stoffer, når en vandig eluent tilsættes organisk modifier.

Oftest er det methanol, der benyttes som modifier, når P_{ow} bestemmes vha. RP-HPLC, hvilket er beskrevet af Haky og Young (1984) og Eadsforth og Moser (1983). Calvino et al. (1991) har desuden prøvet at bruge acetonitril som modifier, hvilket også giver lineære relationer mellem $\log k'$ og $\log P_{ow}$. Braumann (1986) gør opmærksom på, at methanol er den bedste modifier til bestemmelse af $\log P_{ow}$, da methanol er det solvent, hvis kemiske struktur minder mest om vand. Tilsætning af methanol til vand ændrer derfor ikke eluentens egenskaber så meget, da methanols evne til at danne hydrogenbindinger ligner vands. Tilsætning af acetonitril medfører til gengæld en større ændring af eluenten, da acetonitril ikke danner nær så kraftige hydrogenbindinger som vand.

Harnish et al. (1983) lavede en undersøgelse, der viste, at eluenter, bestående af vand og methanol mindst skal indeholde 30% (v/v) vand for at opnå lineære relationer mellem $\log P_{ow}$ og kapacitetsfaktoren, mens OECD guideline nr. 117 har fulgt Klein et al.'s (1988) anbefalinger, der siger, at vandindholdet skal være mindst 25%. Oftest benyttes en eluent med 70 til 75% (v/v) methanol, der netop opfylder ovenstående krav til vandindhold. Jo højere methanolindhold i eluenten des kortere retentionstid opnår man for de meget hydrofobe stoffer. Eadsforth og Moser (1983) har benyttet en eluent med 75% methanol og finder, at stoffer, der har en $\log P_{ow}$ -værdi på 6 og derunder, elueres på under en time.

Ofte skal eluenterne være buffer opløsninger for at kunne holde ioniserbare stoffer på deres neutrale form. Som regel skal eluentens pH-værdi, ifølge Klein et al. (1988), ligge mindst to enheder

under prøvestoffets pKa-værdi (for en syre) for at sikre, at stoffet forbliver neutralt. Hvis prøvestoffet er en base, skal eluentens pH ligge mindst to enheder over den til stoffet korresponderende syres pKa-værdi. Det kan være også nødvendigt at tilsætte et additiv til eluenten for at undertrykke dannelse af hydrogenbindinger mellem det injicerede prøvestof og de frie silanolgrupper på silicagelens overflade.

Ekstrapolation af kapacitetsfaktoren

Mange mener, her i blandt Braumann (1986), at når målingerne er foretaget med en eluent, der indeholder methanol, så skal værdien for den opnåede kapacitetsfaktor, k' , ekstrapoleres til en værdi, hvor eluenten ikke indeholder methanol. Argumentet er, at ved ekstrapolation til en eluent bestående af rent vand får man en bedre gengivelse af vandfasen i oktanol-vand systemet.

Flere har fundet, her i blandt Hammers et al. (1982), at der er en lineær sammenhæng mellem $\log k'$ og eluentens methanol indhold, når volumenbrøken, Φ , af methanol ligger mellem 0,3 og 0,9:

$$\log k'_{\Phi} = \log k'_0 + b\Phi \quad (3.5)$$

Φ er methanols volumenfraktion i eluenten og k'_{Φ} er kapacitetsfaktoren ved denne volumenbrøk. k'_0 er kapacitetsfaktoren for rent vand, det vil sige for en volumenbrøk af methanol, der er nul.

Man er nødt til at bestemme kapacitetsfaktoren ved flere forskellige eluentsammensætninger for at kunne bestemme den lineære sammenhæng mellem $\log k'$ og methanolindholdet. Braumann (1986) mener, at der opnås bedre korrelationer, når man ekstrapolerer k' til k'_0 . Adskillige andre, som f.eks. Harnish et al. (1983), og Schantz og Matire (1987), har også benyttet disse ekstrapolerede værdier for kapacitetsfaktoren, og korreleret dem til $\log P_{ow}$. Dels fordi de finder bedre korrelationer mellem de to størrelser, og dels fordi de mener, at en kapacitetsfaktor, ekstrapoleret til rent vand, giver bedre fysisk mening ved korrelation med P_{ow} .

Lambert og Wright (1989) mener derimod ikke, at en ekstrapolation er hensigtsmæssigt. De hævder, at man skal bruge et kvadratisk udtryk for sammenhængen mellem $\log k'$ og methanolindholdet, hvis man vil dække hele koncentrationsområdet, fordi, som også fundet af Harnish et al. (1983), der kun eksisterer en lineær sammenhæng i et begrænset koncentrationsområde. Det er derfor ikke korrekt at fremstille en ret linie for det forholdvis høje koncentrationsområde og vha. denne ekstrapolere kapacitetsfaktoren til rent vand.

Desuden viser det sig, at værdien for k'_0 afhænger af hvilken modifier man benytter i eluenten, og derfor kan k'_0 ikke være den sande værdi for kapacitetsfaktoren i rent vand. Et sidste, men meget tungtvejende, argument for ikke at ekstrapolere er, at antallet af målinger bliver mangedoblet, da man skal måle kapacitetsfaktorer for såvel referencestoffer som for prøvestoffer ved flere forskellige eluentsammensætning for at kunne ekstrapolere til nul.

Klein et al. (1988) anbefaler, at man ikke benytter ekstrapolation af kapacitetsfaktorer ved bestemmelse af $\log P_{ow}$, fordi det gør den eksperimentelle procedure meget omfattende. Ideen med RP-HPLC-metoden var netop, at den skulle være et godt og hurtigt alternativ til den traditionelle måde at bestemme fordelingskoefficienter på. Desuden mener Klein et al., at det virkelige kritiske punkt for en god og præcis korrelation mellem $\log P_{ow}$ og $\log k'$ er fastlæggelsen af hvilke stoffer, der skal bruges til referencekurven, mens kapacitetsfaktorens afhængighed af methanolindholdet ikke influerer særlig meget på korrelationens præcision. OECD guideline nr. 117 bygger på Klein et al.'s undersøgelser. Hvis man følger de retningslinier, som OECD angiver, skal man derfor ikke ekstrapolere.

3.2.4 TLC

Princippet i tyndtlagskromatografi (TLC), til bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienter, er det samme som i RP-HPLC-metoden. Det kromatografiske system består af en plade, der er dækket med et tyndt lag kiselgel. Kiselgel partiklerne er coated med f.eks. C_{18} -kæder, hvilket udgør den stationære fase. Som mobil fase anvendes en vandig opløsning, f.eks. en bufferopløsning. Stationær og mobil fase er derfor af samme type, som man benytter i RP-HPLC til P_{ow} bestemmelse.

Analysen foregår ved, at prøvestoffet opløses i et solvent, hvorefter en lille portion heraf påsættes pladen som en lille plet. Den kromatografiske plade anbringes i et lukket termostateret system, hvor den mobile fase befinder sig. Den mobile fase vil herefter bevæge sig op ad pladen, og prøvestoffet vil under denne proces fordele sig mellem den mobile fase og den stationære fase. Stofferne, der er sat på pladen, vil bevæge sig op ad pladen med varierende hastighed, alt efter hvor hydrofobe de er. Jo mere hydrofobt et stof er, des mere vil det blive tilbageholdt af den stationære fase.

Når den mobile fase næsten har nået toppen af pladen, måles hvor langt pletterne med prøvestoffer er vandret op ad pladen. Detektering af pletterne kan f.eks. ske vha. UV-lys. Ved TLC-metoden

registrerer man forholdet mellem den distance et stof har bevæget sig op af den kromatografiske plade, og den distance den mobile fase har bevæget sig. Dette forhold, R_f , beskriver hvordan et stof fordeler sig i de to faser, ligesom retentionstiden gør det i HPLC-metoden. I TLC benyttes faktoren, R_M givet ved:

$$R_M = \log\left(\frac{l}{R_f} - 1\right) \quad (3.6)$$

Eadsforth og Moser (1983), Papp et al. (1982) og Kuchar et al. (1983) har alle benyttet parameteren R_M fra TLC til korrelation med $\log P_{ow}$ -data. De fandt, at der er en lineær sammenhæng mellem de undersøgte stoffers $\log P_{ow}$ -værdier og R_M -værdier.

Man kan derfor på samme måde, som i HPLC-metoden, fremstille en referencekurve på basis af stoffer, hvor $\log P_{ow}$ -værdierne på forhånd er kendt fra ryste-kolbe målinger. Referencestoffer kromatograferes og R_M -værdierne for disse bestemmes. Man afbilder de kendte $\log P_{ow}$ -værdier som funktion af de målte R_M -værdier. Baggrunden for valg af referencestoffer er de samme for TLC som for HPLC-proceduren (se afsnit 4.1.1).

Prøvestofferne kromatograferes samtidig med referencerne, og deres $\log P_{ow}$ -værdier bestemmes ud fra de målte R_M -værdier. Her gælder også, at jo mere referencestoffer og prøvestoffer minder om hinanden i struktur, des bedre bliver den lineære korrelation. Ifølge Eadsforth og Moser (1983) kan TLC-metoden anvendes til stoffer, der har $\log P_{ow}$ -værdier mellem 0 og 12.

Eadsforth og Moser (1983) gør opmærksom på, at TLC metodens reproducerbarhed ikke er så god som for HPLC-metoden. Målingerne kan reproducere med afvigelser på ca. ± 0.3 log enheder. Grunden til, at denne metode ikke er lige så reproducerbar, er, at den ikke kan automatiseres på samme måde som HPLC-proceduren. Derudover kan der opstå problemer med at detektere prøvepletterne på pladen.

Metoden er, som HPLC, forholdsvis ufølsom overfor urenheder i prøvestoffet. Referencekurver er også en nødvendighed, hvilket betyder, at også her opnås resultaterne indirekte. Metoden er ikke lige så god som HPLC, men der er meget billig og hurtig. TLC er ikke anvendelig til meget flygtige stoffer, da disse vil fordampe fra pladens overflade.

4 Eksperimentel bestemmelse af log P_{ow} for aniliner

4.1 HPLC-metoden

Bestemmelse af log P_{ow} værdier for aniliner ved HPLC er blevet udført i overensstemmelse med de retningslinier, der er beskrevet i OECD guideline nr. 117. De konkrete eksperimentelle betingelser er beskrevet i det følgende.

4.1.1 De anvendte stoffer, referencestoffer og aniliner

Alle de stoffer, der er blevet anvendt til bestemmelse af log P_{ow} værdier, d.v.s. både reference- og prøvestoffer, har været af rene og høje kvalitet. For referencestoffernes vedkommende og for de fleste af prøvestoffernes vedkommende indebar det renheder på min. 98 %, mens enkelte af prøvestofferne havde renheder på min. 96 % og 97 %. Som tidligere omtalt betyder renheden af stofferne imidlertid ikke så meget, når det drejer sig om HPLC-bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienter, og alle stofferne er derfor blevet anvendt til målingerne uden yderligere oprensning. Samtlige stoffer er hjemkøbt fra firmaerne Merck eller Aldrich.

Referencestoffer

Som tidligere omtalt er et hensigtsmæssigt valg af referencestoffer afgørende for at opnå gode resultater ved HPLC-metoden. Valget af referencestoffer tager udgangspunkt i to kriterier. Dels skal referencestofferne vælges så deres log P_{ow} -værdier dækker hele det interval, hvor man forventer, at prøvestoffernes fordelingskoefficient vil befinde sig. Dels skal man vælge nogle referencestoffer, der i struktur ligner prøvestofferne mest muligt, da der derved er den bedste mulighed for at få en god korrelation mellem kapacitetsfaktorer og log P_{ow} . OECD guideline nr. 117 anbefaler, at man benytter mellem 6 og 12 referencestoffer og angiver en liste over stoffer, man kan benytte.

I dette projekt skulle målingerne foretages på prøvestoffer, der udelukkende bestod af anilinforbindelser med forskellige substituentter. Alle prøvestofferne var således aromatiske, og alle indeholdt en aminogruppe. Den omtalte liste over referencestoffer i OECD guideline indeholder kun 3 aniliner, hvilket ikke var nok

til en fuldstændig referencekurve. I stedet blev det valgt at benytte benzenforbindelser som referencer.

Benzenerne er, ligesom anilinerne, aromatiske forbindelser, og de anvendte referencestoffer indeholdt samme type af substituer, som forekom i prøvestofferne. Det blev valgt kun at bruge benzener med forskellige substituer for at have en kemisk homogen gruppe. Det kan være, at referencekurven under disse betingelser ligger lidt forskudt i forhold til, hvordan den ville se ud, hvis det havde været muligt at fremstille en referencekurve udelukkende af aniliner. Til gengæld ved man så, at de afvigelse (i de HPLC-bestemte $\log P_{ow}$ - værdier), der kan forekomme i forhold til ryste-kolbe værdier, sandsynligvis vil kunne forklare ud fra forskelle i benzen- og anilin-forbindelsernes fysisk-kemiske egenskaber. Stoffet anilin, var den eneste anilin blandt referencerne, men den blev taget med, idet det er den eneste aromatiske forbindelse, der kan betragtes som en benzen med en substituent, der har så lav $\log P_{ow}$, at hele det interval, vi kunne forvente at skulle bruge, kunne blive dækket. I tabel 4.1 er angivet, hvilke referencestoffer, der er blevet brugt til $\log P_{ow}$ - bestemmelser i dette projekt.

Referencestof	$\log P_{ow}$
anilin	0.9
phenol	1.5
nitrobenzen	1.9
anisol	2.1
benzen	2.1
toluen	2.7
chlorbenzen	2.8
ethylbenzen	3.2
1,4-dichlorbenzen	3.4
1,2,4-trichlorbenzen	4.2

Tabel 4.1

Ovenstående referencestoffer er anvendt til bestemmelse af aniliners $\log P_{ow}$ vha. HPLC. Alle stofferne er anbefalet af OECD guideline nr. 117 som referencestoffer.

Der blev fremstillet to opløsninger, der indeholdt de nævnte referencer. Den ene opløsning bestod af anilin, nitrobenzen, benzen,

chlorbenzen, 1,4-dichlorbenzen og 1,2,4-trichlorbenzen, mens de resterende stoffer var i den anden opløsning. På denne måde kunne retentionstiden for flere stoffer bestemmes ved samme injektion, hvilket var tidsbesparende, da enkelte af stofferne var hhv. 18 og 38 minutter om at kromatograferes gennem kolonnen ved den givne eluentsammensætning. Referencerne blev opløst i et solvent, der havde samme sammensætning som eluenten.

Aniliner

I alt 34 forskellige aniliner er blevet anvendt som prøvestoffer i nærværende projekt. En oversigt over de undersøgte aniliner er vist i Tabel 4.2.

Der blev lavet stamopløsninger af alle anilinforbindelserne i methanol, og disse blev dernæst fortyndet med et solvent, der havde samme sammensætning som eluenten. Prøveopløsningerne blev fortyndet til en endelig koncentration på ca. 0.05 mg prøvestof/ml prøveopløsning.

anilin	4-methoxyanilin	N-methylanilin
2-chloranilin	4-ethoxyanilin	N-ethylanilin
3-chloranilin	2-methylanilin	N,N-dimethylanilin
4-chloranilin	3-methylanilin	N,N-diethylanilin
2,3-dichloranilin	4-methylanilin	3-hydroxyanilin
2,4-dichloranilin	2-ethylanilin	4-hydroxyanilin
2,5-dichloranilin	4-ethylanilin	2-hydroxy-5-methylanilin
2-bromanilin	2,3-dimethylanilin	4-hydroxy-2-methylanilin
2-nitroanilin	2,4-dimethylanilin	5-chlor-2-hydroxyanilin
3-nitroanilin	3,4-dimethylanilin	4-chlor-2-nitroanilin
4-nitroanilin	2,6-diethylanilin	3-chlor-4-methylanilin
3-methoxyanilin		

Tabel 4.2

Aniliner for hvilke, der er blevet bestemt $\log P_{ow}$.

4.1.2 Apparatur og prøvebetingelser

Der er blevet benyttet standard apparatur til HPLC bestående af en pumpe (Waters), manuel injektor (Rheodyne), kolonnetermostat, fast bølgelængde UV-detektor (Waters) og integrator (Merck/Hitachi).

Som kolonne blev anvendt en 250 mm x 4,6 mm stålkolonne pakket med materialet Hypersil ODS, 5 μ m partikler (Bischoff). Kolonnen var termostateret ved $25 \pm 0.2^\circ\text{C}$. Mobil fase var en blanding (60/40) af methanol og 0.05 M NaH_2PO_4 , der inden var justeret til pH 7,0 med NaOH. Til kromatografering af de mest polære aniliner var blandingsforholdet methanol/buffer dog ændret til 40/60 for at undgå nogle meget korte retentionstider. Flowhastighed af mobil fase var 1,0 ml/min. Detektoren var indstillet til at måle ved en bølgelængde på 254 nm. Injektion af

prøvevolumen (20 µl) foregik under anvendelse af en fast loop med denne størrelse. Loop'en blev fyldt ved injektion (engangs-sprøjte) af ca. 0,5 ml prøve.

Til bestemmelse af dødtiden for det kromatografiske system, er der blevet anvendt en opløsning af ca. 100 mg NaNO₃ i 25 ml eluent. Et stofs retentionstid skal korrigeres for denne dødtid for at få den sande tid, som stoffet er blevet tilbageholdt af den stationære fase.

4.1.3 Måleprocedure

Efter ved gentagen injektion af en anilin standardopløsning at have sikret sig, at HPLC systemet var stabilt udførtes kromatograferingen af reference- og prøveopløsninger. Først udførtes målingerne på de to referencestofopløsninger. Ved den pågældende eluentsammensætning (60 % methanol og 40 % vandig 0.05 M NaH₂PO₄-buffer, pH 7,0) var den ene opløsning ca. 40 minutter og den anden opløsning ca. 20 minutter om at kromatografere alle stoffer gennem kolonnen. Prøveopløsningerne af aniliner injiceredes herefter. De fleste aniliner kromatograferede gennem kolonnen på under 10 minutter. Kun 2,6-diethylanilin og N,N-diethylanilin tog længere tid, nemlig hhv. 10.48 min. og 22,36 minutter. Efter der blev målt på prøveopløsninger, målt referenceopløsningerne igen.

4.2 Ryste-kolbemetode

Ved udførelse af bestemmelsen af K_{ow} for anilin med ryste-kolbe metoden er retningslinierne i OECD guideline nr. 107 blevet fulgt.

4.2.1 Solventer

Første trin i processen var at mætte hhv. oktanol og vandfaser med hinanden. Dette gøres for at undgå volumenændringer, når de to solventer skal blandes i forsøget. Der blev benyttet demineraliseret vand rensset gennem MilliQ system og 99 % rent n-oktanol (Merck). 350 ml vand og 350 ml oktanol blev blandet i en 1 liter skilletragt, og denne rystedes grundigt i et par timer vha. en mekanisk ryste-maskine. Efter henstand blev portioner af de to mættede solventer udtaget til ryste-kolbe proceduren.

4.2.2 Måleprocedure

Der blev lavet en stamopløsning med anilin opløst i oktanol, hvor koncentrationen var 2.5 mg anilin/ml. Vha. denne stamopløsning fremstilledes 6 blandinger, hvor af de to og to havde samme blandingsforhold. Der er således lavet blandinger med tre forskellige forhold af vand og oktanol. I appendix A kan man se en beskrivelse af blandingsforholdene.

Vand og oktanol blev blandet i de ønskede forhold, så man i alt havde 8 ml blanding i et 10 ml centrifugeglas med slib. Efter blanding af de to faser rystedes hver af de 6 glas i 7 minutter ved håndkraft. De 6 prøveblandinger stod natten over og blev centrifugeret i 10 minutter dagen efter for at sikre en ordentlig faseadskillelse.

Derefter blev udtaget en prøve af hhv. vandfase og oktanol fase fra hver blanding til analyse ved HPLC. Analysebetingelserne var identiske med de HPLC betingelser, der blev benyttet til bestemmelse af K_{ow} værdier for anilinerne (afsnit 4.1.2). De udtagne prøver blev fortyndet hhv. 10 gange for vandfasens vedkommende og 25 gange for oktanol fasens vedkommende, idet det på forhånd var blevet checket, hvilke koncentrationer af anilin man kunne detektere vha. HPLC. Fortyndingerne blev foretaget med solvent, der havde samme sammensætning som eluenten, d.v.s. 60 % methanol og 40 % NaH_2PO_4 -buffer, pH 7,0.

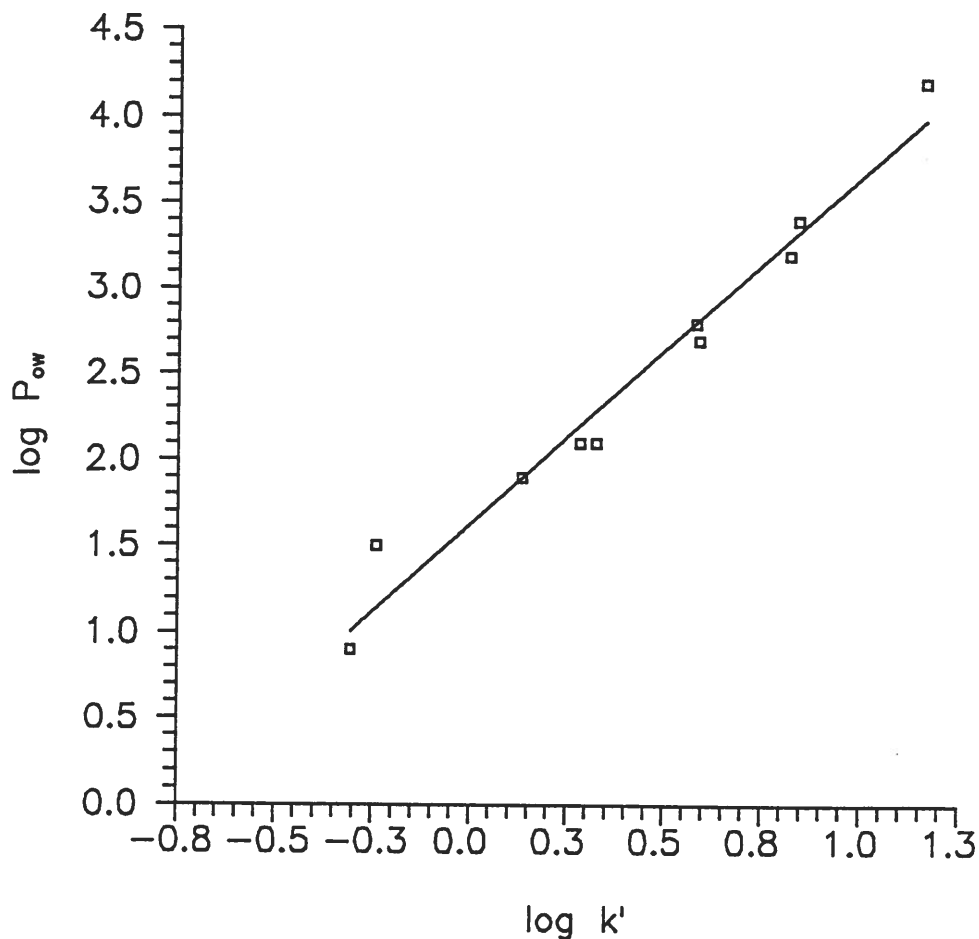
4.3 Resultater

4.3.1 HPLC-metoden

Retentionstiderne for referencerne blev målt to gange dagligt og ud fra et gennemsnit af disse målte værdier kunne referencekurven optegnes. I figur 4.2 er en afbildning af referencekurven vist. Regressionslinien man får ud fra denne afbildning er:

$$\log P_{ow} = (2.043 \pm 0.013) \log k' + (1.653 \pm 0.018); \quad r^2 = 0.969 \quad (4.1)$$

Som det ses af referencekurven betyder hydroxygruppen i phenol, at stoffet tilsyneladende kromatograferer for hurtigt igennem kolonnen i forhold til forventet ud fra den lineære sammenhæng. Det kan skyldes, at stoffet ved pH = 7.0 er delvist ioniseret såle-



Figur 4.2

Referencekurve til bestemmelse af aniliners $\log P_{ow}$.

des, at det er mere polært end det ellers ville være på den neutrale form. At punktet (som er punktet ud for $\log P_{ow} = 1.5$) på referen-
cekurven ligger så forholdsvis langt over selve regressionslig-
ningen gør, at kurven bliver rykket lidt opad i det område, hvor
man har de lave $\log P_{ow}$ - værdier. Det betyder, som det fremgår
af næste afsnit, at $\log P_{ow}$ for anilin bestemmes for høj i forhold til
ryste-kolbe værdierne for dette stof.

Som beskrevet i afsnit 4.1.2, er retentionstiden for hydroxyaniliner-
ne og 4-nitroanilin blevet målt ved andre betingelser end resten af
anilinerne. For at opnå en tilpas lang retentionstid for disse stoffer,
blev der skiftet til en eluent, der havde sammensætningen 40 %
methanol og 60 % 0.05 M vandig NaH_2PO_4 buffer. Desuden blev
der kun benyttet 7 af de 10 referencestoffer (de tre referencestoffer
med de største k' -værdier blev udeladt, p.g.a. for lange retentions-
tider), hvilket gav regressionsligningen i (4.2).

$$\log P_{ow} = 1.430 \log k' + 0.989; \quad r^2 = 0.961 \quad (4.2)$$

Ovenstående regressionsligning er ikke angivet med standardafvigelse, da der kun er blevet målt med denne eluentsammensætning 1 dag.

stofnavn	gennemsnitlig retentionstid (min.)	log k'	log P _{ow}
anilin	3.69	- 0.305	1.01
2-chloranilin	5.15	0.035	1.72
3-chloranilin	4.94	0.000	1.65
4-chloranilin	4.94	0.000	1.63
2,3-dichloranilin	8.01	0.350	2.34
2,4-dichloranilin	9.03	0.424	2.52
2,5-dichloranilin	8.39	0.380	2.42
2-bromanilin	5.73	0.121	1.87
2-nitroanilin	4.69	- 0.046	1.54
3-nitroanilin	4.02	- 0.202	1.22
4-nitroanilin*	6.19	- 0.310	1.02
2-methylanilin	4.37	- 0.114	1.42
3-methylanilin	4.46	- 0.094	1.44
4-methylanilin	4.52	- 0.081	1.47
N-methylanilin	5.08	0.024	1.69
3-methoxyanilin	3.61	- 0.338	0.96
4-methoxyanilin	3.46	- 0.397	0.84
2-ethylanilin	5.41	0.077	1.82
4-ethylanilin	5.85	0.136	1.92
N-ethylanilin	6.39	0.201	2.08
2,3-dimethylanilin	5.27	0.054	1.79
2,4-dimethylanilin	5.63	0.108	1.90
3,4-dimethylanilin	5.41	0.076	1.83
N,N-dimethylanilin	9.10	0.430	2.54

Tabel 4.3

Tabellen viser retentionstiden i minutter, den logaritmerede kapacitetsfaktor og den HPLC-bestemte log P_{ow} - værdi, for 34 forskellige aniliner. For de stoffer, der er markeret med *, er regressionsligning (4.2) anvendt. (4.1) er anvendt til de øvrige.

stofnavn	gennemsnitlig retentionstid (min.)	log k'	log P _{ow}
2,6-diethylanilin	10.48	0.511	2.67
N,N-diethylanilin	22.36	0.906	3.49
4-ethoxyanilin	3.97	-0.217	1.23
2-amino-m-kresol	3.55	-0.359	0.91
2-amino-p-kresol	3.55	-0.359	0.91
4-chlor-2-nitroanilin	8.11	0.359	2.37
5-chlor-2-hydroxyanilin	3.87	-0.247	1.14
3-chlor-4-methylanilin	6.46	0.210	2.09
3-hydroxyanilin*	3.32	-0.493	0.28
4-hydroxyanilin*	3.05	-0.670	0.03

Tabel 4.3 (fortsat)

*Tabellen viser retentionstiden i minutter, den logaritmerede kapacitetsfaktor og den HPLC-bestemte log P_{ow} - værdi, for 34 forskellige aniliner. For de stoffer, der er markeret med *, er regressionsligning (4.2) anvendt. (4.1) er anvendt til de øvrige.*

Retentionstiderne er blevet bestemt for 34 forskellige aniliner. Tiderne er korrigeret for dødtiden og kapacitetsfaktoren er udregnet. Dernæst er log P_{ow} fundet vha. de beregnede regressionsligninger.

I tabel 4.3 er samtlige aniliners retentionstid, kapacitetsfaktor og log P_{ow} - værdi angivet. Dødtiden, der er brugt til beregning af kapacitetsfaktoren, sammen med de enkelte stoffers retentionstider, var bestemt til at være t₀ = 2.47 min for stoffer, der følger regressionsligning (4.1) og t₀ = 2.51 min for stoffer, der følger (4.2).

4.3.2 Ryste-kolbemetoden

Koncentrationsindholdet af anilin i hhv. oktanol og vandfase er givet i appendix A. Som det samlede resultat blev det fundet, at oktanol-vand fordelingskoefficienten for anilin er :

$$\log P_{ow} = 0.86 \pm 0.01 \quad (4.3)$$

Resultatet har en absolut afvigelse fra den HPLC-bestemte værdi på 0.15 log enheder og en relativ afvigelse på 14.8 %. En afvigelse

på under 0.2 log enheder må siges at være tilfredsstillende. En af årsagerne til, at anilin har så stor relativ afvigelse, kan, som tidligere beskrevet, formentlig forklares ud fra referencekurven, idet phenol referencestoffet ligger en del over regressionslinien, og derfor flytter linien opad i forhold til anilin.

4.4 Diskussion og konklusion

De fundne $\log P_{ow}$ - værdier, er blevet sammenlignet med data fra litteraturen. Det er $\log P_{ow}$ - værdier, der dels er bestemt ved ryste-kolbe forsøg og dels ved andre HPLC-målinger. Tabel 4.4 viser en sammenligning af de her opnåede resultater med oktanolvand fordelingskoefficienter, der er fundet vha. ryste-kolbe metoden. Ryste-kolbe data er samlet og udgivet af Leo et al.(1971).

Da den relative afvigelse er meget stor på hydroxylanilinerne, fordi $\log P_{ow}$ - værdierne er meget små, er disse ikke medtaget i beregningen af den gennemsnitlige afvigelse af egne resultater fra litteraturværdier. Som det ses i tabellen, er der kun en gennemsnitlig afvigelse på 9.2%. Hvis man kigger på afvigelserne mellem de to sæt af data i log enheder, gælder der, at oktanolvand fordelingskoefficienterne, der er fundet ved HPLC, ikke afviger mere end 0.2 log enheder fra ryste-kolbe værdierne for de fleste stoffer.

Eadsforth (1983) beretter, at man kan opnå resultater, der afviger max. 1 log enhed fra ryste kolbe værdier, mens hhv. Haky (1987) og Harnisch (1983) beskriver, at de ved at benytte referencestoffer, der er strukturelt beslægtet med prøvestofferne, opnår, at afvigelserne er på max. 0.2 log enheder, hvilket man anser for godt.

$\log P_{ow}$, målt i dette projekt, afviger for de fleste stoffers vedkommende med under 0.2 log enheder. Der er kun 4 aniliner, hvor afvigelsen er større.

Hvis man ser på afvigelsesernes fortegn i tabel 4.4, er der en tydelig tendens, idet fortegnet afhænger af, hvilken substituent der sidder på anilinmolekylet. Ved HPLC-målingerne, med den givne referencekurve, bestemmes $\log P_{ow}$ for lave for de chlorerede aniliner i forhold til ryste-kolbe værdierne. Det samme gælder for nitroanilinerne, mens $\log P_{ow}$, for methylanilinerne, bestemmes for høje.

De omtalte afvigelser viser, at anilinforbindingernes egenskaber varierer med hvilken substituent, der er på grundmolekylet. De chlorerede aniliner er f.eks mere fedtopløselige end forventet udfra regressionsligningen, mens de methylerede aniliner er mindre

Stofnavn	log Pow*	log Pow**	afvigelse i log enheder	afvigelse# (%)
anilin	1.01	0.94	0.07	+ 7.4
2-chloranilin	1.72	1.91	0.19	- 9.9
3-chloranilin	1.65	1.89	0.24	- 12.7
4-chloranilin	1.63	1.83	0.20	- 10.9
2,3-dichloranilin	2.34	2.78	0.44	- 15.8
2-bromanilin	1.87	2.29	0.42	- 18.3
2-nitroanilin	1.54	1.81	0.27	- 14.9
3-nitroanilin	1.22	1.37	0.15	- 10.9
4-nitroanilin	1.23	1.39	0.16	- 11.5
2-methylanilin	1.42	1.31	0.11	+ 8.3
3-methylanilin	1.44	1.42	0.02	+ 1.4
4-methylanilin	1.47	1.40	0.07	+ 5.0
N-methylanilin	1.69	1.74	0.05	- 2.9
3-methoxyanilin	0.96	0.93	0.03	+ 3.2
4-methoxyanilin	0.84	0.95	0.11	- 11.6
N-ethylanilin	2.08	2.26	0.18	- 8.0
N,N-dimethylanilin	2.54	2.46	0.08	+ 3.3
3-hydroxyanilin	0.28	0.16	0.12	+ 75.0
4-hydroxyanilin	0.03	0.04	0.01	- 25.0
gennemsnitlig afvigelse (uden hydroxyanilinerne)				9.2

Tabel 4.4

Sammenligning mellem egne resultater og rystekolbe-resultater, der er givet af Leo et al. (1971). Hydroxyanilinerne er ikke medtaget i det samlede gennemsnit, da deres fordelingskoefficienter er så små, at den relative afvigelse bliver meget stor, selvom den absolutte afvigelse er lille.

* egne resultater

** Ryste-kolbe værdier fra Leo et al. (1971).

Log P_{ow} -værdierne er et gennemsnit af de værdier, der er angivet i referencen.

De procentiske afvigelser er givet som $\log P_{ow}$'s afvigelse fra $\log P_{ow}$.

fedtopløselige, idet disse stoffers $\log P_{ow}$, bestemt ved ryste-kolbe forsøg, hhv. ligger over og under de værdier, der forudsiges vha. benzenreferencekurven. Benzenreferencekurven kan derfor ikke gengive $\log P_{ow}$ lige godt for alle typer af anilinformbindelser. Det ville derfor være optimalt med en referencekurve for hver type anilin, en til chlorerede aniliner, en til methylerede aniliner, etc. Det er imidlertid ikke praktisk muligt at finde så mange forskellige referencestoffer, at alle anilinformbindelserne bliver beskrevet lige godt. Det nyttige ved sammenligningen i tabel 4.4 er, at man kan se, at anilinformbindelsernes egenskaber ændres med substituenten. Desuden er det en fordel, når man skal anvende de målte $\log P_{ow}$ - værdier, at man ved for hvilke typer af anilinformbindelser, man kan forvente de største afvigelser.

Der er flere i litteraturen, der vha. HPLC har bestemt $\log P_{ow}$ for nogle af de her undersøgte aniliner. De næste 3 tabeller viser en sammenligning af egne resultater med andres HPLC-bestemte $\log P_{ow}$ - værdier. Da de opnåede resultater kan afhænge af de anvendte HPLC-betingelser og især af den anvendte referencekurve, er der specificeret, under hvilke betingelser målingerne er foretaget.

Tabel 4.5 viser oktanol-vand fordelingskoefficienter for 11 aniliner, der er bestemt ved HPLC. De data der sammenlignes med stammer fra Carlson (1975), og de er bestemt under anvendelse af en C_{18} -kolonne med eluentsammensætninger, der har haft et varierende forhold af vand og acetone. Carlson har ekstrapoleret de fundne kapacitetsfaktorer til rent vand, jvnf. afsnit 4.1.3. Der er benyttet ryste-kolbe værdier for samtlige de undersøgte aniliner til at fremstille regressionsligningen for korrelation mellem k' og $\log P_{ow}$. De målte kapacitetsfaktorer er først blevet benyttet til at fremstille regressionsligningen, og der efter er de igen blevet indsat i denne ligning, hvorved man så har reestimeret deres $\log P_{ow}$. Der er ikke blevet bestemt $\log P_{ow}$ for andre stoffer end dem der selv optræder i regressionsligningen. De anvendte stoffer er ikke angivet som referencestoffer i OECD guideline nr. 117.

Som det ses er der bedre overensstemmelse mellem Carlsons HPLC-bestemte oktanol-vand fordelingskoefficienter og ryste-kolbe-værdierne fra Leo et al. (1971), når det gælder de chlorerede aniliner og til dels også nitroanilinerne, end det er tilfældet for de $\log P_{ow}$, der fundet i dette projekt. Det skyldes formodentlig, at deres referencekurve består af anilinerne selv, hvilket betyder at regressionsligningen bliver god for netop disse stoffer. Dette projekts resultater stemmer bedre overens med ryste-kolbe værdierne, end Carlsons, når det gælder aniliner, der indeholder methyl- og methoxygrupper.

Stofnavn	log _{POW} (*)	log _{POW} (**)	log _{POW} (+)	afvigelse af * fra ** (%)	afvigelse af * fra + (%)	afvigelse af ** fra + (%)
anilin	1.01	0.95	0.94	+ 6.3	+ 7.4	+ 1.1
2-chloranilin	1.72	1.91	1.91	- 9.9	- 9.9	0.0
4-chloranilin	1.63	1.85	1.83	- 11.9	-10.9	+ 2.1
2,4-dichloranilin	2.52	2.75	-	- 8.4		
3-methoxyanilin	0.96	1.11	0.93	- 13.5	+ 3.2	+ 19.4
4-methoxyanilin	0.84	0.72	0.95	+ 16.7	- 11.6	- 24.2
2-methylanilin	1.42	1.43	1.31	- 0.7	+ 8.3	+ 9.2
3-methylanilin	1.44	1.45	1.42	- 0.7	+ 1.4	+ 2.1
4-methylanilin	1.47	1.48	1.40	- 0.7	+ 5.0	+ 5.7
2-nitroanilin	1.54	1.62	1.81	- 4.9	- 14.9	- 10.5
3-nitroanilin	1.22	1.50	1.37	- 18.7	- 10.9	+ 9.5
gennemsnitlig afvigelse i (%)				8.4	8.4	8.4

Tabel 4.5

De tre første kolonner er log P_{OW} - data fundet ved hhv. HPLC og ryste-kolbe forsøg. Indeks til de tre kolonner er forklaret i det nedenstående. De sidste tre kolonner er sammenligninger mellem resultaterne i de første tre kolonner.

* Egne resultater

** De eksperimentelle data er fremkommet på basis af en referencekurve, der er lavet ud fra ryste-kolbe litteratordata for samtlige aniliner i undersøgelsen. De HPLC bestemte værdier stammer fra: Carlson (1975).

+ Ryste-kolbe resultater fra Leo et al. (1971), som også er givet i tabel 4.4.

Overensstemmelsen mellem egne og Carlsons resultater er rimelig god. Her ses de største afvigelse for de chlorerede aniliner og de aniliner, der indeholder methoxygrupper. Log P_{OW} , fundet ud fra kendskab til ryste-kolbe værdier for samtlige aniliner i undersøgelsen, kan for visse anilinforbindelser gengives bedre end det

er tilfældet med $\log P_{ow}$ fundet vha. benzenreferencer. Til gengæld forudsiges der bedre $\log P_{ow}$ - værdier for methylaniliner vha. benzenreferencestofferne, hvilket formodentlig skyldes, at deres lipofile egenskaber minder mere om benzenernes.

Den gennemsnitlige afvigelse mellem de to forsøgs HPLC-bestemte resultater er på 8.4 %, hvilket generelt må tilskrives brug af de to forskellige referencekurver. Til gengæld afviger begge typer resultater også med 8.4 % fra ryste-kolbe værdierne, hvorfor man ikke kan sige, at den ene HPLC-metode generelt er bedre end den anden, men at de er gode til at forudsige $\log P_{ow}$ for forskellige anilintyper.

Stofnavn	$\log P_{ow}$ (*)	$\log P_{ow}$ (**)	$\log P_{ow}$ (+)	afvigelse af * fra ** (%)	afvigelse af * fra + (%)	afvigelse af ** fra + (%)
anilin	1.01	0.90	0.94	+ 12.2	+ 7.4	- 4.3
2-chloranilin	1.72	1.99	1.91	- 12.5	- 9.9	+ 4.2
3-chloranilin	1.65	2.00	1.89	- 17.5	- 12.7	+ 5.8
4-chloranilin	1.63	2.02	1.83	- 19.3	- 10.9	+ 10.4
2,3-dichloranilin	2.34	2.71	2.78	- 13.7	- 15.8	+ 2.5
2,4-dichloranilin	2.52	2.78	--	- 9.4	--	--
2,5-dichloranilin	2.42	2.75	--	- 12.0	--	--
gennemsnitlig afvigelse i (%)				13.8	11.3	5.4

Tabel 4.6

Sammenligning mellem egne og Hammers (1982) HPLC-bestemte oktanol-vand fordelingskoefficienter, og sammenligning af begge disse med ryste-kolbe værdier.

* 4-chlorphenol er ikke med i benzen-referencekurven.

** HPLC bestemte $\log P_{ow}$ -værdier fra: Hammers (1982).

+ Ryste-kolbe værdier fra Leo et al. (1971).

I tabel 4.6 er vist en sammenligning mellem vore resultater og oktanol-vand fordelingskoefficienter bestemt af Hammers (1982). De log P_{OW} -værdier, der sammenlignes med, er også bestemt vha. HPLC, og i dette tilfælde har man benyttet referencekurven til at bestemme log P_{OW} for stoffer, der ikke selv indgår mellem referencestofferne. Det vil sige, at de har anvendt referencekurven på samme måde, som det er gjort i dette projekt.

Hammers har udført målingerne på en C_{18} -kolonne, og har benyttet eluenter med varierende sammensætning af methanol og vand, idet kapacitetsfaktorerne er blevet ekstrapoleret til rent vand. Som referencestoffer er benyttet et stort antal aromatiske forbindelser, her i blandt findes chloraniliner, chlorbenzener og chlorphenoler.

Som det ses i tabel 4.6 er der ikke så god overensstemmelse mellem egne og Hammers resultater, og Hammers resultater stemmer bedre overens med ryste-kolbe værdierne. Det skyldes formodentlig, at Hammers har haft mange chlorholdige stoffer i referencekurven, der ialt består af 38 stoffer. Det er et bedre grundlag end vore ni referencestoffer, hvoraf kun er tre er chlorede forbindelser og ingen er aniliner. De stoffer Hammers benytter som referencestoffer er ikke på listen over anbefalede stoffer i OECD guideline nr. 117. Det er et eksempel på, at man kan opnå bedre resultater for log P_{OW} -bestemmelsen for anilinerne, hvis man koncentrerer sig om en enkelt type substituent, nemlig chlor.

Den næste tabel, tabel 4.7, er interessant ud fra det synspunkt, at Könemann (1979), har bestemt log P_{OW} for aniliner med næsten de samme forsøgsbetingelser som i dette projekt. Könemann har målt på en C_{18} -kolonne, og der er benyttet en eluent med 70 % methanol og 30 % vand. Han har ikke anvendt buffer. Ligesom ved disse målinger er kapacitetsfaktoren, ikke ekstrapoleret til rent vand. Som referencer er benyttet chlorbenzener, som han selv har bestemt ryste-kolbe værdier for. Så referencestofferne minder om dem, der er brugt til målingerne i dette projekt.

Som det fremgår af tabel 4.7, er der en meget god overensstemmelse mellem Könemanns og vore resultater. Disse er opnået under næsten identiske betingelser, og kan derfor betragtes som et udtryk for, at HPLC-metoden har en rimelig god reproducerbarhed.

Der er kun en gennemsnitlig afvigelse mellem de to forsøgsresultater på 4.7 %, hvor afvigelserne er både positive og negative, selvom det udelukkende drejer sig om aniliner med chloresubstituent. Det vil sige, at der er ikke en systematisk afvigelse på resultaterne. Afvigelserne, der er givet i tabel 4.7, må skyldes usikkerhed på selve målingerne og stammer ikke fra forskelle i

referencekurven. Begge forsøgsrækker afviger med ca. 10.5 % fra ryste-kolbe værdierne og har begge bestemt for lave log P_{ow} værdier i forhold til disse.

I de to forskellige forsøg har man brugt lidt forskellige eluentsammensætninger, og alligevel stemmer resultaterne godt overens. Det kan man tage som udtryk for, at det ikke er nødvendigt at ekstrapolere kapacitetsfaktorerne til rent vand.

Stofnavn	log P_{ow} (%)	log P_{ow} (**)	log P_{ow} (+)	afvigelse af * fra ** (%)	afvigelse af * fra + (%)	afvigelse af ** fra + (%)
anilin	1.01	0.91	0.94	+ 11.0	+ 7.4	- 3.2
2-chloranilin	1.72	1.74	1.91	- 1.1	- 9.9	- 8.9
3-chloranilin	1.65	1.57	1.89	+ 5.1	- 12.7	- 16.9
4-chloranilin	1.63	1.57	1.83	+ 3.8	- 10.9	- 14.2
2,4-dichloranilin	2.52	2.64	--	- 4.5	--	--
2,5-dichloranilin	2.42	2.49	--	- 2.8	--	--
gennemsnitlig afvigelse i (%)				4.7	10.2	10.8

Tabel 4.7

Sammenligning af egne og Kønemanns HPLC opnåede resultater. Begge resultatrækker sammenlignes med ryste-kolbe værdier fra tabel 4.4.

* egne resultater

** HPLC bestemte log P_{ow} -værdier fra: Kønemann (1979).

+ Ryste-kolbe værdier fra Leo et al. (1971).

Anilins oktanol-vand fordelingskoefficient blev ved ryste-kolbe forsøget fundet til log P_{ow} = 0.86, mens det ved HPLC-metoden blev fundet, at log P_{ow} = 1.01. Det er en relativ afvigelse på 14.8 % og en absolut afvigelse på 0.15 log enheder. En afvigelse, der er mindre end 0.2 log enheder kan anses for godt, og desuden kan man, i hvertfald delvis, forklare afvigelsen ud fra to aspekter. Dels så vi, at referencekurven (fig 4.2) blev forskubbet opad for de lave log P_{ow} p.g.a phenol. Det vil sige, at man ved HPLC-metoden kommer til at bestemme værdien noget højere end den er opgivet til i OECD guideline nr. 117, nemlig 0.9. Desuden kan den store afvigelse også skyldes den store variation, som man observerer i log P_{ow} - værdierne ved ryste-kolbe forsøg. Således fandtes ved en

laboratoriesammenligningstest udført af Harnish (1983), at resultaterne fra bestemmelse af $\log P_{OW}$ for anilin varierede indenfor et interval på 0.58 log enheder, nemlig fra 0.87 til 1.45 og med et gennemsnit på 1.01. Resultatet af den i dette projekt udførte ryste-kolbe bestemmelse ligger derfor lige udenfor dette interval.

I dette projekt er HPLC-metoden valgt til bestemmelse af $\log P_{OW}$ for 34 forskellige anilinforbindelser, idet denne metode forekommer hurtig, let tilgængelig og giver mulighed for en god reproducerbarhed, men det er også blevet afprøvet hvordan ryste-kolbe metoden virker i praksis.

Bestemmelse af et enkelt stofs oktanol-vand fordelingskoefficient vha. ryste-kolbe metoden tager meget lang tid, idet især analyserne af hhv. oktanol og vandfasen er tidskrævende. Man kan bestemme $\log P_{OW}$ for en anilinforbindelse på 1-2 dage ved ryste-kolbe metoden, mens man ved anvendelse af HPLC kan bestemme 7-9 aniliners $\log P_{OW}$ på én dag.

Man bruger til gengæld forholdsvis lang tid på at finde passende forsøgsbetingelser ved HPLC-målingerne, nemlig fastlæggelse af eluentsammensætning samt af hvilke referencestoffer, der skal anvendes. Ved ryste-kolbe metoden skal man bruge tid på at finde en passende analysemetode, hvilket kan være tidskrævende. I dette projekt blev der ikke brugt meget tid på at finde en analysemetode til ryste-kolbe metoden, da det på forhånd var kendt fra de forudgående $\log P_{OW}$ -bestemmelser på HPLC, at anilin kunne kromatograferes vha. HPLC. Der kan derfor være lange forberedelser til begge metoder, men hvis man kun skal analysere ganske få stoffer, kan man overveje at bruge den traditionelle ryste-kolbe metode. Jo flere stoffer man har, jo bedre kan det betale sig at benytte HPLC.

Med hensyn til de opnåede $\log P_{OW}$ for de 34 aniliner må man sige, at en gennemsnitlig relativ afvigelse på 9.2 % er godt, men man skal være opmærksom på, at størrelsen og fortegnet for afvigelsen afhænger af hvilken substituent, der er på anilinmolekylet. Især for chlorforbindelsernes blev det observeret, at oktanol-vand fordelingskoefficienter systematisk bestemmes for lave.

Der blev ligeledes observeret systematiske afvigelse for aniliner med nitro- og methylgrupper. Det er en indikation af, at forskellige substituent på anilinmolekylet ændrer anilinforbindelsens egenskaber, hvilket man skal tage med i overvejelserne, når de fundne $\log P_{OW}$ beregnes i hhv. UNIFAC og QSAR-modeller. Når man har disse variationer i anilinforbindelsernes egenskaber, og samtlige $\log P_{OW}$ er bestemt ud fra den samme referencekurve, er

en gennemsnitlig afvigelse fra ryste-kolbe værdierne på 9.2 % et rimeligt resultat.

Ved sammenligning af egne resultater med HPLC-bestemte $\log P_{ow}$ for anilinforbindelser har man kunnet få et indtryk af, i hvor høj grad de fundne resultater afhænger af den valgte referencekurve. OECD guideline nr. 117 angiver således også, at valget af referencestofferne er det vigtigste i HPLC-metoden.

Der er god mulighed for at reproducere $\log P_{ow}$ -værdier fundet ved HPLC-målinger ved, at man anvender samme kolonne, eluent og referencestoffer. Dette er verificeret i denne undersøgelse, da der er meget god overensstemmelse mellem oktanol-vand fordelingskoefficienter bestemt i to forskellige projekter, men med næsten samme forsøgsbetingelser.

5 Eksperimentelle $\log P_{ow}$ for aniliner anvendt til estimering af UNIFAC-parametre

5.1 UNIFAC-modellen

UNIFAC er en gruppebidragsmodel (Fredenslund et al., 1977). Den med gruppebidragsmodeller er, at man reducerer mange tusinde kemiske stoffer til ca. hundrede funktionelle grupper, som samtlige stoffer er sammensat af. F.eks. har man, at lineære alkaner er opbygget af grupper som $-CH_3$ og $-CH_2$, mens aromatiske forbindelser indeholder grupper som ACH, hvor A betyder, at CH-gruppen indgår i den aromatiske ring.

UNIFAC benyttes til at beregne aktivitetskoefficienter. I UNIFAC modellen er aktivitetskoefficienten opdelt i to bidrag, et kombinatorialt bidrag, der afhænger af molekylernes størrelse og form, og et residualt bidrag, der stammer fra de energimæssige interaktioner mellem molekylerne (grupperne).

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^C + \ln \gamma_i^R \quad (5.1)$$

Det er i den residuale del af aktivitetskoefficienten, at de såkaldte gruppe interaktionsparametre, a_{mn} , indgår. Disse parametre er estimeret ud fra fase-ligevægts data for binære systemer. En mere detaljeret gennemgang af UNIFAC modellen er givet af Fredenslund et al. (1977). I appendix B gives der en kort beskrivelse af modellen.

5.2 Log P_{ow} beregning vha. UNIFAC-modellen

Gennem aktivitetskoefficienterne kan UNIFAC benyttes til at beregne fysisk-kemisk parametre af betydning for miljøet (Chen et al. 1993). Ved hjælp af UNIFAC kan man f.eks. forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter, som beskrevet af Chen og Holten-Andersen (1992).

$$P_{ow} = 0.151 \frac{\gamma_{w, UNIFAC}^{\infty}}{\gamma_{o, UNIFAC}^{\infty}} \quad (5.2)$$

Indeks UNIFAC referer til, at aktivitetskoefficienterne er bestemt vha. UNIFAC modellen, mens indeks o og w referer til, at aktivitetskoefficienten for stoffet er bestemt i hhv. oktanol og vand. Betegnelsen ∞ referer til, at aktivitetskoefficienterne er beregnet ved uendelig fortynding.

UNIFAC-modellens evne til at gengive fordelingskoefficienter for anilinforbindinger undersøges ved at sammenligne de log P_{ow} - værdier, man beregner med UNIFAC, med de log P_{ow} - værdier, der kendes fra de eksperimentelle målinger, der er udført i projektet. Som man kan se i tabel 5.4, kan UNIFAC, med de nuværende interaktionsparametre, ikke gengive oktanol-vand fordelingskoefficienter lige godt for alle anilinforbindingerne.

For at opnå en bedre overensstemmelse mellem log P_{ow} , beregnet med UNIFAC, og de eksperimentelt bestemte log P_{ow} - værdier, blev der estimeret nye værdier for seks af gruppe interaktionsparametrene i UNIFAC-modellen.

5.3 Parameterestimering

5.3.1 Program til parameterestimering

Til at estimere nye værdier for gruppe interaktionsparametrene i UNIFAC-modellen benyttes et Fortran program, der hedder PRAK.FOR (Institut for Kemiteknik, DTH, 1988).

For at kunne estimere parametre til UNIFAC, vha. PRAK.FOR programmet, skal der, vha. en inddatafil, indlæses eksperimentelle ligevægsdata for binære systemer. I datasættene indgår eksperimentelt bestemte værdier for aktivitetskoefficienterne, γ , for stoffer i binære blandinger. Desuden skal den temperatur og sammensætning, hvorved γ er fundet, angives.

Hvis man skal estimere parametre ud fra anilinformbindelser i uendelig fortynding i vand, behøver man kun to eksperimentelt bestemte størrelser, nemlig aktivitetskoefficienten for anilin i uendelig fortynding i vand, γ_w^∞ , og den temperatur den er bestemt ved. De andre størrelser er på forhånd fastlagt, når det gælder uendelig fortynding. Det vides nemlig, at molbrøken for vand er 1.0, mens molbrøken for anilinformbindelsen er 0.0 og aktivitetskoefficienten for vand er 1.0.

I PRAK.FOR programmet skal man selv indlæse alle de nødvendige parametre og konstanter til UNIFAC-modellen for de stoffer, der optræder i de anvendte datasæt. I inddatafilen skal man desuden angive, hvilke gruppe interaktionsparametre man ønsker at estimere, ligesom det angives, hvor mange datasæt man anvender til parameter estimeringen. Hvis man er interesseret i yderligere information om inddatafilen til PRAK.FOR henvises til appendix B.

PRAK.FOR programmet finder, ved gentagne iterationer, de værdier for gruppe interaktionsparametrene, hvor modellen beregner aktivitetskoefficienter, der stemmer så godt overens med de indlæste, eksperimentelle, værdier som muligt. Til at minimere forskellen mellem den, vha. UNIFAC, beregnede aktivitetskoefficient og den eksperimentelt bestemte, benyttes objektfunktion, F , vist i (5.3). γ_{UNIFAC} er aktivitetskoefficienten beregnet vha. UNIFAC-modellen, mens $\gamma_{EKSP.}$ er den eksperimentelle værdi.

$$F = \sum (\gamma_{UNIFAC} - \gamma_{EKSP.})^2 \quad (5.3)$$

Efter at have minimeret forskellen mest muligt giver programmet, i en uddatafil de nye værdier for interaktionsparametrene. Foruden disse parametre, angiver programmet de beregnede aktivitetskoefficienter. Til sidst skal det nævnes, at PRAK.FOR programmet udelukkende kan benyttes til beregning af aktivitetskoefficienter, hvilket benyttes senere.

5.3.2 γ_w^∞ til estimering af interaktionsparametre

Som beskrevet i foregående afsnit, skal man kende den eksperimentelle værdi for γ_w^∞ for anilinforbindelserne for at kunne udføre parameterestimering med PRAK.FOR. I de her tilfælde kender man kun de eksperimentelle $\log P_{ow}$ for anilinforbindelserne, så derfor må γ_w^∞ bestemmes ud fra denne størrelse for at parameterestimeringen kan udføres.

Ved kendskab til den eksperimentelle værdi for $\log P_{ow}$ for et stof kender man forholdet mellem aktivitetskoefficienterne for et stof i uendelig fortynding i hhv. vand og oktanol, jvnf. formel 2.1. Man kender altså ikke direkte de eksperimentelle værdier for hhv. γ_w^∞ og γ_o^∞ . Hvis man beregner den ene af disse aktivitetskoefficienter vha. UNIFAC-modellen og antager, at den værdier er i god overensstemmelse med den eksperimentelle værdi, som man ikke kender, så kan man, vha. formel (5.2), beregne den anden aktivitetskoefficient.

Fordelingskoefficienter bestemt vha. af udtrykket i (5.2) giver de mest troværdige værdier, hvis UNIFAC-modellen med de eksisterende interaktionsparametre, kun bruges til at beregne stoffets aktivitetskoefficient i oktanolphasen, γ_o^∞ , og man bruger en eksperimentel værdi for stoffets aktivitetskoefficient i vand, hvilket er beskrevet af Campbell (1985). Man kan, på denne baggrund, antage, at UNIFAC-modellen er god til at forudsige stoffers aktivitetskoefficienter i uendelig fortynding oktanol, men ikke lige så godt i vand.

Ved udførelsen af parameterestimeringen i dette projekt, er det derfor antaget, at γ_o^∞ , beregnet vha. af UNIFAC, stemmer godt overens med de virkelige værdier, selvom man ikke har kendskab til disse for de undersøgte anilinforbindelser.

Efter ovenstående antagelse kender man hhv. $\log P_{ow}$ og γ_o^∞ for anilinerne, hvorved man vha. (5.2) kan bestemme γ_w^∞ . Det er denne γ_w^∞ -værdi, der indlæses som den eksperimentelle værdi i PRAK.FOR programmet.

Nedenstående er en skitsering af, punkt for punkt, hvordan γ_w^∞ findes til parameterestimeringen.

1. Den eksperimentelle $\log P_{ow}$ er kendt for anilinerne.
2. Det antages, at UNIFAC beregner γ_o^∞ , tilfredsstillende, så man kan anse den for en god tilnærmelse til den eksperimentelle værdi, som man ikke kender.
3. γ_w^∞ beregnes ud fra nedenstående formel

$$\gamma_w^\infty = \frac{\gamma_o^\infty P_{ow}}{0.151} \quad (5.4)$$

4. Når γ_w^∞ er fundet vha. ovenstående formel og ovenstående antagelser, kan værdien indlæses sammen med den eksperimentelle måletemperatur. (i dette projekt altid $T = 298.0 \text{ K}$)

Herefter kan programmet køres og de ønskede gruppe interaktionsparametre estimeres.

5.4 Opnåede resultater

5.4.1 Interaktionsparametre

Som man vil kunne se i tabel 5.4 og 5.5 er UNIFAC, med de eksisterende gruppe interaktionsparametre, især dårlig til at forudsige $\log P_{ow}$ for chlorholdige aniliner, og aniliner der indeholder nitrogrupper. Derfor er der estimeret nye værdier for interaktionsparametrene mellem vand og hhv. ACCL og ACNO₂. A beskriver, som før, at den funktionelle gruppe er bundet til et kulstofatom, den indgår i en aromatisk ring. Der er således estimeret nye værdier for interaktionsparametrene $a_{ACCL-H2O}$, $a_{H2O-ACCL}$, $a_{ACNO2-H2O}$ og $a_{H2O-ACNO2}$.

Da mange af de anilinforbindelser, der er undersøgt tidligere i projektet, indeholder methylgrupper bundet til aromatisk kulstof, blev der ligeledes estimeret nye værdier for parametrene $a_{ACCH3-H2O}$ og $a_{H2O-ACCH3}$.

Stofnavn	γ_w^{∞}	log P_{OW}	γ_w^{∞}
2-methylanilin	1.2624	1.42	219.90
3-methylanilin	1.2624	1.44	230.26
4-methylanilin	1.2624	1.47	246.73
2-chloranilin	1.4993	1.72	521.09
3-chloranilin	1.4993	1.65	443.52
4-chloranilin	1.4993	1.63	409.43
3-nitroanilin	11.2115	1.22	1232.22
4-nitroanilin	11.2115	1.02	777.48

Tabel 5.1

Tabellen viser aktivitetskoefficienter for aniliner i uendelig fortynding i oktanol beregnet vha. UNIFAC-modellen, hvor PRAK.FOR er benyttet til at udføre beregningerne. Desuden vises de eksperimentelle Log P_{OW} og aktivitetskoefficienter for anilinerne i uendelig fortynding i vand beregnet udfra γ_w^{∞} og log P_{OW} (jvnf. afsnit 5.3.2). De viste stoffer er alle benyttet til estimering af interaktionsparametre til UNIFAC-modellen.

Der er benyttet 3 monosubstituerede chloraniliner til bestemmelse af interaktionsparametrene mellem $ACCl$ -gruppen og H_2O , og der er benyttet 3 monosubstituerede methylaniliner til bestemmelse af $ACCH_3 - H_2O$ interaktionerne, mens der kun er benyttet to ud af tre mulige monosubstituerede nitroaniliner ved estimeringen af $a_{ACNO_2-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACNO_2}$. I tabel 5.1 er det angivet hvilke stoffer, der er benyttet til parameterestimeringen.

UNIFAC-modellen skelner ikke mellem hvilken position, den funktionelle gruppe har på den aromatiske ring. Det vil sige, at den beregnede fordelingskoefficient, for hhv. ortho-, meta- og paraforbindelsen af et givent stof, vil være den samme. 2-nitroanilin (ortho-nitroanilin) er ikke medtaget i estimeringen af $a_{ACNO_2-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACNO_2}$, idet denne anilinforbindelse har en væsentlig større fordelingskoefficient end hhv. 3- og 4-nitroanilin.

Forbindelser, der har en substituent placeret i orthopositionen på den aromatiske ring har ofte lidt anderledes egenskaber end forbindelser, hvor substituenten er placeret i meta- eller parapositionen. Det skyldes, at der i orthopositionen er mulighed for intramolekylære interaktioner med gruppen, der sidder på kulstoffet ved siden af, jvnf Campell (1985). Ortho-forbindelsen af nitroanilin er derfor udeladt af parameterestimeringen for, at de fremkomne

parametrene, i det mindste, skulle blive i stand til at gengive $\log P_{ow}$ for meta- og paraforbindelsen rimeligt.

For både de monosubstituerede chloraniliner og methylaniliners vedkommende gælder, at fordelingskoefficienternes værdi, for alle tre positioner af den funktionelle gruppe, ligger tæt på hinanden, og derfor er alle stofferne medtaget i estimeringen. Tabel 5.1,

Parameter a_{mn}	Gammel værdi til UNIFAC	Ny værdi til UNIFAC
a_{ACCl-H_2O}	-274.5	348.2
$a_{H_2O-ACCl}$	133.9	514.5
$a_{ACNO_2-H_2O}$	360.7	408.9
$a_{H_2O-ACNO_2}$	399.5	642.3
$a_{ACCH_3-H_2O}$	5695.0	228.0
$a_{H_2O-ACCH_3}$	377.6	302.5

Tabel 5.2

Oversigt over de eksisterende interaktionsparametre, a_{mn} , i UNIFAC-modellen og de ny parametre, der er blevet estimeret vha. PRAK.FOR programmet.

førrige side, angiver hvilke stoffer der er benyttet til parameterestimeringen, samt den γ_w^∞ , der ligger til grund for disse estimeringer.

Ved hjælp af data fra tabel 5.1 og estimeringsprogrammet PRAK.FOR er de ny interaktionsparameter fremkommet. Disse er, tillige med de eksisterende (de gamle) UNIFAC interaktionsparametre, angivet i tabel 5.2. Man skal være opmærksom på, at det er et meget begrænset antal data, der er benyttet til estimeringerne.

Jo flere datasæt, med de relevante funktionelle grupper, man benytter til estimering af interaktionsparametrene, des bedre forudsigelser kan man forvente af modellen. Når der er brugt så få datasæt som i det her tilfælde, kan man blive udsat for, at de estimerede parametre kun giver gode resultater for netop de stoffer, der ligger til grund for estimeringen. Som vi skal se senere er dette muligvis tilfældet mht. $ACNO_2-H_2O$ interaktionsparametrene, men ikke mht. de øvrige reestimerede værdier.

De nye interaktionsparametre benyttes til at beregne $\log P_{OW}$ - værdier for 33 anilinforbindelser, som der, tidligere i projektet, er fundet eksperimentelle værdier for. Overensstemmelsen mellem de beregnede og de eksperimentelle værdier bliver meget bedre, når disse nye parametre anvendes, hvilket kan ses i tabel 5.4 og tabel 5.5 i næste afsnit.

5.4.2 $\log P_{OW}$ beregnet vha. UNIFAC-modellen

Aktivitetskoefficienterne for anilinerne i uendelig fortynding i hhv. oktanol og vand er beregnet med UNIFAC-modellen vha. PRAK.-FOR-programmet. γ_w^∞ er bestemt hhv. med de eksisterende parametre og med de nye reestimerede parametre, der er givet i tabel 5.2. $\log P_{OW}$ beregnes både ud fra aktivitetskoefficienterne beregnet med de gamle gruppe interaktionsparametre, og ud fra aktivitetskoefficienterne beregnet vha. de nye parametre. γ_o^∞ ændres ikke ved indførelse af de nye parametre i UNIFAC og benyttes derfor til beregning af begge $\log P_{OW}$ - værdier (se tabel 5.3 og 5.4).

Tabel 5.3 giver en oversigt over de beregnede aktivitetskoefficienter, γ_w^∞ og γ_o^∞ . γ_w^∞ beregnet med de eksisterende, det vil sige de gamle, parametre betegnes herefter $\gamma_w^\infty(\text{gammel})$, ligesom fordelingskoefficienten beregnet ud fra denne aktivitetskoefficient betegnes $\log P_{OW}(\text{gammel})$. For beregninger udført med de nye parameter-værdier er betegnelsen hhv. $\gamma_w^\infty(\text{ny})$ og $\log P_{OW}(\text{ny})$. Som det kan ses i tabel 5.3 kan aktivitetskoefficienterne, for 2-bromanilin, ikke beregnes vha. UNIFAC-modellen, da der ikke eksisterer værdier for alle de nødvendige interaktionsparametre. 2-bromanilin er den eneste anilinforbindelse fra den eksperimentelle undersøgelse, hvor UNIFAC ikke har tilstrækkeligt med gruppe interaktionsparametre til at beregne γ_w^∞ . $\log P_{OW}$ kan derfor heller ikke beregnes for 2-bromanilin vha. UNIFAC.

I Tabel 5.4 og 5.5 sammenlignes de, vha. UNIFAC, beregnede oktanol-vand fordelingskoefficienter, $\log P_{OW}(\text{gammel})$ og $\log P_{OW}(\text{ny})$, med de eksperimentelle værdier for 33 anilinforbindelser. De beregnede $\log P_{OW}$ - værdier er, som før nævnt, beregnet vha. formel (5.2).

Tabel 5.4 viser den relative afvigelse, mens tabel 5.5 viser den absolutte afvigelse mellem de beregnede værdier og de eksperimentelle værdier. Man kan se, at $\log P_{OW}$ beregnet vha. de nye gruppe interaktionsparametre stemmer meget bedre overens med de eksperimentelle fordelingskoefficienter end det var tilfældet for $\log P_{OW}(\text{gammel})$.

I tabel 5.4 og 5.5 ser man, at UNIFAC er væsentlig bedre til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter for de undersøgte anilinformbindelser, når de nye interaktionsparametre indgår i modellen, end det er tilfældet, når man benytter de gamle parameter-værdier. I tabel 5.4 kan man se, at den relative gennemsnitlige afvigelse af de beregnede $\log P_{ow}$ fra de eksperimentelt bestemte $\log P_{ow}$ ændres fra 44.8 % til 14.4 % ved at anvende de nye parametre i UNIFAC-modellen. Hydroxyanilinerne er ikke medtaget i den gennemsnitlige afvigelse, da deres fordelingskoefficienter er så små, at selv en meget lille absolut afvigelse giver en stor relativ afvigelse.

Tabel 5.5 viser, at den gennemsnitlige absolutte afvigelse mellem beregnede og eksperimentelle værdier reduceres fra 0.76 log enheder til 0.2 log enheder ved at anvende de nye estimerede værdier for interaktionsparametre i beregningerne.

Stofnavn	γ_w^∞	γ_w^∞ (eksp.)	γ_w^∞ (gammel)	γ_w^∞ (ny)
anilin	1.4578	98.79	123.74	123.74
2-chloranilin	1.4993	521.09	24.56	462.67
3-chloranilin	1.4993	443.52	24.56	462.67
4-chloranilin	1.4993	409.43	24.56	462.67
2,3-dichloranilin	1.7005	2463.77	5.38	1907.89
2,4-dichloranilin	1.7005	3729.06	5.38	1907.89
2,5-dichloranilin	1.7005	2962.10	5.38	1907.89
2-nitroanilin	11.2115	2574.46	379.21	990.16
3-nitroanilin	11.2115	1232.22	379.21	990.16
4-nitroanilin	11.2115	777.48	379.21	990.16
2-methylanilin	1.2624	219.90	465.16	232.30
3-methylanilin	1.2624	230.26	465.16	232.30
4-methylanilin	1.2624	246.73	465.16	232.30
N-methylanilin	1.1857	384.59	353.81	353.81
2-ethylanilin	1.2220	534.68	1115.25	694.66
4-ethylanilin	1.2220	673.12	1115.25	694.66
N-ethylanilin	1.1556	920.09	965.05	965.05
2,3-dimethylanilin	1.2663	517.08	1802.17	449.46
2,4-dimethylanilin	1.2663	666.13	1802.17	449.46
3,4-dimethylanilin	1.2663	566.97	1802.17	449.46
N,N-dimethylanilin	1.0780	2475.38	1130.81	1130.81
2,6-diethylanilin	1.1506	3564.08	11290.29	4380.03
N,N-diethylanilin	1.0870	22246.03	8931.22	8931.22

Tabel 5.3

Tabellen viser de eksperimentelle γ_w^∞ , der er fundet ud fra formel (5.4). Desuden vises de beregnede aktivitetskoefficienter for aniliner i uendelig fortynding hhv. oktanol og vand. Aktivitetskoefficienterne er beregnet vha. UNIFAC-modellen, hvor γ_w^∞ (gammel) er beregnet med de eksisterende interaktionsparametre i UNIFAC, mens γ_w^∞ (ny) er beregnet vha. af de nye estimerede værdier for parametrene. Beregning af aktivitetskoefficienterne er udført vha. programmet PRAK.FOR.

Stofnavn	γ_w^∞	γ_w^∞ (eksp.)	γ_w^∞ (gammel)	γ_w^∞ (ny)
3-methoxyanilin	1.6217	97.95	39.91	39.91
4-methoxyanilin	1.6217	74.30	39.91	39.91
4-ethoxyanilin	1.2348	138.87	181.08	181.08
4-chlor-2-nitroanilin	15.0311	23335.32	98.14	4826.46
3-chlor-4-methylanilin	1.4073	1146.59	100.09	941.54
5-chlor-2-hydroxyanilin	0.1942	17.75	0.23	4.34
3-hydroxyanilin	0.2683	3.39	1.65	1.65
4-hydroxyanilin	0.2683	1.90	1.65	1.65
2-amino-p-kresol	0.1783	9.60	4.76	2.38
2-amino-m-kresol	0.1783	9.60	4.76	2.38
2-bromanilin	Kan ikke beregnes vha. af UNIFAC-modellen			

Tabel 5.3 (fortsat)

Tabellen viser de eksperimentelle γ_w^∞ , der er fundet ud fra formel (5.4). Desuden vises de beregnede aktivitetskoefficienter for aniliner i uendelig fortynding hhv. oktanol og vand. Aktivitetskoefficienterne er beregnet vha. UNIFAC-modellen, hvor γ_w^∞ (gammel) er beregnet med de eksisterende interaktionsparametre i UNIFAC, mens γ_w^∞ (ny) er beregnet vha. af de nye estimerede værdier for parametrene. Beregning af aktivitetskoefficienterne er udført vha. programmet PRAK.FOR.

I tabel 5.4 og 5.5 kan det ses, at der for visse anilinforbindinger, f.eks N-methylanilin, ikke er forskel i de beregnede log P_{ow} - værdier, hvilket skyldes, at disse stoffer ikke indeholder nogen af de tre grupper, der er blevet estimeret nye parametre for.

Stofnavn	logP _{ow} (eksp.)	logP _{ow} (gam- mel)	logP _{ow} (ny)	afvigelse i (%) gammel	afvigelse i (%) ^{ny}
anilin	1.01	1.11	1.11	9.9	9.9
2-chloranilin	1.72	0.39	1.67	77.3	2.9
3-chloranilin	1.65	0.39	1.67	76.4	1.2
4-chloranilin	1.63	0.39	1.67	76.1	2.5
2,3-dichloranilin	2.34	-0.32	2.23	113.7	4.7
2,4-dichloranilin	2.52	-0.32	2.23	112.7	11.5
2,5-dichloranilin	2.42	-0.32	2.23	113.2	7.9
2-nitroanilin	1.54	0.71	1.13	53.9	26.6
3-nitroanilin	1.22	0.71	1.13	41.8	7.4
4-nitroanilin	1.02	0.71	1.13	30.4	10.8
2-methylanilin	1.42	1.75	1.44	23.2	1.4
3-methylanilin	1.44	1.75	1.44	21.5	0.0
4-methylanilin	1.47	1.75	1.44	19.0	2.0
N-methylanilin	1.69	1.65	1.65	2.4	2.4
2-ethylanilin	1.82	2.14	1.93	17.6	6.0
4-ethylanilin	1.92	2.14	1.93	11.5	0.5
N-ethylanilin	2.08	2.10	2.10	1.0	1.0
2,3-dimethylanilin	1.79	2.33	1.73	30.2	3.4
2,4-dimethylanilin	1.90	2.33	1.73	22.6	8.9
3,4-dimethylanilin	1.83	2.33	1.73	27.3	5.5
N,N-dimethylanilin	2.54	2.23	2.23	12.2	12.2
2,6-diethylanilin	2.67	3.17	2.76	18.7	3.4
N,N-diethylanilin	3.49	3.09	3.09	11.5	11.5

Tabel 5.4

Sammenligning af eksperimentelt bestemte log P_{ow} med beregnede log P_{ow} fra UNIFAC-modellen. (gammel) henviser til, at UNIFAC-modellen med eksisterende interaktionsparametre er benyttet til beregningen, mens (ny) henviser til at beregningerne er udført med de ny interaktionsparametre. De procentiske afvigelse er i forhold til den eksperimentelle fordelingskoefficient, log P_{ow} (eksp.).

Stofnavn	log P _{ow} (eksp.)	log P _{ow} (gammel)	log P _{ow} (ny)	afvigelse i (%) gammel	afvigelse i (%) ny
3-methoxyanilin	0.96	0.57	0.57	40.6	40.6
4-methoxyanilin	0.84	0.57	0.57	32.1	32.1
4-ethoxyanilin	1.23	1.35	0.57	9.8	9.8
4-chlor-2-nitroanilin	2.37	-0.01	1.69	100.4	28.7
3-chlor-4-methylanilin	2.09	1.03	2.00	50.7	4.3
5-chlor-2-hydroxyani- lin	1.14	-0.75	0.53	165.8	53.5
3-hydroxyanilin	0.28	-0.03	-0.03	110.7	110.7
4-hydroxyanilin	0.03	-0.03	-0.03	200.0	200.0
2-amino-p-kresol	0.91	0.61	0.30	33.0	67.0
2-amino-m-kresol	0.91	0.61	0.30	33.0	67.0
gennemsnitlig afvigelse i (%) #				44.8	14.4

Tabel 5.4 (fortsat)

Sammenligning af eksperimentelt bestemte log P_{ow} med beregnede log P_{ow} fra UNIFAC-modellen. (gammel) henviser til, at UNIFAC-modellen med eksisterende interaktionsparametre er benyttet til beregningen, mens (ny) henviser til at beregningerne er udført med de ny interaktionsparametre. De procentiske afvigelse er i forhold til den eksperimentelle fordelingskoefficient, log P_{ow} (eksp.).

#: hydroxyanilinerne er ikke medtaget i den gennemsnitlige procentvise afvigelse.

Stofnavn	logP _{ow} (eksp.)	logP _{ow} (gammel)	logP _{ow} (ny)	absolut afvigelse ^{gammel}	absolut afvigelse ^{ny}
anilin	1.01	1.11	1.11	0.10	0.10
2-chloranilin	1.72	0.39	1.67	1.33	0.05
3-chloranilin	1.65	0.39	1.67	1.26	0.02
4-chloranilin	1.63	0.39	1.67	1.24	0.02
2,3-dichloranilin	2.34	-0.32	2.23	2.66	0.11
2,4-dichloranilin	2.52	-0.32	2.23	2.84	0.29
2,5-dichloranilin	2.42	-0.32	2.23	2.74	0.19
2-nitroanilin	1.54	0.71	1.13	0.83	0.41
3-nitroanilin	1.22	0.71	1.13	0.51	0.09
4-nitroanilin	1.02	0.71	1.13	0.42	0.11
2-methylanilin	1.42	1.75	1.44	0.33	0.02
3-methylanilin	1.44	1.75	1.44	0.31	0.00
4-methylanilin	1.47	1.75	1.44	0.28	0.03
N-methylanilin	1.69	1.65	1.65	0.04	0.04
2-ethylanilin	1.82	2.14	1.93	0.32	0.11
4-ethylanilin	1.92	2.14	1.93	0.22	0.01
N-ethylanilin	2.08	2.10	2.10	0.02	0.02
2,3-dimethylanilin	1.79	2.33	1.73	0.54	0.06
2,4-dimethylanilin	1.90	2.33	1.73	0.43	0.17
3,4-dimethylanilin	1.83	2.33	1.73	0.50	0.10
N,N-dimethylanilin	2.54	2.23	2.23	0.31	0.31
2,6-diethylanilin	2.67	3.17	2.76	0.50	0.09
N,N-diethylanilin	3.49	3.09	3.09	0.40	0.40

Tabel 5.5

Sammenligning af log P_{ow}, der er beregnet vha. UNIFAC, med de eksperimentelle værdier for log P_{ow}. (gammel) henviser til, at UNIFAC-modellen er benyttet med de oprindelige gruppe interaktionsparametre, mens (ny) henviser til at beregningerne er udført med de nye værdier for interaktionsparametrene.

Stofnavn	logP _{ow} (eksp.)	logP _{ow} (gammel)	logP _{ow} (ny)	absolut afvigelse ^{gammel}	absolut afvigelse ^{ny}
3-methoxyanilin	0.96	0.57	0.57	0.39	0.39
4-methoxyanilin	0.84	0.57	0.57	0.27	0.27
4-ethoxyanilin	1.23	1.35	1.35	0.12	0.12
4-chlor-2-nitroanilin	2.37	-0.01	1.69	2.38	0.68
3-chlor-4-methylanilin	2.09	1.03	2.00	1.06	0.09
5-chlor-2-hydroxyanilin	1.14	-0.75	0.53	1.89	0.61
3-hydroxyanilin	0.28	-0.03	-0.03	0.06	0.06
4-hydroxyanilin	0.03	-0.03	-0.03	0.31	0.31
2-amino-p-kresol	0.91	0.61	0.30	0.30	0.61
2-amino-m-kresol	0.91	0.61	0.30	0.30	0.61
gennemsnitlig absolut afvigelse				0.76	0.20

Tabel 5.5 (fortsat)

Sammenligning af log P_{ow}, der er beregnet vha. UNIFAC, med de eksperimentelle værdier for log P_{ow}. (gammel) henviser til, at UNIFAC-modellen er benyttet med de oprindelige gruppe interaktionsparametre, mens (ny) henviser til at beregningerne er udført med de nye værdier for interaktionsparametrene.

5.5 Diskussion og konklusion

Tabellerne 5.4 og 5.5 i forrige afsnit viser tydeligt, at UNIFAC-modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter for anilinforbindinger bliver væsentlig bedre, når de nye værdier for interaktionsparametrene, a_{ACCl-H_2O} , $a_{H_2O-ACCl}$, $a_{ACNO_2-H_2O}$, $a_{H_2O-ACNO_2}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACCH_3}$, benyttes i stedet for de eksisterende værdier.

Ved at bruge de nye værdier for interaktionsparametrene i UNIFAC-modellen istedet for de eksisterende, opnår man en reduktion i den gennemsnitlige relative afvigelse, mellem beregnede og eksperimentelle log P_{ow} for de 33 aniliner i tabel 5.4, fra 44.8 % for

log P_{OW} (gammel) til 14.4% for log P_{OW} (ny) og en reduktion i den gennemsnitlige absolutte afvigelse fra 0.76 til 0.20 log enheder. Undersøger man de enkelte anilinformbindelser nærmere i tabel 5.4 og tabel 5.5, ser man, at især for chloranilinernes vedkommende, opnår man en forbedring i UNIFAC-modellens forudsigtelsen af log P_{OW} . Ved brug af UNIFAC-modellen, med de eksisterende interaktionsparametre, beregnes log P_{OW} -værdier, der afviger fra de eksperimentelle data med 76-77 % for de monosubstituerede chloranilinernes vedkommende og med 112-113 %, når det gælder dichloranilinene. Dette skyldes formently den såkaldte "protimity effect" (Fredenslund et al. 1977). Ved at indføre de nye parameter-værdier i UNIFAC-modellen reduceres disse afvigelser til hhv. 1.2-2.9 % for de monosubstituerede chloraniliner og til 4.7-11.6 % for dichloranilinene.

Før indføring af nye værdier for parametre er UNIFAC-modellen, som sagt, dårligst til at beregne log P_{OW} for de anilinformbindelser, der indeholder chlor. I tabel 5.5 ser man, at log P_{OW} -værdierne beregnes alt for små, for chloranilinene, med de gamle UNIFAC parametre. Man får endda negative værdier for dichlor-anilinene. Man kan se, at de beregnede log P_{OW} (gammel) har en absolut afvigelse til de eksperimentelle værdier, der er større end 1.0 log enhed for de monosubstituerede chloraniliner og større end 2.0 log enheder for dichloranilinernes vedkommende. Med de nye parametre er disse afvigelser reduceret til at ligge mellem hhv. 0.02-0.05 log enheder og 0.11-0.29 log enheder. Man opnår derfor en stor forbedring af UNIFAC-modellens evne til at beregne oktanol-vand fordelingskoefficienter for chlorholdige aniliner, ved at indføre de nye værdier for a_{ACCl-H_2O} og $a_{H_2O-ACCl}$ i modellen.

Når det gælder nitroanilinene er UNIFAC, med de gamle parametre, heller ikke så god til at bestemme log P_{OW} -værdier, så disse er i overensstemmelse med de eksperimentelle værdier. UNIFAC beregner oktanol-vand fordelingskoefficienter for nitroaniliner, der afviger med mellem 30.4 % for 4-nitroanilins vedkommende og 53.9 % for 2-nitroanilin. Ved indføring af de reestimerede værdier for $a_{ACNO_2-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACNO_2}$, er afvigelserne mellem de beregnede og de eksperimentelle log P_{OW} beliggende mellem 7.4 % og 26.6 %, hvor afvigelsen er størst for 2-nitroanilin. Det er forventet, at afvigelsen er størst for det pågældende stof, idet 2-nitroanilin ikke er blevet anvendt til parameterestimeringen (jvnf. afsnit 5.4.1).

Den sidste gruppe, der er blevet estimeret nye parameterverdier for, er methylgruppen bundet til et kulstof atom i den aromatiske ring, ACCH_3 .

Som det er tilfældet ved reestimering af de to øvrige parameterpar, sker der også her en forbedring af UNIFAC-modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter. For dimethylanilinerne gælder, at afvigelserne mellem beregnede og eksperimentelt bestemte $\log P_{\text{OW}}$ reduceres fra 22.6 - 30.4 % til 3.4 - 8.9 % ved at indføre de nye værdier for $a_{\text{ACCH}_3\text{-H}_2\text{O}}$ og $a_{\text{H}_2\text{O-ACCH}_3}$ i UNIFAC-modellen. For methyl- og ethylaniliner gælder, at de beregnede $\log P_{\text{OW}}(\text{ny})$ afviger mellem 0.0 % og 6.0 % fra de eksperimentelle data, mens $\log P_{\text{OW}}(\text{gammel})$ afviger mellem 11.5 % og 30.4 %. Årsagen til at ethylanilinernes $\log P_{\text{OW}}$ også forbedres er, at man i UNIFAC modellen har, at $a_{\text{ACCH}_3\text{-H}_2\text{O}} = a_{\text{ACCH}_2\text{-H}_2\text{O}}$.

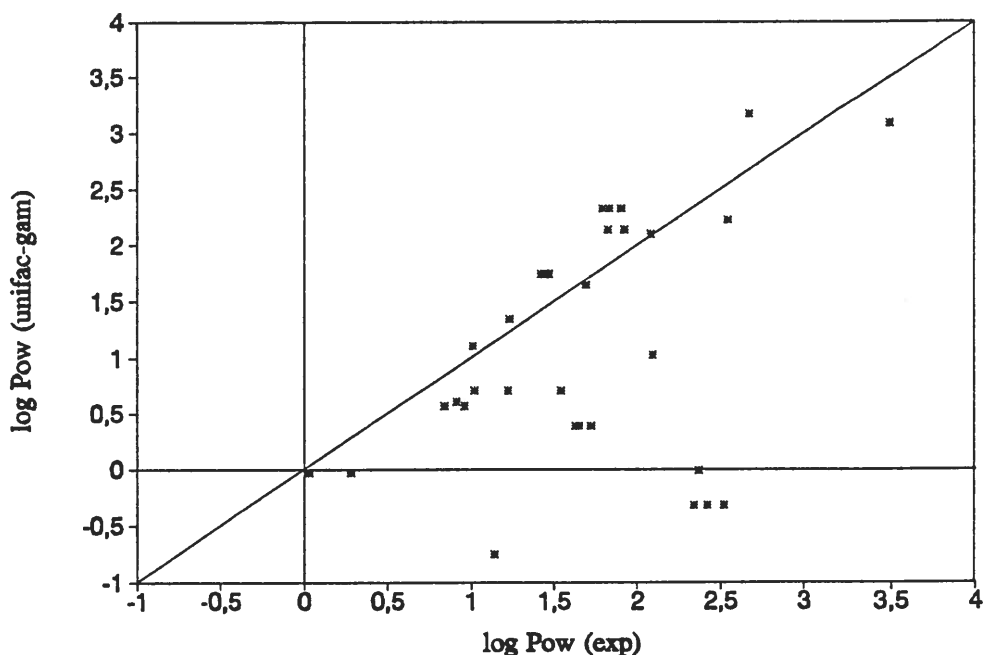
Man observerer således en væsentlig forbedring i bestemmelsen af $\log P_{\text{OW}}$ for de anilinformbindelser, der indeholder hhv. $-\text{CH}_3$, $-\text{Cl}$ eller $-\text{NO}_2$ bundet til et kulstofatom i den aromatiske ring, ligesom der også sker forbedring for aniliner, der indeholder to af de nævnte grupper. Det gælder f.eks 3-chlor-4-methylanilin, hvor afvigelsen mellem den beregnede og den eksperimentelle $\log P_{\text{OW}}$ -værdi ændres fra 50.7 % til 4.3 % ved indføring af de nye parametre, jvnf. tabel 5.4.

De eneste stoffer, hvor UNIFAC, med de nye parameterverdier, giver en dårligere bestemmelse af oktanol-vand fordelingskoefficienten i forhold til de eksperimentelle værdier, er for 2-amino-p-kresol og 2-amino-m-kresol. Det er forbindelser, der indeholder både en methylgruppe og en hydroxygruppe bundet til kulstof i den aromatiske ring. At der ikke opnås en bedre forudsigelse af $\log P_{\text{OW}}$ for disse stoffer, skyldes måske at værdierne for interaktionparametrene mellem vand og hydroxygruppen ikke er blevet reestimeret.

Som det ses i tabel 5.4, berører indførelsen af de nye parameterverdier ikke beregningen af $\log P_{\text{OW}}$ for alle anilinformbindelserne. UNIFAC-modellen er, med de eksisterende parametre, i stand til at gengive oktanol-vand fordelingskoefficienter tilfredsstillende for aniliner, hvor methyl og ethylgrupper er bundet til aminogruppen, idet afvigelserne mellem eksperimentelle og beregnede $\log P_{\text{OW}}$ ligger mellem 1.0 % og 12.2 %. Andre anilinformbindelser, der ikke er berørt af de nye parametre til UNIFAC-modellen, er methoxy og ethoxyanilin samt hydroxyanilinerne.

Hvis man betragter de absolutte afvigelser mellem beregnede $\log P_{OW}$ og eksperimentelle værdier, jvnf. tabel 5.5, ser man en reduktion i den gennemsnitlige absolutte afvigelse fra 0.76 for $\log P_{OW}$ (-gammel)'s vedkommende til 0.20 log enheder for $\log P_{OW}$ (ny), hvilket er en virkelig stor forbedring. En reduktion i den absolutte afvigelse til 0.20 log enheder må anses for meget tilfredsstillende, især da man i de eksperimentelle bestemmelser, af oktanol-vand fordelingskoefficienter, anser 0.20 log enheder for at være en acceptabel afvigelse mellem $\log P_{OW}$ bestem ved hhv. ryste-kolbe metoden og HPLC-metoden.

Hvis man i stedet for at betragte gennemsnitlige afvigelser foretager en afbildning af beregnede $\log P_{OW}$ - værdier mod den eksperimentelle, finder man naturligvis, at der, med de nye parametre, opnås en meget bedre lineær korrelation mellem den eksperimentelle og den beregnede værdi, end når man benytter UNIFAC med de gamle parametre.

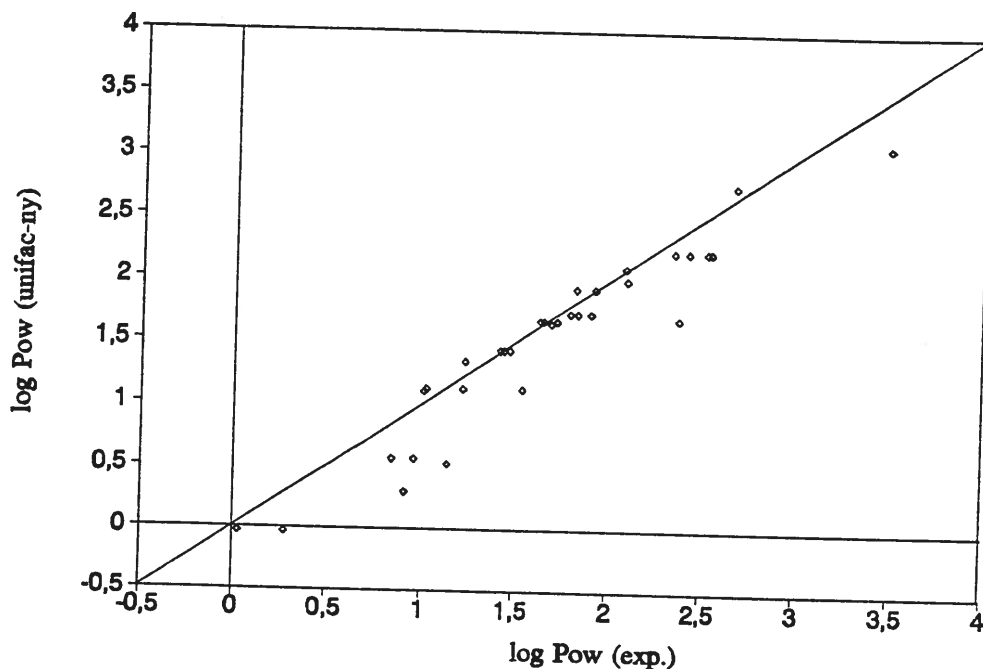


Figur 5.1

Afbildning af $\log P_{OW}$ beregnet vha. eksisterende (gamle) UNIFAC parametre mod den eksperimentelt bestemte $\log P_{OW}$ for aniliner. Linien har følgende ligning:

$$\log P_{OW} (\text{UNIFAC}) = 0.580 \log P_{OW} + 0.154; \quad r^2 = 0.158$$

Der er 33 datapunkter i overensstemmelse med tabel 5.4.



Figur 5.2

Afbildning af $\log P_{OW}$ beregnet vha. af de nye UNIFAC parametre mod den eksperimentelt bestemte $\log P_{OW}$ for aniliner. Linien har følgende ligning:

$$\log P_{OW} (\text{unifac}) = 1.0041 \log P_{OW} - 0.1654; \quad r^2 = 0.905$$

Der er 33 datapunkter i overensstemmelse med tabel 5.4.

Figur 5.1 og 5.2 viser de beregnede $\log P_{OW}$, for 33 aniliner, afbildet som funktion af de eksperimentelle fordelingskoefficienter. I figur 5.1 er $\log P_{OW}$ beregnet vha. UNIFAC-modellen, med de oprindelige parameterverdier, mens i figur 5.2 er $\log P_{OW}$ beregnet vha. UNIFAC, hvor de seks nye værdier for interaktionsparametrene er indført i modellen.

Hvis de eksperimentelle og de beregnede fordelingskoefficienter stemte fuldstændig overens, vil det betyde, at en afbildning af $\log P_{OW}$ (beregnet) mod $\log P_{OW}$ (eksperimentel) vil give en ret linie gennem 0.0 med en hældningskoefficient på 1.0. Det vil sige, at jo

tættere hældningen og skæringen er på hhv. 1.0 og 0.0, des større overensstemmelse er der mellem de beregnede og de eksperimentelt bestemte værdier.

Med de nye parametre opnås en linie, hvis hældningskoefficient er meget tættere på 1.0, end det er tilfældet, når UNIFAC-modellen med de gamle parametre bliver anvendt, jvnf. de to figurer samt de to korrelationsudtryk, der er angivet i hhv. (5.5) og (5.6).

$$\log P_{ow}(UNI-gam.) = 0.580 \log P_{ow} + 0.154; \quad r^2 = 0.154$$

(5.5)

$$\log P_{ow}(UNI-ny) = 1.0041 \log P_{ow} - 0.1654; \quad r^2 = 0.905$$

(5.6)

Hvor $\log P_{ow}$, uden indeks, er den eksperimentelle værdi. Hvis man sammenligner korrelationerne (5.5) og (5.6) kan det ses, at den lineære korrelation i (5.6), hvor $\log P_{ow}$ er beregnet vha. UNIFAC med nye parameter værdier, har en meget større r^2 - værdi. Det betyder, at datapunkterne meget bedre beskrives af en ret linie i (5.6).

Ud fra de viste tabeller og figurer ser man, at estimeringen af nye værdier for de seks interaktionsparametre, a_{ACCl-H_2O} , $a_{H_2O-ACCl}$, $a_{ACNO_2-H_2O}$, $a_{H_2O-ACNO_2}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACCH_3}$, har betydet en væsentlig forbedring af UNIFAC-modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter for anilinforbindelser.

Det er væsentligt at vide om de estimerede værdier for interaktionsparametrene kan bruges til beskrive andre stoffer end netop dem de er estimeret ud fra. For a_{ACCl-H_2O} , $a_{H_2O-ACCl}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACCH_3}$ vedkommende, kan man, ved at se i tabel 5.4, konstatere, at disse parametre kan gengive $\log P_{ow}$ bedre end de gamle parametre for andre anilinforbindelser end dem, hvorfra de er estimeret. Desuden er det blevet undersøgt om UNIFAC-modellen med de nye parameter værdier, også er blevet bedre til at beregne oktanol-vand fordelingskoefficienter for andre aromatiske forbindelser, hvor grupperne $ACCH_3$, $ACCl$ og $ACNO_2$ indgår.

I tabel 5.6 er γ_o^∞ og γ_w^∞ givet for seks aromatiske stoffer. γ_w^∞ er beregnet vha. UNIFAC med hhv. gamle og nye parametre. De seks stoffer er anbefalet, af OECD Guideline nr. 117, som referencestoffer til log P_{ow} - bestemmelse vha. HPLC-metoden. Stofferne er anbefalet som referencestoffer, idet deres eksperimentelle log P_{ow} kan antages at være meget troværdige.

Stofnavn	γ_o^∞	γ_w^∞ (gammel)	γ_w^∞ (ny)	log P_{ow} (gammel)	log P_{ow} (ny)
toluen	1.8459	12096.40	6040.95	3.00	2.69
ethylbenzen	2.0958	34016.97	21188.13	3.39	3.18
nitrobenzen	5.5486	3337.75	8618.76	1.96	2.37
chlorbenzen	1.7750	517.21	9742.87	1.64	2.92
dichlorbenzen	2.1004	118.14	41921.20	0.93	3.48
trichlorbenzen	2.5361	27.53	184043.92	0.21	4.04

Tabel 5.6

Tabellen viser de beregnede aktivitetskoefficienter for aromatiske forbindelser i uendelig fortynding i hhv. oktanol og vand. Aktivitetskoefficienterne er fundet vha. UNIFAC-modellen, hvor beregningerne er udført vha. PRAK.FOR. γ_w^∞ (gammel) er beregnet med de eksisterende interaktionsparametre i UNIFAC, mens γ_w^∞ (ny) er beregnet vha. af de nye estimerede værdier for interaktionsparametrene til UNIFAC.

I tabel 5.7 ses en sammenligning af beregnede log P_{ow} med de eksperimentelle værdier, som man kan finde i OECD guideline nr. 117 for disse stoffer. Som det ses stemmer log $P_{ow}(ny)$, der er beregnet vha. UNIFAC-modellen med de nye parametre, meget bedre overens med de eksperimentelle værdier end log $P_{ow}(gammel)$ for de fem ud af seks stoffer. Igen gælder det, at især for de chlorholdige forbindelser forbedres UNIFAC-modellens evne til at beregne log P_{ow} .

UNIFAC beregner med de nye parametre log P_{ow} - værdier, der er i virkelig god overensstemmelse med de eksperimentelle værdier (OECD guideline nr. 117), for hhv. toluen, ethylbenzen og de tre chloraniliner. Der er næsten ingen afvigelse mellem beregnede og eksperimentelle værdier for hhv. toluen og ethylbenzen. For de tre chlorbenzenernes vedkommende ses også en klar forbedring i log P_{ow} - bestemmelsen, idet log $P_{ow}(gammel)$ afviger mellem 41.4 -

95.2 % fra de eksperimentelle værdier, mens $\log P_{OW}(ny)$, er afvigelse kun mellem 2.4 - 4.3 %.

Stofnavn	$\log P_{OW}$ (eksp.)	$\log P_{OW}$ (gammel)	$\log P_{OW}$ (ny)	afvigelse i (%) ^{gammel}	afvigelse i (%) ^{ny}
toluen	2.7	3.00	2.69	11.1	0.4
ethylbenzen	3.2	3.39	3.18	5.9	0.6
nitrobenzen	1.9	1.96	2.37	3.2	24.7
chlorbenzen	2.8	1.64	2.92	41.4	4.3
dichlorbenzen	3.4	0.93	3.48	72.6	2.4
trichlorbenzen	4.2	0.21	4.04	95.2	3.8

Tabel 5.7

Sammenligning af eksperimentelt bestemte $\log P_{OW}$ med beregnede $\log P_{OW}$ fra UNIFAC-modellen. (gammel) henviser til, at UNIFAC-modellen med eksisterende interaktionsparametre er benyttet til beregningen, mens (ny) henviser til at beregningerne er udført med de ny interaktionsparametre. De procentiske afvigelse er i forhold til den eksperimentelle fordelingskoefficient, $\log P_{OW}$ (eksp.).

Man observerer således en væsentlig forbedring af forudsigelsen af oktanol-vand fordelingskoefficienten for chlor- og methylholdige aromatiske forbindelser vha. UNIFAC. Kun for nitrobenzen ser man, at den beregnede værdi fundet vha. de gamle parametre har bedre overensstemmelse med den eksperimentelle værdi.

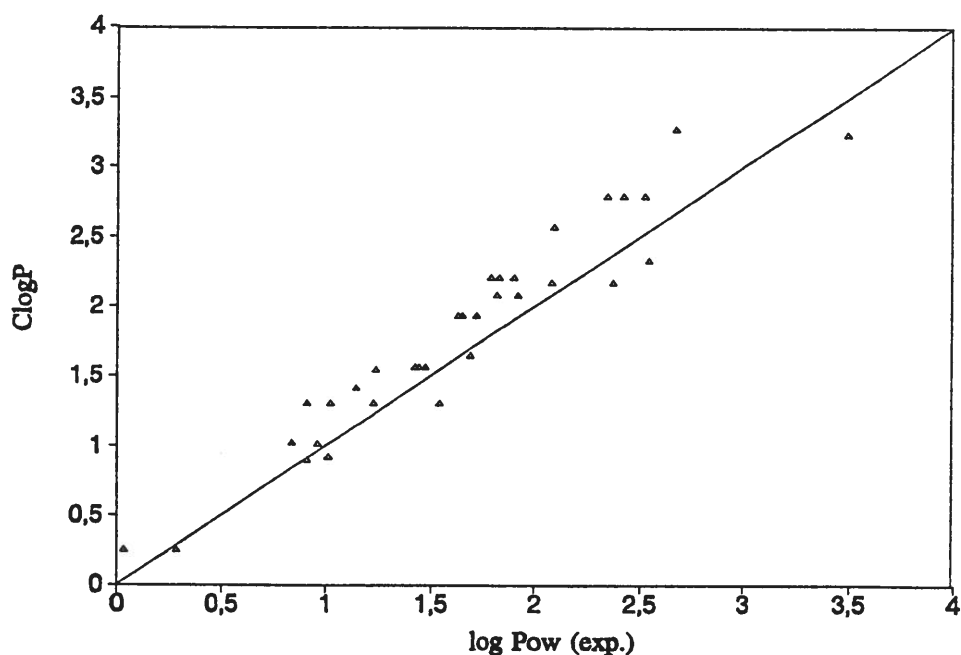
For interaktionsparameterparret, a_{ACCl-H_2O} og $a_{H_2O-ACCl}$, og parret $a_{ACCH_3-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACCH_3}$ gælder, at estimeringen, af nye værdier for disse, har ført til væsentlig forbedringer af UNIFAC-modellens evne til at beregne oktanol-vand fordelingskoefficienter for såvel aniliner, som andre aromatiske forbindelser, der indeholder chlor- og methylgrupper bundet til et kulstof i den aromatiske ring. Man kan derfor antage, at UNIFAC, med de nye værdier for disse 4 interaktionsparametre, kan gengive $\log P_{OW}$ -værdier bedre, end UNIFAC-modellen med de gamle parametre, for vilkårlige aromatisk forbindelse, der indeholder en eller flere chlor- og/eller methylgrupper.

Hvad angår parametrene, $a_{ACNO_2-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACNO_2}$, er der nogen tvivl om hvorvidt disse parametrene er anvendelige til at beskrive andre aromatiske forbindelser, end netop de aniliner, der

er anvendt til parameterestimeringen, idet antallet af stoffer er for lille et grundlag til at drage en entydig konklusion.

UNIFAC-modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter for anilinforbindinger er blevet undersøgt. Dels er der beregnet $\log P_{OW}$, for 33 aniliner, vha. UNIFAC-modellen med de eksisterende gruppe interaktionsparametre, og dels er der beregnet $\log P_{OW}$ vha. UNIFAC, hvor der er estimerede nye værdier for seks gruppe interaktionsparametre. De 6 parametre, der, ud fra kendskab til 8 aniliners eksperimentelle $\log P_{OW}$, er estimeret værdier til er, a_{ACCl-H_2O} , $a_{H_2O-ACCl}$, $a_{ACNO_2-H_2O}$, $a_{H_2O-ACNO_2}$, $a_{ACCH_3-H_2O}$ og $a_{H_2O-ACCH_3}$.

I det store hele kan man konstatere, at det har været succesfuldt at estimere nye værdier for gruppe interaktionsparametrene og indføre disse i UNIFAC-modellen, da modellens evne til at forudsige oktanol-vand fordelingskoefficienter er blevet væsentlig forbedret. Man kan fastslå, at parametrene for $ACCl-H_2O$ og $ACCH_3$ vand interaktionerne giver troværdige $\log P_{OW}$ - værdier for såvel aniliner som for andre aromatiske forbindelser. Interaktionsparametrene for $ACNO_2-H_2O$ kræver derimod en ekstra undersøgelse før troværdigheden af disse kan anerkendes.



Figur 5.3

Afbildning af $\log P_{OW}$ beregnet vha. af ClogP-metoden mod den eksperimentelt bestemte $\log P_{OW}$ for aniliner. Linien har følgende ligning:

$$\log P_{OW} (ClogP) = 1.0019 \log P_{OW} + 0.1671; \quad r^2 = 0.915$$

Der er 33 datapunkter i overensstemmelse med tabel 5.4.

Figur 5.3 viser en sammenligning mellem eksperimentelle og beregnede værdier for $\log P_{ow}$, for 33 aniliner, beregnet vha. ClogP-metoden (Leo og Weininger, 1984). Man kan se fra figur 5.2 og 5.3, at UNIFAC-modellen med de nye parametre og ClogP-metoden giver stort set lige gode resultater. Dette er specielt interessant fordi UNIFAC er en generaliseret metode til beregning af en række forskellige fysiske-kemiske egenskaber, medens ClogP-metoden er specielt skræddersyet til dette særlige formål. UNIFAC-modellen med de her bestemte parametre vil i nær fremtid blive benyttet til at beregne andre egenskaber såsom vandopløselighed.

Referenceliste:

Ascah, T.L. og Feibush, B. (1990): Novel, highly deactivated reversed-phase for basic compounds. *J. Chromatogr.* 506: 357-369.

Blum, D.J.W. og Speece, R.E. (1990): Determining chemical toxicity to aquatic species. *Environ. Sci. Technol.* 24: 284-293.

Braumann, T. (1986): Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: theory, experimental techniques, and application in studies on Quantitative Structure-Activity Relationships. *J. Chromatogr.* 373: 191-225.

Brooke, D.N., Dobbs, A.J., Williams, N. (1986): Octanol:water partition coefficients (P): measurement, estimation, and interpretation, particularly for chemicals with $P > 10^5$. *Ecotox. Environ. Safety* 11: 251-260.

Calvino, R., Fruttero, R., og Gasco, A. (1991): Reversed-phase high-performance liquid chromatographic study of the lipophilicity of a series of analogues of the antibiotic "calvatic acid". *J. Chromatogr.* 547: 167-173.

Campell, J.R og Luthy, R.G. (1985): Prediction of aromatic solute partition coefficients using UNIFAC group contribution model. *Environ. Sci. Technol.* 19: 980-985.

Carlson, R.M., Carlson, R.E., og Kopperman, H.L. (1975): Determination of partition coefficients by liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 107: 219-223.

Chen, F. and Holten-Andersen, J. (1992): Prediction of physico-chemical properties using UNIFAC. The Proceeding of Fifth International Workshop on QSAR in Environmental Toxicology, Duluth, Minnesota USA, July 19-23.

Chen, F., Holten-Andersen, J. and Tyle H. (1993): New developments of the UNIFAC model for environmental application. *Chemosphere*, in press.

Eadsforth, C.V. og Moser, P. (1983): Assessment of reversed-phase chromatographic methods for determining partition coefficients. *Chemosphere* 12: 1459-1475.

El Tayar, N., Tsantili-Kakoulidou, A., Roethlisberger, T., Testa, B., og Gal, J. (1988): Different partitioning behaviour of sulphonyl-containing compounds in reversed-phase high performance liquid chromatography and octanol-water systems. *J. Chromatogr.* 439: 237-244.

Fredenslund, Aa., Gmehling, J. og Rasmussen, P. (1977): Vapor-Liquid Equilibria Using UNIFAC, Elsevier, Amsterdam.

Fujita, T., Iwas, J., og Hansch, C. (1964): A new substituent constant, π , derived from partition coefficients. J. Am. Chem.Soc. 86: 5175-5180.

Hammers, W.E., Meurs, G.J., De Ligny, C.L. (1982): Correlations between liquid chromatographic capacity ratio data on Lichrosorb RP-18 and partition coefficients in the octanol-water system. J. Chromatogr. 247: 1-13.

Hansen, S.H., Helboe, P., og Thomsen, M. (1987): Anvendt væskechromatografi, Chrompress k/s, Snekkersten.

Hansen, H.K., Rasmussen, P., Fredenslund, Aa., Schiller, M., og Gmehling, J. (1991): Vapor-liquid equilibria by UNIFAC group contribution. 5. revision and extension. I&EC Research 30: 2352-2355.

Haky, J.E. og Young, A.M. (1984): Evaluation of a simple HPLC correlation method for the estimation of the octanol-water partition coefficients of organic compounds. J. Liquid Chromatogr. 7: 675-689.

Harnish, M., Mörkel, H.J., og Schulze, G. (1983): Relationship between $\log P_{ow}$ shake-flask values and capacity factor derived from Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography for n-alkylbenzene and some OECD reference substances. J. Chromatogr. 282: 315-332.

Horvath, C. og Melander, W. (1977): Liquid chromatography with hydrocarbonaceous bonded phases; Theory and practice of reversed phase chromatography. J. Chromatogr. Sci. 15: 393-404.

Klein, W., Kördel, W., Weiss, M., og Poremski, H.J. (1988): Updating of the OECD Guideline 107 "Partition coefficient n-octanol/water": OECD laboratory intercomparison test on the HPLC method. Chemoshpere 17: 361-386.

Kuchar, M., Rejholec, V., Kraus, E., Miller, V., og Rabek, V. (1983): Influence of intramolecular interactions on chromatographic behaviour of arylaliphatic acids. I. Comparison of reversed-phase thin-layer and high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 280: 279-288.

Könemann, H., Zelle, R., Busser, F., og Hammers, W.E. (1979): Determination of $\log P_{oct}$ values of chloro-substituted benzenes, toluenes and anilines by high-performance liquid chromatography on ODS-silica. J. Chromatogr. 178: 559-565.

- Lambert, W.J. og Wright, L.A. (1989): Prediction of alkane-water partition coefficients using a C₁₈ derivatized polystyrene-divinylbenzene stationary phase. J. Chromatogr. 464: 400-404.*
- Leo, A., Hansch, C., og Elkins, D. (1971): Chem. Rev., 71, 525.*
- Leo, A. og Weininger, D. (1984): ClogP Version 3.2 User Reference Manual. Medicinal Chemistry Project. Claremont, California, Pomona College.*
- Lyman, W.J., Reehl, W.F., og Rosenblatt (1982): Handbook of Chemical Property Estimation Methods, McGraw-Hill, New York, NY.*
- Miyake, K., Mizuno, N., og Terada, H. (1988): Effects of hydrogen bonding on the high performance liquid chromatographic behaviour of organic compounds. Relationship between capacity factors and partition coefficients. J. Chromatogr. 439: 227-235.*
- Nirmalakhandan, N. og Speece, R.E. (1988): Structure-activity relationships. Environ. Sci. Technol. 22: 606-615.*
- OECD (1989): Guidelines for Testing of Chemicals Vol. 117:-partition coefficient (n-octanol/water, HPLC method). Paris, France.*
- OECD (1981): Guidelines for Testing of Chemicals Vol. 107:-partition coefficient (n-octanol/water, Flask-shaking method). Paris, France.*
- Papp, O., Valko, K., Szasz, Gy., Hermecy, I., Vamos, J., Hanko, K., og Lghth-Halasz, Zs. (1982): Determination of partition coefficients of pyrido [1,2- α]-pyrimidin-4-one derivatives by traditional shake-flask, thin-layer chromatographic and gas-liquid chromatographic methods. J. Chromatogr. 252: 67-75.*
- SAR Programm (1992): Fraunhofer-Institut für Umweltechemie und Ökotoxikologie, D-5948 Schmallenberg, Tyskland.*
- Schantz, M.M. og Matire, D.E. (1987): Determination of hydrocarbon-water partition coefficients from chromatographic data and based on solution thermodynamics and theory. J. Chromatogr. 391: 35-51.*
- Unger, S.H., Cokk, J.R., og Hollenberg, J.S. (1978): Simple procedure for determining octanol-aqueous partition, distribution, and ionization coefficients by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. J. Pharm. Sci., 67, 1364-1367.*
- Veith, G.D., Austin, N.M., og Morris, R.T. (1979): A rapid method for estimating log P for organic chemicals. Water Res. 13: 43-47.*

Appendix A.

Log P_{ow} for anilin bestemt ved ryste-kolbe metoden

DATA TIL STANDARDKURVE

Der fremstilles en standardkurve, ud fra prøver med kendt anilin-koncentration, der viser sammenhængen mellem kromatogram-toppenes arealer og prøvernes koncentration af anilin.

Prøvenr.	Koncentration (mg/ml)	Areal
Anilin-1	0.00496	62474
Anilin-2	0.01241	162983
Anilin-3	0.02482	313419
Anilin-4	0.06205	821832
Anilin-5	0.00248	30947

Tabel A.1

Tabellen viser sammenhængen mellem prøvernes anilin koncentration og de detekterede toppe'sarealer. Arealerne for toppene er fundet ved integrationen, der er udført af integratoren. Vha. ovenstående resultater fremstilles standardkurven.

Standardkurven er beskrevet ved ligningen:

$$C_{\text{Anilin}} = 7.54 \times 10^{-8} \times \text{Areal} + 3.69 \times 10^{-4} \quad (\text{A.1})$$

Der er fremstillet en stamopløsning med anilin, og vha. denne fremstilles de 6 blandinger til ryste-kolbe forsøget.

Stamopløsning: 124.10 mg anilin i 50.0 ml methanol

$$C_{\text{Anilin}} = 2.482 \text{ mg/ml}$$

Der fremstilles seks oktanol-vand blandinger, der hver indeholder 0.5 ml af anilin-stamopløsningen, hvilket svarer til 1.241 mg anilin.

Blandingerne er sammensat på følgende måde:

- Nr. 1: 0.5 ml anilin stamopløsning
0.5 ml oktanol
7.0 ml vand
- Nr. 2: 0.5 ml anilin stamopløsning
0.5 ml oktanol
7.0 ml vand
- Nr. 3: 0.5 ml anilin stamopløsning
1.5 ml oktanol
6.0 ml vand
- Nr. 4: 0.5 ml anilin stamopløsning
1.5 ml oktanol
6.0 ml vand
- Nr. 5: 0.5 ml anilin stamopløsning
3.5 ml oktanol
4.0 ml vand
- Nr. 6: 0.5 ml anilin stamopløsning
3.5 ml oktanol
4.0 ml vand

Blandingerne rystes grundigt og centrifugeres. Derefter analyseres det, vha. HPLC, hvor stor anilin koncentrationen er i de to faser.

Prøverne vand-1 til vand-6 er udtag fra vandfasen, der er fortyndet 10 gange. Prøverne oktanol-1 og oktanol-2 er udtag fra oktanol-fasen, der er fortyndet 20 gange mens oktanol-3 til oktanol-6 er udtag, der er fortyndet 25 gange.

Tabellen, næste side, viser prøvernes anilin indhold.

Toppene på kromatogrammerne er blevet integreret vha. integratoren til at give arealerne i kolonne 2. Ud fra resultaterne i denne kolonne og standardkurvens ligning, finder man anilin indholdet i de fortyndede prøver for hhv. oktanol- og vandfasen. Disse er angivet i kolonne 3, mens kolonne 4 angiver hvor stor anilin koncentrationen er i de ufortyndede oktanol- og vandfaser i de 6 blandinger.

Alle prøver er blevet analyseret to gange, og forskellen i de fundne arealer, ved dobbelt bestemmelse, overstiger ikke 0.8 % for nogen af prøverne.

Prøvenr.	Areal	fortynd. C_{Anilin} (mg/ml)	C_{Anilin} (mg/ml)
vand-1	109281	0.00860	0.0860
vand-2	110214	0.00867	0.0867
vand-3	72050	0.00580	0.0580
vand-4	74078	0.00595	0.0595
vand-5	45901	0.00383	0.0383
vand-6	45146	0.00377	0.0377
oktanol-1	400061	0.03052	0.610
oktanol-2	435475	0.03319	0.664
oktanol-3	214858	0.01656	0.414
oktanol-4	226595	0.01744	0.436
oktanol-5	142124	0.01108	0.277
oktanol-6	140192	0.01093	0.273

Tabel A.2

Tabellen viser arealerne fundet vha. analyse med HPLC samt anilin koncentrationen i hhv. de fortyndet og de ufortyndede vand- og oktanol-faser. Anilin indholdet i faserne er bestemt på basis af standardkurven og de målte arealer.

Oktanol-vand fordelingskoefficienten er defineret ved nedenstående formel:

$$P_{ow} = \frac{C_{A,o}}{C_{A,w}} \quad (\text{A.2})$$

Hvor C_A referer til anilin koncentrationen og indeks o og w referer til hhv. oktanol-fasen og vandfasen.

Ved hjælp af resultaterne i tabellen på foregående side, hvor vand-1 hører sammen med oktanol-1 osv., beregnes P_{ow} :

Blanding nr.	P_{ow}	$\log P_{ow}$
1	7.09	0.85
2	7.66	0.88
3	7.14	0.85
4	7.33	0.86
5	7.23	0.86
6	7.24	0.86

Tabel A.3

Tabellen viser fordelingskoefficienten bestemt for hver af de 6 blandinger.

Appendix B.

UNIFAC-MODELLEN

Som det kort er beskrevet i afsnit 5.1, i denne rapport, er UNIFAC en gruppebidragsmodel, der kan benyttes til at beregne fysisk-kemiske parametre, som f.eks. $\log P_{ow}$. $\log P_{ow}$ beregnes vha. et stofs aktivitetskoefficienter i uendelig fortynding i hhv. oktanol og vand. Aktivitetskoefficienterne beregnes vha. UNIFAC-modellen. I UNIFAC-modellen opdeles aktivitetskoefficienten i et kombinatorialt og et residualt bidrag, hvilket også er nævnt i rapporten.

$$\ln \gamma_i = \ln \gamma_i^C + \ln \gamma_i^R \quad (\text{B.1})$$

γ_i er aktivitetskoefficienten for stof i , og γ_i^C og γ_i^R er hhv. de kombinatoriale og residuale bidrag til aktivitetskoefficienten. Det kombinatoriale bidrag afhænger af molekylernes størrelse og form, og man benytter van der Waals volumener, R , og overflade arealer, Q , til beregning af dette bidrag. R - og Q -værdierne for de forskellige grupper kan findes i original litteraturen (Fredenslund et al. 1977).

Den residuale del stammer fra energimæssige interaktioner mellem de forskellige grupper i molekylerne i det undersøgte system. I den residuale del indgår gruppe interaktionsparametrene a_{mn} og a_{nm} . De eksisterende interaktionsparametre til modellen er angivet af Hansen et al. (1992). De nedenstående formler er en præsentation af UNIFAC-modellen.

Det kombinatoriale bidrag til aktivitetskoefficienten i (B.1) er, for de to stoffer i en binær blanding, givet ved de to følgende udtryk

$$\ln \gamma_1^C = \ln \frac{\varphi_1}{x_1} + \frac{z}{2} q_1 \ln \frac{\theta_1}{\varphi_1} + l_1 - \frac{\varphi_1}{x_1} (x_1 l_1 + x_2 l_2) \quad (\text{B.2})$$

$$\ln \gamma_2^C = \ln \frac{\varphi_2}{x_2} + \frac{z}{2} q_2 \ln \frac{\theta_2}{\varphi_2} + l_2 - \frac{\varphi_2}{x_2} (x_1 l_1 + x_2 l_2) \quad (\text{B.3})$$

z er en konstant, der beskriver, hvor mange nærmeste nabogrupper en givet gruppe har. I UNIFAC-modellen har z værdien 10. x_i er molbrøken for stof i , mens φ_i og θ_i er hhv. volumenbrøken og

overflade areal brøken for stof i. Disse to størrelser er givet ved udtrykkene (B.4) og (B.5).

$$\varphi_1 = \frac{r_1 x_1}{r_1 x_1 + r_2 x_2} \quad \theta_1 = \frac{q_1 x_1}{q_1 x_1 + q_2 x_2} \quad (\text{B.4})$$

$$\varphi_2 = \frac{r_2 x_2}{r_1 x_1 + r_2 x_2} \quad \theta_2 = \frac{q_2 x_2}{q_1 x_1 + q_2 x_2} \quad (\text{B.5})$$

Hvor det gælder at $\varphi_1 + \varphi_2 = 1$ and $\theta_1 + \theta_2 = 1$. r_i og q_i er hhv. van der Waals volumen og van der Waals overflade areal for stof i. Hvordan r_i og q_i beregnes er angivet i formel (B.6).

$$r_1 = \sum_k v_k^{(1)} R_k ; \quad r_2 = \sum_k v_k^{(2)} R_k \quad (\text{B.6})$$

$$q_1 = \sum_k v_k^{(1)} Q_k ; \quad q_2 = \sum_k v_k^{(2)} Q_k$$

R_k er van der Waals volumen for gruppe k , mens Q_k er van der Waals overflade areal for gruppe k . R_k og Q_k er givet i tabel B.1 for de forskellige grupper i UNIFAC-modellen. $v_k^{(i)}$ er antallet af grupper k i stof i .

Størrelserne l_1 og l_2 i det kombinatoriale bidrag i (B.2) og (B.3) er givet ved

$$l_1 = \frac{z}{2}(r_1 - q_1) - (r_1 - 1); \quad z = 10 \quad (\text{B.7})$$

$$l_2 = \frac{z}{2}(r_2 - q_2) - (r_2 - 1)$$

Det residuale bidrag til aktivitetskoefficienten for stofferne i en binær blanding er beskrevet ved de to nedenstående udtryk.

$$\ln \gamma_1^R = \sum_k v^{(1)} (\ln \Gamma_k - \ln \Gamma_k^{(1)}) \quad (\text{B.8})$$

$$\ln \gamma_2^R = \sum_k v^{(2)} (\ln \Gamma_k - \ln \Gamma_k^{(2)}) \quad (\text{B.9})$$

hvor

$$\ln \Gamma_k = Q_k (1 - \ln(\sum_m \Theta_m \psi_{mk}) - \sum_m (\Theta_m \psi_{mk} / \sum_n \Theta_n \psi_{nm}))$$

Θ_m er overflade areal brøken for gruppe m. Denne størrelse er defineret ved (B.10), hvor m og n referer til de forskellige grupper i stof i, mens j er antallet af komponenter i blandingen.

$$\Theta_m = \frac{Q_m X_m}{\sum_n Q_n X_n} \quad X_m = \frac{\sum_j v_m^{(j)} x_j}{\sum_j \sum_n v_n^{(j)} x_j} \quad (\text{B.10})$$

ψ_{nm} er den størrelse, hvori gruppe interaktionsparametrene a_{nm} indgår. Det er for 6 af disse parametre, at der er estimeret nye værdier i dette projekt. De eksisterende interaktionsparametre til modellen er angivet af Hansen et al. (1992). Desuden indgår den absolutte temperatur, T, også i udtrykket for ψ_{nm} .

$$\psi_{nm} = \exp\left(-\frac{a_{nm}}{T}\right) \quad (\text{B.11})$$

Lignende relationer gælder for $\ln \Gamma_k^{(1)}$ og $\ln \Gamma_k^{(2)}$, i (B.8), hvor disse blot beskriver de rene stoffer.

Hvis man ønsker yderligere kendskab til UNIFAC-modellen henvises til originallitteraturen, som f.eks Fredenslund et al. (1977).

Danmarks Miljøundersøgelser

Danmarks Miljøundersøgelser - DMU - er en forskningsinstitution i Miljøministeriet. DMU's opgaver omfatter forskning, overvågning og faglig rådgivning indenfor natur og miljø.

Henvendelser kan rettes til:

Danmarks Miljøundersøgelser	<i>Direktion og Sekretariat</i>
Postboks 358	<i>Forsknings- og Udviklingssekretariat</i>
Frederiksborgvej 399	<i>Afd. for Forureningskilder og</i>
4000 Roskilde	<i>Luftforurening</i>
	<i>Afd. for Havmiljø og Mikrobiologi</i>
	<i>Afd. for Miljøkemi</i>
	<i>Afd. for Systemanalyse</i>
Tlf. 46 30 12 00	
Fax 46 30 11 14	

Danmarks Miljøundersøgelser	<i>Afd. for Ferskvandsøkologi</i>
Postboks 314	<i>Afd. for Terrestrisk Økologi</i>
Vejlsøvej 25	
8600 Silkeborg	

Tlf. 89 20 14 00.
Fax 89 20 14 14.

Danmarks Miljøundersøgelser	<i>Afd. for Flora- og Faunaøkologi</i>
Grenåvej 12, Kalø	
8410 Rønde	

Tlf. 89 20 14 00.
Fax 89 20 15 14.

Publikationer:

DMU udgiver faglige rapporter, tekniske anvisninger, særtryk af videnskabelige og faglige artikler, Danish Review of Game Biology samt årsberetninger.

I årsberetningen findes en oversigt over det pågældende års publikationer. Årsberetning samt en opdateret oversigt over årets publikationer fås ved henvendelse til telefon: 46 30 12 00.