



Nieuw kwaliteitskader voor een brede chemische screening van opkomende stoffen in water

Bernard Bajema (Vitens), Gerdien van Genderen-de Kloe (Aqualab Zuid), Ton van Leerdam (KWR Water Research Institute), Eelco Pieke (Het Waterlaboratorium), Martijn Pijnappels (Rijkswaterstaat) en Milan Verwoert (WLN)

Elke dag neemt het aantal geproduceerde chemische stoffen toe en een deel van deze stoffen komt in het milieu terecht. Doordat de waterkwaliteitsbewaking vooral gericht is op een beperkte of specifieke lijst met bekende stoffen is er vaak niet bekend in welke mate deze opkomende stoffen in het milieu aanwezig zijn. Daarom is er een nieuwe Nederlandse Technische Afspraak (NTA) voor non-targetscreening opgesteld om opkomende én onbekende stoffen te screenen in verschillende watertypes. Met deze NTA worden deze stoffen beter in kaart gebracht, zijn de analyseresultaten transparanter en betrouwbaarder en kunnen resultaten van verschillende laboratoria beter vergeleken worden.

Wereldwijd neemt de productie van chemische stoffen in steeds meer toe en een deel van deze stoffen komt uiteindelijk in het milieu terecht [1]. Waterbeheerders en drinkwaterbedrijven zetten zich in voor schoon water voor mens en natuur door middel van verschillende vormen van waterkwaliteitsbewaking. De analysemethodes die hiervoor worden toegepast zijn robuust en zeer betrouwbaar, maar vooral gericht op een beperkte of specifieke lijst met bekende stoffen (doelstoffen). Deze doelstoffen worden via diverse meetprogramma's gemonitord. Een verplichte nationale of internationale normering (bijvoorbeeld de Kaderrichtlijn Water en de Europese Drinkwaterrichtlijn) is vaak leidend in welke stoffen geanalyseerd moeten worden. Omdat doelstofanalyses met name gericht zijn op deze normeringen is het vaak niet bekend in welke mate opkomende stoffen aanwezig zijn in het oppervlaktewater, grondwater en het daaruit bereide drinkwater. Het aantal mogelijke stoffen en de diversiteit zijn enorm, waarbij ook afbraakproducten hun weg vinden naar het milieu. Deze opkomende stoffen vormen hierdoor een onbekende bedreiging voor de waterkwaliteit en onze drinkwaterbronnen.

Naast de huidige (en betrouwbare) gerichte analyses is er een meer dynamische meetstrategie nodig. De methoden in deze meetstrategie moeten juist deze opkomende antropogene stoffen in het water in kaart brengen, in combinatie met het risico gestuurd monitoren van de waterkwaliteit. Om dit te bereiken, zijn er verschillende biologische detectiesystemen en chemisch-analytische technieken beschikbaar en/of in ontwikkeling.

Non-targetscreening

Non-target screening (NTS) [2] is een dynamische analysetechniek waarbij stoffen worden onderzocht met een niet-stofgerichte aanpak (non-target). Daarbij kijkt men vaak naar het ontstaan en/of het voorkomen van een zeer grote diversiteit aan (on)bekende stoffen in diverse waterstromen. Deze informatie draagt bij aan het actueel en scherp houden van zowel de nationale als de internationale waterkwaliteitsnormering. Op deze manier kan ook een grotere groep stoffen in kaart worden

gebracht. Een extra voordeel van deze methode is dat oude data opnieuw bekeken kunnen worden om de opkomende stoffen te detecteren.



Afbeelding 1. Schematische weergave van de stappen bij non-targetscreening

Een keerzijde van het dynamische karakter van NTS is dat kwaliteitsbewaking en vergelijkbaarheid van gegevens ingewikkeld zijn en dat duidelijke kwaliteitskaders ontbreken. Zoals te zien is in afbeelding 1 bestaat NTS uit veel stappen. Elke stap kan verschillend ingericht worden, wat NTS zijn dynamische karakter geeft. In theorie is het aantal stoffen dat met NTS bekeken kan worden oneindig. In de praktijk zijn niet alle stoffen meetbaar, vanwege de chemische of fysische eigenschappen van de stof, maar bijvoorbeeld ook door de gekozen analysestrategie of de manier van monstername.

Om ervoor te zorgen dat gegevens van NTS geborgd en onderling vergelijkbaar zijn, is er behoefte aan een betere afbakening van de kwaliteit van deze aanpak. Daarnaast bestaat er behoefte aan een praktisch referentiekader om NTS te kunnen accrediteren volgens de norm NEN-EN-ISO 17025.

Ontwikkeling van een Nederlandse Technische Afspraak (NTA)

Na de introductie van hogeresolutie-massaspectrometrie in de Nederlandse drinkwatersector in 2006, het opdoen van ervaring en de harmonisatie van de analysemethoden van de vier Nederlandse drinkwaterlaboratoria, zijn in 2017 de eerste stappen gezet voor de ontwikkeling van een Nederlandse Technische Afspraak. In een tweejarig project hebben de Nederlandse drinkwaterlaboratoria, Rijkswaterstaat, RIVM en KWR gewerkt aan de eerste bouwstenen voor een gezamenlijk kwaliteitskader voor non-targetscreening. Hierbij zijn ook enkele Duitse onderzoeksinstituten betrokken, zoals het Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) en IWW Zentrum Wasser (IWW). Ook zijn de ontwikkelingen gevolgd in het NORMAN Network, een internationaal netwerk dat zich bezighoudt met het vergroten en het harmoniseren van kennis en methodes op het gebied van opkomende schadelijke stoffen voor het milieu. Deze afstemming en kennisuitwisseling hebben uiteindelijk geresulteerd in een Europees opgezet ringonderzoek met in totaal zeventien deelnemers (waarvan twaalf buitenlandse partners). In dit ringonderzoek is de toepassing van vloeistofchromatografie-hoge resolutie-massaspectrometrie (LC-HRMS) voor de NTS van stoffen in water onderzocht. Daarnaast is het effect van eerste kwaliteitsafbakening op de vergelijkbaarheid van gegevens bepaald [3]. Resultaten tonen aan dat de toepassing van NTS in water realiseerbaar is, maar dat een praktisch toepasbaar kwaliteitskader noodzakelijk is om de vergelijkbaarheid en duiding van gegevens te verbeteren. In 2020 is begonnen met het maken van een opzet voor de eerste Nederlandse richtlijn voor NTS van organische stoffen in water met chromatografie en massaspectrometrie, genaamd NTA-8033.

NTA-8033 in hoofdlijnen

Het doel van richtlijn NTA-8033 is om minimumvoorwaarden te beschrijven voor het uitvoeren, valideren en borgen van NTS-analyses. Dit moet er uiteindelijk toe leiden dat laboratoria die deze richtlijn toepassen binnen bepaalde marges dezelfde kwaliteit bieden en dat de resultaten zo goed mogelijk vergeleken kunnen worden.

Monstername en monstervoorbewerking

Bij de monstername is het van belang dat het watermonster een zo getrouw mogelijke afspiegeling is van de samenstelling van het desbetreffende water op de plaats en het tijdstip van de monstername. Het monster moet dus zoveel mogelijk in originele staat worden gehouden. Hierbij wordt ook gekeken naar de geschiktheid van de gebruikte hulpmiddelen en monsterflessen (voorgespoeld of schoon), bewaarcondities en opslag, en moeten alle bijzonderheden die invloed kunnen hebben op het analyseresultaat worden vermeld.

Ook bij het (voor)behandelen en verwerken van monsters behoort een sterke controle op de kwaliteit zodat het watermonster met zo min mogelijk onzuiverheden en onzekerheden wordt gemeten. Het is bijvoorbeeld van belang dat de gebruikte chemische stoffen en standaarden van zodanige kwaliteit zijn dat ze geen invloed hebben op de analyse. De voorbereidingsstappen dienen zo min mogelijk extra stoffen toe te voegen. Het gebruikte glaswerk moet zoveel mogelijk vrij zijn van eventuele onzuiverheden en er moet ultra-zuiver water worden gebruikt voor de analyses. Ook moet de analysemethode aan referentiestoffen worden getoetst om de kwaliteitsparameters van de methode te bepalen. Voordat het watermonster klaar is voor analyse wordt een set interne standaarden toegevoegd, bij voorkeur isotoop-gelabelde stoffen. Hiermee worden de watermonsters en standaarden gecorrigeerd voor variaties in het analyseproces.

Analyse en dataverwerking

De NTA schrijft voor dat er een chromatografisch scheidingssysteem moet worden gebruikt in combinatie met een massaspectrometrische techniek, om onbekende stoffen in het watermonster te kunnen identificeren. Dit sluit enkele technieken uit doordat deze bijvoorbeeld identificatiekracht missen. Met deze combinatie is het mogelijk om de stoffen in het watermonster te scheiden op basis van de fysisch-chemische eigenschappen én deze vervolgens te identificeren. Voor de dataverwerking van NTS speelt de software een cruciale rol, maar in de NTA wordt voorlopig vastgesteld dat dit onderwerp aan ontwikkeling onderhevig is. Het voornaamste doel van de dataverwerking is het categoriseren en identificeren van 'features': combinaties van accurate massa en retentietijd die voldoen aan de specifieke selectiecriteria. De gekozen software moet de analyse kunnen uitvoeren en in staat zijn om de verkregen data te verwerken. De praktijk leert echter dat er geen software beschikbaar is die alle functionaliteiten kan bieden in één pakket. Daarnaast is software vaak nog in ontwikkeling en wordt er veel eigen (niet-commerciële) software gebruikt. Dit is natuurlijk toegestaan als deze software past binnen de criteria van de NTA. Op deze manier kunnen onbekende en bekende stoffen worden geïdentificeerd die niet aanwezig zijn in de 'blanco' (schoon monster). Zo worden stoffen in kaart gebracht, die boven een vaste drempelwaarde van het meetsignaal aanwezig zijn in het monster.

Rapportage

Ook het rapporteren en communiceren van resultaten is een belangrijk onderdeel van de NTA, waarbij herleidbaarheid, volledigheid en transparantie van de gegevens bovenaan dient te staan. Bij het rapporteren van de resultaten dienen altijd informatie over de toegepaste analysemethode, de prestatiekenmerken van de methode en alle specificaties, definities en toelichtingen van de vaktermen te worden opgenomen. Ook zijn LIMS-coderingen (of andere unieke coderingen) toegekend aan de monsters en moeten de gebruikte instrumentinstellingen beschreven zijn. De

geïdentificeerde stoffen zijn ten minste herleidbaar tot de accurate massa en de retentietijd, de bruto formule, chemische naam en CAS-nummer, de betrouwbaarheid van de identificatie en de gemeten concentraties van de geïdentificeerde stoffen. In de rapportage worden ook de conclusies naar aanleiding van de resultaten gegeven.

Vals-positief en vals-negatief

Door het volgen van deze NTA wordt het risico op vals-positief, maar ook de schijnzekerheid van vals-negatief voor een bepaalde stof beperkt. Daarnaast draagt dit bij aan de vergelijkbaarheid van gegevens tussen laboratoria. Het is hierbij belangrijk dat de resultaten op een goede manier tot stand komen. Dit houdt onder andere in dat een monster meerdere keren moet worden gemeten [4]. Hierbij doorloopt het monster vaker dan eenmaal de gehele analyseprocedure. Dit maakt het mogelijk om vals-positieve en/of vals-negatieve resultaten te herkennen en te beheersen, bijvoorbeeld als een pieksignaal niet op dezelfde wijze in herhaalde metingen voorkomt of de variatie in fragmentatiespectra leidt tot verschillende resultaten bij het zoeken in databibliotheken.

Validatie

Een belangrijke stap is het valideren van de ontwikkelde methode, waarbij de presentatiekenmerken van de methode worden vastgesteld (bijv. aantoonbaarheidsgrens en meetonzekerheid). Het is niet mogelijk om de methode direct op een onbekende stof te valideren, waardoor er een zo breed mogelijke lijst van referentiestoffen wordt gebruikt die representatief zijn voor het toepassingsgebied van de gebruikte analysemethode.

Conclusie

Non-target screening biedt een waardevolle gereedschapskist om opkomende, onbekende en bekende chemische stoffen beter in beeld te brengen. Het is hierbij belangrijk om de kwaliteit van NTS te kunnen duiden en te borgen binnen en tussen laboratoria. De beschikbaarheid van transparante kwaliteitskaders en standaardisatie van NTS in algemene zin zijn hiervoor noodzakelijk. De combinatie van deze standaardisatie en de veelzijdigheid van NTS maken het mogelijk om opkomende en/of nog niet eerder gemeten stoffen in water te kunnen duiden. Stoffen die zonder deze aanpak waarschijnlijk niet opgemerkt zouden worden.

Deze eerste nationale richtlijn (NTA) voor non-target screening vormt de basis om standaardisatie van NTS verder internationaal af te stemmen en in te richten. Hiervoor zullen de internationale contacten verder worden aangehaald. Door de toepassing van deze NTA worden analyseresultaten niet alleen transparanter, maar vooral betrouwbaarder en beter vergelijkbaar. Het invoeren van de NTA moet ertoe leiden dat laboratoria die deze richtlijn toepassen dezelfde kwaliteit kunnen bieden, waardoor onderlinge resultaten zo goed mogelijk met elkaar vergelijkbaar zijn. Aan deze NTA heeft, Naast een brede afvaardiging aan laboratoria heeft ook een grote groep leveranciers (en daarmee softwaremakers) aan deze NTA meegewerkt. Deze gecombineerde bijdrage heeft ertoe geleid dat er binnen de NTA ook ruimte wordt gelaten voor verbetering van de huidige technieken. Dit maakt dat deze eerste nationale richtlijn voor NTS in dit, snel veranderende en dynamische, analytische werkveld een waardevol document vormt voor waterlaboratoria en voor de beeldvorming omtrent onbekende en opkomende stoffen.

NTA 8033 'Richtlijn voor non-target screening van organische stoffen in water met chromatografie en massaspectrometrie' is te verkrijgen bij NEN: www.nen.nl

Deze richtlijn is onder de eindverantwoordelijkheid van normcommissie 390 020 'Milieukwaliteit' opgesteld door de werkgroep 'Non-target screening', vallend onder normsubcommissie 390 020 03 'Organische parameters'. Dank gaat uit naar alle betrokkenen, in het bijzonder Jacobien Boehmer (Nederlands Normalisatie Instituut) voor de secretariële werkzaamheden, Jan van der Kooi (WLN) die alle vergaderingen heeft geleid en Ruud Steenbeek (KWR Water Research Institute) voor het meeschrijven aan dit artikel.

Referenties

1. Schwarzenbach, R. P. et al. (2006). 'The challenge of micropollutants in aquatic systems'. *Science*, 313(5790), 1072-1077.
2. Hollender, J., Schymanski, E. L., Singer, H. P., & Ferguson, P. L. (2017). 'Nontarget screening with high resolution mass spectrometry in the environment: ready to go?' *Environmental Science & Technology*, 2017, 51, pp. 11505-11512.
3. Leerdam, J.A. van, Brunner, A.M., Kooi, M.M.E. van der, Emke, E.. *Non-target LC-HRMS screening – op weg naar praktijkrichtlijnen*. KWR rapport BTO 2018.045.
4. Bader, T., Schulz, W., Kümmerer, K., & Winzenbacher, R. (2016). 'General strategies to increase the repeatability in non-target screening by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry'. *Analytica chimica acta*, 935, 173-186.