



## Suspect en non-target screening; wat is het verschil?

02 JUNI 2023 – H2O-Online

In dit artikel wordt het verschil tussen doelstofanalyses, suspect screening en non-target screening toegelicht. Dit zijn methoden in de analytische chemie om bekende en/of onbekende stoffen in water te meten. De verschillende stappen in de chemische analyse en data-analyse worden besproken, net als de mogelijkheden, kansen en uitdagingen.

*Geschreven door Nienke Meekel, Ton van Leerdam, Dennis Vughs (KWR Water Research Institute), Frederic Béen (KWR Water Research Institute, Vrije Universiteit Amsterdam), Marcel Kotte (Rijkswaterstaat)*

Om de chemische waterkwaliteit van een watermonster in kaart te brengen kan er naar verschillende factoren gekeken worden. Voorbeelden zijn fysische en chemische parameters, zoals de zuurgraad, troebelheid, geleidbaarheid en radioactiviteit. Deze parameters zijn relatief eenvoudig te meten met behulp van sensoren en worden al vele tientallen jaren toegepast als indicatoren. Dit geeft echter geen inzicht in de chemische stoffen die in het watermonster zitten. Daarvoor zijn geavanceerdere technieken nodig. Hiervoor worden doelstofanalyses toegepast, waarbij bepaalde groepen (bekende) chemische stoffen gemeten worden.

Daarnaast kan er ook een techniek gebruikt worden die gericht is op het in beeld brengen van onbekende stoffen in het monster: screening. Voor vluchtige stoffen wordt screening al langer toegepast en sinds ongeveer tien tot vijftien jaar is het ook mogelijk om dit voor oplosbare stoffen te doen. Screening kan in principe op basis van één geavanceerde analytische methode, waarbij er op twee manieren kan worden omgegaan met de verkregen data: suspect screening en non-target screening..

## **Verschil met doelstofanalyse**

Wettelijke parameters, zoals stoffen die zijn opgenomen in de Kaderrichtlijn Water of de drinkwaterwet, worden gemeten met doelstofanalyses. Dit betekent dat specifiek wordt gezocht naar bepaalde bekende stoffen, de zogeheten doelstoffen. Deze metingen voldoen aan allerlei kwaliteitseisen en leveren kwantitatieve resultaten op. Doelstofanalyses zijn kwantitatief, dat wil zeggen dat zowel de aanwezigheid als de hoeveelheid van de gemeten stof nauwkeurig kan worden vastgesteld.

## **Suspect screening en non-target screening**

De naam zegt het al een beetje: non-target screening (NTS) is een generieke screening, waarbij zoveel mogelijk bekende én onbekende stoffen gemeten worden. NTS is niet kwantitatief: er kan wel aangetoond worden dat een stof aanwezig is, maar niet precies in welke hoeveelheid. Daarnaast kan ook niet per definitie worden vastgesteld dat een stof niet aanwezig is, omdat vaak niet bekend is of de stof te detecteren is met de toegepaste methode. Het tegenovergestelde dus van de hierboven genoemde doelstofanalyse. Daarbij wordt een analysemethode toegepast die speciaal ontwikkeld is voor een specifieke reeks bekende stoffen, bijvoorbeeld gewasbeschermingsmiddelen, geneesmiddelen of industriële stoffen.

Het grootste verschil tussen doelstof- en non-target analyse zit in de data-analyse en -identificatie. Bij non-target screening is deze veel uitgebreider en kunnen ook de onbekende stoffen in een monster in beeld worden gebracht. Door specifieke chemische kenmerken kunnen onbekende stoffen in verschillende monsters worden vergeleken of kan een trendanalyse worden uitgevoerd.

Eventueel is ook identificatie van een onbekende stof mogelijk. Ten slotte is er nog een variant die daartussenin zit: suspect screening. Hierbij wordt gebruik gemaakt van dezelfde analysemethode als bij NTS (er hoeft dus geen nieuwe chemische analyse te worden uitgevoerd), maar wordt tijdens de data-analyse gebruik gemaakt van een 'suspect lijst', een lijst met stoffen die misschien in het monster aanwezig zijn. Deze methode wordt ook vaak 'bibliotheekscreening' genoemd.

## **Chemische analyse in het kort**

Nadat een watermonster genomen is, wordt het voorberekt voor de chemische analyse. Dit kan een eenvoudige voorbereiding zijn, zoals filtreren om alle vaste deeltjes uit het monster te halen. Maar het kan ook complexer, waarbij een extractie wordt uitgevoerd om de stoffen in het monster te concentreren. De manier waarop het monster is voorberekt heeft invloed op de resultaten van de analyse. Dit kan dus effect hebben op de stoffen die wel en niet gemeten worden. Na de monstervoorbereiding is het nodig om de aanwezige stoffen in

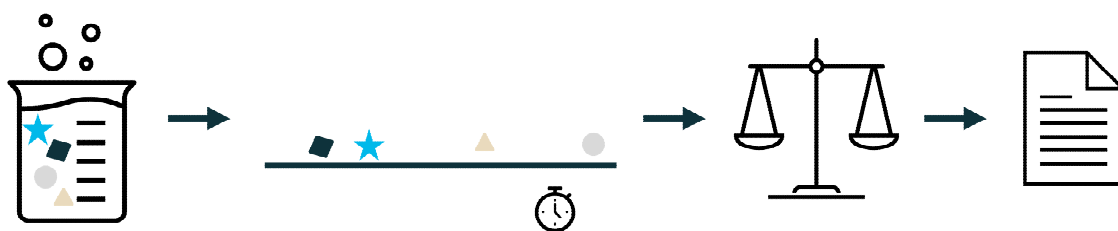
het monster te scheiden, zodat ze één voor één gemeten kunnen worden, in plaats van allemaal tegelijk.

De meest gangbare scheidingstechnieken voor deze toepassing zijn gaschromatografie en vloeistofchromatografie. De scheiding levert informatie op over de eigenschappen (o.a. polariteit, kookpunt) van de stof, beschreven in de retentietijd. Dit is de tijd die een stof nodig heeft om het scheidingstraject te doorlopen. Stoffen die erg op elkaar lijken zullen vergelijkbare retentietijden hebben, terwijl stoffen die erg van elkaar verschillen, uiteenlopende retentietijden hebben. Net als bij de monstervoorbewerking, heeft het gekozen scheidingstraject invloed op de stoffen die wel en niet gemeten kunnen worden.

De volgende stap in de chemische analyse van een (water)monster is de detectie. In het geval van suspect- en non-target screening wordt hier een massaspectrometer voor gebruikt. De detectie met een massaspectrometer levert informatie op over het gewicht, beschreven in de  $m/z$ -waarde (de verhouding tussen massa en lading) en de hoeveelheid, beschreven in de intensiteit. Deze intensiteit is gerelateerd aan de hoeveelheid (of concentratie) van een stof, maar wordt beïnvloed door andere factoren. Daarom kan de concentratie niet rechtstreeks worden afgeleid uit de intensiteit en moet het systeem gekalibreerd worden voor die specifieke stof.

De nauwkeurigheid van de massaspectrometer wordt uitgedrukt met de term resolutie. Een hoge-resolutie-massaspectrometer kan de massa van stoffen zeer nauwkeurig meten terwijl een lage-resolutie-massaspectrometer het gewicht minder nauwkeurig kan bepalen. Als de resolutie van de massaspectrometer hoog genoeg is, is het gewicht zo nauwkeurig te meten dat de samenstelling van het molecuul (de verschillende atomen) bepaald kan worden. Ten slotte wordt er vaak ook nog een fragmentatiespectrum gemeten: in de massaspectrometer breekt het molecuul in kleinere stukjes en worden deze afzonderlijke stukjes opnieuw gewogen. Dit fragmentatiespectrum (ook MS/MS- of MS<sup>2</sup>-spectrum genoemd) is eigenlijk een soort vingerafdruk van een molecuul en speelt een grote rol bij de identificatie.

Zo wordt er over elke stof die aanwezig is in het monster een bundeltje informatie verkregen: een piekvormig signaal met een retentietijd,  $m/z$ -waarde en intensiteit (en soms een fragmentatiespectrum). Dit bundeltje informatie wordt in de suspect screening en NTS een 'feature' genoemd. De verschillende stappen zijn schematisch weergegeven in afbeelding 1.



*Afbeelding 1. De stoffen in een watermonster worden gescheiden met behulp van gas- of vloeistofchromatografie; hier wordt de retentietijd gemeten. Vervolgens worden de m/z-waarde en intensiteit gemeten met een massaspectrometer. Daarna wordt de informatie verwerkt tot een lijst met features die de gemeten samenstelling van het monster weergeeft*

## **Data-analyse**

Na de chemische analyse blijft er dus een lijst met features over. Als een ‘gewoon’ oppervlaktewatermonster gemeten wordt met suspect screening en NTS, resulteert dit vaak in een lijst met grofweg een paar duizend features. Een aanzienlijk deel van deze features kan automatisch geïdentificeerd worden met bibliotheken/databases met bekende stoffen (suspect- of ‘bibliotheekscreening’). Er blijven dan echter nog steeds heel veel features over waarvan de identiteit onbekend is. Uiteraard zijn lang niet al deze features relevant of potentieel schadelijk voor mens of milieu. Zo is een deel van deze features afkomstig van natuurlijk organisch materiaal, dat hoort voor te komen in bijvoorbeeld oppervlaktewater.

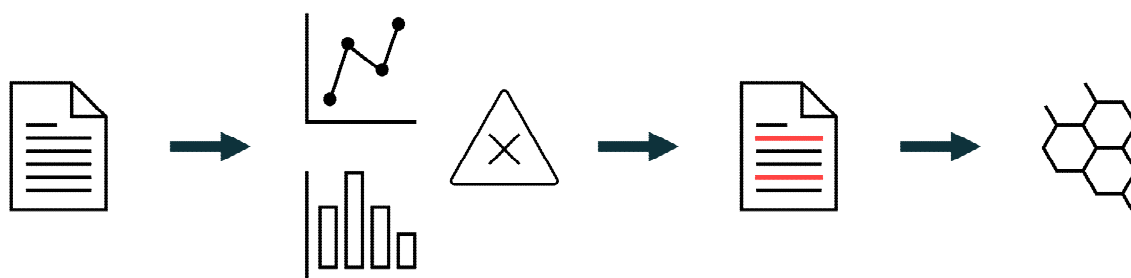
Om te kunnen bepalen of een feature relevant is of niet, is het nodig om eerst de identiteit van elk feature te achterhalen. Maar dit is een tijdrovend proces (een ervaren analist kan nog steeds uren tot zelfs weken bezig zijn om een feature te identificeren). Daarom wordt er een prioritering uitgevoerd. In deze prioritering wordt een keuze gemaakt welke features geïdentificeerd moeten worden en voor welke features dit minder van belang is (zie afbeelding 2).

Soms wordt ervoor gekozen om geen identificatie uit te voeren als features bijvoorbeeld verdwijnen na een zuiveringsstap. Dan is het voldoende om te weten dat de zuivering werkt. Vaak wordt eerst een suspect screening uitgevoerd met een lijst met stoffen die bekend zijn bij het laboratorium of die relevant zijn voor het type monster of de context (bv. polaire en goed oplosbare stoffen die moeilijk te verwijderen zijn tijdens drinkwaterproductie). Als in het monster een stof aanwezig is die ook in de suspect-lijst staat, kan deze geprioriteerd worden voor verdere identificatie.

Daarnaast worden verschillende (statistische) data-analysetechnieken toegepast. Voorbeelden van vragen die uitgezocht worden, zijn:

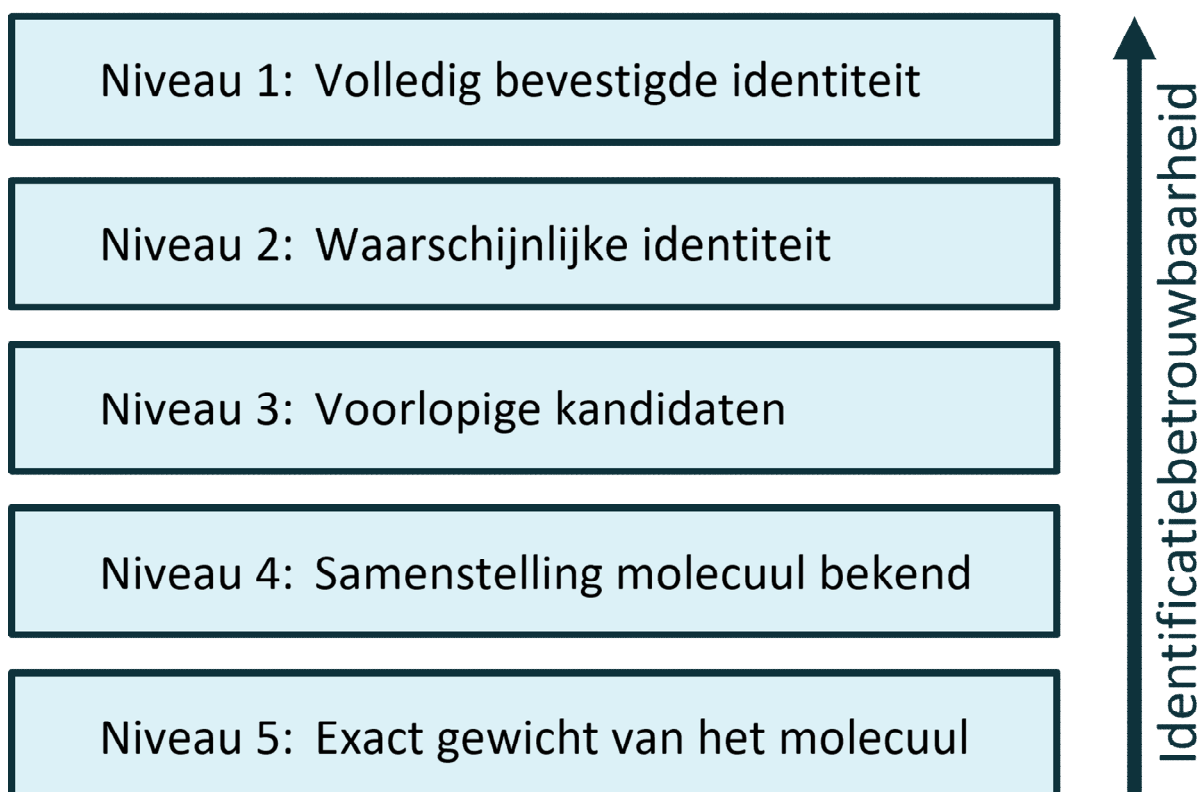
- Zijn er verschillende groepen monsters die van elkaar afwijken? Welke features veroorzaken dit verschil?
- Zijn er features die toenemen of afnemen over de tijd (trend)?

- Zijn er verschillen tussen monsters van verschillende locaties? Welke features veroorzaken dit verschil?



*Afbeelding 2. De lijsten met features per monster worden geanalyseerd en de meest relevante/opvallende features worden geprioriteerd voor verdere identificatie. Dit kan door middel van trendanalyses, verschillen tussen monsters of features waarvoor er aanwijzingen zijn dat ze mogelijk toxisch zijn, of op toxische stoffen lijken*

De features die de meeste verschillen tussen de monsters veroorzaken, of lijken toe te nemen over de tijd, worden geprioriteerd voor identificatie. Om de betrouwbaarheid van de identificatie te duiden zijn er verschillende internationaal gebruikte betrouwbaarheidsniveaus vastgesteld (zie afbeelding 3).



*Afbeelding 3. Betrouwbaarheidsniveaus van identificatie [1]*

Eerst wordt gekeken of de informatie van een feature overeenkomt met één of meerdere stoffen in een databank (hierbij wordt in het algemeen het

fragmentatiespectrum/de vingerafdruk van een gedetecteerde stof vergeleken met de spectra van stoffen in databanken). Er zijn wereldwijd diverse databanken beschikbaar waarin allerlei informatie verzameld wordt over stoffen die in het milieu (kunnen) voorkomen.

Als er een match is met een stof uit een databank en het fragmentatiespectrum, is dit identificatieniveau 3 (voorlopige kandidaat) of 2 (waarschijnlijke identiteit), afhankelijk van de beschikbare informatie. Dan wordt de stof gekocht of gesynthetiseerd (een duur en tijdrovend proces) en geanalyseerd en worden de meetresultaten één op één vergeleken. Als deze overeenkomen dan is de onbekende stof geïdentificeerd (identificatieniveau 1). Als er geen match is met een stof uit een databank wordt alle verkregen informatie gebruikt om met behulp van computermodellen de waarschijnlijke identiteit te voorspellen. De meest waarschijnlijke stof wordt vervolgens gekocht of gemaakt en geanalyseerd. Als de resultaten overeenkomen is de identificatie geslaagd. Na een geslaagde identificatie kan worden overgegaan tot kwantificering: de bepaling van de hoeveelheid stof in het monster (aan de hand van een kalibratie zoals eerder vermeld). Dit is van belang voor de risicobeoordeling.

### **Voorbeelden waarbij NTS wordt toegepast**

#### ***Effectiviteit van zuivering***

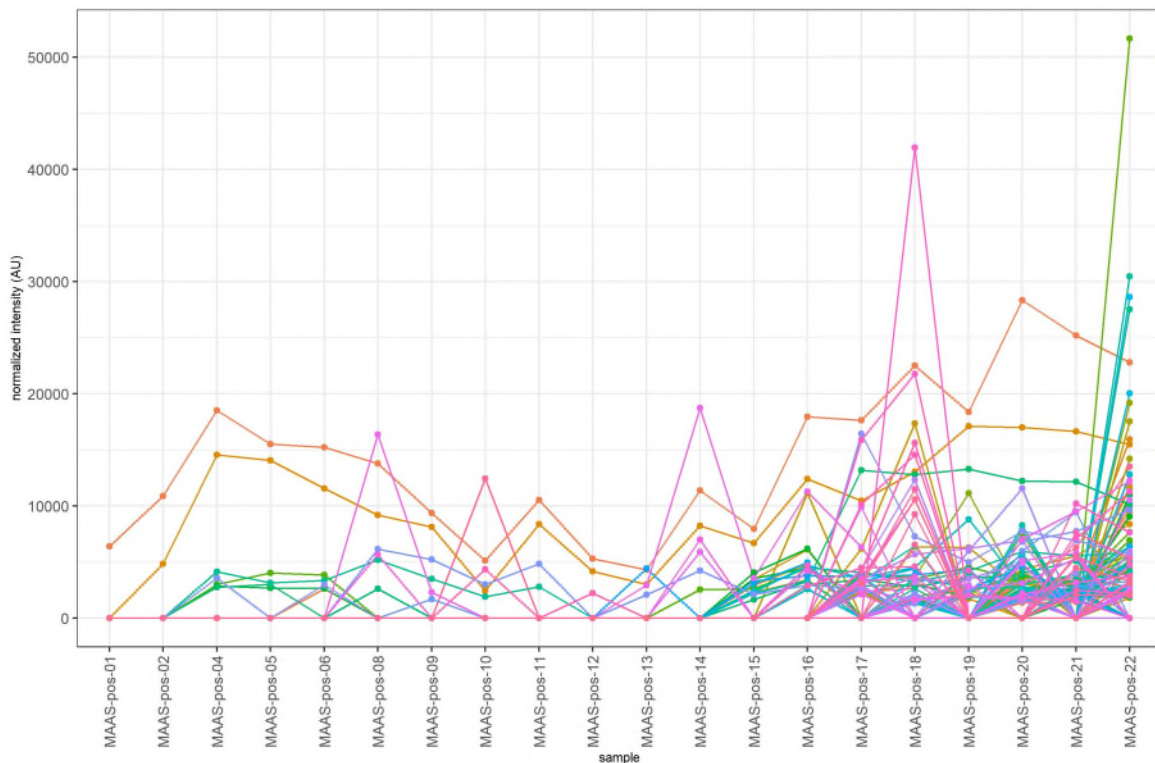
Non-target screening kan inzicht geven in de effectiviteit van een zuivering. Zo kan er gekeken worden naar het verschil in aantal en eigenschappen van features voor en na de zuivering. Dit kan een overzicht bieden van de transformatieproducten die in een zuiveringsstap gevormd worden. Een voorbeeld van zo'n toepassing is beschreven in [2].

#### ***Chemisch profiel RWZI***

Een rioolwaterzuiveringsinstallatie (RWZI) zuivert afvalwater van huishoudens en bedrijven en veelal wordt hier ook hemelwater aan toegevoegd. In het effluent van een RWZI kunnen vele chemische stoffen aanwezig zijn. Met behulp van NTS kan een chemisch profiel van het water worden verkregen en kunnen specifieke stoffen, zoals verboden drugs, worden opgespoord. Een voorbeeld van zo'n toepassing is beschreven in [3].

#### ***Detectie opkomende stoffen***

NTS kan daarnaast gebruikt worden om opkomende stoffen te detecteren. Wanneer (onbekende) features toenemen over de tijd, kunnen deze onder de aandacht gebracht worden en kan overgegaan worden tot identificatie. Een voorbeeld van de uitkomst van zo'n statistische analyse is te zien in afbeelding 4 [4].



*Afbeelding 4. Selectie van 101 features (elke lijn representeert de trend van een feature) uit een totaal van >4900 features met een stijgende trend in monsters uit de Maas. Op de x-as zijn de verschillende metingen over de tijd te zien en de y-as representeert de genormaliseerde intensiteit. Met dank aan Dunea en Het Waterlaboratorium voor het beschikbaar stellen van de meetgegevens [4]*

### **Kwaliteitskader voor NTS**

De non-target screeningsdata die door verschillende laboratoria worden verzameld, zouden onderling kunnen worden vergeleken wanneer alle aspecten van de analysemethode hetzelfde zijn (denk bijvoorbeeld aan monstervoorbewerking, injectiemethode, scheidingstechniek, detectiemethode). Daarnaast moeten de meetgegevens aan verschillende kwaliteitseisen voldoen. Een deel van deze kwaliteitseisen is vastgelegd in de onlangs verschenen Nederlands Technische Afspraak 8033 (NTA8033), zoals beschreven in een eerder H2O-vakartikel [5]. Op dit moment wordt ook in Europees verband gewerkt aan het verder stroomlijnen van kwaliteitseisen voor NTS.

### **Belang en toepassing**

Non-target screening is een complexe techniek en kan gepaard gaan met hoge kosten, vooral voor volledige identificatie (niveau 1). Ondanks de complexiteit is het een veelbelovende manier om de aanwezigheid van verontreinigingen en hun fluctuaties in diverse (water)systemen in kaart te brengen en speelt het een grote rol in risicogebaseerde monitoring bij onder andere de drinkwaterbedrijven. Bovendien wordt er veel (internationaal) onderzoek verricht en worden er grote inspanningen geleverd om meer geavanceerde en gebruiksvriendelijke data-analysetechnieken te ontwikkelen, die gebruikers

helpen om grote hoeveelheden gegevens sneller te verwerken. Tegelijkertijd helpt dit ook om de hoeveelheid en de toegevoegde waarde van de informatie die uit NTS-analyses kan worden gehaald, te vergroten.

---

### **Samenvatting**

Er zijn verschillende methoden om de chemische waterkwaliteit te bepalen. In dit artikel wordt het verschil tussen doelstofanalyses, suspect screening en non-target screening toegelicht. Dit zijn methoden in de analytische chemie om bekende en/of onbekende stoffen in water te meten. De verschillende stappen in de chemische analyse en data-analyse worden besproken, net als de mogelijkheden, kansen en uitdagingen die de verschillende screeningsmethoden met zich meebrengen. Daarnaast worden enkele voorbeelden van toepassingen van non-target screening gegeven.

---

### **REFERENTIES**

1. Schymanski, E.L. et al. (2014). 'Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry : communicating confidence'. *Environmental Science & Technology*. 48 (4), 2097–2098. <https://doi.org/10.1021/es5002105>
2. Brunner, A.M. et al. (2020). 'Integration of target analyses, non-target screening and effect-based monitoring to assess OMP related water quality changes in drinking water treatment'. *Science of the Total Environment*, 705, 135779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135779>
3. Emke, E., Vughs, D., Kolkman, A. & Voogt, P. de (2018). 'Wastewater-based epidemiology generated forensic information: Amphetamine synthesis waste and its impact on a small sewage treatment plant'. *Forensic Science International*, 286, e1-e7. <https://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.03.019>
4. Béen, F.M., Meekel, N. (2022). *Final report HRMS data science PoC. Nieuwegein: KWR; 2022*. Report No.: KWR 2022.053
5. Bajema, B. et al. (2022). 'Nieuw kwaliteitskader voor een brede chemische screening van opkomende stoffen in water'. *H2O-Online*, 7 februari 2022. <https://www.h2owaternetwerk.nl/vakartikelen/nieuw-kwaliteitskader-voor-een-brede-chemische-screening-van-opkomende-stoffen-in-water>