

## Non-targetscreening: zoeken naar het onbekende

*Ruud Vollenbroek, Milan Verwoert (WLN)*

**De drinkwaterbronnen staan onder toenemende druk door een grote verscheidenheid aan chemische stoffen. Dit maakt het noodzakelijk om voor de monitoring van de waterkwaliteit een methodiek te ontwikkelen waarmee nieuwe, nog onbekende, bedreigingen kunnen worden gesignaleerd en geprioriteerd. WLN heeft een methode ontwikkeld om de data van deze techniek, non-targetscreening, in te kunnen zetten voor een verbeterde bewaking van de drinkwaterkwaliteit.**

De kwaliteit van het Nederlandse drinkwater is hoog en wordt continu bewaakt met online sensoren en door laboratoriumonderzoek van watermonsters. Om tijdig te kunnen anticiperen op veranderingen wordt ook de waterkwaliteit in en rond de drinkwaterbronnen gemonitord door het nemen en analyseren van monsters. Het onderzoek van de watermonsters bestaat traditioneel uit doelstoffenanalyses, waarbij concentraties worden bepaald van specifieke (bekende) stoffen.

### **Toenemende druk chemische stoffen**

Volgens REACH, een Europese verordening, moeten producenten en importeurs van chemische stoffen alle stoffen registreren die ze produceren of importeren. Inmiddels zijn er meer dan 26.000 REACH-geregistreerde stoffen [1], zoals industriële middelen, gewasbeschermingsmiddelen, medicijnen en zoetstoffen. Naast de geregistreerde stoffen is er nog een veelvoud aan hulpstoffen, halffabricaten en metabolieten (afbraakproducten) niet geregistreerd. Al deze stoffen kunnen door menselijk handelen in het milieu terechtkomen. Het watersysteem, grondwater en oppervlaktewater, staat hierdoor onder een toenemende druk.

### **Zoeken naar het onbekende: non-targetscreening**

Door de grote verscheidenheid aan nieuwe chemische stoffen die continu geïntroduceerd worden, is het praktisch onmogelijk om met enkel de traditionele doelstoffenanalyses een goed beeld te krijgen van de waterkwaliteit. Want welke stoffen moeten hiervoor worden geanalyseerd? Bij WLN is in de afgelopen jaren veel onderzoek gedaan naar het gebruik van non-targetscreening (NTS). Hiermee worden nieuwe, nog onbekende bedreigingen voor de waterkwaliteit gesignaleerd, waardoor de drinkwaterbedrijven tijdig en gericht kunnen investeren in passende maatregelen.

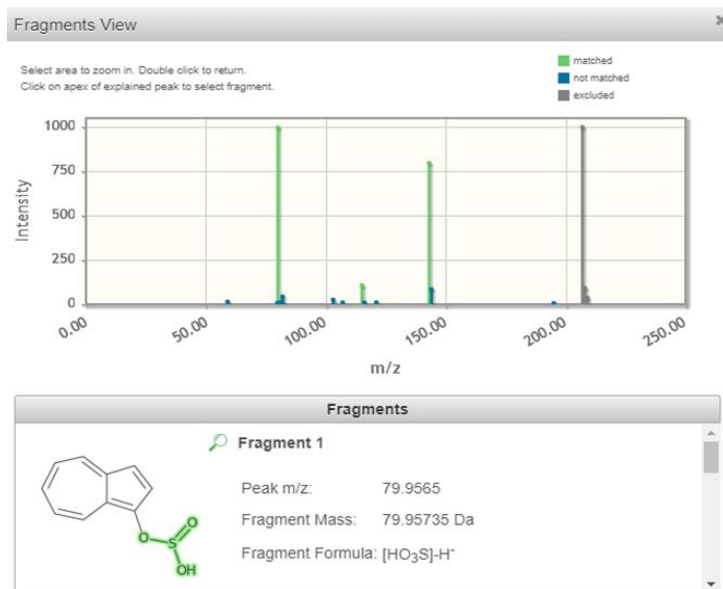
### **Hogeresolutie-massaspectrometrie**

Om de NTS-methodiek toe te kunnen passen is een hogeresolutie-massaspectrometer een must. WLN heeft speciaal voor deze techniek een Orbitrap Exploris 480-massaspectrometer aangeschaft. Dit apparaat is heel goed in staat om met hoge precisie een stof te identificeren op basis van zijn massa. Dit is zo accuraat dat verschillende natuurlijk voorkomende isotopen van dezelfde stof ook te meten zijn. Deze isotopen zijn juist voor NTS belangrijk, omdat hiermee de samenstelling van een stof kan worden achterhaald. Hiermee kan dus een eerste stap worden gezet in het identificeren van onbekende stoffen.

### Van 'feature' via 'suspect' naar 'bekend'

Door optimalisaties in monsternamen, analysetechnieken en dataverwerking is WLN in staat om enkel de relevante massa's en isotopen in een monster te signaleren. Deze massa's en isotopen worden in NTS-metingen ook wel 'features' genoemd, omdat er nog geen stofnaam bekend is. Het doel van NTS is om zoveel mogelijk features te identificeren, door een gemeten massa te koppelen aan een bekende stof. Bij het identificeren van de features wordt gebruik gemaakt van databases met analytische data van antropogene stoffen. Met speciale software van Thermo Fischer Scientific wordt gezocht naar overeenkomsten tussen de gevonden features en de gegevens uit de databases. Bij een match wordt gesproken van een 'suspect'. De kenmerken van de aangetroffen feature komen dan overeen met een of meerdere stoffen die in een van de databases staat.

Om tot een eenduidige match te komen is het naast de massa en de isotopen ook noodzakelijk om gebruik te maken van fragmentatie. Het molecuul wordt tijdens de meting 'kapotgeschoten' door het met hoge snelheid op een stikstofmolecuul te laten botsen in een met stikstof gevulde cel. (afbeelding 1). Bij deze fragmentatie valt de stof uiteen in delen die in combinatie met de massa van de stof uniek zijn. Deze data kunnen ook weer vergeleken worden met meerdere databases om tot een eenduidige match te komen. Als laatste stap wordt een 'analytische standaard', een zuivere stof, aangeschaft en gemeten. Bij overeenkomstige massa's, isotopen en fragmenten is de feature geïdentificeerd en is de stof 'bekend'.



Afbeelding 1. Met fragmentatie kunnen stoffen worden geïdentificeerd via matches met stoffen uit databases

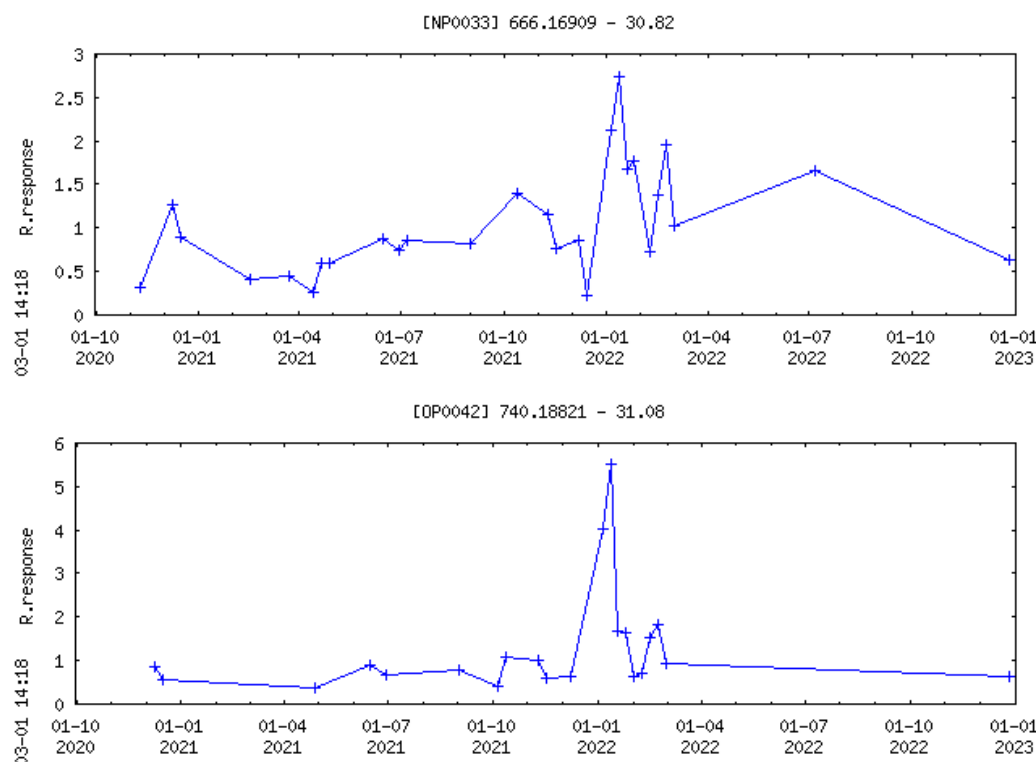
### Stoffendatabase 'onbekenden'

Voor veel van de gemeten features komt geen match met een database. Hier zitten voor de drinkwaterlaboratoria de grootste uitdagingen. Hoe kan bepaald worden welke feature in potentie problematisch is, zonder dat de concentratie of stofnaam bekend is? WLN heeft veel onderzoek gedaan naar de prioritering van deze 'onbekende' stoffen. Met deze prioritering is het mogelijk om de onbekende features die in potentie de grootste bedreiging vormen voor de drinkwaterkwaliteit als eerste te identificeren.

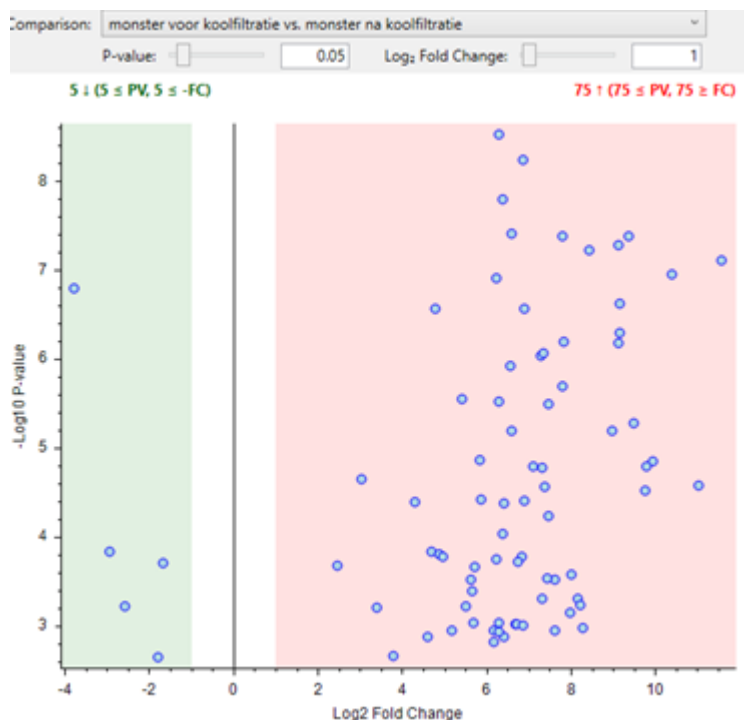
Om een goede analyse te kunnen uitvoeren van onbekende stoffen, is het van belang te weten wanneer bepaalde features dezelfde stof betreffen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een stoffendatabase die WLN heeft gebouwd. De stoffendatabase is opgebouwd uit verschillende stoffengroepen, waarbij elke stofgroep bestaat uit features die gelijk zijn aan elkaar. Met andere woorden: elke gedefinieerde stofgroep staat voor een specifieke (onbekende) stof. Elke feature van een monster wordt met deze stoffendatabase vergeleken. Valt een feature binnen een bestaande stofgroep, dan wordt deze daarin opgenomen. Valt de feature nergens binnen, dan wordt een nieuwe stofgroep aangemaakt. Op deze manier is het mogelijk om onbekende stoffen te clusteren en te identificeren als 'dezelfde stof'. Daarnaast valt met deze stofgroepen iets te zeggen over de relatieve concentratieverschillen tussen verschillende monsters, zonder dat de daadwerkelijke concentratie bekend is. Hiermee is het mogelijk om trendmatige ontwikkelingen (stijgende/dalende concentraties) of geografische verschillen inzichtelijk te maken.

### Prioriteren onbekende stoffen

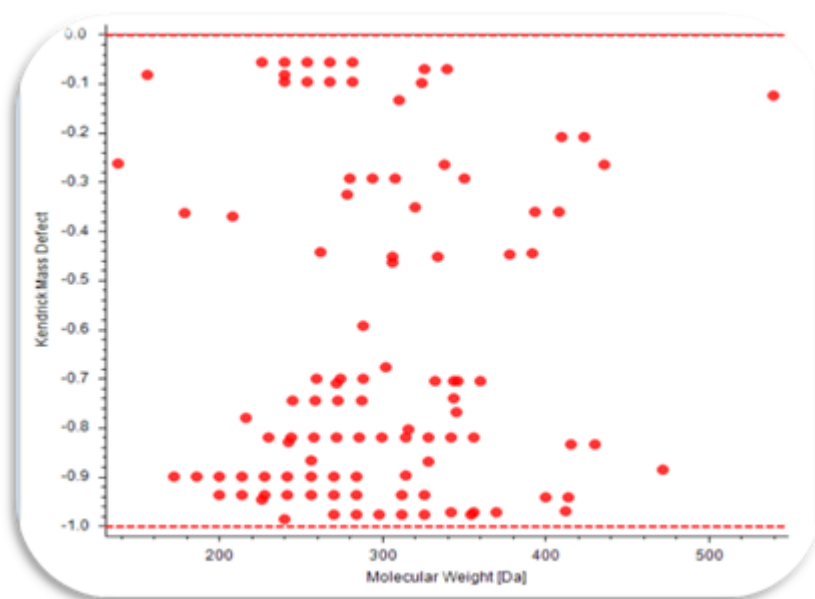
Met deze stoffendatabase is het mogelijk om de onbekende stoffen te prioriteren, zonder te weten welke stof het precies betreft. Hierbij wordt gebruik gemaakt van correlaties tussen onbekende stofgroepen en bekende stoffen, om hiermee de herkomst te bepalen. Tevens kunnen geografische verschillen inzicht bieden in de herkomst van een onbekende stof. Prioritering vindt daarnaast ook plaats op basis van trendmatige ontwikkelingen (afbeelding 2), vergelijkingen tussen monsters op basis waarvan verwijdering of vorming van features kunnen worden vastgesteld (afbeelding 3) en logische patronen die inzicht kunnen geven in eventueel aanwezige stofgroepen (afbeelding 4). Er wordt tevens gewerkt aan machine learning-technieken, op basis waarvan afwijkende features kunnen worden gevonden.



Afbeelding 2. De stoffendatabase maakt het mogelijk om trendmatige ontwikkelingen van features te volgen en te vergelijken



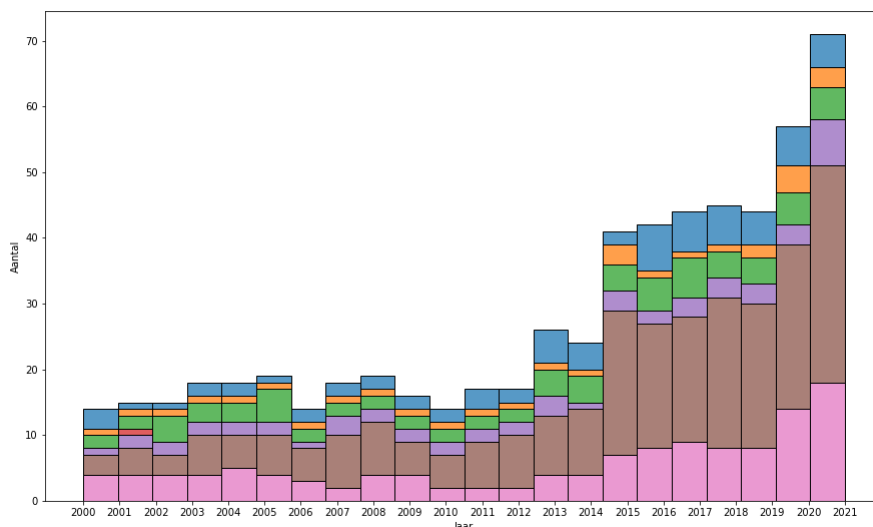
Afbeelding 3. Met de Non-targetscreening data kunnen twee monsters snel vergeleken worden. Zo kan worden bepaald welke features verwijderd worden (rechterkant) en welke features gevormd worden (linkerkant) in bepaalde zuiveringsstappen



Afbeelding 4. Het identificeren van logische patronen, zoals homologe reeksen, in NTS-data, geeft inzicht in de aanwezigheid van specifieke stofgroepen. Dit kan essentiële informatie geven over de herkomst van verontreinigingen

## Nikkelgebonden EDTA

Met behulp van deze prioritering zijn al meerdere onbekende stoffen geprioriteerd als potentieel problematisch. Zodra dit het geval is wordt nader onderzoek ingesteld om de stof te kunnen identificeren, zodat het daadwerkelijke risico kan worden vastgesteld. Als een onbekende feature wordt geïdentificeerd kan deze vervolgens worden opgenomen in de doelstoffenanalyse, zodat de concentratie ontwikkelingen nauwkeurig kunnen worden gevolgd en tijdig passende maatregelen kunnen worden genomen. Afbeelding 5 illustreert hoe onder andere ontwikkelingen in analysetechnieken resulteren in een toename van het aantal boven de rapportagegrens aangetroffen organische microverontreiniging in de drinkwaterbronnen.



Afbeelding 5. Aantal unieke organische microverontreinigingen boven rapportagegrens in de drinkwaterbronnen van verschillende winningen (kleuren)

Met NTS zijn actieve stoffen van bestrijdingsmiddelen als fluorypam, quinmerac en asulam en verschillende metabolieten van bijvoorbeeld bentazon gevonden. Daarnaast worden er industriële stoffen waaronder halffabricaten van nylon, maar ook medicijn(rest)en van sulfadiazine, clopidol en phenazone waargenomen in de drinkwaterbronnen. Een van de meest in het oog springende verontreinigingen die via NTS is gevonden is aan nikkel gebonden EDTA. Deze stof is in een drinkwaterbron aangetroffen in concentraties van meer dan 300 maal de wettelijke signaleringsnorm voor overige antropogene verbindingen (zie kader). Door verdunning is de concentratie in het reine water significant lager, rond 60 maal boven deze wettelijke signaleringsnorm. Hoewel de waterconcentratie van EDTA in het drinkwater 10 tot 20 keer lager is dan de gezondheidkundige richtwaarde voor deze stof, is de verontreinigde drinkwaterbron tijdelijk buiten gebruik genomen. Ondertussen loopt er een onderzoek hoe de stof uit het grondwater kan worden verwijderd om aan de wettelijke signaleringsnorm te voldoen. Op deze manier zorgt WMD ervoor dat drinkwater van onberispelijke kwaliteit blijft.

**Maximaal toelaatbare concentraties en signaleringsnorm**

In het drinkwaterbesluit staan voor een aantal antropogene verontreinigingen maximaal toelaatbare concentraties genoemd. Voor de stoffen die wel een risico kunnen vormen maar niet specifiek staan genoemd, de zogenaamde overige antropogene stoffen, is een signaleringsnorm van 1 µg/l opgenomen. Als deze overschreden wordt is aanvullend onderzoek nodig naar de schadelijkheid van de betreffende stof en wordt een gezondheidskundige richtwaarde bepaald. Zo is voor EDTA een gezondheidskundige richtwaarde van 600 µg/l vastgesteld.

**Referentie**

1. European Chemicals Agency (2023). *Reach-registered substances factsheets*. <https://echa.europa.eu/nl/information-on-chemicals/registered-substances>, geraadpleegd 20 april 2023