



## Anwendung einer LC-MS Screening Methode zur Identifizierung historischer und aktueller Spurenstoffe in Grund- und Oberflächenwasser eines ehemaligen Rieselfeldes

Florian Wode<sup>1</sup> ([florian.wode@bwb.de](mailto:florian.wode@bwb.de)), Patricia Van Baar<sup>1</sup> ([patricia.vanbaar@bwb.de](mailto:patricia.vanbaar@bwb.de)), Uwe Dünnbier<sup>1</sup> ([uwe.duennbier@bwb.de](mailto:uwe.duennbier@bwb.de)), Regina Gnirss<sup>1</sup> ([regina.gnirss@bwb.de](mailto:regina.gnirss@bwb.de)), Fabian Hecht<sup>2</sup> ([fabian.hecht@fu-berlin.de](mailto:fabian.hecht@fu-berlin.de)), Thomas Taute<sup>2</sup> ([taute@zedat.fu-berlin.de](mailto:taute@zedat.fu-berlin.de)), Martin Jekel<sup>3</sup> ([martin.jekel@tu-berlin.de](mailto:martin.jekel@tu-berlin.de)), Thorsten Reemtsma<sup>4</sup> ([thorsten.reemtsma@ufz.de](mailto:thorsten.reemtsma@ufz.de))

<sup>1</sup> Berliner Wasserbetriebe, Labor/FE, Motardstraße 35, 13629 Berlin,

<sup>2</sup> Freie Universität Berlin, Hydrogeologie, Malteserstraße 74-100, 12249 Berlin

<sup>3</sup> Technische Universität Berlin, Institut für Technischen Umweltschutz, Straße des 17. Juni 135, 10623 Berlin

<sup>4</sup> Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung - UFZ, Department Analytik, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig

### Zusammenfassung

Die steigende Bedeutung organischer Spurenstoffe im Wasserkreislauf stellt besondere Anforderungen an die Analytik: Neben herkömmlichen Multimethoden werden umfassende Screening Methoden benötigt. In dieser Arbeit wurde eine LC MS Screening Methode für über 2100 Spurenstoffe entwickelt, die Arzneistoffe, Pestizide, Industriechemikalien und Metaboliten dieser Klassen umfasste. Die Methode wurde auf ein bis 1985 genutztes Rieselfeld, auf dem seit 2005 gereinigtes Abwasser aufgeleitet wird, angewendet. Insgesamt wurden 160 organische Spurenstoffe in Grund- und Oberflächenwasser detektiert. Dabei konnten historische Spurenstoffe, die über die Infiltration von Rohabwasser vor 1985 ins Gebiet gelangten, von aktuellen Spurenstoffen unterschieden werden, deren Quelle das seit 2005 infiltrierte gereinigte Abwasser war.

### Einführung

Seit Ende des 19. Jahrhunderts wurden in Ländern wie Deutschland, England, Frankreich und Mexiko Rieselfelder zur Abwasserbehandlung genutzt (ASANO & LEVINE 1996). Die im Abwasser enthaltenen Schadstoffe gelangten jedoch ins Grundwasser und werden häufig noch Jahrzehnte nach Einstellung der Verrieselung detektiert (HASS ET AL. 2012). Mit zunehmender Wasserknappheit gewinnt die Verwendung von gereinigtem Abwasser zur Stabilisierung des Landschaftswasserhaushaltes, zur Grundwasseranreicherung und sogar zur Trinkwassergewinnung weltweit an Bedeutung. Die darin enthaltenen Kontaminanten wie Bakterien, Schwermetalle und organische Spurenstoffe legen dabei das mögliche Anwendungsspektrum fest. Unter diesen Wasserkontaminanten gewinnen die organischen Spurenstoffe zunehmend an Bedeutung. Die Anzahl in der aquatischen Umwelt detektierter organischer Spurenstoffe stieg während der letzten Jahre stetig an, weshalb sie auch als emerging contaminants bezeichnet werden (DAUGHTON & TERNES1999). Die zunehmende Verschmutzung des Wasserkreislaufs mit Spurenstoffen stellt ein ernstzunehmendes Problem dar, ihr Gefährdungspotential für Mensch und Umwelt ist noch weitgehend

unbekannt. Haupteintragsquelle von Spurenstoffen in den Wasserkreislauf sind die Kläranlagen, die Klarwasser in die Vorfluter einleiten. Durch eine Nutzung des Klarwassers könnte diese Eintragsquelle reduziert werden.

Für den analytischen Nachweis von Spurenstoffen im Wasserkreislauf wird die Flüssigchromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie (LC-MS) eingesetzt. Es werden vorwiegend Multimethoden verwendet, die jedoch meist nur bis zu 100 Stoffe enthalten (WODE ET AL. 2012). Da jedoch allein im Rahmen der europäischen Chemikalienverordnung REACH über 100.000 Chemikalien registriert sind, decken Multimethoden nur einen Bruchteil der potentiell im Wasserkreislauf vorhandenen Verbindungen ab. Um die Belastung mit Spurenstoffen besser bewerten zu können, sind daher umfassendere Screening Methoden notwendig (KRAUSS ET AL. 2010).

Die vorliegende Arbeit wurde innerhalb des ELaN Projektes angefertigt, in dem die Verwendung von gereinigtem Abwasser (Klarwasser) zur Stabilisierung des Landschaftswasserhaushaltes eines ehemaligen Rieselfeldes untersucht wurde. Zunächst wurde eine LC-MS Screening Methode für über 2100 Spurenstoffe entwickelt. Diese wurde dann angewendet, um organische Spurenstoffe in Grund- und Oberflächenwasser des Projektgebietes nachzuweisen. Es sollte einerseits geprüft werden, ob 30 Jahre nach Ende des Rieselfeldbetriebes noch historische Spurenstoffe (Altlasten) aus dieser Zeit im Gebiet vorlagen. Andererseits sollte die Verteilung der im seit 2005 aufgeleiteten Klarwasser enthaltenen aktuellen Spurenstoffe im Projektgebiet untersucht werden.

### Methodik

#### *LC gekoppelt mit hochauflösender MS*

Für die Detektion der Spurenstoffe mittels der Screening Methode wurde die LC gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie (LC-HRMS) verwendet. Die LC-Methode ist in WODE ET AL. 2012 detailliert be-

schrieben. 1 mL der Wasserprobe wurden ohne weitere Probenvorbereitung injiziert, online auf einer Vorsäule angereichert und im Anschluss auf einer analytischen Säule getrennt. Dazu wurde der Methanolanteil kontinuierlich von 5% auf 95% erhöht (Gradientenelution). Die Detektion der Analyten erfolgte mittels HRMS, wobei ein Exactive Plus<sup>TM</sup> (Thermo Fisher Scientific, Bremen) verwendet wurde. Die Ionisierung der Analyte erfolgte dabei mittels Elektrospray-Ionisation (ESI).

Zur Detektion im MS wurden Full Scan Spektren bei einer Auflösung von 70.000 aufgenommen. Simultan wurde eine Fragmentierung in einer Kollisionszelle durchgeführt. Der Massenbereich der Methode lag bei 103-900 m/z für den Full Scan und 60-840 m/z für den Fragmentierungsscan. Um Empfindlichkeitsverluste zu minimieren, wurde jede Probe jeweils im negativen und positiven Modus gemessen. Die Datenauswertung erfolgte mittels der Screening Software Trace Finder 3.1 (Thermo Fisher Scientific).

### Screening Methode

Für das Screening wurde eine Datenbank mit 2188 umweltrelevanten Verbindungen mit Name, Summenformel und falls bekannt Fragmentmassen zusammengestellt. Die Verbindungen wurden Datenbanken (EFS Liste Thermo Fisher Scientific, DAIOS-online) sowie der Literatur aus dem Umweltbereich entnommen. Der Schwerpunkt lag dabei auf dem Vorkommen im Wasserkreislauf. Erfasst wurden Substanzklassen wie Arzneistoffe, Pestizide, Industriechemikalien und Metaboliten dieser Klassen. Das Prinzip des Screenings ist in Abbildung 1 dargestellt.

Nach Vermessung der Wasserprobe mittels LC-HRMS findet zunächst die Peakdetektion statt. Die dabei detektierten Peaks sind charakterisiert durch Retentionszeit, akkurate Masse und Intensität. Die akkuraten Massen der Peaks werden mit der Datenbank abgeglichen. Ist die Massenabweichung gegenüber einem Stoff der Datenbank <5 ppm, werden weitere Kriterien zur Verifizierung herangezogen. Anhand der Summenformel des Stoffes wird ein Isotopenmuster berechnet, wobei die Übereinstimmung mit dem gemessenen Isotopenmuster >80% sein muss. Diese beiden ersten Kriterien sichern die Summenformel des möglichen Kandidatenstoffes ab. Um auch die Strukturformel abzusichern, wurde die Detektion mindestens eines Fragments der Verbindung als weiteres Kriterium festgelegt. Zusätzlich wurde noch die Zulassung des Stoffes in Deutschland als Plausibilitätskriterium verwendet.

Bei Erfüllung aller dieser Kriterien wurde die entsprechende Verbindung als wahrscheinlicher Kandidatenstoff bezeichnet. Diese Stoffe waren mit hoher Wahrscheinlichkeit in der Probe enthalten. Der letzte Schritt im Screening ist stets die endgültige Verifizierung mittels Referenzstandard; so bestätigte Verbindungen wurden als identifizierte Kandidatenstoffe bezeichnet.

### Anwendung der Methode im ehemaligen Rieselfeldgebiet Untersuchungsgebiet

Das Projektgebiet nördlich von Berlin wurde von 1898-1985 zur Reinigung des Berliner Abwassers als Rieselfeld genutzt. Das Abwasser wurde über Infiltrationsbecken aufgeleitet, enthaltene Schadstoffe durch Sorption an Bodenpartikel und mikrobiellen Abbau entfernt oder ihre Konzentration verringert. Dadurch wurden Boden und Grundwasser mit zahlreichen Schadstoffen kontaminiert, darunter neben Schwermetallen auch anthropogene Spurenstoffe. Da nach Ende der Rieselfeldnutzung das Gebiet trocken fiel, was negative Auswirkungen auf Flora und Fauna nach sich zog, wird seit 2005 Klarwasser zur Stabilisierung des Landschaftswasserhaushaltes aufgeleitet. Dadurch wurde eine Anhebung des Grundwasserspiegels erreicht, das Grundwasser war somit wieder pflanzenverfügbar (WODE ET AL. 2013). Die Verteilung der etwa 7.000 m<sup>3</sup> Klarwasser pro Tag erfolgt über angelegte Reinigungsteiche und ein Grabensystem (Abbildung 2).

Zur Untersuchung des Verhaltens der im Klarwasser enthaltenen Spurenstoffe während der Infiltration ins Grundwasser wurden im Abstrom der Reinigungsteiche Grundwassertransekte angelegt.

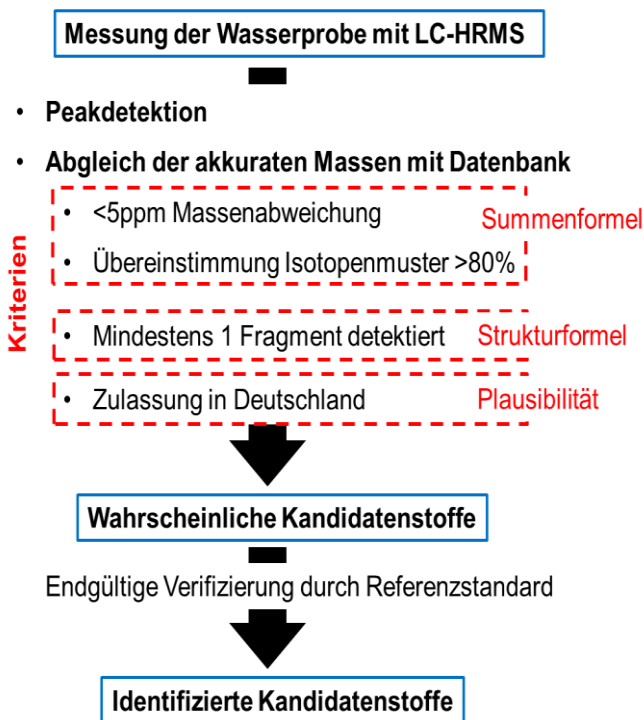
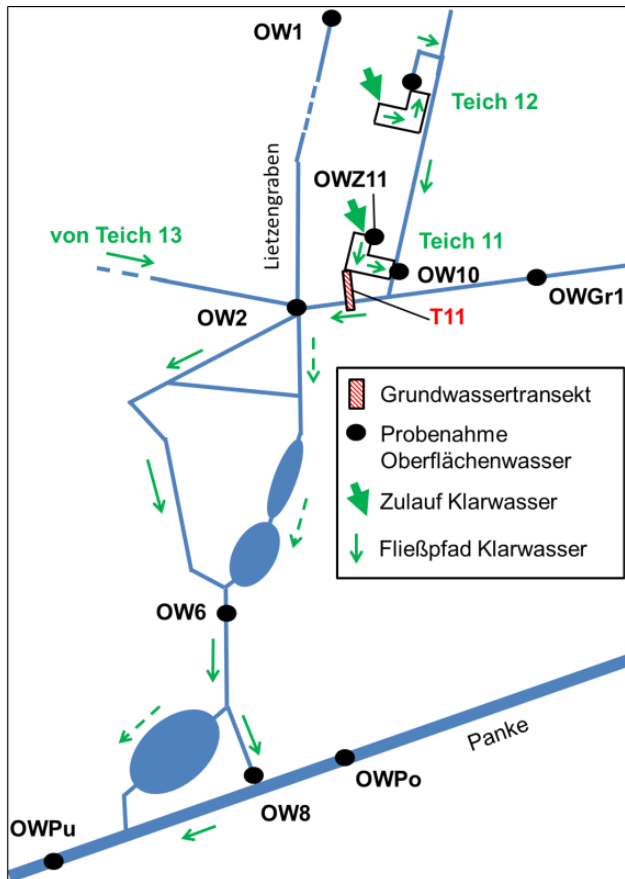


Abb.1: Prinzip des Screenings.



**Abb. 2:** Übersichtskarte des Projektgebietes. Klarwasser wird über Reinigungsteiche aufgeleitet und über ein Grabensystem im Gebiet verteilt. Gezeigt sind auch Probenahmestellen im Oberflächenwasser sowie ein Transekt zur Grundwasserprobung.

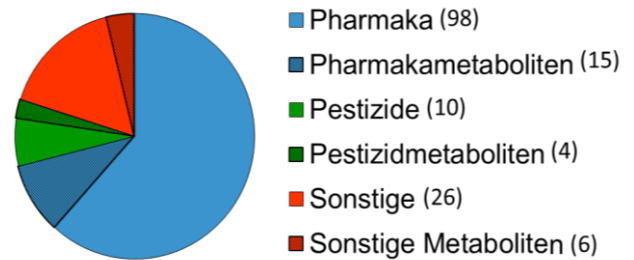
Zur Untersuchung des Verhaltens der im Klarwasser enthaltenen Spurenstoffe während der Infiltration ins Grundwasser wurden im Abstrom der Reinigungsteiche Grundwassertransekte angelegt.

### Ergebnisse und Diskussion

Durch das Screening wurden in Grund- und Oberflächenwasser insgesamt 160 wahrscheinliche Kandidatenstoffe detektiert. Für 32 dieser Stoffe existierten bereits Standards in unserem Labor, für 24 weitere ausgewählte Stoffe wurden Standards käuflich erworben. Die Auswahl der Stoffe erfolgte anhand der Detektionsfrequenz im Screening und der in der Literatur beschriebenen Relevanz für den Wasserkreislauf.

55 dieser 56 Stoffe konnten mittels Standard endgültig bestätigt werden (identifizierte Kandidatenstoffe). Diese hohe Bestätigungsrate (98%) stellt eine Validierung der entwickelten Screening Methode dar. 118 der 160 wahrscheinlichen Kandidatenstoffe wurden erstmalig im Projektgebiet detektiert, für 12 Stoffe wurde das Vorkommen im Wasserkreislauf bisher nicht in der Literatur beschrieben. Dies unterstreicht die Effizienz der Screening Methode zur Ermittlung bisher unbekannter Spurenstoffe. 71% dieser Stoffe waren

Pharmaka und deren Metaboliten (Abbildung 3). Diese Verbindungsklasse stellt wegen ihrer biologischen Wirksamkeit ein Gefährdungspotential dar.

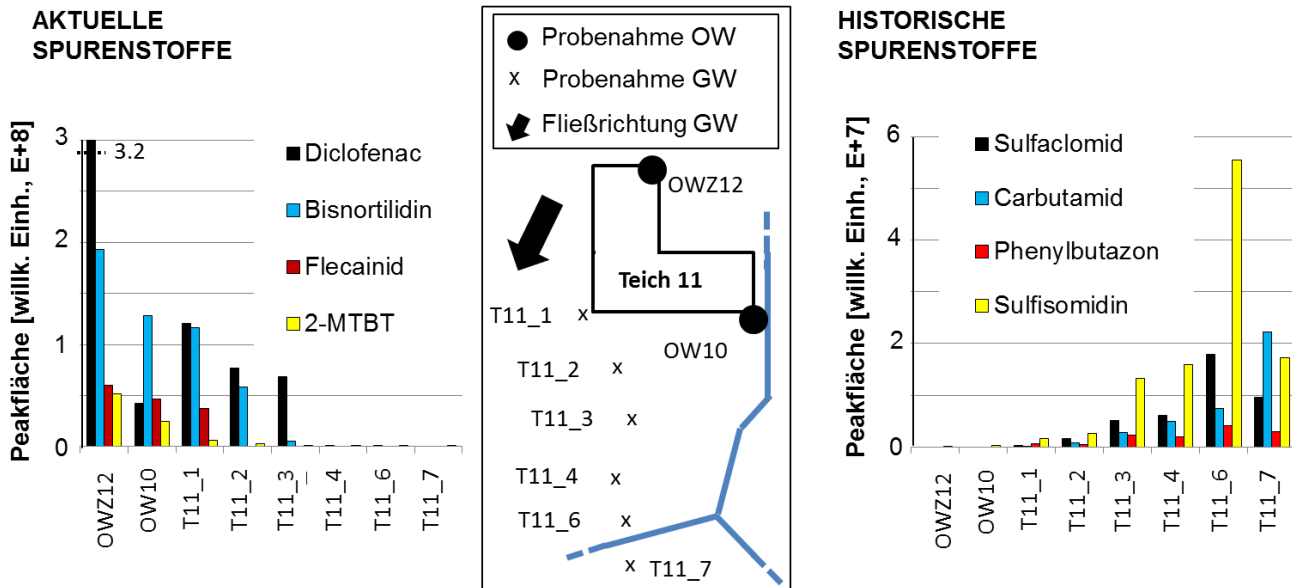


**Abb. 3:** Klassen wahrscheinlicher Kandidatenstoffe, die mit der Screening Methode in Grund- und Oberflächenwasser des ehemaligen Rieselfelds detektiert wurden.

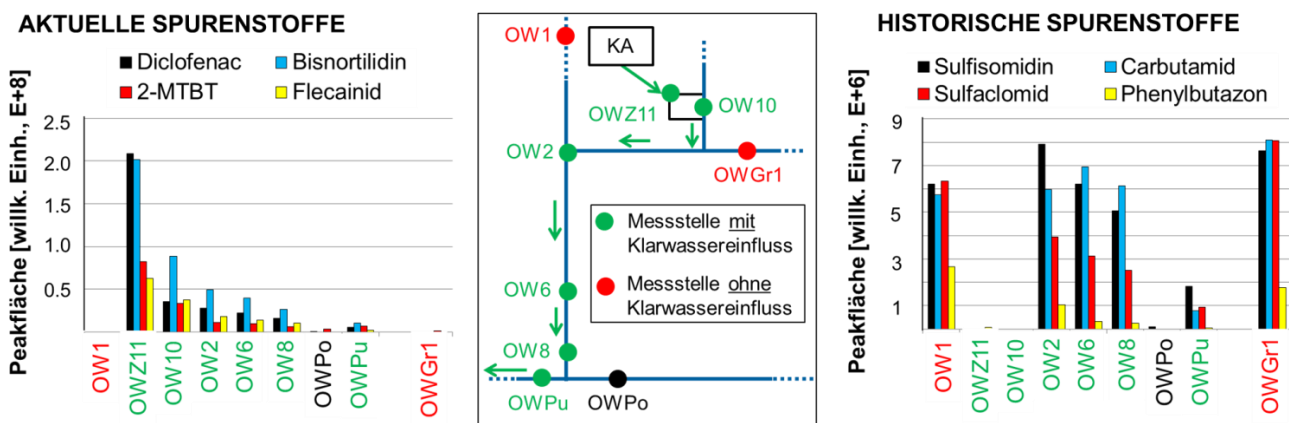
Peakflächen mehrfach detektierter Verbindungen wurden entlang des Fließpfads des Klarwassers im Grundwasser des Gebiets aufgetragen, um Informationen über das Transportverhalten der Stoffe zu gewinnen. Peakflächen sind proportional zu Konzentrationen, wobei jedoch Matrixeffekte in den Proben berücksichtigt werden müssen. Es wurden zwei typische Verteilungsmuster erhalten (Abbildung 4).

Die erste Stoffgruppe zeigte die höchsten Signalintensitäten im Zulauf des Reinigungsteiches (OWZ12), im Grundwasser nahm die Intensität mit zunehmender Entfernung vom Teich ab. Insgesamt zeigten 80 Stoffe dieses Muster, vier sind beispielhaft gezeigt. Diclofenac ist ein bekanntes Schmerzmittel, Bisnortilidin ein Schmerzmittelmetabolit und Flecainid ein Antiarrhythmikum. Dagegen handelt es sich bei 2-Methylthiothiazol (2-MTBT) um den Metabolit eines Vulkanisationsbeschleunigers. Die Stoffe dieser Gruppe, für die die Bezeichnung aktuelle Spurenstoffe eingeführt wurde, stammen aus dem aktuell aufgeleiteten Klarwasser. Nah am Teich war ihre Signalintensität am größten, da dort der höchste Klarwasseranteil vorlag. Während der Infiltration nahmen die Intensitäten dann aufgrund von Verdünnung durch Grundwasser, Sorption und Abbau deutlich ab.

Die zweite Gruppe Spurenstoffe zeigte das inverse Verteilungsmuster: In den Messstellen mit der größten Entfernung zu den Teichen wiesen sie die höchsten Signalintensitäten auf. Insgesamt wurden 18 Stoffe dieser Gruppe zugeordnet, vier sind beispielhaft gezeigt. Sulfacloimid und Sulfisomidin sind Sulfonamidantibiotika, Carbutamid ein Epileptikum der ersten Generation, welches nicht mehr eingesetzt wird. Auch das Schmerzmittel Phenylbutazon findet heute keine Verwendung mehr. Vor Beginn der aktuellen Klarwasserinfiltration lagen diese Stoffe im Grundwasser entlang des später angelegten Transekts vermutlich in vergleichbaren Konzentrationen vor. Durch Infiltration von Klarwasser, welches die historischen Stoffe nicht enthält, fand eine Verdünnung statt. Da die Verdünnung in der Nähe der Teiche am stärksten war, wurden dort die geringsten Signalintensitäten erhalten. Auch im Oberflächenwasser zeigten aktuelle und historische Spurenstoffe jeweils typische Verteilungsmuster (Abbildung 5).



**Abb. 4:** Verteilungsmuster aktueller und historischer Spurenstoffe im Grundwasserabstrom eines Reinigungsteiches, über den Klarwasser aufgeleitet wurde. 2-MTBT: 2-Methylthiothiazol, OW: Oberflächenwasser, GW: Grundwasser.



**Abb. 5:** Verteilungsmuster aktueller und historischer Spurenstoffe im Oberflächenwasser des Versuchsgebiets. 2-MTBT: 2-Methylthiothiazol, KA: Kläranlage.

Die aktuellen Spurenstoffe zeigten höchste Peakintensitäten im Zulauf des Teiches, wo das Klarwasser aufgeleitet wurde. Entlang des Fließpfades des Klarwassers nahmen die Intensitäten dann kontinuierlich ab. Im Gegensatz dazu wiesen die historischen Spurenstoffe hohe Konzentrationen in den Messstellen auf, die nicht von Klarwasser erreicht wurden. Zusätzlich waren diese Stoffe auch in OW2, OW6 und OW8 nachweisbar, was die Exfiltration von historischem Rieselfeldgrundwasser in diesen Gräben beweist.

### Fazit und Ausblick

Die entwickelte LC-HRMS Screening Methode erwies sich als hocheffizient und hervorragend geeignet zur Charakterisierung der Spurenstoffbelastung im Wasserkreislauf. In Grund- und Oberflächenwasser des Gebiets konnte zwischen aktuellen Spurenstoffen unterschieden werden, deren Quelle das seit 2005 aufgebraute Klarwasser war, und historischen Spurenstoffen, die aus dem vor 1985 infiltrierten Abwasser stammten. Die historischen Stoffe waren dabei noch Jahrzehnte nach Ende der Rieselfeldwirtschaft im Grundwasser

nachweisbar und gelangten durch Exfiltration ins Oberflächenwasser. Um zu prüfen, ob von der Vielzahl an detektierten Spurenstoffen eine Gefährdung ausgeht, sind eine Quantifizierung sowie eine ökotoxikologische Bewertung der Stoffe unerlässlich.

### Danksagung

Die Autoren bedanken sich beim Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Finanzierung des ELaN-Projektes (Förderkennzeichen 033L025A – L).

## Literatur

- Asano, T.; Levine, A.D. (1996). Wastewater reclamation, recycling and reuse: Past, present, and future. *Water Science and Technology* 33 (10-11): 1-14.
- Daughton, C.G.; Ternes, T.A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environmental Health Perspectives* 107: 907-938.
- Hass, U.; Dünnbier, U.; Massmann, G. (2012). Occurrence of psychoactive compounds and their metabolites in groundwater downgradient of a decommissioned sewage farm in Berlin (Germany). *Environmental Science and Pollution Research* 19 (6): 2096-2106.
- Krauss, M.; Singer, H.; Hollender, J. (2010). LC-high resolution MS in environmental analysis: from target screening to the identification of unknowns. *Anal. Bioanal. Chem.* 397 (3): 943-951.
- Wode, F.; Reilich, C.; van Baar, P.; Duennbier, U.; Jekel, M.; Reemtsma, T. (2012). Multiresidue analytical method for the simultaneous determination of 72 micropollutants in aqueous samples with ultra high performance liquid chromatography - high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1270: 118-126.
- Wode, F.; Gnirss, R.; Dünnbier, U.; Möller, K.; Hecht, F.; Taute, T. (2013). Non-potable water reuse for landscape irrigation in Berlin, Germany. *Tagungsband Re-Water Braunschweig 2013*, Institut für Siedlungswasserwirtschaft, TU Braunschweig.

## Korrespondenzadresse:



Florian Wode  
Berliner Wasserbetriebe, Motardstraße 35, 13629 Berlin,  
E-Mail: [florian.wode@gmx.de](mailto:florian.wode@gmx.de)