



## Untersuchung von Trinkwassergewinnungsprozessen mittels Non-Target Analytik

Vanessa Hinnenkamp ([v.hinnenkamp@iww-online.de](mailto:v.hinnenkamp@iww-online.de)), Peter Balsaa ([p.balsaa@iww-online.de](mailto:p.balsaa@iww-online.de))

### Abstract

Der anhaltende Eintrag von organischen Spurenstoffen in Gewässer, die als Trinkwasserressourcen dienen, macht eine ständige Überwachung des Roh- und des Trinkwassers notwendig, denn nur so kann unverzüglich auf Änderungen reagiert und Maßnahmen eingeleitet werden. Die substanzspezifische Target-Analytik erfasst allerdings nicht alle in einer Probe enthaltenen Inhaltsstoffe und weist damit einen entscheidenden Nachteil auf. Mittels Non-Target Analytik können darüber hinaus auch Substanzen erfasst und nach Möglichkeit auch identifiziert werden, die bisher noch nicht in derartigen Matrices betrachtet wurden.

### Einleitung

Zur Erhaltung der Trinkwasserqualität ist die Untersuchung von organischen Mikroverunreinigungen ein wichtiger Bestandteil. Üblicherweise kommen für die Target-Analytik flüssigchromatographische oder gaschromatographische Trennverfahren in Verbindung mit massenspektrometrischer Detektion zum Einsatz. Durch sensitive hochauflösende Massenspektrometer ist es möglich, neben der Target-Analytik, auch umfangreiche Screeningansätze, wie ein Suspect und Non-Target Screening durchzuführen. Bei einem Suspect-Screening werden Messdaten der Probe mit Daten aus Stoff-Datenbanken verglichen, die Informationen, wie beispielsweise zur Summenformel, Fragmentationen und Retentionszeiten enthalten. Im Falle einer Übereinstimmung können die Substanzen vorläufig identifiziert werden. Als sicher identifiziert gilt eine Substanz erst dann, wenn der Abgleich mit der Referenzsubstanz durchgeführt wurde. Mittels Non-Target Screening werden alle detektierten Signale verarbeitet. Eine große Herausforderung dabei ist die Datenaufbereitung. Datenaufbereitungsschritte, wie die Gruppierung von Isotopen- und Adduktpeaks, Annotation oder Subtraktion von Blindpeaks, Zusammenführen von Proben und Probenreplikaten sind wichtig, um die Komplexität der Daten zu verringern [1].

In dieser Arbeit erfolgte eine Untersuchung von Mikroverunreinigungen in Wasserproben aus Trinkwassergewinnungsprozessen durch ein Non-Target Screening mittels Ultra-Performance-Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Ionenmobilitäts-Quadrupol-Flugzeit-Massenspektrometrie (UPLC-IM-Q-TOF-MS).

### Methode

Die UPLC-IM-Q-TOF-MS Messungen wurden mit einem Acquity UPLC I-Class (Waters), gekoppelt an ein Vion IM-Q-TOF MS (Waters) System durchgeführt. Für die chromatographische Trennung wurde eine HSS T3 (2,1 × 100 mm) 1,8 µm Hauptsäule (Reversed Phase) mit einer BEH-Amid (2,1 × 5

mm) 1,8 µm Vorsäule bei 40 °C Säulentemperatur verwendet. Als mobile Phase wurden Wasser und Methanol (mit je 0,1 % Ameisensäure) bei einem konstanten Fluss von 0,35 mL/min genutzt. Von den Proben wurden jeweils 100 µL injiziert. Zu Beginn war der Eluent 100% wässrig und wurde für eine Minute gehalten. Innerhalb von 11,5 Minuten stieg der Methanolanteil auf 99% und wurde für 2 Minuten gehalten. Danach wurde der Eluent auf Anfangsbedingungen (100% Wasser) eingestellt und für weitere fünf Minuten gehalten. Zur Ionisation wurde die Elektrospray-Ionisation (ESI) verwendet. Messungen im positiven und negativen Ionisationsmodus wurden in getrennten Läufen durchgeführt. Die Desolvatisierungstemperatur betrug 500 °C und die Quellentemperatur wurde auf 150 °C eingestellt. Der Desolvatisierungs- und der Cone-Gasstrom wurden auf 800 L/h bzw. 50 L/h eingestellt. Die Cone Spannung betrug 20 V und es wurde bei einer Kapillarspannung von 0,8 kV gearbeitet. Die Scanzeit betrug 0,3 s. Alle Messungen erfolgten im HDMSE-Modus, d.h. es wurden Spektren bei niedriger Energie (4 eV bzw. -4 eV) zur Erfassung von Vorläuferionen und hoher Energie (im Bereich von 15 eV bis 40 eV bzw. -15 eV bis -40 eV) zur Erfassung von Fragmentationen aufgenommen. Darüber hinaus erfolgte mittels Traveling Wave Ionenmobilitätsspektrometrie die Bestimmung von Kollisionsquerschnitten (CCS, engl. collision cross section), welche neben dem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis ( $m/z$ ), der Retentionszeit, dem Fragmentspektrum und dem Isotopenverhältnis als zusätzliches Identifizierungskriterium dienen.

### Datenaufbereitung

Die Daten wurden mit der Unifi 1.9.4 Software (Waters) prozessiert. In einem ersten Schritt erfolgte ein quantitatives Screening von 143 ausgewählten organischen Substanzen [2]. Anschließend wurde ein Suspect Screening mit einer eigenen Datenbank, der Datenbank von Wode et al. [3] und der CCS Pestizid Datenbank von Waters durchgeführt. Für das Non-Target Screening erfolgte die Peakerkennung bei einem Threshold von 200 counts. Im Rahmen der Non-Target Analytik wird häufig der Begriff des Features für die extrahierten Messdaten zu den einzelnen Peaks (definiert durch das  $m/z$ , der Retentionszeit und der Intensität) verwendet. Isotop und Addukt-Peaks, die auf ein und dieselbe Substanz hindeuten wurden aus den Featurelisten entfernt. Mit Hilfe eines Skriptes (programmiert in Origin 2018b) wurden die Featurelisten der gemessenen Triplikate der Proben zusammengeführt und nur Features weiter betrachtet, die in allen gemessenen Triplikaten einer Probe detektiert wurden. Darüber hinaus erfolgte ein Blankabzug, bei dem alle im Blank detektierten Peaks aus der Liste der Proben Features eliminiert wurden. Das Zusammenführen der Triplikate und der Blankabzug wurden mit internen Standards überprüft. Anschließend wurde die Schnittmenge

aller Features gebildet, die in allen Featurelisten der Proben enthalten waren. Die daraus resultierenden Features wurden einzeln und visuell in den Messdaten geprüft, um falsch-positive Peaks zu vermeiden. Für die übrig gebliebenen Features wurden Summenformeln über das in Unifi implementierte Elucidation Tool generiert. Berücksichtigt wurden dabei die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Fluor, Phosphor, Schwefel, Chlor und Brom. Summenformeln mit einem i-fit confidence von  $\geq 80\%$  wurden weiter berücksichtigt und auf mögliche Einträge in der FOR-IDENT Datenbank (<https://www.for-ident.org/>) untersucht.

## Ergebnisse

Das untersuchte Trinkwasser wurde aus einer Talsperre gewonnen. Im Oberlauf des Talsperrenzuflusses erfolgen anthropogene Einträge von Kläranlagen. Insgesamt wurden sechs Wasserproben (zwei Kläranlagenabläufe, ein Oberflächenwasser, ein Rohwasser, ein Prozesswasser und eine Trinkwasserprobe) auf organische Mikroverunreinigungen untersucht.

Die Featurelisten wurden in die Origin Software kopiert und die Daten wurden wie beschrieben bearbeitet. Tabelle 1 zeigt die resultierte Anzahl an Features durch den Workflow.

**Tabelle 1.** Übersicht der Anzahl der Features nach den jeweiligen Datenaufbereitungsschritten.

Aufbereitungsschritt	Verbleibende Anzahl Features ESI+	Verbleibende Anzahl Features ESI-
Trinkwasserprobe (erstes Replikat)	2280	771
Adduktpeak-Korrektur	2215	769
Features in allen Probentriplikaten	1147	269
Blank-Reduktion	409	134
Bildung der Schnittmenge über alle Proben	52	20
Visuelle Prüfung der Peaks	25	11
Vorgeschlagene Summenformel (i-fit confidence $\geq 80\%$ )	7	3

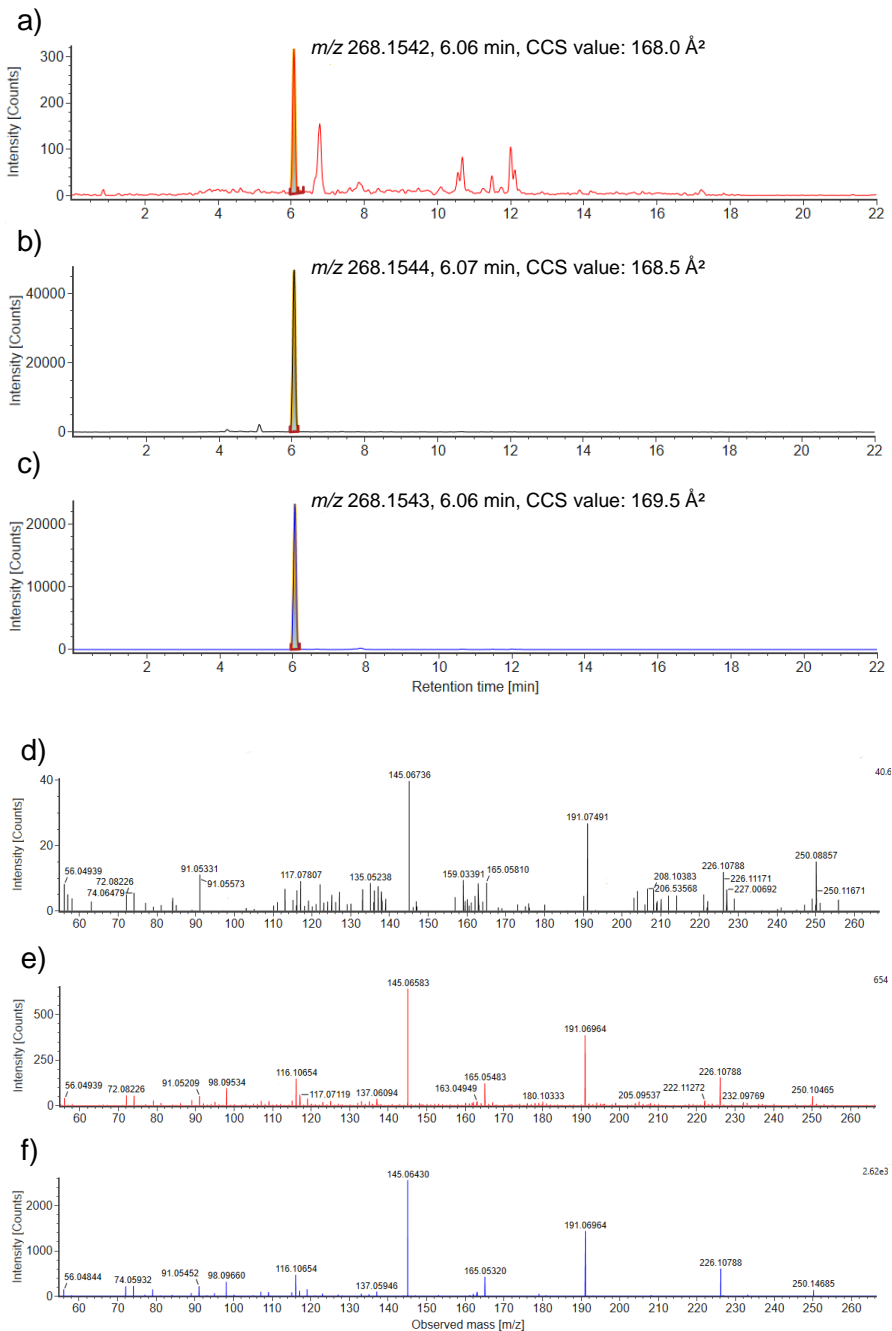
Bei den ESI+ Daten konnte für ein Feature mit dem  $m/z$  268.1545, der Retentionszeit von 6.06 Minuten und einem CCS-Wert von 168.3 Å<sup>2</sup> die Summenformel C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub> bestimmt werden. In der FOR-IDENT Datenbank wurden zwei Treffer Metoprololsäure/Atenololsäure (Transformationsprodukt der beiden  $\beta$ -Blocker Metoprolol und Atenolol) sowie für Diethofencarb (Fungizid) erhalten. Die Verwendung von Diethofencarb ist in Deutschland jedoch nicht zulässig, was die Plausibilität eines positiven Ergebnisses weniger wahrscheinlich macht. Eine Verifizierung des Ergebnis durch eine Vergleichsmessung des Referenzstandards erfolgte somit nicht. Ein Referenzspektrum für Metoprololsäure/Atenololsäure aus der PubChem-Datenbank (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) wurde mit dem aufgenommenen Fragmentationenspektrum abgeglichen und stimmte überein. Der Abgleich mit der Referenzsubstanz und mit den Messergebnissen der Probe anhand von  $m/z$ , Retentionszeit, CCS-Wert und Fragmentationenspektren ist in Abbildung 1 dargestellt.

Der Vergleich der Trinkwasserprobe, eines Kläranlagenablaufes und des Referenzstandards zeigt die Übereinstimmung des  $m/z$ -Wert (Abweichung  $< 1$  mDa), der Retentionszeit (Abweichung  $< 0,05$  Minuten) des CCS-Wert (Abweichung  $< 2\%$ ) und des Fragmentationenspektrum. Das

Vorhandensein von Metoprololsäure/Atenololsäure in den Proben wurde somit bestätigt.

Die Ergebnisse zeigen, dass es durch diesen Workflow möglich ist, bislang nicht betrachtete organische Mikroschadstoffe in Wasserproben aufzuspüren und diese auch zu identifizieren. Nachteilig ist jedoch, dass dieser Workflow sehr zeitintensiv ist. Ein neuer Non-Target Ansatz ist die Betrachtung des Totalionenstromchromatogramms (Summe der Ströme, die von den Ionen aller  $m/z$ -Werte im Spektrum erzeugt wird). Durch den Abgleich einer Blank-Messung (Reinstwasser) mit einer Probe können Auffälligkeiten in der Probe visuell direkt und schnell erkannt werden, wodurch z.B. ein schnelles Eingreifen in den Trinkwassergewinnungsprozess bei einem Störfall möglich ist.

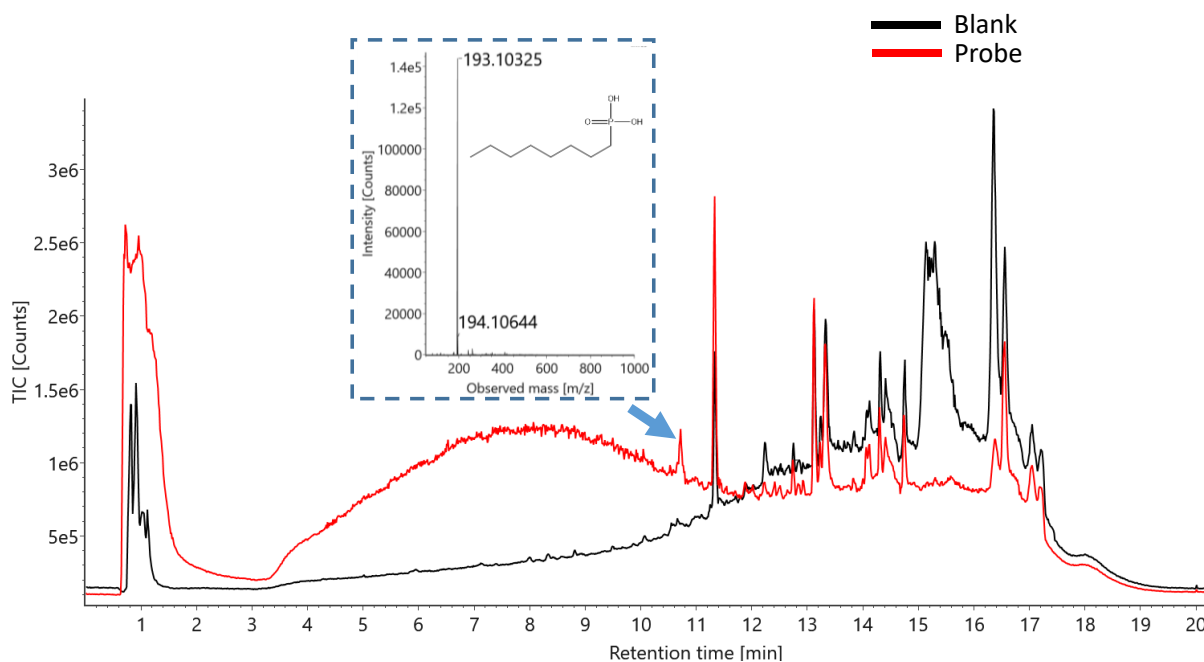
Dabei werden in einer zweidimensionalen Darstellung, auf der X-Achse die Retentionszeit (Retentionszeit in min) und auf der Y-Achse die Intensität des Ionenstroms aufgetragen. Ein im TIC-Chromatogramm erkennbares Signal muss aber nicht zwingend nur von einer Substanz erzeugt werden, sondern es können sich auch mehrere Substanzen unter dem Signal verbergen. Um organische Mikroschadstoffe im TIC erkennen zu können, müssen diese allerdings gut ionisierbar sein bzw. in hohen Konzentrationen vorliegen (meist im oberen ng/L Bereich oder  $\mu\text{g/L}$  Bereich für Trinkwasser).



**Abbildung 1.** Extrahierte Ionenchromatogramme für Metoprololsäure/Atenololsäure in der Trinkwasserprobe (a), einer Kläranlagenablaufprobe (b) und des Referenzstandards (c), sowie die aufgenommenen Fragmentionenspektren der Trinkwasserprobe (d), einer Kläranlagenablaufprobe (e) und des Referenzstandards (f)

Bei der Untersuchung eines weiteren Trinkwassergewinnungsprozesses konnte eine Auffälligkeit im TIC einer Probe (gemessen im negativen Ionisationsmodus) beobachtet werden, die auf einen Peak mit der Retentionszeit von 10.72 min, einem  $m/z$  von 193.0997 und einem CCS Wert von 141.8

$\text{Å}^2$  zurückzuführen war (Abbildung 2). Die Datenbankrecherche ergab einen Treffer für die Substanz Octylphosphonsäure (u.a. Bestandteil in Reinigungsmittel). Durch den Abgleich mit der Referenzsubstanz konnte Octylphosphonsäure in der Probe bestätigt und damit eindeutig identifiziert werden.



**Abbildung 2.** Vergleich TIC Blank (Reinstwasser) und einer Wasserprobe aus einem Trinkwassergewinnungsprozess

## Fazit und Ausblick

Mittels Non-Target Analytik lassen sich bislang nicht in der Routineuntersuchung betrachtete organische Mikroschadstoffe im Trinkwassergewinnungsprozess auffinden und mittels Datenbanken identifizieren. Die Erweiterung von Datenbanken ist daher besonders erstrebenswert. Zukünftig soll die Automatisierung der Auswertung vorangebracht werden, um den bisher notwendigen Arbeitsaufwand bei der Datenauswertung zu minimieren. Die Auswertung des TIC-Chromatogramms ist eine sehr schnelle Untersuchungsmöglichkeit. Spontan auftretende Störstoffe können so fast unmittelbar erkannt werden, so dass Gegenmaßnahmen zur Sicherung der Trinkwasserqualität noch rechtzeitig durchgeführt werden können.

## Literatur

- [1] Hollender J, Schymanski EL, Singer HP, Ferguson PL. Nontarget screening with high resolution mass spectrometry in the environment: Ready to go? *Environ. Sci. Technol.* 2017;51:11505-11512.
- [2] Hinnenkamp V, Balsaa P, Schmidt TC. Quantitative screening and prioritization based on UPLC-IM-Q-TOF-MS as an alternative water sample monitoring strategy. *Anal. Bioanal. Chem.* 2019;411:6101-6110.
- [3] Wode F, van Baar P, Dünnbier U, Hecht F, Taute T, Jekel M, Reemtsma T. Search for over 2000 current and legacy micropollutants on a wastewater infiltration site with a UPLC-high resolution MS target screening method. *Water Res.* 2015;69:274-283.

## Korrespondenzadresse

Dr. Vanessa Hinnenkamp  
 IWW Zentrum Wasser  
 Moritzstraße 26  
 45476 Mülheim an der Ruhr  
 E-Mail: [v.hinnenkamp@iww-online.de](mailto:v.hinnenkamp@iww-online.de)