

Non-target screening som værktøj til risikoanalyser af grundvandstrusler?

Ulla E. Bollmann, Claus Kjøller, Nora Badawi,
Nanna H. Vidkjær & Lærke Thorling

Non-target screening som værktøj til risikoanalyser af grundvandstrusler?

Ulla E. Bollmann, Claus Kjøller, Nora Badawi,
Nanna H. Vidkjær & Lærke Thorling

Non-target screening som værktøj til risikoanalyser af grundvandstrusler?

Ulla E. Bollmann, Claus Kjøller, Nora Badawi, Nanna H. Vidkjær og Lærke Thorling



Indholdsfortegnelse

1.	Indledning	6
2.	Baggrund og formål med rapporten	7
3.	Introduktion til non-target screening	8
3.1	Fra target til non-target.....	8
3.2	Databehandling af non-target-data – target, suspect og non-target- screening	9
3.3	Sikkerhedsniveau af stofidentifikation	11
3.4	Grundforudsætning for non-target-screening: En meget nøjagtig massebestemmelse 12	
3.5	Det kemiske rum – der findes ikke én metode til at afdække alle stoffer.....	14
3.6	Verificering af metoden – sammenligning med target-resultater og blindprøver	15
3.7	Koncentrationsbestemmelse uden standarder.....	16
4.	Eksempler på anvendelsen af non-target-screening	19
4.1	Suspect-screening – et eksempel fra Schweiz.....	19
4.2	Suspect og non-target-screening – et eksempel fra Danmark: GRUMO.....	20
4.3	Løbende overvågning og early warning af forurening	21
4.4	Overvågning af renseprocesser.....	23
5.	De væsentligste udviklingsområder	25
5.1	Nødvendig udvikling fra forskningsmiljøer til standardiseret kommercielt produkt .	25
5.2	Udvikling mod at kunne analysere meget mobile, grundvandsrelevante stoffer	25
5.3	Prioritering af fund af hidtil ukendte stoffer	26
5.4	Datahåndtering af de store nye mængder data.....	27
5.5	Ønsker til den fremtidige non-target-metode.....	27
6.	Non-target-screening i risikoanalyser	29
6.1	Anvendelsesmuligheder.....	29
6.2	Anbefalinger	30
7.	Referencer	32

1. Indledning

Af hensyn til den målrettede beskyttelsesindsats for grundvandet og fremtidige indvindingsstrategier, er der et presserende behov for bedre viden om, i hvilket omfang grundvandet i indvindingsoplandene indeholder miljøfremmede stoffer. De miljøfremmede stoffer kan være kendte stoffer fra kendte kilder, men der er også behov for at undgå fremtidige overraskelser relateret til stoffer, hvor man i dag ikke ved noget om deres udbredelse i grundvandet. Nogle af de miljøfremmede stoffer vil falde i kategorien 'fortidens synder', for hvilke der først og fremmest er brug for at etablere fagligt baserede forventninger til, hvor længe stofferne vil udgøre en udfordring for bl.a. drikkevandsforsyningen. Andre stoffer vil udvaskes til grundvandet fra igangværende aktiviteter på jordoverfladen, hvorfor der for denne type af stoffer kan være et lokalt behov for at regulere anvendelsen af disse stoffer gennem den konkrete lokale grundvandsbeskyttelse.

For at opnå størst mulig viden om grundvandstruslen fra kendte og ikke kendte miljøfremmede stoffer, kan non-target-screeninger anvendes til at afdække tilstedeværelsen af kemiske stoffer i grundvandet. Derudover kan non-target-screeninger også være interessante i forbindelse med vandrensning på vandforsyningsanlæggene eller for at vurdere risiko for afsmitning af materialer, der kommer i kontakt med drikkevandet.

Denne rapport præsenterer kort og præcist non-target-metoden, metodens modenhed, de potentielle nuværende og fremtidige anvendelsesmuligheder i forbindelse med risikoanalyser i grundvandsbeskyttelse og de dilemmaer, der følger med metoden.

Rapporten diskuterer, i hvilket omfang non target-metoden kan give de svar, som stilles i forbindelse med grundvandsbeskyttelsen, nu og i fremtiden, og hvordan den nye viden om stoffer, man måske aldrig har hørt om, kan håndteres. En særlig udfordring er i dag, at der i vidt omfang ikke findes kravværdier eller standardiserede måder til at håndtere mange af de stoffer, som kan blive identificeret med de nye metoder. Rapporten forklarer også, hvorfor det ikke er realistisk at forvente, at det nogensinde vil være muligt at vide alt om, hvad der er i vandet, eller hvad der er på vej til grundvandet fra kilder på jordoverfladen.

Hvis data skal kunne bruges til forvaltningsformål, er der behov for, at der findes og anvendes standardiserede metoder til analyse og datahåndtering. Pålideligheden og kvaliteten af metoderne skal være kendt, og ideelt set skal det være kommercielt tilgængelige metoder, hvor kunden på forhånd ved, hvordan resultaterne skal håndteres og tolkes.

GEUS har i dette notat forsøgt at formidle, hvad moderne analyseteknikker, herunder target-analyser, suspect-screeninger og non-target-screeninger, konkret og på et fagligt grundlag kan bidrage med i grundvandsbeskyttelsen. I forlængelse heraf er der formuleret en række anbefalinger til anvendelsen af non-target metoder på kort og lang sigt, se kapitel 6.2.

2. Baggrund og formål med rapporten

Der er et presserende behov for bedre viden om hvilke stoffer, der er i vores vand – fx viden om i hvilket omfang grundvandet i et opland til en vandindvindingsboring indeholder miljøfremmede stoffer. Denne viden har stor betydning for en målrettet beskyttelsesindsats og fremtidige indvindingsstrategier. I grundvandsbeskyttelsen skal der tages beslutninger om omfanget af indsatser på trods af usikkerhed om grundvandets forureningstilstand og eksakte trusselsbillede. Non-target-screeninger skal i denne sammenhæng ses som et værktøj til at reducere denne usikkerhed.

Formålet med rapporten er at formidle, hvad non-target-analyser er, og hvordan de kan bruges, herunder metodens modenhed og de tekniske udviklingstendenser, der for øjeblikket synes at pege på fremtidige anvendelsesmuligheder. Formålet er også at formidle viden om non-target-analyser i et nemt forståeligt sprog til fagpersoner inden for grundvandsbeskyttelse, dvs. på vandværker, hos rådgivere og offentlige myndigheder. De kendte faldgruber ved anvendelse af metoden diskuteres, og visioner for fremtidige løsninger ift. fx tolkning af resultater, datahåndtering og kommunikation af resultaterne præsenteres.

I rapporten beskrives desuden potentialet for anvendelse af non-target og lignende analyser i relation til risikoanalyse af grundvandstrusler. Dette er særligt med henblik på en mulig anvendelse i kontekst af en målrettet grundvandsbeskyttelse af områder med potentiale for grundvandsdannelse.

Rapporten er udarbejdet på baggrund af de seneste års erfaring i GEUS med udvikling af non-target-analyser, og ikke mindst mulighederne for at anvende resultaterne fra sådanne analyser i samspil med egentlige target-analyser og håndtering af de udarbejdede analyseresultater.

Non-target området er et meget aktuelt forskningsområde, og derfor er der meget udvikling og forandring undervejs. Dette gælder deciderede for de tekniske metoder, men faktisk også for begreberne. Der er forsøgt at holde en rød tråd igennem denne rapport og forklare de brugte begreber med de mest udbredte definitioner. Det anbefales at afklare forståelsen af begreberne i forvejen med samarbejdspartneren, når der anvendes non-target-analyser, for at forebygge skuffelser på grund af falske forventninger.

3. Introduktion til non-target screening

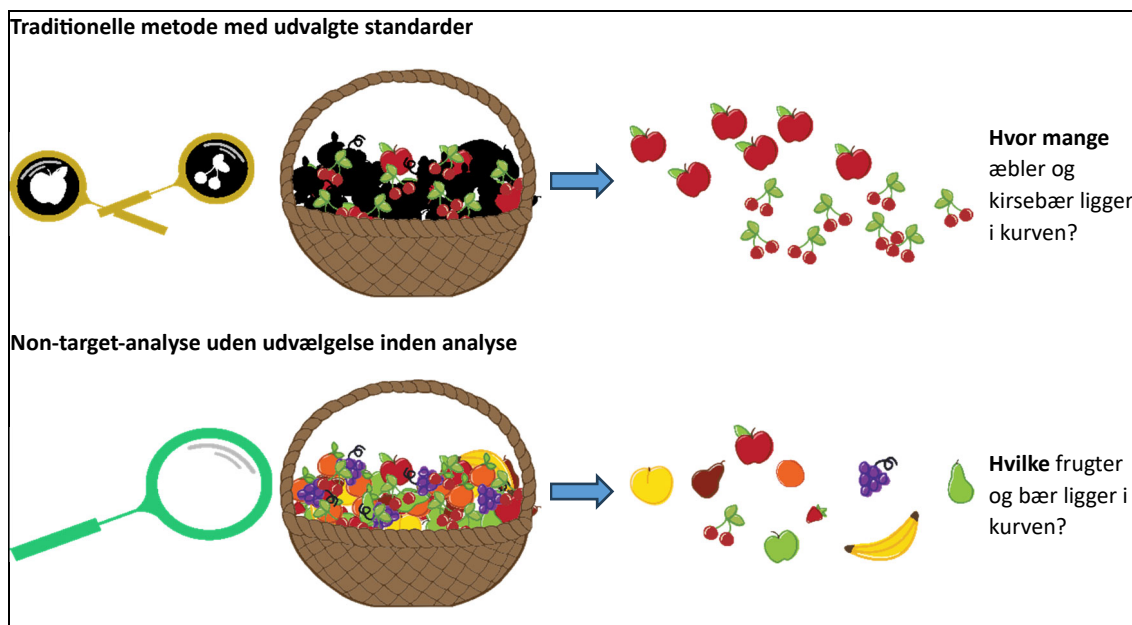
I dette kapitel, der giver en kort introduktion til non-target-screening, gennemgås de faglige grundelementer bag non-target-screening. I syv afsnit gennemgås den bagvedliggende faglighed, der er mest relevant for forståelsen, tolkningen og anvendelsen af non-target-screening og de tilhørende resultater. Der er lagt vægt på at beskrive de forskelle i den metodiske tilgang, der ligger bag non-target screening sammenlignet med de gængse målrettede target-analyser for enkeltstoffer, der ellers anvendes i dag. Kapitlet skal etablere grundlaget for at læseren kan blive i stand til at afveje fordele og ulemper ved at inddrage non-target-screening i arbejdet med grundvandsbeskyttelsen. En faktaboks i slutningen af kapitlet sammenfatter de vigtigste budskaber i en kort oversigt.

3.1 Fra target til non-target

Traditionelt analyseres miljøfremmede stoffer, derunder pesticider og deres nedbrydningsprodukter, ved såkaldte target-analyser. **Til target-analyser udvælges og optimeres metoderne målrettet de enkelte stoffer.** For den målrettede metode sker metodeudvikling og validering på basis af en ren kemisk standard for det konkrete stof med henblik på at optimere et nøjagtigt og præcist kvantitativt resultat med lavest mulig detektionsgrænse. Detektionsgrænsen er defineret som den laveste koncentration, hvor et konkret stof med stor sikkerhed kan påvises i en prøve. Detektionsgrænsen for et givet stof afhænger af den valgte analysemetode.

Non-target-analyser beskriver en helt anderledes tilgang til analysen. **Uden at vælge, hvilke konkrete stoffer der skal måles for, sigter non-target-analyser mod at registrere alt, hvad der kommer ind til detektoren i analyseapparatet.** I første omgang bliver signalerne fra stofferne ikke navngivet, eller associeret til et specifikt stof som ved en almindelig target-analyse, men bliver blot registreret som såkaldte features. Først i den efterfølgende databehandling bliver der dykket ned i resultaterne, og features bliver navngivet i en ret kompleks og tidskrævende proces.

Forskellen mellem target og non-target-analyserne kan illustreres med frugtkurve (**Figur 1**). Ved brug af den traditionelle metode, er udgangspunktet, at der udvælges nogle specifikke stoffer, som der ønskes bestemt, om de findes i prøven og i hvilken koncentration. Når prøven analyseres, sættes massespektrometret til at filtrere alt andet end de udvalgte stoffer fra. I eksemplet med frugtkurven kan det sammenlignes med at lede efter alle æbler og kirsebær og derved kan man finde mængden af æbler og kirsebær i kurven, mens man ikke kan se de resterende frugter og bær, selvom de også ligger i kurven. Ved non-target-analyser filtreres der derimod ikke for et bestemt stof, men alt, der kommer igennem til detektoren i analyseapparatet, registreres. Det er symboliseret på **Figur 1** ved at alle frugter og bær i kurven findes, men i første omgang dog kun, hvad der ligger i kurven, og ikke hvor mange.



Figur 1 Principper for den traditionelle target-analyse og non-target-analyser forklaret med en frugtkurv-model til sammenligning. Bemærk, at ved at gå fra traditionel target-analyse til non-target-analyse, går man fra at vide, hvor meget af en bestemt slags stoffer, der er i prøven, til at vide hvilken slags stoffer, der befinder sig i prøven, men ikke hvor meget.

3.2 Databehandling af non-target-data – target, suspect og non-target-screening

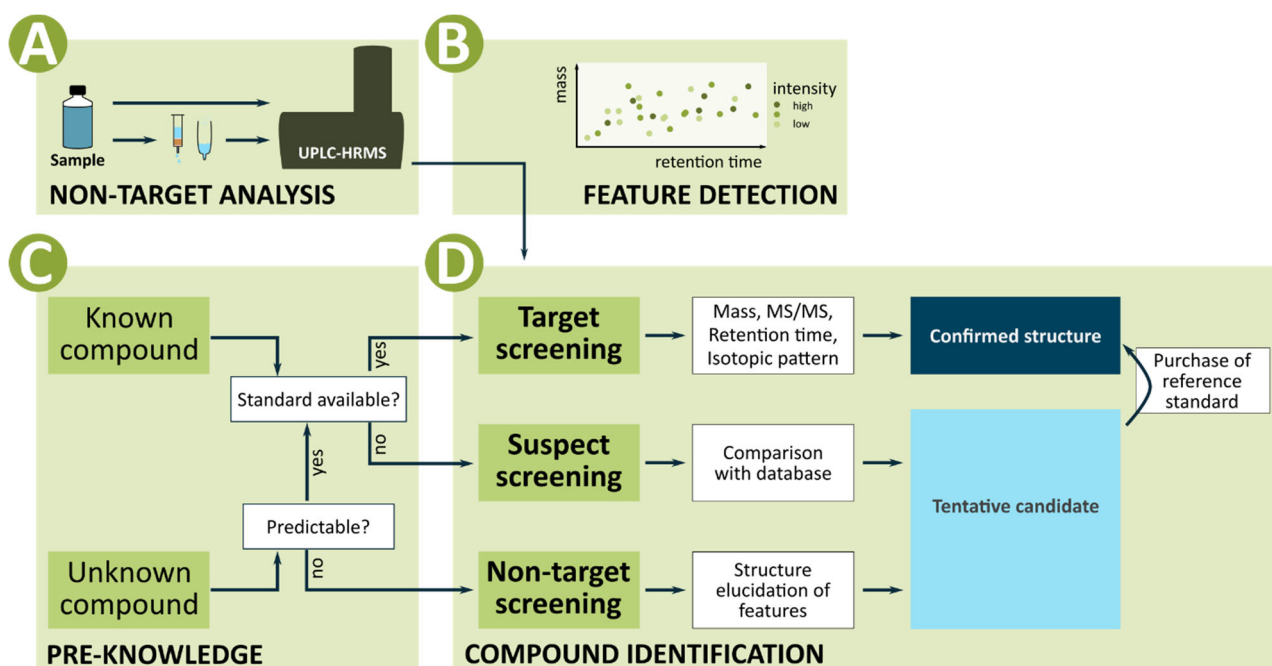
Efter den kemiske non-target-analyse er det første trin i databehandling den såkaldt feature detektion (**Figur 2**). En feature beskriver en top i datasættet, som kan beskrives med en unik kombination af nøjagtig masse og retentionstiden fra kromatografien. En eller flere features beskriver derfor tilstedeværelse af et uidentificeret stof. Der er forskellige indgangsvinkler til at identificere stoffer og dermed navngive de fundne features i non-target-data, alt afhængig af den forudgående viden og de spørgsmål, som ønskes besvaret: Er der fx en forventning, om at bestemte stoffer forekommer i prøven? Er der en kemisk standard til rådighed? Er der nogle mønstre i datasættet, der udskiller sig?

Hvis der for et givent kemisk stof findes en tilgængelig kemisk standard, kan den bruges til at bekræfte et fund i non-target-data ved at analysere standarden (verificering). Når der anvendes kemiske standarder på et analyseapparat, der kan udføre non-target-screening, vil man ofte tale om **target-screening**, hvor man ikke alene får verificeret et fund, men også opnår en koncentration af stoffet – ofte dog ikke lige så præcist som ved en traditionel optimeret metode, den såkaldte **target-analyse**. For at kunne agere bedst muligt på analyseresultaterne, vil en decideret target-analyse være at foretrække fremfor et target-screeningresultat. Det anbefales derfor at få lavet kvantitative target-analyser, hvis viden om koncentrationer er væsentligt i den konkrete undersøgelse. Target-analyser vil typisk blive gennemført efter en verificering i en target-screening.

Den store fordel ved non-target-screening er muligheden for at undersøge tilstedeværelsen af stoffer, hvor man ikke har en kemisk standard til rådighed. Ved ren **non-target-screening** trækkes information ud af data fra den kemiske analyse, helt uden foregående viden om hvilke stoffer, der kunne optræde i prøven. Baseret på et konkret spørgsmål kan forskellige prøver sammenlignes med hinanden med henblik på at afdække forskelle og ligheder i datasæt (featurelisterne) – ofte kaldet det kemiske fingeraftryk. Her kunne det fx være formålet at finde mønstre, fx en trend over tid eller en rumlig fordeling. Disse analyser kan danne baggrund for at prioritere hvilke features, der skal identificeres og endeligt verificeres med en kemisk standard. Prioritering af hvilke features, der skal fokuseres på i et non-target-datasæt er den helt store udfordring, og netop her er det afgørende, hvilke meget konkrete spørgsmål, der stilles til undersøgelsen. Ren non-target-screening er den mest åbne tilgang til databehandling af de kemiske analysedata og kan afsløre tilstedeværelsen af nogle helt nye og hidtil ukendte stoffer i en vandprøve. Ren non-target-screening er dog også den mest omfattende og mest tidskrævende tilgang.

Et mellemniveau er såkaldt **suspect-screening**. Her undersøges tilstedeværelsen af stoffer, som der er mistanke om, findes i prøven, men, hvor der ikke er en kemisk standard til rådighed. Disse stoffer kan samles på en såkaldt suspectliste. Når suspectlisten sammenlignes med data fra non-target-analysen, ledes der efter de af de tidligere omtalte features, der passer til stofferne på listen. Ved en dybdegående undersøgelse (fx sammenligningen med spektrum fra en database) opnås der en større og større sikkerhed for om identiteten af de fundne 'suspects' er korrekte eller ej. Opsætning af suspectlisterne er derfor et vigtigt og meget værdifuldt grundlag for screeningen. På hjemmesiden for NORMAN-netværket (Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances) findes der en række eksempler på suspectlister fra diverse forskningsprojekter (www.norman-network.net). Disse kan anvendes som inspiration til at oprette egne lokale suspectlister. Det anbefales dog at gennemgå listen nøje og begrænse listen til stoffer, hvor der er en stor forventning til, at stofferne findes i prøven. Dette skyldes, at der potentielt er en stor chance for, at der er et match på en feature, når der er mange stoffer på listen. Jo større viden, der foreligger om, hvorvidt stoffet potentielt kan findes i prøven, desto større chance er der for, at et match kan bekræftes i den videre undersøgelse. Endeligt bekræftet er et stof dog først ved hjælp af en kemisk standard.

En af de store fordele ved non-target-analyserne er, at rådata og featurelisten, der blev genereret ved featuredetektion, kan gemmes til såkaldt **retrospektiv analyse**. Det betyder, at data kan genbesøges og fx processeres med en ny suspectliste, hvis der opstår kendskab til nye stoffer. Ved en retrospektiv analyse kan det derfor undersøges om et "nyt" stof allerede har været til stede på en given lokalitet tidligere. Derfor er det meget vigtigt at gemme både rådata og featurelister til videre undersøgelser.

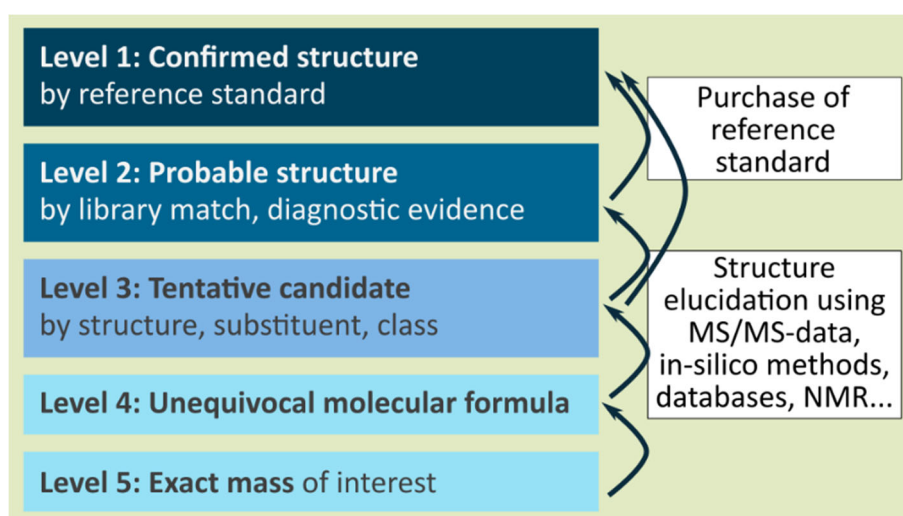


Figur 2 Non-target-workflow: (A) Non-target-analyse (kemisk analyse trin 1-4 med højtopløseligt massespektrometer jf. kapitel 3.4); (B) Første trin i databehandling: detektion af alle features (toppe med unik kombination af retentionstid og masse) i datasættet; (C) Foregående viden som afgør, hvor databehandling begyndes, dette trin bestemmes desuden af de konkrete spørgsmål der ønskes afklaret med analysen; (D) Identificering af stoffer via target, suspect eller non-target-screening. Både suspect og non-target-screening ender med tentative identificeringer, der skal verificeres med en kemisk standard (se kapitel 3.3).

3.3 Sikkerhedsniveau af stofidentifikation

Som det fremgår af ovenstående afsnit, kan identifikationen af et stof i forbindelse med suspect og non-target-screening ske med større eller mindre sikkerhed, hvorfor der typisk tales om, at et stof er identificeret på et vist *sikkerhedsniveau*. **Figur 3** viser én af de mest udbredte anvendte definitioner af sikkerhedsniveauer, der blev indført af Schymanski mfl. i 2014. Her defineres det højeste sikkerhedsniveau som "Level 1", hvor identiteten af et fundet stof er bekræftet med en kemisk standard, som også er analyseret med den pågældende metode og i det samme laboratorium. "Level 2" beskriver et niveau, hvor der er stor sikkerhed i forhold til at have identificeret det korrekte stof, men hvor identifikationen er baseret på sammenligning med informationer fra fx eksterne databaser, men hvor den endegyldige bekræftelse med en kemisk standard på eget laboratorium ikke er foretaget. På "Level 3" og "Level 4" stiger usikkerheden i forhold til at kunne omsætte en feature i analysen til information om et konkret stof. "Level 5" beskriver en feature hvor man kun kender masse og retentionstid, men ikke har yderligere informationer om stoffets identitet. Videre undersøgelser, nyopstået viden eller brugen af in-silico metoder (forudsigelse baseret på den kemiske struktur), kan føre til at stoffer, der først blev identificeret på et lavt niveau, kan identificeres med højere og højere sikkerhed. Denne yderligere strukturoplæring er vist med pilene fra de lavere til de højere sikkerhedsniveauer i **Figur 3** til højre.

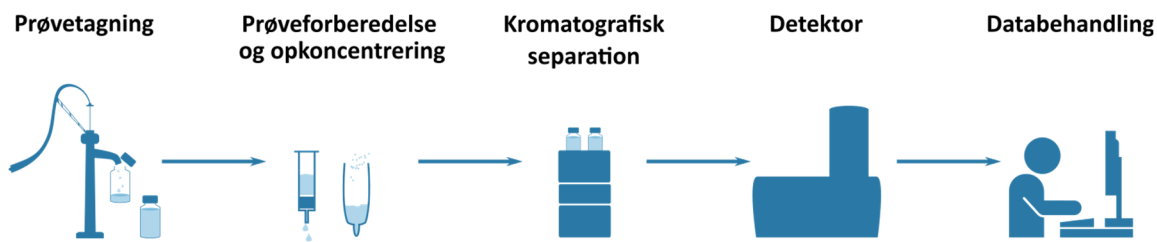
I kontekst af disse sikkerhedsniveauer bør det tilstræbes at verificere et stof på "Level 1", før der iværksættes konkrete indsatser målrettet over for et bestemt stof, da der uden identifikation på "Level 1" altid vil være en usikkerhed i forhold til, om det er det korrekte stof, der er blevet identificeret i databehandlingen – selv på "Level 2". En prioritering af stofferne, der er identificeret på "Level 2" eller "Level 3", kan imidlertid være en stor hjælp for det opfølgende analysearbejde, hvis flere af de mindre sikkert identificerede stoffer ønskes verificeret på "Level 1". Dette bl.a. for at sikre, at der ikke nødvendigvis skal skaffes kemiske standarder til verificering af alle fundne stoffer, men alene til de stoffer, der prioriteres højt, da det kan være meget dyrt at fremskaffe en standard, og i nogle tilfælde slet ikke er muligt. Der findes i dag ikke almindeligt anvendte metoder til at foretage en sådan prioritering, men der forskes i at udvikle metoder til bl.a. dette formål. Hvordan der skal prioriteres mellem de stoffer, der identificeres på lavere sikkerhedsniveau end "Level 1", vil derfor i øjeblikket skulle besluttes fra sag til sag.



Figur 3 Niveauer af sikkerhed for korrekt identifikation af de påviste stoffer (level of confidence). Her med de fem hyppigst anvendte niveauer som defineret af Schymanski mfl. (2014). I løbet af en tidskrævende proces, kan stofferne identificeres på højere niveau og endegyldigt verificeres ved brug af en kemisk standard.

3.4 Forudsætning for non-target-screening: En meget nøjagtig massebestemmelse

Uanset om der foretages target eller non-target-analyse af en grundvands- eller drikkevandsprøve, består processen af flere trin (**Figur 4**), inden det endelige resultat opnås: 1. prøvetagning, 2. prøveforberedelse og opkoncentrering, 3. kromatografisk fokusering og separering af stoffer, 4. detektion med et massespektrometer, og 5. databehandling.

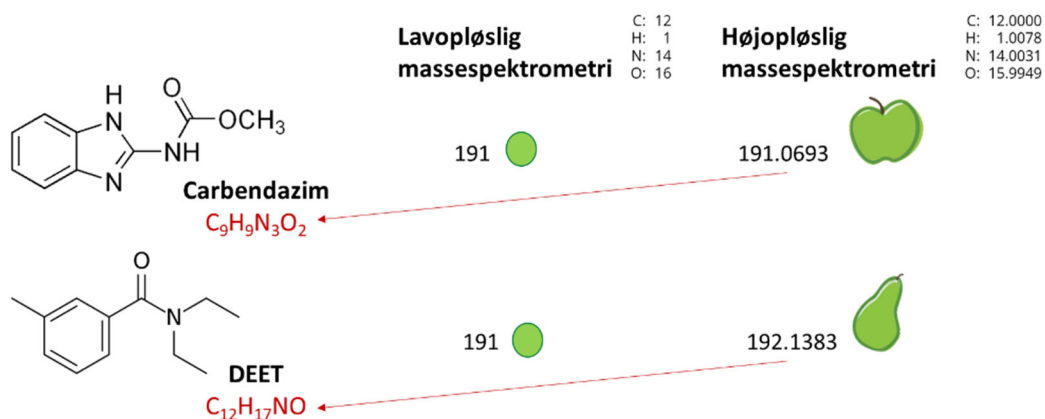


Figur 4 Den kemiske analyse af en grundvandsprøve er baseret på flere forskellige trin, der hver især har betydning for kvaliteten af det endelige resultat.

Forudsætningen for, at det i dag er muligt at anvende non-target-screening metoder, er, at der er sket en betydelig forbedring af de massespektrometre, der bruges som detektor i den kemiske analyse. Et moderne massespektrometer kan måle massen af et molekyle meget mere nøjagtigt end tidligere og bliver derfor kaldt for et højopløseligt massespektrometer (HRMS). Helt basalt kan det sammenlignes med, at man vejer en genstand på en ny vægt, som sammenlignet med den traditionelle vægt er meget mere følsom, og derfor angiver vægten med flere betydende cifre.

Figur 5 viser et eksempel på de forskellige resultater, der opnås ved at anvende forskellige typer af massespektrometre med forskellig nøjagtighed til analyse af de to pesticider Carbendazim og DEET. Når de to stoffer måles med den traditionelle type massespektrometre med lav opløselighed, vil de begge have molekylemassen 191. Selvom molekylet har en forskellig kemisk formel og struktur, så ser det ud til at begge molekylet vejer det samme, når molekylet vægt kun kan bestemmes med tre betydende cifre. Derfor er det umuligt at skelne imellem de to stoffer ved den traditionelle analyse bare baseret på molekylmassen.

Figur 5 viser også, at først når der anvendes de nye, meget mere præcise massespektrometre med høj opløselighed (nøjagtighed på massen), kan der alene på stoffernes masse ses forskel på de to stoffer, fordi den forskellige masse på de to stoffer rent faktisk kan erkendes, når der indgår flere betydende cifre i analyseresultatet.



Figur 5 Forskellen mellem lav- og højopløselig massespektrometri: På de traditionelle instrumenter med lav opløselighed har de to stoffer samme masse (grønne pletter), mens de på de nye massespektrometre med høj opløselighed kan adskilles, idet masserne er forskellige (grønne æbler og pærer) og deres kemiske formel kan fastlægges.

Ud fra den nøjagtige masse kan der formuleres en kemisk formel, som angiver det bedste bud på kombinationen af forskellige atomer. Ved inddragelse af et såkaldt MS/MS- eller MS²-spektrum, som viser fragmenteringsmønstret når molekylet slås i stykker i analyseapparatet, er det yderlige muligt at opklarer strukturen og dermed hvilket stof, der passer til en detekteret feature.

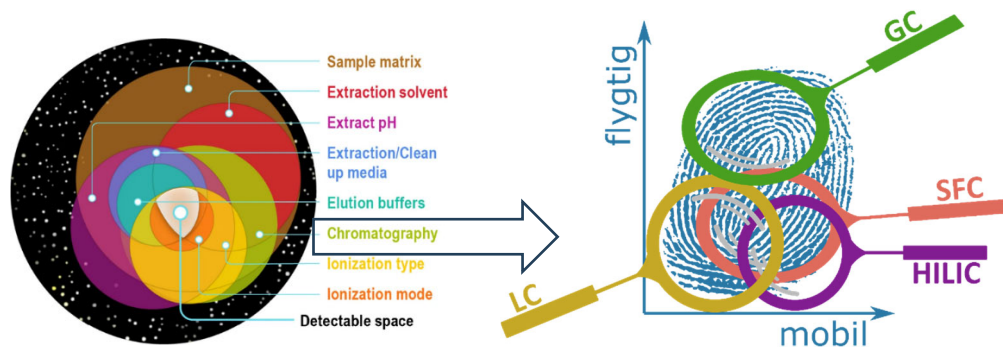
Det er netop den meget høje masse-nøjagtighed, der muliggør, at det ikke er nødvendigt på forhånd at udvælge, hvilke stoffer analysen skal omfatte, og at der efter analysen kan laves en detaljeret databehandling med det formål at finde ud af, hvilke stoffer der findes i prøven. Det er dog væsentligt at huske på, at de indledende trin før den egentlige detektion i massespektrometret, dvs. prøvetagning, prøveforberedelse/opkoncentrering og kromatografi før stofferne i prøven rammer detektoren i massespektrometret stadig er underlagt de samme principper og dermed faglige udfordringer og fejlkilder, som det kendes fra traditionelle target-analyser.

3.5 Det kemiske rum – der findes ikke én metode til at afdække alle stoffer

I de traditionelle target-analyser foretages der typisk en optimering af metoden for hvert enkelt stof. Her kan det være, at fem forskellige stoffer bliver analyseret med fem forskellige analysemetoder, som hver især er optimeret til hvert af stofferne. **Ved non-target-analyser er metoden ikke optimeret til konkret udvalgte stoffer, men i stedet er metoden målrettet en gruppe af stoffer med lignende fysisk-kemiske egenskaber.** En sådan stofgruppe kan fx være en række stoffer, der er nogenlunde lige mobile i vandfasen eller på anden vis har fælles fysisk-kemiske egenskaber. Hvert trin i den kemiske analyse kan optimeres i forhold til disse egenskaber og dermed inkludere eller udelukke nogle typer stoffer. Det betyder, at ud fra det samlede kemiske rum (alle kemiske stoffer) har hvert trin indflydelse på hvilke stoffer, der ender i det detekterbare rum. **Figur 6** viser dette symbolsk for stoffer med forskellig flygtighed og mobilitet. Gaskromatografi (GC), væskechromatografi (LC), hydrofil-væskechromatografi (HILIC) og superkritisk-væskechromatografi (SFC) er forskellige kromatografiske teknikker, som på forskellig vis separerer stofferne i analyseapparatet, før de når frem til detektoren.

Det betyder, **at afhængigt af hvilken metode, der vælges, så vil nogle stoffer detekteres, mens andre vil blive udelukket og aldrig nå frem til detektoren**, hvilket resulterer i, at man kan se forskellige delmængder af stoffer i en prøve med de forskellige teknikker. Det vigtigste budskab her er, **at en bestemt non-target-analysemetode grundlæggende skal opfattes som et kompromis mellem at afdække så stort et område af det kemiske rum som muligt, samtidig med at metoden er sensitiv nok til at detektere de enkelte stoffer i så lave koncentrationer som muligt.**

Laboratoriet er derfor ofte nødt til at vælge en kombination af forskellige non-target-metoder, hvis man skal kunne afdække en meget stor del af det kemiske rum. Ofte er dette dog ikke nødvendigt, da der i mange tilfælde vil være muligheder for, at en konkret analyse kan begrænses til et område af det kemiske rum ud fra en forventning om hvilke typer stoffer, der forventes i prøven, eller som har størst betydning for den specifikke undersøgelse.



Figur 6 Det kemiske rum. Der findes ikke én metode, der kan dække alle tænkelige stoffer i verden på én gang. Man er derfor nødt til i forvejen at have nogle ideer om, hvilke typer af stoffer man vil analysere for, og man skal være klar over, at de enkelte metoder hver især kun dækker en gruppe af stoffer med samme fysisk-kemiske egenskaber, hvilket også kaldes, at de ligger i den samme del af det totale kemiske rum. GC, LC, SFC, HILIC står for forskellige kromatografiske analyseplatforme, der hjælper med at vælge de stoffer til, som detektoren skal måle på. Adapteret fra Black mfl. (2022) og en figur fra Jan H. Christensen, KU.

Det, at man ved en non-target-analyse ønsker at afdække så stor en del af det kemiske rum som muligt, er netop den væsentligste grund til, at der sjældent opnås de samme detektionsgrænser som i deciderede target-analyser, som gennem justering af en række tekniske analyseparametre, hver især er optimerede til ét bestemt stof (jf. også afsnit 3.1 ovenfor).

3.6 Verificering af metoden – sammenligning med target-resultater og blindprøver

For at vurdere, hvilket kemisk rum, der dækkes af en konkret metode, og hvor sikker man kan være på sine fund, er det en god idé at sammenligne resultaterne fra non-target-analysen med resultater fra traditionelle target-analyser, der er udført på samme tidspunkt for samme prøve. På denne måde kan det vurderes, om de stoffer, der er relevante for en konkret undersøgelse i rimelig grad afdækkes af metoden, ligesom det også er muligt at vurdere, hvorvidt metoden giver anledning til "falsk" detektion af stoffer, der ikke er i prøven. Dette er særligt væsentligt i forhold til at vurdere, i hvilket omfang det er muligt at stole på fund af stoffer, der er identificeret på "Level 2" eller "Level 3", da identifikationen af disse er meget afhængig af databehandlingen og derfor af den person, som har identificeret stofferne. For at undgå, at der er for få fund til at evaluere resultaterne, er det en fordel at sende en **kontrolprøve** med nogle tilsatte kendte stoffer med en kendt koncentration (gerne mange) til laboratoriet sammen med sine ukendte prøver. Stofferne i kontrolprøven skal helst repræsentere de typer af stoffer, der forventes i prøven, og de skal derfor have de fysisk-kemiske egenskaber, som kendetegner det kemiske rum, der forventes dækket af non-target-analysen.

Fejl! Et bogmærke kan ikke henvise til sig selv. Stoffer, der identificeres i non-target-metoden, men som ikke påvises i target-analysen bliver kaldt *falsk positive*. Dette kan både skyldes forurening af prøven, eller at stoffet er fejlagtigt identificeret i fortolkningen af de observerede features i non-target-analysen.

viser, hvordan man kan vurdere kvaliteten af et analyseresultat og især vurdere, om der er tale om såkaldt falske positive fund eller falske negative fund. I eksemplet er stofferne undersøgt med såvel target som non-target-analyser, og der er i non-target-analysen foretaget en suspect-screening, inklusiv en kørsel af en kontrolprøve, som har muliggjort identifikation af stoffer på et sikkerhedsniveau mellem "Level 1" og "Level 3". Hvis begge metoder kommer til det samme resultat, så omtaler man det som *korrekt positiv* (fund) og *korrekt negativ* (ikke-fund). Når et stof findes ved target-analyser, men ikke identificeres med en non-target-metode, så omtales disse som *en falsk negativ* i non-target-analysen. Årsagen til falske negativer kan være, at den anvendte non-target-metode ikke dækker det kemiske rum, der skal afdækkes for at "fange" netop dette stof, eller at detektionsgrænsen i non-target-analysen er for høj, og stoffet derfor ikke påvises ved den givne koncentration i prøven. Stoffer, der identificeres i non-target-metoden, men som ikke påvises i target-analysen bliver kaldt *falsk positiv*. Dette kan både skyldes forurening af prøven, eller at stoffet er fejlagtigt identificeret i fortolkningen af de observerede features i non-target-analysen.

Tabel 1 Vurdering af analysekvalitet: Forklaring af begreberne falske positive og negative resultater og korrekte positive og negative resultater

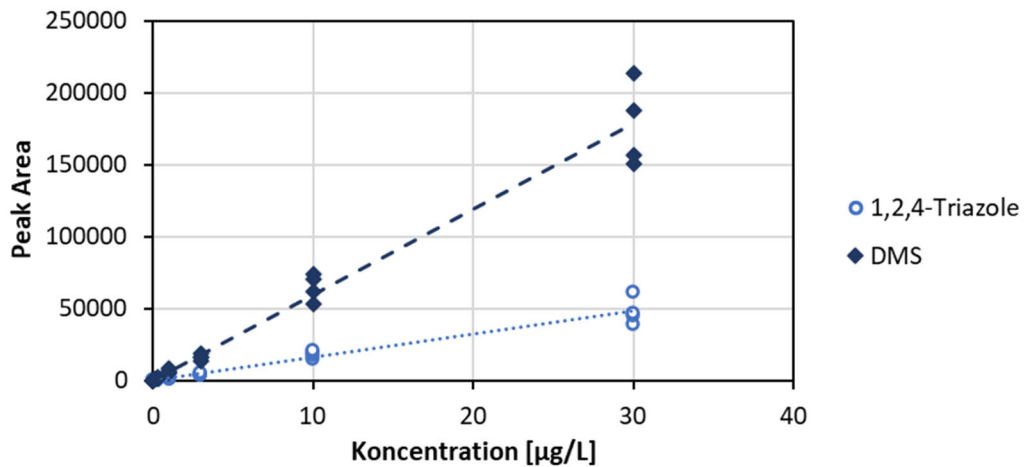
Analyseret med target-metode?	Ved suspect-screening: Stof har været på suspectlisten?	Fundet og kvantificeret med target-analysen?	Identificeret med non-target-metoden (Level 1-3)	Evaluering
ja	ja	ja	ja	korrekt positiv
ja	ja	ja	nej	falsk negativ
ja	ja	nej	ja	falsk positiv
ja	ja	nej	nej	korrekt negativ

For at begrænse omfanget af de falske resultater anvendes **blindprøver**. Blindprøver simulerer en prøve og indgår i analysen på lige fod med alle andre prøver, men udgøres i stedet af oprenset helt rent vand. Det er bedst at medtage feltblindprøver, (også kaldet fletblanke), som bliver inddraget allerede ved prøvetagningen og dermed dækker hele processen fra prøvetagning til analyse. Inddragelse af blindprøver kan særligt minimere antallet af falske positive i non-target-analysen, da alle stoffer, der findes i blindprøverne kan udelukkes som fund i de reelle prøver. Derudover kan der laves en trippelbestemmelse (replikater) af prøven, enten allerede ved prøvetagning eller som minimum ved at splitte prøven i laboratoriet før prøveforberedelse og analyse. Ved at sætte krav om, at et stof skal findes i alle replikater, kan antallet af falske positive minimeres.

3.7 Koncentrationsbestemmelse uden standarder

Når en målrettet target-analyse optimeres og valideres, optimeres den til at være meget præcis og meget nøjagtigt. Nøjagtighed beskriver, om den målte koncentration er den korrekte koncentration, mens præcision beskriver spredning, når den samme prøve bliver analyseret gentagne gange med den samme analysemetode. Dette kan dog ikke gøres på samme måde ved

non-target-screeninger. Uden en kemisk standard er det ikke lige til at kvantificere et (ukendt) stof.



Figur 7 Sammenligning af kalibreringskurver fra 1,2,4-Triazol og DMS. Det er meget tydeligt, at DMS fremkalder et større signal fra detektoren, selvom koncentrationerne er de samme. Kalibreringen hjælper os således med at fastlægge nøjagtigheden. Spredningen omkring de gentagne prøver med samme koncentration, hjælper med at fastlægge præcisionen.

Årsagen er, at signalet fra analyseapparatet ikke er direkte koblet til en bestemt koncentration for alle de stoffer, der undersøges, og derfor har man brug for at anvende en kemisk standard, for at kunne kvantificere stofferne nøjagtigt. Signalet fra analyseapparatet er ofte angivet som *Peak Area* (også kaldet top) for det signal, som stofferne giver anledning til, når de rammer detektoren. Det er værd at bemærke, at nogle stoffer giver et højt signal (stort *Peak Area*), andre stoffer et lavere signal ved den samme koncentration i prøven. **Figur 7** viser fx to kalibreringskurver for 1,2,4-Triazol og DMS. Det ses meget tydeligt, at DMS fremkalder et langt større signal (*Peak Area*) end 1,2,4-Triazol, selvom koncentrationerne er de samme. Det betyder, at uden en standard for både 1,2,4-Triazol og DMS, er det ikke muligt direkte at oversætte signalet til en koncentration. Hvilket også betyder, at hvis der ikke er nogen kalibrering overfor en standard med kendt koncentration, er nøjagtigheden af analysen ukendt, uanset hvor præcist analysen er udført.

Den aktuelle forskning er i gang med at udvikle modeller, som kan forudsige koncentrationen på baggrund af den kemiske struktur. Der findes nogle mindre kommercielle løsninger (fx Quantem Analytics, Tartu, Estonia, www.quantem.co) eller nogle mere omfattende løsninger (Tisler mfl., 2024). Udviklingen sker meget hurtig, og modellerne bliver bedre og bedre. Man skal dog fortsat være meget forsigtig ved anvendelse af disse resultater. Der er stadig store usikkerheder forbundet med disse modeller. Det gælder især, når modellen ikke direkte er udviklet og afprøvet til den valgte analysemetode. Resultaterne kan derfor give en falsk tryghed. Og så skal det nævnes, at det selvfølgelig også afhænger af, at identifikationen af et stof er korrekt.

Sammenfatning af de vigtige aspekter af non-target-screening

- ✓ Non-target-screening (NTS) beskriver en kemiske analysemetode, hvor der ikke vælges et bestemt stof, et target, ud i forvejen – en kompleks databehandling giver mulighed for at identificere stofferne i prøven efterfølgende, også på et langt senere tidspunkt (retrospektiv analyse).
- ✓ Suspect-screening er en underklasse i databehandlingen, hvor der undersøges, om et bestemt stof forekommer i prøven – dog uden at det er nødvendigt at have en kemisk standard for stoffet.
- ✓ NTS bygger på en videreudvikling af massespektrometre, som kan måle molekylers masse med en meget høj nøjagtighed – de øvrige trin i den kemiske analyse (såsom prøveforberedelse, kromatografi, osv.) er stadigvæk afgørende for, hvilke stoffer der bliver "fanget" i metoden, og dermed kommer frem til detektoren (massespektrometret).
- ✓ Der findes ikke én metode, der afdækker hele det kemiske fingeraftryk af en prøve – hvert trin i den kemiske analyse inkluderer/udelukker nogle typer af stoffer, og den endelige metode afdækker dermed kun en delmængde af det totale kemiske rum.
- ✓ Identificering af et stof bliver angivet med et sikkerhedsniveau – så længe et stof ikke er verificeret med en kemisk standard, så er der altid en vis usikkerhed forbundet med identificeringen. Sikkerhedsniveauet bliver ofte angivet efter Schymanski-skalaen med Level 1-5, hvor "Level 1" betyder "valideret med en kemisk standard". Identificering af stoffer i NTS er delvist baseret på manuelle vurderinger, og er dermed meget afhængig af den person, der udfører vurderingen.
- ✓ Koncentrationsbestemmelse af stoffer uden kemiske standarder bygger på forudsigelsesmodeller baseret på den kemiske struktur. Denne type af koncentrationsbestemmelse kaldes ofte "semikvantificering" og har væsentligt større usikkerhed end koncentrationsbestemmelser baseret på anvendelsen af kemiske standarder - og er yderligere afhængig af, at identificeringen af stoffet er korrekt.

4. Eksempler på anvendelsen af non-target-screening

I dette kapitel præsenteres udvalgte eksempler på non-target-screening, der illustrerer potentialet – men også faldgruberne – ved at anvende non-target-screeninger i grundvands- og drikkevandssammenhæng. Non-target-screening byder på mange fordele, i forhold til de traditionelle target-analyser. Vi har nu en metode til rådighed, der kan identificere nye (hidtil ukendte) kemiske stoffer, uden at det er nødvendigt at have en kemisk standard i forvejen, og tilmed behøver vi i nogle tilfælde ikke engang at have forhåndsviden om, at stoffet findes i prøven, der skal analyseres. Metoden er i dag stadigvæk under udvikling, og interessenter inden for grundvands- og drikkevandssektoren er i øjeblikket ved at finde ud af, hvordan denne nye type af data bedst muligt kan anvendes inden for dette område. I dette kapitel gives et indblik i nogle af mulighederne gennem en række konkrete cases, hvor metoden har været anvendt.

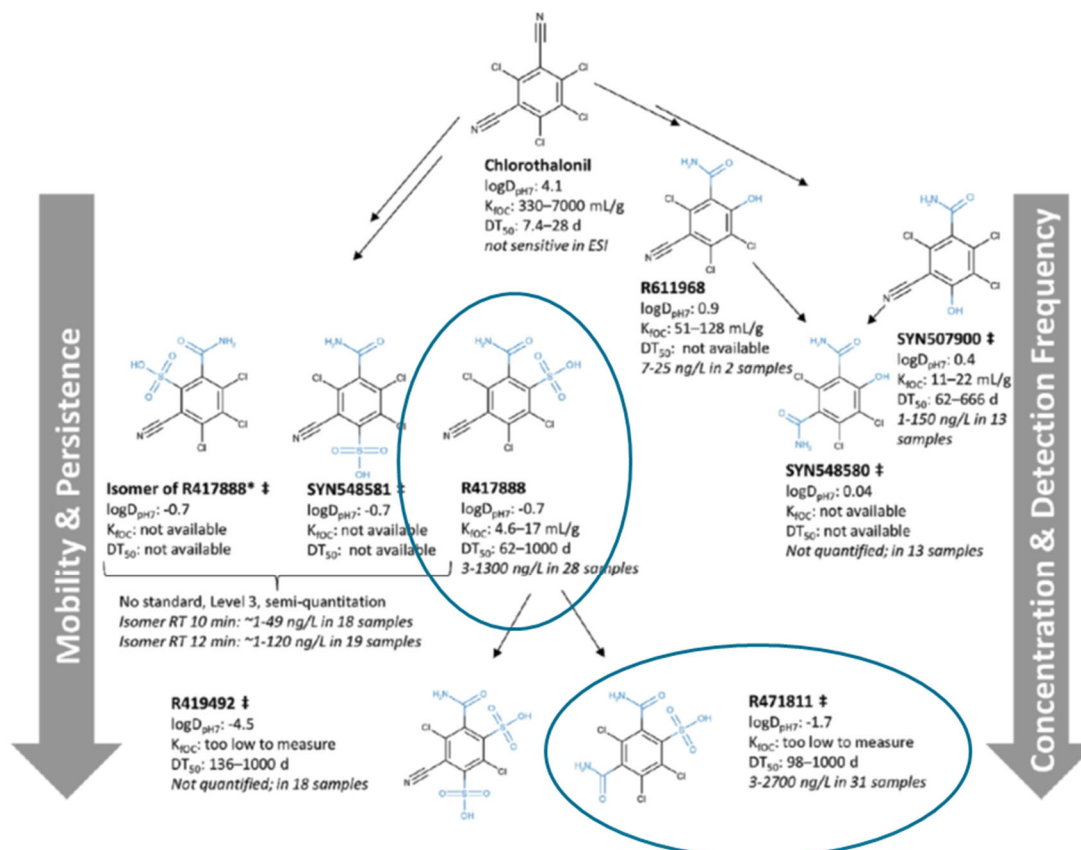
4.1 Suspect-screening – et eksempel fra Schweiz

Et af de første og væsentligste eksempler på brugen af suspect-screening i grundvand kommer fra det schweiziske vandforskningsinstitut EAWAG (Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology), som førte til fund af R471811 og øvrige chlorothalonil metabolitter i grundvandet (Kiefer *mf.*, 2019) – stoffer, som også har vist sig at være vidt udbredte i Danmark, efter stofferne blev inkluderet i analyseprogrammet for boringskontrollen (Bilag 2 i drikkevandsbekendtgørelsen) og Grundvandsovervågningen (GRUMO) (Thorling *mfl.*, 2024).

De schweiziske forskere udarbejdede en suspectliste over, hvilke pesticider, der havde været brugt i Schweiz. Listen inkluderede også alle de nedbrydningsprodukter fra pesticiderne, der fremgår af de evalueringsrapporter for pesticider, som den europæiske fødevarestyrelse EFSA står for. Ud af de 396 pesticider og deres 1.120 nedbrydningsprodukter, havde forskerne 236 kemiske standarder til rådighed, svarende til næsten halvdelen af pesticiderne (aktivstoffer) og 6 % af nedbrydningsprodukterne. Dermed var der mulighed for at lave traditionelle target-analyser parallelt med suspect-screeningen. I 31 grundvandsprøver blev 22 nye stoffer identificeret, heraf 13 nedbrydningsprodukter, for allerførste gang. Efterfølgende blev de kemiske standarder for de nye stoffer anskaffet, og kvantificering af stofferne blev mulig. Resultatet viste, at en del af disse nye stoffer forekom i betydeligt højere koncentrationer, end de stoffer schweizerne i forvejen analyserede for. Som eksempel kan nævnes to nedbrydningsprodukter af chlorothalonil, R417888 og R471811. I dette tilfælde var R417888 allerede kendt og på overvågningslisterne, men det nyopdagede R471811 blev fundet både oftere og i meget højere koncentrationer. Vi ved nu, at det samme er tilfældet i Danmark, hvor R471811 er et af de stoffer med højest fundprocent og overskridelse af kravværdien i den nationale overvågning af grundvandet.

Som eksemplet illustrerer, så er suspect-screeningen ideel til at undersøge forekomsten af stoffer, som der forventes at være en vis sandsynlighed for at finde i en prøve (fx fordi de er blevet påvist i nedbrydningsstudier i et laboratorium), men hvor der mangler kemiske standarder (fx fordi det er vanskelige at skaffe til en overkommelig pris). Suspect-screeningen giver således mulighed for på grundlag af en bred screening at udvælge stoffer til efterfølgende target-

analyser og dermed begrænse udgifterne til de dyre kemiske standarder. Det er i denne sammenhæng væsentligt at bemærke, at det, at et givet stof ikke er fundet i suspect-screeningen, ikke nødvendigvis betyder, at stoffet ikke fandtes i den analyserede prøve. Det kan være fordi, den anvendte metode ikke er egnet til at fange et givent stof (se afsnit om kemisk rum i kapitel 3), eller at detektionsgrænserne er for høje til at detektere stoffet i den givne prøve. Når der, som i eksemplet, udelukkende udføres suspect-screening, så vil der heller ikke identificeres andre stoffer i prøven, end dem der er på listen, idet det alene er stoffer på suspectlisten, som der undersøges for.



Figur 8 Non-target-analyse og suspect-screening førte til nye fund af chlorothalonil metabolitterne i schweizisk grundvand (studie fra Kiefer *mf.*, 2019) – de to blå markerede stoffer viser henholdsvis R417888, som har været inkluderet i overvågningsstudier som GRUMO, og den nyligt identificerede metabolit R471811, som for første gang blev fundet i grundvand i dette studie. Både koncentrationer og fundprocenter var betydeligt højere end for R417888.

4.2 Suspect og non-target-screening – et eksempel fra Danmark: GRUMO

I 2022/2023 gennemførte forskere fra Aarhus Universitet en suspect og non-target-screening af dansk grundvand (GRUMO-boringer, 81 indtag) for Miljøstyrelsen (Hansen *mfl.*, 2023). Screeningen skulle i første gang omfatte en suspect-screening for 1.366 stoffer fra den såkaldte bruttoliste, som dermed var relevante ift. grundvandsovervågning. Mange af stofferne havde været analyseret tidligere med en målrettet targetanalyse, men 751 af stofferne havde der ikke

tidligere været analyseret for, da der ikke fandtes kommercielle analysemetoder for dem. Der blev anvendt tre forskellige analyseplatforme, som tilsammen dækkede et bredt kemisk rum mht. flygtighed og polaritet (LC-, GC- og IC-HRMS). Afgrænsning af metoden skete ved hjælp af kemiske standarder for 670 ud af de 1.366 "suspects": 73 % af stofferne kunne genfindes i spikede grundvandsprøver, mens 27 % af de tilgængelige stoffer ikke kunne genfindes i prøver, derunder fx DMS pga. en for høj detektionsgrænse, og 1,2,4-Triazol, som ikke fanges med metoden.

I alt 116 forskellige stoffer blev identificeret i GRUMO-prøverne ved hjælp af suspect-screeningen på hhv. Level 1 (36 stoffer, bekræftet med standard), Level 2 (37, sandsynlig struktur) og Level 3 (43, tentative struktur). Af de fundne stoffer blev langt de fleste identificeret med LC-HRMS, mens kun tre Level 1 stoffer blev detekteret med GC-HRMS. Efterfølgende blev der indkøbt kemiske standarder til en række stoffer, af dem, der var identificeret på Level 2. Det viste sig, at næsten to tredjedel af stofferne var tildelt forkert foreløbig/sandsynlig struktur. På den ene side viser det, at der er behov for at bekræfte identiteten af Level 2 stoffer, før disse kan give anledning til handling. På den anden side viser det også den store afhængighed af den person, der udfører arbejdet, da det stadig bygger på en overvejende manuel vurdering.

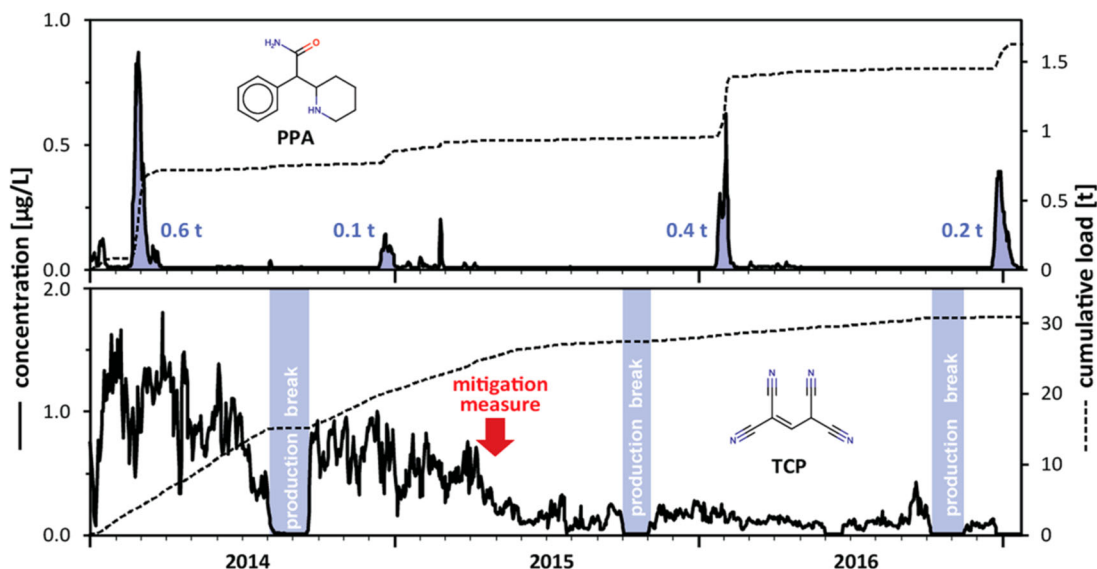
Samtidigt med udtagning af prøverne til suspect-/non-target-screeningen, blev der udtaget prøver til targetanalyse for pesticider, og resultaterne blev sammenlignet på tværs. I forhold til det kvantitative indhold af stofferne, viste resultaterne for Level 1 stoffer en høj korrelation mellem resultaterne fra kvantificering ved suspect-screeningen og target analyser. Korrelationen manglede for Level 2 stoffer, hvilket ikke er overraskende da korrekt stofidentifikation er udgangspunktet for en korrekt semikvantificering, og, som beskrevet ovenfor, stofidentiteterne viste sig at være forkerte i mange tilfælde. I hvilket omfang semikvantificering førte til nøjagtig kvantificering er svært at vurdere, da Level 1 stoffer overvejende blev kvantificeret ved en kalibreringsrække på det højtopløselige massespektrometer, og resultaterne dermed i dette tilfælde ikke kan bruges til at vurdere usikkerheden af semikvantificering.

I en efterfølgende non-target-screening af samme datasæt (Nanusha mfl., 2023) blev der fundet yderligere 118 stoffer, hvoraf 42 pesticider eller pesticid relaterede stoffer, 7 lægemidler og 2 industrikemikalier blev bekræftet med en kemisk standard (Level 1). De øvrige 76 stoffer havde et match med et spektrum fra en database (Level 2). De fleste af pesticidstofferne har tidligere været analyseret for i grundvandsovervågningen med målrettede target-metoder, men 6 af stofferne var nye fund. Der har ikke tidligere været analyseret for lægemidler i grundvand. Fundene demonstrerer styrken af non-target-screening i at afdække tilstedeværelsen af før oversete kemikalier og stofgrupper.

4.3 Løbende overvågning og early warning af forurening

Både det schweiziske EAWAG og det tyske sektorforskningsinstitut BFG (Tyske Føderale Institute for Hydrologi) har i flere årtier været meget aktive i udviklingen af non-target-screening-metoder til overvågning. Begge institutter er involveret i overvågning af Rhinen. BFG er den tyske myndighed, der overvåger de store vandveje i Tyskland (store floder og kanaler), mens EAWAG har understøttet de schweiziske myndigheder fx i Basel. Når daglige prøver analyseres over en lang periode med den samme non-target-metode (i dette tilfælde flere år), kan data

bruges til løbende overvågning. Tyskerne og schweizerne anvender denne tilgang sammen med en kompleks automatiseret softwarepakke, der kan finde trends eller enkelte features (toppe i kromatogrammerne), der pludselig falder udenfor det normale. Disse features kan så efterfølgende manuelt behandles og identificeres. To eksempler på fund af industrikemikalier ved anvendelse af denne type overvågning med non-target-screeninger er vist i **Figur 9** (Hollender mfl., 2017).



Figur 9 Resultater fra den daglige non-target-screening (LC-HRMS) i perioden mellem 2014 og 2016 på en Rhin-overvågningsstation ved Basel, CH. Eksemplet illustrerer, hvordan den daglige non-target-overvågning viste den pludselige tilstedeværelse af industrikemikaliet PPA (2-phenyl-2-(2-piperidinyl) acetamide) i korte perioder (øverste figur), mens der var tydelige sammenhænge mellem en kemikalieproducenters produktionsmønster og forekomsten af TCP (tetracarbonitrile-1-propene) i Rhin-vandet (nederste figur). TCP er et syntese-biprodukt.

Det første eksempel er PPA (2-phenyl-2-(2-piperidinyl)acetamide), der er et kemikalie, som bruges i syntesen af methylphenidate, bedre kendt som Ritalin. Efter den indledende identifikation af stoffet ved non-target-screening, fordi man havde set en tilbagevendende top for dette stof med meget høj detektorrespons, blev stoffets identitet endeligt bekræftet ved hjælp af en kemisk standard som værende PPA. Det andet eksempel på et stof, der blev identificeret i den delvist automatiserede schweiziske overvågning, er syntese-biproduktet TCP (tetracarbonitrile-1-propene). For dette stof fandt man, at variationerne i stoffets tilstedeværelse i Rhinen særligt var knyttet til pauser i synteseprocessen på fabrikken, der udledte spildevand til Rhinen. Dette gav meget tydelige fald i koncentrationen i uger med produktionsstop. Efter at stoffet var blevet identificeret, blev synteseprocessen på fabrikken optimeret, og de daglige analyser viste tydeligt effekten af tiltagene for at begrænse udledningerne. Pt. er myndighederne i Rhin-overvågningen gået sammen om at opbygge en mere ensartet overvågningsmetode, med standardiseret prøvetagning, prøveforberedelse og kemisk analyse. Med disse tiltag er det ønsket at øge sammenlignelighed og dataudveksling mellem de enkelte overvågningsstationer, der til dagligt pt. anvender hver deres egne metoder. Flere informationer findes under <https://www.iksr.org/de/iksr/rhein-2040/rhine-project-non-target-screening>.

Løbende overvågning med non-target screening kan således føre til at nogle helt ukendte stoffer kan blive identificeret: Uden nogen form for forudgående viden er det mønstrene i selve datasættet, der giver anledning til identificering af stoffer. Det kræver dog, at man over et langt tidsrum analyserer prøverne med den samme, meget stabile og præcise non-target-metode, da data fra forskellige analysetidspunkter sammenlignes.

4.4 Overvågning af renseprocesser

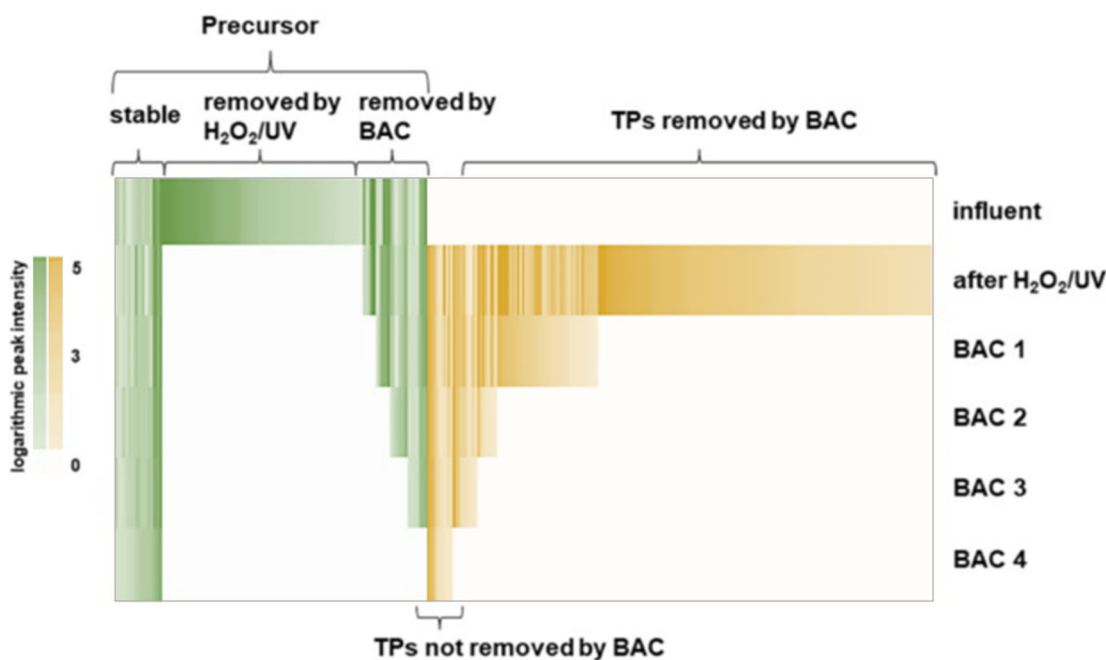
I dansk sammenhæng har non-target-screening vist sig at byde på nogle fordele under overvågning af vandrensingsprocesser på vandværker. Her kan der nævnes et studie fra Novafos i samarbejde med Københavns Universitet (Tisler mfl., 2022). I studiet blev vandværkets rensning af råvand (grundvand) ved hjælp avanceret oxidation (H_2O_2/UV) efterfulgt af fire kulfiltre (BAC) undersøgt. I stedet for at fokusere på udvalgte target-stoffer, eller stoffer på en suspectliste, som kunne give et fejlagtigt billede af processens renssevne, valgte Novafos at bruge non-target-screening. Styrken i denne tilgang er, at det, uden at man ved, hvilke stoffer der er i spil, er muligt at få en idé om, hvor mange features (toppe i kromatogrammet), der er stabile hen over hele renseprocessen, hvilke der bliver fjernet, og hvilke der bliver dannet i hvilke trin af renseprocessen.

Figur 10 viser resultaterne som et såkaldt "heatmap" – jo højere toppen af et detekteret stof er, desto mørkere bliver dens linje markeret i afbildningen. De enkelte lodrette rækker viser de enkelte trin i renseprocessen, dvs. den første række viser alle stoffer, der blev fundet allerede i råvandet (grøn), altså før renseprocessen. Næste række viser, at der dannes nye stoffer (gul) under vandbehandlingen samt hvilke af de oprindelige stoffer, der stadig er tilbage.

Det er meget tydeligt, at mange af de stoffer, der blev fundet i grundvandet, blev fjernet ved H_2O_2/UV -behandlingen, men også at der samtidig blev dannet endnu flere nedbrydningsprodukter (gul). I den sidste række vises de stoffer, der kom igennem hele processen. Her er der dels nogle, som ikke blev påvirket af vandbehandlingen (grøn, "stable precursors") og dels dem der blev dannet i H_2O_2/UV -behandlingen, men ikke efterfølgende blev fjernet af de fire BAC-filtre (gul, "TPs not removed by BAC").

Det er ved denne tilgang umuligt at identificere alle stoffer igennem hele processen, men det er heller ikke nødvendigt for at kunne vurdere ydeevnen af processen. Her kan man fokusere på dem, der er stabile og blev fundet i afgangsvandet. Det konkrete studie viste fx fund af melamin, TFMS (trifluoromethansulfonsyre) og benzothiazol-2-sulfonat i drikkevandet ved en nærmere analyse af de features, der "slap igennem" renseprocessen.

Til illustration af metodens begrænsning, skal det her bemærkes, at studiet i første omgang også skulle vise effekten af renseprocessen for DMS (*N,N*-dimethylsulfamide). Dette stof kunne dog ikke detekteres med de anvendte non-target-analysemetoder, hverken i råvandet eller senere, selv om target-analyser havde vist, at stoffet fandtes i råvandet (Tüchsen mfl., 2023).



Figur 10 Resultater fra non-target-screening af Novafos' renseproces af råvand med H₂O₂/UV-oxidation og efterfølgende fire BAC-filtre. Resultaterne er vist som et heatmap af 128 stoffer, der blev fundet allerede i råvandet (grøn) og 206 nedbrydningsprodukter der bliver dannet i oxidations-processen (gul). Jo mørkere den grønne eller gule farve, jo større er toppen af stoffet i kromatogrammet; hvide områder markerer, at stoffet var under detektionsgrænsen (modificeret fra Tisler mf., 2022).

Yderligere illustrerede studiet, at der med introduktionen af non-target-screeninger er opstået et behov for at vurdere, hvordan resultater fra sådanne screeninger formidles til den brede offentlighed. Særligt når der, som tilfældet var i dette studie, identificeres en række stoffer, der ikke tidligere har været påvist i drikkevand fra en vandforsyning. Pressemeddelelsen fra Københavns Universitet om dette studie førte således til, at en del bekymrede borgere i diverse kommuner rettede henvendelse til vandforsyningerne, fordi de var usikre på, om det kunne være sundhedsskadeligt at drikke vand, der indeholdt de i studiet nyligt erkendte miljøfremmede stoffer. Udfordringen var imidlertid, at dette kan være svært at svare på, da non-target-screeninger, som den der blev udført i det pågældende studie, i første omgang kun leverer en liste over funde stoffer i de analyserede vandprøver, men ikke giver en vurdering af koncentrationen af stofferne, hvilket er essentiel viden for at kunne vurdere eventuelle sundhedsrisici. Dette er en central problemstilling, der i vandforsyningskredse stadigvæk diskuteres, og som der ikke er fundet en entydig løsning på endnu. Der er dog bred enighed om, at fund af "nye" stoffer i drikkevand bør kombineres med en form for vurdering af sundhedsrisici i det omfang, det er muligt.

Det ligger udenfor rammerne af dette notat, at give konkrete anbefalinger til en sådan risikovurdering. Det skal dog nævnes, at det ved udarbejdelsen af risikovurderingen er vigtigt at huske, at koncentrationsbestemmelse uden standarder kan have stor usikkerhed (se figur 7), og at der ofte mangler toksicitetsstudier til de nyopdagede stoffer.

5. De væsentligste udviklingsområder

Der er mange mulige anvendelser af non-target-screeninger inden for miljøområdet. Eksemplerne, som er præsenteret i det foregående kapitel, viser at non-target-screeninger er godt på vej med praktiske anvendelser, og at det bliver implementeret flere og flere steder. I dette kapitel introduceres begrænsningerne af metoden i dag, og hvad der kunne ønskes af fremtidige metoder.

5.1 Nødvendig udvikling fra forskningsmiljøer til standardiseret kommercielt produkt

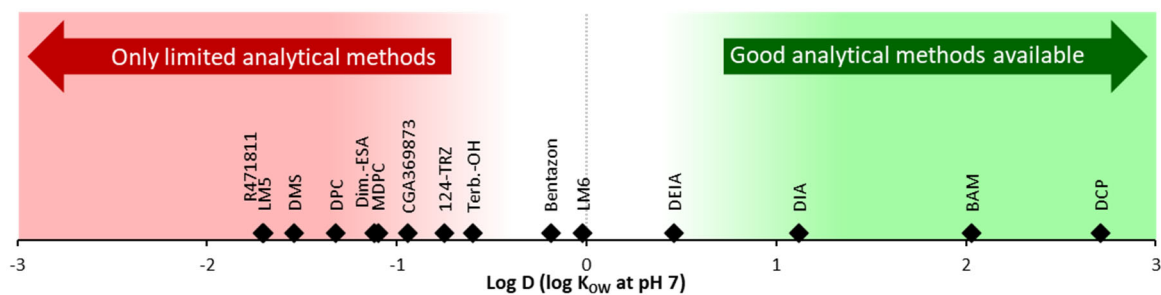
Et gennemgående træk fra de eksempler på anvendelse, der findes i dag, er, at det i alle tilfælde er en forskergruppe, der har udført analysearbejdet. Det skyldes, at der på nuværende tidspunkt mangler en standardiseret og kommercielt tilgængelig metode. Det er ikke muligt at købe sig til en non-target-analysepakke på lige fod med de traditionelle target-analyser på de kommercielle laboratorier, da dette ikke er en akkrediteret hyldevare hos de etablerede miljøanalysefirmaer. Det, at der i dag ikke findes standardiserede/akkrediterede metoder, betyder, at analysebestilleren står med ansvaret for en række valg i forbindelse med analysemetoder, databehandling, niveau af resultatsikkerhed og i mange tilfælde behov for rådgivning til tolkning af resultaterne. Det anbefales derfor, at den der ønsker at anvende non-target-screening, indgår i et tæt samarbejde med de kemikere, der udfører arbejdet. En standardiseret og valideret metode vil i fremtiden give muligheden for at sikre, at visse minimumskrav til fx antal af blindprøver, replikater osv. er overholdt, og at det kemiske rum af metoden er beskrevet i et vist omfang.

Non-target-data giver mulighed for at undersøge trends over tid, som i eksemplet fra overvågning af Rhin-floden – også for stoffer, der ikke nødvendigvis er identificeret i første omgang, men som kun er registeret som en feature. Det er dog vigtigt at huske på, at overvågning over tid (fx gentagen prøvetagning over flere måneder/år) kun er muligt, hvis prøverne bliver analyseret med præcis den samme metode. Hvis der anvendes andre analyseplatforme, eller der bare er nogle få ændringer i kromatografien, vil det resultere i, at resultaterne bliver anderledes. Manglen på en standardiseret og valideret metode til formålet gør det derfor svært i dag at opbygge et datasæt, der kan bruges til langsigtede tidslige analyser, medmindre det er det samme forskningslaboratorium, der udfører analyserne med samme metode igen og igen. Det er derfor væsentligt, at der udvikles standardiserede metoder sideløbende med den helt konkrete afsøgning af grænserne for non-target-screening, som sker i forskningsmiljøerne.

5.2 Udvikling mod at kunne analysere meget mobile, grundvandsrelevante stoffer

Flere og flere forskergrupper arbejder på at få afdækket det relevante kemiske rum for stoffer, der kan ende i grundvandet. For mindre end 10 år siden gjorde en forskergruppe opmærksom på en stor stofgruppe, som de kaldte for *persistent, mobile organic compounds* (PMOC)

(Reemtsma mfl., 2016). I mange årtier har der kun været fokus på de persistente miljøfremmede stoffer, som ophobede sig i fødekæden (bioakkumulerende stoffer). Men sidenhen er der kommet meget mere opmærksomhed på de mobile stoffer, som i opløst form bliver transporteret rundt i hele vandmiljøet. Først i 2022 blev de to klassificeringer, PMT (*persistent, mobile and toxic*) og vPvM (*very persistent and very mobile*) i analogi til PBT (*persistent, bioaccumulative and toxic*) and vPvB (*very persistent and very bioaccumulative*), tilføjet til den Europæiske kemikaliegodkendelse REACH (EC, 2022). Dette har ført til, at analysekemikere nu er gået i gang med at udvikle og optimere på de traditionelle target-metoder med fokus på de mest mobile stoffer. Men når det kommer til analysemetoder, der kan bruges til non-target-screening, så er der stadigvæk et stort udviklingspotentiale. De mest stabile og anvendte metoder dækker i dag stadigvæk ikke langt nok ind i det grundvandsrelevante stofspektrum (kemiske rum) med de meget mobile stoffer, selvom target-analyser nu kan fange mange af disse (Figur 11).



Figur 11 Mangel på kemiske analysemetoder for de grundvandsrelevante stoffer, dvs. stoffer, som er meget mobile i vandfasen. Log D er fordelingskoefficienten af et stof mellem vand og oktanol ved pH 7, og jo lavere denne værdi er, jo mere mobilt er et stof i vand, og dermed stiger risikoen typisk for, at det udvaskes til grundvandet. Nederst i figuren ses de 10 hyppigst fundne stoffer i GRUMO og Boringskontrollen (Thorling mfl., 2024). Stofferne er placeret på x-aksen efter deres Log D-værdi.

Udover mangel på metoder, der dækker de meget mobile stoffer, så er der også metodiske udfordringer med at måle på de koncentrationsniveauer, som typisk findes i grundvandet. Et særligt aspekt af denne problemstilling er risikoen for, at det naturlige indhold af organisk stof, der som regel er i størrelsesorden mg/l, rent analyseteknisk "skygger for" problemstofferne, så man måske ikke kan detektere dem eller, at detektionsgrænsen bliver meget høj.

5.3 Prioritering af fund af hidtil ukendte stoffer

På nuværende tidspunkt ligger non-target-screeninger på grænsen mellem forskning og at være klar til overvågningsstudier i en mere anvendelsesorienteret kontekst, herunder overvågning og kortlægning af grundvandets kvalitet. Som eksemplet fra Novafos ovenfor illustrerer, er der stadigvæk meget usikkerhed mht. hvordan man skal håndtere nye fund af stoffer. Non-target-screening metoderne finder ikke kun stoffer, der er regulerede, dvs. stoffer for hvilke der er kendte grænseværdier og/eller foreligger toksikologiske vurderinger, fx pesticider og deres metabolitter, men også en del stoffer, hvor der ikke findes regulerings- eller prioriteringsværktøjer.

Derfor kan man som opfølgning på en non-target-screening stå med spørgsmålet: Hvordan skal de fundne stoffer prioriteres – er alle lige relevante?

I første omgang, kan en non-target-screening blot føre til et udsagn om et fund af et givent stof. I den videregående regulatoriske proces er det ofte nødvendigt at vurdere fundet – er stoffet farligt, hvilken koncentration blev det fundet i osv.? Som beskrevet i Kapitel 3 er det vanskeligt med særligt stor sikkerhed at vurdere koncentrationen af et fundet stof i en given prøve, eller være sikker på den endelige identifikation af stoffet, hvis man ikke har en kemisk standard til at oversætte signalet fra detektoren til en koncentration. Det samme gælder toksiciteten af et stof. Baseret på den kemiske struktur alene er det ikke på nuværende tidspunkt muligt at vurdere den præcise sundhedsmæssige effekt. Men, forskningen er løbende i gang med at udvikle bedre modeller, som kan forudsige både koncentration og effekt på baggrund af den kemiske struktur.

Man skal dog fortsat være meget forsigtig med ukritisk at anvende denne type af resultater. Der er således stadigvæk store usikkerheder forbundet med modellernes resultater, som derfor eksempelvis kan give en falsk tryghed i forhold til både koncentrationsniveauer og sundhedsrisici. Dog vil modellernes resultater i mange tilfælde kunne danne et nyt grundlag for prioritering af de stoffer, som skal verificeres på "Level 1", og hvor der derfor er behov for at indkøbe en kemisk standard. Men, når modellerne i fremtiden er blevet bedre og mere præcise i deres estimer, er en af fordelene ved non-target-screeninger, at det er muligt at gå tilbage til sit datasæt og evaluere på ny.

5.4 Datahåndtering af de store nye mængder data

Non-target-data byder på en masse informationer om stoffers tilstedeværelse, som ofte ikke bliver undersøgt og opdaget ved den første databehandling. En vigtig komponent i at kunne bruge dataene også i fremtiden (retrospektivanalyse) er derfor et gennemtænkt dataarkiv, hvor alle vigtige metadata sammen med de rå analysedata gemmes til senere brug. En relativt forskningsrelateret database kan findes hos NORMAN netværk: Digital Sample Freezing Platform (<https://dsfp.norman-data.eu/>). Her kan data fra forskningsprojekter gemmes og downloades igen til yderligere undersøgelse. Den tyske "NTS portal" (<https://www.umweltbundesamt.de/en/gewasserbeobachtung-der-zukunft-nts-portal>) er en database med indbygget data-analyseplatform til non-target-data fra monitoring af de tyske floder og vandveje, som drives af den tyske miljøstyrelse og BFG (Tyske Føderale Institute for Hydrologi). Databasen indeholder et bibliotek for spektre og indeholder massespektre af mange stoffer, der er analyseret med den samme metode som prøverne (og derfor inkluderer en retentionstid), og som gør identificering af stoffer i basen mere sikker. Pt. er Miljøstyrelsen og Danmarks Miljøportal i gang med at bygge en platform til at gemme de seneste GRUMO suspect-screening data. I forlængelse heraf kunne der tænkes nogle optimerede og brugervenlige webservices til visualisering af de væsentligste non-target-analysedata, som er anvendelige, også selvom man ikke er analysekemiker.

5.5 Ønsker til den fremtidige non-target-metode

På sigt vil det være ønskeligt, at de kommercielle laboratorier kan tilbyde en standardiseret løsning, som overholder nogle minimumskvalitetskrav til metoden, så data fra et laboratorium kan sammenlignes med data fra et andet. Udover de metoder, der findes i dag, skal de fremtidige

metoder også dække de meget mobile stoffer, som er af størst interesse for analyse af grundvandprøver. Derudover er der stor efterspørgsel på optimerede værktøjer til vurdering og prioritering af resultaterne, samt forudsigelse af koncentrationer med relativt høj nøjagtighed og lille usikkerhed.

Pt. er der en række forskellige initiativer undervejs i dansk og international forskning, som afprøver, optimerer og standardiserer analysemetoderne samt udvikler og optimerer værktøjer til prioritering og koncentrationsbestemmelse baseret på den kemiske struktur af stofferne. Med særligt fokus på grund- og drikkevandsrelaterede spørgsmål bliver der i Danmark bl.a. igennem det nuværende Innovationsfond-støttede projekt AQUAPLEXUS (www.aquaplexus.dk) pt. igangsat en del initiativer netop for at nå frem til et non-target-screenings værktøj bestående af LC-HRMS-metode samt prioriteringsmuligheder og data lagring/visualisering.

6. Non-target-screening i risikoanalyser

6.1 Anvendelsesmuligheder

Med henblik på at identificere grundvandstrusler, så byder non-target-analysen på nogle fordele i forhold til den traditionelle target-analyse af nogle få på forhånd valgte stoffer. I dette kapitel vil vi give nogle bud på hvor i risikoanalysen, der er anvendelsesmuligheder.

Generelt kan non-target-screening hjælpe med at **identificere indikatorstoffer**. Det kunne fx være nogle enkelte indikatorer til en bestemt påvirkning, fx en bestemt type arealanvendelse, som man efterfølgende kan analysere mere detaljeret i en tidlig eller rumlig opløsning vha. en target-analyse, det være sig spildevand eller veterinære medicin stoffer fra husdyrgødning, for slet ikke at tale om forskellige typer af punktkilder. Når man kender de mest relevante indikatorstoffer, kan det styrke overvågningsprogrammer, hvis indikatorstofferne kan komme på de traditionelle stoflister for overvågningsprogrammerne. Både suspect-screening af enkelte prøver, eller i et lidt større overvågningsprogram kan føre til identifikation af disse stoffer.

Non-target-screening kan desuden hjælpe med at **kortlægge forureningsmønstre** og dermed hjælpe til at afdække, i hvilke områder, der kræves særlige indsatser. Også undersøgelsen af nye potentielle kildepladser kan have stor nytte af non-target-screening. Her kan non-target-screening hjælpe med at mindske risikoen for, at der etableres en dyr ny kildeplads et sted, hvor der i dag findes ukendte miljøfremmede stoffer i et problematisk omfang, men hvor stofgruppen ikke i dag er i fokus, og der derfor endnu ikke udbydes analyser med en traditionel target-metode. Ligeledes kan punktkildeundersøgelser strømlines til at samle så mange informationer som muligt på én gang. Derved behøver man ikke genbesøge stederne i flere omgange efterhånden, som nye target-stoffer bliver relevante, idet man i stedet vil kunne starte med retrospektiv analyse af de arkiverede analysedata.

Ukendte eller oversete kilder kan opdages ved hjælp af non-target-screening. Fx kan man undersøge, om der er stoffer, der tilføres drikkevandet igennem afsmitning fra tekniske installationer i vandforsyningen (vandrør, pumper, ventiler, vandtanke, mv.). Nogle gange er det ikke de store overflader, som udgør det største problem, men i stedet nogle meget små komponenter, som kan give et markant bidrag af uønskede stoffer til vandet, men som man måske ikke engang har tænkt på.

Ved at implementere et lidt mere omfattende non-target-screenings program i nogle overfladenære "early-warning"-overvågningsboringer, kan der identificeres nogle stoffer, der på sigt potentielt kan give problemer i det dybere grundvand. Det vil dog kræve standardiserede metoder, der også er i stand til at dække det kemiske rum af de meget mobile stoffer. Boringerne skal prøvetages gennem længere tid og analyseres med den samme metode (eller det samme sæt af metoder, for at opnå en bredere dækning af det kemiske rum). GEUS er pt. i gang med at overveje, hvordan non-target-screening kan anvendes i varslingsystemet for udvaskning af pesticider til grundvand (VAP). De seneste års grundvandsovervågning har dog vist, at de miljøfremmede stoffer i grundvandet ikke kun stammer fra landbrugsområder eller punktkilder, men også fra mange andre typer af arealanvendelser. For at implementere et fyldestgørende **early**

warning system, bør man derfor overveje yderligere monitoringspunkter under andre arealtyper, fx rettet mod mere diffus forurening i byer, nedslivningsbassiner mm.

I det hele taget, vil et **overvågningsprogram** bygget på non-target-screening kunne bruges som et slags beredskabssystem. Ved hjælp af en konstant overvågning og opsamling af data i et arkiv, kan der løbende holdes øje med om nye stoffer dukker op – tilsvarende Rhin-overvågningen, som er beskrevet ovenfor. På den måde er det muligt at være på forkant og erkende trusler tidligere end i dag. Det vil også være muligt at gå tilbage i data, når der foreligger ny viden. Hvis man fx i udlandet finder et nyt problematisk stof, så kan man ved en retrospektiv analyse af data give et bud på, om det også udgør et problem i Danmark.

Derudover vil non-target-screening give muligheden for at kunne **overvåge effekten**, fx vandbehandlingsmetoder, efter man har implementeret reducerende tiltag. Det kunne fx være rensningsprocesser, hvis man har besluttet at rense vandet. Som eksemplet fra Novafos og Københavns Universitet har vist, så foreligger der en mulighed for, at der i forsøget på at fjerne problemstoffer dannes andre stoffer, og at det nye tiltag derved potentielt kan give anledning til at nye problemer opstår. Dette vil kunne opdages i tide ved en anvendelse som illustreret i eksemplet.

6.2 Anbefalinger

Mulighederne er mange, når det handler om non-target-screening inden for miljøområdet. Non-target-screening er i dag ikke modnet til et niveau, hvor der er standardiserede metoder og datarapportering, og de udføres oftest kun af forskellige forskningslaboratorier og i ganske få tilfælde af kommercielle laboratorier. Det er derfor vigtigt at overveje, i hvilke tilfælde det virkelig giver mening at anvende disse metoder, men også om de metoder, der er til rådighed i dag, er tilstrækkeligt modne til det specifikke formål. Groft sagt, kan man afgrænse to formål med non-target-screening:

1. Tidsligt afgrænsede studier, fx kortlægning eller undersøgelse af en rensningsproces:

Her er de non-target-metoder, vi har i dag langt hen ad vejen anvendelige. Det er dog væsentligt at være opmærksom på, at der muligvis er stoffer, der ikke bliver identificeret, da det relevante kemiske rum ikke nødvendigvis er afdækket fyldestgørende; og at man er afhængig af samarbejdspartneren, som skal rådgive, vælge de rigtige metoder osv., og hjælpe med fortolkning af data.

Selvom sådanne undersøgelser måske ikke giver det fulde billede endnu, så hjælper alle disse studier i forhold til udviklingen af standardiserede metoder til fremtidig brug. For at få en idé om anvendeligheden af den valgte metode og det kemiske rum, der kan afdækkes, så kan det overvejes at sende en kontrolprøve til traditionel target-analyse (måske med tilsætning af nogle stoffer med en kendt koncentration, såkaldt spiking). Dette vil give mulighed for at evaluere fund/ikke fund og falske positive/negative.

2. Tidlige afhængige studier og overvågning over tid:

Her er det væsentligt at have for øje, at der i den nærmeste fremtid vil ske udvikling og optimering af metoderne, især med henblik på standardisering og overførelsesmulighed mellem laboratorierne. I forskningssammenhæng kan det allerede nu give mening at indsamle data, men når man tænker på de store overvågningsstudier og opsamling af data over flere år frem i tiden,

så anbefales det at vente, til standardiserede metoder er tilgængelige, og mere sammenlignelige analyser kan købes. Vi håber at kunne bidrage til dette igennem AQUAPLEXUS-projektet dvs. at en metode gerne skulle være klar senest i 2027. Denne metode skulle gerne være afprøvet i forskellige laboratorier, være undersøgt i forhold til det kemiske rum, der dækkes og inkludere en tilpasset model til semi-kvantificering for at reducere usikkerheden.

Helt generelt er det essentielt med **gensidig forventningsafstemning før analysearbejdet igangsættes mellem analyselaboratorium og den, der skal bruge resultatet af analysen**. Derudover er det væsentlig at få defineret, hvilke spørgsmål, der forventes at kunne besvares med en non-target-tilgang frem for at anvende en traditionel target-analyse. Der skal være et veldefineret formål med undersøgelsen, inden arbejdet påbegyndes, da valg af konkret analysemetode, krav til nøjagtighed, mv. kan afhænge af, om der fx er særlige problemstillinger, der ønskes undersøgt. Det skal afklares, i hvilket omfang undersøgelserne omfatter target og suspect-screening, ud over den egentlige non-target-screening, og i hvilket omfang disse understøtter verificering og kvalitetsvurdering af resultaterne. Der skal laves en klar aftale om datahåndteringen, herunder i hvilket omfang data kan/skal overføres til fællesoffentlige databaser, så data kan være tilgængeligt til yderlige undersøgelser i fremtiden.

Så længe standardiserede metoder ikke er til rådighed, anbefales det at følge relativt detaljeret op på kvaliteten af analyserne som ordregiver, både i udbudsfasen og når resultaterne modtages. Det være sig forhold som andelen af falske positive og falske negative fund, kontrol- og blindprøver osv. Yderlige hjælp kan hentes i nogle internationale vejledninger såsom i NORMAN guideline (Hollender mfl., 2023) eller i vejledningen fra den Tyske Vandkemiske Forening (Schulz mfl., 2019). I forhold til afrapportering så kan vejledningen af BP4NTA-arbejdsgruppen anbefales (<https://nontargetedanalysis.org/srt/>).

Afsluttende er det væsentligt endnu en gang at minde om, at med disse nye analysemetoder kommer der nye typer af data og resultater, og at det er nødvendigt så vidt muligt at forberede sig på, **hvad man kan forvente af resultaterne, inden de "lander i indbakken"** – måske dukker der nogle nye ukendte stoffer op. *Bliver der behov for yderligere verificering og vurdering af eventuelle nye fund? Hvordan skal resultaterne formidles, når der ikke er direkte vurderings- og reguleringsværktøjer til rådighed endnu?* – Dette blot eksempler på relevante spørgsmål, der kan stilles ved introduktion af non-target-screening i et givent studie.

7. Referencer

- Black, Lowe G.C., Anumol T. mfl. (2023). Exploring chemical space in non-targeted analysis: a proposed ChemSpace tool. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 415(1): 35-44. <https://doi.org/10.1007/s00216-022-04434-4>.
- Bletsou A.A., Jeon J., Hollender J., Archontaki E., Thomaidis N.S. (2015). Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry* 66 (2015) 32–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2014.11.009>.
- BP4NTA – Benchmarking and Publications for Non-Targeted Analysis (2014). NTA Study Reporting Tool (SRT). www.nontargetedanalysis.org.
- EU (2022): Commission Delegated Regulation (EU) 2023/707 of 19 December 2022 amending Regulation (EC) No 1272/2008 as regards hazard classes and criteria for the classification, labelling and packaging of substances and mixtures (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union* L 93/7.
- Hansen M., Frøkjær E.E., Pereira S.R.M. & Nanusha M.Y. (2023). GRUMO Suspect-screening 2022. Technical Report. Miljøstyrelsen, June 2023. <https://mst.dk/media/x42g2fpp/fagligt-notat-om-resultater-fra-suspect-screening-for-pesticider-i-grundvandet-grumo-2022.pdf>.
- Hollender J., Schymanski E.L., Singer H.P., Lee Ferguson P. (2017). Nontarget-screening with High Resolution Mass Spectrometry in the Environment: Ready to Go? *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51, 11505-11512. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02184>.
- Hollender J., Schymanski E.L., Ahrens L. mfl. (2023). NORMAN guidance on suspect and non-target-screening in environmental monitoring. *Environmental Sciences Europe* 35:75, 2023. <https://doi.org/10.1186/s12302-023-00779-4>.
- Kiefer K., Müller A., Singer H., Hollender J. (2019). New relevant pesticide transformation products in groundwater detected using target-and suspect-screening for agricultural and urban micropollutants with LC-HRMS. *Water Research* 165 (2019) 114972. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114972>.
- Nanusha M.Y., Frøkjær E.E., Hansen H. R., Rasmussen S.B., Nicolaisen J.B., Hansen M. (2023). Explorative Quantitative Nontarget Analysis Reveals Micropollutants in Danish Groundwater. *ACS ES&T Water* 2023 3 (12), 3992-4003. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.3c00403>.
- Schlabach M., Haglund P., Reid M., Rostkowski P., Veenaas C., Bæk K., van Bavel B. (2017). Suspect-screening in Nordic countries – Point sources in city areas. Copenhagen: Nordisk Ministerråd, 2017., p. 85. <http://dx.doi.org/10.6027/TN2017-561>.
- Schulz W. mfl. (2019). Use of non-target-screening by means of LC-ESI-HRMS in water analysis. German Water Chemistry Society. https://www.wasserchemische-gesellschaft.de/images/motive/Publikationen/PDFs/NTS-Guidline_EN_s.pdf.

- Schymanski E.L., Jeon J., Gulde R., Fenner K., Ruff M., Singer H.P., Hollender J. (2014). Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence. *Environ. Sci. Technol.* 2014, 48, 2097–2098. <https://dx.doi.org/10.1021/es5002105>.
- Tisler S., Tüchsen P.L., Christensen J.H. (2022). Non-target-screening of micropollutants and transformation products for assessing AOP-BAC treatment in groundwater. *Environmental Pollution* 309 (2022) 119758. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119758>.
- Tisler S., Kilpinen K., Pattison D.I., Tomasi G., Christensen J.H. (2024). Quantitative Nontarget Analysis of CECs in Environmental Samples Can Be Improved by Considering All Mass Adducts. *Anal. Chem.* 2024, 96, 1, 229–237. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c03791>.
- Thorling L., Albers C.N., Hansen B., Johnsen A.R., Kazmierczak J., Mortensen M.H., Troldborg L., 2024: Grundvand. Status og udvikling 1989–2022. Teknisk rapport, GEUS 2024. <https://www.geus.dk/vandressourcer/overvaagningsprogrammer/grundvandsovervaagning>.
- Tüchsen P.L., Thomsen A.H., Schliemann-Haug M., Clausen L., Hedegaard M.J., Bymose M., Aahauge L., Boe-Hansen R., Albrechtsen H.-J. (2023). Renseteknologier for nye pesticidrester (DMS og metabolitter fra Alachlor og Dimethlachlor) på vandværker. Projekt ID: 14.2020. DANVA, Vandhuset, Godthåbsvej 83, 8660 Skanderborg