

Samen sterk voor schoon water: één geharmoniseerde analysemethode

Patrick Bäuerlein, Nienke Meekel (KWR), Martijn Pijnappels (Rijkswaterstaat), Astrid Fischer (Evides), Runa Kooper-Mookerij (Aqualab Zuid)

Verschillende drinkwaterbedrijven en Rijkswaterstaat bundelen hun krachten in een gezamenlijke, geharmoniseerde analysemethode. Deze samenwerking maakt het mogelijk om waterkwaliteit slimmer, consistent en effectiever te volgen. Hiervoor wordt online vaste fase extractie (SPE) en vloeistofchromatografie met diode-arraydetectie (HPLC-DAD) gebruikt.

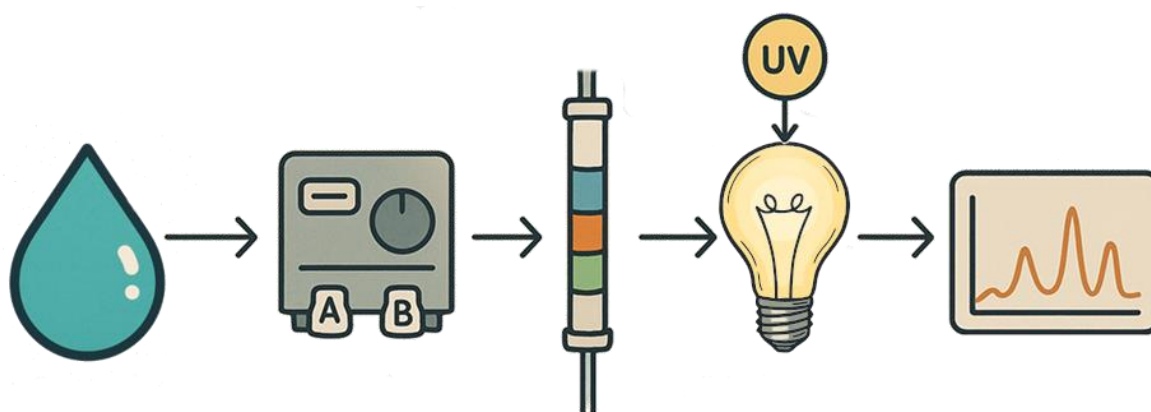
Ongeveer 60 procent van het Nederlandse drinkwater wordt gewonnen uit grondwater; de overige 40 procent is afkomstig uit rivieren en meren. Oppervlaktewateren, zoals de Rijn, de Maas en het IJsselmeer, zijn veel kwetsbaarder voor verontreiniging als gevolg van menselijke activiteiten. Dit betekent dat er een intensievere zuivering nodig is om het water geschikt te maken voor drinkwater. Om verontreinigingen tijdig te signaleren, houdt Rijkswaterstaat (RWS) de Rijn en de Maas 24 uur per dag in de gaten op twee monitoringspontons, uitgerust met een vroegtijdig waarschuwingssysteem (*Early Warning System*, EWS). Een van de methodes die Rijkswaterstaat gebruikt is een online vaste fase extractie (solid phase extraction, SPE) met vloeistofchromatografie, gekoppeld aan een diode-arraydetector (HPLC-DAD). Deze meetstations liggen strategisch op de landsgrenzen waar de rivieren Nederland binnenstromen: bij Lobith (Rijn) en Eijsden (Maas). Daarnaast monitoren twee drinkwaterbedrijven die water uit de Maas innemen, Evides en Watermaatschappij Limburg (WML), eveneens de kwaliteit van rivier- en gezuiverd water met dezelfde methode. Gezamenlijk beheren RWS en de drinkwaterbedrijven meerdere monitoringssystemen: twee langs de Rijn en vijf langs de Maas.

Het monitoringsinstrumentarium is breed. Biologische indicatoren – zoals algen, cytometrische activiteit en het gedrag van organismen als de watervlo *Daphnia magna* – werken als levende alarmbellen. Tegelijkertijd spoort een reeks chemische en fysische analyses de aanwezigheid van organische verontreinigingen op. Daarvoor worden technieken ingezet als *purge-and-trap* gaschromatografie gekoppeld aan massaspectrometrie (P&T–GC–MS), vastestofextractie (SPE) gevolgd door GC–MS (SPE–GC–MS) en vloeistofchromatografie met diode-arraydetectie (HPLC–DAD). HPLC–DAD onderscheidt zich als een robuuste en betaalbare screeningsmethode, die bovendien goed inpasbaar is in bestaande alarmeringssystemen. De kracht schuilt onder andere in de snelheid: binnen enkele uren na analyse kunnen de resultaten worden gedeeld met drinkwaterbedrijven stroomafwaarts. Real-time monitoring en snelle communicatie zijn essentieel, omdat bescherming van de drinkwatervoorziening niet alleen vraagt om detectie, maar ook om een snelle reactie. In dit artikel lichten we deze robuuste techniek verder toe en laten we zien hoe deze van cruciaal belang is geweest bij incidenten in het verleden.

HPLC-DAD in de praktijk: een krachtige combinatie

HPLC-DAD staat in het Engels voor 'high-performance liquid chromatography' gekoppeld aan een 'diode array detector', ook wel afgekort als HPLC-UV/Vis. Het systeem werkt in verschillende opeenvolgende stappen (Afbeelding 1) [2]. Voor een analyse met HPLC-DAD wordt eerst een watermonster genomen (stap 1). Dit kan handmatig gebeuren, of automatisch met behulp van een autosampler. Vervolgens wordt het monster voorbereid, meestal door vaste deeltjes te verwijderen die de analyse zouden kunnen beïnvloeden (filtratie). Na deze voorbehandeling wordt het monster geïnjecteerd in het HPLC-systeem (stap 2). Daar komt het in aanraking met de mobiele fase, een vloeistof die de opgeloste stoffen door een zogenoemde chromatografiekolom voert. In deze kolom bevindt zich een vaste fase waarmee de opgeloste stoffen in meer of mindere mate chemische bindingen aangaan (stap 3). Hoe sterker een stof met de vaste fase bindt, hoe langer deze in de kolom wordt vastgehouden; stoffen die zwakkere bindingen aangaan, bewegen sneller door de kolom. Zo ontstaat een scheiding van de verschillende verbindingen in de tijd. Deze tijd die een verbinding nodig heeft om zich door de kolom te verplaatsen, en specifiek is voor elke verbinding, wordt de retentietijd genoemd.

Zodra een stof zijn weg door de kolom heeft afgelegd, wordt deze naar de diode array detector geleid voor detectie met ultraviolet en zichtbaar licht (stap 4). Verschillende stoffen absorberen licht bij specifieke golflengten, afhankelijk van de chemische structuur. Dit levert een uniek spectrum op dat in combinatie met de stof-specifieke retentietijd kan worden gebruikt om stoffen te identificeren. De mate van absorptie geeft bovendien informatie over de concentratie van de betreffende verbinding. De analyse levert een chromatogram op, waarin elke piek overeenkomt met een afzonderlijke chemische stof (stap 5). De combinatie van chromatografie met DAD-detectie maakt het mogelijk om doelstoffen in complexe milieumonsters te scheiden, te identificeren en kwantitatief te bepalen.



Afbeelding 1. Een watermonster (stap 1) wordt geïnjecteerd in het HPLC-systeem (stap 2). In de kolom vindt scheiding van de opgeloste stoffen plaats (stap 3), de DAD meet de verbinding (stap 4) en dit resulteert in een chromatogram en UV-spectra (stap 5) waarmee de identiteit en de concentratie van de stoffen bepaald kunnen worden

Hoe het begon

In de late jaren 90 van de vorige eeuw ontwikkelden Nederlandse autoriteiten samen met academische partners het *System for the Automated Monitoring of Organic Pollutants in Surface Water* (SAMOS). Dit systeem combineerde online vastestofextractie met GC-MS of LC-MS, waardoor grote monstervolumes automatisch verwerkt konden worden. Demonstraties toonden aan dat 50 tot 100 organische microverontreinigingen, waaronder polaire bestrijdingsmiddelen, geïdentificeerd konden worden tot concentraties van ongeveer 1 µg/L – een doorbraak voor real-time watermonitoring in Europese rivieren.

Het SAMOS werd bij Lobith en Eijsden geïnstalleerd door het RIZA (Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, het voormalige Nederlands onderzoeksinstituut voor waterbeheer dat sinds 2007 onderdeel is van Rijkswaterstaat). Eenmaal geïnstalleerd werd de aanpak samen met de drinkwaterlaboratoria en drinkwaterbedrijven verder verfijnd. Er ontstond een geharmoniseerd platform: een gedeelde UV/Vis-spectrale bibliotheek, gecombineerd met een relatief eenvoudige lineaire retentietijd-index, gebaseerd op de Kováts-index[1]. Retentietijd-index en de Kováts-index worden gebruikt om retentietijden te corrigeren voor kleine verschillen die kunnen optreden tussen verschillende HPLC-DAD-systemen. Dit maakte vergelijking van resultaten tussen locaties mogelijk en hielp waterbedrijven bij het identificeren en aanpakken van verontreinigingsincidenten.

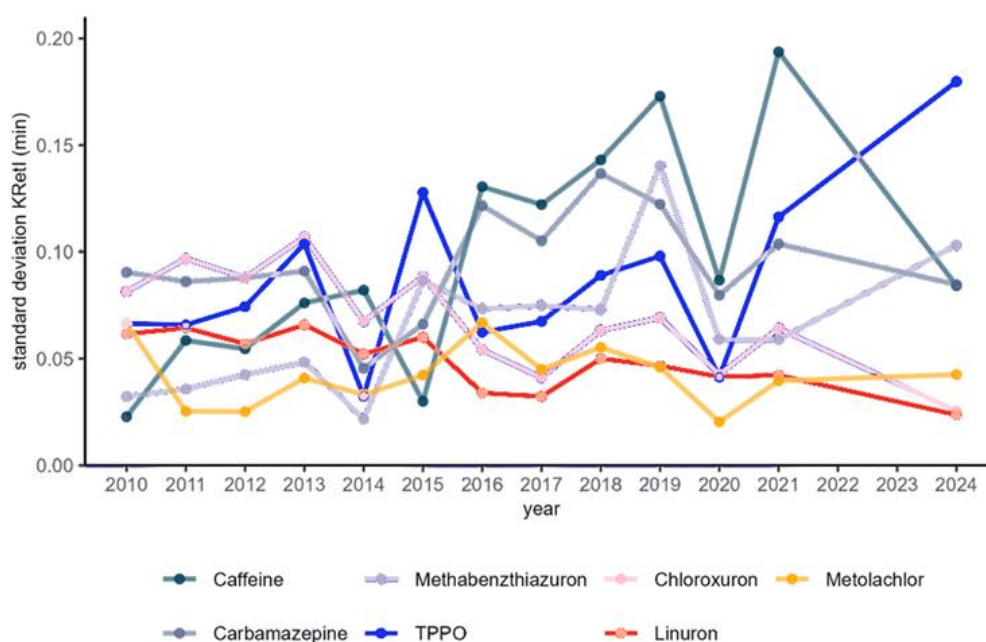
Recente ontwikkelingen, zoals de open source-tool *HPLC-UV2R*, maken het uitwisselen van de opgenomen UV-spectra nog eenvoudiger. Deze toepassing biedt laboratoria namelijk de mogelijkheid UV/Vis-spectra te normaliseren, op te slaan en te delen. Dankzij deze vooruitgang is HPLC-DAD uitgegroeid tot een kosteneffectief, veerkrachtig en samenwerkingsgericht vroegtijdig waarschuwingssysteem – een onmisbare schakel in de bescherming van het Nederlandse oppervlaktewater en de rivier-ecosystemen.

Harmonisatie van methoden

Het afstemmen van methoden tussen verschillende laboratoria is geen eenvoudige opgave. In theorie zouden strikte protocollen nodig zijn, met gedetailleerde technische voorschriften – van kolomtype en mobiele fase tot temperatuurprofielen. In de praktijk is echter gekozen voor een meer pragmatische aanpak, omdat het in deze situatie bijvoorbeeld onmogelijk is te eisen dat ieder laboratorium exact dezelfde apparatuur aanschaft. In plaats van een rigide blauwdruk hebben de laboratoria daarom kernprincipes afgesproken die vergelijkbaarheid garanderen zonder flexibiliteit te verliezen. De essentie is dat alle laboratoria dezelfde handelingen uitvoeren voor de analyse en vergelijkbare, maar niet per definitie dezelfde, apparatuur inzetten. Belangrijke afspraken betreffen onder meer de kalibratie van de UV-detector, zodat spectra van verschillende laboratoria onderling goed vergelijkbaar zijn. Daarnaast is afgesproken dat ieder laboratorium referentiestoffen toevoegt aan de analyse. Daarmee kan de vergelijkbaarheid verder worden gewaarborgd en wordt het uitwisselen van data mogelijk, ondanks kleine verschillen in apparatuur en uitvoering. Deze referentiestoffen spelen een cruciale rol: ze compenseren minimale afwijkingen tussen laboratoria. Zo kunnen retentietijden per laboratorium verschillen – eenzelfde stof kan bijvoorbeeld in het ene laboratorium bij een retentietijd van 15 minuten worden gedetecteerd en in een ander laboratorium rond de 14 minuten. Zonder correctie zou dat de uitwisseling van data

onmogelijk maken. Door de retentietijd te normaliseren ten opzichte van de referentiestoffen ontstaat een retentietijd-index: de KWR-retentietijd-index, kortweg KRetI.

Om de twee jaar wordt de methode weer tegen het licht gehouden. Dit gebeurt in een zogenoemd ringonderzoek. Tijdens het ringonderzoek worden bekende monsters naar elk lab gestuurd om te meten. De data worden verzameld en dan wordt gekeken in welke mate de gegevens van de labs met elkaar overeenkomen. Deze tests tonen een hoge mate van overeenkomst in de KRetI's van de referentiestoffen. De spreiding tussen de KRetI's van de verschillende labs ligt in de meeste gevallen onder $\pm 0,1$ min, dat is meestal minder dan 1% afwijking, zoals te zien in Afbeelding 2. Dit is een duidelijke bevestiging dat de gekozen aanpak werkt.



Afbeelding 2. Standaarddeviatie voor de standaardstoffen van het ringonderzoek

Deze aanpak heeft een methode opgeleverd die reproduceerbaar, vergelijkbaar en breed toepasbaar is. Het gezamenlijke gebruik van geharmoniseerde retentie-indices en UV-spectra vormt een stevig raamwerk, dat al bij verschillende incidenten van groot belang is gebleken.

Real-time monitoring op locatie

Bij het bewaken van drinkwaterbronnen kan snelheid het verschil maken tussen veilige drinkwaterlevering en een gezondheidsrisico. In dat licht heeft het HPLC – DAD-platform zich de afgelopen jaren stilletjes maar overtuigend bewezen. De kracht zit niet zozeer in de modernste technologie, maar in de betrouwbaarheid: continue monitoring en snelle alarmering zodra drempelwaarden worden overschreden. De aandacht richt zich in de onderzoekswereld de laatste jaren vooral op non-target screening met hoge-resolutie massaspectrometrie (HRMS). Deze technieken bieden ongeëvenaarde analysemogelijkheden, maar kennen ook beperkingen: hoge investerings- en operationele kosten, specialistische infrastructuur en beperkte robuustheid onder veldomstandigheden. Een HRMS-installatie direct aan de rivier vergt meer dan alleen apparatuur; het vraagt ook om

gespecialiseerd personeel en continue ondersteuning. HPLC-DAD-systemen zijn juist zeer robuust, relatief eenvoudig in gebruik en leveren snel interpreteerbare resultaten. Juist deze eigenschappen maken het platform bijzonder geschikt voor real-time monitoring op locatie. HPLC-DAD is daarmee geenszins een achterhaalde techniek, maar een noodzakelijke eerste verdedigingslinie. Het systeem signaleert verontreinigingen, maakt snelle alarmering mogelijk en stelt waterbedrijven in staat tijdig corrigerende maatregelen te nemen.

Voorbeelden uit de praktijk

In oktober 2019 sloeg het monitoringsstation in Eijsden alarm. RWS meldde een onbekend signaal met een concentratie van ongeveer 4 µg/L. De spectrale kenmerken bleken overeen te komen met een eerder geregistreerd onbekend patroon. Binnen enkele dagen kon een partnerlaboratorium met UPLC-HRMS de stof identificeren als de onkruidverdelger prosulfocarb. De concentraties liepen snel op tot 20 µg/L bij Eijsden en 12 µg/L bij Roosteren – meer dan honderd keer de drinkwaternorm. De inname werd onmiddellijk stopgezet en een grootschalig onderzoek volgde. In 2021 werd de bron gelokaliseerd bij een industriële locatie in Wandre (België).

Op 6 maart 2023 was het weer raak in Eijsden: in de Maas werd de onkruidverdelger terbuthylazine gedetecteerd met een concentratie van 1,5 µg/L. Dankzij de gedeelde spectrale bibliotheek en de HPLC-UV2R software kon de aanwezigheid van de stof snel worden bevestigd. Drie drinkwaterbedrijven schakelden onmiddellijk over op alternatieve bronnen of staakten tijdelijk de drinkwaterinname uit de Maas. Daarmee werd voorkomen dat de verontreiniging het drinkwaterbereik bereikte.

Een van de grootste commoties werd veroorzaakt door een gebeurtenis in 2015: drie grote waterbedrijven moesten de inname uit de Maas stilleggen na detectie van een onbekende polaire verbinding. De mosselmonitor sloeg als eerste alarm, waarna HPLC-DAD een sterk UV-actief signaal liet zien. Verdere analyse met HRMS wees uit dat het ging om pyrazool, een bijproduct van acrylnitrilproductie. De concentraties bereikten waarden van 90 tot 100 µg/L. De oorzaak bleek een defecte industriële waterzuivering. Het waterschap heeft een dwangsom opgelegd wegens overschrijding van de maximumnorm voor het lozen van deze stof. HPLC-DAD kon deze verbinding gemakkelijk zien, terwijl die met HRMS in eerste instantie onder de radar bleef.

In juni 2012 werd er bij Lobith een grote lozing van aceton (500–1000 liter), gedetecteerd met P&T-GC-MS. Biomonitoring toonde afwijkend gedrag bij larven, terwijl offline LC-MS de aanwezigheid van MDMA (de werkzame stof in sommige drugs) bevestigde in concentraties van 1,8 µg/L – bijna 400 keer de normale achtergrondwaarde. Analyse wees op een lozing van drugsafval. Dankzij de UV-databank konden ook laboratoria zonder specifieke vergunning voor deze stoffen het signaal bevestigen.

Samenwerking en software

De kracht van het HPLC-DAD-platform ligt niet alleen in de hardware, maar minstens zo sterk in de samenwerking en digitale infrastructuur. Waar in de beginfase spectra nog werden opgeslagen in een pseudo-massaspectrale bibliotheek, is inmiddels de open source-HPLC-UV2R-tool ontwikkeld. Deze biedt een gestandaardiseerde manier om spectra te normaliseren, golflengtes te corrigeren en retentie-indices te berekenen. Een belangrijk voordeel is dat ook

spectra van gereguleerde stoffen – waaronder drugs – kunnen worden gedeeld zonder dat afzonderlijke laboratoria specifieke licenties nodig hebben. Daarmee is de gezamenlijke slagkracht bij incidenten aanzienlijk vergroot: signalen kunnen sneller worden bevestigd en maatregelen kunnen eerder worden genomen.

Conclusie

De casussen met terbuthylazine, prosulfocarb, pyrazool en MDMA laten zien dat het geharmoniseerde platform van groot belang is. Het systeem is robuust, betaalbaar en gebruiksvriendelijk, dus bij uitstek geschikt als vroegtijdig alarmeringsplatform. Het detecteert zowel bekende als onbekende stoffen, genereert snelle alarmmeldingen en stelt autoriteiten in staat tijdig in te grijpen. HPLC-DAD heeft laten zien dat het een betrouwbare en krachtige techniek is om verontreinigen snel op te sporen, essentieel om de veiligheid van de drinkwatervoorziening te garanderen. Als deze techniek wordt gecombineerd met aanvullende analysetechnieken als HRMS, kunnen ook niet-UV-actieve stoffen worden gevonden. Dit zal de toepasbaarheid van de methode uitbreiden.

Dankwoord

De auteurs bedanken alle collega's die in de afgelopen jaren aan dit project hebben bijgedragen. In het bijzonder willen wij Marijke de Bar, Peter van Diepenbeek, René van Doom, Asmaïl Asgadaouan, Erik Emke en Astrid Reus bedanken voor hun inzet, die heeft bijgedragen aan het tot stand komen van dit vakartikel en de bijbehorende publicatie [2].

Referenties

1. Kováts, E. (1958). 'Gas-chromatographische Charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone'. *Helvetica Chimica Acta*, 1958. **41**(7): p. 1915-1932.
2. Meekel, N., et al. (2025). 'Safeguarding Water Quality: HPLC-DAD as Early Warning System'. *ACS ES&T Water*.