

Addressing Blind Spots in the Assessment of Pesticides in Surface Waters

A Complete Screening using Trace-Level Mass Spectrometry Techniques and Complementary Sampling Strategies

Doctoral Thesis

Author(s):

Moschet, Christoph

Publication date:

2014

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010261212>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

DISS. ETH NO. 22246

Addressing Blind Spots in the Assessment of Pesticides in Surface Waters:

A Complete Screening using Trace-Level Mass Spectrometry Techniques and Complementary Sampling Strategies

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by CHRISTOPH MOSCHET
MSc. Environmental Science ETH
born on 15.09.1985
citizen of Frauenfeld (TG) – Switzerland

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Juliane Hollender, examiner
Prof. Dr. Kris McNeill, co-examiner
Prof. Dr. Lee Ferguson, co-examiner

2014

SUMMARY

Pesticides applied to agricultural fields and urban areas are detected in surface waters all over the world and can pose a risk to aquatic organisms. Pesticides comprise of plant protection products (PPPs) for the protection of plants, and biocides for the protection of other materials from weeds, diseases and pests. In addition, there are many transformation products (TPs) that can be formed in soil or water. Pesticides can enter surface waters by diverse pathways (e.g., rain driven surface runoff, spray drift, waste water treatment plant effluents), and are usually very dynamic. Comprehensive assessment of pesticide exposure is very important, but this sets high demands on analytics and on sampling. Major challenges are i) the need for broad analytical methods due to a highly diverse substance spectrum (roughly 400 registered synthetic organic pesticides with broad physico-chemical properties), ii) the need for detection limits in trace-levels (ng/L range) or even ultratrace-levels (pg/L range) due to low ecotoxicologically based thresholds (e.g. neonicotinoid insecticides, pyrethroid insecticides), and iii) practicable sampling strategies that depict the real environmental situation. Current monitoring activities and scientific studies usually investigate only 10 - 40 selected pesticides, mainly herbicides and legacy insecticides. Modern insecticides, fungicides and TPs are, however, often not included. For some very toxic pesticides (e.g. pyrethroids), detection limits achieved with current analytical methods are above the environmental quality standards (EQS). These factors can lead to error-prone interpretations in current pesticide monitoring activities.

Therefore, the first goal of this thesis was to develop and evaluate analytical methods and sampling strategies for comprehensively assessing the exposure of pesticides in surface waters. The second goal was to apply these tools in a large, representative field study in order to assess the actual pesticide exposure and associated risk, and to identify blind spots in conventional monitoring strategies.

To address the first goal, a combined target and suspect screening approach based on liquid-chromatography high-resolution tandem mass spectrometry (LC-HR-MS/MS) for the detection of nearly all polar and semi-polar synthetic-organic pesticides was developed. Thereby, an existing analytical method using solid phase extraction (SPE) was extended. Pesticides that were categorized as *surface water relevant* by theoretical considerations (roughly 90 substances) were measured by a classical target method using reference standards and isotope-labeled internal standards. The remaining substances were checked by a semi-automated suspect screening approach for which no reference standard was necessary a priori. Only the exact mass was used as initial information for picking peaks from the chromatogram. Different filtering steps including blank subtraction, intensity threshold, peak shape threshold, and isotopic pattern were optimized in order to reduce the incorrectly picked background peaks (e.g. coming from the environmental matrix). The validation found a success rate of 70%, and missed peaks were mainly those with low intensities. Hence, the detection limits only increased slightly with the fast, automated approach compared to the labor-intensive manual target method. The developed

approach was applied to the remaining pesticides from which 25 parent compounds and five TPs were detected and later confirmed by a reference standard. Two TPs were detected for the first time in the environment. This method therefore opens the door for the screening of, for example, TPs for which no reference standard is easily available. With the developed method, 86% of all polar and semi-polar organic pesticides sold in Switzerland can be covered with low detection limits and with one single method. With further improvements of commercial software packages and affordable high-resolution instruments in the future, this approach might also be of value in routine pesticide monitoring.

In the second part, passive sampling of polar to semi-polar micropollutants using Chemcatchers[®] (styrenedivinylbenzene polymer: SDB) was tested as an alternative to biweekly composite water samples. In a field study, 44 samples were taken in five rivers over five months with both sampling strategies, i.e. two-week passive samples and biweekly composite water samples, at the same locations during the same time windows. All samples were analyzed by LC-HR-MS/MS for 300 substances from the classes of pesticides, pharmaceuticals and industrial chemicals. With both sample types, roughly 200 substances could be detected in at least one sample and detection limits were similar. This shows that passive sampling by SDB passive samplers is perfectly suitable as a qualitative screening tool. By comparing water sample concentrations with the sampled mass on the SDB disk in the 44 samples, field sampling rates could be established for nearly 100 substances. Sampling rates are needed for the translation of passive sampler concentrations into water concentrations. However, substances with strongly fluctuating water concentrations (e.g. pesticides from surface runoff) could only be quantified with larger uncertainties compared to substances with moderately fluctuating concentrations (e.g. pharmaceuticals from wastewater effluents). Passive sampling for polar to semi-polar pesticides is therefore mainly useful in remote areas where it is not possible to install automated water samplers due to logistic restrictions.

For non-polar pesticides (i.e. pyrethroid and organophosphate insecticides) which could not be covered by the LC-HR-MS/MS method, passive sampling on silicone rubber (SR) followed by analysis with gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was shown – for the first time - to be very efficient and sensitive. Because SR has very high sampling rates between 10-100 L/d for non-polar substances, much lower detection limits could be achieved compared to water samples for which normally 1-10 L of water is extracted. The developed analytical method was based on i) efficient and fast extraction with accelerated solvent extraction (ASE), ii) optimized clean-up by a combined silica gel/C18 column and iii) sensitive and selective detection by GC-MS/MS. It allowed for the detection of all 12 investigated compounds in the pg/L range. Because substance specific sampling rates could not be determined for the investigated substances, the quantification is associated with large uncertainties. Thus, it is important that the passive sampling method for the detection of highly-toxic non-polar insecticides is further developed and uncertainties for quantification are minimized.

To address the second goal a field study was carried out between March and July 2012 where the developed comprehensive tools were applied. Five medium-sized Swiss rivers containing large areas of diverse crops and urban settlements within the respective catchments were investigated. The selected rivers were representative for agriculturally and urban influenced rivers of the Swiss Plateau. The results showed that the pesticide exposure is higher than previously identified: i) more than 100 parent compounds and 40 TPs were detected in total, ii) between 30–50 parent compounds were detected in each two-week composite sample, iii) the sum of pesticide concentrations was above 1 µg/L in nearly 80% of samples. As expected, herbicides had highest detection frequencies and concentrations, followed by fungicides and insecticides. During the entire study period, a risk for aquatic organisms could not be excluded because: i) the chronic EQS was exceeded for 19 polar to semi-polar pesticides (mainly herbicides and insecticides) and four non-polar insecticides in at least one sample, ii) 70% of the samples showed at least one exceedance of an EQS for a single substance and iii) using a mixture toxicity approach, exceedances occurred in nearly all samples (up to a factor of 25). Scenario calculations for which only 30–40 frequently measured pesticides were included, were applied to the same samples. It was shown that the number of detected substances and the mixture toxicity would be underestimated on average by a factor of two. In extreme cases, mixture toxicity would even be underestimated by a factor of ten, because one or several relevant substances (insecticides, in particular) were not incorporated into the analysis. Thus, more substances, especially insecticides (e.g. neonicotinoids) need to be incorporated into routine monitoring strategies.

As the results clearly demonstrated that pesticides are posing a risk to aquatic organisms, measures to reduce pesticide loads into surface waters should be discussed with all stakeholders and actions need to be taken on the political level.

ZUSAMMENFASSUNG

Pestizide werden in der Landwirtschaft und in Siedlungsgebieten angewendet und können von dort über verschiedene Wege in die Oberflächengewässer gelangen. Die wichtigsten Eintragspfade sind oberflächliche Abschwemmungen von Landwirtschaftsflächen, Abdrift während der Applikation und Einträge über die Kläranlagen. Pestizide werden unterteilt in Pflanzenschutzmittel (PSM), welche zum Schutz der Pflanzen vor Schädlingen, Krankheiten und Unkräutern angewendet werden, und Biozide, welche andere Materialien wie z.B. Gebäudefassaden vor dem Befall von verschiedenen Organismen schützen sollen. Pestizidrückstände, zusammen mit deren Transformationsprodukten (TPs), welche im Boden oder im Wasser gebildet werden, wurden bereits häufig in Fließgewässern nachgewiesen. Es hat sich gezeigt, dass das Auftreten von Pestiziden im Gewässer ein Risiko für aquatische Lebensgemeinschaften darstellen kann. Eine umfassende Bewertung der Pestizidexposition in Fließgewässern ist daher extrem wichtig, stellt aber hohe Anforderungen an die Analytik und an die Probenahme: i) es braucht eine analytische Methode, die möglichst das gesamte Pestizidspektrum abdeckt - ca. 400 organisch-synthetische Substanzen mit sehr unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften sind zurzeit in der Schweiz zugelassen, ii) aufgrund der z.T. sehr tiefen ökotoxikologisch basierten Grenzwerte (z.B. Neonicotinoid-Insektizide, Pyrethroid-Insektizide) müssen die analytischen Methoden empfindlich genug sein, um Pestizidrückstände in Spurenkonzentrationen (ng/L- oder sogar pg/L-Bereich) messen zu können, iii) Probenahmestrategien, welche die tatsächliche Belastung eines Gewässers repräsentieren, die aber auch in der Praxis anwendbar sind, müssen vorhanden sein. Derzeitige Gewässer-Monitoring Programme oder wissenschaftliche Studien untersuchen oft nur zwischen 10 und 40 verschiedene Pestizide (häufig Herbizide oder ehemals wichtige Insektizide). Moderne Insektizide, aber auch Fungizide und TPs sind häufig nicht in der Substanzauswahl. Hinzu kommt, dass für einige sehr toxische Substanzen (z.B. Pyrethroide) die heutigen Nachweisgrenzen weit über den definierten Umweltqualitätskriterien (EQS, aus Englisch: *environmental quality standards*) liegen. Diese Faktoren können daher zu einer fehlerhaften Interpretation der Ergebnisse führen.

Das erste Ziel dieser Arbeit war deshalb die Entwicklung analytischer Methoden und Probenahmestrategien, die eine umfassende Beurteilung der Pestizidexposition in Fließgewässern erlauben. Das zweite Ziel war, die entwickelten Tools in einer grossen, repräsentativen Feldstudie anzuwenden und damit die tatsächliche Pestizidbelastung und das damit verbundene Risiko für Gewässerorganismen zu identifizieren.

Um das erste Ziel zu erreichen, wurde in einem ersten Schritt eine analytische Methode basierend auf Festphasenextraktion und Detektion mittels Flüssigchromatographie – gekoppelt an die hochauflösende Massenspektrometrie (LC-HR-MS/MS, aus Englisch: *liquid chromatography high-resolution tandem mass spectrometry*) optimiert. Dabei wurde eine kombinierte *Target-* und *Suspect-Screening* Methode entwickelt und auf fast alle zugelassenen

polaren organischen Pestizide angewendet. Pestizide, welche aufgrund theoretischer Überlegungen als *für Oberflächengewässer relevant* eingestuft wurden (ca. 90 Substanzen), wurden mit einer klassischen *Target*-Methode mittels Referenzstandards und Isotopenmarkierten internen Standards quantifiziert. Mit einem semi-automatischen *Suspect Screening* wurde geprüft, ob die weiteren Pestizide in den Gewässerproben auftreten. Nur durch die Information der exakten Masse jeder Substanz wurden mittels einer Software Peaks aus dem Chromatogramm gefiltert. Die nachträglichen Filter-Kriterien wie die Subtraktion des Blindwertes, die Begrenzung der Peakgrösse, die Bewertung der Peakform und des Isotopenmusters wurden optimiert, um fälschlicherweise detektierte Hintergrundpeaks (z.B. Umweltmatrix) zu entfernen. Die Validierung des optimierten Workflows zeigte, dass 70% aller Peaks mittels *Suspect Screenings* gefunden wurden. Die meisten der verpassten Peaks hatten jedoch nur sehr geringe Intensitäten. Durch die Anwendung des *Suspect Screenings* konnten zusätzlich 25 Pestizide und 5 TPs detektiert werden. Diese wurden später mittels hinzugekauften Referenzstandards bestätigt und quantifiziert. Zwei TPs wurden dabei zum ersten Mal in der Umwelt nachgewiesen. Das *Suspect Screening* hat somit den Vorteil, dass nur für Substanzen, die fast eindeutig bestätigt werden konnten, ein Referenzstandard beschafft werden muss. Das ist insbesondere für TPs, für welche oft kein Referenzstandard kommerziell zur Verfügung steht, von Bedeutung. Mit dieser Methode konnten 86% aller polaren organischen Pestizide, die in der Schweiz verkauft werden, mit tiefen Nachweisgrenzen detektiert werden. Durch weitere Verbesserungen kommerzieller Software und aufgrund erwarteter kostengünstigerer Analyseninstrumente könnte diese Methode in naher Zukunft auch in Routine-Monitorings von Bedeutung sein.

Im zweiten Schritt wurde getestet, inwiefern sich die passive Probenahmestrategie (im folgenden *Passive Sampling* genannt) mittels SDB *Passive Sampler* (Styrenedivinylbenzene-Polymer, Chemcatcher[®]) für die qualitative und quantitative Bewertung der Pestizidbelastung eignet. Dazu wurden in fünf Schweizer Fliessgewässern über fünf Monate 44 Wasserproben (Zweiwochenmischproben) genommen. An den gleichen Standorten und während denselben Zeitintervallen wurden SDB *Passive Sampler* installiert. Alle Proben wurden mittels LC-HR-MS/MS auf über 300 organische Mikroschadstoffe (Pestizide, Pharmazeutika, Industriechemikalien) analysiert. Mit beiden Probenahmestrategien konnten über 200 Substanzen mindestens einmal nachgewiesen werden und die Nachweisgrenzen waren im Durchschnitt vergleichbar. Dies zeigt das grosse Potential, das SDB *Passive Sampler* für ein qualitatives Screening haben. Für fast 100 Substanzen konnte mit diesem Versuchsaufbau eine Sammelrate bestimmt werden, welche für die Umrechnung der *Passive Sampler*-Konzentrationen auf die Wasserkonzentrationen nötig ist. Wenn die Konzentration in den Gewässern stark fluktuierte – was häufig bei Pestiziden der Fall ist – war die Quantifizierung durch die *Passive Sampler* jedoch mit grösseren Unsicherheiten verbunden. Dies bedeutet, dass *Passive Sampling* für polare und semi-polare Pestizide hauptsächlich in Gebieten von Vorteil ist, wo es aus logistischen Gründen nicht möglich ist, einen automatischen Probenehmer zu installieren.

Für extrem toxische, unpolare Insektizide (Pyrethroide, Organophosphate), welche mit der LC-HR-MS/MS Methode nicht gemessen werden konnten, hat sich *Passive Sampling* mittels Silikon-Polymer als äusserst empfindlich bewährt. Verschiedene Studien mit anderen unpolaren Substanzen haben gezeigt, dass Silikon-Polymer sehr hohe Sammelraten von 10-100 L/d aufweist. Dieser *Passive Sampler*-Typ wurde bisher nie für unpolare Pestizide verwendet. Deshalb wurde eine analytische Methode basiert auf einer effizienten und schnellen Extraktion mittels beschleunigter Lösemittelextraktion (ASE, aus Englisch: *accelerated solvent extraction*), einer optimierten Aufreinigung durch eine kombinierte Kieselgel/C18-Säule und einer sensitiven und selektiven Detektion mittels Gaschromatographie gekoppelt an die Massenspektrometrie (GC-MS/MS) entwickelt und validiert. Damit konnten die zwölf analysierten Insektizide mit Nachweisgrenzen im pg/L-Bereich nachgewiesen werden. Da keine substanzspezifischen Sammelraten bestimmt werden konnten, verbleibt die Quantifizierung jedoch mit grossen Unsicherheiten behaftet. Es ist folglich wichtig, mehr Forschung für die Bestimmung dieser Sammelraten zu betreiben und den gesamten Aufarbeitungsprozess weiter zu optimieren.

Um das zweite Ziel zu erreichen, wurden die entwickelten Tools in einer grossen Feldstudie angewendet. Dabei wurden zwischen März und Juli 2012 fünf mittelgrosse, repräsentative Schweizer Fliessgewässer mit unterschiedlicher landwirtschaftlicher und urbaner Nutzung in ihren Einzugsgebieten untersucht. Die Resultate zeigten, dass die Exposition der Fliessgewässer mit Pestiziden höher ist als bisher identifiziert: über 100 Pestizide und mehr als 40 TPs wurden mindestens einmal nachgewiesen, zwischen 30-50 Pestizide in jeder Probe mit Konzentrations-Summen von über 1 µg/L in 80% der Proben. Wie erwartet wiesen Herbizide die höchsten Konzentrationen auf, gefolgt von den Fungiziden und Insektiziden. Während der gesamten Untersuchungsdauer konnten negative Effekte auf Gewässerorganismen nicht ausgeschlossen werden, wie eine Risikoanalyse zeigte: der chronische EQS wurde für 19 polare Pestizide (hauptsächlich Herbizide und Insektizide) sowie für vier unpolare Insektizide mindestens einmal überschritten, 70% aller Proben wiesen mindestens eine Überschreitung auf und ein Mischungstoxizitäts-Ansatz hat Überschreitungen in fast jeder Probe angezeigt (Richtwert wurde bis zu 25 mal überschritten). Berechnungen für Szenarien, bei denen die gleichen Proben mit nur 30-40 häufig gemessenen Pestiziden ausgewertet wurden, zeigten, dass die Anzahl detektierter Substanzen sowie die Mischungstoxizität im Schnitt um einen Faktor zwei tiefer lagen als die Auswertungen mit dem fast vollständigen Pestizid-Screening ergaben. Im Extremfall wäre die Mischungstoxizität sogar um einen Faktor zehn unterschätzt worden, da eine oder mehrere relevante Pestizide (hauptsächlich Insektizide) in diesen Szenarien nicht mit inbegriffen waren. Für zukünftige Monitoring-Strategien ist es also wichtig, dass zusätzliche Substanzen, speziell Insektizide (z.B. Neonicotinoide) in die Standardanalytik aufgenommen werden.

Da die Resultate klar zeigten, dass die Pestizide im Fliessgewässer ein Risiko für aquatische Organismen darstellen, müssen Möglichkeiten zur Reduktion des Pestizideinsatzes und des Pestizideintrags in die Gewässer mit allen Beteiligten diskutiert werden und Massnahmen auf politischer Ebene getroffen werden.