



UNIVERSITAT^{DE}
BARCELONA

Drogues en el medi aquàtic: de les aigües residuals a l'aigua potable

Maria Huerta Fontela



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 3.0. Spain License.**



Programa de Doctorat “Química Analítica del Medi Ambient i la Pol·lució”

**DROGUES EN EL MEDI AQUÀTIC: DE LES AIGÜES RESIDUALS
A L’AIGUA POTABLE**

Memòria presentada per tal d’optar al títol de Doctora
per la Universitat de Barcelona per na

Maria Huerta Fontela

Directors de la tesi:

Dra. M^aTeresa Galceran i Huguet
Departament de Química Analítica
Universitat de Barcelona

Dr.Francesc Ventura Amat
Departament de Química Orgànica-Analítica
AGBAR-Aigües de Barcelona

Barcelona, Octubre de 2015

La Dra. **Maria Teresa Galceran i Huguet**, professora emèrita del Departament de Química Analítica de la Universitat de Barcelona, i el Dr. **Francesc Ventura Amat**, del Departament de Química Ambiental IDAEA-CSIC,

FAN CONSTAR

Que la present memòria titulada “*Drogues en el medi aquàtic: de les aigües residuals a l'aigua potable*”, ha estat realitzada sota la nostra direcció per la Sra. **Maria Huerta Fontela** en el Departament de Química Orgànica-Analítica del Laboratori d'Aigües de Barcelona i que tots els resultats presentats són fruit de les experiències realitzades per la citada doctoranda.

I perquè així es faci constar, expedim i firmem el present certificat.

Barcelona, Octubre 2015

Dra. Maria Teresa Galceran i Huguet

Dr. Francesc Ventura Amat

Quan surts per fer el viatge cap a Ítaca
has de pregar que el camí sigui llarg,
ple d'aventures, ple de coneixences.

Els Lestrígons i els Cíclops,
l'àirat Posidó, no te n'esfereixis:
són coses que en el teu camí no trobaràs,
no, mai, si el pensament se't manté alt,
si una emoció escollida
et toca l'esperit i el cos alhora.

Itaca - Kostantin Kavafis

AGRAÏMENTS

Vull donar les gràcies, en primer lloc, als meus directors de tesi, la Dra. Maria Teresa Galceran i el Dr. Francesc Ventura, per haver-me donat la oportunitat de realitzar aquesta tesi, per la seva confiança, pels coneixements compartits i per ensenyar-me a gaudir de cada nou repte i fita assolida.

Als meus antics companys del grup CECEM pels bons moments viscuts plegats i en els darrers temps per haver-me assistit en els moments de crisi burocràtica, gràcies Hèctor, Oscar i Èlida.

Al Sr. Leonard Matia i al Sr. Miquel Paraira, caps del Laboratori d'Aigües de Barcelona, per haver-me permès realitzar la meva tesi doctoral en aquest laboratori, i als meus antics companys d'Aigües de Barcelona, per tots els anys intensos que vam viure plegats, per tots els bons moments i pels consells i cafès compartits quan més ho necessitava, gràcies.

Als meus companys del Laboratori de l'Àrea Metropolitana de Barcelona, per haver-me acollit des del primer dia amb els *pongos* oberts. Sou tots i cada un de vosaltres unes persones excel·lents i és un plaer i un orgull treballar amb vosaltres. A la Dra. Mercè Aceves, cap del laboratori de l'AMB, per confiar en mi des del primer moment, pels bons consells, pel seu suport i per animar-me a acabar aquesta tesi innumerables vegades.

Als meus amics d'ara i de sempre, Núria, Gonzalo, Raúl, Leticia, Dani, Raquel, Roger, Demelsa, Jan, Elisa, Álvaro i Nurieta, per estar sempre que us he necessitat, per respectar els moments en que m'he enfosquit i per fer-me sentir afortunada de tenir-vos al meu costat. Tenim pendents un munt de coses!

A la meva família, als que hi son i als que ja no, als meus tiets, cosins i nebots sou el meu lloc al món. A la meva àvia, sé que allà on siguis tindràs un somris als llavis. A la meva mare, gràcies per donar-m'ho tot, per ensenyar-me a buscar i creure en els meus horitzons i per estar incondicionalment al meu costat.

A l'Oriol, el meu marit, per ser l'altra meitat d'aquesta tortuga sobre la que caminen els quatre elefants que fan girar el nostre món. Per recolçar-me durant tot aquest temps, per animar-me a seguir, per les hores de canguratge extrem i fer-me riure quan més ho necessitava. Sense tu no hauria estat possible.

I a la meva filla, Laia tot això és per tu, per demostrar-te que si t'ho proposes res en aquest món és impossible. Tu pots arribar allà on vulguis.

RESUM

La presencia de substàncies d'origen antropogènic en el medi aquàtic és una de les fites importants a les que actualment s'ha d'enfrontar la química ambiental. En la darrera dècada les drogues d'abús s'han sumat al conjunt de compostos identificats en les aigües demostrant que el medi aquàtic es un reflex fidedigne de les activitats i hàbits d'aquells qui hi incideixen directament, els éssers humans. L'important consum a escala mundial d'aquestes substàncies així com la seva excreció en forma inalterada o com a metabòlits coneguts, expliquen la seva presencia a concentracions detectables en l'aquífer on arriben a través de les aigües residuals. La preocupació pels efectes encara desconeguts que aquestes substàncies amb propietats psicoactives potents poden representar per al ecosistema, creix exponencialment a mida que es coneix la extensió i ubiqüitat del problema.

En aquesta tesi en primer lloc s'ha establert un mètode per a la determinació de les drogues d'abús en matrius aquoses mitjançant cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem. S'han optimitzat els diferents paràmetres per tal d'obtenir la màxima eficàcia i resolució en el mínim temps d'anàlisi possible i que permeti l'anàlisi simultània de tots els compostos. S'han establert les condicions cromatogràfiques, composició de la fase mòbil, temperatura de columna i la utilització de gradients no lineals obtenir una separació cromatogràfica per a quinze drogues d'abús estimuladores en menys de cinc minuts i de vint-i-sis drogues estimuladores i depressores en menys de 9 minuts. L'acoblament a l'espectrometria de masses en tàndem seleccionant dues transicions, una de quantificació i una altra de confirmació, en el mode d'adquisició de MRM, han permès obtenir un mètode selectiu i fiable. S'ha optimitzat un procediment d'extracció en fase sòlida que ha permès disposar d'un mètode suficientment sensible per detectar les drogues d'abús en les diverses matrius aquoses estudiades (aigües residuals, superficials i potables).

El mètode establert ha estat emprat per a la determinació de les drogues d'abús en el medi aquàtic. En primer lloc l'anàlisi de les drogues d'abús en aigües residuals ha posat de manifest la presencia de dotze de les quinze drogues estudiades, entre les quals cal esmentar la cafeïna, la nicotina, la cocaïna i l'èxtasi entre d'altres, en quaranta estacions depuradores estudiades arreu de la geografia catalana. Algunes d'aquestes substàncies tot i ser eliminades

parcialment durant el tractament de depuració són també presents en les aigües de sortida abocades a les aigües superficials. L'estudi de les aigües superficials realitzat mostra la presència d'algunes de les drogues d'abús, com per exemple, la cocaïna i l'èxtasi entre d'altres, en tota la conca del riu Llobregat el qual s'ha estudiat del naixement a la desembocadura per tal d'avaluar els efectes dels múltiples factors que hi incideixen com poden ser els abocaments d'aigües residuals, l'atenuació natural o l'efecte de dilució i/o concentració que poden tenir alguns dels efluent que hi conflueixen. Els resultats obtinguts mostren una tendència a un augment creixent de les concentracions de les drogues d'abús a mida que el riu s'apropa a les zones més densament poblades amb majors pressions ambientals. Tant en les aigües residuals com en les superficials s'han realitzat estudis per tal d'avaluar les variacions estacionals o setmanals a les que es troben sotmeses aquestes substàncies. Per a alguns compostos, com l'èxtasi (MDMA) s'han observat importants augments durant el cap de setmana, probablement fruit del seu consum recreatiu mentre que per la cocaïna s'han detectat tan sols lleugers increments durant aquests dies suggerint per tant un consum més sostingut que l'anterior. En aquesta mateixa línia s'han realitzat estudis durant èpoques concretes com Nadal, que han posat de manifest augments molt destacables en les concentracions d'algunes substàncies com la cocaïna i l'èxtasi durant aquestes dates.

La presència de les drogues d'abús en aigües superficials emprades per a la producció d'aigües de beguda ha conduït, en la darrera part d'aquest treball, a estudiar el comportament d'aquestes substàncies en el tractament de potabilització. Aquest estudi s'ha estès també a una altra família de contaminants d'origen antropogènic, els fàrmacs. Els resultats obtinguts han demostrat que si bé la majoria de les drogues d'abús i fàrmacs estudiats són eficientment eliminats, alguns són capaços de sobreviure i trobar-se en les aigües finals encara que a baixos nivells de concentració. A més, juntament amb aquests compostos més recalcitrants, l'estudi de formació i presència de subproductes de les ATSs, ha posat de manifest la formació de dos subproductes de desinfecció clorats, un dels quals també es capaç de sobreviure el tractament. La confirmació de la presència de les drogues d'abús, juntament amb els fàrmacs, en les aigües de beguda tanca el recorregut d'aquestes substàncies pel cicle de l'aigua que s'inicia en el moment de ser introduïdes en el medi aquàtic i representa un aspecte rellevant a ser considerat juntament amb la generació de subproductes, en els estudis de la presència de noves espècies potencialment perilloses en l'aigua.

ÍNDIX

OBJECTIUS I ESTRUCTURA	1
1 – INTRODUCCIÓ	7
1.1. Drogues d'abús: Problemàtica	11
1.2. Drogues d'abús: Propietats farmacològiques, físico-químiques i metabolisme.....	16
1.2.1. Drogues d'abús estudiades	22
1.3. Resum històric de la presència de les drogues d'abús en el medi aquàtic	40
1.4. Toxicitat i ecotoxicitat de les drogues d'abús	42
2 – MÈTODES D'ANÀLISI	45
2.1. Introducció	47
2.1.1. Mètodes de tractament de mostra	47
2.1.2. Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses	56
2.2. Treball Experimental	66
2.2.1. Article Científic I: <i>Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters</i>	67
2.2.2. Treball experimental addicional: Mètode multi-residu per a l'anàlisi simultani de vint-i-sis drogues d'abús	79
2.3. Discussió de Resultats	91
2.4 Conclusions	99

3 – PRESENCIA EN EL MEDI AMBIENT	101
3.1. Introducció	103
3.1.1. Article Científic II: <i>Illicit Drugs in the Urban Water Cycle</i>	105
3.1.2. Presència de les drogues d'abús en el medi aquàtic: Situació actual 2010-2015	129
3.1.3. Drogues d'abús com a biomarcadors en aigües residuals	139
3.2. TREBALL EXPERIMENTAL	144
3.1.2. ARTICLE CIENTÍFIC III: <i>Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain</i>	145
3.3.2. ARTICLE CIENTÍFIC IV: <i>Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant</i>	159
3.3. DISCUSSIÓ DE RESULTATS	179
3.3.1. Presència de les drogues d'abús en aigües residuals i eliminació en EDARs	179
3.3.2. Presència de les drogues d'abús en aigües superficials	183
3.3.3. Variacions temporals	187
3.3.4. Biomarcadors d'aigües residuals, càlculs de consum i estudis epidemiològics	193
3.4. CONCLUSIONS	198
 4 – AIGÜES POTABLES I SUBPRODUCTES DE DESINFECCIÓ	201
4.1. INTRODUCCIÓ	203
4.1.1. Drogues d'abús en els tractaments d'obtenció d'aigua potable	204
4.1.1.1 ARTICLE CIENTÍFIC V: <i>Presence and removal of illicit drugs in Conventional Drinking Water Treatment Plants</i>	205

4.1.2. Presència i eliminació de les drogues d'abús estimuladores en els tractaments d'aigües potables: 2011-2015	225
4.1.3. Formació de subproductes de desinfecció en tractaments d'aigua potable ...	227
4.1.4. Fàrmacs en els tractaments d'obtenció d'aigua potable.....	231
4.1.4.1. ARTICLE CIENTÍFIC VI: <i>Traceability of emerging contaminants from wastewater to drinking water</i>	233
4.1.5. Presència i eliminació dels fàrmacs en els tractament d'aigües potables: 2010-2015	261
4.2. TREBALL EXPERIMENTAL	266
4.2.1. ARTICLE CIENTÍFIC VII: <i>Identification of new chlorinated amphetamine type stymulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment</i>	267
4.2.2. ARTICLE CIENTÍFIC VIII: <i>Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment</i>	283
4.3. DISCUSSIÓ DE RESULTATS	299
4.3.1. Evolució de la presència de les drogues d'abús i fàrmacs durant els tractaments de potabilització.....	299
4.3.2. Subproductes de desinfecció.....	308
4.3.3. Rellevància toxicològica de la presència de drogues i DBPs en aigües de beguda	313
4.4. CONCLUSIONS.....	316
CONCLUSIONS GENERALS.....	319
BIBLIOGRAFIA	325
ABREVIATURES I ACRÒNIMS.....	352

OBJECTIUS I ESTRUCTURA

OBJECTIUS I ESTRUCTURA

La problemàtica associada a la presència de contaminants en el medi ambient es deriva principalment dels efectes que la seva presència i persistència poden tenir sobre la integritat de l'ecosistema i la salut de l'esser humà. Entre els compostos introduïts en el medi n'hi ha alguns per als quals existeix una regulació específica que en limita el seu abocament i presència en el medi aquàtic i d'altres, coneguts actualment com a “*compounds of environmental concern*”, que no es controlen ni s'analitzen habitualment en el medi ambient, però que es sospita que poden produir efectes nocius sobre l'ecosistema i/o sobre el propi esser humà i per als quals no existeix cap tipus de regulació específica. L'objectiu d'aquesta Tesi ha estat l'avaluació de la presència de drogues d'abús, compostos que es poden incloure en la segona categoria de contaminants, en el cicle de l'aigua, des de la seva introducció al medi natural a través de les aigües residuals fins a l'aigua de beguda passant per les aigües superficials.

Aquest objectiu general es pot desglossar en una sèrie d'objectius concrets que donen cos al treball inclòs en aquesta memòria i que són els següents:

- Desenvolupar mètodes d'anàlisi per extracció en fase sòlida i cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem (UPLC-MS/MS) que siguin aplicables a diferents matrius d'aigua (residual, superficial i potable) i que permetin determinar un ampli nombre de drogues d'abús de manera ràpida, eficaç i simultània. L'objectiu últim és reduir el temps total d'anàlisi i el cost associat.
- Avaluar la presència de les drogues d'abús en aigües residuals, la eliminació d'aquestes drogues en les estacions depuradores d'aigües residuals (EDARs) i la seva presència en les aigües tractades obtingudes en aquestes estacions que aboquen directament a les aigües superficials.

- Estudiar la presència de les drogues d'abús en aigües superficials i avaluar les fluctuacions relacionades amb descarregues de les EDARs i de les poblacions que hi aboquen així com les variacions estacionals i setmanals a les que es poden veure sotmeses aquestes substàncies.
- Estudiar el comportament de les drogues d'abús en els diferents tractaments emprats en una estació de tractament d'aigües potables (ETAP). Avaluar les eficiències d'eliminació de cadascuna de les etapes del tractament i del tractament total i la presència en les aigües finals de beguda.
- Estudiar la formació de subproductes de desinfecció durant els tractaments de potabilització d'aigües. Amb aquest objectiu s'escolliran les drogues d'abús que es trobin presents amb més freqüència a les aigües de captació, que mostrin percentatges elevats d'eliminació i que presentin una potencial capacitat de generar subproductes.

Per tal d'assolir aquests objectius, aquest treball s'ha estructurat en quatre apartats:

- Una *introducció* on s'inclou informació relacionada amb les característiques de les drogues d'abús estudiades com estructures, propietats físico-químiques i metabolisme que les fan susceptibles de ser presents a les aigües residuals com a productes d'excreció. Aquesta introducció també conté un breu resum històric sobre la presència dels compostos en estudi en matrius ambientals des del seu descobriment fins a l'actualitat així com els possibles efectes toxicològics (i ecotoxicològics) que es poden derivar de la seva presència en el medi ambient.
- El *Capítol 2* està dedicat a l'establiment de metodologia per a l'anàlisi de drogues d'abús mitjançant cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses. Aquest capítol consta d'una introducció on es comenta la metodologia i les tècniques utilitzades a la literatura per a l'anàlisi de les drogues d'abús, d'un apartat on s'inclou el treball experimental, un tercer apartat de discussió de resultats i un últim apartat on es recullen les conclusions. El treball experimental

realitzat es basa per una banda, en l'optimització d'un mètode per a la determinació drogues d'abús estimuladores mitjançant cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem publicat a *Analytical Chemistry*, 79 (2007) 3821-38298, intitulat "*Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface wàters*" i d'un apartat experimental addicional on hi consta el desenvolupant d'un mètode multiresidu per a l'anàlisi simultània de vint-i-sis drogues d'abús tant estimuladores com depressores i alguns dels seus metabòlits.

- En el *Capítol 3* s'avalua la presència de drogues d'abús en aigües residuals i superficials mitjançant els mètodes descrits en l'apartat anterior. L'esquema del capítol és el mateix i inclou una introducció, una part experimental i una discussió de resultats, a part de les conclusions. La primera part d'introducció conté una revisió bibliogràfica sobre la presència de les drogues d'abús en el cicle de l'aigua i la seva capacitat com a biomarcadors d'aigües residuals i inclou un capítol intitulat: "*Illicit Drugs in the Urban Water Cycle*" del llibre *Xenobiotics in the Urban Water Cycle: Mass Flows, Environmental Processes, Mitigation and Treatment Strategies*. Springer Netherlands, 2010. 51-71. En la segona part del capítol es recullen els resultats experimentals obtinguts i publicats en dos articles. El primer d'ells, intitulat "*Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain*" (*Science of the Total Environment* 397,1 (2008), 31-40) inclou l'estudi de la presència de drogues d'abús en aigües residuals i la seva eliminació durant el tractament de depuració, l'avaluació de les variacions setmanals i una aproximació als càlculs de consum a partir de les concentracions ambientals mesurades. El segon intitulat: "*Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant*" publicat a *Environmental Science & Technology* 42.18 (2008): 6809-6816, recull l'estudi de la presència i evolució de les drogues d'abús al llarg de la conca del riu Llobregat, de les variacions estacionals i setmanals i el comportament de les drogues d'abús en el tractament de potabilització. Aquesta última part és discutida en el *Capítol 4*.

- El *Capítol 4* està dedicat a avaluar el comportament de les drogues d'abús en un tractament convencional de potabilització d'una ETAP. Conté com els altres capítols d'aquesta memòria una introducció on es comenta en primer lloc l'estat actual dels estudis sobre aquest tema, reactivitat de les drogues d'abús i formació de subproductes de desinfecció i inclou un treball intitulat: *“Presence and removal of drugs of abuse in Conventional Drinking Water Treatment Plants”* publicat a *Illicit Drugs in the Environment: Occurrence, Analysis and Fate using Mass Spectrometry*. Wiley, Hoboken, 2011. Aquesta introducció conté a més, informació sobre la presència i comportament d'un altre grup de contaminants emergents, els fàrmacs, en els tractaments de potabilització que s'inclou en el treball intitulat: *“Traceability of emerging contaminants from wastewater to drinking water.”* publicat a *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Occurrence, Analysis and Effects*, vol 5. Springer, 2008 . El treball experimental realitzat s'inclou en dos articles, un dedicat a estudiar la presència i eliminació de productes farmacèutics en les plantes potabilitzadores, intitulat: *“Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment”* publicat a la revista *Water Research* 45.3 (2011): 1432-1442 i un altre on s'avalua la formació de subproductes de cloració d'una de les famílies de drogues en estudi, les amfetamines, i la seva presència durant el tractament de potabilització i en les aigües finals tractades, en el treball intitulat: *Identification of new chlorinated amphetamine type stimulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment”* publicat a la revista *Water Research* 46 (2012): 3304-3314.
- Finalment s'inclouen les conclusions generals obtingudes a partir del treball experimental realitzat en aquesta Tesi, així com la bibliografia corresponent.

CAPÍTOL 1 - INTRODUCCIÓ

La presència de contaminants en el medi ambient, i en especial en el medi aquàtic, ha estat àmpliament reconeguda com un dels problemes principals als que s'ha d'enfrontar la química ambiental. Els estudis realitzats en les últimes dècades han permès disposar, no tan sols d'un millor coneixement del medi, sinó també descobrir noves problemàtiques associades a la pròpia activitat humana. Tots i cadascun d'aquests estudis han contribuït a confirmar que el medi aquàtic és un clar, fidel i canviant reflex dels hàbits i activitats dels éssers humans que hi incideixen directament, des dels incipients treballs publicats durant la dècada dels seixanta i inici dels setanta que van revelar la presència de contaminants d'origen humà, especialment residus farmacèutics en el medi aquàtic i el seu efecte sobre l'ecosistema (Carson, 1962), passant pels primers estudis multi-residu realitzats durant la dècada dels vuitanta i l'interès despertat durant els noranta (Richardson i Bowron, 1985, Ternes, 1998, Ternes, 2001), fins els treballs més recents que revelen l'entrada de nous productes en el medi (Daughton, 2011, Richardson i Ternes, 2014), com per exemple els líquids iònics, sals orgàniques usades per la “química verda” (*green chemistry*), o els prions, proteïnes degenerades amb elevat poder infecciosos. La problemàtica associada a l'arribada d'aquestes substàncies al medi ambient es deriva fonamentalment dels efectes potencials que la seva presència i persistència poden tenir sobre la salut de l'esser humà i sobre la integritat del propi ecosistema.

Entre els compostos introduïts en el medi n'hi ha alguns per als quals existeix una regulació específica que en limita el seu abocament i presència en el medi aquàtic, com per exemple els inclosos en la Directiva Marc de l'Aigua en el marc europeu (European Commission, 2002b, European Commission, 2013). Aquests compostos, entre els quals s'inclouen pesticides, hidrocarburs aromàtics policíclics o metalls, entre d'altres, es caracteritzen per la seva persistència, ja sigui perquè s'introdueixen de manera continuada, per les seves característiques físico-químiques que comporten una baixa degradació (compostos recalcitrants), o bé per la seva demostrada toxicitat (OSPAR, 2013).

D'altra banda, hi ha un extens grup de compostos, coneguts com “contaminants emergents” (més modernament: CEC o *compounds of environmental concern*), que són substàncies d'origen natural o sintètic que no es controlen ni s'analitzen habitualment en el medi ambient, però que es sospita que poden produir efectes nocius sobre l'ecosistema o sobre el propi esser humà, i per als quals no existeix cap tipus de regulació específica. La problemàtica associada a la presència d'aquests contaminants en el medi ambient és complexa; existeixen múltiples factors que en dificulten l'ideal

eradicació o, com a mínim, la seva limitació. L'absència d'una legislació específica que en reguli la seva introducció permet que aquests compostos puguin entrar directa i constantment en el cicle de l'aigua sense cap control i, per tant, que les conseqüències i efectes que se'n puguin derivar en un futur siguin encara desconegudes. Tot i així, establir regulacions per a aquests compostos no és una tasca senzilla ni immediata. Degut a l'evolució dels processos industrials, la demanda de la societat i els seus nous usos i costums, cada dia es descobreixen i/o sintetitzen nous productes que en darrer terme són introduïts en el medi. A aquesta llista dinàmica i creixent de compostos se li han de sumar aquells que, tot i que ja no són introduïts en el medi, hi segueixen estant presents degut a que són poc degradables, i també aquells que, tot i ser introduïts a concentracions molt baixes, presenten unes característiques toxicològiques que els fan extremadament perillosos. Davant d'aquesta situació, el principal repte al que s'enfronta la química ambiental consisteix en proporcionar tota la informació possible en referència a aquests compostos. Aquesta informació ha de permetre establir la presència, distribució, disponibilitat i extensió dels contaminants en el medi ambient, avaluar la introducció de nous compostos que puguin tenir un efecte nociu per a la salut d'ambdós, l'ecosistema i els éssers humans, i en darrera instància, avaluar i quantificar aquests riscos per tal de disposar de totes aquelles eines que puguin permetre, en un futur, convertir alguns d'aquests compostos "emergents" en substàncies regulades i, per tant, controlar la seva presència.

Tenint en compte aquesta problemàtica, en aquesta memòria s'ha estudiat un grup de contaminants, les drogues d'abús, que responen a la definició de contaminants emergents, i per als quals la química ambiental ha demostrat preocupació en els darrers anys. Aquestes substàncies s'ajusten perfectament a la premissa que el medi ambient és un reflex fidel de les activitats humanes i, des del descobriment de la seva presència en el medi ambient, han passat a formar part de la llista dinàmica de compostos que normalment s'hi introdueixen.

1.1. DROGUES D'ABÚS: PROBLEMÀTICA

La presència de les drogues d'abús en el medi ambient és deguda fonamentalment per un problema global i generalitzat: el creixent consum d'aquestes substàncies. Segons la *United Nations Office on Drug and Crime* (UNODC), a escala mundial, el consum de drogues il·lícites assoleix xifres elevades entre la població susceptible de consumir-les, la població adulta d'entre 15 i 64 anys. De fet, s'ha estimat que durant l'any 2013, del total de la població mundial, aproximadament uns 7,000 milions d'habitants (United Nations Department of Economic and Social Affairs, 2013), uns 246 milions de persones havien consumit drogues d'abús com a mínim una vegada (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015). Aquests valors no mostren variacions importants des de l'any 2011, quan la xifra era de 240 milions de persones. Això implica que en termes generals, el consum es manté i que aproximadament una de cada 20 persones adultes consumeix drogues d'abús com a mínim una vegada a l'any, estimant-se que, d'aquests, una de cada 10 (uns 27 milions de persones o un 0.6% de la població adulta) presenta problemes de drogodependència.

Pel que fa a les tendències en les substàncies consumides, les dues drogues il·lícites més consumides els darrers anys són el cànnabis (~180 milions de persones) i els estimulants de la família de l'amfetamina (ATS) (~ 33 milions de persones) (Taula 1.1). Resulta també destacable el consum d'opioides, incloent heroïna, opi i fàrmacs derivats usats amb finalitats no terapèutiques (~ 32 milions de persones) (Taula 1.1). Finalment, per la cocaïna es registra un menor nombre de consumidors (~16 milions de persones).

Taula 1.1. Consum de drogues d'abús. Percentatge de població adulta entre 15 i 64 anys que consumeix drogues almenys una vegada l'any. Adaptada de (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015).

	Percentatge consum 2013	Evolució 2008-2013
Cànnabis	2.7-4.9	4.3-4.9
Opioides	0.6-0.8	0.8-0.8
Cocaïna	0.4-0.4	0.4-0.4
ATSs	0.3-1.1	1.2-1.1
Èxtasi	0.2-0.6	0.6-0.6
Total drogues	3.4-7.0	-

Aquestes dades tan sols representen la situació global de consum, i de fet, existeixen importants variacions tant a nivell temporal com espacial, donades les tendències canviants en el consum de determinades substàncies, el nombre i/o perfil dels consumidors i/o la seva evolució. Per exemple, pel que fa referència a la distribució espacial, les diferències són significatives en funció de les zones geogràfiques. A la Figura 1.1 es mostren els perfils de consum de les drogues d'abús en funció de zones geogràfiques a partir de les dades publicades per l'UNODC en el darrer "World Drug Report 2015" (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015).

En termes generals, com es pot observar en la Figura 1.1, en totes les zones geogràfiques de les que es disposa de dades de consum de drogues d'abús, el cànnabis és la droga més consumida amb diferència. A Amèrica del Nord el consum d'aquesta substància arriba al 11.6% de la població (15-64 anys), mentre que aquest percentatge s'enfila fins al 25% entre els estudiants d'institut nord-americans (Johnston i cols., 2012). Amèrica central i del sud i Oceania presenten percentatges similars, de l'11% i 10.7% respectivament, mentre que Àsia (1.9%), Europa (4.3%) i Àfrica (7.5%) el consum és més baix. Les millores en les tècniques de cultiu de la planta de cànnabis juntament amb una menor percepció de risc associat al seu consum, condueixen, segons la UNODC, a una distribució global, continuada i en augment del consum d'aquesta substància arreu del món. Tot i així, el consum de la resta substàncies presenta perfils diferenciats en funció de la zona geogràfica.

A Amèrica del Nord, que es considera el principal consumidor de drogues d'abús a nivell mundial en termes de percentatge de població, els opioides, incloent opiacis i opioides de prescripció mèdica, són les substàncies més consumides, al marge dels cannabinoides, amb una prevalença que arriba a un 3.8% de la població i una tendència a l'augment, especialment dels opioides de prescripció. La cocaïna (1.7%), els estimulants amfetamínics (1.4%) i l'èxtasi (0.9 %) presenten consums menors tot i que representen en total uns 12 milions de consumidors. A Amèrica Central i del Sud, en canvi el perfil de consum és molt diferent, i la cocaïna és la droga d'abús predominant (al marge del cànnabis) amb percentatges d'ús al voltant del 2.4% de la població, que es justifica segons l'UNODC, per la proximitat a les zones de producció, a la fàcil disponibilitat i al baix preu al que es pot adquirir. Cal destacar, també, que en algunes regions d'Amèrica Central, el predomini del consum d'ATSs supera la mitjana global, amb valors particularment elevats que arriben fins el 3.3 %.

Pel que fa referència a Àsia, les ATSs són les drogues que presenten un major consum (0.7%), després del cànnabis, seguides pels opioïdes (0.4%) (especialment l'heroïna). En concret, en els darrers anys s'ha observat una marcada tendència a l'increment del consum de les drogues sintètiques de tipus amfetamínic, especialment la metamfetamina, en les regions centrals i de l'est, amb percentatges entre 0.2 i el 1.3% per a aquestes últimes. Pel que fa a Oceania s'observa també un perfil de consum similar a l'asiàtic, amb els opioïdes (2.9%) com a substàncies prevalents al marge dels cannabinoides seguides per les ATSs (2.1%) i la cocaïna (1.6%). En aquest cas es destacable el consum de substàncies psicoactives i concretament d'èxtasi, els percentatges de predomini del qual romanen molt més elevats que la mitjana global mundial.

Per últim, a Europa després del cànnabis, la cocaïna havia estat la segona droga més consumida, al voltant del 1.2 % de la població adulta, seguida pels opiacis fins el 2011 (United Nations-Office on Drug and Crime, 2014). Tot i així el darrer informe publicat per la UNODC el 2015, posa de manifest una inversió en aquesta tendència, suggerint un increment del consum d'opiacis (0.8%) especialment els de prescripció mèdica, acompanyada d'una disminució en el consum de cocaïna (0.7%) fruit d'una modificació en les tendències de consum.

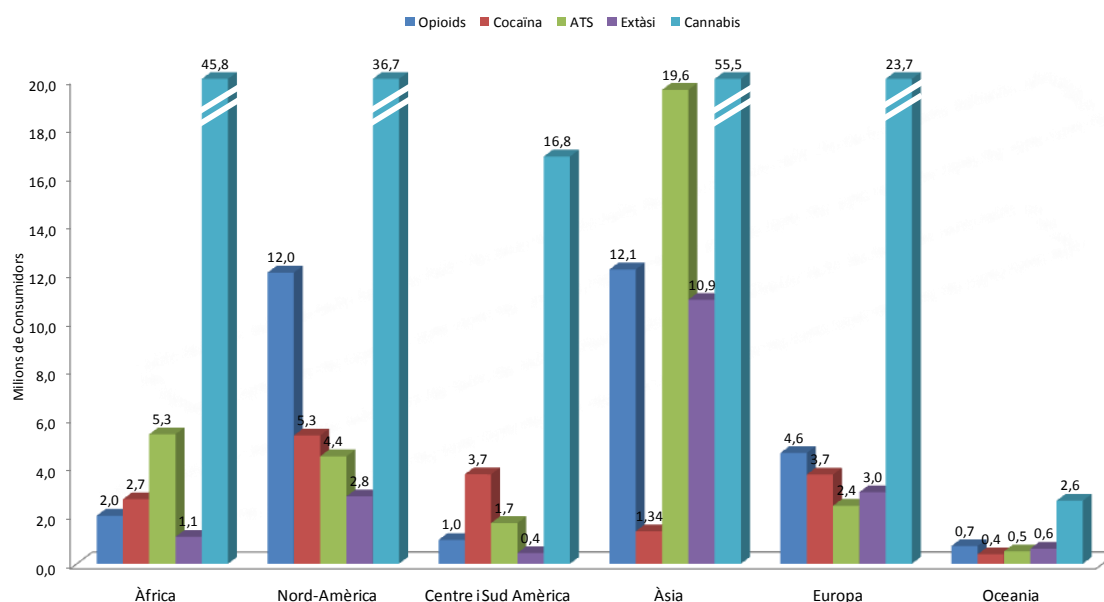


Figura 1.1. Consum de drogues il·lícites (milions de consumidors). Adaptat a partir de les dades de la UNODC en funció de les zones geogràfiques (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015). Opioids: opiacis i opioïdes de prescripció mèdica, ATS: amfetamina, metamfetamina i estimulants de prescripció mèdica.

Aquests percentatges de consum representen una aproximació general per zones a nivell mundial, tot i així, en un mateix continent o zona seleccionada poden existir variacions en les distribucions i percentatges de consum. A Espanya, on s'han realitzat la majoria dels estudis inclosos en aquesta memòria, s'observen els mateixos perfils de consum que els descrits per Europa, tot i que, els percentatges de consum mostren importants diferències per algunes d'aquestes substàncies respecte la mitjana europea. A la Figura 1.2 es mostren les dades extretes d'un informe recent realitzat pel Ministeri de Sanitat, l'EDADES (Ministerio de Sanidad, 2015), que inclou 23 substàncies, i que permet obtenir una visió aproximada del consum local de substàncies d'abús a Espanya. Aquest estudi realitzat a partir d'enquestes entre la població adulta (15-64 anys) revela un consum majoritari de substàncies legals com el tabac, l'alcohol i sedants, consum que segons aquest estudi, ha augmentat de l'any 2011 al 2013. Pel que fa referència al consum de substàncies il·lícites, aquest ve encapçalat com a Europa, pel cànnabis però destaquen els nivells de consum de cocaïna que són molt elevats, tripliquen les mitjanes europees i dupliquen les dels Estats Units, (EMCDDA, 2012, United Nations-Office on Drug and Crime, 2015). Tot i així, el consum de cocaïna i de les ATSS sembla presentar una lleugera tendència a la disminució, a Espanya, a partir de l'any 2011.

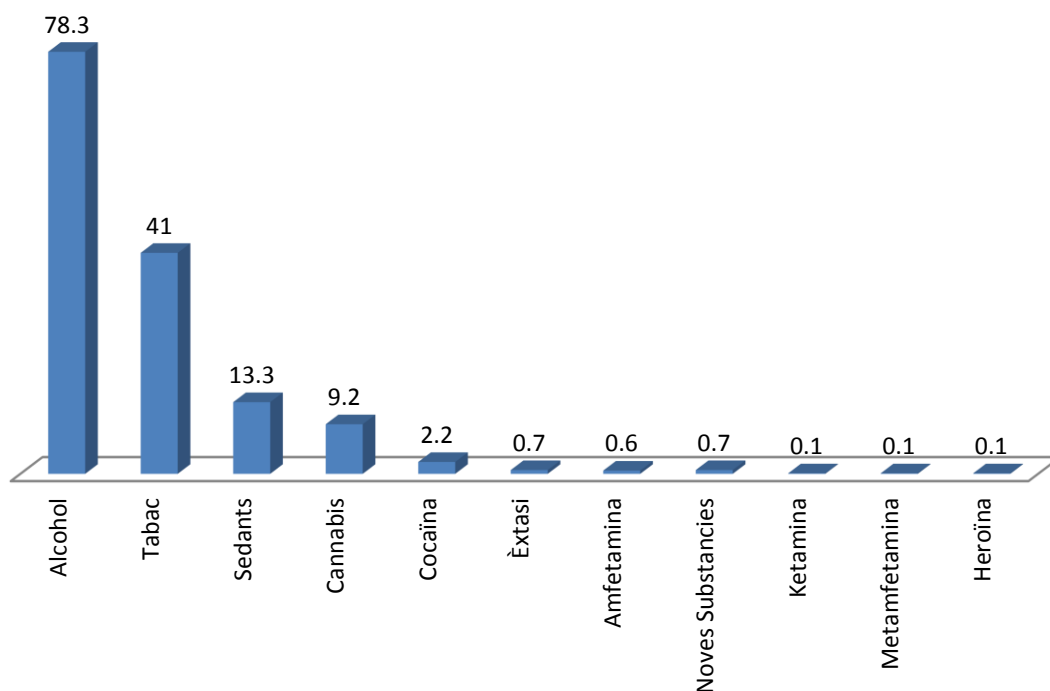


Figura 1.2. Consum de drogues (%) a Espanya (2013) entre la població adulta (Ministerio de Sanidad, 2015).

Totes aquestes dades posen de manifest l'elevat i variat consum de les drogues d'abús a nivell mundial, consum que està íntimament relacionat amb la seva presència en el medi aquàtic. En funció de l'ús, cal esperar trobar diferents distribucions tant en les concentracions com en el tipus de drogues psicoactives identificades en el medi ambient a nivell local i regional. Aquestes diferències, a més, són susceptibles de patir variacions no només en l'espai (entre regions) sinó també en el temps, ja que el consum es pot associar a situacions socioeconòmiques canviants, disponibilitat o tendències temporals, les quals poden modificar els perfils de consum i, per tant, la seva presència en el medi. Cal tenir en compte, també, l'aparició de noves substàncies psicoactives sintètiques, espècies que poden variar ràpidament, aparèixer tan sols durant un breu període de temps en forma de múltiples substàncies noves amb propietats i característiques desconegudes, tal i com revela l'informe EDADES (Ministerio de Sanidad, 2015) i el World Drug Report 2015 (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015), i que poden representar la introducció en el medi ambient nous contaminants desconeguts fins avui.

1.2. DROGUES D'ABÚS: PROPIETATS FARMACOLÒGIQUES, FÍSICO-QUÍMIQUES I METABOLISME

Històricament, el terme “droga” s’ha emprat per definir substàncies d’origen natural o sintètic emprades amb finalitats terapèutiques per a tractar diferents malalties. En aquesta línia, una de les primeres definicions del terme droga acceptada per la *World Health Organization* és la donada per Kramer i Cameron (Kramer i Cameron, 1975), que defineixen “droga” com “qualsevol substància que, introduïda en un organisme viu, en pot modificar la seva estructura o funcions”. Aquesta definició ha evolucionat a fi d’especificar els efectes associats, de manera que avui dia es defineix com “aquella substància química que altera la percepció, consciència i emocions d’un ésser viu” (United Nations International Drug Control Programme.Laboratory Section, 2003). Pel que fa referència al concepte de “droga il·lícita”, aquest encara genera més controvèrsies (Sussman i Ames, 2008), les quals provenen fonamentalment del fet que el terme “il·lícit” no té perquè ser sinònim de “il·legal”. El cas de molts fàrmacs usats com a drogues d’abús amb finalitats diferents a les de la prescripció habitual, com poden ser la morfina o l’oxicodona, en són un bon exemple. La *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNODC) estableix com a única distinció entre lícit i il·lícit la forma de consum de la substància; en concret, per considerar un origen com il·lícit té en compte la forma en que les substàncies són produïdes, distribuïdes, adquirides i consumides (United Nations Office on Drugs and Crime, 2009). Aquesta discussió pot ampliar-se, a més, si es prenen en consideració els potencials efectes de les substàncies definides com lícites o il·lícites, o les legislacions particulars de cada país o regió.

En aquesta memòria, a més, s’utilitza el concepte “droga d’abús” per tal d’incloure també aquelles substàncies que no es troben incloses en la classificació farmacològica de la UNODC i que el seu consum és legal i no il·lícit. En concret, aquest terme permet incloure tant la cafeïna com la nicotina, substàncies lícites i legals, però que en alguns casos poden generar dependències i efectes psicoactius similars als d’algunes drogues il·lícites encara que a menor escala.

Les substàncies psicoactives, incloent les drogues il·lícites així com la cafeïna i la nicotina, actuen directament sobre diferents regions del cervell, tot alterant-ne les seves funcions habituals i provocant múltiples efectes. Incideixen sobre el cervell mitjà on hi ha diferents àrees relacionades amb la motivació i els estímuls externs, i sobre el cervell anterior que es troba associat al pensament i als records (World Health Organization, 2004), a través de neurotransmissors, simulant el seu funcionament o bé bloquejant la seva funció habitual. Un dels mecanismes més coneguts de les substàncies psicoactives és la seva capacitat de bloquejar la reentrada del neurotransmissor una vegada que és alliberat, magnificant els seus efectes. En funció del seu mecanisme, les drogues poden actuar com a agonistes, es a dir compostos que s'uneixen i potencien les funcions dels receptors, o com antagonistes, tot bloquejant el seu funcionament habitual.

En funció del seu comportament neurològic diferenciat, les substàncies psicoactives es poden classificar en diferents grups: depressius (alcohol, sedatius, solvents volàtils), estimulants (nicotina, cocaïna, amfetamines, èxtasi), opiacis (morfina i heroïna) i al·lucinògens (PCP, LSD, cànnabis, etc.). A la Taula 1.2 es resumeixen els mecanismes i efectes d'algunes d'aquestes substàncies.

Existeixen, a més, altres classificacions per a aquestes substàncies, des de les que es refereixen a la seva estructura química, origen (natural, sintètic o semi-sintètic), o a l'acció sobre el sistema nerviós (SN) (estimulants o depressors), fins als que utilitzen criteris més aviat socioculturals (drogues dures o toves, legals o il·legals) o als que es refereixen als efectes que poden produir a nivell clínic. Entre les diferents classificacions, en aquesta memòria s'ha optat per a classificar-les en funció del seu efecte o acció sobre el sistema nerviós.

Taula 1.2. Mecanismes d'acció i efectes relacionats amb el consum de drogues d'abús. Adaptada de (World Health Organization, 2004).

Substància	Mecanisme d'acció	Tolerància i síndrome d'abstinència	Ús prolongat
Etanol	Eufòria relacionada amb un augment en l'activitat de la ruta de la dopamina.	Tolerància per augment del metabolisme del fetge i a canvis en els neuroreceptors.	Alteracions estructura i funció del còrtex prefrontal; disminució volum cerebral; discapacitat cognitiva.
Hipnòtics i sedants	Faciliten l'acció dels inhibidors endògens dels neurotransmissors	Tolerància ràpida per canvis en neuroreceptors excepte anticonvulsius.	Disminució de la capacitat retentiva.
Cafeïna	Receptor antagonista dels receptors d'adenosina	Tolerància ràpida. Somnolència, mal de cap i irritabilitat.	Augment de la pressió arterial i ritme cardíac
Nicotina	Activa receptors nicotínico-linèrgics. Augment síntesis i alliberament de dopamina.	Tolerància als factors metabòlics, així com canvis en els receptors.	Difícil dissociar els efectes específics de la nicotina dels de la resta de components del tabac.
Opioides	Activa alguns receptors d'opioïdes presents en àrees del cervell de resposta a substàncies psicoactives (ruta de la dopamina).	Tolerància temporal o permanent en els receptors i a l'adaptació dels mecanismes intracel·lulars.	Canvis permanents en els receptors opioïdes i pèptids associats; alteracions en la resposta a l'estrès i a l'aprenentatge
Cannabinoides	Activen els receptors cannabinoides i l'activitat de la ruta de la dopamina	Tolerància a la majoria d'efectes de manera ràpida.	Reducció permanent capacitat cognitiva. Agreujament de malalties mentals.
Cocaïna	Bloqueja la reabsorció de neurotransmissors com la dopamina i prolonga l'efecte	Es pot desenvolupar una tolerància aguda a curt termini.	Dèficits cognitius, alteracions en còrtex, pèrdua funció motora i disminució capacitat de reacció.
Amfetamines	Augmenten l'alliberament de dopamina i inhibeix la seva reabsorció.	Tolerància ràpida, amb efectes fisiològics i sobre el comportament.	Ansietat, insomni, disminució de l'apetit i de les capacitats cognitives i motores.
Èxtasi	Augmenta l'alliberament de serotonina i bloqueja la seva reabsorció	Alguns individus poden desenvolupar tolerància.	Pèrdua de capacitat d'autocontrol, paranoia, depressió i atacs de pànic.
Al·lucinògens	Actuen sobre diferents receptors, com el de la serotonina, glutamat i acetilcolina.	Tolerància ràpida.	Episodis psicòtics aguts i/o crònics, flashbacks i repetició dels efectes al·lucinògens amb posterioritat al seu ús.

Una vegada consumits, els compostos actius experimenten una sèrie de reaccions bioquímiques que venen determinades per la seva pròpia farmacocinètica. Això comporta que alguns compostos puguin passar a través del cos humà sense ésser metabolitzats, mentre que d'altres experimentin importants transformacions. El grau en què un compost es modifica en el cos depèn en gran mesura de la seva estructura i del seu mecanisme d'acció (Figura 1.3).

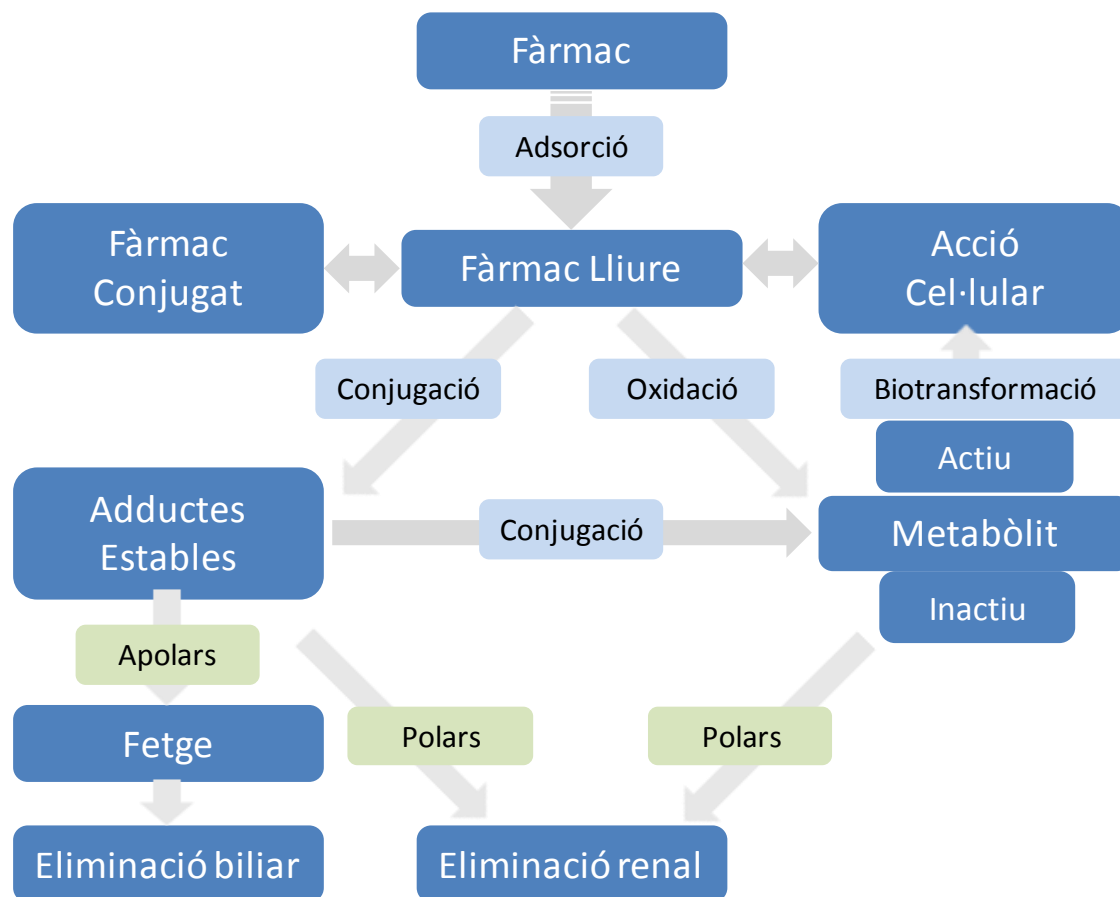


Figura 1.3. Metabolisme de les substàncies bioactives (Adaptada de (Wood i cols., 2003)).

Les substàncies bioactives, drogues i fàrmacs entre d'altres, poden ser metabolitzats per una ampla varietat d'enzims localitzats en tot el cos encara que aquestes reaccions enzimàtiques que transformen els precursors tenen lloc principalment al fetge (Gibson i Skett, 2001). Les reaccions que es produeixen durant el procés de transformació poden ser agrupades en el que s'anomenen, reaccions de Fase I i de Fase II (Wood i cols., 2003). Les reaccions que tenen lloc a la Fase I permeten funcionalitzar l'estructura precursora. Inclouen reaccions

d'oxidació, reducció i d'hidròlisi que donen lloc a productes més polars, tot introduint o alliberant grups funcionals, com alcohols, amines, tiols o àcids carboxílics, capaços de reaccionar a la Fase II. Els enzims del citocrom P450 intervenen en la majoria dels processos metabòlics d'aquesta fase, seguint mecanismes com el mostrat a la Figura 1.4, per a compostos com l'amfetamina o l'heroïna sobre els seus anells aromàtics.

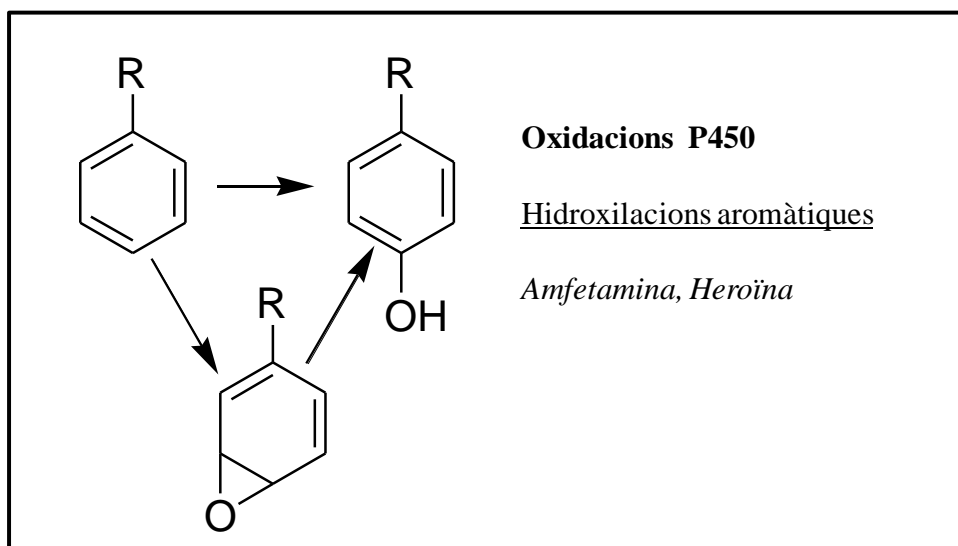


Figura 1.4. Exemple del mecanisme d'oxidació sobre anells aromàtics per mitjà del citocrom P450.

La conjugació de la molècula mitjançant la transferència d'un gran substituent polar present de manera natural en el cos, com poden ser sucres, aminoàcids o àcids grassos, entre d'altres, té lloc a la Fase II. La conjugació permet que els metabòlits esdevinguin suficientment hidrofílics i solubles en aigua i puguin ser excretats a través de la orina i/o la femta, tot evitant la seva reabsorció en els ronyons. Algunes de les reaccions de conjugació més habituals són la glucuronidació, glicosidació, sulfatació, metilació i acetilació. Aquestes reaccions estan controlades per un gran nombre d'enzims específics, que requereixen en molts casos de cofactors. Per exemple, la conjugació amb un grup glucurònid, que és la principal ruta de metabolisme de la Fase II, té lloc al fetge amb substrats naturals com són la bilirubina i la tiroxina a través de l'acció de UDP-glucuronosiltransferases sobre alcohols alifàtics i fenols. A mode d'exemple a la Figura 1.5 es mostren dos exemples dels processos de conjugació mitjançant la formació de derivats glucurònid sense funcionalització (morfina) i amb funcionalització (MDEA) dels precursors actius.

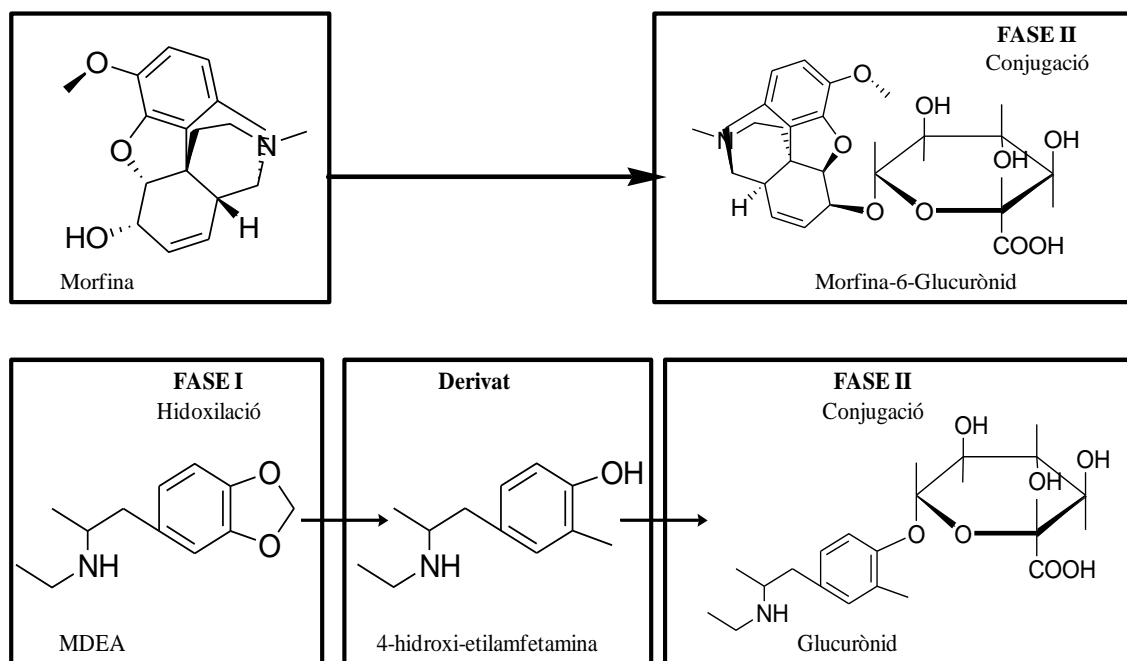


Figura 1.5. Exemple del metabolisme de conjugació de dues substàncies bioactives. Superior: morfina sense funcionalització; Inferior: MDEA amb funcionalització.

Les reaccions metabòliques d'aquesta manera poden incloure transformacions en la Fase I i/o la Fase II permeten l'excreció de les substàncies precursors. A la Taula 1.3 es resumeixen les principals reaccions metabòliques que poden patir aquestes substàncies bioactives.

Taula 1.3. Principals reaccions implicades en el metabolisme de les substàncies bioactives. Adaptada de (Wilkinson, 2001).

Fase	Reacció	Tipus	Exemples
I	N-desalquilació	Oxidativa	Cafeïna, Cocaïna, Metamfetamina
I	Hidroxilació Alifàtica	Oxidativa	Heroïna, Amfetamina
I	N-oxidació	Oxidativa	Nicotina
I	Desaminació	Oxidativa	Metamfetamina, Amfetamina
I	Hidròlisi	Hidròlisi	Cocaïna, Opiacis
II	Glucuronidació	Conjugació	THC, Morfina, Amfetamines
II	Sulfonació	Conjugació	Amfetamina, MDMA, MDA

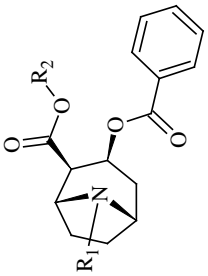
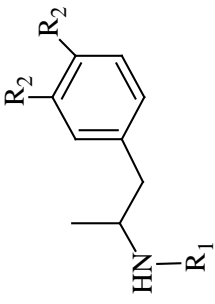
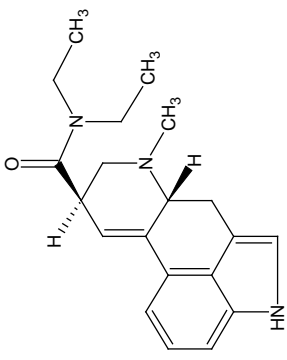
Cal destacar que el coneixement del comportament metabòlic de les drogues ajuda a avaluar l'impacte que pot tenir el seu consum en el medi aquàtic. De fet, a més dels factors que condicionen l'entrada d'aquests compostos en el medi, descrits a l'apartat anterior, els percentatges d'excreció de la molècula original en condicionen en gran mesura la seva quantitat i risc associat. El coneixement dels metabolismes també permet establir la presència d'altres substàncies (metabòlits generats o derivats) que mantenen propietats bioactives i que, per tant, representen un risc real per a l'ecosistema aquàtic. Cal tenir en compte, però, que les dades farmacocinètiques proporcionades tan sols reflecteixen valors estadístics en condicions determinades. Existeixen diversos factors que poden condicionar la transformació de les substàncies bioactives, com poden ser efectes combinats que n'inhibeixin o n'augmentin els percentatges d'excreció, o bé la combinació amb altres substàncies que en poden alterar el metabolisme i els productes de transformació, com pot ser per exemple la presència d'etanol a l'organisme pel consum d'alcohol.

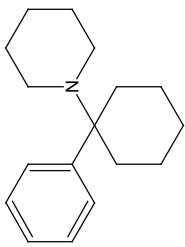
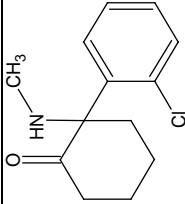
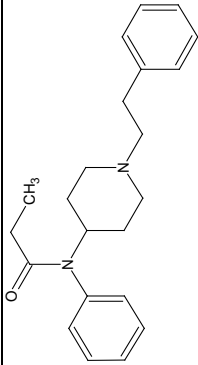
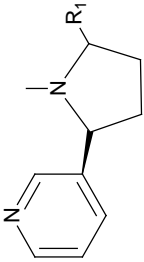
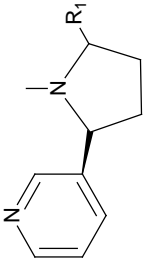
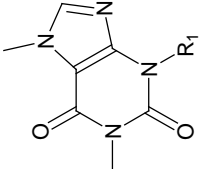
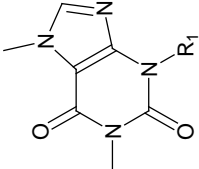
1.2.1. Drogues d'abús estudiades

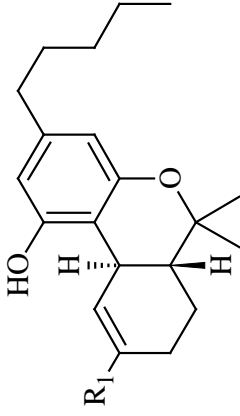
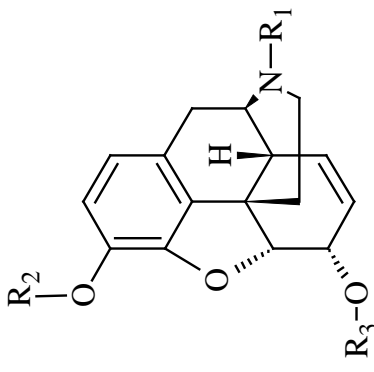
L'estudi dut a terme en aquesta memòria s'ha dirigit especialment als compostos que exhibeixen propietats estimuladores sobre el sistema nerviós central. S'han inclòs a més, alguns compostos al·lucinògens així com la cafeïna i la nicotina, que tot i ser substàncies classificades com a no controlades o legals, són considerades, com ja s'ha comentat, substàncies psicoactives d'abús amb efectes estimulants. Atès que en alguns casos, l'estudi s'ha estès a la resta de drogues il·lícites, incloent les que presenten propietats depressores (cannabinoides i opiàcis), en aquest apartat es descriuen tant les propietats farmacològiques, físico-químiques i metabolisme específic de les drogues d'abús estimuladores així com una breu descripció de les depressores (Taula 1.4). Aquestes dades poden ajudar a predir el comportament, persistència, degradació i eliminació en el medi ambient i en els diferents tractaments associats al cicle de l'aigua així com els possibles efectes associats tant sobre l'ecosistema com sobre els propis éssers humans.

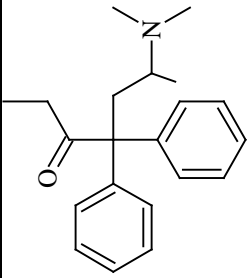
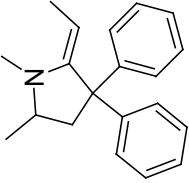
Les drogues psicoactives estudiades (Taula 1.4) es caracteritzen en general per presentar estructures senzilles amb pesos moleculars baixos (aproximadament entre 200 i 300) que els permeten mimetitzar el funcionament dels neurotransmissors. Tenen diferents grups funcionals amb propietats físico-químiques diferenciades i són en general, compostos polars amb valors de pK_a elevats i K_{ow} al voltant de 2, excepte per algunes substàncies, especialment les depressores algunes de les quals presenten propietats àcides, com per exemple els cannabinoides, i característiques apolars ($K_{ow} \sim 5-8$).

Taula 1.4. Propietats físico-químiques de les principals drogues d'abús estimuladores estudiades en aquesta memòria i de les depressores incloses en alguns dels treballs sobre control de drogues en el medi.

Estructura	Nom	Identificació	CAS Nm.	MW	pKa	Log K _{ow}
	Cocaïna	R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₃	50-36-2	303	8.6	2.30
	Norcocaïna	R ₁ =H R ₂ =CH ₃	18717-72-1	289	9.4	1.72
	Benzoiilecgonina	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	519-09-5	289	-	<0
	Norbenzoilecgonina	R ₁ =H R ₂ =H	519-09-5	289	4.3	<0
	Cocaetilè	R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₂ -CH ₃	529-38-4	317	8.8	2.66
	Amfetamina	R ₁ =H R ₂ =H	300-62-9	135	10.1	1.76
	Metamfetamin	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	537-46-2	149	9.9	2.07
	a MDA	R ₁ =H R ₂ =-O-CH ₂ -O-	4764-17-4	179	9.7	1.64
	MDMA	R ₁ =CH ₃ R ₂ =-O-CH ₂ -O-	42542-10-9	193	9.9 ^b	2.28 ^b
	MDEA	R ₁ =CH ₂ -CH ₃ R ₂ =-O-CH ₂ -O-	82801-81-8	207	10.3 ^b	2.77 ^b
	Al·lucinogen		50-37-3	323	7.8	2.95
	LSD					

Estructura	Nom	Identificació	CAS Nm.	MW	pKa	Log K_{ow}
	PCP		77-10-01	243	8.7	1.90
	Ketamina		6740-88-1	237	7.5	3.12 ^b
	Fentanil		437-38-7	336	7.3	4.10
	Nicotina	R ₁ =H	54-11-5	162	8.2	1.20
	Cotinina	R ₁ =O	486-56-6	176	4.7	0.10
	Cafeïna	R ₁ =CH ₃	58-08-2	194	10.4	<0
	Paraxantina	R ₁ =H	611-59-6	180	-	<0

Estructura	Nom	Identificació	CAS Nm.	MW	pKa	Log K _{ow}
 <p>Cannabinoides</p>	Δ9-THC	R ₁ =CH ₃	1972-08-3	314.5	10.6	7.6
	Δ9-THC-COOH	R ₁ =COOH	56354-06-4	344.5	4.1	6.57
	Δ9-THC-OH	R ₁ =CH ₂ -OH	36557-05-8	330.5	3.7	5.33
	Heroína	R ₁ =CH ₃ R _{2,3} =COCH ₃	561-27-3	369	7.6	1.58
 <p>Opiacis</p>	6-Acetilmorfina	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H R ₃ =COCH ₃	2784-73-8	327	9.6	1.72
	Morfina	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	57-27-2	285	8.9	0.89
	Normorfina	R ₃ =H R ₁ =H R ₂ =H	466-97-7	271	9.2	<0
	Codeïna	R ₃ =H R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₃ R ₃ =H	76-57-3	299	8.2	1.19
	Norcodeïna	R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₃ R ₃ =H	467-15-02	285	9.2	0.69
	Morfina-3-Glucurònid	R ₁ =CH ₃ R ₂ =Gluc R ₃ =H	-	461	2.9	8.2/<0

Estructura	Nom	Identificació	CAS Nm.	MW	pKa	Log K _{ow}
	Metadona		76-99-3	309	8.94	3.93
Opioides						
	EDDP		466-97-7	278	10.1	2.97

A- COCAÏNA

La cocaïna és una droga d'origen natural provinent de la planta o arbust de la coca, del gènere *Erythroxylon* (United Nations, 1961). Creix entre els 500 i els 2000 metres d'alçada a les muntanyes dels Andes, Mèxic, Indonèsia i la Índia occidental. Les seves fulles, que poden ser recollides durant uns vint anys, presenten forma el·líptica d'un color entre groc i verd amb dues línies paral·leles característiques al voltant del nervi central de la fulla i contenen aproximadament un 2% en pes de cocaïna. Es pot consumir en forma d'hidroclorur de cocaïna, inhalat (20-100 mg/dosi) o injectat, o bé en forma de cocaïna lliure (crack), habitualment inhalada (Goldstein i cols., 2009).

La cocaïna potencia l'activitat dels neurotransmissors noradrenalina i dopamina, tot inhibint-ne la seva reabsorció, actuant així directament sobre el mecanisme de recompensa meso límbica. També inhibeix la reabsorció de la serotonina, contrarestant d'aquesta manera l'acció de la dopamina. L'efecte del seu consum és similar al de les amfetamines i actua directament com un potent estimulador del sistema nerviós central (SNC) tot i que els símptomes són de menor durada (15-30 minuts) (Bogusz, 2008).

Una vegada consumida, la cocaïna és ràpidament metabolitzada en el fetge, generalment per hidròlisi enzimàtica, per donar majoritàriament benzoilecgonina (BE) i ecgonina metil ester (Figura 1.6), compostos que s'excreten a través de l'orina, sang o plasma. En orina, la benzoilecgonina (BE) i l'ecgonina metil ester representen respectivament, el 45% i el 40% de la dosi total consumida (Baselt, 2004). La cocaïna inalterada és excretada per la orina en percentatges que van de l'1 al 9%, i es detectable en aquesta fins passades 24-36 hores de l'administració (Goldstein i cols., 2009) (Taula 1.5). La norcocaïna es genera per desmetilació de l'amina terciària de la cocaïna en el fetge i representa al voltant d'un 5% de la dosi consumida. Aquest metabòlit és l'únic que presenta una activitat similar a la de la cocaïna (Li i cols., 1995), mentre que la resta de metabòlits generats per desmetilació de la cocaïna així com la norbenzoilecgonina, a partir de la benzoilecgonina, ho fan en quantitats residuals i no presenten activitats destacables.

El cocaetilè, és una substància que es genera en consumir cocaïna juntament amb begudes alcohòliques mitjançant una transesterificació catalitzada per una esterasa (Goldstein i cols., 2009) i és excretada en percentatges inferiors al 1%. El cocaetilè presenta una activitat menor que la de la cocaïna però manté propietats neurotòxiques i cardiotòxiques (Baselt, 2004).

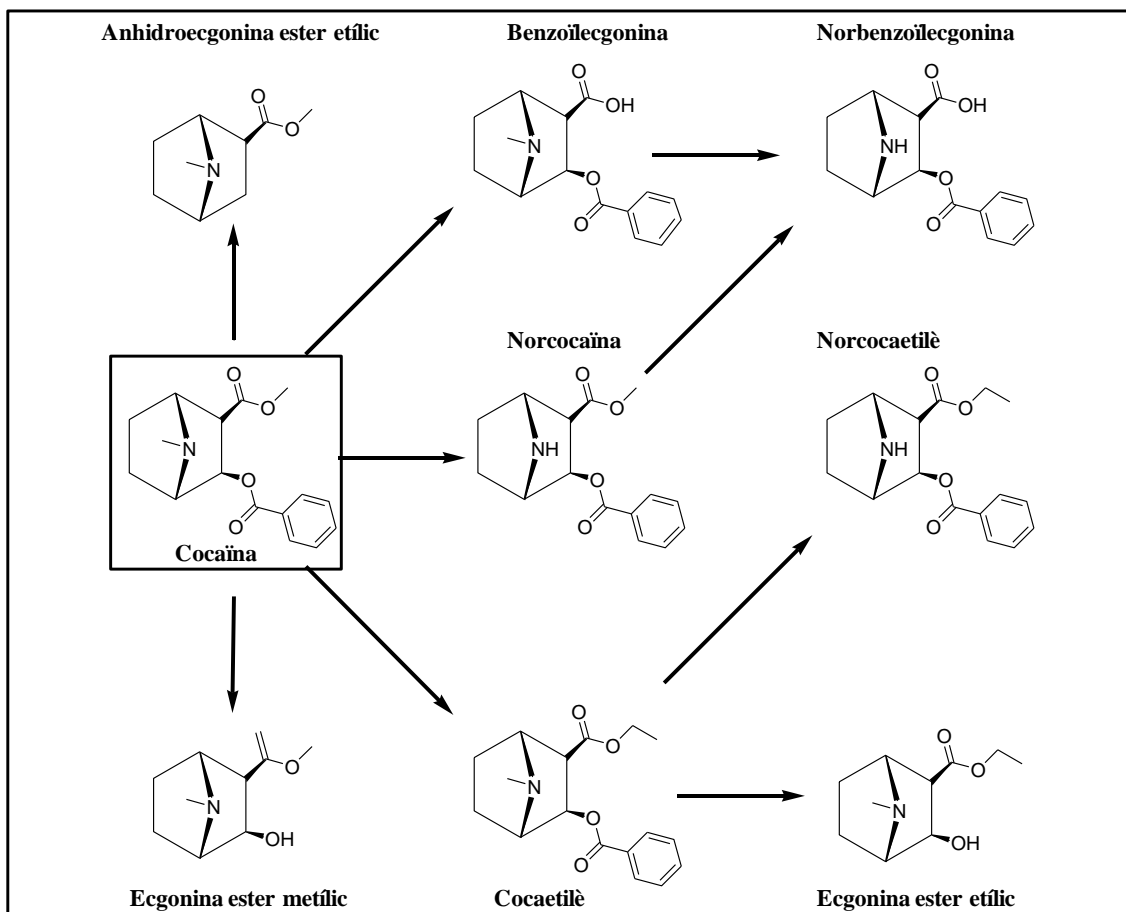


Figura 1.6. Metabolisme de la cocaïna. Adaptat de (Lizasoain i cols., 2002).

En funció del tipus d'introducció de la cocaïna en el cos humà, inhalada, fumada o injectada, tant el seu metabolisme com el temps d'excreció i les proporcions de metabòlits pot diferir, encara que en tots els casos, els productes finals majoritaris són els recollits a la Taula 1.5 (National Institute on Drug Abuse (NIDA), 2010).

Pel que fa a les seves propietats físico-químiques i estructura, la cocaïna (benzoilmetilecgonina) és un tropà que conté tres parts diferenciades: un grup ester, un grup benzoil i un bicicle alifàtic nitrogenat que uneix els dos anteriors. Té un caràcter bàsic ($pK_a:8.6$) degut al substituent amino i és lleugerament lipòfil ($\log Kow: 2.3$). Presenta quatre centres quirals amb quatre parells d'estereoisòmers, dels quals només un el (1R,2R,3S,5S)-(-)-cocaïna, es troba de manera natural.

Taula 1.5. Metabòlits majoritaris de les drogues d'abús estudiades. Adaptat de (Baselt, 2004, Melis i cols., 2011).

Compost	Metabòlit	% Excr.	t_{1/2} (hores)	Administració	Dosi (mg)
Cocaïna	Inalterat	1-9%	1-1.5	Inhalada, injectada, fumada	20-100
	Benzoilecgonina	45%	6		
	Ecgonina metil ester	40%	25-60		
	Cocaetilè	1-10%	1.7		
	Norcocaïna	Traces	-		
	Norbenzoilecgonina	1-3%	-		
Amfetamina	Inalterat	30-74%	7-34	Ingerida	10-30
Metamfetamina	Inalterat	43%	24	Inhalada, injectada, ingerida o fumada	10-30
	Amfetamina	4-7%	24		
	p-Hidroximetamfetamina	1-15%	-		
MDMA	Inalterat	72%	24	Ingerida	100-150
	3-metoxi-4-hidroximetamfetamina	23%	-		
	3,4-Di-OH-metamfetamina	20%	-		
MDA	Inalterat	-	-	Ingerida	50-250
MDEA	Inalterat	19	32	Ingerida	50-250
	MDA	28%	32		
	HMEA	32%	32		
LSD	Inalterat	1%	4	Ingerida	20-80
	Hidroxi-LSD	2-25%	-		
	2-oxo-LSD	2%	-		
	Nor-LSD	1 %	-		
PCP	Inalterat	5%	18	Ingerida	5-10
	4-fenil-4-(1-piperidinil)ciclohexanol	5%	-		
Ketamina	Inalterat	5%	6	Ingerida, injectada	1
	Norketamina	2%	-		
Cafeïna	Inalterada	7-68%	4	Ingerida	100
	Paraxantina	84%			
	Teobromina	12%			
Nicotina	Inalterada	20%	1-2	Fumada, Ingerida	2
	Cotinina	15-30%			
	Trans-hidroxicotinina	44%			

B- ESTIMULANTS TIPUS AMFETAMINIC (ATSs)

Els compostos definits com estimulants de tipus amfetamínic (ATSs) són compostos estructuralment molt similars, les principals diferències dels quals rauen fonamentalment en la seva capacitat per modificar l'estat del consumidor produint o no al·lucinacions, així com en la velocitat, duració i intensitat de la seva acció. En aquest grup s'inclouen les substàncies del "grup-amfetamínic" constituït per l'amfetamina i la metamfetamina i les del "grup de l'èxtasi". Entre aquestes substàncies es troben la MDMA (3,4-metilenedioximetamfetamina), el seu homòleg, la MDA (3,4-metilenedioxiamfetamina), i la MDEA (3,4-metilenedioxi-N-etilamfetamina).

L'amfetamina es comercialitza habitualment com una pols blanca que es creu que va ser comercialitzada per primera vegada l'any 1880 pel químic alemany Leuckart, mentre que el derivat metilat de l'amfetamina, la metamfetamina, no va ser sintetitzada fins a principis del segle XX. Ambdues substàncies actuen biològicament estimulants el sistema nerviós central, per l'augment de la concentració de dopamina en inhibir la seva reabsorció mitjançant el bloqueig del seu corresponent transportador (Jaber i cols., 1997). Simultàniament produeixen també un increment en l'alliberament de noradrenalina i serotonina. La metamfetamina actua de manera similar a l'amfetamina, tot i que s'ha suggerit que els seus mecanismes neuro-químics d'acció tenen lloc en diferents àrees del cervell (Shoblock i cols., 2003). El seu consum provoca hipertensió i taquicàrdia però augmenta els sentiments de confiança, sociabilitat i energia. La metamfetamina, a més, es capaç de potenciar les tasques cognitives així com els reflexos del consumidor i pot ser usada en casos molt concrets amb finalitats mèdiques per tal de tractar trastorns de dèficit d'atenció o obesitat.

L'amfetamina es consumeix habitualment en forma oral i és metabolitzada mitjançant desaminació oxidativa donant lloc a una hidroxilació de l'anell aromàtic. Tot i així, presenta percentatges de transformació relativament baixos i s'excreta en orina en percentatges que van del 30 al 76% de la dosi consumida (Baselt, 2004). Cal tenir en compte, a més, que l'amfetamina pot ser obtinguda com a metabòlit d'altres substàncies entre elles la metamfetamina (Taula 1.5). Aquesta substància, la metamfetamina, es consumeix fumada, inhalada, ingerida, o injectada. En ser consumida es metabolitza ràpidament en el fetge mitjançant una hidroxilació aromàtica, N-desmetilació i desaminació. Aproximadament un 43% de la dosi consumida es excretada inalterada i un

4-7% d'aquesta pot ser eliminat com amfetamina per l'orina (Baselt, 2004), encara que també es poden generar altres metabòlits conjugats amb l'àcid glucurònic i productes hidroxilats com l'hidroxiamfetamina (Taula 1.5).

El “grup de l'èxtasi” inclou els derivats de la metamfetamina amb substitució en l'anell aromàtic (MDMA) i els de l'amfetamina (MDA i MDEA), considerades com a drogues recreatives il·lícites tant als Estats Units com a Europa. L'MDMA és una substància sintètica, que va ser desenvolupada per primera vegada l'any 1912 per la companyia Merck com a droga psiquiàtrica, i és coneguda habitualment com èxtasi. La seva síntesi té lloc a partir del safrol, un fenilpropè present en els olis essencials extrets de les arrels dels arbres sassafràs. L'èxtasi actua sobre el sistema nerviós central estimulando l'alliberament i activitat de la serotonina, la dopamina i la norepinefrina i n'evita la seva reabsorció (Liechti i Vollenweider, 2001). Comparat amb la metamfetamina, l'MDMA allibera quantitats més elevades de serotonina, la qual regula els canvis d'humor, la son, i el dolor, entre d'altres, i augmenta la sensació d'alerta. L'MDA i l'MDEA per la seva part, actuen de la mateixa manera que l'èxtasi, produint efectes similars encara que amb intensitats i duració diferents.

Totes aquestes substàncies es metabolitzen en el fetge mitjançant el citocrom 450, bé a través una *O*-desmetilació donant lloc a compostos hidroxilats i posterior metilació i/o glucuronidació i/o sulfatació dels grups hidroxil generats o bé, a través d'una *N*-desalquilació, desaminació i oxidació de la cadena lateral produint *N*-dealquil o deamino metabòlits (Maurer, 2005) (Taula 1.5). Per exemple la ruta metabòlica principal de l'MDMA (Figura 1.7) inclou una *O*-desmetilació per generar la 3,4-dihidroximetametamina (20%) la qual a la seva vegada és *O*-metilada donant lloc a la 4-hidroxi-3-metoximetametamina (23%) reacció controlada per una metiltransferasa. L'MDMA en menor mesura també pot ser *N*-desmetilada per donar MDA la qual dona lloc a la 4-hidroxi-3-metoxiamfetamina mitjançant una *O*-metilació. El mateix mecanisme també s'ha descrit per altres metilendioxí derivats de l'amfetamina com per exemple l'MDEA (Pizarro i cols., 2004).

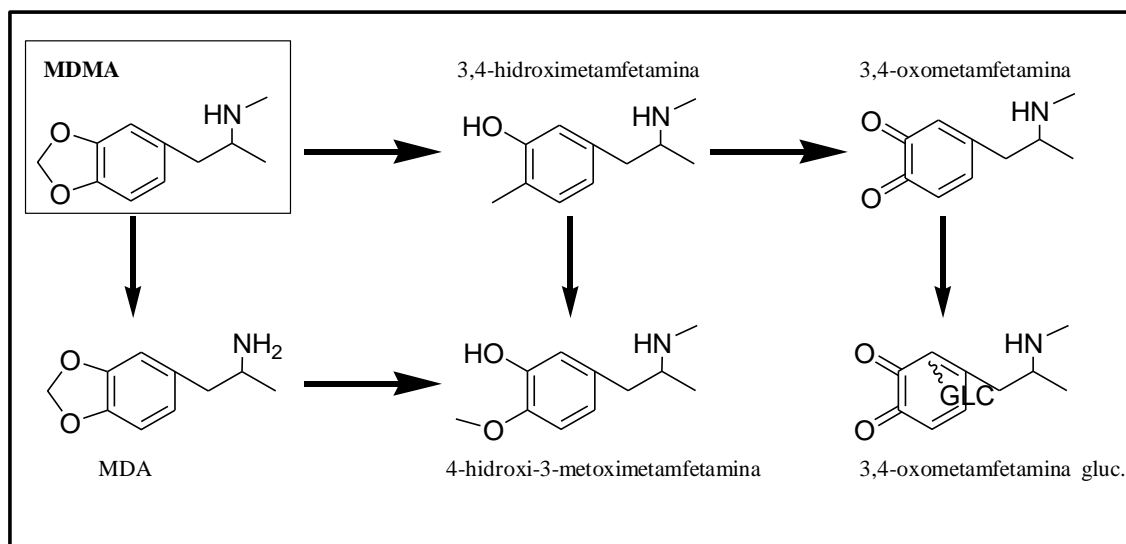


Figura 1.7. Ruta metabòlica de l'MDMA o èxtasi. Adaptat de (Pizarro i cols., 2004).

En general, l'MDMA es metabolitzada en un 80% pel fetge, excretant-se un 20% inalterat en la orina, aquest percentatge es similar (19%) per l'MDEA i disminueix fins a l'1% en el cas de l'MDA.

Pel que fa a les estructures dels ATSS, tant l'amfetamina com la metamfetamina són similars a la dopamina i la noradrenalina. Són substàncies bàsiques (pKa: 10) que poden existir com a bases lliures o reaccionar amb àcids per donar lloc a les corresponents sals solubles, com per exemple l'hidroclorur d'amfetamina. Són molècules quirals que poden presentar-se en forma de dos enantiòmers (S- i R-) (Anderson i cols., 1978). En el cas de l'amfetamina, l'enantiòmer S- és de tres a quatre vegades més actiu que l'R- (Ferris i Tang, 1979) i el mateix succeeix pel seu derivat, l'isòmer S- de la metilamfetamina. Les estructures de l'MDMA, MDEA i MDA, són similars a la metamfetamina, amb un grup dioxolà enllaçat a l'anell aromàtic i diferents substituents en la cadena alquíllica. Són compostos essencialment bàsics (pKa: 10) que, de la mateixa manera que les amfetamines, poden trobar-se com a bases lliures o en forma de sals. Aquestes substàncies són també molècules quirals amb un estèreo-centre en la seva cadena alquíllica que dóna lloc a la comercialització de la mescla racèmica composta pels seus enantiòmers R- i S- (Anderson i cols., 1978).

C- AL·LUCINÒGENS

Els al·lucinògenes inclouen, entre d'altres, l'LSD, la fenciclidina (PCP), les amfetamines al·lucinògenes i d'altres triptamines. Molts d'aquests compostos es poden trobar en plantes i bolets (o en els seus extractes) i han estat usats des de fa segles, fonamentalment en rituals religiosos. La majoria d'ells contenen substituents nitrogenats i es classifiquen com a alcaloides. Tenen estructures similars a les dels neurotransmissors naturals (aceticolina-, serotonina- o catecolamina-). Els al·lucinògens provoquen alteracions en els estats de consciència amb efectes sobre les percepcions auditives o visuals. A diferència dels psicoactius estimuladors aquestes substàncies no només amplifiquen els estats mentals habituals sinó que indueixen experiències diferents d'aquelles pròpies dels estats de consciència normals (Baselt, 2004).

La dietilamida de l'àcid lisèrgic o LSD és una droga semi-sintètica derivada de l'àcid lisèrgic, que es troba en el *Claviceps purpurea*, un bolet que creix en el sègol i altres cereals. Va ser sintetitzada per primera vegada l'any 1938 per Albert Hoffman als laboratoris Sandoz i durant la dècada dels cinquanta va ésser usada per investigar malalties mentals i és encara, en l'actualitat una de les drogues més potents conegudes, tot i que el seu consum recreatiu es va concentrar principalment entre els anys seixanta i vuitanta del segle passat. L'LSD té característiques de sòlid cristal·lí sense color, gust ni olor, és soluble en aigua i alcohol i es comercialitza habitualment en forma de dosis acolorides amb motius geomètrics, abstractes o de personatges animats. El mecanisme d'acció de l'LSD encara no es coneix exactament tot i que es postula que interacciona amb el mecanisme de la serotonina, enllaçant-se i activant un dels seus receptors, provocant distorsions perceptives (Winter, 2009). Els efectes associats al seu consum inclouen canvis en les percepcions sensorials, alteracions visuals, visions de formes geomètriques o flashos de colors intensos, entre d'altres. L'LSD, com les ATSS, es metabolitza extensivament en el fetge a través de desmetilacions, donant lloc als seus derivats hidroxilats, desmetilats i posteriorment mitjançant metilacions i oxidacions generant compostos més oxidats (Taula 1.5). Totes aquestes substàncies s'excreten majoritàriament per la orina, romanent tan sols un 1% de la dosi inicial com a LSD inalterat. Estructuralment, l'LSD és un alcaloide

policíclic poliinsaturat amb un grup dietilamida enllaçat a un dels anells aromàtics i dos estèreo-centres. La inversió de qualsevol estèreo-centre en alguna posició que no sigui R,R- elimina la seva activitat al·lucinògena (Brimblecombe i Pinder, 1975).

La fenciclidina o PCP és una droga sintètica, derivada de l'arilciclohexilamina i format per un anell aromàtic, un ciclohexà i una piperidina, que s'inclou en el grup de les substàncies al·lucinògenes. Va ser sintetitzada per primera vegada l'any 1926 i va ser utilitzada a partir dels anys cinquanta com a anestèsic per a humans i animals. És una pols blanca cristal·lina soluble en aigua i alcohol i com a droga d'ús recreatiu es comercialitza en forma d'una ampla varietat de pastilles, càpsules o pols acolorides. El PCP actua sobre el sistema nerviós central bloquejant el funcionament dels receptors del neurotransmissor glutamat que juga un paper important en la percepció del dolor, la memòria i les emocions. També actua com antagonista del receptor del metil-aspartat (NDMA) (de la mateixa manera que la ketamina) i intervé en el mecanisme de la dopamina, provocant estats d'eufòria, ansietat i agitació entre d'altres. El metabolisme del PCP té lloc al fetge a través de successives hidroxilacions de l'anell heterocíclic per donar lloc a obertures de cadena i compostos amb menor grau de ciclació i tan sols s'excreta a través de l'orina com a espècie inalterada al voltant d'un 5% de la dosi inicial (Taula 1.5).

La ketamina un altre dels compostos inclosos en el grup dels al·lucinògens, és una droga sintètica que va ser desenvolupada el 1963 per tal de substituir al PCP. Aquesta substància pot ser utilitzada com a anestèsic veterinari però per al seu consum il·legal s'utilitza una pols blanca provinent del líquid injectable evaporat. La ketamina actua de la mateixa manera que el PCP, com a antagonista no competitiu del receptor del metil-aspartat, inhibint-ne la seva absorció, reduint la sensació de dolor i provocant estats de falsa consciència i alteració de les percepcions semblants a les associades al consum de LSD (Dotson i cols., 1995). El seu metabolisme té lloc al fetge a través de successius processos de desmetilació (Taula 1.5). La ketamina és un derivat de la ciclohexanona amb un substituent amino que li confereix propietats lleugerament bàsiques (pKa: 7.5), amb un estèreo-centre que contribueix a que els preparats

d'aquesta substància siguin mescles racèmiques, tot i que l'enantiòmer S- és el més actiu a nivell farmacològic (Dotson i cols., 1995).

Un dels compostos inclosos en el grup de substàncies psicoactives en l'estudi dut a terme en aquesta tesi és el fentanil. Aquest compost, tot i ser un analgèsic narcòtic administrat en medicina humana i veterinària, és usat també com a additiu de la cocaïna i combinat amb aquesta, potencia els seus efectes estimuladors del sistema nerviós central (Broadbear i cols., 2004). Com a substància recreativa es comercialitza en forma d'una pols lleugera groga o en papers impregnats i, més enllà de tenir efectes analgèsics, el fentanil administrat en solitari produeix estats alternats de depressió i eufòria, mentre que combinat amb la cocaïna aquest estat eufòric es multiplica unes cent vegades. El fentanil és metabolitzat extensivament al fetge per donar lloc als seus derivats desmetilats. Estructuralment és un derivat de la piperidina que pot ser comercialitzat com a diferents derivats amb múltiples substituents metilats en diferents posicions.

D- CAFFEÏNA I NICOTINA

En aquest estudi també es van incloure la cafeïna i la nicotina dues substàncies psicoactives que, com ja s'ha comentat, tot i no ser controlades o il·legals, també poden ser considerades com a substàncies d'abús amb característiques psicoactives. La cafeïna, un alcaloide heterocíclic derivat de la metilxantina amb propietats bàsiques (pKa: 10) i molt hidròfila, és la droga psicoactiva més consumida arreu del món. Es troba de forma natural en llavors, fulles i fruits de diverses plantes, on actua com a pesticida, antifúngic i antibiòtic natural. La cafeïna és un estimulants del sistema nerviós central que actua com antagonista bloquejant els receptors d'adenosina, inhibint l'alliberament dels neurotransmissors i augmentant l'activitat de la norefedrina i l'angiotensina (Finnegan, 2003). La cafeïna es metabolitza en el fetge (Figura 1.8) donant lloc al seu principal metabòlit, la paraxantina, que pateix successives desmetilacions fins arribar a estructures més senzilles de l'àcid úric metilat. Tot i així, el seu derivat principal és la paraxantina, que es excretada amb un percentatge del 20% (Taula 1.5).

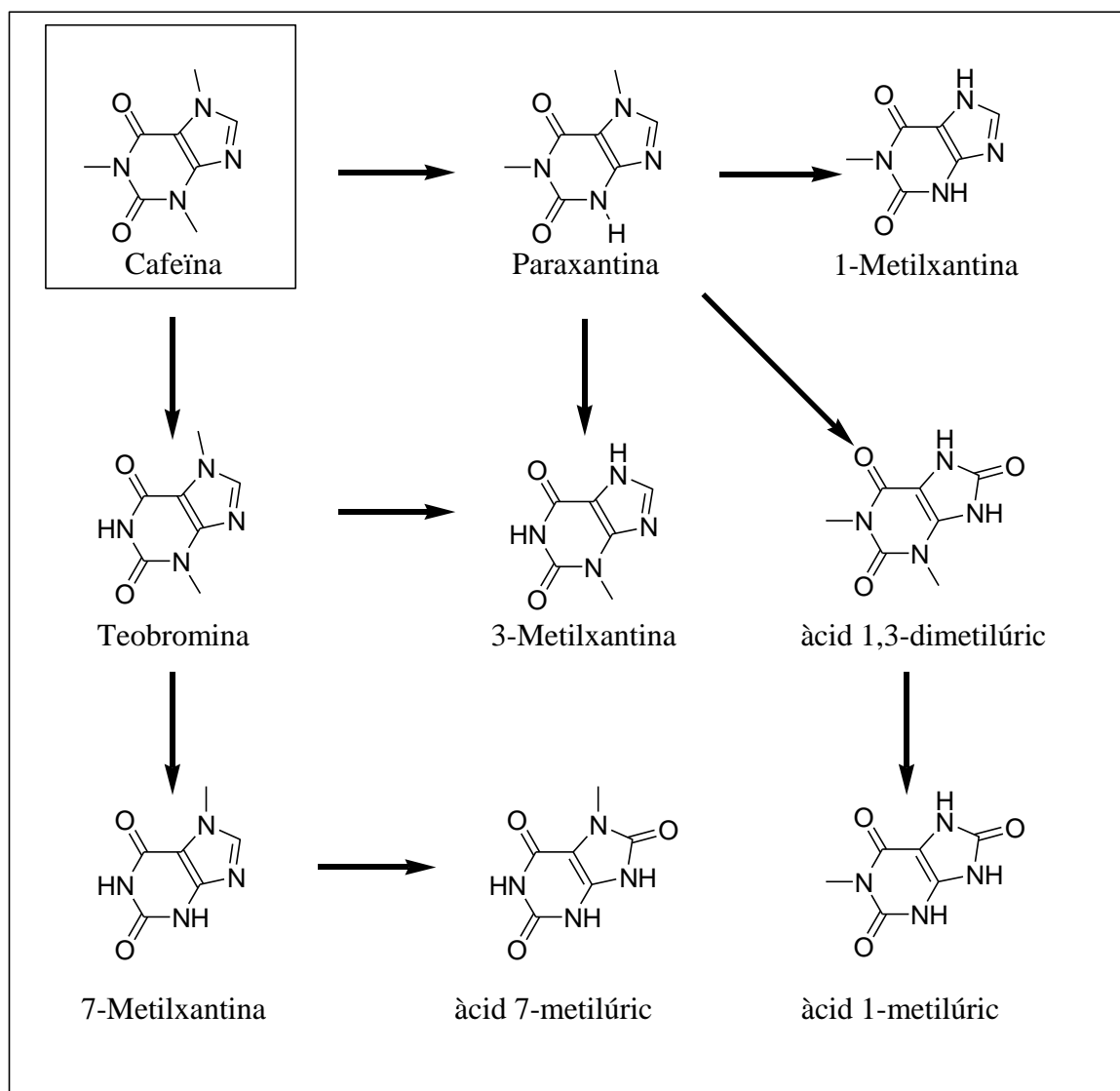


Figura 1.8. Ruta metabòlica de la cafeïna (Buerge i cols., 2003).

La nicotina una altra de les substàncies psicoactives legals més consumides i additives existents, s'extreu de les fulles de la planta de tabac, *Nicotana tabacum*, on actua com a herbicida natural. Actua directament sobre el sistema nerviós central per mitjà dels receptors d'acetilcolina, i estimula l'alliberament de múltiples neurotransmissors i hormones com la dopamina, l'epinefrina, la norefedrina o la vasopressina entre d'altres, donant lloc a un increment de l'estat d'alerta, concentració i memòria, així com a una significativa reducció de l'ansietat. La nicotina es metabolitza en el fetge per mitjà del citocrom P450 donant lloc al seu principal metabòlit la cotinina (15-30%) i d'altres com el trans-hidroxicotinina (44%), els glucurònid de la nicotina (3-5%) i de la cotinina (1%), el N-òxid de nicotina (2-5%), la nornicotina i d'altres formes d'oxidades. Estructuralment

és un alcaloide bicíclic amb un anell piridínic i una pirrolidina, amb propietats lleugerament bàsiques ($pK_a:8.5$) i hidròfiles gracies a la seva base nitrogenada. La presència d'un estereocentre permet l'existència de dues formes enantiomèriques, tot i que la forma S- és la única present a la natura.

E- SUBSTÀNCIES DEPRESSORES

Cannabinoids. El cànnabis és una droga d'origen natural que s'extreu de la planta del *Cànnabis*, en la qual es troben més de 60 substàncies que pertanyen al grup dels cannabinoids. El 9-tetrahidrocannabinoid (THC) és el component amb major activitat psicotròpica al·lucinògena de tots ells. El THC es consumeix principalment en forma oral o fumada. Una vegada consumit, el THC es metabolitza ràpidament al fetge (Figura 1.9) via oxidació del grup metil (C11) donant lloc al 11-hidroxi-THC (THC-OH), que presenta activitat farmacològica, al 11-nor-9-carboxi-9-tetrahidrocannabinol (THC-COOH) i a d'altres espècies minoritàries (Watanabe i cols., 1991, Baselt, 2004, Yamada i cols., 2005) (Taula 1.5).

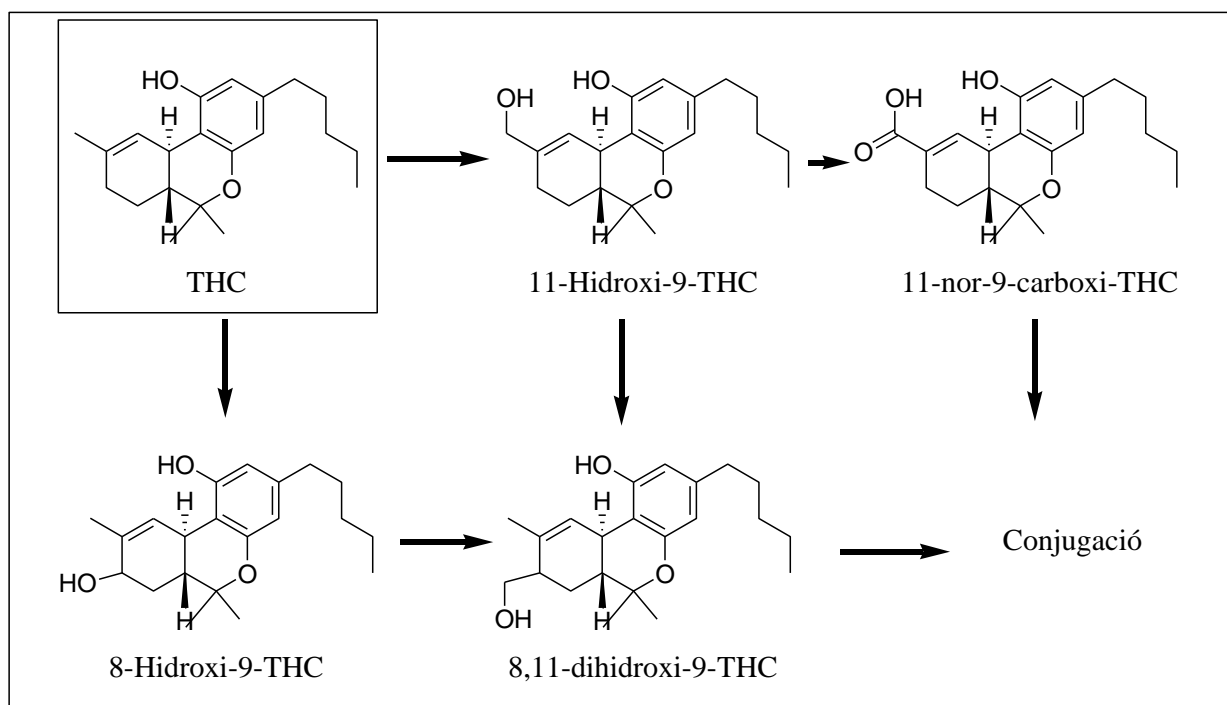


Figura 1.9. Ruta metabòlica del THC. Adaptat de (Watanabe i cols., 1991).

Opioides. Els opioides són totes aquelles substàncies, naturals, sintètiques o semi-sintètiques, que s'uneixen als receptors d'opioïdes del sistema nerviós central. D'aquest grup en formen part els opiàcis, alcaloides naturals que provenen originàriament de l'opi, obtingut a partir de l'extracte de la rosella, *Papaver somniferum*, i utilitzat des de l'antiguitat per les seves propietats com a pal·liatiu de dolor i d'altres dolences, així com per la seva capacitat d'induir estats d'eufòria. L'opi conté més de 20 alcaloides actius, entre els quals cal esmentar la morfina, que presenta una major activitat que la resta, i la codeïna. L'heroïna, sintetitzada a partir de la morfina, també s'engloba dins d'aquest grup com a opiàci semi-sintètic, i és actualment una de les drogues d'abús més perilloses que existeixen atesa la seva elevada capacitat d'addicció. La metadona també considerada un opioide és una substància d'origen totalment sintètic.

Actualment els opioides es poden emprar terapèuticament per tal de tractar el dolor en malalties com el càncer, en tractaments postoperatoris, com a analgèsics o antitussius, com per exemple la codeïna, o bé com la metadona en tractaments de desintoxicació d'altres opioides. Aquestes substàncies actuen enllaçant-se directament en els receptors dels opioides, i són metabolitzats extensivament en el fetge a través del citocrom CYP450 durant la fase I del metabolisme i per les glucuronosultransferases (UGT) durant la fase II (Figura 1.10). En general, aquesta segona fase constitueix la principal ruta metabòlica, per exemple per la morfina a través de la glucuronidació dels grups 3- i 6-hidroxi, reacció que també té lloc amb l'heroïna prèvia hidròlisi dels grups 3- i 6-acetoxi. El principal metabòlit generat d'aquesta manera és la morfina-3-glucurònid (M-3G), que no presenta una activitat destacable, mentre que el 6-glucurònid presenta una activitat superior a la del seu precursor (Yamada i cols., 2005) (Taula 1.5).

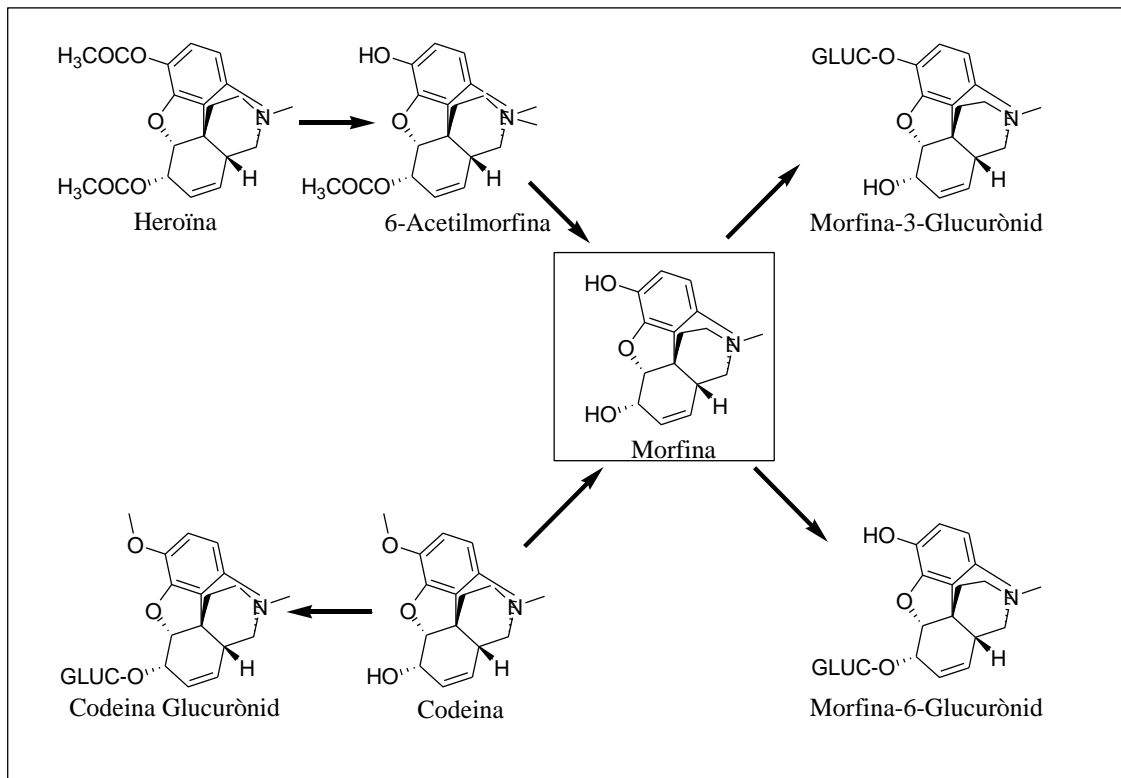


Figura 1.10. Ruta metabòlica dels opiacis. Adaptat de (Yamada i cols., 2005).

Pel que fa a la metadona és metabolitzada íntegrament en el fetge pel citocrom CYP3A4 mitjançant N-demetilacions i ciclacions, que donen lloc al seu metabòlit inactiu principal el 2-etilè-1,5-dimetil-3,3-difenipirrolidina (EDDP) (13%), i a d'altres metabòlits minoritaris com l'EMDP (2-etilè-5-metil-3,3-difenipirrolidina) o el metadol (Ferrari i cols., 2004).

1.3. RESUM HISTÒRIC DE LA PRESENCIA DE LES DROGUES D'ABÚS EN EL MEDI AQUÀTIC

Tot i que en el Capítol 3 (apartat 3.1.1. i 3.1.2.) de la present memòria s'inclou una anàlisi extensa de la presència de les drogues d'abús en el medi aquàtic, en aquest apartat es resumeix breument la història dels inicis dels estudis relacionats amb la presència d'aquestes substàncies en el medi ambient i es comenten els treballs més significatius fins a la data.

La primera publicació en la que s'identifiquen les drogues il·lícites com a possibles contaminants persistents (Daughton, 2001) és un estudi realitzat per l'FBI, a conseqüència d'una publicació en un diari on es suggeria que la cocaïna es podia trobar en monedes i bitllets en circulació. A partir d'aquest treball, Daughton va llençar per primera vegada l'any 2001 la hipòtesi que les drogues il·lícites excretades en la orina podien tenir una incidència directa en el medi ambient i que la seva concentració podria usar-se per de calcular-ne el seu consum real (Daughton, 2001). Aquesta hipòtesi va obrir la porta a l'estudi d'un nou grup de contaminants del medi aquàtic, i anys després es va demostrar completament encertada. No va ser però fins l'any 2004 que es va publicar el primer treball demostrant la presència d'una droga d'abús, l'amfetamina, en aigües residuals tractades d'Estats Units (Jones-Lepp i cols., 2004). Un any després, Zuccato i cols (Zuccato i cols., 2005), van demostrar la presència de cocaïna en aigües superficials i residuals no tractades, i van realitzar per primera vegada una aproximació al consum d'aquesta substància a partir de les concentracions reals mesurades. L'any 2006, el mateix grup de recerca va ampliar l'estudi a d'altres drogues il·lícites com els ATSS, el THC i els opioïdes, (Castiglioni i cols., 2006) en aigües residuals, mentre que pocs mesos després es publicava el primer treball que fa referència a la presència de drogues d'abús en aigües residuals catalanes i espanyoles i que s'inclou a l'apartat 2.2.1. d'aquesta tesi on es mesuren drogues il·lícites simultàniament amb la cafeïna i la nicotina, que anys després s'han emprat com a marcadors poblacionals per als càlculs de consum. Aquell mateix any es va publicar el primer treball que demostra la presència de drogues il·lícites en fangs de depuradora i en biosòlids (metamfetamina) (Jones-Lepp i Stevens, 2007). L'any següent, el 2008, es va dur a terme el primer estudi sobre les variacions setmanals en

les concentracions de les drogues d'abús, així com la primera avaluació del consum de cocaïna i MDMA a Catalunya i Espanya, a partir de les concentracions mesurades en aigües residuals treball inclòs a l'apartat 3.2.1 d'aquesta tesi. Aquell mateix any es va utilitzar per primera vegada el terme “*sewage epidemiology*” per part de Zuccato i cols. (Zuccato 2008b), i es va publicar el primer estudi sobre la presència de drogues d'abús al llarg del tractament de potabilització així com la seva presència en aigües finals de beguda també inclòs en aquesta memòria (apartat 3.2.2.). En aquest mateix treball es va realitzar el primer estudi estacional en aigües superficials al llarg d'un any. Aquests tipus d'estudis van ser realitzats també un any després en aigües residuals de la ciutat de Florencia (Itàlia) (Mari i cols., 2009). L'any 2010 es creà la primera xarxa europea, “*Sewage Analysis Core Group*” (SCORE) per tal d'estandaritzar i coordinar els estudis internacionals sobre drogues d'abús en aigües residuals, mentre que l'any següent es publicà el primer treball a nivell mundial sobre la presència de drogues d'abús en aigües d'aixeta incloent Europa, Amèrica i Japó (Boleda i cols., 2011a). Aquell mateix any, Baker i cols. van proposar emprar la nicotina i la cafeïna (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011a) com a biomarcadors d'aigües residuals, emprats per a dur a terme aproximacions de consum. L'any 2012 es va publicar el primer treball a nivell europeu, fruit de la xarxa SCORE, avaluant i comparant el consum de drogues il·licites a partir de les aigües residuals de 19 ciutats europees (Thomas i cols., 2012). Aquest mateix any apareix també el primer treball avaluant la formació de subproductes de desinfecció de drogues d'abús (ATSS) i la seva presència en aigües potables tractades (apartat 4.2.2. d'aquesta tesi). Recentment, aquest any 2015, s'ha realitzat un estudi exhaustiu sobre biomarcadors d'aigües residuals (Senta i cols., 2015) on s'estableix per primera vegada un mètode d'homogeneització dels càlculs de consum a partir de l'ús de la cotinina, metabòlit de la nicotina, com a biomarcador poblacionals.

1.4. TOXICITAT I ECOTOXICITAT DE LES DROGUES D'ABÚS

Els efectes associats a un consum puntual o crònic de drogues d'abús ja s'ha resumit anteriorment a la Taula 1.2, on es posen de manifest les múltiples implicacions físiques i psicològiques associades al consum d'aquestes substàncies. De fet, els efectes tòxics d'aquestes substàncies sobre els éssers humans estan perfectament documentats, i existeixen múltiples treballs i informes que alerten dels efectes nocius que un consum puntual o habitual pot provocar (World Health Organization, 2006, Observatorio español de la droga y las toxicomanías. Ministerio de Sanidad, 2013, United Nations-Office on Drug and Crime, 2014). Aquests efectes poden ser lleugers, com per exemple, una reducció de les capacitats cognitives, com confusió o al·lucinacions, efectes neurològics com convulsions o insomni, efectes psicològics com depressió, eufòria, desinhibició o somnolència, i efectes físics com taquicàrdies, arítmies o modificació en la tensió arterial entre d'altres. Ara bé, també poden ser severos com edemes pulmonars, insuficiències cardíques, vessaments cerebrals i, fins i tot, en alguns casos, estats de coma i mort. A més, els efectes d'una exposició crònica poden acabar desencadenant disminucions importants i permanents en les zones de l'aprenentatge i la memòria, inestabilitat emocional, disfuncions en les accions coordinades pel sistema nerviós central, disfuncions renals i vasculars, efectes en el sistema endocrí i, en els casos de substàncies que es fumen o inhalen, tumors a la tràquea (World Health Organization, 2006).

Pel que fa referència a la toxicitat de les drogues d'abús pel l'ecosistema, ateses les conegudes propietats psicoactives d'aquestes substàncies i la toxicitat associada als éssers humans, resulta evident que els seus efectes sobre el medi ambient no haurien d'ésser negligibles, ja que, a més, moltes d'aquestes substàncies són productes naturals (cocaïna, THC, nicotina, cafeïna) o sintètics que emulen als extrets de plantes i arbustos (MDMA), que els organismes que les produeixen utilitzen com a mitjà de protecció natural (Campos i cols., 2006). Per exemple, la cocaïna actua com a insecticida natural tot interferint en el mecanisme de captació de dopamina, el THC, la nicotina i la cafeïna protegeixen les plantes dels herbívors i d'altres patògens, i el safrol (del que es deriva el MDMA) ha demostrat ser tòxic en contacte amb alguns dels seus depredadors. En referència als estudis realitzats sobre l'eco-toxicitat d'aquestes substàncies, el nombre de treballs disponibles és molt més reduït que en el cas de la toxicitat humana (un resum es pot trobar a (Rosi-Marshall i cols., 2015)). Entre els estudis de toxicitat associada als

organismes aquàtics cal esmentar els que posen de manifest un cert efecte de la cocaïna i dels seus metabòlits encara que a concentracions relativament elevades (del $\mu\text{g/L}$ als mg/L), sobre diferents espècies aquàtiques, com el peix Zebra o organismes bivalves com la *Dreissena polymorfa*. Per exemple, els estudis d'exposició a la cocaïna del peix zebra demostren que a una concentració de 5mg/L , es produeixen disfuncions en el seu comportament (Darland, 2001). Aquests mateixos autors van estudiar les dosis letals d'altres substàncies, com la morfina o la codeïna, així com els efectes del THC sobre els embrions del peix zebra, pels quals dosis superiors als 2 mg/L resulten mortals. Pel que fa referència als metabòlits de la cocaïna, Parolini i cols. van avaluar els efectes de la benzoilecgonina i de l'ester de la metilecgonina sobre la *Dreissena polymorfa* (Parolini i Binelli, 2013, Parolini i cols., 2013a) i van posar de manifest que concentracions de 0.15 a $0.5\ \mu\text{g/L}$ d'aquestes substàncies produeixen estrès oxidatiu cel·lular. També s'han publicat alguns estudis relatius als efectes de les drogues d'abús sobre l'ecosistema aquàtic (Rosi-Marshall i cols., 2015). Per exemple, els estimulants de tipus amfetamínic tenen potencial per interactuar amb els ecosistemes aquàtics atès que la presència d'amines a l'estructura pot inhibir la fotosíntesi i la fixació del nitrogen en l'alga *Clorella* i en conseqüència el seu creixement.

Pel que fa a la nicotina i la cafeïna existeixen diversos treballs que fan referència a la seva toxicitat aquàtica (resumits a (Brausch i cols., 2012, Novotny i Slaughter, 2014). Per exemple, un estudi en peix zebra tractat amb nicotina (100 mg/L) va mostrar limitacions en la seva motricitat així com restriccions en el creixement i desenvolupament les larves i en les seves esperances de vida (Levin i cols., 2007). Pel que fa a la cafeïna, dosis elevades al voltant de 600 mg/L són letals per algunes espècies d'invertebrats estudiats (Moore i cols., 2015). Tot i així, els estudi realitzats en aquest camp posen de manifest que a les concentracions ambientals detectades actualment, la presència de cafeïna no semblen tenir associats efectes importants (Stuart i cols., 2012).

Com s'acaba de comentar les concentracions a les quals s'han dut a terme la major part dels estudis de toxicitat es troben, en general, molt per sobre de les concentracions ambientals, la qual cosa posa de manifest l'interès de realitzar aproximacions teòriques a partir de les concentracions reals detectades en les aigües superficials. En aquesta línia s'han avaluat les *predicted environmental concentrations* (PECs) i les *predicted no-effect concentrations* (PNECs) d'algunes drogues d'abús seleccionades (cocaïna, ATSS, THC i

morfina) i s'ha realitzat una aproximació teòrica estructural per predir els efectes a llarg termini, a partir de la identificació de receptors específics i sensibles a les drogues d'abús (Domingo i cols., 2011). Els resultats indiquen que no existeix toxicitat per als organismes aquàtics (PNEC) a les concentracions reals mesurades. Tot i així, els resultats de l'anàlisi estructural posen de manifest que els organismes aquàtics vertebrats presenten un nombre elevat de receptors de drogues d'abús similars als presents en els éssers humans, tot suggerint que aquestes substàncies podrien interferir en processos com comportament, transport iònic, homeòstasis i estrès oxidatiu.

Sembla evident doncs, que els treballs actualment publicats que fan referència a l'ecotoxicitat associada a les drogues d'abús en el medi aquàtic són insuficients per avaluar els possibles efectes a curt i, especialment, a llarg termini. Les aproximacions incipients realitzades a partir de les concentracions reals mesurades en aigües superficials posen de manifest que, si bé no és d'esperar un risc ambiental associat, els efectes a llarg termini que poden tenir les modificacions de comportament i reproductives que indueixen aquestes substàncies sobre algunes espècies, així com les conseqüències associades a la proliferació d'espècies vegetals, són encara desconegudes.

CAPÍTOL 2 - MÈTODES D'ANÀLISI

2.1. INTRODUCCIÓ

Aquest capítol es centra en l'estudi dels mètodes d'anàlisi de les drogues d'abús en matrius ambientals. L'objectiu consisteix en desenvolupar un mètode multi-residu, versàtil i ràpid que permeti la determinació de tots els compostos seleccionats a uns nivells de quantificació suficientment baixos per permetre la seva detecció en aquestes matrius.

La primera part del capítol conté un estudi bibliogràfic dels mètodes publicats a la literatura per a la determinació de drogues d'abús en matrius ambientals, els quals mostren l'ús generalitzat de tècniques de separació cromatogràfiques acoblades a l'espectrometria de masses amb prèvia preconcentració.

2.1.1. Mètodes de tractament de mostra

En l'anàlisi de mostres ambientals, i en concret d'aigües, cal tenir en compte que a la complexitat inherent a la pròpia matriu se li sumen les baixes concentracions a les que es troben els compostos a analitzar. Aquest fet és especialment important per a les drogues d'abús, ja que és d'esperar obtenir concentracions extremadament baixes, en molts casos al voltant dels límits de detecció (LODs). En aquests casos, el procediment de tractament de mostra s'ha d'escollir de manera que permeti assolir aquests baixos nivells i a més, eliminar la major part de les interferències de la matriu. A la Taula 2.1. es recullen els mètodes d'extracció o concentració publicats a la literatura per a les drogues d'abús.

Aquest tractament consisteix en una etapa inicial de filtració, imprescindible en el cas de mostres especialment complexes com poden ser les aigües residuals, per tal d'eliminar les partícules sòlides que poden dificultar la posterior etapa de preconcentració. Habitualment es poden usar filtres de vidre de microfibras (1.6 µm), membranes de niló (0.45 µm) o de nitrocel·lulosa (0.45µm), o fins i tot la centrifugació, per tal de separar els sòlids en suspensió. Pel que fa a l'etapa de preconcentració, l'extracció en fase sòlida (SPE) és la tècnica escollida habitualment per determinar la presència de les drogues d'abús en tot tipus de matrius ambientals aquoses (Vazquez-Roig i cols., 2013).

Els volums de mostra emprats varien en funció de les característiques de la matriu d'estudi, de manera que per aigües superficials o potables s'empren habitualment volums de 500 mL a 1 L, mentre que per aigües residuals els volums recomanables són inferiors, donada la complexitat de la mostra. Pel que fa referència als sorbents més emprats, els copolímers de polidivinil-benzè/N-vinilpirrolidina (Oasis HLB) i d'altres sorbents polimèrics, com els Strata-X o els PRLPs, són els usats més freqüentment per a l'extracció de drogues d'abús en matrius ambientals aquoses. En general, aquests sorbents solen ser els més versàtils a l'hora d'extreure simultàniament compostos amb diferent polaritat, acidesa o basicitat, amb recuperacions adequades per a la majoria de compostos estudiats, com es pot comprovar a la Taula 2.1. Una excepció són els cannabinoids, per als quals, donada la seva polaritat ($K_{ow} \sim 5.5-7.5$), s'obtenen recuperacions per sota del 40% en molts casos (Postigo i cols., 2008, Zuccato i cols., 2008a, Vazquez-Roig i cols., 2010). Tot i així, s'han proposat mètodes que permeten obtenir bones recuperacions per a aquests compostos usant sorbents polimèrics i emprant solvents d'extracció menys polars que el metanol, com per exemple l'acetat d'etil o l'acetona (Hummel i cols., 2006, Bones i cols., 2007a, Gonzalez-Mariño i cols., 2010).

Un altre grup de sorbents àmpliament usat per a l'extracció de drogues d'abús són els d'intercanvi catiónic tipus Oasis MCX o Strata-XC, que permeten obtenir bones recuperacions per als compostos polars amb característiques bàsiques, com per exemple les amfetamines, alguns cocaínics i els opiacis, ja que eliminen de la matriu els compostos neutres i àcids. Ara bé, aquests tipus de sorbents necessiten d'una etapa prèvia d'acidificació, que si bé permet millorar en alguns casos l'estabilitat d'alguns compostos durant l'emmagatzematge (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b), resulta menys eficaç per a l'extracció dels compostos més polars, com poden ser els derivats cannabinoids (Pedrouzo i cols., 2011), assolint en aquests casos recuperacions baixes, per sota del 60%. Alguns autors proposen emprar polímers molecularment impresos (MIPs), especialment per a l'anàlisi de derivats amfetamínics (Gonzalez-Mariño i cols., 2010, Seidi i cols., 2011). Els MIPs permeten realitzar extraccions altament selectives i amb una reducció important dels efectes matriu. Tot i així, la dificultat de realitzar anàlisis multi-residu i de disposar de polímers per a tots els compostos en estudi, els majors temps d'anàlisi necessaris i la capacitat més baixa comparada, per exemple, amb la dels cartutxos Oasis, fa que habitualment no s'utilitzin.

Amb l'objectiu de disposar de mètodes totalment automatitzats, alguns autors proposen realitzar l'extracció de les drogues d'abús en sistemes en línia (*on-line*) (Postigo i cols., 2008, Fontanals i cols., 2011, Fontanals i cols., 2013, Ostman i cols., 2014, Heuett i cols., 2015). Aquest tipus d'extracció en fase sòlida permet minimitzar el temps d'anàlisi, així com la manipulació i els volums de mostra, fets que contribueixen a l'obtenció de millors reproductibilitats i precisions. Ara bé, el fet de tractar-se d'una tècnica que no permet re-analitzar l'extracte, presentar en alguns casos majors interferències de matriu donada la menor flexibilitat en l'ús dels solvents de neteja i elució, i l'eixamplament dels pics cromatogràfics obtinguts, són alguns dels principals inconvenients de la tècnica.

Pel que fa referència a la presa de mostra, en l'anàlisi de drogues d'abús s'empren habitualment mostres puntuals o bé compostes de 24 hores. Una tercera aproximació consisteix en l'ús de mostrejadors passius que permeten millorar la conservació i estabilitat de la mostra alhora que obtenir un mostreig integrat. En concret, per a les drogues d'abús, els dispositius habitualment emprats són els mostrejadors passius integrats per a compostos orgànics (*Polar Organic Chemical Integrative Samplers*, POCIS), els quals permeten mostrejar compostos orgànics dissolts en aigua amb constants $\log K_{ow}$ inferiors a tres. Els POCIS utilitzen els mateixos sorbents que els usats per a l'extracció en fase sòlida, inserits en una membrana microporosa que permet la penetració dels compostos orgànics més hidrofòbics (Alvarez i cols., 2008). Aquests dispositius es situen a la zona de presa de mostra en contacte amb l'aigua, es mostreja durant períodes relativament llargs de temps i, a continuació, s'extreuen amb els mateixos dissolvents que en l'extracció en fase sòlida. Per a les drogues d'abús, els mètodes emprats habitualment es basen en l'ús de sorbents Oasis HLB i extraccions amb metanol pur, mentre que els temps d'exposició varien entre 7 dies i un mes (Taula 2.1.). La necessitat de disposar de les constants de velocitat de cada compost d'interès (factor de retenció) per tal de calcular-ne la concentració final representa el principal inconvenient d'aquesta tècnica. Tot i així, actualment existeixen treballs on s'han determinat aquestes constants per a més de 15 drogues d'abús que inclouen cocaínics, ATSS i opioides (Yargeau i cols., 2014). Un altre inconvenient addicional es deu a les característiques de la matriu d'estudi. Per exemple, aigües residuals amb una elevada càrrega de matèria orgànica i particulada han conduït, en alguns casos, a una infra-estimació de les concentracions reals de drogues d'abús en aquestes matrius (Rodayan i cols., 2015).

Per últim, cal esmentar que darrerament la química verda i els mètodes que minimitzen l'ús de solvents estan prenent importància, i això es reflecteix en l'aparició de múltiples mètodes d'anàlisi de drogues d'abús que apliquen els principis de la química verda. Per una part, el desenvolupament de mètodes de microextracció en fase sòlida (SPME), especialment per a l'anàlisi de compostos de tipus amfetamínic (Gonzalez-Mariño i cols., 2009, Djozan i cols., 2011, Racamonde i cols., 2012), permet obtenir en la majoria dels casos recuperacions superiors al 80% (Racamonde i cols., 2012) sense emprar solvents orgànics. Per altra banda, alguns autors proposen la injecció directa de grans volums (LVI) en equips d'elevades prestacions, en termes de sensibilitat i robustesa i prescindir de l'extracció en fase sòlida, per reduir el temps d'anàlisi total i els dissolvents usats. Chiaia i cols. (Chiaia i cols., 2008) en una de les primeres aplicacions d'aquesta tècnica per a l'anàlisi de drogues il·lícites analitzen diferents drogues il·lícites del grup dels amfetamínics, cocaínics i d'altres estimulants en menys de 35 minuts injectant 1.8 mL d'aigua directament en el cromatògraf de líquids. Des d'aleshores s'han publicat altres treballs emprant aquest tipus d'injecció per a l'anàlisi de drogues d'abús en aigües residuals on les concentracions són suficientment elevades, obtenint en tots casos importants reduccions en els temps d'anàlisi totals, especialment quan es combina amb tècniques de cromatografia ràpida (Bisceglia i cols., 2010, Berset i cols., 2010b, Boix i cols., 2015).

Taula 2.1. Mètodes d'extracció i concentració representatius utilitzats en l'anàlisi de drogues d'abús.

Tècnica	Compostos	Matriu	Mostra	Pretractament	Sorbent	Solvent d'extracció	Rec. (%)	Referències
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, nor-COC, COCET, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, THC	Residual	Integrada 24h	Filtració 1.6 µm pH 2 (50 mL)	Oasis MCX	Metanol (2% NH ₄ OH)	51-112	(Castiglioni i cols., 2006)
Off-Line	COC, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, COD	Residual Superficial Subterrània Potable	Puntual	Filtració <1µm (100 mL-1L)	Oasis HLB	Acetona	29-50	(Hummel i cols., 2006)
Off-Line	MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, EDDP, COD, nor-COD, FENTA, THC, THC-COOH	Residual	Integrada 24h	Filtració 1.6 µm (200 mL)	Oasis HLB	Metanol	40-96	(Boleda i cols., 2007)
Off-Line	COC, BE, nor-BE, AMP, MOR, 6ACM, nor-MOR, LSD, nor-LSD, THC, THC-COOH, THC-OH	Residual Superficial	Integrada 24h Puntual	Filtració 1.2 µm (500 mL)	Strata-XC	Acetat d'etil: Acetona (5% NH ₄ OH)	4-60	(Bones i cols., 2007b)
Off-Line	COC, BE, AMP, COD	Residual, Superficial,	Puntuals	Filtració GC/F (250-1000mL)	Oasis MCX	Metanol (5% NH ₄ OH)	70-131	(Kasprzyk-Hordern i cols., 2008)
Off-Line	COC, BE, nor-BE	Residual	Integrada 24h Puntual	Filtració (100-500 mL)	Oasis HLB	Metanol	73-96	(Gheorghe i cols., 2008)
Off-Line	COC, BE, CE, AM, MA, MDMA, EPH, LSD, nor-LSD, O-OH-LSD, MOR, 6ACM, HER, THC, THC-COOH, OH-THC	Residual	Integrada 24h	Filtració 1- 0.45µm	Oasis HLB	Acetonitril:Aigua	8-121	(Postigo i cols., 2008)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, nor-COC, COCET, THC-COOH	Residual Superficial	Integrada 24h	Centrifugació pH 2 (50 mL)	Oasis MCX	Metanol (2% NH ₄ OH)	73-106	(Bijlsma i cols., 2009)
Off-Line	COC, BE, EME, AMP, METH, MDMA, META, EDDP, 6ACM	Residual	Integrada 24h	Filtració pH 2	Oasis MCX	Metanol (2% NH ₄ OH)	35-102	(van Nuijs i cols., 2009a)
Off-Line	COC, HER	Residual	Puntual	Filtració	Bond-Elut LRC	Metanol (5% NH ₄ OH)	91-109	(Mari i cols., 2009)

Tècnica	Compostos	Matriu	Mostra	Pretractament	Sorbent	Solvent d'extracció	Rec. (%)	Referències
Off-Line	COC, BE, EME, AMP, METH; MDMA, MDA; MOR, HER, 6ACM, COD, META, THC, THC-COOH	Superficial	Puntual	Filtració 1.6µm (250 mL)	Oasis HLB	Metanol	57-120	(Vazquez-Roig i cols., 2010)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, MOR, 6ACM, HER, META, THC, THC-COOH	Residual Superficial	Integrada 24h	Filtració 0.45µm pH 8.5 (500 mL)	Oasis HLB	Acetat d'etil:Acetona: Metanol	74-125	(Gonzalez-Mariño i cols., 2010)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDA	Residual Superficial	Puntual	Filtració GF/F	Oasis HLB	Metanol	64-119	(Barreiro i cols., 2010)
Off-Line	COC, BE, nor-BE, COCET, nor-COC, EME, ECG, EEE, AEME, AEC, AMP, METH, MDMA, MDEA, MOR, 6ACM, COT	Residual	Integrada 24h	Filtració 1.2 µm pH 2 (200mL)	Strata XC	Metanol: 2% NH ₄ OH	73-110	(Bisceglia i cols., 2010)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDA, MDEA, nor-EPH	Residual	Puntual	Filtració 2.7 µm i 0.7 µm	Oasis HLB	Metanol	81-90	(Kasprzyk-Hordern i cols., 2010)
Off-Line	COC, BE, EME, AMP, METH; MDMA, MDA	Residual	Integrada 24h	Filtrada 1.2 µm (250 mL)	Oasis MCX	Metanol: 5% NH ₄ OH	-	(Metcalf i cols., 2010)
Off-Line	COC, BE, AMP, MDMA	Residual	Integrada 24h (per cabal)	Filtrada 1.0 µm (500 mL)	Oasis HLB	Metanol	70-89	(Karolak i cols., 2010)
Off-Line	BE, METH, MDMA	Residual	Integrada 24h (per cabal)	Filtrada 1.6 µm (300 mL)	UCTxRDAH	Diclorometà: i-propanol: 4% NH ₄ OH	53-92	(Irvine i cols., 2011)
Off-Line	COC, BE, nor-BE, COCET, nor-COC, AME, AMP, META, DMA, MDEA, MBB, LSD, OH-LSD, HER, MOR, nor-MOR 6ACM, COD, nor-COD, EDDP, FENTA, nor-FENT, PCP, KET, nor-KET, EPH, nor-EPH, CAFF, NICO, PARA, COT	Residual	Puntual	Filtrada 2.7-0.7 µm pH 1.8 (100 mL)	Oasis MCX	Metanol: 7% NH ₄ OH	55-103	(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b)

Tècnica	Compostos	Matriu	Mostra	Pretractament	Sorbent	Solvent d'extracció	Rec. (%)	Referències
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, LSD, PCP, KET, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, EDDP, CODE, nor-COD, FENTA, THC, THC-COOH	Potable	Puntual	Na ₂ S ₂ O ₃ (200 mL)	Oasis HLB	Metanol	65-103	(Boleda i cols., 2011a)
Off-Line	COC, BE, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, THC-COOH	Residual Superficial	Integrada 24h	Centrifugació Filtració 0.45µm pH 3 (500 mL)	Oasis MCX	Metanol (5% NH ₄ OH)	38-77	(Pedrouzo i cols., 2011)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, Etil-MDA, COC, BE, LSD, PCP, KET, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, EDDP, FENTA, COD, FENTA, THC, THC-COOH	Residual Superficial Potable	Puntuals	pH 2.3	Oasis HLB	Metanol	9-83 4-92	(De Voogt i cols., 2011)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDA, MDEA, EPH, nor-EPH	Residual	Puntual	Filtració GF/F i GF/D pH 7.5	Oasis HLB	Metanol	-	(Bagnall i cols., 2012)
Off-Line	AMP, METH, MDMA, MDA, MDEA, EPH, nor-EPH	Residual	Puntual	Filtració GF/F i GF/D	Oasis HLB	Metanol	54-122	(Huang i cols., 2012)
On-Line	COC, BE, CE, AM, MA, MDMA, EPH, LSD, nor-LSD, O-OH-LSD, MOR, 6ACM, HER, THC, THC-COOH, OH-THC	Residual	Integrada 24h	Filtració 1-0.45µm	PLRPs i Oasis HLB (10x2 mm)	Acetonitril: AIGUA	71-145	(Postigo i cols., 2008)
On-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE	Residual, Superficial	Integrada 24h	Filtració 0.45µm pH 4.5	Oasis WCX	Metanol	50-100	(Fontanals i cols., 2013)
On-line	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, META, COD, OH-COD, LSD, THC-COOH, FENTA, KET	Residual Superficial	Integrada 24h	Filtració	Oasis HLB	Acetonitril: AIGUA	-	(Fedorova i cols., 2013)
On-Line	AMP, MOR, COD	Residual	Integrada 24h	Filtració	Pursuit C18	Metanol	-	(Repeice i cols., 2013)

Tècnica	Compostos	Matriu	Mostra	Pretractament	Sorbent	Solvent d'extracció	Rec. (%)	Referències
On-Line	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDEA, LSD, OH-LSD, HER, MOR, 6ACM, META, COD, EDDP, FENTA, KET, THC-COOH	Residual	Integrada 24h (cabal)	Filtració 0.45µm pH 3	Oasis HLB	Metanol	-	(Ostman i cols., 2014)
On-Line	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, nor-COC, COCET, LSD, LSD-OH, MOR, 6ACM, HER, THC, THC-COOH, THC-OH	Residual	Integrada 24h	Filtració 0.45µm,	Hyper SEP	Metanol	50-100	(Heuett i cols., 2015)
POCIS	MDMA, METH	Residual	28-30 dies	-	-	-	-	(Jones-Lepp i cols., 2004)
POCIS	AMP, METH, COTI, CAFE; PARA	Superficial	7 dies	-	Oasis HLB	Metanol	93-143	(Bartelt-Hunt i cols., 2009)
POCIS	METH, MDMA	Superficial	30 dies	-	Oasis HLB	Metanol	66-71	(Jones-Lepp i cols., 2012)
POCIS	METH	Residual	27 dies	-	Oasis HLB	Metanol	-	(Boles i Wells, 2014)
POCIS	COC, BE, COCET, EME, EEE, AMP, MDMA, METH, OH- METH, MOR, OH-COT	Residual	14 dies	-	Oasis HLB	Metanol	9- >70	(Harman i cols., 2011)
POCIS	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDA, HER, MOR, 6ACM, META, COD, OH-COD, EDDP, FENTA, KET	Residual	14 dies	-	Oasis HLB	Metanol	-	(Yargeau i cols., 2014)
POCIS	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, META, COD, OH- COD, LSD, THC-COOH, FENTA, KET	Residual	21 dies	-	Pest-POCIS (Isolute ENV+, Ambersorb 1500, S-X3 BioBead)	Diclorometà: Metanol:Toluè (8:1:1)	-	(Fedorova i cols., 2014)
POCIS	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDA, HER, MOR, 6ACM, META, COD, OH-COD, EDDP, FENTA, KET	Potable	14 dies	-	Oasis HLB	Metanol	>80	(Rodayan i cols., 2015)

Tècnica	Compostos	Matriu	Mostra	Pretractament	Sorbent	Solvent d'extracció	Rec. (%)	Referències
MISPE	AMP, MDA, METH, MDMA, MDEA	Residual	Puntual	Filtració 0.45 µm (50 mL)	SupelMIP-AMP	Metanol(1% HCOOH)	92-114	(Gonzalez-Mariño i cols., 2009)
MISPE	COC, BE, MOR, COD, 6-ACM	Residual, Superficial	Integrada 24h	Filtració 0.45µm pH 4.5	Polímer Enllaçat HXLPP	Acetomitril:tampó acètic/acetat	78-102	(Fontanals i cols., 2011)
LVI	AMP, METH, MDMA, MDA, MDEA, EPH, COC, nor-COC, nor-BE, META, KET, nor-KET, LSD, oxo-LSD, PCP, FLUNI, COT, CAFE, CREAT	Residual	Integrada 24h	Centrifugació (1.8mL)	-	-	-	(Chiaia i cols., 2008)
LVI	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MOR, COD, 6ACM, EDDP, META, THC-COOH	Residual	Integrada 24h, Puntual superficials	Filtració pH 2 (100uL)	-	-	-	(Berset i cols., 2010b)
LVI	COC, BE, nor-BE, COCET, nor-COC, ECG, AMP, METH, MDEA, MOR, 6ACM, COT	Residual	Integrada 24h	Filtrada 1.2 µm pH 2 (200mL) (5mL)	-	-	-	(Bisceglia i cols., 2010)
LVI	COC, BE, COCET, AMP, MDMA	Residual	Integrada 24h	Filtració	-	-	-	(Boix i cols., 2015)

Off-line: extracció en fase sòlida convencional; On-line: extracció en fase sòlida en línia; MISPE: extracció en fase sòlida amb polímer imprès molecularment; LVI: injecció directa de grans volums. COC: cocaïna; BE: benzoilfecgonina; nor-BE: norbenzoilfecgonina; EME: etilmetilecgonina; COCET: cocaetilè; AMP: amfetamina; METH: metamfetamina; MOR: morfina; nor-MOR: normorfina; MOR3G: morfina-3-glucurònid; 6ACM: 6-acetil morfina; HER: heroïna; META: metadona; COD: codeïna; nor-COD: norcodeïna; FENTA: fentanil; nor-FENTA: norfentanil; FLUNI: flunitrazepam; KET: ketamina; CREAT: creatinina; EPH: efedrina; nor-EPH: norefedrina; OXY: oxicodone; CAFE: cafeïna; PARA: paraxantina; NICO: nicotina; COT: cotinina.

2.1.2. Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses

Les baixes concentracions a les que habitualment es troben els diferents contaminants emergents en el medi ambient, i en concret les drogues d'abús i els seus metabòlits, juntament amb la complexitat i composició desconeguda de les matrius d'estudi, requereixen de l'ús de tècniques d'anàlisi específiques, selectives i amb elevades sensibilitats. Tot i que existeixen alguns treballs que utilitzen la cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de masses per a l'anàlisi de drogues d'abús (Mari i cols., 2009, Gonzalez-Mariño i cols., 2009, Djozan i cols., 2011, Racamonde i cols., 2012), la tècnica escollida més habitualment és la cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem (LC-MS/MS) (Vazquez-Roig i cols., 2013).

Atès que el nombre de substàncies potencialment presents a les mostres a analitzar és molt elevat, hi ha una tendència generalitzada en desenvolupar mètodes multi-residu que permetin la determinació simultània de múltiples compostos en una única adquisició i d'aquesta manera aconseguir una reducció important tant en el temps com en els costos d'anàlisi. En aquesta línia, i per tal de reduir significativament els temps d'anàlisi, en els darrers anys, i especialment en el moment d'iniciar l'estudi de les drogues d'abús en matrius ambientals que s'ha dut a terme en aquesta tesi, es va produir una important evolució en la cromatografia de líquids que es coneix com a "*cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia*" (UHPLC), i que es basa en l'ús de columnes cromatogràfiques amb rebliments de partícules poroses de diàmetre inferior als 2 µm, que treballen a pressions elevades en equips especialment dissenyats per a suportar-les. L'ús d'aquests rebliments de petit diàmetre permet un augment del nombre de plats teòrics i, per tant, una millora en l'eficàcia de la separació cromatogràfica. Això es tradueix en pics cromatogràfics més estrets, amb millors sensibilitats i capacitats de pic i, indirectament, en menors efectes de matriu. L'UHPLC ha estat des dels seus inicis emprada en els estudis de presència de les drogues d'abús en matrius ambientals, tal i com es pot observar en les dades de la Taula 2.2. Més recentment, l'aparició de rebliments que permeten menors caigudes de pressió, tot utilitzant partícules amb un nucli sòlid i una superfície porosa (*fused-core*), ha permès emprar columnes d'alta eficàcia en equips de cromatografia convencional per a l'anàlisi de les drogues d'abús (Pedrouzo i cols., 2011, Fontanals i cols., 2011, Borova i cols., 2014).

Les fases estacionàries habitualment emprades per a l'anàlisi de drogues d'abús en matrius ambientals (Taula 2.2.) són de fase invertida, normalment d'octadecilsilà, ja que generalment resulten les més adequades per a la seva separació. Aquestes columnes permeten normalment la separació dels compostos de diferents famílies de drogues d'abús en mètodes multi-residu. Ara bé, alguns autors proposen emprar cromatografia d'interacció hidrofílica (HILIC), per analitzar drogues d'abús en matrius aquoses (Gheorghe i cols., 2008, van Nuijs i cols., 2009c, Fontanals i cols., 2011). Aquesta tècnica, que utilitza columnes amb fases estacionàries polars (p.e.: sílice) com en la cromatografia de fase normal i fases mòbils hidrofòbiques (amb un elevat percentatge de solvent orgànic) com en la cromatografia de fase invertida, permet millorar la retenció dels analits més polars, com per exemple el metabòlit de la cocaïna ecgonina metil ester, que no es reté bé en cromatografia de fase invertida (Gheorghe i cols., 2008). D'altres fases estacionàries emprades en l'estudi de les drogues d'abús són, per exemple, les fases enllaçades pentafluorofenil (PFP) (Irvine i cols., 2011, Borova i cols., 2014), les quals permeten obtenir elevades selectivitats per a aquells compostos que estableixen interaccions π - π amb la fase estacionària com les amfetamines i els opioïdes. Per exemple, per als compostos amb substituents amino, com les ATSS, s'obtenen pics més simètriques i millors sensibilitats que en columnes de fase invertida d'octasilà o d'octadecilsilà gràcies precisament a aquestes interaccions (Borova i cols., 2014).

Per últim, es poden emprar també columnes quirals per tal d'establir els perfils enantiomèrics de les drogues d'abús, els quals permeten determinar, entre d'altres aspectes, si la droga detectada prové del seu consum directe, és un metabòlit d'alguna altra o bé prové d'una introducció directa en el medi (Evans i Kasprzyk-Hordern, 2014). Fins avui dia, l'estudi enantiomèric s'ha centrat fonamentalment en la família dels compostos amfetamínics (Kasprzyk-Hordern i cols., 2010, Barreiro i cols., 2010, Bagnall i cols., 2012, Huang i cols., 2012, Emke i cols., 2014) tot i que, atesa la quiralitat d'altres drogues d'abús, aquests estudis es podrien estendre a d'altres drogues sintètiques com per exemple el LSD.

Un aspecte que influeix en la separació cromatogràfica és la temperatura de treball, tot i que no és un paràmetre que s'estudiï habitualment. Per exemple, la majoria de les separacions dels treballs inclosos a la Taula 2.2. es duen a terme a temperatura ambient. No obstant, la temperatura de la separació és molt important en UHPLC, ja que un

augment de temperatura es tradueix en una disminució de la viscositat de la fase mòbil i un augment en la difusió de l'analit, que condueixen a una reducció dels temps d'anàlisi, sense pèrdues destacables d'eficàcia ni augments importants en la pressió de la columna (Edge i cols., 2006). Per tant, i pel que fa a la cromatografia d'ultra elevada eficàcia (UPLC), la combinació d'ambdues aproximacions, temperatura i mida de partícula, pot permetre obtenir separacions ultra ràpides gracies a l'augment de cabdal, a pressions acceptables i sense pèrdues importants en la resolució. A més, treballar a temperatura elevada pot permetre disminuir els efectes d'escalfament per fricció produïts en columnes de partícules de $<2 \mu\text{m}$, aproximar-se a les condicions adiabàtiques de treball i minimitzar aquest efecte que produeix un eixamplament de banda (McCalley, 2011).

Pel que fa referència a la composició de les fases mòbils, la major part dels mètodes de separació proposats a la literatura per a la determinació de drogues d'abús utilitzen una fase binària consistent en acetonitril o metanol i aigua (Taula 2.2.). L'addició de modificadors orgànics també resulta habitual en els mètodes publicats a la literatura. L'ús d'àcid acètic (Rodayan i cols., 2014) o més habitualment, d'àcid fòrmic a diferents percentatges (0.01-0.5%), permet obtenir un increment de les respostes dels compostos adquirits en mode positiu en ESI-MS, donat que en promou una major ionització alhora que en millora les formes de pic. Pel que fa a la fase aquosa és habitual l'ús de tampons d'àcid acètic/acetat d'amoni (1-5mM) o d'àcid fòrmic/formiat d'amoni a diferents concentracions (1-50mM). L'ús d'aquests tampons permet incrementar les interaccions dels compostos, especialment bàsics, amb les columnes de fase invertida amb els grups silanols no-ionitzats, i per tant millorar les formes de pic i les eficiències de la separació. Les concentracions d'aquests tampons varien notablement entre els diferents treballs publicats. En general, un increment de la força iònica permet millorar els factors de retenció, tot i que, valors extremadament elevats poden conduir a problemes de solubilitat i reducció de la sensibilitat en l'espectròmetre de masses (McCalley, 2003).

Taula 2.2. Mètodes de cromatografia de líquids acoblats a l'espectrometria de masses per a la determinació de drogues d'abús.

Tècnica	Compostos	Cromatografia de Líquids			Espectrometria de Masses			Referències
		Columna	Fase Mobil	Ionització	Anàlitz.	Adquisició		
HPLC	METH, MDMA	Restek Allure C18 (150x3.2 mm, 5µm)	A: Metanol:0.1% àcid fòrmic B: Tampó fòrmic/formiat (1mM)	ESI(+)	ITMS	FS/MS ²	(Jones-Lepp cols., 2004)	
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, COC, BE, COCET, MOR, 6ACM, nor-MOR, MOR3G EDDP, META, THC-COOH	Xterra MS C18 (100x2.1 mm, 5µm)	A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI(+/-)	QqQ	2SRM	(Castiglioni cols., 2006)	
HPLC	BE, COD, DICOD, META, MOR, OXYC	Synergi (150x3mm, 4µm)	Polar-RP A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Hummel i cols., 2006)	
HPLC	COC, BE, COCET, MDMA, MET, EDDP, LSD, KET, TEM, THC, THC-COOH, OH	Phenomenex C18 (200x3mm, 5µm)	Onyx A: Metanol B: Tampó fòrmic/formiat (5mM)	ESI (+)	ITMS	1SRM	(Bones i cols., 2007b)	
HPLC	COC, BE, AMP, COD,	Halo C18 (100x2.1mm, 2.7µm)	A: Metanol B: Tampó fòrmic/formiat (5mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Kasprzyk-Hordern i cols., 2007)	
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, BE, META, KET, oxo-LSD, CAFE, CREAT	Atlantis T3 (150x4.6mm, 5µm)	C18 A: Acetonitril B: Aigua:0.05% Àcid fòrmic	ESI (+)	QqQ	1-2 SRM	(Chiaia i cols., 2008)	
HPLC	COC, BE, EME	Zorbax EXtended (150x2.1mm, 3.5µm)	C18 A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+)	ITMS	1SRM	(Gheorghe cols., 2008)	
HPLC	COC, BE, CE, AM, MA, EPH, LSD, MOR, 6ACM, COOH, OH-THC	Purospher Star (125x2mm, 5µm)	RP18 A: Acetonitril B: Aigua	ESI (+/-)	QLIT	2SRM	(Postigo i cols., 2008)	
HPLC	COC, BE, EME	Zorbax (150x2.1mm, 5µm)	Rx-SIL A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (2mM)	ESI (+)	ITMS	1SRM	(Gheorghe cols., 2008)	

Tècnica	Compostos	Cromatografia de Líquids			Espectrometria de Masses			Referències
		Columna	Fase Mòbil	Ionització	Anàlitz.	Adquisició		
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, X Terra MDA, COC, BE, nor-BE, nor-COCET, THC-COOH	MS (100x2.1mm, 3.5 µm)	C18 A: Acetonitril B: Aigua:0.05% Àcid fòrmic (TEA per cannabinoids)	ESI (+/-)	QqQ	2SRM	(Zuccato i cols., 2008a)	
HPLC	METH, MDMA	Varian Pursuit XRS (100x2mm, 3µm)	C18 A: Acetonitril:0.5% Àcid fòrmic B: Aigua:0.5% Àcid fòrmic	ESI (+)	ITMS	FS /MS ²	(Loganathan i cols., 2009)	
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, nor-COCET, THC-COOH	Luna HILIC (150x3mm, 5µm)	Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (5mM)	ESI (+)	QqQ	3SRM	(van Nuijs i cols., 2009c)	
HPLC	COC, BE, AMP, METH, Phenomenex MADMA, MOR, COD, 6ACM, EDDP, META, THC-COOH	Synergi A: Metanol (100 x mm, 2.5µm)	2.1 B: Aigua:0.2% Àcid fòrmic	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Berset i cols., 2010b)	
HPLC	COC, BE, EME, AMP, METH; MDMA, MDA; MOR, HER, 6ACM, COD, META, THC, THC-COOH	Sunfire C18 (4.6x150 mm, 3.5 µm)	A: Acetonitril:0.1% Àcid fòrmic B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Vazquez-Roig i cols., 2010)	
HPLC	COC, BE, AMP, MDMA	Xbridge Phenyl (150x3.5 mm, 3 µm)	A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Karolak i cols., 2010)	
HPLC	COC, BE, EME, AMP, METH; MDMA, MDA	Genesis C18 column (150 x mm 3 mm, 4 µm)	A: Acetonitril B: Aigua:0.1% Àcid fòrmic	ESI (+)	ITMS	1SRM	(Metcalfe i cols., 2010)	
HPLC	BE, METH, MDMA	Phenomenex TM Luna PFP (50x 4.6 mm, 3.5µm)	A: Metanol B: Aigua:0.1% Àcid fòrmic	ESI (+)	QLIT	3SRM	(Irvine i cols., 2011)	
HPLC	COC, BE	Zorbax Eclipse (150 x 4.6 mm, 5 µm)	XDB-C8 A: Acetonitril: 0.1% Àcid fòrmic B: Aigua:0.1% Àcid fòrmic	HESI (+)	LTQ Orbitrap	MS ⁿ	(Bagnati Davoli, 2011)	
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, Eti-MDA, COC, BE, LSD, PCP, KET, MOR, 6ACM, nor-MOR, HER, META, EDDP, FENTA, COD, FENTA, THC, THC-COOH	Omnisphere C18 (100 x 2.0mm, 2.7 µm)	A: Acetonitril A': Metanol B: Aigua:0.05% Àcid fòrmic	ESI (+/-)	LTQ Orbitrap	FS/MS ⁿ	(De Voogt i cols., 2011)	
HPLC	COC, BE, nor-BE, EME, nor-COC	Nucleosil 100-3 C18 HD (150x4mm, 3µm)	A: Metanol B: Tampó acètic/acetat (5mM)	ESI (+)	QTOF	FS/MS ²	(Gonzalez-Mariño i cols., 2012a)	

Tècnica	Compostos	Cromatografia de Líquids			Espectrometria de Masses			Referències
		Columna	Fase Mòbil	Ionització	Anàlitz.	Adquisició		
HPLC	COC, BE, MOR, META, EPH, Zorbax Eclipse XDB-C8 A: Acetonitril: 0.1% Àcid fòrmic EDDP, NICO, COTI, PARA (150 × 4.6 mm, 5 µm) B: Aigua: 0.1% Àcid fòrmic			ESI (+)	QTOF	FS/MS ²	(Martínez-Bueno i cols., 2012)	
HPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, XBridge C18 (150 mm × 2.1 A: Metanol: 0.05% Àcid fòrmic MDA, COC, BE, HER, MOR, mm, 3.5 µm) B: Aigua: 0.05% Àcid fòrmic 6ACM, META, COD, THC, THC-OH, THC-COOH, KETA, FENTA			ESI (+)	QqQ ITMS	2SRM FS i (MS2) CID 2013b)3	(Bijlsma i cols., 2013)	
HPLC	COC, BE, nor-BE, EME, COCET, XBridge C18 (150 mm × 2.1 A: Metanol: 0.05% Àcid fòrmic nor-COC, AMP, METH, MDA, mm, 3.5 µm) B: Aigua: 0.05% Àcid fòrmic MDMA, MDEA, MOR, META 6ACM, COD, EDDP, FENTA, KET, THC-COOH			HESI (+)	LQ Orbitrap	FS/MSn	(Van der Aa i cols., 2013)	
HPLC	COC, BE, EME, AMP, METH, Phenomenex Luna HILIC (150x3mm, 5µm) MDMA, META 6ACM, EDDP		A: ACETONITRIL B: Tampó acètic/acetat (5mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Van der Aa i cols., 2013)	
HPLC	BE/CAFE	Luna C18 (15.0 cm × 0.21 A: Metanol: Tampó fòrmic/formiat (10mM) cm, 3µm) B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)		ESI (+)	QqQ	2SRM	(Masia i cols., 2013)	
HPLC	BE/CAFE	Acquity BEH C18 A: Metanol: 0.01% Àcid fòrmic (100x2.1mm, 1.7µm) B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic		ESI (+)	QTOF	MS ⁿ	(Masia i cols., 2013)	
HPLC	AMP, COD, MOR	Varian Pursuit C18 (150x2.0 mm, 4.6 µm) A: Metanol: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic		ESI (+)	QqQ	2SRM	(Repice i cols., 2013)	
HPLC	COC, BE, COTI	Phenomenex Luna HILIC (150x3.0mm, 5 µm) A: Acetonitril B: Tampó acètic/acetat (5mM)		ESI (+)	QqQ	2SRM	(Lopes i cols., 2014)	
HPLC	AMP, MDMA, MDA	Chiral-CBH (100 × 2 mm, 5 µm) A: 2-Propanol - B: Tampó acètic/acetat (1mM): 0.05% Àcid fòrmic		ESI (+)	QqQ	2SRM	(Emke i cols., 2014)	
HPLC	AMP, MDMA	XBridge C18 (150 × 2.1 A: Metanol: 0.05% Àcid fòrmic mm, 3.5 µm) B: Aigua: 0.05% Àcid fòrmic		HESI (+)	LQ Orbitrap	FS/MS ⁿ	(Emke i cols., 2014)	
HPLC	COC, BE, AMP, METH, MDMA, MDA, HER, MOR, 6ACM, META, COD, OH-COD, EDDP, FENTA, KET	C18 (150x2.1 mm, 4 µm) A: Acetonitril B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic B': Tampó fòrmic/formiat (10mM)		ESI (+)	QqQ	2SRM	(Yargeau i cols., 2014)	

Tècnica	Compostos	Cromatografia de Líquids			Espectrometria de Masses			Referències
		Columna	Fase Mòbil	Ionització	Anàlitz.	Adquisició		
UPLC	MOR,6ACM,nor-MOR, META, EDDP, COD, FENTA, THC, THC-COOH	HER, Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol B: Tampó fòrmic/formiat (50mM)	ESI (+)	QqQ	2-3 SRM	(Boleda i cols., 2007)	
UPLC	COC,BE, AMP, COD	Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol:0.05% Àcid fòrmic B: Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Kasprzyk-Hordern i cols., 2008)	
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, MDA, COC, BE, nor-BE, COC, COCET, THC-COOH	Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol B: Tampó acètic/acetat(5mM): 0.1% Àcid fòrmic	ESI (+)	QqQ	3SRM	(Bijisma i cols., 2009)	
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, nor-EPH, EPH	Chiral-CBH (100 × 2 mm, 5 µm)	A: 2-Propanol B: Tampó acètic/acetat (1mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Kasprzyk-Hordern i cols., 2010)	
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDA	Chirobiotic (250 × 2.1 mm, 5 µm)	V A: Metanol - B:Tampó acètic/acetat (4mM):0.005% Àcid fòrmic	ESI (+)	QTOF	FS/MS ²	(Barreiro i cols., 2010)	
UHPLC	COC, AMP	XDB C18 (50x4.6 mm, 1.8µm)	A: Acetonitril: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua:0.01% Àcid fòrmic	ESI (+)	QTOF	FS/MS ²	(Gomez i cols., 2010)	
UHPLC	COC,BE,MOR,6ACM,nor-MOR, HER, META, THC-COOH	Fused-Core TM Express C18 (50x4.6 mm, 1.7 µm)	Ascentis A: Acetonitril B: Aigua:Àcid acètic	ESI (+/-)	QqQ	2SRM	(Pedrouzo cols., 2011)	
UPLC	COC, BE, nor-BE, COCET, nor-COC, AME, AMP, METH, MDA, MDEA, LSD, OH-LSD,HER, MOR, nor-MOR 6ACM, COD, nor-COD, EDDP, FENTA, nor-FENT, PCP, KET, nor-KET, EPH, nor-EPH, CAFF, NICO, PARA, COT	Acquity BEH C18 (100x2.1mm, 1.7µm)	A: Metanol:0.3% Àcid fòrmic B: Aigua:0.3% Àcid fòrmic	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Baker Kasprzyk-Hordern, 2011c)	
UHPLC	COC, TP	Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Acetonitril B: Tampó fòrmic/formiat (25mM) B':Aigua	ESI (+) ESI (-)	QTOF	FS/MS ²	Postigo 2011b	
UHPLC	COC, BE, MOR, COD, 6-ACM	Fused-Core TM Express HILIC (50x2.1 mm, 2.7 µm)	Ascentis A: Acetonitril:0.1% Àcid fòrmic B: Tampó fòrmic/formiat (15mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Fontanals cols., 2011)	

Tècnica	Compostos	Cromatografia de Líquids			Espectrometria de Masses			Referències
		Columna	Fase Mòbil	Ionització	Anàlitz.	Adquisició		
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDA, CBH (100x2mm, 5µm) EPH,nor-EPH		A: 2-Propanol B: Tampó acètic/acetat (1mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Huang i cols., 2012)	
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDA, CBH (100x2mm, 5µm) MDEA, nor-EPH, EPH		A: 2-Propanol B: Tampó acètic/acetat (1mM)	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Bagnall i cols., 2012)	
UHPLC	COC, MDMA, COD	Acquity BEH (150x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic	ESI (+/-)	QTOF	FS/MS ²	(Diaz i cols., 2012)	
UHPLC	COC, MDMA	XDB C18 (50 x 4.6 mm, 1.8 µm)	Acetonitril: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic	ESI (+)	QTOF	FS/MS ²	(Perez-Parada i cols., 2012)	
UPLC	COC, BE, nor-BE, nor-COC, TP	Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic	ESI (+/-)	QTOF	FS/MS ²	(Bijlsma i cols., 2013a)	
UHPLC	COC, BE, EME, AMP, METH, MDA, MDMA, MDEA, HER, 6ACM, META, MOR, COD, OXY, EDDP, LSD, LSD-OH, THC-COOH, CAFF	Kinetex pentafluorophenyl A: Metanol (PFP) (50x2.1mm, 1.7 µm)	B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic	ESI (+)	QqQ	2SRM	(Borova i cols., 2014)	
UHPLC	THC-COOH, TP	Acquity BEH (100x2.1mm, 1.7µm)	C18 A: Metanol: 0.01% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic	ESI (+/-)	QTOF	MS ⁿ	(Boix i cols., 2014)	
UHPLC	COC, BE, AMP, METH, MDA, MDMA, MDEA, HER, 6ACM, META, MOR, COD, EDDP, KET, FENTA	Hypersil Gold (50x2.1 mm, 1.9µm)	A: Metanol: 0.1% Àcid acètic B: Aigua: 0.1% Àcid acètic	HESI (+)	LTQ Orbitrap	FS/MS ⁿ	(Rodayan i cols., 2014)	
UPLC	AMP, METH, MDMA, MDEA, Cogent bidentate	C18 A: Acetonitril: 0.1% Àcid fòrmic B: Aigua: 0.1% Àcid fòrmic		HESI (+)	LTQ Orbitrap	FS/MS ⁿ	(Fedorova i cols., 2014)	
UHPLC	COC, BE, EME, AMP, METH, MDA, MDMA, MDEA, HER, 6ACM, META, MOR, COD, OXY, EDDP, LSD, LSD-OH, THC-COOH, CAFF	Atlantis T3 C18 (100x2.1 mm, 3 µm)	A: Metanol B: Aigua: 0.01% Àcid fòrmic B': Tampó fòrmic/formiat (10mM)	ESI (+/-)	QqQ	2SRM	(Gago-Ferrero i cols., 2015)	

COC: cocaïna; BE: benzoillegonina; nor-BE: norbenzoillegonina; EME: etilmetillegonina; COCET: cocaetilè; AMP: amfetamina; METH: metamfetamina; MOR: morfina; nor-MOR: normorfina; MOR3G: morfina-3-glucurònid; 6ACM: 6-acetilmorfina; HER: heroïna; META: metadona; COD: codeïna; nor-COD: norcodeïna; FENTA: fentanil; nor-FENTA: norfentanil; FLUNI: flunitrazepam; KET: ketamina; CREAT: creatinina; EPH: efedrina; nor-EPH: norefedrina; OXY: oxicodone; CAFF: cafeïna; PARA: paraxantina; NICO: nicotina; COT: cotinina; TP: productes de transformació.

Pel que fa a l'acoblament de la cromatografia de líquids a l'espectrometria de masses, la tècnica d'ionització habitualment utilitzada és l'electrosprai (ESI) (Taula 2.2.). En general, les drogues d'abús es ionitzen millor en mode positiu, tot i que els compostos de la família dels cannabinoides presenten millors respostes en mode negatiu (Castiglioni i cols., 2006, Postigo i cols., 2008, Hogenbooma i cols., 2008, Irvine i cols., 2011, Vazquez-Roig i cols., 2013). El principal inconvenient d'aquest tipus d'ionització són els efectes matrius associats que poden donar lloc a supressió o augment del senyal. En general, per a les drogues d'abús s'ha observat que la resposta disminueix notablement a mida que la complexitat de matriu augmenta (Postigo i cols., 2008, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b). Per aquest motiu, a més d'una bona optimització del procés d'extracció en fase sòlida, és imprescindible l'ús de patrons marcats isotòpicament que permet tenir en compte aquests efectes i realitzar una quantificació acurada.

En referència als analitzadors, els de triple quadrupol son els més àmpliament usats. Normalment es treballa en tàndem (MS/MS) en mode MRM, fet que permet obtenir bons resultats en termes de sensibilitat i robustesa als nivells de traces als que es troben les drogues d'abús en les matrius ambientals. La possibilitat de seleccionar dues transicions per compost permet obtenir una adequada selectivitat i a més acomplir els criteris de confirmació recomanats per a identificar els compostos en espectrometria de masses. La Directiva 96/23/EC (European Commission, 1996) i la 2009/90/CE (European Commission, 2009) estableixen el nombre de punts d'identificació necessaris en funció de la tècnica i el nombre de transicions seleccionades. Per a la cromatografia acoblada a la espectrometria de masses es requereixen com a mínim un ió precursor i dos ions producte, que donen quatre punts d'identificació.

En els darrers anys s'ha començat a emprar l'espectrometria de masses d'elevada resolució (HRMS) per a l'estudi de la presència de drogues d'abús en matrius ambientals (veure Taula 2.2.). Aquestes tècniques permeten identificar compostos que poden estar presents en la mostra i que són ignorats en l'adquisició en mode MRM, alhora que permeten ampliar el ventall de compostos a analitzar en un únic mètode multi-residu (Hernandez i cols., 2014). Els instruments d'alta resolució que s'utilitzen són majoritàriament els de temps de vol (TOFs) que permeten obtenir informació en mode d'escombratge (*Full Scan*) amb elevada resolució i exactitud en la massa, sense

necessitat de disposar de patrons de referència per a cada un dels compostos identificats. Per a l'anàlisi de drogues d'abús, alguns autors (Taula 2.2.) utilitzen Orbitraps, instruments de resolució superior als TOFs, acoblats a un quadrupol (TSQ-Orbitrap) que permeten treballar en tàndem en alta resolució per als ions producte. Donades les seves elevades prestacions, aquests instruments permeten obtenir no tan sols informació qualitativa sinó també quantitativa i amb unes sensibilitats de l'ordre de les obtingudes utilitzant analitzadors de triple quadrupol, tal i com demostren Bijlsma i cols. en un treball on s'analitzen 24 drogues d'abús en aigües residuals, (Bijlsma i cols., 2013b). A més, en aquest estudi s'identifiquen dos metabòlits de la ketamina a partir de l'anàlisi retrospectiu de l'espectre de MS.

L'acoblament de la HRMS a l'UHPLC representa una tècnica potent per a l'estudi de les drogues d'abús que sens dubte s'utilitzarà amb profusió en els propers anys. Per una part, els analitzadors TOF més recents assoleixen velocitats ràpides d'escombratge (10-100 scans/s), suficients per a l'adquisició dels pics cromatogràfics estrets obtinguts en les separacions d'UHPLC, sense comprometre ni l'exactitud de massa ni la sensibilitat. Per altra part, la obtenció d'aquests pics estrets permet simplificar i reduir els temps d'anàlisi emprats en treballar en mode MSⁿ, tot facilitant la identificació dels ions obtinguts en aplicar alta energia (HE) que coelueixen amb la molècula protonada observada a baixa energia (LE).

2.2. TREBALL EXPERIMENTAL

En aquest apartat s'inclou un treball en el que s'estableix un mètode d'anàlisi per a la determinació simultània de quinze drogues d'abús pertanyents a les famílies dels cocaínics, amfetamínics i d'altres estimuladores en matrius ambientals. S'han optimitzat les condicions cromatogràfiques (fases mòbils, gradients i temperatura) en cromatografia de líquids d'alta eficàcia (UPLC) així com les condicions d'extracció en fase sòlida (sorbents, solvents, d'elució i concentració), a fi d'obtenir un mètode d'anàlisi ràpida i amb elevada selectivitat i sensibilitat que permeti la determinació de les drogues en estudi a les baixes concentracions ambientals a les que es troben. El treball experimental corresponent a aquest estudi es troba recollit en l'Article Científic I (apartat 2.2.1.) intitulat "*Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters*".

Posteriorment el mètode es va modificar per incloure a més de les quinze drogues de l'apartat 2.2.1. les drogues d'abús depressores, pertanyents a les famílies dels cannabinoids, opiàcis i d'altres psicotròpics. L'optimització i validació d'aquest mètode s'inclou com a treball experimental addicional a l'apartat 2.2.2. Aquest mètode és l'utilitzat actualment al Laboratori d'Aigües de Barcelona per a la determinació de drogues d'abús en aigües.

2.2.1 ARTICLE CIENTÍFIC I

Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Ventura, F
Analytical Chemistry, 79 (2007) 3821-38298

Ultrapformance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Stimulatory Drugs of Abuse in Wastewater and Surface Waters

Maria Huerta-Fontela,^{†,‡} Maria Teresa Galceran,[‡] and Francesc Ventura^{*,†}

AGBAR-Aigües de Barcelona, Avinguda Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain, and Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Avinguda Diagonal 247, 08028 Barcelona, Spain

Ultrapformance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry was used for the rapid and simultaneous analysis of 15 stimulatory drugs in water. Cocaine, amphetamine-related compounds, LSD, ketamine, PCP, fentanyl, and metabolites, among the controlled drugs, and nicotine, caffeine, and their metabolites, among the noncontrolled drugs, were studied. Chromatographic separation was achieved in less than 4.5 min, with improved peak resolution and sensitivity. Identification and quantification of the compounds of interest was performed by selected reaction monitoring, using an electrospray ionization source. Isotope dilution (except for paraxanthine) was used for quantitation. Quality parameters of the method were established, and limits of quantification were obtained for controlled drugs in surface waters from 0.1 to 3.1 ng/L and in wastewaters from 0.2 to 4.0 ng/L. Run-to-run and day-to-day precisions were evaluated in different water matrixes (Milli-Q water, surface water, wastewater). To assess the presence of these drugs in real water samples, the optimized method was applied to the analysis of wastewater and surface river water. The analysis of several samples from wastewater treatment plants in northeast Spain revealed the presence of drugs such as cocaine and amphetamine-related compounds, in both influent and effluent samples. Cocaine metabolite and MDMA (ecstasy) were also found in surface waters while nicotine and caffeine were detected in all the analyzed samples. The results obtained demonstrate that the presence of these drugs in the aquatic media must be considered a matter of environmental concern.

The number of users of controlled drugs has suffered a major increase in many countries.^{1,2} Specifically, Spain has been classified, according to the "World Drug Report 2006" of the United Nations,¹ as the highest ranked country for cocaine use and the

fourth in amphetamine and MDMA (ecstasy) consumption. Due to such high drug consumption, the determination of these compounds has become an important issue not only for forensic sciences but also in environmental studies.³ Recent studies performed by Zuccato and Castiglioni et al.^{4,5} show the occurrence of several drugs and their metabolites in Italian and Swiss wastewater treatment plants (WWTPs) and river water. Currently, the impact and incidence of most of these compounds in the aquatic environment, as well as the effectiveness of the water treatment processes in their elimination, are unknown.

The analysis of illicit drugs has been mainly addressed to the clinical and forensic field. Separation techniques such as capillary electrophoresis⁶ and gas chromatography coupled to mass spectrometry (MS)^{7–9} have been used for multianalyte determinations in different biological matrixes such as plasma, blood, urine, oral fluid, or hair. Liquid chromatography (LC) coupled to mass spectrometry (MS and MS/MS)^{9–17} is currently the technique of choice for the screening of controlled drugs in different matrixes.

Recently, new LC strategies have been developed with the aim of reducing analysis time and increasing separation efficiency, sensitivity, and resolution. Ultrapformance liquid chromatography (UPLC)^{18,19} makes it possible to obtain a gain in efficiency

- (3) Jones-Lepp, T. L.; Alvarez, D. A.; Petty, J. D.; Huckins, J. N. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2004**, *47*, 427–39.
- (4) Zuccato, E.; Chiabrando, C.; Castiglioni, S.; Calamari, D.; Bagnati, R.; Schiarea, S.; Fanelli, R. *Environ. Health* **2005**, *4*, 1–7.
- (5) Castiglioni, S.; Zuccato, E.; Crisci, E.; Chiabrando, C.; Fanelli, R.; Bagnati, R. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 8421–29.
- (6) Himmelsbach, M.; Klampfl, C. W.; Buchberger, W. *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1735–41.
- (7) Ternes, T. A. *Trends Anal. Chem.* **2001**, *20*, 419–34.
- (8) Strano-Rossi, S.; Molainoni, F.; Rossi, F.; Botrè, F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 1529–35.
- (9) Kraemer, T.; Maures, H. H. *J. Chromatogr., B* **1998**, *713*, 163–87.
- (10) Maurer, H. H. *Clin. Biochem.* **2005**, *38*, 310–8.
- (11) Rivier, L. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *492*, 69–82.
- (12) Bogusz, M. J. *J. Chromatogr., B* **2000**, *748*, 3–19.
- (13) Wood, M.; Laloup, M.; Samyn, N.; Fernandez, M. M.; Bruijn, E. A.; Maes, R.; De Boeck, G. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1130*, 3–15.
- (14) Wood, M.; Laloup, M.; Ramirez Fernandez, M. M.; Jenkins, K. M.; Young, M. S.; Ramaekers, J. G.; De Boeck, G.; Samyn, N. *Forensic Sci. Int.* **2005**, *150*, 227–38.
- (15) Johansen, S. S.; Jensen, J. L. *J. Chromatogr., B* **2005**, *825*, 21–8.
- (16) Maralikova, B.; Weinmann, W. *J. Chromatogr., B* **2004**, *811*, 21–30.
- (17) Van Bocxlaer, J. F.; Clauwert, K. M.; Lambert, W. E.; Deforce, D. L.; Van den Eeckhout, E. G.; De Leenheer, A. P. *Mass Spectrom. Rev.* **2000**, *19*, 165–214.
- (18) Churchwell, M. I.; Twaddle, N. C.; Meeker, L. R.; Doerge, D. R. *J. Chromatogr., B* **2006**, *825*, 34–134.

* To whom correspondence should be addressed. Tel.: +34 93 3423651. Fax: +34 93 342 36 66. E-mail: fventura@agbar.es.

[†] AGBAR-Aigües de Barcelona.

[‡] University of Barcelona.

(1) United Nations Office of Drug and Crime, www.unodc.org/unodc/world_drug_report.html, 2006, 2.

(2) U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, www.drugabuse.gov, 2006.

and an increase in sensitivity and in peak capacity per unit time, affording the high pressure required to pump the mobile phase through the small-diameter package ($<2\ \mu\text{m}$). To couple UPLC to MS, rapid data acquisition analyzers are needed in order to obtain enough data points (10–15) across the narrow peaks of the UPLC chromatogram.

Articles on the application of UPLC to the analysis of pesticides,^{20,21} pharmaceuticals,^{22–25} and drugs of abuse^{19,26–29} have been published. In relation to drugs of abuse, the work of Lurie should be mentioned,³⁰ since this author developed an LC method using columns with narrow-diameter particle ($1.7\ \mu\text{m}$) and UV detection for the separation of 24 drugs, including analysis of several anabolic steroids, stimulants, and depressants in less than 14 min. Other authors have described the applicability of UPLC coupled to mass spectrometry (UPLC–MS) for the analysis of some controlled drugs. For instance, amphetamine-related compounds, in biological samples, have been analyzed by UPLC–MS/MS using a triple quadrupole instrument^{31,32} while a linear ion trap analyzer has been used for the determination of some drug metabolites.²⁹

Several studies reveal the presence and persistence of a wide range of therapeutic and veterinary drugs in the aquatic environment.^{34–36} In contrast, very few studies deal with the analysis of controlled drugs.^{3–5} This paper describes our development of a sensitive and rapid method for the simultaneous UPLC–MS/MS analysis of caffeine, nicotine, cocaine, amphetamine-related compounds, and other synthetic controlled drugs, and their metabolites, in wastewaters and surface waters. In addition, the established method was applied to the estimation of the occurrence of these substances in water samples from Catalonia (northeast Spain).

EXPERIMENTAL SECTION

Chemicals and Materials. The compounds studied were nicotine, cotinine, caffeine, paraxanthine, 1-phenylpropan-2-amine (amphetamine), *N*-methyl-1-phenylpropan-2-amine (methamphet-

amine or METH), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDEA), cocaine, benzoylecgonine (BE), lysergic acid diethylamide (LSD), ketamine, phencyclidine (PCP), and fentanyl. Standard solutions of each of these compounds at a concentration of 1 mg/mL in methanol were obtained from Cerilliant (Austin, TX). Some features of the studied compounds such as structure, origin, use, legal classification, monoisotopic mass, and CAS number are given in Table 1. Working solutions of the standards at a concentration of 0.6 mg/L in methanol were prepared for tuning and stability studies. A mixed working solution of these compounds at 10 mg/L in methanol was used for the preparation of calibrators. Calibration standards were prepared by serial dilution of the mixed working solution resulting in individual concentrations from 40 to 6500 ng/L.

Deuterated standards (1 mg/mL in methanol), nicotine-*d*₄, cotinine-*d*₃, amphetamine-*d*₈, methamphetamine-*d*₉, MDA-*d*₅, MDMA-*d*₅, MDEA-*d*₅, cocaine-*d*₃, benzoylecgonine-*d*₈, LSD-*d*₃, ketamine-*d*₄, PCP-*d*₅, and fentanyl-*d*₅, were purchased from Cerilliant (Austin, TX) and ¹³C₃-Caffeine isotope was purchased from Aldrich Chemical (St. Louis, MO). A mixed internal standard working solution at 10 mg/L was prepared in methanol. All working solutions were prepared twice a month and stored at $-20\ ^\circ\text{C}$.

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate, and formic acid were obtained from Sigma Chemical (St. Louis, MO). HPLC grade methanol and acetonitrile were obtained from Aldrich Chemical. Methanol purge-and-trap grade was obtained from Riedel-de-Haën. Water was purified in an Elix-Milli-Q system (Millipore Corp., Bedford, MA). Mobile phases were filtered through a 0.22- μm nylon filter (Whatman).

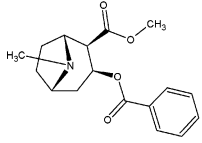
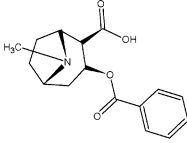
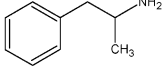
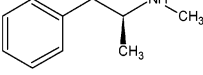
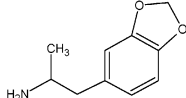
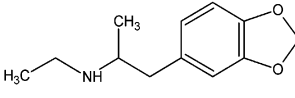
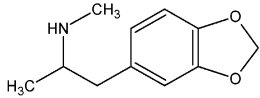
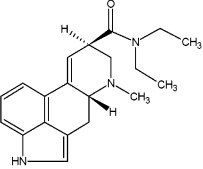
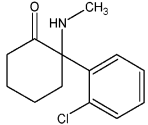
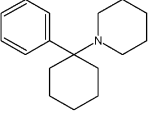
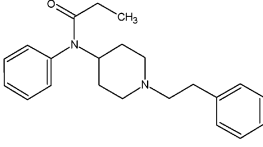
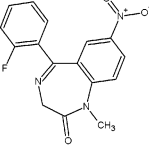
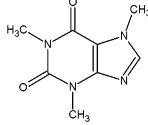
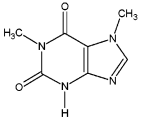
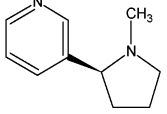
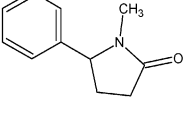
Sample Collection and Treatment. Samples were collected in glass bottles, stored in the dark at less than $4\ ^\circ\text{C}$, and extracted by solid-phase extraction (SPE) within 24 h.

The 24-h composite water samples were taken from influents and effluents of 16 WWTPs in Catalonia (northeast Spain) from April to September 2006. These plants received different amounts of wastewater that came from small- to medium-size cities with flow rates varying from 4 to 1000 m³/h. Surface water samples from the Llobregat River (Spain) were collected at the intake of a drinking water treatment plant as grab samples in September 2006. All samples were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman) prior to SPE extraction.

Solid-phase extraction was carried out on a Zymark Rapid Trace SPE Workstation from Zymark (Hopkinton, MA) using Oasis HLB SPE cartridges (6 mL, 200 mg, Waters Corp., Milford, MA) packed with a divinylbenzene/*N*-vinylpyrrolidone copolymer with hydrophilic and lipophilic properties. Prior to extraction, isotopically labeled compounds were added to 100 mL of water sample, resulting in a concentration of 1.5 $\mu\text{g/L}$ for nicotine, cotinine, and paraxanthine and 12.5 ng/L for the other compounds. After successively rinsing the cartridges with 10 mL of methanol and 10 mL of Milli-Q water, samples were percolated through the cartridge at a flow rate of 10 mL/min. The SPE cartridge was washed with 8 mL of a 5% methanol aqueous solution and dried with nitrogen gas for 10 min. Analytes were eluted from the cartridge using 6 mL of methanol, and the methanolic extracts were stored at $-20\ ^\circ\text{C}$ for no more than 10 days. Stability of these extracts was tested in order to ensure no

- (19) Wilson, I. D.; Plumb, R. S.; Granger, J. H.; Major, H.; Williams, R.; Lenz, E. M. *J. Chromatogr., B* **2005**, *817*, 67–76.
- (20) Leandro, C. C.; Hancock, P.; Fussell, R. J.; Keely, B. J. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1103*, 94–101.
- (21) Mezcuca, M.; Aguera, A.; Lliberia, J. L.; Cortes, M. A.; Bago, Fernandez-Alba, B. A. R. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1109*, 222–7.
- (22) Johnson, K. A.; Plumb, R. J. *Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *39*, 805–10.
- (23) Petrovic, M.; Gros, M.; Barcelo, D. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1124*, 68–81.
- (24) Kaufmann, A.; Butcher, P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 3694–700.
- (25) Wren, S. A. C.; Tchelitcheff, P. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1119*, 140–6.
- (26) Castro-Perez, J.; Plumb, R.; Granger, J. H.; Beattie, I.; Joncour, K.; Wright, A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 843–8.
- (27) Wilson, I. D.; Nicholson, J. K.; Castro-Perez, J.; Granger, J. H.; Johnson, K. A.; Smith, B. W.; Plumb, R. S. *J. Proteome Res.* **2005**, *4*, 591–8.
- (28) Mortishire-Smith, R. J.; O'Connor, D.; Castro-Perez, J. M.; Kirby, J. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2005**, *19*, 2659–70.
- (29) Dear, G. J.; James, A. D.; Sarda, S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 1351–60.
- (30) Lurie, I. S. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1100*, 168–75.
- (31) Apollonio, L. G.; Whittall, I. R.; Pianca, D. J.; Kyd, J. M.; Maher, W. A. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 2259–64.
- (32) Apollonio, L. G.; Pianca, D. J.; Whittall, I. R.; Maher, W. A.; Kyd, J. M. *J. Chromatogr., B* **2006**, *836*, 111–5.
- (33) Zuehlke, S.; Duennbier, U.; Heberer, T. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 6548–54.
- (34) Kümmerer, K. *Chemosphere* **2001**, *45*, 957–69.
- (35) Petrovic, M.; Barcelo, D. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 422–4.
- (36) Clauwert, K. M.; Van Bocxlaer, J. F.; De Letter, E. A.; Van Calenbergh, S.; Lambert, W. E.; De Leenheer, A. P. *Clin. Chem.* **2000**, *46*, 1968–77.

Table 1. Structure, Origin, Monoisotopic Mass, and CAS Number of the Selected Stimulatory Drugs

Structure	Compound Origin Classification* Monoisotopic mass CAS Number	Structure	Compound Origin Classification* Monoisotopic mass CAS Number
	Cocaine Alkaloid Controlled 303.1 50-36-2		Benzoylecgonine (BE) Metabolite 289.1 519-09-5
	Amphetamine Synthetic (speed) Controlled 135.1 300-62-9		Methamphetamine (METH) Synthetic Controlled 149.1 537-46-2
	MDA Synthetic/Recreational Controlled 179.1 4764-17-4		MDEA Synthetic Controlled 207.1 82801-81-8
	MDMA (ecstasy) Synthetic Controlled 193.1 42542-10-9		LSD Synthetic Controlled 323.4 50-37-3
	Ketamine Synthetic Controlled 237.1 6740-88-1		PCP Synthetic Controlled 243.2 77-10-01
	Fentanyl Synthetic Controlled 336.2 437-38-7		Flunitrazepam Synthetic Controlled 313.1 1622-62-4
	Caffeine Alkaloid Non-controlled 194.2 58-08-2		Paraxanthine Metabolite 180.2 611-59-6
	Nicotine Alkaloid Non-controlled 162.2 54-11-5		Cotinine Metabolite 176.2 486-56-6

* Classification according to DEA (Drug Enforcement Administration, USA) and the EMCDDA (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction)

major analyte losses occurred. Prior to injection, the extract was evaporated to dryness at 35 °C under a stream of nitrogen in a TurboVap LV evaporator from Zymark. Samples were reconstituted in 500 μ L of a 5% methanol aqueous solution. The final extract was filtered through 0.2 μ m before injection.

Instrumentation and LC-MS Procedures. Chromatographic separations were carried out on a Waters Acquity ultraperformance liquid chromatograph system, equipped with a quaternary pump system (Milford, MA) using an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7- μ m particle size) (Waters Corp.). Separation was performed with a binary mobile phase at

a flow rate of 0.5 mL/min. The optimized separation conditions were as follows: solvent (A) acetonitrile with 0.1% formic acid; solvent (B) 30 mM formic acid/ammonium formate (pH 3.5). The gradient elution was as follows: 0–0.1 min, 5% A; 0.1–3.0 min, 5–30% A; 3.0–5.0 min, 30–80% A; 5.0–5.5 min return to initial conditions; 5.5–6.5 min, equilibration of the column. The sample volume injected was 5 μ L.

The UPLC instrument was coupled to a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer (Micromass, Waters Corp.) with an electrospray ionization source Z-spray working in positive ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction

Table 2. LC–MS/MS Parameters Established for the MRM Acquisition Mode (Quantitation (Confirmation))^a

time (min)	compound	precursor ion (<i>m/z</i>) [M + H] ⁺	CV (V)	quantitation		confirmation	
				product ion (<i>m/z</i>)	CE (V)	product ion (<i>m/z</i>)	CE (V)
0–1.25	nicotine	163	20	130	17	117	23
	nicotine- <i>d</i> ₄	167	25	134	20		
	cotinine	177	30	80	31	98	27
1.25–2.10	cotinine- <i>d</i> ₃	180	35	80	25		
	paraxanthine	181	30	124	20	96	30
	caffeine	195	30	138	20	110	25
	¹³ C ₃ -caffeine	198	35	140	20		
	amphetamine	136	15	119	8	91	10
	amphetamine- <i>d</i> ₈	144	15	127	10		
2.10–2.75	MDA	180	20	163	12	105	20
	MDA- <i>d</i> ₅	185	20	110	12		
	methamphetamine	150	15	91	14	119	12
	methamphetamine- <i>d</i> ₉	159	15	125	12		
	MDMA	194	20	163	12	105	31
	MDMA- <i>d</i> ₅	199	20	165	12		
2.75–3.70	benzoylcegonine	290	25	169	16	150	20
	benzoylcegonine- <i>d</i> ₈	298	25	171	20		
	MDEA	208	15	163	12	133	18
	MDEA- <i>d</i> ₅	213	15	163	12		
	ketamine	238	25	125	18	220	16
	ketamine- <i>d</i> ₄	242	25	129	16		
3.70–4.50	cocaine	304	25	182	17	104	25
	cocaine- <i>d</i> ₃	307	25	185	20		
	LSD	324	25	223	25	208	30
	LSD- <i>d</i> ₃	327	30	226	25		
	PCP	244	10	85	17	159	7
	PCP- <i>d</i> ₅	249	15	161	15		
	fentanyl	337	25	188	22	105	26
	fentanyl- <i>d</i> ₅	342	25	105	20		

^a CV, cone voltage; CE, collision energy.

monitoring (SRM) mode, and the protonated molecular ion of each compound was chosen as the precursor ion. Source conditions were fixed as follows: capillary voltage, 0.50 kV; lens voltage, 1.5 V; source temperature, 130 °C; desolvation temperature, 500 °C; cone gas flow rate, 60 L/h; desolvation gas flow rate, 800 L/h. High-purity nitrogen (>99.999%, Praxair) was used as desolvation and nebulization gas, and argon (>99.999%, Praxair) was used as collision gas. MS/MS parameters were optimized by direct infusion at 10 µL/min of 0.3 mg/L individual standard solutions in 50% methanol aqueous solution. Cone energy voltages, SRM transitions, and collision energy voltages were established for each analyte, and the values are displayed in Table 2. Data acquisition was carried out using different retention time windows (Table 2); dwell times of 50 ms and an interscan delay time of 30 ms were used. All data were acquired and processed using MassLynx 4.0 software.

RESULTS AND DISCUSSION

UPLC–MS/MS Method Optimization. Column temperature was investigated in order to improve sensitivity and to reduce analysis time by injecting individual standard solutions at 100 µg/L. Temperatures from 30 to 50 °C were studied and that of 40 °C was selected as optimum temperature since sharper peaks with higher peak heights were obtained. To study the chromatographic separation, a mixed standard solution of the stimulatory drugs at a concentration of 0.2 mg/L was used. As suggested by Gergov et al.,³⁷ a mobile phase of acetonitrile (A) and ammonium acetate buffer solution (10 mM, pH 4.0) (B) was initially selected.

The initial gradient profile was chosen as follows: 0–3.0 min, 5–30% A; 3.0–5.0 min, 30–80% A; 5.0–5.5 min return to initial conditions; 5.5–6.5 min, equilibration of the column. The chromatographic separation under these conditions showed poor resolution between closely eluted compounds (amphetamine-related compounds and benzoylcegonine) and tailing peak shapes (Figure 1.a). A mobile phase consisting of an ammonium formate buffer solution (pH 3.5) and acetonitrile with 0.1% of formic acid was evaluated. In general, an improvement in resolution and peak shapes was observed under these conditions for most of the compounds. The effect of the mobile-phase ionic strength in the separation was evaluated by increasing the buffer concentration from 10 to 30 mM. It was observed that an increase in the concentration to 30 mM improved peak shapes, resolution, and efficiencies. The best separation in terms of resolution and peak widths allowed reducing the partial coelution of caffeine–amphetamine, MDMA–benzoylcegonine, and MDEA–ketamine, leading to a better chromatographic separation in less than 4.5 min (Figure 1b–d).

In order to improve resolution and to reduce the 1-min gaps observed between paraxanthine–caffeine and ketamine–cocaine peaks, a nonlinear gradient elution from 5 to 30% of organic phase was tested. Curved gradient profiles allow improvement of resolution in early- or late-eluted peaks when a concave ($n > 6$) or a convex gradient ($n < 6$) profile is used. In our case, and taking into account the chromatographic separation achieved

(37) Gergov, M.; Ojanperä, I.; Vuori, E. J. *Chromatogr. B* 2003, 795, 41–53.

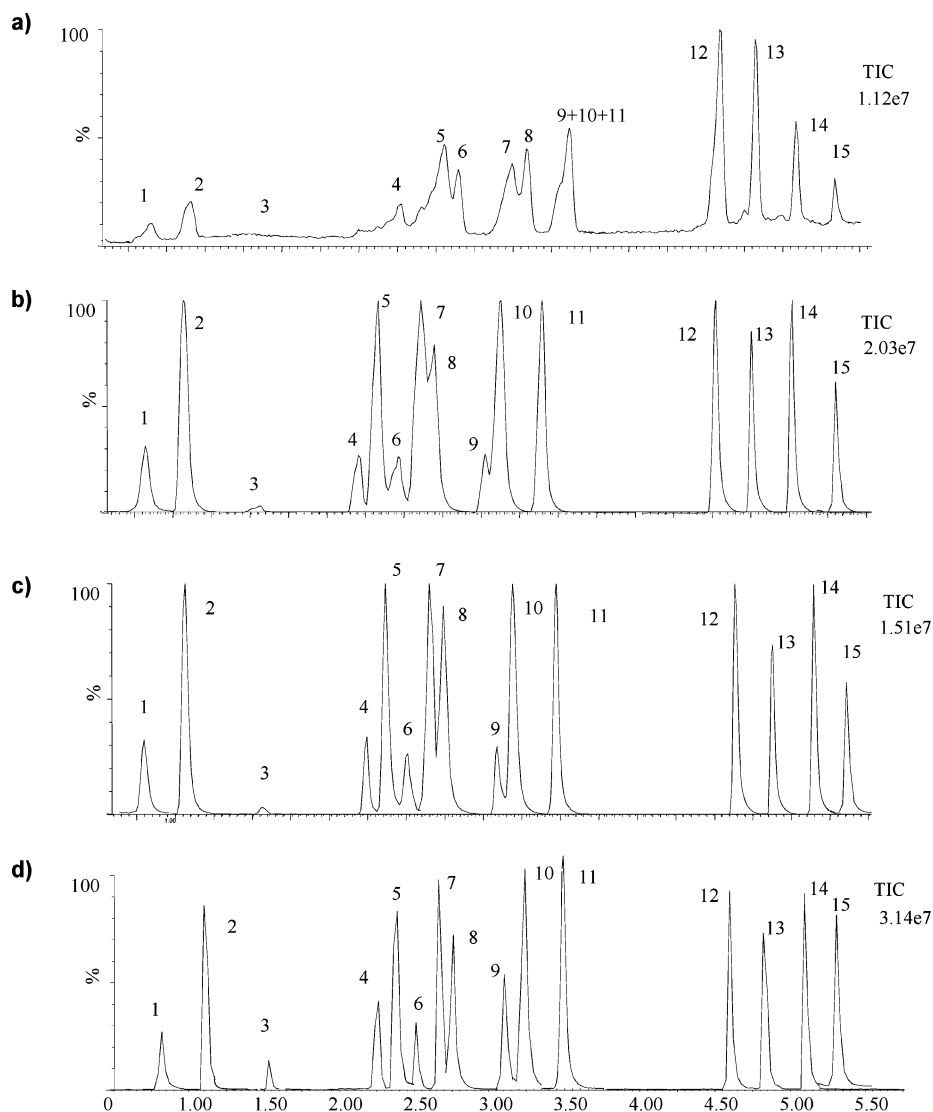


Figure 1. Effect of mobile-phase composition and pH on drug separation. Chromatographic conditions: injection of 5 μL of a standard solution of 200 $\mu\text{g/L}$. Gradient elution program: 0–3.0 min, 5–20% ACN; 3.0–5.5 min, 20–60% ACN. Aqueous phase: (a) ammonium acetate buffer (10 mM, pH 4.0); (b) ammonium formate buffer (10 mM, pH 3.5); (c) ammonium formate buffer (20 mM, pH 3.5); (d) ammonium formate buffer (30 mM, pH 3.5) Flow rate: 0.5 mL/min. Full scan acquisition from m/z 100 to 350. Key: 1, nicotine; 2, cotinine; 3, paraxanthine; 4, caffeine; 5, amphetamine; 6, MDA; 7, methamphetamine; 8, MDMA; 9, benzoylecgonine; 10, MDEA; 11, ketamine; 12, cocaine; 13, LSD; 14, PCP; 15, fentanyl.

between 0.5 and 3.0 min, a concave gradient was selected in order to get a good separation between the chromatographic peaks that elute in the middle of the chromatogram (1.8–3.0 min). The steepness of this gradient, in the first part of the chromatogram, is smaller than a linear gradient ($n = 6$) and results in a better separation in terms of resolution for the peaks eluted early. The second part of the gradient is faster than the linear one and results in a lower resolution. Several nonlinear gradients were tested (f_n ; $n = 6$ –9), and f_7 was selected, as it provided the best separation with a reduction in the retention times (Figure 2). A good chromatographic separation in terms of resolution was achieved for all the drugs, and only a partial coelution between amphetamine and MDA was observed. Retention time gaps were reduced, especially between ketamine and cocaine, which was decreased to less than 0.5 min. Nevertheless, the chromatographic separation achieved under these conditions showed an additional retention time gap between LSD and PCP; so in order to reduce

this gap and to decrease the total analysis time, a nonlinear gradient elution from 30 to 80% was also assessed. Gradient profiles from 5 to 7 were acquired and f_5 was selected as it provided a reduction of the analysis time and retention time gap without losing efficiency between the last-eluted peaks.

Under these optimized conditions, the 15 stimulatory drugs were separated in less than 4.5 min. Peak widths around 1.0–2.0 s at half peak height were obtained for all compounds ($N = 15\,000$ for cocaine). In general, peaks were well separated, showing peak-to-peak resolution values higher than 1.2. A partial coelution for amphetamine and MDA was detected, with a resolution value of 0.9.

Electrospray ionization working parameters were optimized by using individual standard solutions at a concentration of 0.3 mg/L; the optimized values for each compound are given in Table 2. In order to improve desolvation efficiency and analyte ionization, a high gas flow rate, 800 L/h, was used and desolvation and source

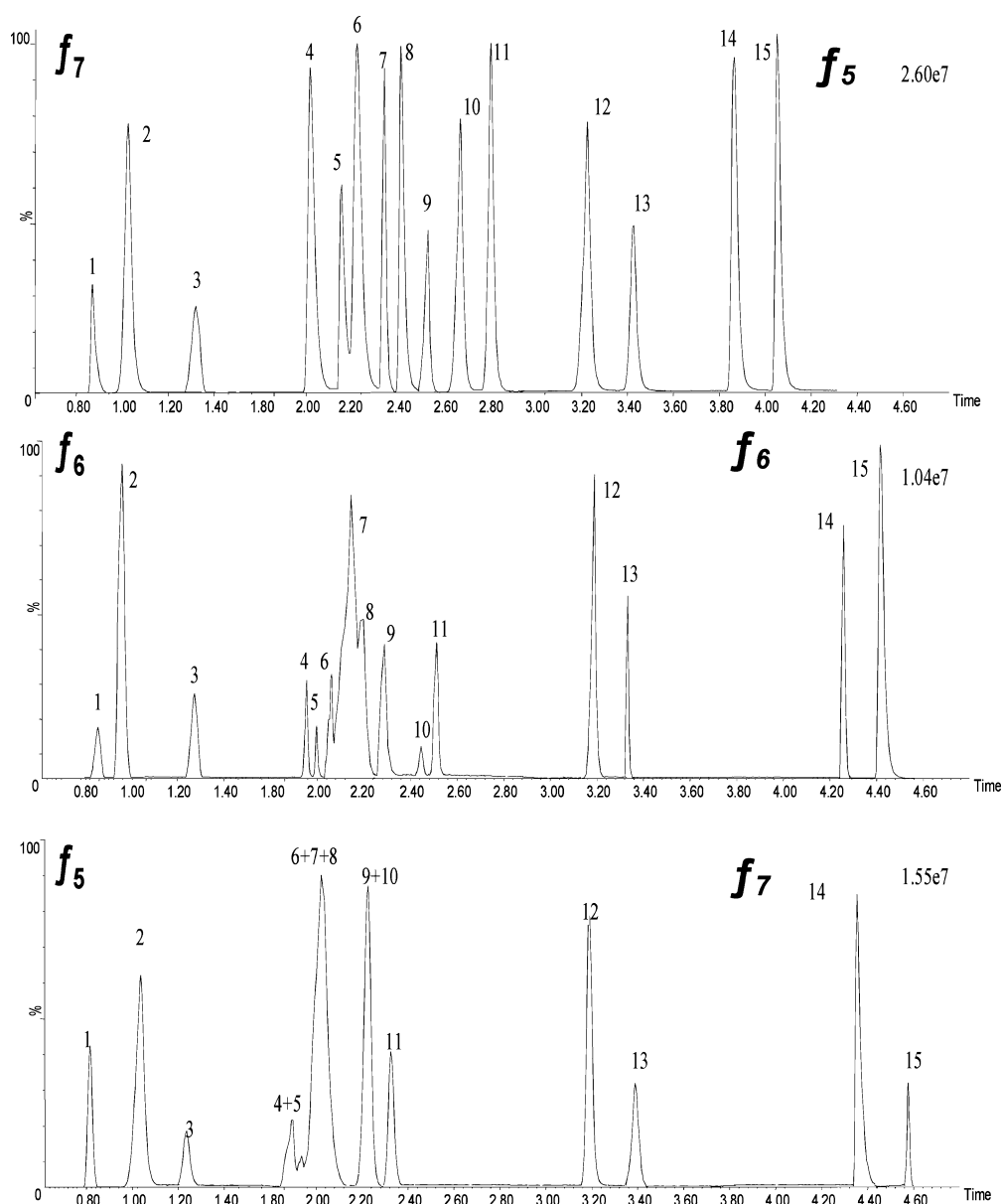


Figure 2. Effect of curved gradient profiles on drug separation. Standard solution of 200 $\mu\text{g/L}$. Gradient elution program: 0–0.1 min, 5% ACN; 0.1–3.5 min, 5–30% ACN, f_n ($n = 5–9$; for the sake of simplification only $n = 5–7$ are shown); 3.5–5.0 min, 30–80% ACN ($n = 5–7$); SRM acquisition mode (transitions indicated in Table 2). Key: 1, nicotine; 2, cotinine; 3, paraxanthine; 4, caffeine; 5, amphetamine; 6, MDA; 7, methamphetamine; 8, MDMA; 9, benzoylecgonine; 10, MDEA; 11, ketamine; 12, cocaine; 13, LSD; 14, PCP; 15, fentanyl.

temperatures were set up to 500 and 130 $^{\circ}\text{C}$, respectively. Cone voltage was optimized for all the compounds in order to obtain maximum response for the protonated molecular ion $[\text{M} + \text{H}]^+$ and to prevent in-source fragmentation. Data acquisition was performed in SRM mode, and collision energies were studied in order to select two transitions per compound (quantification and confirmation). Under these conditions, four identification points were achieved, fulfilling the European Council directives (96/23/EC) regarding mass spectrometric detection³⁸ and the general criteria for forensic analysis.³⁹ Different collision energies were tested to obtain the optimum response for each transition.

Quality Parameters of the Analytical Method. To evaluate the UPLC-ESI-MS/MS method's performance, instrumental limits

of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) and linearity were studied for each compound. The LOD, defined as the lowest analyte concentration with a signal-to-noise (S/N) ratio of 3, and the LOQ, defined as the concentration with S/N ratio of 10 and an imprecision lower than 20%, were evaluated by injecting 5 μL of diluted drug solutions (from 1 ng/L to 12 $\mu\text{g/L}$). Instrumental LODs ranged from 0.005 to 0.3 pg injected for controlled drugs and from 0.25 to 30 pg injected for noncontrolled drugs while LOQs ranged from 0.05 to 0.6 pg injected for controlled drugs and from 0.6 to 60 pg for noncontrolled drugs.

The linearity of the method was studied over the established working concentration range from 1.4 to 6.5 $\mu\text{g/L}$ for paraxanthine, nicotine, and cotinine and from 40 to 5500 ng/L for all the other compounds; three replicates were analyzed for each concentration level. Calibration was performed using the corresponding labeled analogues of each compound as internal stan-

(38) Commission of the European Communities. *Official J. Eur. Communities* 2002, 221.

(39) Rivier, L. *Anal. Chim. Acta* 2003, 492, 69–82.

Table 3. Limits of Detection, Recoveries, and Precision Values in Milli-Q Water, Surface Water, and Wastewater Matrixes^a

	Milli-Q water				surface water				wastewater			
	LOQ (ng/L)	<i>R</i> ± RSD (%)	run-to-run (RSD) ^b	day-to-day (%RSD) ^b	LOQ (ng/L)	<i>R</i> ± RSD (%)	run-to-run (RSD) ^b	day-to-day (%RSD) ^b	LOQ (ng/L)	<i>R</i> ± RSD (%)	run-to-run (%RSD) ^b	day-to-day (%RSD) ^b
nicotine	103.0	85 ± 2.5	5.9	9.2	200	82 ± 3.1	6.2	9.7	800	80 ± 4.5	7.3	10.8
cotinine	83.9	88 ± 3.0	4.0	6.5	200	81 ± 4.3	3.6	6.5	500	78 ± 6.1	5.2	8.5
paraxanthine	72.2	94 ± 4.2	3.5	9.5	200	80 ± 5.1	8.7	9.5	850	71 ± 6.4	10.1	11.0
caffeine	0.96	95 ± 1.5	8.4	4.3	1.5	85 ± 4.8	3.8	5.0	5.0	83 ± 5.5	5.6	7.1
amphetamine	0.45	81 ± 3.1	2.6	8.1	0.8	75 ± 3.9	4.3	7.6	1.0	70 ± 6.8	9.3	10.6
MDA	0.43	80 ± 1.4	5.6	6.9	0.8	75 ± 4.0	5.7	7.2	1.0	74 ± 5.1	8.1	9.8
METH	0.41	87 ± 1.8	4.5	3.2	0.7	83 ± 2.1	4.6	5.2	0.9	80 ± 4.3	6.4	6.9
MDMA	0.52	94 ± 2.8	1.2	8.1	0.3	90 ± 5.0	2.5	7.9	1.5	88 ± 6.2	5.1	6.1
benzoylcegonine	0.12	100 ± 3.9	1.7	4.1	0.1	95 ± 4.2	3.1	4.5	0.2	92 ± 5.6	5.6	7.9
MDEA	0.43	101 ± 2.2	3.2	4.5	0.8	99 ± 3.4	3.0	4.8	2.1	101 ± 5.0	7.8	8.3
ketamine	0.47	89 ± 2.6	3.1	3.4	3.1	85 ± 4.5	2.9	3.6	5.0	85 ± 5.3	5.2	5.9
cocaine	0.12	90 ± 1.6	2.6	6.5	0.15	90 ± 3.6	3.9	7.0	0.2	86 ± 5.7	6.5	7.3
LSD	0.71	79 ± 1.3	1.8	9.5	0.9	77 ± 3.9	2.3	5.8	2.0	75 ± 4.5	5.4	6.4
PCP	0.54	95 ± 1.7	2.2	10.0	0.8	88 ± 2.1	3.0	10.5	2.0	85 ± 4.0	4.1	10.6
fentanyl	0.98	87 ± 2.1	5.8	8.1	1.5	82 ± 2.9	6.1	7.4	4.0	80 ± 4.0	7.3	8.3

^a *R*, recovery (spiked at 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine, and cotinine and 80 ng/L for other compounds; *n* = 6); RSD, relative standard deviation WW blank matrix: COD, 10 mg O₂/L; NH₄, 38.0 mg/L; P total, 4 mg/L; pH, 7.5. ^b Initial concentration 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine, and cotinine and 80 ng/L for the other compounds. Run-to-run precision calculated for *n* = 6; day-to-day precision calculated for *n* = 30.

standard. Since no labeled standard of paraxanthine is commercially available, ¹³C₃-caffeine, which is structurally related (see Table 1), was used as internal standard. Linearity was expressed as the squared correlation coefficient (*r*²), and a weighing factor 1/*x* was used. Calibration curves gave correlation coefficient (*r*²) higher than 0.999.

Instrumental limits of quantification were determined by direct injection of standards at low concentrations. For controlled drugs, in-column injected values from 0.05 to 0.6 pg were obtained. These values turned out to be lower (between 300- and 2650-fold) than those obtained with a triple quadrupole instrument using a conventional narrow-bore column,⁵ partly due to the high efficiency and sensitivity provided by the UPLC-MS/MS system.

In order to evaluate the performance of the SPE-UPLC-MS/MS method for the analysis of water samples, limits of detection and quantification, run-to-run and day-to-day precision, accuracy, and recoveries were studied in noncontaminated Milli-Q water. LOD and LOQ values of the method were determined by spiking Milli-Q water samples with mixtures of standard compounds at low concentrations, which were extracted by the described SPE method. LOQs obtained are shown in Table 3, expressed as nanogram per liter in sample. Precision of the developed method was evaluated by analyzing drug-free water (Milli-Q water) spiked at a concentration of 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine, and cotinine and 80 ng/L for the other compounds. For the determination of the run-to-run precision, six replicates were extracted and analyzed in 1 day and the results obtained, calculated as % RSD, were lower than 6.0 (*n* = 6) for all the analytes. For day-to-day precision and accuracy, the extraction and analysis were performed on five different days. Long-term precision results showed values (% RSD) lower than 10.0 (*n* = 30) while accuracy, calculated as the percent relative error from the target concentration, was lower than 8.5 (*n* = 6). Finally, analyte recoveries were determined by spiking Milli-Q water at a concentration level of 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine, and cotinine and at 80 ng/L

for the other compounds, analyzing six replicates for every matrix. Recovery was calculated as the percentage of the mean peak areas obtained when both analytes and internal standards were added after and before SPE, with obtained values ranging from 80 to 101% were obtained (Table 3).

In order to evaluate the performance of the developed method for the analysis of water samples, surface water and wastewater matrixes were analyzed. The method's LOD and LOQ values were calculated by spiking diluted drug solutions to samples free of drugs. Surface water blank matrix was collected from a pristine stream coming from natural thaw. Wastewater blank matrix free of drugs was obtained from a wastewater treatment plant, which collects mainly industrial wastewaters with only 10% contribution of urban waters. Characteristics of this blank wastewater are shown in Table 3.

For surface waters, LODs lower than 0.8 and 85 ng/L for controlled and noncontrolled drugs and LOQs lower than 3 and 200 ng/L were obtained, respectively. For wastewater samples, the achieved LODs were lower than 1.5 and 300 ng/L for controlled and noncontrolled drugs and LOQs lower than 5 and 850 ng/L were obtained, respectively (Table 3). As is to be expected, LODs obtained in wastewaters were higher than those for Milli-Q water (up to 3-fold) and surface water due to the matrix complexity that affects extraction and ionization effectiveness and increased noise. Recoveries obtained in both surface water and wastewater samples are displayed in Table 3.

Two methanolic extracts, at 4.5 and 450 ng/L concentrations, were analyzed in order to assess the stability of each compound at 4 and -20 °C over 7 days. One extract of each concentration level was injected immediately after extraction while five more extracts for each concentration were stored and analyzed 48, 120, and 192 h after the extraction. Analyte remaining percentage in each aliquot was calculated as % remaining = $C_i \times 100 / C_{\text{fresh}}$, where *C_i* is the concentration at the time point and *C_{fresh}* is the concentration of the fresh solution. This procedure was done in

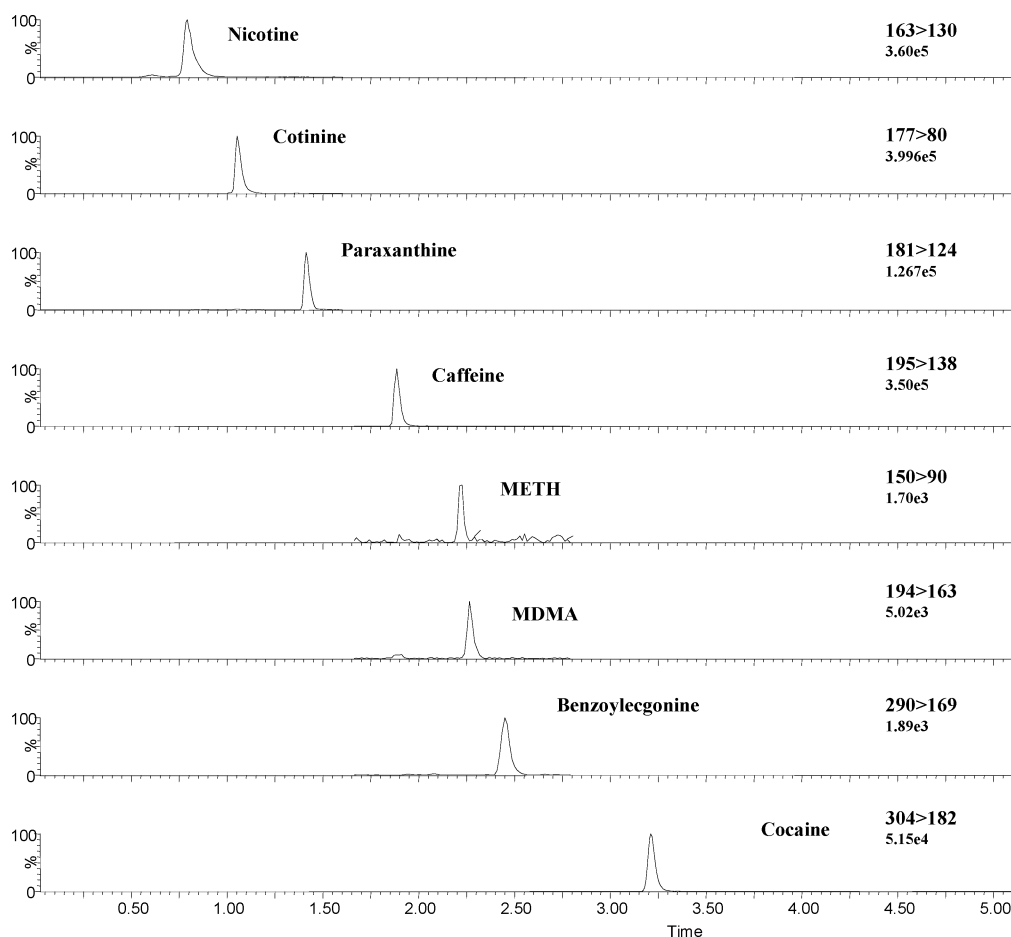


Figure 3. Extracted ion chromatograms of a WWTP sample in SRM acquisition mode. Gradient elution program: 0–0.1 min, 5% ACN; 0.1–3.5 min, 5–30% ACN, (f_7); 3.5–4.0 min, 30–50% ACN; 4.0–5.0 min, 50–80% ACN (f_5). SRM acquisition mode (transitions indicated in Table 2).

Table 4. Drug Concentrations in WWTP Samples (Northeast Spain) (April–September, 2006) and in Water from the Llobregat River (September 2006)

compound	WWTP influent ($n = 16$)			WWTP effluent ($n = 16$)			river ($n = 6$)		
	samples (>LOQ) ^a	C max (ng/L)	C mean (ng/L)	samples (>LOQ) ^a	C max (ng/L)	C mean (ng/L)	samples (>LOQ) ^a	C max (ng/L)	C mean (ng/L)
nicotine	10	56053	13082	6	4775	2669	5	815	595
cotinine	16	6820	2732	12	2726	1419	5	516	331
caffeine	15	61638	23134	14	22848	4356	6	2991	1926
paraxanthine	14	54220	14240	12	45681	5932	5	2709	1756
amphetamine	1	15	15	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b
MDMA	5	91	49	4	67	41	2	3.5	3
MDEA	1	27	28	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b	0	<LOD	<LOD
ketamine	9	50	41	2	49	19	0	<LOD	<LOD
cocaine	14	225	79	6	47	17	2	10	6
benzoylcegonine	14	2307	810	11	928	216	4	111	77

^a Number of samples with concentrations higher than LOQ value. ^b Concentrations between LOQ and LOD.

triplicate. All analytes stored at 4 °C were stable under these conditions showing analyte remaining percentages higher than 85% except for paraxanthine which turned out to be unstable after 120 h at 4 °C with analyte remaining concentrations lower than 30%. Analytes stored at –20 °C for 192 h showed no appreciable concentration losses with remaining percentages of ~100% even for paraxanthine.

Analysis of Water Samples. The occurrence of stimulatory drugs in influents and effluents from 16 WWTPs located in

Catalonia (northeast Spain) was evaluated using the method described above. In the total sample set collected, 10 out of 15 target compounds were found. As an example, Figure 3 shows the extracted ion chromatograms obtained from a WWTP influent where eight of the selected drugs were identified. Cocaine and its metabolite, benzoylcegonine, were found in 85% of the WWTP influent samples tested, while 69% of the effluent showed their presence. Mean concentrations of 79 ng/L cocaine and 810 ng/L benzoylcegonine were found in the influent samples, while 17 and

216 ng/L were respectively found in effluent samples. Regarding designer drugs, amphetamine, MDEA, and MDMA (ecstasy) were found in 30% of the influent samples and 23% of the effluent samples. Moreover, results show that only 15% of the incoming MDMA is effectively removed, leading to remarkable effluent concentrations of this illicit drug, with a maximum concentration found of 67 ng/L. Among the other controlled drugs, only ketamine was found in the collected samples with mean concentrations of 41 and 19 ng/L in influent and effluent samples, respectively.

The noncontrolled drugs, nicotine and caffeine, or their metabolites, were found in all the influent samples collected. Mean concentrations up to 13 and 23 $\mu\text{g/L}$ were determined in influent and effluent samples, respectively, for nicotine and caffeine (Table 4).

The optimized method was also applied to the analysis of surface waters from the Llobregat River (northeast Spain). Maximum concentration levels of 10 and 111 ng/L for cocaine and its metabolite, were found respectively. MDMA was also present in two of the six analyzed samples with a mean concentration of 3 ng/L. Additionally, nicotine, caffeine, and their metabolites were found in 83% of the studied samples at microgram per liter concentration levels (Table 4).

CONCLUSIONS

A rapid, robust, and simultaneous method was developed for the analysis of 15 stimulatory drugs, including several controlled drugs, in environmental water samples. The method consists of a solid-phase extraction step followed by ultrafast chromatographic separation using an UPLC system coupled to a QqQ mass spectrometer for the identification and quantification of these drugs. The method proved to be sensitive enough in surface

waters and wastewaters, providing high recoveries for all the analytes (80–99 and 70–101%) and achieving low LODs for controlled drugs (0.01–0.8 and 0.05–1.5 ng/L, respectively). The applicability of the developed method was evaluated by analyzing wastewater samples obtained from several WWTPs ($n = 16$) in northeast Spain. The results achieved showed the frequent occurrence of 10 of the studied analytes. Controlled drugs such as cocaine, its metabolite benzoylecgonine, amphetamine, MDEA, MDMA, and ketamine were found at nanogram per liter level in some of the influents and effluents analyzed. Caffeine, nicotine, and their metabolites were found at microgram per liter levels. Seven of the selected compounds were also found in surface samples from the Llobregat River. Cocaine, benzoylecgonine, and MDMA were found at low nanogram per liter levels while all the noncontrolled drugs were present at low microgram per liter levels.

These results demonstrate not only the applicability and performance of the established method for the analysis of water samples but also the presence of these drugs in surface waters.

ACKNOWLEDGMENT

This work has been financially supported by R+i Alliance, a company established in France to select, fund, and coordinate the execution of common research, development, and innovation projects of the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited, and Suez Environment. Program Water and Health. Project HE0607. M.H.-F. also acknowledges financial support from Fundació AGBAR.

Received for review December 14, 2006. Accepted March 20, 2007.

AC062370X

2.2.2. TREBALL EXPERIMENTAL ADDICIONAL: *Mètode multi-residu per a l'anàlisi simultani de vint-i-sis drogues d'abús.*

En el moment de realitzar el treball experimental que a continuació es descriu, en el nostre grup de treball existien dos mètodes analítics diferents per a la determinació de les drogues d'abús en mostres d'aigua: el recollit a l'apartat 2.2.1. i el publicat per Boleda i cols. (Boleda i cols., 2007). Aquests mètodes es van desenvolupar utilitzant l'extracció en fase sòlida seguida de UPLC-MS/MS, obtenint temps d'anàlisi curts per a tots ells: al voltant de 5 minuts per a les drogues estimuladores, 8 minuts per als cannabinoides i 7 minuts per als opiacis i d'altres depressors. Tot i així, en determinar el total de les drogues d'abús, el temps d'anàlisi cromatogràfica augmentava fins a 20 minuts, a més del temps requerit per a realitzar les dues extraccions. Per aquesta raó es va decidir optimitzar un mètode per a l'anàlisi simultània de les vint-i-sis drogues d'abús prèviament analitzades per separat.

Una de les principals dificultats associades a la unificació d'aquests mètodes rau en les diferents propietats físico-químiques d'algunes d'aquestes substàncies que comporta que no sempre sigui fàcil analitzar-les conjuntament. De fet, a la literatura nombrosos investigadors opten per analitzar-les per separat. Per exemple, en els primers estudis realitzats per Castiglioni i cols. es descriuen fins a quatre condicions cromatogràfiques diferents en funció del compost o família de compostos a determinar (Castiglioni i cols., 2006). D'altres autors opten per emprar dos mètodes un per a aquells compostos que s'analitzen en electropari amb ionització positiva i un altre pels que requereixen ionització negativa. Per exemple, Yargeau i cols. utilitzen dues fases mòbils diferents, una amb tampó fòrmic/formiat per a l'anàlisi d'opioïdes, i l'altre sense tampó per a la resta de drogues il·lícites (Yargeau i cols., 2014).

Condicions experimentals:

Els compostos estudiats són: amfetamina, METH, MDA, MDMA, MDEA, cocaïna, benzoïlecgonina, norcocaïna, norbenzoïlecgonina, cocaetilè, LSD, ketamina, PCP, fentanil, morfina, normorfina, 6-acetilmorfina, morfina-3 β -glucuronid, heroïna, codeïna, norcodeïna, metadona, 2EDDP, Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC), 11-carboxi- Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC-COOH) and 11-hidroxi- Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC-OH), obtinguts tots ells com a solucions estàndard de 1mg/mL en metanol de Cerilliant (Austin, TX, USA).

Les solucions de treball dels patrons individuals per a realitzar l'optimització dels paràmetres instrumentals es preparen a una concentració de 0.2 mg/L en metanol, excepte per al glucurònid de la morfina que es dissol en aigua. La solució mare per als patrons de la recta de calibratge (5 mg/L de cada un dels compostos) es prepara en metanol ; posteriors dilucions permeten obtenir concentracions d'entre 2 i 4000 ng/L.

Els patrons deuterats emprats són: amfetamina-d8, METH-d9, MDA-d5, MDMA-d5, MDEA-d5, cocaïna-d3, benzoïlecgonina-d8, LSD-d3, ketamina-d4, PCP-d5, fentanil-d5, morfina-d6, 6-acetilmorfina-d6, morfina-3 β -glucuronid-d3, heroïna-d9, codeïna-d6, metadona-d3, EDDP-d3 THC-d3, THC-COOH-d3 i THC-OH-d3, obtinguts tots ells com a solucions estàndard de 1mg/ml en metanol de Cerilliant (Austin, TX, USA). La concentració de les solucions de patró intern és de 2 mg/L, en metanol per a tots els compostos i en aigua per al glucurònid de la morfina. Totes les solucions de treball es preparen dues vegades al mes i es guarden a -20 °C.

La separació cromatogràfica es realitza en un instrument Acquity Ultra-performanceTM amb bomba quaternària (Waters, Milford, MA, USA) equipat amb una columna Acquity BEH C18 column (100 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μ m) (Waters, Milford, MA, USA). S'utilitza una fase mòbil binària (0.5 mL/min) consistent en: solvent (A) acetonitril amb 0.1% d'àcid fòrmic; solvent (B) tampó d'àcid fòrmic/formiat amònic 30 mM (pH 3.5). El gradient seleccionat consisteix en: 0-0.1 min, 5% A; 0.1-4.5 min, 5-40% A; 4.5-8 min, 40-100% A; 8-8.5 min 100% A; 8.5-9 min retorn a les condicions inicials; 9-10 min, equilibrat de la columna.

El sistema d'UPLC està acoblat a un espectròmetre de masses de triple quadrupol (Micromass, Waters, Milford, MA, USA) amb una font d'electrosprai del tipus Z-sprai™ i es treballa en polaritat positiva. L'adquisició es realitza en el mode MRM i es selecciona l'ió molecular protonat com a precursor. Les condicions de font són: voltatge capil·lar a 0.50kV, voltatge de lents 1.5V, temperatura de la font 130°C, temperatura de desolvatació 500 °C, cabal del gas de con 60 L/h i gas de desolvatació 800 L/h. Els voltatges de con, les transicions MRM i els voltatges de l'energia de col·lisió es resumeixen a la Taula 2.3.

Taula 2.3. Paràmetres d'adquisició de les 26 drogues il·lícites adquirides en mode MRM.

Temps (min)	Compost	Precursor (m/z)	C.V. (V)	Quantificació		Confirmació		Relació Ions
				Producte (m/z)	C.E. (V)	Producte (m/z)	C.E. (V)	
0.5-1.5	Morfina Gluc.	462	40	268	35	286	25	3.16±0.6
	Normorfina	272	45	165	35	121	30	1.05±0.01
	Morfina	286	45	165	40	152	40	2.26±0.04
1.6-2.4	Norcodeïna	286	40	165	38	152	40	2.46±0.02
	Codeïna	300	45	165	38	198	34	4.88±0.08
2.4-3.1	Amfetamina	136	15	119	8	91	10	1.12±0.01
	MDA	180	20	163	12	105	20	2.45±0.04
	6-Acetil morfina	328	40	165	38	152	45	7.28±0.14
	Norbenzoïlecgonina	276	28	154	17	136	18	1.32±0.19
	Metamfetamina	150	15	91	14	119	12	2.34±0.05
	MDMA	194	20	163	12	105	31	4.76±0.03
3.1-4.3	Benzoïlecgonina	290	25	169	16	150	20	1.31±0.01
	MDEA	208	15	163	12	133	18	2.78±0.01
	Ketamina	238	25	125	18	220	16	2.39±0.01
4.3-4.9	Heroïna	370	45	165	40	268	40	4.06±0.02
	Cocaïna	304	25	182	17	105	25	6.52±0.05
	Norcocaïna	290	25	168	15	136	19	1.48±0.09
	LSD	324	25	223	25	208	30	2.28±0.02
	PCP	244	10	85	17	159	7	1.07±0.05
	4.9-6.5	Cocaetilè	318	29	196	22	82	24
Fentanil		337	25	188	22	105	26	1.64±0.02
EDDP		278	45	234	30	187	35	3.85±0.02
Metadona		310	20	165	15	105	25	1.96±0.01
6.5-9.0	THC-OH	331	50	105	20	183	20	2.27±0.27
	THC-COOH	345	30	327	16	193	28	3.16±0.28
	Δ9-THC	315	35	193	30	123	30	1.1±0.02

Per a l'extracció en fase solida s'utilitzen 100 mL d'aigua a pH 7 i s'empra un equip Rapid Trace SPE Workstation (Zymark, MA, USA) i cartutxos Oasis HLB (Waters Corp, USA). Els cartutxos es netegen amb 8 mL de solució aquosa de metanol al 5%, s'assequen durant 10 minuts amb nitrogen i s'elueixen amb 6 mL de metanol. Abans de l'extracció s'afegeixen els compostos marcats isotòpicament a 100 ng/L i els extractes finals s'evaporen a sequedat sota corrent de nitrogen a 35°C. Posteriorment les mostres es reconstitueixen en 500 µL de solució aquosa al 20% de metanol.

Resultats:

Pet tal d'optimitzar les condicions cromatogràfiques de separació de les 26 drogues d'abús s'han avaluat diferents composicions de fases mòbils amb diferents additius. En primer lloc es va observar que la utilització d'un tampó permet millorar dels pics cromatogràfics obtinguts per a la major part dels compostos estudiats tot i que la intensitat del pic de la morfina es baixa. A la Figura 2.1 es mostren a mode d'exemple els pics obtinguts per a diversos estimulants de tipus amfetamínic (ATS), la ketamina, norcodeïna i normorfina obtinguts en dues fases mòbils acetonitril/aigua amb i sense tampó on es pot observar que sense tampó s'obtenen pics amb unes cues importants.

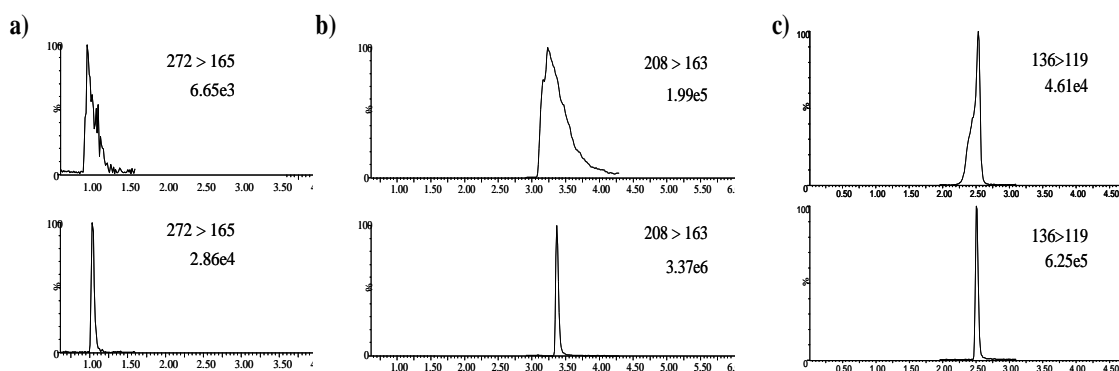


Figura 2.1. Efecte de la fase mòbil en (a) Normorfina, (b) MDEA i (c) Amfetamina (c). Gradient superior: Acetonitril:aigua; gradient inferior: Acetonitril(0.1% àcid fòrmic): tampó formiat amònic 30mM.

La utilització d'una fase mòbil metanol/aigua no va permetre millorar els resultats i l'adició d'àcid fòrmic al 0.1% a la fase mòbil tampoc no va millorar la resposta. Per alguns compostos, com el THC-COOH i el THC-OH, fins i tot es va reduir significativament. Ateses les seves característiques àcides (pKa 4,2 i 3,7 respectivament) aquests dos compostos es ionitzen millor en mode negatiu i, per tant, una fase mòbil neutra o lleugerament bàsica seria la recomanable. Ara bé, això obliga a treballar amb dues fases mòbils, i donat que el nostre principal objectiu consisteix en desenvolupar un mètode per a l'anàlisi simultània de totes les drogues, s'ha de seleccionar una fase mòbil única. En aquest context, la fase mòbil utilitzada a l'apartat 2.3.1., consistent en una fase aquosa de tampó de formiat amònic 30 mM i fase orgànica d'acetonitril amb un 0,1% d'àcid fòrmic, tot i que per a la morfina no proporciona bones respostes, permet obtenir una millora en les respostes de la resta de compostos i en concret dels cannabinoides, donada una millor ionització dels substituents bàsics de la seva estructura.

El perfil de gradient es va optimitzar per tal de millorar la resolució i reduir el temps d'anàlisi total. En concret es proposa un gradient no lineal còncav (f_9) per tal de millorar la resolució dels compostos que elueixen en menys de 3 minuts. En aquestes condicions s'obté una bona separació cromatogràfica per a totes les drogues i tan sols es produeix co-elució parcial entre la metamfetamina i el MDMA i la benzoïlecgonina i la norbenzoïlecgonina. A la segona part del cromatograma (4.5-8 minuts) s'aplica un gradient lleugerament còncav (f_7) per tal de reduir el temps d'anàlisi total. L'última part d'aquest gradient consisteix en una elució isocràtica amb un 100% de fase orgànica per tal d'eluir el THC.

La variació del pH de la fase mòbil de 3.0 a 4.5 no comporta cap millora efectiva. En general, els temps de retenció de tots els compostos augmenten a pHs més alts i s'aconsegueix millorar la separació dels compostos amb valors de pKa entre 3 i 4.2 (benzoïlecgonina, norbenzoïlecgonina, morfina-3 β -glucurònid i metabòlits de THC). La Figura 2.2. mostra un exemple de l'efecte del pH sobre la benzoïlecgonina on es pot observar la millora en la resolució a pH 3.5.

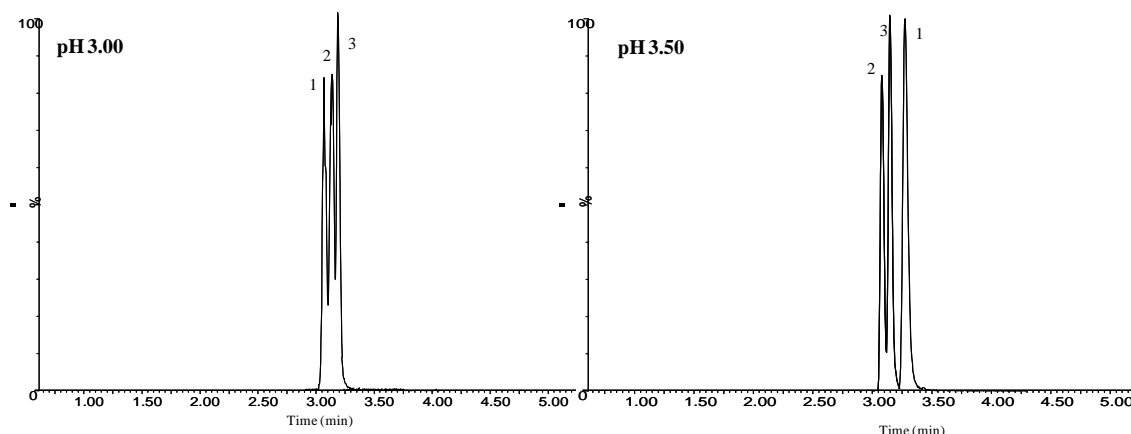


Figura 2.2. Efecte del pH de la fase mòbil en la separació de benzoïlecgonina (1), metamfetamina (2) i MDMA (3).

No obstant això, pHs més alts (de 3.5 a 4.5), provoquen una co-elució parcial amb el MDEA. Per tant, la millor separació per a tots els analits es va obtenir a pH 3.5. Per tant, la fase mòbil seleccionada per a l'estudi de les diferents famílies de drogues d'abús és la mateixa que la descrita a l'apartat 2.2.1. per a les drogues d'abús estimuladores i permet obtenir una separació cromatogràfica de les 26 drogues d'abús en menys de 9 minuts, com es mostra a la Figura 2.3.

Els paràmetres d'ionització de la font d'electrosprai són els mateixos que els descrits a l'apartat 2.2.1. Es van seleccionar temperatures de desolvatació (500°C) i cabals de gas (800 L/h) elevats per tal de treballar als elevats cabals del sistema cromatogràfic. L'adquisició es va realitzar en mode MRM i es van seleccionar dues transicions per compost (Taula 2.3.). Els criteris d'acceptació, inclosa la relació d'ions i els temps de retenció, utilitzats estan d'acord amb les directives europees (European Commission, 2002a).

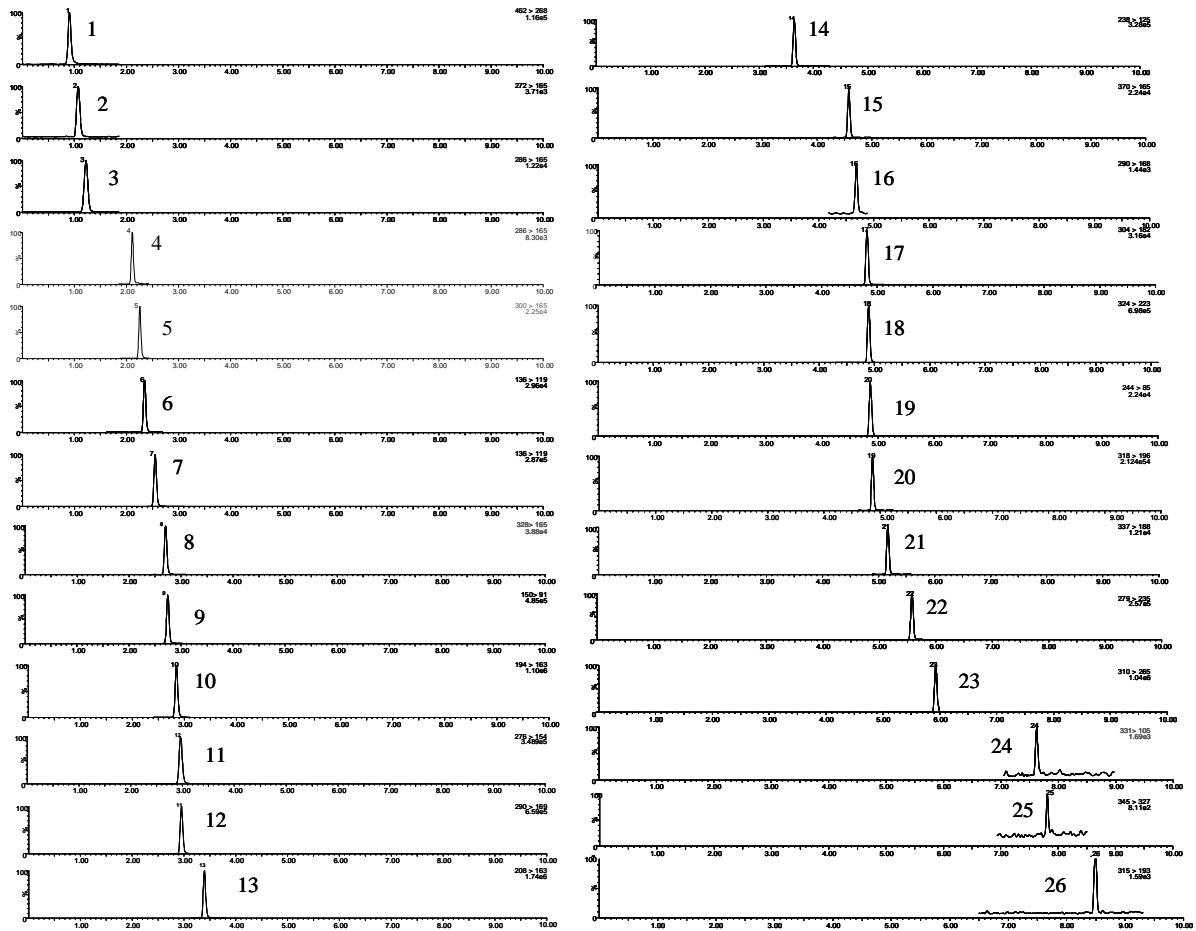


Figura 2.3. Cromatograma d'ions totals de les 26 drogues il·lícites adquirides en mode MRM. Solució estàndard de 100 µg/L. 1: morfina-3β-glucurònid, 2: Normorfina, 3: Morfina, 4: Norcodeïna, 5: Codeïna, 6: Amfetamina, 7: MDA, 8: 6-AM, 9: Metamfetamina, 10: MDMA, 11: Benzoilecgonina, 12: Norbenzoilecgonina, 13: MDEA, 14: Ketamina, 15: Heroïna; 16: Norcocaïna; 17: Cocaïna; 18:LDS; 19: PCP; 20: Cocaetilè; 21: Fentanil; 22: EDDP; 23: Metadona; 24: THC-OH; 25: THC-COOH; 26: THC.

Pel que fa al tractament de mostra s'han avaluat cinc sorbents en una matriu d'aigua superficial per tal d'obtenir recuperacions acceptables de totes les drogues d'abús. Els sorbents estudiats són els següents: tres de fase invertida, l'Oasis[®]HLB (6 mL, 200 mg) (Waters) que és un sorbent amb característiques hidro-lipòfiles, l'Accubond C18 (6 mL, 500 mg) (Agilent) i un sorbent polimèric Bakerbond SDB (6 mL, 200 mg) (JTBaker), i dos de bescanvi iònic, una resina catiònica forta, Oasis[®]MCX (6 mL, 200 mg) (Waters) i una aniònica forta, Oasis[®]MAX (6 mL, 200 mg) (Waters). Les recuperacions obtingudes a partir d'analitzar sis replicats d'una matriu d'aigua superficial lliure de drogues (obtinguda en un riu d'aigües cristal·lines procedents de desglaç natural) a la que se li va afegir un patró de les drogues estudiades de 20 ng/L s'indiquen a la Taula 2.4.

Per als compostos bàsics, les recuperacions més elevades s'obtenen amb els cartutxos Oasis[®]MCX, el sorbent polimèric amb grups sulfònics que permeten interaccions d'intercanvi catiònic. No obstant això, per la benzoilecgonina i la morfina-3β-glucurònid les recuperacions són menors del que s'esperava (60% i 35% respectivament) mentre que per als cannabinoides no es van superar el 61%.

Taula 2.4. Percentatges de recuperació de les 26 drogues d'abús en els diferents adsorbents.

Compost	HLB	Accubond C18	SDB	MCX	MAX
Amfetamina	92 ±1.6	83±2.7	75±3.4	100±2.8	34±8.3
Metamfetamina	75 ±2.9	68±4.2	61±4.1	89±1.9	38±7.2
MDA	95 ±5.1	81±6.6	73±3.7	98±3.2	35±9.4
MDMA	98 ±4.3	84±5.7	92±3.4	104±2.6	40±9.1
MDEA	85 ±2.5	77±3.8	69±3.6	105±3.4	29±8.9
Cocaïna	91 ±4.3	73±5.7	80±6.7	95±2.4	41±10.2
Norcocaïna	85 ±3.4	68±4.7	75±4.5	86±1.8	43±8.7
Cocaetilè	89±5.1	71±6.6	64±6.0	76±1.6	36±7.7
Benzoilecgonina	93±4.8	74±6.3	68±4.2	60±6.6	58±5.8
Norbenzoilecgonina	84 ±4.9	67±6.4	60±5.7	75±5.7	61±4.2
Ketamina	93 ±1.3	74±8.5	79±4.7	85±2.4	58±4.6
LSD	93 ±4.2	74±5.6	67±4.8	110±3.1	56±5.9
PCP	89 ±2.1	80±3.3	75±3.6	94±2.7	47±5.7
Fentanil	103 ±7.7	93±9.5	83±8.0	87±8.1	68±5.3
Heroïna	92±2.4	83±3.6	75±3.3	88±2.1	66±4.6
Codeïna	96 ±4.2	86±5.6	78±2.7	105±1.9	63±4.9
Morfina	82 ±5.6	74±7.2	79±1.7	86±3.1	62±5.7
Normorfina	75 ±1.3	68±2.4	74±3.5	82±2.9	54±6.1
6-Acetimorfina	94 ±6.6	85±8.3	86±4.6	95±4.5	59±6.2
Morfina Gluc.	70 ±8.1	53±9.9	57±3.7	35±10.3	42±10.6
Norcodeïna	69 ±7.2	62±8.9	56±6.7	82±2.3	42±10.8
Metadona	88 ±8.4	79±7.9	71±8.1	104±4.2	52±8.5
EDDP	74 ±6.5	52±8.2	51±10.1	89±5.1	32±11.4
Δ9-THC	65 ±8.2	59±10	53±8.6	42±9.1	63±4.6
THC-COOH	73 ±8.1	51±9.9	46±7.5	51±8.4	90±3.5
THC OH	70 ±5.9	56±7.5	50±7.2	61±6.3	92±4.0

El cartutx Oasis[®]MAX, un sorbent polimèric mixt o d'intercanvi aniònic, és el més eficaç per als dos metabòlits àcids del THC (THC-COOH i THC-OH), obtenint-se recuperacions del 90%. No obstant això, per als compostos amb característiques bàsiques, com per exemple els de tipus amfetamínic, les recuperacions són inferiors al 50% a causa

de les baixes interaccions amb el sorbent. Per últim, les fases enllaçades hidrofòbiques, capaces d'interaccions no polars, permeten obtenir recuperacions acceptables per a totes les drogues estudiades, amb valors per sobre del 50%. S'han seleccionat els cartutxos Oasis[®]HLB, ja que permeten obtenir recuperacions més elevades (65-103%) i millors reproductibilitats, fins i tot per la benzoilecgonina i la morfina-3 β -glucurònid (Taula 2.4.). Per a l'elució dels compostos adsorbits, s'utilitza metanol/aigua al 5% ja que a percentatges de metanol superiors s'observen pèrdues significatives en les recuperacions, en particular entre els analits més hidròfils (benzoilecgonina, norbenzoilecgonina i morfina-3 β -glucurònid).

Una vegada optimitzat el mètode es van establir els paràmetres de qualitat d'aquest. Es va estudiar la linealitat en el rang de concentració de treball, de 0.2-4.000 $\mu\text{g/L}$, establert a partir de les concentracions mesurades en anteriors treballs. El calibratge es va realitzar utilitzant com a patró intern anàlegs de cada compost marcats isotòpicament. Atès que per a la normorfina, morfina-3 β -glucurònid, norcodeïna, norbenzoilecgonina, norcocaïna i cocaetilè no es disposen de patrons marcats comercials, es van usar els patrons marcats dels seus respectius precursors com a patrons interns. La linealitat, expressada com el coeficient de correlació al quadrat (r^2), i amb un factor de correcció de $1/x$, va donar coeficients (r^2) superiors a 0.999.

Els valors dels límits de detecció (LOD), definits com la concentració d'analit més baixa que proporciona una relació senyal/soroll (S/N) de 3, i els límits de quantificació (LOQ), definits com la concentració que proporciona una relació S/N de 10, s'indiquen a la Taula 2.5. Els LOQs més elevats s'han obtingut per THC i THC-COOH, 9 ng/L i 5 ng/L respectivament, a causa de la seva poca ionització en mode positiu. Per als altres compostos, els LOQs oscil·len entre 0,1 ng/L i 5 ng/L, i són similars als obtinguts en el nostre grup de treball utilitzant dos mètodes independents (Apartat 2.2.2. i (Boleda i cols., 2007). La precisió en un mateix dia (intra-dia) s'ha calculat realitzant 6 repeticions en un dia a dos nivells de concentració (10 ng/L i 100 ng/L), i els resultats obtinguts expressats com a %RSD són inferiors a 9 i 8 ($n = 6$), respectivament. Per als resultats entre dies (inter-dies), l'extracció i l'anàlisi es van realitzar en cinc dies diferents obtenint %RSD inferiors a 11 ($n = 30$).

Taula 2.5. Paràmetres de qualitat del mètode en matrius d'aigües superficials.

Compost	R±RSD (%)	LOQ (ng/L)	10 ng/L		100 ng/L	
			Intradia (%RSD)	Interdia (%RSD)	Intradia (%RSD)	Interdia (%RSD)
Amfetamina	92 ±1.6	1	7.5	9.7	3.5	6.4
Metamfetamina	75 ±2.9	0.7	8.6	13.4	1.1	5.9
MDA	95 ±5.1	0.8	7.2	12.5	5.6	7.8
MDMA	98 ±4.3	0.3	6.9	12.1	3.0	4.7
MDEA	85 ±2.5	0.2	8.1	9.2	3.3	4.2
Cocaïna	91 ±4.3	0.2	5.7	8.6	4.5	5.4
Norcocaïna	85 ±3.4	2	4.5	7.9	3.2	3.9
Cocaetilè	89±5.1	0.1	4.6	5.2	3.1	3.7
Benzoïlecgonina	93±4.8	0.5	4.1	10.6	3.0	5.0
Norbenzoïlecgonina	84 ±4.9	0.1	3.4	5.6	2.5	4.6
Ketamina	93 ±1.3	1.5	6.1	8.5	1.5	2.3
LSD	93 ±4.2	0.2	5.9	9.7	2.8	4.8
PCP	89 ±2.1	1.5	5.5	11.6	2.1	8.2
Fentanil	103 ±7.7	1.8	7.2	9.4	4.9	5.8
Heroïna	92±2.4	2.4	4.1	11.3	3.7	6.1
Codeïna	96 ±4.2	3	4.2	11.0	4.1	7.1
Morfina	82 ±5.6	5	5.9	15.0	5.8	6.8
Normorfina	75 ±1.3	1.5	8.9	9.4	3.8	5.9
6-Acetil morfina	94 ±6.6	1.5	5.6	13.2	3.3	9.2
Morfina Gluc.	70 ±8.1	1	8.7	11.4	7.6	10.2
Norcodeïna	69 ±7.2	2.1	6.4	10.0	2.5	8.1
Metadona	88 ±8.4	0.2	2.9	5.6	2.8	5.7
EDDP	74 ±6.5	0.5	4.1	13.1	3.9	4.3
Δ9-THC	65 ±8.2	6	4.6	10.0	4.0	9.8
THC-COOH	73 ±8.1	5	4.5	15.1	1.3	4.1
THC OH	70 ±5.9	0.2	6.1	8.4	3.4	5.6

Per últim, el mètode s'ha aplicat a mostres d'aigües superficials d'Alemanya, França, Anglaterra i Espanya. Es van escollir rius importants d'aquests països, concretament el Rin, Sena, Tàmesi i Llobregat, i les mostres es van recollir una vegada aquests rius han travessat àrees d'elevada població. Les mostres es van analitzar per triplicat. A la Figura 2.14 es mostren els resultats obtinguts a partir de l'anàlisi d'aquestes mostres.

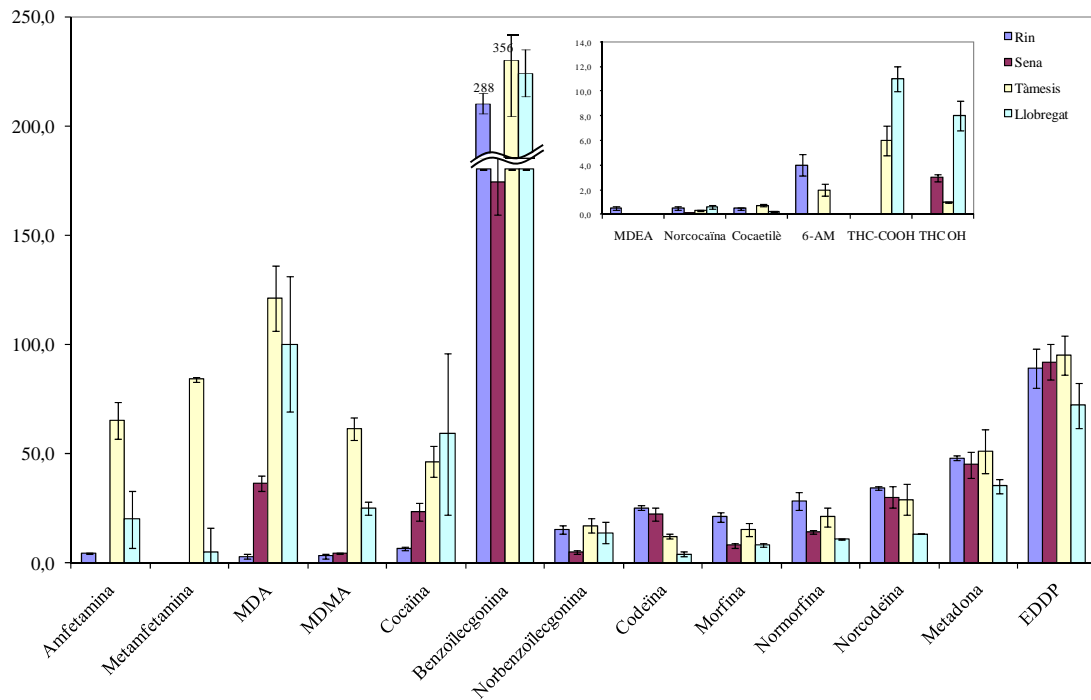


Figura 2.14. Concentracions de les drogues estudiades a quatre països europeus (Abril 2007-Març 2008, n=3x2 períodes de mostreig). Les línies verticals indiquen la desviació estàndard obtinguda en realitzar l'anàlisi per triplicat.

Depenent de la mostra, s'han identificat d'entre 13 i 16 drogues del total de les 26 analitzades, amb diferents perfils de concentració. Per exemple, es troben concentracions de morfina superiors en la zona del riu Rin (21 ng/L) que en els altres rius (8-15 ng/L) i aquest riu és l'únic junt amb el Tàmesi en el que s'ha identificat el metabòlit de l'heroïna, la 6-acetilmorfina, 4 ng/L i 2ng/L respectivament. Pel que fa als estimulants tipus amfetamínic (ATS), el Tàmesi i Llobregat són els rius amb les concentracions més elevades. Els valors més elevats d'amfetamina es van detectar en les mostres del riu Llobregat (20 ng/L) mentre que per l'èxtasi es van identificar concentracions superiors en el riu Tàmesi (62 ng/L).

Pel que fa a la cocaïna, les concentracions més elevades corresponen a les mostres dels rius Tàmesi i Llobregat, amb valors entre 46 i 59 ng/L. Tot i així, cal esmentar que aquesta substància així com els seus principals metabòlits benzoïlecgonina, norcocaïna i norbenzoïlecgonina, s'han identificat en totes les mostres analitzades. El cocaetilè, format a partir de la transesterificació de la cocaïna en ser consumida juntament amb etanol (alcohol), s'ha trobat en totes les mostres excepte en les del Sena, a concentracions entre 0.2 i 0.75 ng/L, i també les concentracions més elevades corresponen al riu Tàmesi.

Les concentracions de la metadona i el seu principal metabòlit EDDP són similars en totes les mostres analitzades, encara que són lleugerament inferiors en el riu Llobregat. Pel que fa referència als cannabinoides, els metabòlits de THC s'han trobat en les mostres dels rius estudiants excepte el Rin a concentracions entre 1 i 8 ng/L per al THC-OH i entre 6 i 11 ng/L per al THC-COOH.

2.3. DISCUSSIÓ DE RESULTATS

En aquest apartat es discuteixen els resultats obtinguts en la optimització de mètodes per a l'extracció i determinació de drogues d'abús en aigües. Es comenten els aspectes més interessants dels mètodes de cromatografia de líquids ràpida acoblada a l'espectrometria de masses i dels d'extracció establerts per a l'anàlisi d'aquests compostos.

Pel que fa referència a la separació per cromatografia de líquids, la utilització, per primera vegada, de columnes de diàmetre de partícula $< 2\mu\text{m}$ (UHPLC) per a l'anàlisi simultània de drogues il·lícites en matrius aquoses (apartat 2.2.1.) va permetre disminuir el temps d'anàlisi i obtenir separacions cromatogràfiques en menys de 5 minuts per a les drogues estimuladores (apartat 2.2.1.), i en menys de 9 minuts per al total de 26 drogues analitzades (apartat 2.2.2.), amb eficàcies molt superiors a les obtingudes en cromatografia de líquids convencional. De fet, el temps de l'anàlisi cromatogràfica obtingut és la meitat del dels mètodes que utilitzen HPLC, fins i tot dels publicats amb posterioritat, com per exemple el proposat per Zuccato et al. per a la determinació de 10 drogues d'abús que requereix un temps d'anàlisi al voltant de 20 minuts (Zuccato i cols., 2008a), o el de Metcalfe i cols. que optimitzen un mètode d'HPLC per a la determinació de 6 drogues d'abús (cocaínics i amfetamínics) amb un temps d'anàlisi de 13 minuts (Metcalfe i cols., 2010). En els darrers anys, però, els mètodes publicats a la literatura descriuen reduccions importants en els temps d'anàlisi totals, per exemple Martínez-Bueno i cols. assolixen la separació de 22 drogues d'abús en 9 minuts, treballant amb una columna convencional de fase invertida (Martínez Bueno i cols., 2011). Tot i així, aquest mètode no contempla la inclusió dels compostos eluïts a temps de retenció més elevats, com per exemple els cannabinoides. De manera que, si es comparen els temps de retenció obtinguts per a un compost concret com, per exemple, l'EDDP, s'obtenen valors de 8.8 minuts enfront dels 5.6 minuts del mètode descrit a l'apartat 2.2.2. El mateix succeeix per al mètode descrit per van der Aa i cols. per a la determinació de 9 drogues d'abús utilitzant una columna HILIC (Van der Aa i cols., 2010, Van der Aa i cols., 2013). Aquest mètode, tot i que assolix una ràpida separació dels compostos analitzats (6.7 minuts), no inclou els cannabinoides, i per a l'EDDP, per exemple, s'obté un temps de retenció de 6.2 minuts. Per a la determinació d'un nombre més elevat de compostos (19), aquests mateixos autors descriuen un mètode alternatiu utilitzant una columna de fase

invertida i diferents condicions cromatogràfiques en funció del mode d'ionització positiu o negatiu en la font d'electrosprai, però en aquest cas, obtenen temps d'anàlisi totals més elevats, al voltant dels 23 minuts.

És evident per tant, que l'ús de l'UHPLC resulta adequat per reduir considerablement els temps d'anàlisi. Tot i així, per tal d'assolir la reducció de temps obtinguda en el mètode descrit a l'apartat 2.3.2., a més d'emprar una columna de 1.7 μm de diàmetre de partícula, es van optimitzar tots aquells paràmetres que tenen rellevància, com són la composició de la fase mòbil, la utilització de gradients d'elució i de modificadors per a millorar la forma del pic cromatogràfic i la ionització en la font d'electrosprai, i altres paràmetres addicionals com la longitud i temperatura de la columna i la forma del gradient d'elució. Tot això va permetre millorar les separacions cromatogràfiques en termes de resolució, sensibilitat i temps d'anàlisi.

L'augment de la longitud de columna de 5 cm a 10 cm, malgrat l'increment dels temps d'anàlisi que comporta, va permetre augmentar el nombre de plats teòrics i obtenir una millor separació dels compostos en estudi. De fet, treballs posteriors han optat també per utilitzar aquesta longitud de columna (veure Taula 2.2.). Alguns autors empen columnes de menor longitud (5 cm) però en mètodes que inclouen un menor nombre de compostos (Gomez i cols., 2010, Perez-Parada i cols., 2012), o bé en el cas d'utilitzar espectrometria de masses d'alta resolució, com per exemple un Orbitrap, ja que l'elevada selectivitat associada permet treballar amb una pitjor separació (Fedorova i cols., 2014, Rodayan i cols., 2014). A la literatura hi ha alguns treballs que empen columnes de longitud superiors (15 cm), però són estudis que estan enfocats a la identificació de compostos “*non-target*”, en el quals el nombre de compostos a identificar és molt elevat i utilitzen espectrometria de masses d'alta resolució (Diaz i cols., 2012, Bijlsma i cols., 2013b).

Tal i com s'ha comentat anteriorment, es conegut que la temperatura té un efecte important en la separació cromatogràfica. Per a les drogues estimuladores estudiades en aquesta tesi (apartat 2.3.1.) es va posar de manifest una millora en la resposta en augmentar la temperatura fins a 40 °C. Per als compostos estudiats es va obtenir un increment mitjà del 4% en l'àrea de pic, sense empitjorar de manera important la resolució. Tot i que aquest no es un paràmetre que s'optimitzi habitualment, alguns autors en descriuen el seu ús en la separació de drogues d'abús. Per exemple, Borova i cols. estudien l'efecte d'un augment de la temperatura de la columna de 25°C a 50°C i

proposen 25°C com a temperatura òptima de separació (Borova i cols., 2014). La diferència entre les temperatures òptimes obtingudes 25°C i 40 °C (apartat 2.2.1.), pot ser deguda al dissolvent orgànic de la fase mòbil, metanol en un cas i en l'altre, acetonitril que posseeix una menor viscositat i una temperatura d'ebullició superior, o bé, per l'ús de columnes de nucli sòlid, tipus *Fused Core*, per a les que s'ha descrit un menor efecte d'escalfament per fricció de la fase mòbil (McCalley, 2011). D'altres autors que treballen amb acetonitril i columnes de partícules poroses, seleccionen temperatures de columna superiors a l'ambient, per exemple Lopes i cols. seleccionen una temperatura de columna de 35°C, per a la determinació de drogues d'abús. (Lopes i cols., 2014)

Pel que fa referència a la composició de la fase mòbil en la separació cromatogràfica (apartat 2.2.1.), la utilització d'un tampó de formiat amònic enlloc d'acetat amònic i l'addició d'àcid fòrmic (0.1%) a la fase orgànica (Fig.1 Article I, apartat 2.2.1.) ha permès una millora substancial en la separació. Pel que fa al mètode optimitzat per a la separació de les 26 drogues d'abús (apartat 2.2.2.), i encara que els compostos estudiats presenten diferents característiques d'acidesa i basicitat, la mateixa fase mòbil ha permès una adequada separació dels compostos (Figura 2.3., apartat 2.2.2.). Cal esmentar que la major part dels mètodes per a la determinació de drogues d'abús en matrius ambientals publicats a la literatura amb posterioritat al de l'apartat 2.2.1. empen composicions similars (veure Taula 2.2.). Utilitzen acetonitril o metanol com a fase orgànica, amb un percentatge entre 0.01-0.5% d'àcid fòrmic, i tampó d'àcid fòrmic/formiat a una concentració entre 1-50 mM com a fase aquosa.

Un dels aspectes d'interès de la optimització de la separació duta a terme en aquesta tesi és l'aplicació de gradients no lineals amb l'objectiu d'aconseguir la màxima separació en el menor temps d'anàlisi possible. Aquests gradients permeten aplicar elucions còncaues o convexes en zones concretes del cromatograma. A la Figura 2.5. es mostra un esquema dels gradients no lineals aplicables en el sistema cromatogràfic emprat en aquesta tesi (Waters Acquity).

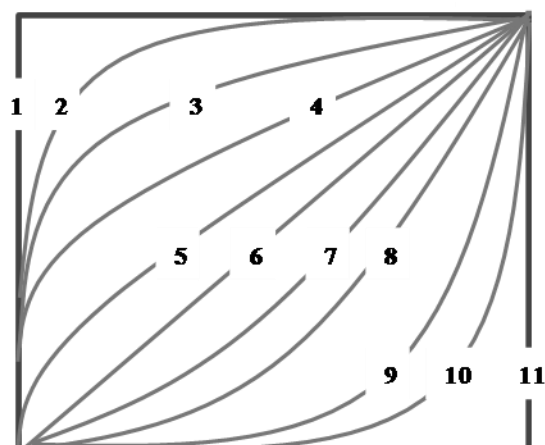


Figura 2.15. Esquema de gradientes no lineals de f_1 fins a f_{11} .

A la Figura 2.6. (superior) es mostra el cromatograma obtingut en la separació de les 15 drogues estimuladores en aplicar un gradient lineal on s'observen dos intervals buits entre 1.5-2.2 minuts i entre 3.5-4.5 minuts aproximadament. Si es té en compte que el temps d'anàlisi total és de 5.2 minuts, dos intervals de quasi bé 1 minut cadascun representen proporcionalment una important pèrdua de temps en la separació cromatogràfica. Per tal de reduir el temps d'anàlisi total i millorar la resolució es va avaluar l'aplicació d'un gradient còncau (f_7) entre 0.5 i 3 minuts, que permet reduir el primer d'aquests espais buits (de 0.8 a 0.4 minuts), tot mantenint, a més, una adequada separació entre els pics eluïts a la part central del cromatograma. Per al segon interval es va aplicar un gradient convex (f_5) de 3.0 a 5.0 minuts, que permet reduir el segon d'aquests espais buits (de 1.0 a 0.5 minuts), sense un empitjorament de la separació cromatogràfica (Figura 2.6.).

Així, els resultats obtinguts aplicant un gradient còncau en la primera part del cromatograma (f_7) i convex en la segona (f_5) van permetre, no tan sols millorar la separació d'alguns compostos en termes de resolució cromatogràfica, sinó que també, i més important, reduir el temps total de separació cromatogràfica de 5.5 minuts a 4.1 minuts, fet que representa una reducció de quasi bé el 25% en el temps d'anàlisi.

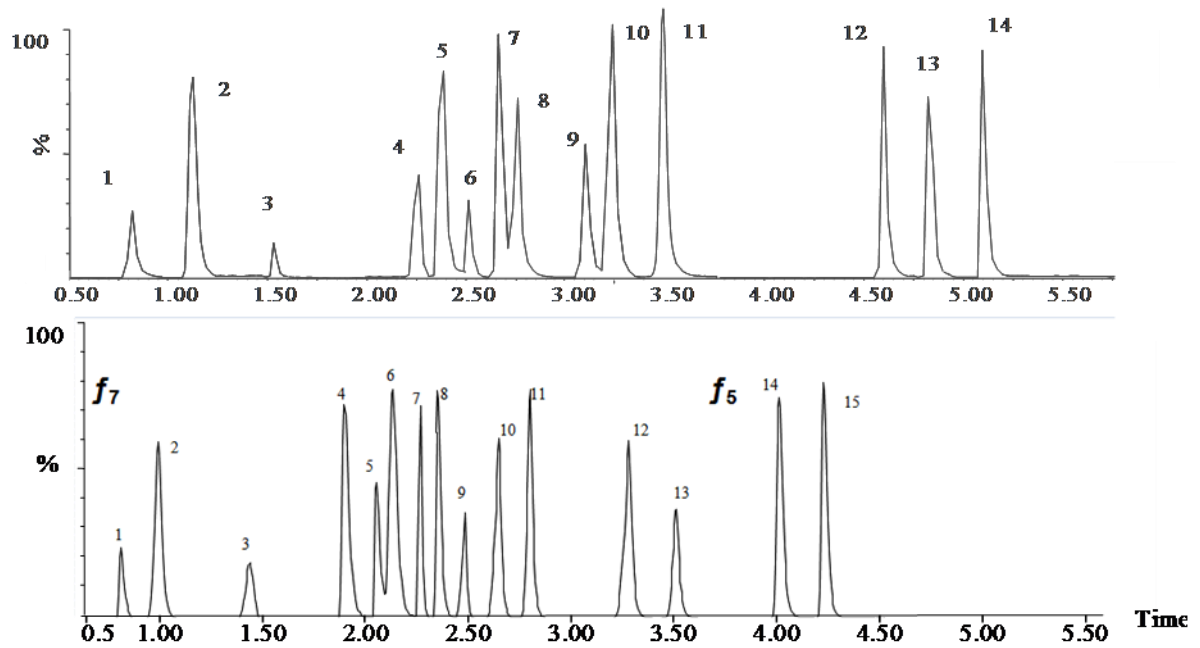


Figura 2.6. Comparació de la separació obtinguda amb gradient lineal (superior) i gradient no lineal (inferior); 1: Nicotina, 2: Cotinina, 3: Paraxantina, 4: Cafeïna, 5: Amfetamina, 6: MDA, 7: Metamfetamina, 8: MDMA, 9: Benzoïllecgonina, 10: MDEA, 11: Ketamina, 12: Cocaïna, 13: LSD, 14: PCP, 15: Fentanil.

L'aplicació d'un tractament similar en el mètode de separació de 26 drogues d'abús (apartat 2.3.2.) va permetre millorar la resolució obtinguda en emprar un gradient lineal i reduir lleugerament el temps d'anàlisi. La utilització d'un gradient còncau (f_9) va millorar la resolució d'alguns dels compostos que elueixen en menys de 3 minuts sense un empitjorament notable de la separació de la resta les substàncies. L'aplicació d'un gradient lleugerament còncau (f_7) a la segona part del cromatograma (4.5-8 minuts) i una elució isocràtica amb 100% de fase orgànica ha comportat una reducció del temps total d'anàlisi de 9 minuts a 8.5 minuts (Figura 2.7.). En aquest cas gradients no-lineals amb major pendent no van permetre eluir més ràpidament els compostos cannabinoides i per tant reduir encara més el temps d'anàlisi.

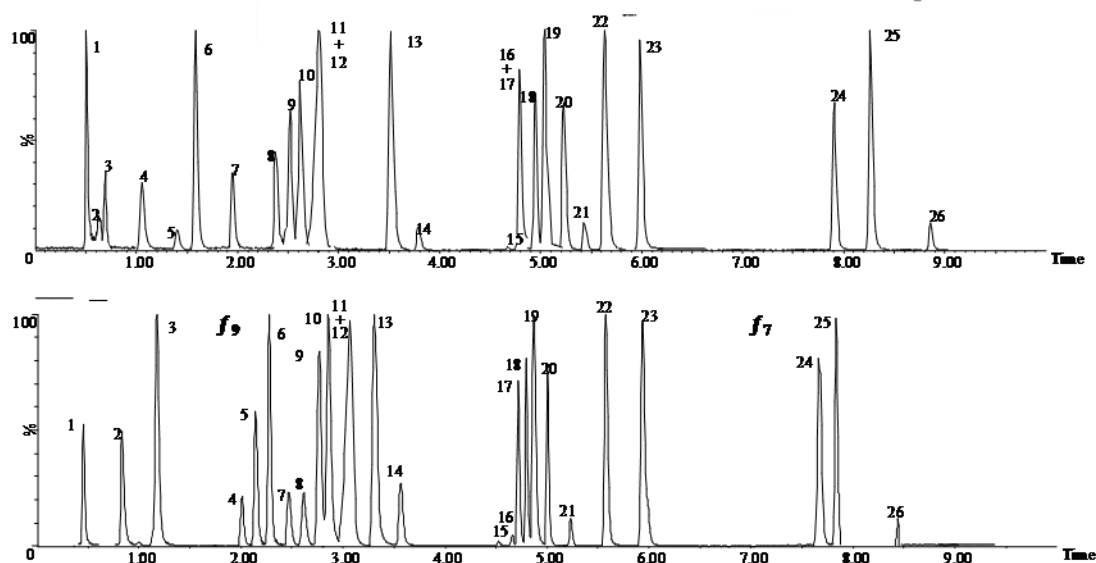


Figura 2.7. Comparació de la separació obtinguda amb gradient lineal (superior) i gradient no lineal (inferior); Solució estàndard de 100 µg/L. 1: morfina-3β-glucurònid, 2: Normorfina, 3: Morfina, 4: Norcodeïna, 5: Codeïna, 6: Amfetamina, 7: MDA, 8: 6-AM, 9: Metamfetamina, 10: MDMA, 11: Benzoilecgonina, 12: Norbenzoilecgonina, 13: MDEA, 14: Ketamina, 15: Heroïna, 16: Norcocaïna; 17: Cocaïna; 18:LDS; 19: PCP; 20: Cocaetilè; 21: Fentanil; 22: EDDP; 23: Metadona; 24: THC-OH; 25: THC-COOH; 26: THC.

En relació al tractament de mostra, en aquesta tesi s'han avaluat diversos sorbents per a l'extracció de les drogues d'abús en matrius d'aigua, amb l'objectiu d'obtenir una recuperació acceptable per a totes elles (apartat 2.3.2.). Les recuperacions obtingudes en els diferents sorbents, de tipus hidrofòbic i de bescanvi iònic (catiònic i aniònic) han posat de manifest que en general, per als compostos amb caràcter bàsic els sorbents de bescanvi catiònic permeten obtenir les recuperacions més elevades. Per exemple, per a les ATSs s'obtenen recuperacions entre 85-105%, i per als opiacis entre 82-105% en emprar sorbents Oasis MCX. No obstant això, per a la benzoilecgonina i la morfina-3β-glucurònid es van obtenir recuperacions menors de les esperades (60% i 35%, respectivament). Un comportament similar ja havia estat descrit prèviament per Gheorghe i cols. per la benzoilecgonina (Gheorghe i cols., 2008). Segons aquests autors, aquest comportament pot estar relacionat amb l'estructura zwitteriònica parcial que poden adoptar aquests compostos en carregar la mostra a pH 2.5, tot i que aquest efecte no ha estat observat per altres autors, com per exemple Bijlsma i cols. que obtenen recuperacions per a la benzoilecgonina del 106% (Bijlsma i cols., 2009) o Kasprzyk-Hordern i cols. que obtenen recuperacions de 95-130% (Kasprzyk-Hordern i cols., 2007) per a aquest mateix compost. Una altra possible explicació a aquestes marcades diferències entre les

recuperacions obtingudes per a un mateix compost emprant els cartutxos MCX pot estar relacionada amb la temperatura d'evaporació emprada durant la concentració dels extractes obtinguts. Segons Baker i cols. per als extractes bàsics (metanol: 7% d'hidròxid amònic) obtinguts emprant sorbents d'intercanvi catiònic, a diferència dels que tan sols contenen metanol, la temperatura d'evaporació resulta crítica per a algunes drogues d'abús, entre elles els derivats ecgonínics de la cocaïna (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b). S'observa, per exemple, una disminució del 72% al 45% en les recuperacions del metil ester de l'ecgonina en passar d'una temperatura d'evaporació de 40°C a 50°C. Segons els autors, una possible explicació podria trobar-se en el fet que en les condicions de treball (solvent bàsic) els compostos bàsics es troben en la seva forma no ionitzada i per tan són més volàtils. Tot i que aquest efecte no està descrit per a la benzoilecgonina, és possible que lleugeres variacions en el percentatge de base afegida durant l'extracció pugui afectar als derivats ecgonínics, incloent la benzoilecgonina, durant l'etapa d'evaporació, fet que explicaria les importants diferències observades entre els treballs publicats així com les recuperacions obtingudes pitjors que les dels sorbents de tipus hidrofòbic. Pel que fa al glucurònid de la morfina, una possible explicació podria trobar-se en un comportament de degradació similar al de l'heroïna la qual durant el procés d'evaporació dona altres compostos estructuralment similars, morfina mitjançant hidròlisi (Bones i cols., 2007a), o 6-acetilmorfina (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011a) per des-acetilació. Tot i que, en l'estudi recollit en l'apartat 2.3.2., no s'observa un increment notable en les concentracions d'aquests dos compostos (morfina o 6-acetilmorfina) ni una disminució destacable en la recuperació obtinguda per a la heroïna, probablement degut a les baixes temperatures d'evaporació (35°C), aquesta sí que podria ser suficient per a degradar un metabòlit estructuralment menys estable com un glucurònid especialment en l'evaporació a sequedat en medi bàsic.

Per al conjunt de compostos, però, els sorbents més habitualment emprats són els de fases enllaçades hidrofòbiques, principalment Oasis HLB, tal i com es pot observar en la Taula 2.1. Els d'intercanvi catiònic, MCX, s'utilitzen tan sols en el cas de no incloure els analits que presenten pitjors recuperacions en aquests sorbents, com són el glucurònid de la morfina, o els derivats cannabinoides (van Nuijs i cols., 2009c, Metcalfe i cols., 2010, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b), així com la benzoilecgonina, el cocaetilè o la norbenzoilecgonina, que també donen baixes recuperacions (apartat 2.3.2.). En aquest estudi (apartat 2.3.2.), l'ús de sorbents HLB va permetre obtenir unes recuperacions

adequades per al conjunt de compostos estudiats, entre 69-103%, de l'ordre de les publicades a la literatura (Taula 2.1.)

Pel que fa a la reconstitució de la mostra una vegada estreta i concentrada, un aspecte important a tenir en compte en l'establiment de mètodes per cromatografia de líquids, és la composició final de la solució de la mostra a injectar. En aquesta tesi es va observar que una fase aquosa amb un 5% de metanol, similar a les proporcions inicials del gradient cromatogràfic en termes de contingut de solvent orgànic, resultava adequada per les drogues estimuladores (Article I, apartat 2.2.1.), mentre que pels cannabinoides no era així (apartat 2.2.2.). Una composició de la mostra a injectar similar a les condicions inicials cromatogràfiques (5:95 metanol:aigua) es traduïa en un eixamplament dels pics cromatogràfics i, per tant, una disminució en la relació senyal soroll, possiblement a causa de la hidrofobicitat d'aquests compostos, que requereixen una proporció més elevada de component orgànic. Ara bé, concentracions elevades de contingut orgànic, encara que milloren les respostes dels cannabinoides, empitjoren les formes dels pics dels primers compostos eluïts. Aquesta és la raó per la qual en estudis de la literatura on s'analitzen cannabinoides amb freqüència s'analitzen dos extractes, un en aigua i l'altre en dissolvent orgànic (Boleda i cols., 2007). En el mètode proposat en aquesta tesi per a l'anàlisi de 26 compostos incloent els cannabinoides es van seleccionar unes condicions de compromís, amb un 20% de metanol en la solució d'injecció, que va permetre obtenir les millors respostes per a tots els analits.

Per últim, cal esmentar que els resultats sobre la presència de les drogues d'abús inclosos a l'Article I (apartat 2.2.1.) són els primers que es van publicar a Espanya, i van posar de manifest que tant a l'entrada com a la sortida de les plantes de tractament d'aigües residuals es troben amb freqüència compostos com la cafeïna, nicotina i els seus metabòlits (a nivells de concentració de l'ordre dels mg/L), així com la cocaïna, el seu metabòlit benzoilecgonina, l'amfetamina, la MDMA i la ketamina, a concentracions molt inferiors (de µg/L o ng/L). Alguns d'aquests compostos també es van identificar a les aigües del riu Llobregat, a nivells de concentració similars als trobats en altres rius europeus com el Tàmesi o el Sena (apartat 2.2.2.). Aquests resultats es comenten amb més detall al capítol 3 (apartats 3.3.1. i 3.3.2.), dedicat a avaluar la presència de les drogues d'abús en aigües residuals, superficials i potables.

2.4. CONCLUSIONS

El treball experimental inclòs en el Capítol 2 de la memòria, en el que s'han establert mètodes de LC-MS/MS per a l'anàlisi de drogues d'abús en matrius ambientals, ha permès establir les següents conclusions:

- La combinació de la cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia (UHPLC) i l'espectrometria de masses en tàndem ha permès proposar un mètode per a la determinació de drogues d'abús estimuladores en aigües. S'ha aconseguit una bona separació cromatogràfica en menys de 5 minuts per a les 15 substàncies estudiades.
- Es proposa emprar una fase mòbil que conté una solució aquosa de formiat amònic 30 mM (pH 3.5) i acetonitril amb un 0.1% de modificador (àcid fòrmic) ja que el formiat amònic permet obtenir millors separacions que l'acetat amònic. A més, una concentració relativament elevada de tampó (30 mM) millora considerablement la forma dels pics per a la majoria de compostos.
- La utilització d'una temperatura de la columna de 40 °C ha permès obtenir pics estrets (d'1.0 a 2.0 s. a mitja alçada) i per tant, millorar els límits de detecció. Es recomana usar gradients no lineals en diverses seccions del cromatograma per reduir el temps total d'anàlisi, en el nostre cas quasi bé un minut, mantenint resolucions superiors a 1.2 per a la major part de les parelles de compostos. Tant sols la resolució entre l'amfetamina i la MDA es inferior a 1 (0.9).
- Les condicions òptimes de la font de ionització d'electrosprai establertes han permès obtenir una bona resposta per a tots els compostos i evitar la fragmentació a la font. Es proposa emprar l'ió $[M+H]^+$ com a precursor en espectrometria de masses en tàndem, seleccionar 2 transicions per compost i aplicar criteris d'acceptació i toleràncies (European Commission, 2009), per tal d'assegurar una correcta identificació dels compostos en mostres reals i sobretot evitar els falsos positius.

- Per a l'extracció i preconcentració es proposa emprar cartutxos Oasis HLB ja que permeten obtenir recuperacions elevades, entre el 69 i el 103%, per a tots els compostos analitzats.
- Donada la no selectivitat del procés d'extracció per a les drogues d'abús, la complexitat de les mostres d'aigua en estudi (residuals, superficials i potables) i la possibilitat de tenir efectes matriu importants en la ionització en la font d'electrosprai, es proposa emprar dilució isotòpica per a l'anàlisi quantitativa. En el cas de no disposar de patrons marcats isotòpicament s'empra el més similar estructuralment dins la mateixa família com a patró intern.
- Es proposa emprar el mètode desenvolupat per a l'anàlisi de drogues d'abús estimuladores amb petites modificacions (gradient i composició de la mostra a injectar) per a la determinació simultània de 26 drogues, tant estimuladores com depressores. El mètode és ràpid, ja que permet efectuar la separació cromatogràfica en menys de 9 minuts i a més, dur a terme l'anàlisi de les mostres fent una única extracció, injecció i adquisició.
- Els límits de quantificació obtinguts per a les drogues estimuladores en aigües residuals i superficials es troben entre 0.2-5.0 ng/L i 0.1-3.1 ng/L respectivament, per a tots els compostos excepte nicotina, cotinina, i paraxantina per als que s'obtenen valors més elevats entre 0.5-0.85 µg/L i 0.2 µg/L. Per a la determinació simultània de 26 drogues d'abús els límits de quantificació obtinguts en aigües superficials es troben entre 0.1-9.0 ng/L.
- Els mètodes optimitzats han permès identificar i quantificar per primera vegada a Espanya drogues d'abús en aigües. Deu dels quinze compostos estudiats s'han identificat habitualment en aigües residuals estudiades i set d'aquests s'han trobat també en les aigües superficials. Entre els compostos identificats, la cocaïna i la benzoilecgonina s'han trobat a concentracions mitjanes relativament elevades en aigües residuals d'entrada (79 i 810 ng/L) i sortida (17 i 216 ng/L), així com en aigües superficials (6 i 77 ng/L).

CAPÍTOL 3 - PRESÈNCIA EN EL MEDI AMBIENT

3.1. INTRODUCCIÓ

La confirmació de la presència de drogues d'abús en el medi ambient durant la última dècada ha permès comprovar de nou que l'anàlisi d'aigües pot donar informació molt acurada sobre els hàbits i activitats de l'esser humà, que hi incideix directament. Des de la publicació dels primers treballs que van identificar la presència de drogues d'abús en aigües (Jones-Lepp i cols., 2004, Zuccato i cols., 2005), l'estudi d'aquestes substàncies s'ha estès a diferents compartiments ambientals des de l'aigua (resumits a (Pal i cols., 2013, Petrie i cols., 2015)) fins a l'aire (Hannigan i cols., 1998, Balducci i cols., 2009, Cecinato i cols., 2010, Viana i cols., 2010, Daughton, 2011) passant per la biota (Kaleta i cols., 2006, Jones-Lepp i Stevens, 2007, Wick i cols., 2009, Diaz-Cruz i cols., 2009), tot demostrant que la presència d'aquestes substàncies s'estén a tots els compartiments ambientals.

La presència de les drogues d'abús tal i com s'ha discutit a la introducció d'aquesta memòria, és deguda a dues causes principals. Per una part, a l'elevat consum d'aquestes substàncies que comporta que arribin a les xarxes de sanejament a concentracions relativament elevades i per altra, al fet que la majoria de les drogues d'abús consumides s'excreten inalterades o lleugerament transformades en els seus metabòlits principals, de manera que poden ser fàcilment identificades i quantificades per les tècniques analítiques avui dia a l'abast als baixos nivells de concentració als que es troben habitualment. A part d'aquestes dues principals causes, n'existeixen d'altres que concorren en el temps com, per exemple, la seva relativa estabilitat en el medi i/o la seva constant introducció.

En general, aquests compostos entren directament en el compartiment aquàtic per les xarxes de sanejament públiques; a través dels efluents de les EDARs, arriben a les aigües superficials les quals sovint són usades per a la producció d'aigua de beguda, tot completant així el seu viatge a través del cicle de l'aigua.

En aquest apartat s'inclou en primer lloc l'Article Científic II intitulat "*Illicit Drugs in the Urban Water Cycle*", on es fa una revisió de la informació sobre la presència de les drogues d'abús a les aigües residuals, superficials i potables publicada durant els cinc primers anys d'estudis d'aquestes substàncies (2005-2010), així com sobre el consum de drogues estimat a partir de les concentracions trobades en mostres d'aigües residuals.

La segona part de la introducció (apartat 3.1.2.) és centra en analitzar la situació actual (2010-2015) de la presència de drogues d'abús en les matrius estudiades, així com les tendències i evolucions observades en els últims anys, mentre que l'apartat 3.1.3. inclou una discussió sobre l'ús d'aquestes substàncies com a biomarcadors antropogènics per realitzar càlculs de consum.

3.1.1. ARTICLE CIENTÍFIC II

Illicit Drugs in the Urban Water Cycle

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Ventura, F

In: *Xenobiotics in the Urban Water Cycle: Mass Flows, Environmental Processes, Mitigation and Treatment Strategies*. Springer Netherlands, 2010. 51-71

Chapter 3

Illicit Drugs in the Urban Water Cycle

Maria Huerta-Fontela, Maria Teresa Galceran, and Francesc Ventura

Abstract In recent years, the presence of human-use compounds in the aquatic environment has been recognized as an important issue in environmental chemistry. Among them, illicit drugs have been described as a new unexpected group of water contaminants with potent psychoactive properties and unknown effects to the aquatic environment.

The presence of these drugs in water resources is of rising concern and several studies are being conducted all over the world estimating discharged levels of drugs of abuse. In this chapter, a summary of the last works studying and reporting the occurrence of illicit drugs in water resources is performed. Up to now, drugs of abuse have been already detected in wastewaters and surface waters in the USA, Italy, Germany, the UK and Spain. These drugs reach wastewater treatment plants either unaltered or in their main metabolite form. Depending on the removal efficiencies, they can persist through wastewater treatment and be detected in receiving waters, which in some cases are used for drinking water production. The presence of these compounds in raw waters and their elimination through the drinking water treatment must be considered as an issue with regard to the quality of water supplies.

3.1 Illicit Drugs in Water Resources

The presence of human-use compounds in aquatic environments has been recognized as an important issue in environmental chemistry. Water analysis has demonstrated to be able to provide exhaustive and reliable information regarding human habits and activities. For instance, the presence of brominated flame retar-

M. Huerta-Fontela (✉) and F. Ventura
AGBAR-Aigües de Barcelona, Av. Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain
e-mail: mhuerta@agbar.es

M.T. Galceran
Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Av. Diagonal 647, 08028
Barcelona, Spain

D. Fatta-Kassinos et al. (eds.), *Xenobiotics in the Urban Water Cycle: Mass Flows, Environmental Processes, Mitigation and Treatment Strategies*, Environmental Pollution, Vol. 16, DOI 10.1007/978-90-481-3509-7_3, © Springer Science + Business Media B.V. 2010

51

dants in water can tell us about the industrial activity on a specific area; or the analysis of pharmaceutical residues can offer a general overview on health and drug consumption patterns of certain population clusters served by specific wastewater treatment plants (WWTPs). Recently, illicit drugs have been identified as a new unexpected group of water contaminants confirming this “water squealer” ability. To date, these compounds have been already found in several water matrices around the world and the concern regarding their presence in these resources is exponentially growing due to their potent psychoactive properties and their unknown effects to the aquatic environment. The presence of illicit drugs in water resources is related to two main causes. On the one hand, most of the main consumed illicit drugs are excreted unaltered or as slightly transformed metabolites, which reach the sewage system, and can be then easily identified (Table 3.1). On the other hand, the high consumption rates reported for these compounds explain their relative high concentration levels in the aquifer. Specifically, around 200 million people in the world are estimated to have used illicit drugs at least once during the last year (United Nations Office of Drug and Crime 2007). Cannabis is the most consumed one affecting by far above 4% of the global population aged between 15 and 64 years old. Next, opiates (especially heroin) and cocaine are the two second most consumed illicit drugs at the global level (United Nations Office of Drug and Crime 2007). Nevertheless, different patterns of use can be found depending on the country/region selected. For instance, in Europe and in Asia, opiates are the most consumed illicit drugs, with percentages of use above 58% and 62% among the adult population (15–64 years), respectively. In Africa and Oceania, cannabis is the most abused drug (63% and 46% adults, respectively) while in South-America cocaine use is still predominant (48%). Finally, in North America, cocaine and cannabis are the two most consumed illicit drugs with percentages above 29% and 26%, respectively. Despite these general region percentages, different patterns of use can also be found depending on the country/area selected. For instance, in Spain, the annual prevalence levels of cocaine exceeded those in the USA and the number of users is four times higher than the European average (among the adult population 15–64 years), demonstrating important local differences in the drug use panorama among countries.

3.1.1 Wastewaters

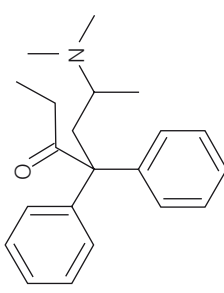
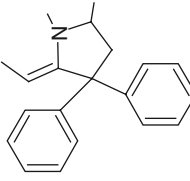
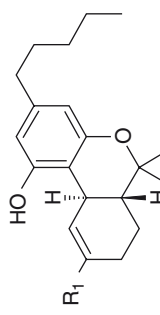
An alternative method to determine illicit drug consumption by measuring these drugs in wastewaters was first proposed by Daughton (2001). Few years later, this theory was put into practice in two works related to the determination of some illicit drugs in water resources (Jones-Lepp et al. 2004; Zuccato et al. 2005). The first one reported the presence of methamphetamine (0.8 ng/L) and 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) (0.5 ng/L) in effluent samples of three WWTPs in the USA. But it was in 2005 when scientists from the Mario Negri Institute in Italy centered their efforts to exclusively look for illicit drugs in water resources

Table 3.1 Illicit drug classification and structures.

Classification	Structure	Compound (abbreviation)	CAS #
Amphetamine-type-stimulants		Amphetamine	[300-62-9]
		Methamphetamine	[537-46-2]
		MDA	[4764-17-4]
		MDMA	[42542-10-9]
		MDEA	[82801-81-8]
		MBDB	[103818-46-8]
Cocainics		Cocaine	[50-36-2]
		Norcocaine	[61585-22-6]
		Benzoylcegonine (BE)	[519-09-5]
		Norbenzoylcegonine (norBE)	[60426-41-7]
		Cocaehtylene	[529-38-4]
Opiates		Heroin	[561-27-3]
		6-Acetyl morphine	[2784-73-8]
		Morphine	[57-27-2]
		Normorphine	[466-97-7]

(continued)

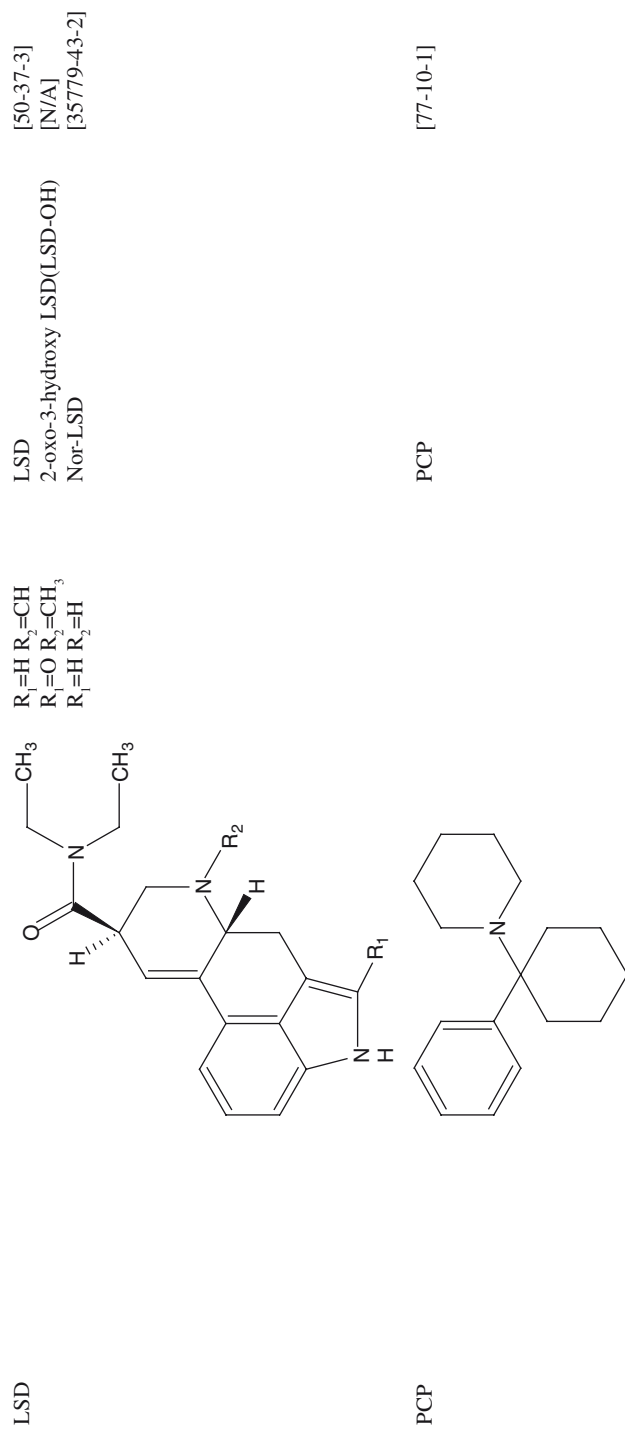
Table 3.1 (continued)

Classification	Structure	Compound (abbreviation)	CAS #
		Methadone	[76-99-3]
		EDDP	[1095-90-5]
Cannabinoids		D9-Tetrahydrocannabinol (THC) D9- carboxytetrahydrocannabinol (THC-COOH) D9- hidroxytetrahydrocannabinol (THC-OH)	[1972-08-3] [56354-06-4] [36557-05-8]

R₁ = CH₃
R₁ = COOH
R₁ = CH₂-OH

3 Illicit Drugs in the Urban Water Cycle

55



(Zuccato et al. 2005). In this work, the presence of cocaine and its major metabolite, benzoylecgonine, was reported for the first time in wastewaters and in the Po River. Cocaine was found in four WWTPs at concentrations ranging from 42 to 120 ng/L and the levels of benzoylecgonine were in accordance with the metabolic excretion ratios (0.15 ± 0.03) giving concentrations ranging from 390 to 750 ng/L. Additionally, both compounds were also found in Po River with concentrations of 2 and 25 ng/L, respectively. Few months later, an extended study from the same research group (Castiglioni et al. 2006) confirmed the presence of cocaine together with other illicit drugs, such as amphetamine type stimulants, morphine or methadone in influent and effluent samples from two Italian WWTPs. The occurrence of illicit drugs was also confirmed in Germany (Hummel et al. 2006) and Spanish (Huerta-Fontela et al. 2007) wastewaters. These results not only established the presence of illicit drugs in water resources but also suggested incomplete removal during the wastewater treatment. A more extensive work was then published regarding the presence of stimulatory illicit drugs in 42 WWTPs in Spain (Huerta-Fontela et al. 2008a). Most of the studied illicit drugs were found in both influent and effluent wastewaters. Cocaine and its metabolite were detected in wastewaters at concentrations ranging from 4 to 4,700 ng/L and from 9 to 7,500 ng/L respectively, while concentrations of amphetamine type stimulatory (ATS) drugs ranged from 2 to 688 ng/L. Additionally, their removal was also studied in eight WWTPs, showing variable percentages of elimination depending on the compounds and on the influent concentration levels. For instance, cocaine and benzoylecgonine removal percentages were higher than 88% while those for ATS varied, ranging from 40% to more than 99%. The persistence of illicit drugs during wastewater treatments has been also confirmed, for the time being, in surveys performed in Ireland (Bones et al. 2007), Belgium (Gheorghe et al. 2008; van Nuijs et al. 2008) and in Spain (Boleda et al. 2007; Postigo et al. 2008). In Table 3.2, a summary of the results published regarding the detection of illicit drugs in water is given.

Daily variations were also evaluated during seven consecutive days in WWTP from Italy (Zuccato et al. 2008a). Concentrations of THC-COOH were constant during the week suggesting steady use of cannabis. For benzoylecgonine, maximum values were detected on Saturday, corroborating previous results obtained from a survey performed in Spain (Huerta-Fontela et al. 2008a). However, different results between both studies were obtained when variations in ATS were evaluated. While constant values were obtained all through the week in Italian wastewaters, in Spain significant maximums were observed at weekend suggesting different patterns of use during the week.

3.1.2 Surface Waters

The non-quantitative elimination of illicit drugs in WWTPs has a direct effect in rivers, lakes, or seas where the treatment plants discharge their effluents. Therefore, once the presence of illicit drugs is demonstrated in wastewater effluents, surface

Table 3.2 Occurrence of illicit drugs in water resources

Drug	Source	Concentration (ng/L) (influent; effluent)	Loads (g/day)	Samples	Country	Reference
Cocaine	WW	42-120	-	4 WWTPs	Italy	Zuccato et al. 2005
	WW	218-421;11	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	79; 17	-	16 WWTP	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	489; 47-138	1.17-224	1 WWTPs (n=6)	Ireland	Bones et al. 2007
	WW	22-457	-	5 WWTPs (n=10)	Belgium	Gheorghe et al. 2008
	WW	316-861; 6.2-105	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	0.4-4700; 0.1-100	0.003-56	42 WWTP	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	10-758	-	37 WWTPs	Belgium	van Nuijs et al. 2008
	WW	10-860	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	1.2	0.70	1 River	Italy	Zuccato et al. 2005
	Surface	6	-	1 River (n=6)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	Surface	25-33	-	1 River (n=6)	Ireland	Bones et al. 2007
	Surface	nd	-	1 River (n=4)	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
	Surface	nd	-	1 River (n=2)	Poland	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
	Surface	7-26	-	3 Streams	Belgium	Gheorghe et al. 2008
	Surface	4-183	1.9-60	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	4-6	-	1 River	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	9-60	0.02-10	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	Norcocaine	Surface	1-115	0.1-55.2	28 Rivers	Belgium
Surface		1-7	1.2*	2 Rivers (n=6)	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2008
DW		nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
WW		4.3 ; 14 ; 0.7	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
WW		4-50	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
Surface		0.1-3.6	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
WW		6-12 ; 0.2	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
WW		49-89; 1.7-6.8	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
Surface		0.1-1.3	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
Cocaine		Surface	0.1-1.3	-	4 Rivers	Italy

(continued)

Table 3.2 (continued)

Drug	Source	Concentration (ng/L) (influent; effluent)	Loads (g/day)	Samples	Country	Reference
BE	WW	390-750	0.9-2.6	4 WWTPs	Italy	Zuccato et al. 2005
	WW	1132; 100-547	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	78;49	-	1 WWTP	Germany	Hummel et al. 2006
	WW	0.9-7500; 0.1-1500	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	290; 22-31	-	1 WWTP (n=1)	Ireland	Bones et al. 2007
	WW	164-1898	-	5 WWTPs (n=10)	Belgium	Gheorghe et al. 2008
	WW	1020-4226;30-318	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	0.9-7500; 0.1-1500	0.02-175	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	23-2258	-	37 WWTPs	Belgium	van Nuijs et al. 2008
	WW	110-2800	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	25	2.7	1 River	Italy	Zuccato et al. 2005
	Surface	3	-	1 River (n=1)	Germany	Hummel et al. 2006
	Surface	77	-	1 River (n=6)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	Surface	nd	-	6 samples	Ireland	Bones et al. 2007
	Surface	nd	-	4 samples	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
	Surface	nd	-	2 samples	Poland	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
Surface	44-191	-	3 Rivers	Belgium	Gheorghe et al. 2008	
Surface	0.5-44	8-391	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a	
Surface	4-16	-	1 River	UK	Zuccato et al. 2008a	
Surface	15-150	3-25	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b	
Surface	1-520	0.3-249	28 rivers	Belgium	van Nuijs et al. 2008	
Surface	1-123	2.6-39	2 Rivers (n=6)	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2008	
DW	3-130	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b	
Norbenzoyllecgonine	WW	19 ; 37; 7.5	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	14-170	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	1.6-8.4	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	WW	15	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
Amphetamine	WW	3-688; 4-210	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	6.5-41;0.5-3.3	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	3-688; 4-210	0.0003-9	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	80-220	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008

	Surface	nd	-	1 River (n=6)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	Surface	6-9	-	1 River (n=4)	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
	Surface	nd	-	1 River (n=2)	Poland	Kasprzyk-Hordern et al. 2007
	Surface	nd	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	5-90	-	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	Surface	9-50	0.1-8	2 Rivers (n=6)	UK	Kasprzyk-Hordern et al. 2008
	DW	nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	WW	0.8-1.3	-	3 WWTPs	USA	Jones-Lepp et al. 2004
	WW	16; 3.5	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	3-18; 1.5-6.3	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	3-277; 3-90	0.003-14	42 WWTP	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	10-2000	-	7 WWTPs	USA	Chiara et al. 2008
	Surface	1.7-2.1	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	1-2	0.1-0.4	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	DW	nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	WW	1.5;	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	27;	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	6-114; 12	0.01-0.7	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	nd	-	7 WWTPs	USA	Chiara et al. 2008
	Surface	nd	-	1 River (n=6)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	Surface	nd	-	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	DW	nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	WW	0.8-1.3	-	3 WWTPs	USA	Jones-Lepp et al. 2004
	WW	49;41	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	47-134; 30-376	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	2-598; 2-267	0.003-16	42 WWTP	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	2.7-70	-	7 WWTPs	USA	Chiara et al. 2008
	Surface	3	-	1 river (n=6)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007

(continued)

Table 3.2 (continued)

Drug	Source	Concentration (ng/L) (influent; effluent)	Loads (g/day)	Samples	Country	Reference
MDA	Surface	1.1-1.7	0.1-30 (total AMP)	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	2-6	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	1-40	0.2-7	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	DW	nd	-	IDWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	WW	3-266; 1-200	0.005-6	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	2-6	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	1.2	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	10-20	0.08-3	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	DW	nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
MBDB	WW	nd	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	WW	2.3-24; 1.2	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
Heroin	WW	nd	-	4 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	WW	nd	-	5 WWTPs	Spain	Hummel et al. 2006
Morphine	WW	820;111	-	12 WWTP	Germany	Hummel et al. 2006
	WW	83-204;55	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	452-874	-	1 WWTP (n=6)	Ireland	Bones et al. 2007
	WW	63-163;12-30	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	26-97;21-81	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	Surface	10 ^a	-	4 Rivers	German	Hummel et al. 2006
	Surface	nd	-	3 Rivers	Ireland	Bones et al. 2007
	Surface	3-38	1.5-4	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	5-42	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	WW	31	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
Normorphine 6-AM	WW	10; 12	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	6-13;2-3.6	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	nd	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	Surface	nd	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a

Methadone	WW	nd	-	12 WWTPs	German	Hummel et al. 2006
	WW	12- 50; 9,1-36	-	2 WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	4-24 ;4-25	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	WW	4,9-62	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	nd	-	4 Rivers	German	Hummel et al. 2006
	Surface	3,4-8;.6	1,2-196 (+ EDDP)	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	WW	20-91; 23-72	-	2WWTPs (n=8)	Italy	Castiglioni et al. 2006
	WW	9-206	-	1 WWTP (n=6)	Ireland	Bones et al. 2007
	WW	4,5-41;5-57	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
EDDP	Surface	nd	-	3 Rivers	Ireland	Bones et al. 2007
	Surface	4,3-18	-	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	nd	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	WW	14-39;13-21	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	38-96;14-48	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	Surface	0,5-7	0,9-38	4 Rivers	Italy	Zuccato et al. 2008a
	Surface	1	-	1 River (n=5)	UK	Zuccato et al. 2008a
	WW	14-39;13-21	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	11-32 ;	-	5 WWTPs	Spain	Boleda et al. 2007
	WW	4,3-33;4-19	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
THC-OH	WW	nd	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	nd	-	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	5	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	WW	nd	-	16 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2007
	WW	nd	-	42 WWTPs	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008a
	WW	1,4-4,7;0,2-1,6	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
	WW	nd	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	Surface	nd	-	1 River (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	DW	nd	-	1 DWTP (n=24)	Spain	Huerta-Fontela et al. 2008b
	WW	2,6-5,6; 0,7-0,8	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
LSD-OH	WW	nd	-	7 WWTPs	USA	Chiaia et al. 2008
	WW	4,3-22; 0,6-4	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008
Nor-LSD	WW	4,3-22; 0,6-4	-	4 WWTPs	Spain	Postigo et al. 2008

*Median values; WW: wastewater; WWTP: wastewater treatment plant; DW: drinking water; nd: non detected

waters should be analyzed. Several studies have been published analyzing the presence of illicit drugs in rivers from Italy (Zuccato et al. 2005, 2008a; Castiglioni et al. 2006), Spain (Huerta-Fontela et al. 2007, 2008b; Boleda et al. 2007), Ireland (Bones et al. 2007), UK (Kasprzyk-Hordern et al. 2007, 2008; Zuccato et al. 2008b), Poland (Kasprzyk-Hordern et al. 2007) and Belgium (Gheorghe et al. 2008; van Nuijs et al. 2008). For instance, in a recent work published by van Nuijs et al. (2008), 28 rivers from Belgium were sampled and analyzed for cocaine and two metabolites, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester (which was not detected). Results showed the extended occurrence of the parent compound (0.1–55.2 g/day) and of benzoylecgonine (0.1–249.7 g/day) in 15 and 20 of the sampled rivers, respectively. In this study, the variation in cocaine loads at the sampled rivers was also evaluated, showing an increasing trend when going downstream. This behavior was also described in previous reports (Zuccato et al. 2008a; Huerta-Fontela et al. 2008a) and it is probably related to the continuous discharges of wastewaters along the rivers with a consequent accumulation effect. As regards other illicit drugs, one study performed in four Italian rivers and one from UK revealed different concentration levels of twelve and six illicit drugs, respectively. For instance, cannabis (THC) was detected as its main carboxylic metabolite (THC-COOH) at concentrations ranging from 0.5 to 7 ng/L in the Italian rivers and at 1 ng/L in one UK River. However, cocaine (by means of its metabolite benzoylecgonine) was the compound found at higher concentrations, followed by methadone and EDDP, codeine, cannabis (in the form of THC-COOH), and amphetamine related compounds (cocaine > methadone > codeine > THC > ATS).

Some seasonal studies have been also performed in surface waters; however extrapolations are more difficult to perform since concentrations depend not only on the excretion of the compounds but also on weather conditions (mainly water temperature and rainfall episodes), proximity of WWTPs and natural attenuation processes. In order to obtain comparable results, the seasonal surface survey should be performed always in the same sampling point, at the same time/day, avoiding rainfall episodes, measuring the river flow rates (in order to normalize concentrations), and evaluating water temperature effect. Additionally, ratios between concentrations of the parent compounds and their metabolites should be always checked since they provide information about natural degradation processes. Kasprzyk-Hordern et al. (Kasprzyk-Hordern et al. 2008) studied the seasonal variations through six consecutive months (from January to August 2007) and the results reported showed higher loads for amphetamine and benzoylecgonine in August. Another study performed in one river from Spain during 1 year showed maximum loads for amphetamine during the summer season. For cocaine, ecstasy and methamphetamine high loads were also detected in summer but maximum values were found in winter. A more detailed study of this period was performed by collecting samples more frequently (from December 14, 2006 to January 30, 2007). This survey revealed an important increase in the concentrations of these compounds during the last days of December and the first days of January, corresponding to the Christmas and New Year holidays. In Fig. 3.1, the results obtained during this seasonal survey are displayed.

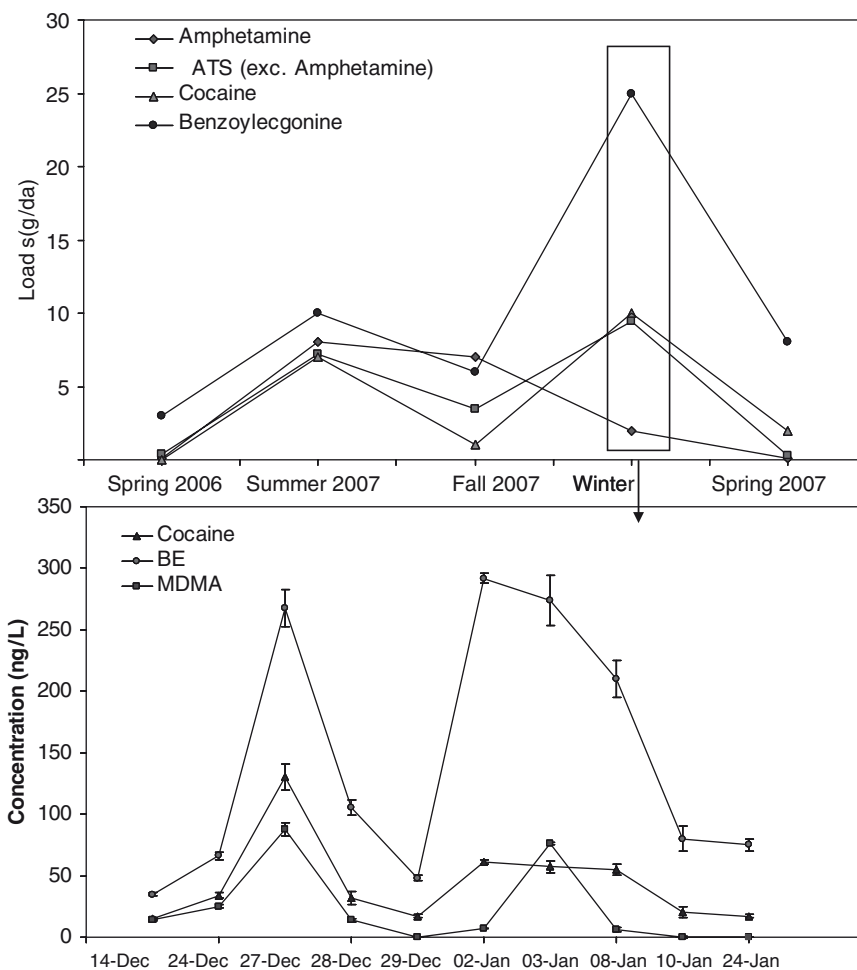


Fig. 3.1 Seasonal variation of illicit drugs in surface waters from NE-Spain. (Huerta-Fontela et al., 2008b)

3.1.3 Drinking Water

It is important to consider that often, surface waters are used as raw sources for drinking water production and the presence of illicit drugs can have a negative impact on the quality of the final tap water. Recently, one study has been published describing for the first time the presence and removal of illicit drugs through drinking water treatment (Huerta-Fontela et al. 2008b). Amphetamine-type stimulants (except MDMA) were completely removed during prechlorination, flocculation, and sand filtration steps. Granulated activated carbon (GAC)

filtration removed cocaine (100%), MDMA (88%) and benzoylecgonine (72%). Post-chlorination achieved the complete elimination of MDMA and only benzoylecgonine persisted throughout treatment, although reductions of 90% were obtained.

3.2 Consumption Estimation

The estimation of the percentages of illicit drug users and trends established in national and international annual reports are usually based on population surveys and statistical approximations. For instance, the percentages published in the World Drug Report 2007 (summarized in the previous section) are based primarily on the results obtained from the “Annual Reports Questionnaire (ARQ)” returned by Governments to UNODC (United Nations Office of Drug and Crime 2007). This questionnaire mainly depends on self-reports (in-house surveys) and also considers the number of treatment demands, arrests, and drug production and seizure rates declared by the Governments. Therefore, a general overview of the extent of the drug use is given by these reports but the margins of error are considerable.

The analysis of illicit drugs in water resources represents a novel and cheaper approach to determine more realistically the consumption rates and the patterns of use. In order to extrapolate illicit drug concentrations to consumption percentages, the first premise to take into account is that these drugs are hardly metabolized with known parent/metabolite excretion rates (pharmacokinetic data) and that they are stable in wastewaters (environmental transformation rate data) (Daughton 2001). Therefore, the normalization of the concentration values found in wastewaters can be easily performed by using the measured daily flow rates entering the WWTP and the number of inhabitants served. In general, the steps performed to extrapolate these results are as follows. First, concentration values are multiplied by daily influx, obtaining daily loads (e.g., g/day), which are divided by the population served (e.g., g/day \times 1,000 inhabitants). Then, a correction factor is applied to these loads to obtain the number of doses per day and population. This correction factor includes excretion ratios together with official dose contents. In Table 3.3, a summary of the correction factors is displayed.

3.2.1 Cocaine

The first works published using these approximations extrapolate cocaine wastewater concentrations to consumption rates (Zuccato et al. 2005, 2008a; Huerta-Fontela et al. 2008a, b; Bones et al. 2007; van Nuijs et al. 2008). In Table 3.4, a summary of these results is displayed. In most of these works, cocaine estimations were performed by using benzoylecgonine concentration data since this compound

Table 3.3 Excretion parameters for illicit drugs consumption calculations

Drug	Dose (of parent drug)*	Excreted Compounds	Description	% Excreted (Baselt, 2004)	t _{1/2} (h) (Baselt, 2004)	Correction Factor
Cocaine	100 mg	Benzoylcegonine	Major Excretion Product	35-54%	4.5	2.33
		Egonine methyl/ester	Major Excretion Product	32-49%	3.1	
		Cocaine	Parent drug	1-9%	0.8	
		Cocaehtylene	Excreted when consumed with ethanol	1-10%	1.7	
Amphetamine	30 mg	Norcoaine	Minor Excretion Product	Traces	-	3.3
		Norbenzoylcegonine	Minor Excretion Product	Traces	-	
		Amphetamine	Parent drug-Major Excretion Product	30%	24	
Methamphetamine	125 mg	Methamphetamine	Parent drug-Major Excretion Product	34%	24	2.9
		Amphetamine	Minor Excretion Product	4-7%	24	
MDMA	100 mg	MDMA	Product-not exclusive Parent drug-Major Excretion Product	72%	24	3.8
		MDA	Minor Excretion Product	1%	24	
MDEA	100 mg	MDA	Product-not exclusive Major Excretion	28%	24	5.3
		MDEA	Product-not exclusive Parent drug-Minor Excretion Product	19%	24	
		Methadone	Parent drug-Major Excretion Product	35-60%	24	
Heroin	30 mg	EDDP	Major Excretion Product	35-60%	24	2.2 (50%)
		Morphine-Glucuronides	Major Excretion Products-not exclusive	38 %	7	
		Morphine	Major Excretion Product-not exclusive	4.2%	7	

(continued)

Table 3.3 (continued)

Drug	Dose (of parent drug)*	Excreted Compounds	Description	% Excreted (Baselt, 2004)	t _{1/2} (h) (Baselt, 2004)	Correction Factor
		6-acetylmorphine	Excretion Product-exclusive	1.3%	40	68
		Heroin	Parent drug-Minor Excretion Product	0.1%	40	
Morphine	100 mg (non th.)	Morphine-3-glucuronide Morphine	Major Excretion Products-not exclusive Major Excretion Product-not exclusive	75 % 10%	72 7	2.16 10
THC	500 mg	Normorphine THC-COOH THC-OH	Minor Excretion Product Major Excretion Product Minor Excretion Product	1% 1% Traces	2-72 72	109

* (United Nations Office of Drug and Crime, 2007); non th.=therapeutic

Table 3.4 Estimations of cocaine consumption

Extrapolation	Country	Loads per capita (mg/day/1000inh)	Number of Doses (doses/day/1000inh)	Users %	Reference	Official % ^a
From BE loads	Italy	210-730 900-2700*	2-7 9-27*	0.2-0.7% 0.9-2.7%*	(Zuccato et al., 2005)	0.8-2.1%** 1.2%*
From BE loads	Spain	1400** 3300	14**33*	1.4%** 3.3%*	(Huerta-Fontela et al., 2008a)	1.6-3%** 2.8%*
From BE loads	Belgium	700-1000	7-10	0.7-1%	(van Nuijs et al., 2008)	0.9%
From COC loads	Ireland	180-1440	2-14	0.2-1.4%	(Bones et al., 2007)	0.5-1.1%**

^a Percentage of users considering last month prevalence. (European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction, 2008; United Nations Office of Drug and Crime, 2007).

* young adults: 15-34 years old;** adults: 15-64 years old

comes entirely from the metabolic degradation of cocaine and therefore from human consumption. Cocaine loads are not included in the calculations to avoid the effects of any sporadic direct discharge. Moreover, in a recent work published by Gheorghe et al. (2008), it was demonstrated that cocaine is not stable. For instance, at pH 6 and 20°C degradation percentages of 40% and 75% after 5 h and 1 storage day were found respectively. Therefore, benzoylecgonine loads are recommended to be used when cocaine consumption calculations are performed. To relate benzoylecgonine with cocaine, the percentage of intranasal cocaine excreted in urine as benzoylecgonine (30–50%) and the molar mass ratio of cocaine/BE (1.05) are considered, giving a factor of 2.3 (Zuccato et al. 2005) or 2.7 ± 0.6 (Huerta-Fontela et al. 2008a) depending on the excretion percentages considered. The total equivalents of cocaine are then obtained, and they can be converted to the total number of doses assuming a typical consumption unit/dose (at street purity) of 0.1 g of cocaine (United Nations Office of Drug and Crime 2007). The number of doses per 1,000 inhabitants described in the literature range from 2 to 14 and these values rise above 27 doses/1,000 inhabitants (in Italy) and 33 doses/1,000 inhabitants (in Spain) when only young adults (from 16 to 34 years old) are considered.

A raw comparison between the official prevalence data published and the percentages from these surveys can be also performed. As can be observed in Table 3.4, similar percentages of cocaine users are obtained with both estimations. It must be taken into account that the official rates are calculated by considering only adult population (from 15 to 64 years old) and a time frame of use of 1 month (or 1 year) while in these surveys, the population age range differs from one study to another and the time frame of use is mainly of 1 day or 1 week. Further work needs to be performed in order to optimize and standardize the “sewage epidemiology”(Zuccato et al. 2008b) approach to drug consumption; however, it can be stated that these first approximations provide similar orders of magnitude than those so far provided by the “standard estimation methods”.

3.2.2 Heroin

For heroin, additional figures must be taken into account before calculating consumption from wastewater concentrations. In one hand, only one exclusive metabolite of heroin can be found in wastewater samples, 6-acetylmorphine. This metabolite is a minor excretion product and up to now, it has not been considered for wastewater calculations since it is supposed to be present at fluctuating concentrations (Zuccato et al. 2008b). On the other hand, heroin, major excretion products, morphine, and conjugated morphine glucuronides (Table 3.3), are not specific or exclusive metabolites of this parent drug since they are also excreted after morphine or codeine consumption. According to previous studies (Baselt 2004; Zuccato et al. 2008b), codeine contribution to wastewater morphine can be neglected due to the low excretion percentages. Morphine concentrations in wastewater can then come from therapeutic morphine consumption or from heroin use. Additionally, morphine glucuronides are extensively hydrolyzed to morphine by enzymatic mechanisms in fecal waters (Baselt 2004; Zuccato et al. 2008a). Therefore, in order to calculate heroin consumption, corrections in morphine wastewater concentration must be performed to compensate the extensive contribution from therapeutic morphine use. These therapeutic contributions can be calculated by using official or published data regarding local consumption values (amount of therapeutic morphine per time per capita) which are changed to daily amounts of morphine metabolite by considering excretion rates (85% for therapeutic morphine). Next, these amounts are subtracted from the total morphine wastewater loads, giving to a residual morphine amount which can be considered to come mostly from heroin consumption. Finally, taking into account these morphine amounts, heroin consumption can be calculated by considering the excretion percentage (42%) and the molar mass ratio (1.3) (Table 3.3).

Zuccato et al. (2008b) firstly proposed this approximation in order to estimate heroin consumption from morphine wastewater concentrations. The calculated heroin consumption was of 70 mg/day per 1,000 inhabitants in Italy, 100 mg/day per 1,000 inhabitants in Switzerland and 200 mg/day per 1,000 inhabitants in UK. Considering that a typical intravenous dose of heroin has an average content of pure active drug of 30 mg, the number of doses consumed daily ranged from 2 to 7 doses. Additionally, in a recent work performed in 15 WWTPs in Spain (Boleda et al. 2009), similar approximations were used in order to calculate heroin consumption. An average value of 5 doses/day per 1,000 inhabitants was obtained which represents 0.67% of the population aged between 15 and 64 years old.

3.2.3 Other Illicit Drugs

Extrapolation from wastewater concentrations to drug consumption can be also performed for other illicit drugs. For instance, in a study published in 2007, wastewater concentrations of MDMA were directly used to estimate ecstasy consumption since

this compound is mainly excreted unaltered (Table 3.3). Total loads of MDMA (26 mg/day per 1,000 inhabitants) were corrected by considering the excretion percentages (72%) and the estimated local use of ecstasy was calculated by taking into consideration that a typical dose of MDMA is 0.1 g (unit/dose) (United Nations Office of Drug and Crime 2007). One dose of ecstasy per day per 1,000 inhabitants was obtained for population aged between 15 and 64 years old. Finally, these results were also extrapolated to population aged between 15 and 34 years old, since the use of this drug in Spain is nearly exclusively restricted to young adults group, giving an estimated consumption of four doses of ecstasy per day per 1,000 inhabitants. Lower loads were found in Italy (Milano), Switzerland (Lugano), and England (London) with values ranging from 3.4 to 7.3 mg/day per 1,000 inhabitants (adult population). The extrapolation to consumption rates gives values ranging from 0.12 to 0.28 doses/day per 1,000 inhabitants which are ten times lower than those reported in Spain. Finally, in a recent study performed in seven WWTPs around USA (Chiaia et al. 2008), higher variability in loads was found, with values ranging from 2 to 40 mg/day per 1,000 inhabitants which correspond to 0.1 to 1.5 doses/day per 1,000 inhabitants. Unlike cocaine use, these studies demonstrate important variations in ecstasy consumption depending on country/regions and age ranges.

THC consumption can be also calculated from wastewater concentrations by using THC-COOH since it is the major metabolite of cannabis and it has been ubiquitously found in wastewaters sampled (Table 3.2). For instance, Zuccato et al. (2008b) found load levels ranging from 20 to 50 mg/day per 1,000 inhabitants of the cannabis metabolite which can be extrapolated to 2180 to 5450 mg/day per 1,000 inhabitants of the parent compound. Considering a typical smoked dose of 125 mg (14% of pure THC), these values correspond to 124–311 doses/day per 1,000 inhabitants. According to this study cannabis was the most used drug among the studied ones, and results agreed with official figures.

3.3 Concluding Remarks

The presence of illicit drugs in water resources has been discovered in the last few years. Since this fact was firstly uncovered in 2005, a number of increasing works dealing with this topic have been published.

In this chapter, a summary of the works published regarding the occurrence of illicit drugs from wastewater to tap water has been performed. Results can be considered and processed from two different points of view. In one hand, from an environmental point of view, illicit drugs or their slightly transformed metabolites have been detected in water matrices at relatively high concentrations. This fact not only confirms the effect of human habits and activities in the environment but also suggests the introduction of new psychoactive agents into the aquatic system. For instance, cocaine, amphetamine, ecstasy, heroin, or cannabinoids among others have been detected entering to water resources by means of sewage waters from different countries such as Italy, Germany, Spain, Belgium, UK, or USA. Wastewater treatments

showed not to be effective enough to remove these drugs and therefore they were also found, at lower concentrations, in receiving surface waters which at the same time can be used for drinking water production. Drinking water treatments showed the complete removal of all the illicit drugs or metabolites detected in the raw water except for benzoylecgonine (cocaine metabolite), methadone, and EDDP (methadone metabolite). Considering all the surveys performed and the results obtained it can be concluded that the presence of illicit drugs in the “water cycle” far from being a temporary or a national problem has become a stationary problem of global concern. On the other hand, from a forensic point of view, illicit drug concentrations in wastewater can be also used to backward calculate the amount of drugs consumed by a specific population. Several studies perform these calculations by considering excretion pathways and percentages; parent compounds (ecstasy, methadone) or main excretion metabolites (benzoylecgonine or THC-COOH) have been used to estimate consumptions. Results obtained from these approximations provide similar magnitude orders than those obtained from classical estimation methods. Therefore, this kind of sewage approximations can become a powerful and reliable tool for enforcement agencies and to obtain epidemiologic and consumption tendency data.

Finally, it must be emphasized that much more data are needed in order to improve the knowledge of the behavior and occurrence of illicit drugs in wastewaters and surface waters as well as their toxicological impact in both aquatic life and human beings. Additionally, validation protocols should be established in order to improve backward calculations and to incorporate general and agreed guidelines to perform representative and reproducible surveys.

References

- Baselt, R.C. (2004). *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. (7th ed.). Foster City, CA: Biomedical Publications.
- Boleda, M. R., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2007). Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, *1175*, 38–48.
- Boleda, M. R., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2009). Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Research*, *43*, 1126–1136.
- Bones, J., Thomas, K. V., & Brett, P. (2007). Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *Journal of Environmental Monitoring*, *9*, 701–707.
- Castiglioni, S., Zuccato, E., Crisci, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., & Bagnati, R. (2006). Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, *78*, 8421–8429.
- Chiaia, A. C., Banta-Green, C., & Fink, G. (2008). Eliminating Solid Phase Extraction with Large-Volume Injection LC/MS/MS: Analysis of Illicit and Legal Drugs and Human Urine Indicators in US Wastewaters. *Environmental Science and Technology*, *42*, 8841–8848.
- Daughton, C.G. (2001). Illicit drugs in municipal sewage: proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological

- consequences. In C.G. Daughton & T. Jones-Lepp (Eds.), *Pharmaceuticals and personal care products in the environment. scientific and regulatory issues* (pp. 348–364). Washington, DC: American Chemical Society.
- Gheorghe, A., van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, P. G., Blust, R., et al. (2008). Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *391*, 1309–1319.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Martin, J., & Ventura, F. (2008). Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Science of the Total Environment*, *397*, 31–40.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2007). Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Analytical Chemistry*, *79*, 3821–3829.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., & Ventura, F. (2008). Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. *Environmental Science and Technology*, *42*, 6809–6816.
- Hummel, D., Loeffler, D., Fink, G., & Ternes, T. A. (2006). Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environmental Science and Technology*, *40*, 7321–7328.
- Jones-Lepp, T. L., Alvarez, D. A., Petty, J. D., & Huckins, J. N. (2004). Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *47*, 427–439.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2007). Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, *1161*, 132–145.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors, and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*, *42*, 3498–3518.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M. J., & Barcelo, D. (2008). Fully automated determination in the low nanogram per liter level of different classes of drugs of abuse in sewage water by on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, *80*, 3123–3134.
- United Nations Office of Drug and Crime (2007). World Drug Report 2007, from www.unodc.org/unodc/world_drug_report.html, 1.
- van Nuijs, A. L. N., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P. G., Bervoets, L., et al. (2008). Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environmental Pollution*, *157*, 123–129.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Chiabrando, C., Grassi, P., & Fanelli, R. (2008). Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Research*, *42*, 961–968.
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Bagnati, R., & Fanelli, R. (2008). Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental Health Perspectives*, *116*, 1027–1032.
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., et al. (2005). Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, *4*, 1–7.

3.1.2. Presència de les drogues d'abús en el medi aquàtic: Situació actual 2010-2015.

Des de l'any 2010 fins a l'actualitat, els estudis referents a la presència de drogues en el medi aquàtic, lluny de disminuir, han presentat un augment important tant en el nombre com en la diversitat de països estudiats. A la Taula 3.2 de l'apartat 3.1.1. es resumeixen els resultats obtinguts en els primers treballs publicats a la literatura sobre la presència de drogues d'abús en matrius aquoses, mentre que la Taula 3.1. es mostren les dades recents (des de l'any 2010) de presència de drogues d'abús estimuladores en aigües residuals i superficials. En aquesta taula es pot observar que, en els darrers anys, ha augmentat el nombre d'estudis a arreu del món i que un gran nombre de països s'han afegit al llistat en els que, des dels incipients treballs de 2004 (Jones-Lepp i cols., 2004) i 2005 (Zuccato i cols., 2005), s'estudia la presència de drogues il·legals en el medi aquàtic. Avui dia des d'Europa fins Austràlia, passant pel continent Americà o Asiàtic s'observa la presència de drogues d'abús en les aigües confirmant la seva ubiqüitat. A més, a la distribució global d'aquestes substàncies se li afegeix el fet que el nombre de drogues d'abús identificades en aigües cada cop és major, donada la introducció de noves substàncies psicoactives. Aquest és el cas, per exemple, de la droga estimulante 1-(2-metoxifenil)piperazina (oMeOPP) detectada durant un festival de música a Oslo (Reid i cols., 2014) o dels derivats de les catinones, com la metilendioxipirovlerona (MDPV), detectades en aigües residuals holandeses (van Nuijs i cols., 2014), fet que posa de manifest la importància de continuar realitzant estudis enfocats a la identificació i l'estudi de la presència de drogues d'abús en el medi.

En aquest context pot ser d'interès comentar més a fons el treball publicat per Thomas i cols. (Thomas i cols., 2012) que fa referència als estudis duts a terme en el marc de la xarxa europea SCORE creada l'any 2010 per tal d'estandarditzar i coordinar els estudis internacionals sobre drogues en aigües residuals i en el que es va estudiar el consum d'aquestes substàncies en 19 ciutats Europees, a partir de l'anàlisi de les seves aigües residuals. En aquest estudi els resultats s'expressen en forma de càrregues (mg/dia) respecte la població (habitants, hab.), calculades a partir de les concentracions obtingudes, per tal de normalitzar els valors i poder comparar els resultats obtinguts entre diferents països i zones mostrejades. Per la cocaïna els valors obtinguts, entre 2 i 1998 mg/dia·1000 hab., són especialment elevats a l'Europa central i occidental, amb

diferències significatives dins d'un mateix territori segons la densitat de població, de manera que les zones més poblades (urbanes), presenten valors més elevats de cocaïna que les de menor població (rurals). Pel que fa a l'èxtasi les càrregues més elevades s'obtenen a Holanda, Bèlgica i Gran Bretanya amb valors entre 38-615 mg/dia·1000 hab. En la mateixa línia de treball, un estudi posterior d'Ort i cols. (Ort i cols., 2014) va ampliar el nombre de ciutats europees estudiades a 42, i es van obtenir resultats similars als de l'anterior treball citat, confirmant diferències importants en el consum entre països i àrees d'influència, així com correlacions amb els informes oficials publicats (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2014). En aquest estudi, s'evidencia de nou un consum elevat d'èxtasi en els països de l'est i nord l'Europa, com la República Txeca, Gran Bretanya i Holanda. Les càrregues més elevades d'amfetamina i metamfetamina també presenten una distribució geogràfica similar a la de l'èxtasi mentre que per a la benzoilecgonina, que indica consum de cocaïna, els valors més elevats entre 2011-2103 s'obtenen a les ciutats d'Amsterdam, Eindhoven, Antwerp, Londres i Zurich (400-850 mg/dia·1000 hab.) destacant també els valors elevats obtinguts a la ciutat de Barcelona (200-550mg/dia·1000 hab.). Pel que fa al MDMA, destaquen especialment les càrregues màximes obtingudes a Holanda (7260 mg/dia·1000 hab.) i Bèlgica (147 mg/dia·1000 hab.) molt superiors a la mitjana europea i que segons els autors, suggereix la presència de tallers de producció clandestins d'aquesta substància. A la ciutat de Barcelona també es detecten valors màxims molt elevats (85 mg/dia·1000 hab.) molt superiors als de la mitjana europea de 19 mg/dia·1000 hab.

Taula 3.1. Drogues d'abús estimuladores detectades a la literatura en matrius d'ajgies residuals i superficials espanyoles, europees i de la resta del món des de l'any 2010.

Compost	Entrada EDAR			Sortida EDAR			Superficial			Referències
	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)		
COC	2-2486									(Pedrouzo i cols., 2011)
Espanya	39-472		43-61			43				(Gonzalez-Mariño i cols., 2010)
Espanya								2.25		(Vazquez-Roig i cols., 2012)
Espanya	8-14									(Boix i cols., 2015)
Espanya	195-961	384	1.9-31-1	16.8		0.4-59.2		1.4		(Postigo i cols., 2010)
Espanya	163-500		1-103							(Gilart i cols., 2014)
Espanya	40-820	474	12-496	171		5-87		44		(Martinez Bueno i cols., 2011)
Espanya								17.9		(Mendoza i cols., 2014a)
Croàcia	30-114	52	8-70	25						(Terzic i cols., 2010)
Austràlia	176-531 ^a									(Lai i cols., 2011)
Alemanya	135-904	363	1-11	3		1-3		2		(Van der Aa i cols., 2013)
Anglaterra	57-526		<1-149					<0.3-6		(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
França	21-1532		5-305							(Nefau i cols., 2013)
Rep Txeca	53-155									(Kasprzyk-Hordern i Baker, 2012)
Suècia	0.1-2 ^a									(Ostman i cols., 2014)
Xipre	8	3	1							(Hapeshi i cols., 2015)
Brasil								677-5896		(Thomas i cols., 2014)
Canadà	177	122	324	204						(Yargeau i cols., 2014)
Canadà	8-19		18					5-8		(Rodayan i cols., 2015)
NorCOC	Alemanya	10-39	17	4						(Van der Aa i cols., 2013)
	Anglaterra	1		<0.2				0.1		(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
	Itàlia	0.9-3.5								(Castiglioni i cols., 2011)

Compost	Entrada EDAR			Sortida EDAR			Superficial			Referències
	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	
BE	1-3336									(Pedrouzou i cols., 2011)
Espanya	571-2153		104-689					316		(Gonzalez-Mariño i cols., 2010)
Espanya									1.92	(Vazquez-Roig i cols., 2012)
Espanya	6-31									(Boix i cols., 2015)
Espanya								1.83-40.6	29.2	(Valcarcel i cols., 2012)
Espanya	545-3790	1310	4.1-510	114.6		1.4-346			11.4	(Postigo i cols., 2010)
Espanya	334-1294		135-4003							(Gilart i cols., 2014)
Espanya	851-404	2541	487-2221	1010		10-530		10-530	142	(Martinez Bueno i cols., 2011)
Espanya						10.3-294			119	(Mendoza i cols., 2014a)
Alemanya	570-2907	1463	7-84	20		1-16			3	(Van der Aa i cols., 2013)
Anglaterra	196-1544		13-1597			<1-92				(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013) (Terzic i cols., 2010)
Croàcia	89-325	178	47-174	79						(Yargeau i cols., 2014)
Canadà	60-306		76-101							(Metcalfe i cols., 2010)
Canadà	287-2623	612-893	62-775	90-453						(Terzic i cols., 2010)
Croàcia	89-325	186	10-351							(Vuori i cols., 2014)
Finlàndia	0.04-13.2 ^a									(Nefau i cols., 2013)
França	10-3050		5-910							(Bijlsma i cols., 2012)
Holanda	260-.3701		10-351							(Castiglioni i cols., 2011)
Itàlia	1-337	149								(Repice i cols., 2013)
Itàlia	130-715	486	36-58	44						(Reid i cols., 2011)
Noruega	0.04-13.2 ^a	2.8 ^a								(Lopes i cols., 2014)
Portugal	203-563									(Kasprzyk-Hordern i Baker, 2012) (Ostman i cols., 2014)
Rep Txeca	116-309									(Hapeshi i cols., 2015)
Suècia	3-20 ^a									(Irvine i cols., 2011)
Xipre	13-53	37	1-7	3						(Lai i cols., 2011)
Austràlia	11.5-390 ^a									(Thomas i cols., 2014)
Austràlia	109-450 ^a							366-3582		(Rodayan i cols., 2015)
Brasil										
Canadà	12-15		18							

Compost	Entrada EDAR		Sortida EDAR		Superficial		Referències
	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	
Nor-BE	Espanya	18-60	38	3-5	4	1.86-9.44	7.39 (Valcarcel i cols., 2012)
	Alemanya	6-54	3.6-7			0.3-2	(Van der Aa i cols., 2013)
	Anglaterra						(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
	Itàlia	51					(Castiglioni i cols., 2011)
	Xipre	4	2	3	2		(Hapeshi i cols., 2015)
COCET	Espanya	7					(Boix i cols., 2015)
	Espanya	5.8-49.8	18.1	0.2-2-7	1.5	0.1-6.8	0.3 (Postigo i cols., 2010)
	Alemanya	8-62	19				(Van der Aa i cols., 2013)
	França	10-167					(Nefau i cols., 2013)
	Itàlia	0.4-5-1					(Castiglioni i cols., 2011)
AMP	Espanya	3.3-664	148	0.9-57.6	25.7	1.6-12.1	6.8 (Postigo i cols., 2010)
	Espanya	212-1021	496	215-325	225	309	(Martinez Bueno i cols., 2011)
	Alemanya	107-581	310	15			(Van der Aa i cols., 2013)
	Anglaterra	77-5236		2-201		<1-9	(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
	Croàcia	<2.6-31 ^a	7.3	<0.9-94	1		(Terzic i cols., 2010)
	Finlàndia	2.1-37.8 ^a					(Vuori i cols., 2014)
	Suècia	10-140 ^a					(Ostman i cols., 2014)
	Austràlia	161-312 ^a					(Lai i cols., 2011)
	Canadà		7,56		1,20		(Yargeau i cols., 2014)
	Canadà	3-10		9			(Rodayan i cols., 2015)
	China	1.2-184		1.3-3.3	59		(Thai i cols., 2014)

Compost	Entrada EDAR			Sortida EDAR			Superficial			Referències
	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _{int} /max (ng/L)	C _m (ng/L)		
MDMA	Espanya					0.63-2.51	2.07	(Valcarcel i cols., 2012)		
	Espanya						0.62	(Vazquez-Roig i cols., 2012)		
	Espanya	7						(Boix i cols., 2015)		
	Espanya	3.5-180	20.4	3.3-120	12.7	0.2-11.8	1.0	(Postigo i cols., 2010)		
	Espanya					7.8-17.9	10.22	(Mendoza i cols., 2014a)		
	Alemanya	42-207	102	17-537	56	2		(Van der Aa i cols., 2013)		
	Anglaterra	10-231		13-38		0.5-8-7		(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c)		
	Croàcia	<2.2-33	3.4	<0.3-8.4	2			(Terzic i cols., 2010)		
	Finlàndia	0.05-53.3 ^a						(Vuori i cols., 2014)		
	França	49-756		20-352				(Nefau i cols., 2013)		
	Rep Txeca	14-102						(Kasprzyk-Hordern i Baker, 2012)		
	Xipre	112	19					(Hapeshi i cols., 2015)		
	Austràlia	3.4-39.3 ^a						(Irvine i cols., 2011)		
	Austràlia	76.6-297 ^a						(Lai i cols., 2011)		
	Canadà	65-88			67			(Yargeau i cols., 2014)		
MDEA	Anglaterra	<0.3-1.4		<0.5		<0.1		(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c)		
MDA	Espanya	266		22				(Martinez Bueno i cols., 2011)		
	Alemanya							(Van der Aa i cols., 2013)		
	Anglaterra	10-18		11-15		<0.1-1.7		(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c)		
	Canadà	8-12		20		6-20		(Rodayan i cols., 2015)		

Compost	Entrada EDAR		Sortida EDAR		Superficial		Referències
	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	
METH	Espanya				3.22		(Valcarcel i cols., 2012)
	Espanya	0.8-8.4	4.6	0.5-7.6	1.3	0.3-0.7	0.4 (Postigo i cols., 2010)
	Espanya	475-700	614				(Martinez Bueno i cols., 2011)
	Espanya					14-10.3	4 (Mendoza i cols., 2014a)
	Alemanya	24-278	151	13-62	33		(Van der Aa i cols., 2013)
	Anglaterra	2-40		0.8-1		<0.1-0.3	(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
	Finlàndia	0.59-54.9 ^a					(Vuori i cols., 2014)
	França	51					(Nefau i cols., 2013)
	Rep Txeca	393-823					(Kasprzyk-Hordern i Baker, 2012)
	Suècia	1-32 ^B					(Ostman i cols., 2014)
	Austràlia	2.4-85					(Irvine i cols., 2011)
	Austràlia	146-298 ^a					(Lai i cols., 2011)
	Canadà		2,13			3,18	(Yargeau i cols., 2014)
	Xina	15.3-457		0.8-20.6	97		(Thai i cols., 2014)
	Alemanya				8		(Van der Aa i cols., 2013)
Ketamina	Espanya					21.33	(Vazquez-Roig i cols., 2012)
	Alemanya			2-28	10		(Van der Aa i cols., 2013)
	Xipre	4	2				(Hapeshi i cols., 2015)
CAFE	Espanya	18305-96154	58300	1207-53200	17302	475-515	493 (Martinez Bueno i cols., 2011)
	Anglaterra	9902-25138		1744-2048		163-743	(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013)
	Itàlia	17600-67600					(Senta i cols., 2015)
	Xipre	21-15834	13964	293-5815	1859		(Hapeshi i cols., 2015)

Compost	Entrada EDAR		Sortida EDAR		Superficial		Referències
	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	C _{int/max} (ng/L)	C _m (ng/L)	
PARA	Espanya Itàlia	18272-89712 17500-77300	50381	15714-43200	19310	100-130	110 (Martínez Bueno i cols., 2011) (Senta i cols., 2015)
	Xipre			Nd-701	202		(Hapeshi i cols., 2015)
NICO	Espanya	2-1105					(Pedrouzo i cols., 2011)
	Espanya	7683-23325	15416	295-17385	4510	175-215	193 (Martínez Bueno i cols., 2011)
	Anglaterra	3919-9684		52		12-86	(Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011c)
	Itàlia	1360-6870					(Senta i cols., 2015)
	Xipre	161476-443000	296987	575-5011	2380		(Hapeshi i cols., 2015)
COTI	Espanya	4279-27724	12480	375-9530	4933	22-45	29 (Martínez Bueno i cols., 2011)
	Itàlia	630-3120					(Senta i cols., 2015)
	Portugal	1129-3504					(Lopes i cols., 2014)

COC: cocaïna; BE: benzoil·legonina; AMP: amfetamina; METH: metamfetamina; NICO: nicotina; COTI: cotina; CAFE: cafeïna; PARA: paraxantina. C_{int}/max: interval de concentracions o concentració màxima. a: expressat com a mg/dia·1000 hab.

Pel que fa a les eliminacions en les estacions depuradores d'aigües residuals (EDARs) els estudis publicats des de 2010 (Taula 3.1.) confirmen que les drogues d'abús continuen arribant a les aigües superficials inalterades o lleugerament transformades en forma dels seus metabòlits principals després, de superar els tractaments a les EDARs (Gonzalez-Mariño i cols., 2010, Terzic i cols., 2010, Valcarcel i cols., 2012, Bijlsma i cols., 2012, Gilart i cols., 2014). En general, per a l'amfetamina, la cocaïna i la benzoïlecgonina s'obtenen percentatges d'eliminació superiors al 75% (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2013, Repice i cols., 2013, Bijlsma i cols., 2014). Tot i així, per a la benzoïlecgonina alguns autors recullen percentatges d'eliminació molt variables en funció de múltiples paràmetres com poden ser els dies de la setmana o possibles transformacions durant el procés. Per exemple, Bijlsma i cols descriuen variacions en les eficiències del tractament del 95% al 35% en funció dels dies de la setmana com a conseqüència de les diferents concentracions detectades (Bijlsma i cols., 2009) mentre que altres autors observen increments en les concentracions de la benzoïlecgonina a la sortida de la planta, i per tant percentatges d'eliminació negatius, relacionats amb la conversió d'altres metabòlits en la substància original (Gilart i cols., 2014).

En general els tractaments convencionals secundaris emprats a les EDARS consisteixen habitualment en fangs activats o filtres de sorra i no estan dissenyats per eliminar aquest tipus de compostos, i per tant són, en gran mesura, descarregats en els seus receptors (rius, llacs o mar). L'ús de processos d'oxidació avançats en tractaments terciaris, com poden ser l'ozonització o l'osmosi, pot permetre millorar l'eliminació de les substàncies psicoactives, tot i que els costos elevats d'instal·lació i manteniment d'aquests tractaments fan que la majoria d'EDARs no en disposin i, per tant, que les eliminacions de les substàncies estudiades no siguin completes (Petrie i cols., 2015).

Cal tenir en compte a més, que les eliminacions varien en funció de múltiples i diferents paràmetres (Terzic i cols., 2010), com són la temperatura (estació de l'any) o el tipus d'aigua residual, fonamentalment en funció de la carrega orgànica, considerant un estat òptim d'operació de l'estació. Per exemple, Terzic i cols. observen eficiències d'eliminació més baixes per a la morfina, cocaïna i la benzoïlecgonina a l'inici de la primavera (74%, 35% i 41%, respectivament) que durant l'estiu (84%, 61% i 63%), suggerint un efecte directe de la temperatura sobre els processos de biotransformació d'alguns compostos.

Pel que fa referència a la presència de drogues d'abús en les aigües superficials, des de l'any 2010, s'han publicat treballs (Taula 3.1.) referents a aigües de diferents països com Alemanya (Van der Aa i cols., 2013), Estats units (Jones-Lepp i cols., 2012) i Brasil (Feitosa i cols., 2013), a més d'un relativament elevat nombre de publicacions centrades en l'estudi de drogues d'abús a Espanya. A la Figura 3.1., es pot observar la distribució de les concentracions màximes de drogues d'abús en rius de diferents zones d'Espanya com a la conca del riu Ebre a Catalunya (Postigo i cols., 2010, Pedrouzo i cols., 2011), a Castella-La Manxa el riu Tajo (Valcarcel i cols., 2012), a Galícia els rius Sar, Dos Pasos i Lengüella (Gonzalez-Mariño i cols., 2010), a Madrid els rius Manzanares i Jarama (Mendoza i cols., 2014a) i el riu Henares (Martinez Bueno i cols., 2011) i a València en rius que recorren Parcs Naturals (Vazquez-Roig i cols., 2012, Aguilar i cols., 2014). En aquesta figura es pot observar que, tot i que la cocaïna i la benzoilecgonina són les substàncies identificades a concentracions més elevades, existeixen diferències significatives entre les proporcions de les substàncies identificades. Per exemple, mentre que al riu Henares (Martinez Bueno i cols., 2011) es detecten proporcionalment elevades concentracions de metamfetamina a un Parc Natural de Valencia (Aguilar i cols., 2014) es detecten proporcions elevades de MDMA així com relacions COC:BE superiors a les habituals.

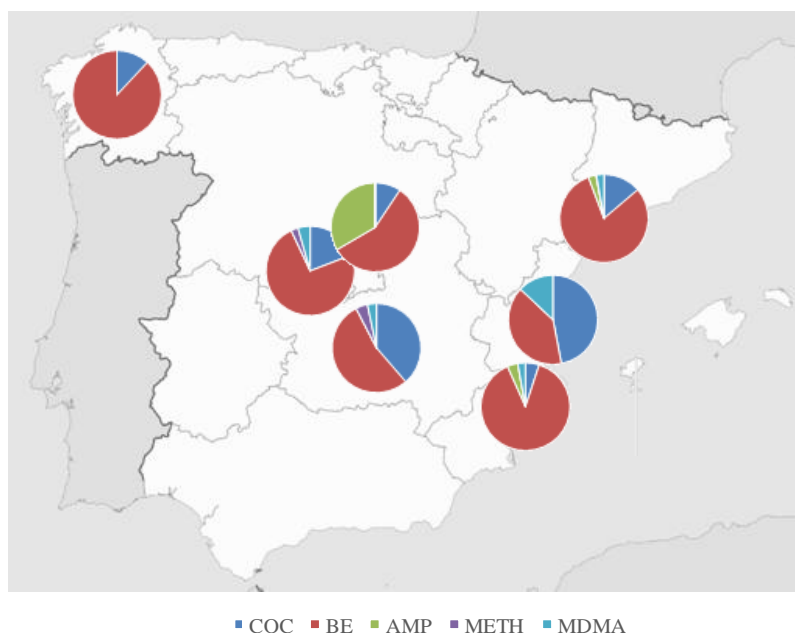


Figura 3.1. Distribució de concentracions. Cocaïna (COC), benzoilecgonina (BE), amfetamina (AMP), Metamfetamina (METH) i MDMA identificades en diferents rius espanyols segons dades de la Taula 3.1.

Per últim, cal destacar que el gruix dels treballs publicats durant els darrers cinc anys es centra fonamentalment en un camp complementari al de l'anàlisi. Així, mentre que durant la primera meitat de la dècada d'estudi de la presència de drogues en el medi aquàtic, els esforços es van centrar en identificar la seva presència, establir mètodes d'anàlisi robustos per a la seva quantificació i establir nivells de concentració, variacions estacionals o geogràfiques i eliminacions, en els darrers cinc anys els esforços s'han centrat fonamentalment en avaluar les fonts d'incertesa, establir mètodes normalitzats des de la presa de mostra fins a la seva determinació i emprar els resultats obtinguts com a biomarcadors d'aigües residuals (Castiglioni i cols., 2014). Aquest últim enfocament de l'estudi de la presència de les drogues d'abús en el medi ambient s'està postulant com una eina complementària a les usades convencionalment per avaluar el consum i prevalença d'aquestes substàncies en la societat.

3.1.3. Drogues d'abús com a biomarcadors en aigües residuals.

La premissa que tota substància ingerida és excretada, en forma inalterada o com a metabòlit, obre les portes als estudis epidemiològics basats en les aigües residuals a partir del que s'anomenen biomarcadors residuals (apartat 3.1.1).

Els estudis de la presència de biomarcadors en aigües residuals permeten, a partir de les concentracions mesurades d'una droga determinada, no tan sols posar de manifest el consum d'aquesta substància per part de la població servida per una estació depuradora d'aigües residuals (EDAR) determinada, sinó també arribar a quantificar-ne el seu consum. Aquests càlculs, basats en dades obtingudes experimentalment, constitueixen una important eina que complementa les recollides en els informes sociològics que avaluen el consum d'aquestes substàncies. En general, aquests informes (nacionals o internacionals) realitzen una estimació del consum de drogues d'abús i de les seves prevalences basant-se en mètodes socio-epidemiològics que inclouen enquestes realitzades entre la població, dades criminals, informes mèdics i aproximacions estadístiques. Per exemple, els percentatges publicats en l'últim *World Drug Report* recullen els resultats inclosos en els *Annual Reports Questionnaires (ARQ)* que els Governos retornen a la *United Nations Office on Drug and Crime* (UNODC) cada any (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2014). Aquests qüestionaris es basen en informes dels Estats i consideren també el nombre

de sol·licituds de tractament, arrestos, producció i confiscació de drogues declarades per cada Govern. En línies generals aquests informes donen informació sobre la distribució, tendències i evolucions en el consum de les drogues però degut a que estan sotmesos, en molts casos, a respostes o fets subjectius poden incloure elevats marges d'error. En canvi, els estudis epidemiològics de presència de biomarcadors de drogues en aigües residuals que s'han realitzat recentment per tal d'estimar el consum de drogues en determinades ciutats d'arreu del món (Castiglioni i cols., 2006, Banta-Green i cols., 2009, Karolak i cols., 2010, Metcalfe i cols., 2010, Berset i cols., 2010a, Irvine i cols., 2011, Reid i cols., 2011, van Nuijs i cols., 2011b, Thomas i cols., 2012, Ort i cols., 2014) permeten realitzar una aproximació experimental del consum real. Els resultats obtinguts a partir d'aquestes noves aproximacions han mostrat bones correlacions amb els estudis epidemiològics nacionals demostrant per tant, el seu potencial. A més, permeten detectar petites variacions temporals i estacionals en l'ús d'aquestes substàncies a petita escala (Bijlsma i cols., 2009, Gerrity i cols., 2011, Zuccato i cols., 2011, Reid i cols., 2011) així com realitzar estimacions dels consums en una escala de temps quasi bé real d'una forma objectiva, ràpida i més econòmica (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2014).

Per realitzar els càlculs amb els biomarcadors residuals i extrapolar les concentracions mesurades a percentatges de consum, cal tenir en compte diferents paràmetres com són la concentració de la substància mesurada en les aigües residuals, el percentatge excretat de la droga en la forma corresponent al residu en estudi i el cabal de la EDAR mostrejada així com la població servida per aquesta instal·lació.

En concret, els valors de concentració es multipliquen pels cabals d'entrada, obtenint carregues diàries (p.e.: g/dia), que es divideixen entre la població servida (per exemple, g/dia·1000 hab.). A continuació s'aplica el factor de correcció (resumit a l'apartat 3.1.1) que inclou els percentatges d'excreció, relacions molars dels metabòlits en cas de ser usats per al càlcul i d'altres factors que puguin afectar els càlculs.

$$Consum = \frac{Ci * F}{P} * \frac{Ri}{Ei}$$

On: Ci es la concentració obtinguda a partir de l'anàlisi d'aigües residuals; F és el cabal d'entrada mostrejat; P la població servida normalitzada i el quocient Ri entre Ei , anomenat factor de correcció, calculat a partir de la relació molar i la proporció d'excreció.

Aquesta equació és l'emprada en els primers treballs publicats, per extrapolar el consum d'algunes de les drogues il·lícites a partir de les seves concentracions ambientals (Zuccato i cols., 2005, Bones i cols., 2007a, van Nuijs i cols., 2008) (apartat 3.1.1.). Tot i així, des de 2010, la tendència en l'estudi de drogues d'abús en el medi ambient ha centrat els seus esforços en refinar aquests càlculs i avaluar les possibles fonts d'incertesa associades al propi mètode i càlcul de consum. Així, diferents autors han avaluat cada una de les variables incloses en l'anterior equació per tal d'establir les possibles fonts d'incerteses i minimitzar-les, tot intentant realitzar unes aproximacions més acurades del consum real a partir de les dades experimentals (Lai i cols., 2011, Castiglioni i cols., 2013). Les incerteses afecten a cada un dels paràmetres de la fórmula de càlcul i abracen moltes variables, algunes relatives al procés de mostreig i d'anàlisi que poden ser solucionades establint criteris uniformes de mesura i criteris de qualitat més estrictes per tal de validar i re-avaluar els mètodes emprats, d'altres relatives a l'estabilitat de les substàncies en les diferents matrius estudiades i encara unes altres referents als paràmetres usats en el càlcul com poden ser la població o bé els factors de correcció emprats en funció del tipus de consum considerat per a cada tipus de substància (Castiglioni i cols., 2013). A continuació es comenten els diferents paràmetres que poden influir en les dades obtingudes a partir d'usar els biomarcadors d'aigües residuals pel que fa referència a les incerteses associades i com minimitzar-les, d'acord amb el que s'ha publicat recentment a la literatura.

En primer lloc cal considerar el procés de mostreig que ha de permetre obtenir mostres representatives, sense que aquestes estiguin subjectes a variacions relacionades amb l'activitat humana, climatològica o de funcionament de les instal·lacions en estudi. Ort et al (Ort i cols., 2010) proposen emprar sistemes de mostreig en continu proporcionals al cabal, enlloc dels sistemes proporcionals al temps o de mostres puntuals, per obtenir mostres compostes que minimitzin la sobre- o infra-estimació deguda a possibles variacions en el funcionament de l'estació mostrejada, ja que el cabal tractat pot variar durant un mateix dia, setmana o entre estacions. Generalment, el cabal residual que arriba a una estació augmenta durant el dia, quan la població està desperta i disminueix durant la nit. Pel que fa a les variacions setmanals, les oscil·lacions es troben sobretot entre els dies laborables i els caps de setmana o festes concretes que modifiquen els comportaments habituals de la població i la seva activitat, mentre que les variacions estacionals, poden ser degudes a fenòmens meteorològics com sequeres o episodis de pluges intenses. Per

altra banda, el mostreig en continu proporcional al temps, àmpliament utilitzat, no té en compte les variacions abans mencionades i per tant tan sols es recomanable en estacions en les quals només s'observin petites modificacions de cabal (Castiglioni i cols., 2013). Per altra banda, les mostres puntuals proporcionen una informació molt limitada i poc adequada per a realitzar estudis epidemiològics a partir d'aigües residuals. Els resultats obtinguts a partir de mostres recollides emprant aquest procediment de mostreig permeten determinar la presència de les substàncies analitzades i la seva persistència, eliminació o transformació mitjançant els tractaments aplicats però resulten poc adequats per a realitzar aproximacions sotmeses a variacions que poden arribar a ser diàries.

En relació als mètodes d'anàlisi, Castiglioni i cols. (Castiglioni i cols., 2013), proposen mesures per tal de minimitzar les desviacions associades a les quantificacions dels mètodes de LC-MS/MS. En concret, suggereixen l'ús de patrons interns i, quan sigui possible, aplicar criteris de confirmació com són els de les guies de la *European Decision* 2002/657/EC (European Commission Decision, 2002) o bé la participació en exercicis d'intercomparació per tal d'avaluar la competència tècnica del mètode i del laboratori.

L'estabilitat dels biomarcadors representa una altra font d'incerteses que cal considerar en el moment de realitzar extrapolacions sobre el consum a partir dels valors de les concentracions en les mostres analitzades. A la possible biotransformació que pot patir una substància una vegada excretada, degut a les característiques del propi medi (pH, temperatura, matèria orgànica), se li sumen d'altres factors com són l'adsorció sobre la matèria particulada. Cadascun d'aquests factors tenen una major o menor incidència en funció de la substància i la seva estructura química, que la fa més o menys susceptible a patir transformacions. En el cas dels compostos estudiats en aquesta tesi, la família dels cocaínics resulta ser la menys estable en aigües residuals. Estudis realitzats en aquestes matrius a diferents temperatures i condicions de pH (Gheorghe i cols., 2008, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b, van Nuijs i cols., 2012, Plósz i cols., 2013, Castiglioni i cols., 2013) han demostrat que tant la cocaïna com el seu metabòlit, ecgonina metil ester, pateixen disminucions importants en els seves concentracions amb el temps (després de 12 hores reduccions del 40% i 20%, respectivament), mentre que per a la benzoilecgonina, es produeixen petits increments (0.2% per hora) probablement degut a la hidròlisi parcial del compost precursor, descrita en matrius biològiques com sang i orina (Johansen i Jensen, 2005). Pel que fa als compostos de tipus amfetamínic, diferents

autors indiquen que són estables a diferents condicions de pH i temperatura (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b, van Nuijs i cols., 2012, Castiglioni i cols., 2013). Per exemple per al MDMA s'obtenen percentatges de transformació que van del 0% al 3%.

Les dades de població, necessàries per a realitzar una estimació del consum per càpita, és un altre factor que pot provocar importants desviacions en funció de les fonts o mètodes usats per estimar-la (Ort i cols., 2010, Castiglioni i cols., 2013). Existeixen diferents fonts que es poden usar per a obtenir un nombre de població com poden ser paràmetres químics de l'aigua tractada o, capacitat de les plantes en estudi a més de censos de població. Totes aquestes fonts poden estar subjectes a importants variacions, per exemple la demanda bioquímica d'oxigen pot estar sotmesa a importants variacions si la matriu d'aigua residual en estudi prové de diferents orígens; domèstics i/o industrials. Per altra banda, l'ús de dades censals presenta importants variacions subjectes a l'actualització de les mateixes i al fet de considerar únicament la població resident. Una estratègia per tal de minimitzar aquestes importants variacions, suggerida per diferents autors (Lai i cols., 2011, Daughton, 2012, Castiglioni i cols., 2014) consisteix en utilitzar un biomarcador conegut com pot ser un fàrmac que reuneixi una sèrie de condicions prèvies com per exemple, ús ampli i habitual, dades de consum perfectament conegudes, detectat habitualment a elevades concentracions en aigües residuals i poca o negligible biodegradació.

Per últim, per poder aplicar l'extrapolació de les dades de concentració de drogues d'abús detectades en aigües residuals al seu consum, cal aplicar un factor de correcció, calculat com el quocient entre el percentatge d'excreció i la relació molar. L'estimació del percentatge d'excreció representa una de les fonts de desviació més importants en el càlcul ja que actualment per a moltes de les drogues il·lícites estudiades no existeixen estudis farmacocinètics i per tant, no es poden realitzar aquests càlculs. A més, un problema addicional, en el cas de disposar dels percentatges d'excreció, és que aquests es poden veure sotmesos a importants variacions en funció del tipus de consum (inhalat, ingerit, injectat, etc.) i de la quantitat de dosi administrada (Castiglioni i cols., 2013). Aquestes dades es troben resumides a la Taula 1.5 de Capítol 1.

3.2. TREBALL EXPERIMENTAL

En aquesta tesi, la presència de drogues d'abús en aigües residuals a Catalunya s'ha determinat a partir de l'estudi de 42 EDARs distribuïdes per gran part de la geografia catalana. Aquestes instal·lacions presenten característiques molt diverses tant pel que fa al volum d'aigua tractada (60-40,000 m³/dia), població servida (200-30,0000 hab.), tipus de tractament (biològic, llacunes), origen de l'aigua residual (urbà, industrial o mixt) o conca receptora (Segre, Besòs i Llobregat). L'estudi s'ha realitzat en influents de cada una de les estacions seleccionades per tal de determinar la presència d'aquestes substàncies provinents del consum i/o abocament directe i en efluents, per tal d'avaluar la seva resistència al tractament i abocament posterior a les aigües superficials receptores. Pel que fa al càlcul d'eliminacions de les drogues d'abús en els tractaments, es van seleccionar 8 estacions representatives per a les quals durant 3 mesos es van analitzar influents i efluents, tenint en compte els temps de retenció hidràulics de cada una d'elles. Els resultats obtinguts van permetre avaluar aquelles substàncies més recalcitrants al tractament així com l'eficiència dels tractaments usats en cada una de les EDARs seleccionades. Finalment, es va seleccionar una EDAR per a realitzar un estudi sobre variacions setmanals analitzant mostres integrades durant 7 dies consecutius. Aquest treball va ser el primer publicat sobre la presència de drogues d'abús en aigües residuals a Espanya i el primer en usar els resultats obtinguts en aigües residuals per a estimar variacions diàries en el consum. Tots aquests estudis es recullen en l'Article Científic III intitulat "*Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain*" inclòs a l'apartat 3.2.1.

Posteriorment, es va realitzar un estudi per tal d'avaluar la presència de drogues d'abús en aigües superficials i potables. La primera part d'aquest treball es va centrar en les aigües superficials de la conca del riu Llobregat i es van estudiar les variacions detectades des del seu inici fins a la desembocadura, amb l'objectiu d'avaluar les fluctuacions relacionades amb descarregues de les EDARs i de les poblacions que aboquen al riu. Per altra banda, es va seleccionar un punt de recollida d'aigua superficial, el corresponent a la captació per a la producció d'aigua potable, per realitzar un estudi de variacions setmanals (7 dies, 3 campanyes) i estacionals (1 any). La segona part d'aquest treball centrada en l'estudi de la presència i eliminació de les drogues d'abús al llarg del tractament de potabilització i la seva presència en les aigües tractades serà discutida en el capítol 4 d'aquesta memòria dedicat a aigües potables i subproductes de desinfecció. Aquest treball va ser el primer en estudiar variacions estacionals i en períodes de vacances, així com en estudiar aquests substàncies en aigües potables. El treball corresponent a aquests estudis es troba recollit en l'article IV (apartat 3.2.2) intitulat: "*Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant*".

3.1.2. ARTICLE CIENTÍFIC III

Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Martín-Alonso, J.; Ventura, F
Science of the Total Environment 397,1 (2008), 31-40.

available at www.sciencedirect.comwww.elsevier.com/locate/scitotenv

Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain

Maria Huerta-Fontela^{a,b}, Maria Teresa Galceran^b,
Jordi Martin-Alonso^a, Francesc Ventura^{a,*}

^aAGBAR-Aigües de Barcelona, Avinguda Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain

^bDepartment of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Avinguda Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 November 2007

Received in revised form

12 February 2008

Accepted 29 February 2008

Available online 22 April 2008

Keywords:

Illicit drugs

Wastewater samples

Ultra-performance liquid chromatography

Mass spectrometry

ABSTRACT

The occurrence of several psychoactive drugs in water resources from north-eastern Spain (NE-Spain) has been evaluated. The drugs were analyzed using ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS) after enrichment by solid-phase extraction (SPE). Most of the studied controlled drugs (8 out of 11) were found in both influent and effluent samples from several wastewater treatment plants. Cocaine and its metabolite were detected in wastewaters at concentrations ranging from 4 ng/L to 4.7 µg/L and from 9 ng/L to 7.5 µg/L respectively while concentrations of amphetamine type stimulatory drugs ranged from 2 to 688 ng/L.

Removal percentages were estimated by sampling eight WWTPs ($n=4$). Cocaine and benzoylecgonine removal percentages were higher than 88% while those of amphetamine type stimulants varied ranging from 40% to more than 99%. Daily variability was also evaluated by performing a sequential survey, which revealed important fluctuations in the concentrations of nicotine, paraxanthine, amphetamine and ecstasy during the week.

From the total concentrations found in wastewater influents estimations of the cocaine and ecstasy consumption were performed. For cocaine the results were approximately 14 doses per 1000 inhabitants (15–64 years old) per day and for ecstasy, approximately 4 doses per 1000 young adults (15–34 years old) per day for ecstasy.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In recent years, the incidence of human-use compounds in aquatic environments has been recognized as an important issue in environmental chemistry. Some of these compounds enter the aquatic environment, mostly via the effluents of municipal sewage treatment plants, unaltered or as slightly transformed metabolites. These illicit drugs, the consumption of which is a major social problem, are emerging as a new group of contaminants.

Around 200 million people in the world are estimated to have consumed illicit drugs at least once during the last year. Cocaine

and amphetamine type stimulants (ATS), which are used by over 1% of the world's population, are two of the most consumed illicit drugs (United Nations Office of Drug and Crime, 2007). According to the last World Drug Report from the United Nations Office of Drugs and Crime (UNODC), in 2005 the annual prevalence levels of cocaine in Spain exceeded those of the USA and cocaine use among the adult population (15–64 years) was four times higher than the European average. From 1999 to 2005, cocaine use virtually doubled among Spanish adults increasing from 1.6 to 3%. Other controlled stimulants such as MDMA (ecstasy) or amphetamine (speed) are estimated to be used by over 2.2% of the Spanish population (European Monitoring

* Corresponding author. Tel.: +34 93 342 27 15; fax: +34 93 342 26 66.

E-mail address: fventura@agbar.es (F. Ventura).

Center for Drugs and Drug Addiction and Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006; United Nations Office of Drug and Crime, 2007).

These drugs can reach wastewater treatment plants (WWTPs) either unaltered or in their main metabolite form. Depending on the removal efficiencies, they can persist through wastewater treatment and be detected in receiving waters. The potential effects of such compounds on the aquatic ecosystem are still unknown, however, their potent psychoactivity cannot be neglected. Few papers have been published on the occurrence or elimination of these compounds in aquifers. Jones-Lepp et al. (2004) reported methamphetamine (0.8 ng/L) and MDMA (0.5 ng/L) in effluent samples from three WWTPs in the USA and estimated an annual release of 0.02 kg of ecstasy into receiving waters from one of these WWTPs. Their research involved the use of a passive sampling device (POCIs) used for preconcentration, and micro-liquid chromatography–electrospray/ion trap mass spectrometry for identification. Castiglioni and Zuccato et al. (Zuccato et al., 2005; Castiglioni et al., 2006) studied the occurrence of several illicit drugs, firstly in two Italian WWTPs and also in surface water. They used solid-phase extraction (SPE) and LC–MS/MS analysis. Cocaine and its metabolite, benzoylecgonine, were found in the River Po at concentrations of 1.2 and 2.5 ng/L, respectively. Amphetamine type stimulants (ATS) were also found in two WWTPs: over 14 ng/L of MDMA was found in influent samples and 4 to 5 ng/L in effluent samples. Hummel et al. (2006) quantified the occurrence of benzoylecgonine in three German rivers. After an enrichment step by SPE with a hydrophilic–lipophilic sorbent, LC–MS/MS analysis was performed and they found maximum concentrations of 3 ng/L. Bones et al. (2007) found cocaine and benzoylecgonine in three wastewater effluent samples from the UK with maximum concentrations of 31 ng/L and 138 ng/L respectively. In Spain, the occurrence of these drugs (Huerta-Fontela et al., 2007; Boleda et al., 2007) was preliminarily estimated by optimizing a UPLC–MS/MS method. Mean concentrations of 79 ng/L and

6 ng/L of cocaine were found in wastewaters and surface waters, respectively.

To assess the presence of the most representative controlled psychoactive drugs in influents and effluents in NE-Spain, an extensive sampling survey was performed. This paper reports on the occurrence of the most representative controlled psychoactive drugs of abuse such as cocaine, ATS, ketamine, phencyclidine (PCP), lysergic acid (LSD) and fentanyl in wastewaters. Stimulatory non-controlled drugs such as nicotine and caffeine were also included in this study due to their large and extended consumption. The occurrence of these drugs was initially evaluated in 42 WWTPs and then 8 of them were selected for a preliminary study on elimination patterns. An accurate study was performed in one WWTP and daily variations were also established.

2. Experimental

2.1. Chemicals

The reference compounds nicotine, cotinine, caffeine, paraxanthine, 1-phenylpropan-2-amine (amphetamine), N-methyl-1-phenylpropan-2-amine (methamphetamine or METH), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA), 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDEA), cocaine, benzoylecgonine, lysergic acid diethylamide (LSD), ketamine, phencyclidine (PCP) and fentanyl were obtained from Cerilliant (Austin, Texas, USA). Deuterated standards nicotine-*d*₄, cotinine-*d*₃, amphetamine-*d*₈, methamphetamine-*d*₉, MDA-*d*₅, MDMA-*d*₅, MDEA-*d*₅, cocaine-*d*₃, benzoylecgonine-*d*₈, LSD-*d*₃, ketamine-*d*₄, PCP-*d*₅ and fentanyl-*d*₅ were also purchased from Cerilliant (Austin, TX, USA) and ¹³C₃-caffeine standard was obtained from Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA). Some features of the selected compounds and the abbreviations used are displayed in Table 1.

Table 1 – Compounds, origin, classification, nominal mass and CAS number of the selected psychoactive drugs

Compound	Generic name	Abbreviation	Origin	Classification ^a	Nominal mass	CAS number
1-phenylpropan-2-amine	Amphetamine (speed)	AMP	Synthetic	Controlled	135	300-62-9
N-methyl-1-phenylpropan-2-amine	Methamphetamine	METH	Synthetic	Controlled	149	537-46-2
3,4-methylenedioxyamphetamine	–	MDA	Synthetic	Controlled	179	4764-17-4
3,4-methylenedioxyethamphetamine	–	MDEA	Synthetic	Controlled	207	82801-81-8
3,4-methylenedioxyamphetamine	Ecstasy	MDMA	Synthetic	Controlled	193	42542-10-9
Cocaine	–	COC	Alkaloid	Controlled	303	50-36-2
Benzoylecgonine	–	BE	Metabolite	–	289	519-09-5
Lysergic acid diethylamide	–	LSD	Synthetic	Controlled	323	50-37-3
Ketamine	–	KET	Synthetic	Controlled	237	6740-88-1
Phencyclidine	–	PCP	Synthetic	Controlled	243	77-10-01
Fentanyl	–	–	Synthetic	Controlled	336	437-38-7
Caffeine	–	CAF	Alkaloid	Non-controlled	194	58-08-2
Paraxanthine	–	PAR	Metabolite	–	180	611-59-6
Nicotine	–	NIC	Alkaloid	Non-controlled	162	54-11-5
Cotinine	–	COT	Metabolite	–	176	486-56-6

^a Classification according to DEA (Drug Enforcement Administration, USA) and the EMCDDA (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction).

2.2. Sampling protocol

The selected municipal WWTPs are located in 42 different towns. The studied area is about 20,000 km² with approximately 2.5 million inhabitants. The characteristics of each WWTP are listed in Table 2 where the served population and the treatment technologies are included and the distribution of the WWTP can be found in Fig. 1. All the WWTPs use at least a preliminary clarification step, biological treatment and a second clarification. The WWTPs studied are of different sizes (from 200 to 318,000 inhabitants serviced) and provide a broad overview of the occurrence of the target compounds. Influent and effluents from all WWTP were collected as grab samples once between April 2006 and April 2007.

In order to estimate the removal efficiency of the detected target compounds, the eight larger WWTPs (see Table 2) were

sampled in three additional surveys (September 2006–February 2007). WWTPs numbers 38 and 39 were not included in this second survey since no additional samples could be collected. All the selected WWTPs operate in a similar way which consists of a conventional secondary treatment using activated sludge. WWTPs 33 and 40 use an additional chemical treatment to remove hydrogen sulfide. In WWTP 33 an aeration treatment is also carried out whereas WWTP 40 uses hydrogen peroxide. Influent and effluent composite samples (24 h) were obtained by pooling water every hour using an automatic sampling system (ISCO 3700 composite sampler, Teledyne ISCO, USA) and taking into account the hydraulic retention times (HRTs) of each plant. Surveys were not performed during raining events.

Finally, one WWTPs (No. 33) was selected for a daily variation study (n=7). This WWTP treats about 23000 m³ per

Table 2 – Characteristics of the WWTPs

Id.	River basin	Inh.	Q (m ³ /day)	Treatment	Origin
1	Segre	200	720	Biologic—activated sludge	U+I
2	Segre	200	96	Biologic—activated sludge	U
3	Llobregat	400	68	Biologic—activated sludge	U
4	Segre	400	67	Biologic—activated sludge	U
5	Segre	500	456	Biologic—activated sludge	U
6	Segre	600	70	Biologic—activated sludge	U
7	Besos	1000	200	Biologic—activated sludge	U
8	Segre	1000	792	Biologic—activated sludge	U
9	Segre	1100	120	Biologic— aerated lagoon	U
10	Llobregat	2300	480	Biologic—activated sludge	U
11	Segre	2500	936	Biologic—activated sludge	U
12	Segre	2500	528	Biologic—activated sludge	U+I
13	Llobregat	3200	392	Biologic	U
14	Segre	3700	720	Biologic—activated sludge	U
15	Segre	5200	720	Biologic—activated sludge	U
16	Segre	5200	1092	Biologic—activated sludge	U+I
17	Besos	5400	456	Biologic—activated sludge	U
18	Llobregat	5700	792	Biologic	U+I
19	Besos	6300	1296	Biologic—activated sludge	U
20	Llobregat	9200	1584	Biologic	U
21	Segre	9500	2080	Biologic— aerated lagoon	U+I
22	Segre	9600	5736	Biologic— aerated lagoon	U+I
23	Llobregat	9900	1831	Biologic	U
24	Segre	12,700	2280	Biologic—activated sludge	U
25	Llobregat	16,500	2120	Biologic— aerated lagoon	U
26	Llobregat	20,200	2808	Biologic—activated sludge	U+I
27	Llobregat	20,900	3688	Biologic	U+I
28	Segre	23,900	6120	Biologic—activated sludge	U+I
29	Besos	24,400	2976	Biologic—activated sludge	U+I
30	Segre	28,600	2424	Biologic—activated sludge	U+I
31	Segre	30,100	13,752	Biologic—activated sludge	U
32	Segre	53,000	18,941	Biologic—activated sludge	U+I
33 ^a	Llobregat	53,000	23,000	Biologic—activated sludge	U+I
34 ^a	Llobregat	64,000	23,376	Biologic—activated sludge	U+I
35 ^a	Foix	104,800	12,072	Biologic	U+I
36 ^a	Llobregat	151,500	24,384	Biologic—activated sludge	U+I
37 ^a	Besos	154,700	19,728	Biologic—activated sludge	U+I
38	Besos	174,000	28,464	Biologic—activated sludge	U+I
39	Besos	230,000	25,608	Biologic—activated sludge	U+I
40 ^a	Besos	249,000	30,960	Biologic—activated sludge	U+I
41 ^a	Besos	266,500	40,800	Biologic—activated sludge	U+I
42 ^a	Llobregat	317,400	38,800	Biologic—activated sludge	U+I

Id.: identification; Inh.: Inhabitants (serviced persons); U: Urban, I: Industrial.

^a Four sampling campaigns performed.

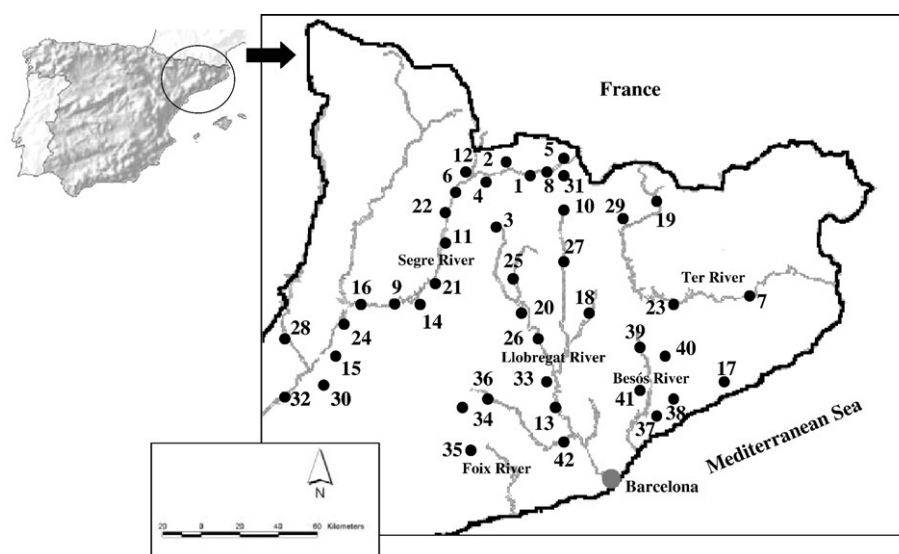


Fig. 1 – Locations in NE-Spain of the WWTPs (●) sampled.

day supplying a population of over 75,000 inhabitants and it is located near to an important DWTP. The process consists of four steps: mechanical clarification, biological treatment (activated sludge) and chemical treatment with a subsequent filtration. Under normal operation this WWTP removes 90% of the influent biological oxygen demand (BOD). For this study, composite samples (24 h) were obtained by pooling water every 30 min and refrigerated using ice. Influent and effluent samples were collected in May 2007, the effluents were taken by considering the HRT of the plant.

All influent and effluent samples collected in the surveys were analyzed by triplicate. Samples were stored in the dark at less than 4 °C, filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, UK) and treated by solid-phase extraction (SPE) within the next 24 h after collection. According to Castiglioni et al. (2006), degradation of the selected compounds is not significant in these conditions.

2.3. Analytical methodology

A previously optimized SPE-UPLC-MS/MS analytical method was used (Huerta-Fontela et al., 2007). Briefly, 100 mL of water samples spiked with isotopically labeled compounds (1.5 µg/L for nicotine, cotinine and paraxanthine and 12.5 ng/L for the other compounds) and were enriched by SPE on Oasis HLB polymeric cartridges (200 mg, 6 mL) at a flow rate of 10 mL/min. The cartridges were washed with 8 mL of a 5% methanol aqueous solution and dried with nitrogen gas for 10 min. Analytes were recovered from the cartridge using 6 mL of methanol. The extracts were evaporated to dryness under a stream of nitrogen and afterwards reconstituted in 500 µL of a 5% methanol aqueous solution.

Compounds were separated by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) using an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 µm particle size) (Waters, Milford, MA, USA). The optimized separation conditions were as follows: solvent (A) acetonitrile with 0.1% formic acid; solvent (B) 30 mM formic acid/ammonium formate (pH 3.5) at a flow

rate of 0.5 mL/min. The UPLC instrument was coupled to a Quattro Micro™ triple quadrupole mass spectrometer (Micro-mass, Waters, Milford, MA, USA) with an electrospray ionization source Z-spray™ working in positive ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and the protonated molecular ion of each compound was chosen as the precursor ion. Two transitions per compound were used, thus fulfilling the European Council directives (96/23/EC) regarding mass spectrometric detection (Commission of the European Communities, 2002). Quantification and confirmation transitions were as follows: nicotine (163>130; 163>117), cotinine (177>80; 177>98), caffeine (195>138; 195>110), paraxanthine (181>124; 181>96), amphetamine (136>119; 136>91), MDA (180>163; 180>105), methamphetamine (150>91; 150>119), MDMA (194>163; 194>105), MDEA (208>163; 208>133), ketamine (238>125; 238>220), cocaine (304>182; 304>105), benzoylecgonine (290>169; 290>150), LSD (324>223; 324>208), PCP (244>85; 244>159) and fentanyl (337>188; 337>105). Optimized cone voltages and collision energies can be found elsewhere (Huerta-Fontela et al., 2007).

2.4. Quality control criteria

At least one laboratory blank was analyzed with each set of 12–16 environmental samples to assess potential sample contamination. Isotope dilution was used for quantitation (except for paraxanthine) by adding labeled analogues to each sample prior to extraction.

The limit of detection (LOD) defined as the lowest analyte concentration with a signal-to-noise (S/N) ratio of 3, and the limit of quantification (LOQ) defined as the concentration with S/N ratio of 10 and a precision better than 20%, were also established using a wastewater blank matrix free of drugs taken from a WWTP with low contribution (~10%) of urban waters. Values obtained for each compound are displayed as footnotes in Table 3. The LODs achieved were lower than 1.5 ng/L and 300 ng/L for controlled and non-controlled drugs

respectively whereas LOQs obtained were lower than 5 ng/L and 850 ng/L, respectively.

Run-to-run and day-to-day precisions were also evaluated in the wastewater matrix free of drugs, spiked at 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine and cotinine and 80 ng/L for the other compounds obtaining acceptable values for all of them. To determine run-to-run precision, six replicates were extracted and analyzed in a single day. The results for all analytes were calculated as % RSD and ranged from 4% to 10% (n=6) for all the analytes. For day-to-day precision, extraction and analysis were performed on five different days. Results showed values (%RSD) lower than 11.0 (n=30). The recoveries, which were also calculated by spiking blank wastewater with the analytes and the internal standards, ranged from 70% to 101%.

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of psychoactive drugs in wastewaters

A summary of the results achieved are displayed in Table 3 where the number of positive samples, the concentration ranges, median concentrations and 90th percentiles for each compound, in both influents and effluents, are indicated. Relative standard deviations range from 7 to 15% for all the samples and drugs analyzed, depending on the concentration levels.

The non-controlled alkaloids, caffeine and nicotine, were detected in 40 and 36 influents from the 42 WWTPs monitored in this study, with concentrations of up to 209 µg/L and 104 µg/L, respectively. These concentrations are in agreement with those reported in Switzerland, USA and Germany (Ternes et al., 2001; Buerge et al., 2003; Weigel et al., 2004; Thomas and Foster, 2005) for caffeine and from USA, Denmark and Canada (Kolpin et al., 2002; Eriksson et al., 2003; Barber, 2003; Hua et al., 2006) for

nicotine. Their respective metabolites, paraxanthine and cotinine, were also detected in 41 and 39 of the plants analyzed, with maximum concentrations of 238 µg/L and 42 µg/L respectively. Regarding effluents, caffeine and its metabolite were detected in 34 and 25 of the samples, with maximum concentrations of 43 µg/L and 46 µg/L, respectively. Nicotine and cotinine were also found in 15 of these samples with concentrations of up to 32 µg/L and 18 µg/L, respectively.

Among the controlled drugs, amphetamine and methamphetamine the two most consumed ATS according to UNODC (United Nations Office of Drug and Crime, 2007), were detected in 22 and 17 out of 42 WWTPs. They were detected at relatively high concentrations in WWTP influents, in the range of 3 to 688 ng/L and 3 to 277 ng/L respectively. MDMA (ecstasy), which is the third ATS (United Nations Office of Drug and Crime, 2007) in terms of production/consumption, was found in 31 wastewater samples with influent concentrations between 2 and 598 ng/L. MDA, a drug similar to ecstasy in terms of its synthesis and effects, was also detected in the influent samples (17 out of 42 WWTPs) with a maximum concentration of 266 ng/L. The last ATS determined, MDEA, was found less frequently in influent samples (5 out of 42 WWTPs) and at relatively low concentrations (up to 114 ng/L).

From a possible 42 effluent wastewater samples, amphetamine was detected in 10, with a maximum concentration of 210 ng/L, and MDA in 10 with a maximum concentration of 200 ng/L. Methamphetamine was found in 12 samples with concentrations ranging from 3 to 90 ng/L. MDMA was also found in relatively high concentrations in 18 effluent samples; in WWTP No. 35 an MDMA concentration of 267 ng/L was found. Finally, MDEA was only detected in one effluent sample, with a concentration of 12 ng/L.

The tropane alkaloid cocaine and its metabolite benzoylecgonine were ubiquitously detected in raw wastewaters (40 out of 42 WWTPs), with maximum concentrations of 4.7 and

Table 3 – Drug concentrations in influent and effluent samples from 42 WWTPs (NE-Spain) (April 2006 to January 2007)

		Influent				Effluent			
		Samples ^a	Concentration			Samples ^a	Concentration		
			Range	Median	90th percentile ^b		Range	Median	90th percentile ^b
µg/L	Nicotine	36	1.2–104	32.5	74.4	15	0.8–31.9	3.5	21.1
	Cotinine	39	1.2–42.3	5.1	15.8	15	0.8–17.9	2.4	11.6
	Caffeine	40	0.7–209	53.7	177	34	0.03–43.5	1.3	15.6
	Paraxanthine	41	1.6–238	42.5	158	25	0.9–45.7	2.5	34.2
	Cocaine	40	0.004–4.7	0.2	1.2	22	0.001–0.1	0.01	0.07
	BE	40	0.009–7.5	1.1	4.2	23	0.001–1.5	0.09	1.3
ng/L	Amphetamine	22	3–688	207	564	10	4–210	28	204
	METH	17	3–277	6	237	12	3–90	6	72
	MDA	17	3–266	86	169	12	1–200	22	192
	MDMA	31	2–598	43	375	18	2–267	56	190
	MDEA	5	6–114	28	63	1	12	12	12
	Ketamine	4	7–50	29	49	1	5	5	5

LOQs: Nicotine (800 ng/L); Cotinine (500 ng/L); Caffeine (5 ng/L); Paraxanthine (850 ng/L); Amphetamine and MDA (1 ng/L); METH (0.9 ng/L); MDMA (1.5 ng/L); MDEA (2.5 ng/L); Ketamine (5 ng/L); Cocaine and BE (0.2 ng/L).

LODs: Nicotine, Cotinine and Paraxanthine (300 ng/L); Caffeine (2 ng/L); Amphetamine, MDA and METH (0.4 ng/L); MDMA (1 ng/L); MDEA (1.5 ng/L); Ketamine (1 ng/L); Cocaine and BE (0.1 ng/L).

^a Number of samples with concentrations higher than LOQ value.

^b Percentile calculation according to NIST (2006).

7.5 µg/L respectively. Both compounds were also detected in 22 and 23 of the effluent samples respectively. Relatively high concentrations were found in some of these samples, with maximum values of 144 ng/L for cocaine and 1.5 µg/L for benzoylecgonine.

Ketamine, a drug used both medicinally and recreationally, was detected with concentrations ranging from 7 to 50 ng/L in only 4 of the 42 influent wastewater samples analyzed. These four samples were from WWTPs which collect water from cattle farming zones and probably this is the reason for the occurrence of ketamine since it is also used as a veterinary medicine. Ketamine was only found in one effluent sample at a concentration of 5 ng/L. The other psychoactive drugs, LSD, PCP and fentanyl, were not detected in any influent or effluent samples above their LODs (0.8 ng/L, 1 ng/L and 2 ng/L respectively).

In order to normalize these values, influent concentrations were multiplied by the measured flow rates and by the number of inhabitants served. The input loads of each of the 42 WWTPs are displayed in Table 4. Nicotine loads ranged from 1 to 64 g/(day 1000 inh) in influent samples while caffeine maximum loads were 48 g/(day 1000 inh). Maximum loads of 427 mg/(day 1000 inh) and 192 mg/(day 1000 inh) were found for amphetamine and MDMA respectively, while loads for cocaine and benzoylecgonine ranged from 1 to 1464 mg/(day 1000 inh) and 3 to 2322 mg/(day 1000 inh), respectively. These values were similar to those reported in Italy (Zuccato et al., 2005; Castiglioni et al., 2006).

The total loads of cocaine and benzoylecgonine were used to estimate the amounts of cocaine consumed locally by using approximations already described by other authors (Zuccato et al., 2005). Benzoylecgonine loads, expressed as grams per day, were used for calculation since this compound comes entirely from the metabolic degradation of cocaine and therefore from human consumption; cocaine loads were not included in this calculation to avoid the effects of any sporadic direct discharge. To relate benzoylecgonine with cocaine, the molar mass ratio of cocaine/benzoylecgonine (1.05) and the percentage of cocaine excreted in urine as benzoylecgonine (30–50%) (Li et al., 1995; Cone et al., 1998) were considered, giving a factor of 2.7 ± 0.6 . The total cocaine equivalent obtained from the 42 WWTP influent samples was divided by the local population served (2.8 million inhabitants) (Generalitat de Catalunya-Institut d'Estadística de Catalunya, 2006) and expressed as the number of doses per day per 1000 inhabitants, assuming a typical consumption unit/dose (at street purity) of 0.1 g of cocaine (United Nations Office of Drug and Crime, 2007). According to this calculation, the estimated consumption of cocaine was about 14 ± 3 doses per day per 1000 inhabitants aged between 15 and 64 years (1.4%). These values extrapolated to the adult population living in NE-Spain (5 million) could yield a rough value of 7 kg per day of cocaine consumption. In order to compare the results obtained with those reported by Zuccato et al. (2005) who sampled four WWTPs in Italy, the consumption of cocaine among inhabitants aged between 15 and 34 years was estimated. The values found per 1000 young adults were higher than those reported by Zuccato, 33 ± 7 doses compared to 17 ± 7 . Similar approximations were used to estimate the MDMA (ecstasy) consumption. However, as this compound is mainly excreted

unaltered (72% within 72 h) (Hemlin et al., 1996; Segura et al., 2001; Pizarro et al., 2004) the total loads of MDMA were used for calculations. According to UNODC a typical dose of MDMA is 0.1 g (unit/dose), therefore the estimated local use of ecstasy was 2 doses per day per 1000 habitants. Additionally, the total loads were also extrapolated to population aged between 15 and 34 years, since the use of this drug in Spain is nearly exclusively restricted to young adults group (European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction and Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006). An estimated value of 4 doses per day per 1000 habitants was obtained with a percentage of use among young adults of 1.1%.

The same approximations were used to rank the locations with the highest consumption rates Table 4 shows the percentages of cocaine users for each WWTP. Higher consumption rates were detected from two different sources. Firstly, despite only serving a small population, in WWTPs Nos. 5, 8 and 12, located in mountain zones with high contributions from ski resorts, prominent consumption percentages were found: 3.2, 6.4 and 3.3%, respectively. Secondly, in WWTPs Nos. 33, 34, 35, 39 and 41 high consumption percentages were also found: 5.9, 4.9, 3.6, 3.6 and 2.8%, respectively. Together, these WWTPs serve a large population and moreover, are located next to important recreational zones, which might explain higher percentage rates.

3.2. WWTP removal efficiency

Once the widespread presence of stimulatory drugs and their metabolites in most influents and effluents of the WWTPs was proved, the behavior of these compounds during the wastewater treatment was studied by evaluating the mean removal percentages. For this purpose, eight representative WWTPs (Nos. 33–37 and 40–42) were sampled once over a further 3 months. Influent and effluent samples were collected taking into account the hydraulic retention times of each plant, the samples were analyzed by triplicate using the method described in the Experimental Section. The load ranges and removal percentages, which were calculated as the mean removal rate of each sampling campaign, are summarized in Table 4.

Nicotine and caffeine were efficiently removed (75–99%) in all eight WWTPs studied and the removal rates obtained are consistent with those from previous reports (Buerge et al., 2003; Santos et al., 2005; Thomas and Foster, 2005). Cotinine and paraxanthine were also efficiently removed with percentages ranging from 70% to more than 99%. The elimination percentages of the controlled drugs amphetamine and methamphetamine varied greatly among WWTPs: the values ranged from 52% to more than 99% for amphetamine and from 44% to more than 99% for methamphetamine. MDA was only detected in 3 out of 8 WWTPs and in two of these the elimination percentages were higher than 99%. Nevertheless, it is important to emphasize that in the other WWTP (No. 41), there was an increase in MDA loads in effluent samples (mean load of 21 mg/(day 1000 inh)) instead of the expected decrease (influent sample mean load of 16 mg/(day 1000 inh)). The same trend is reported by Castiglioni et al. (2006) for this compound in a WWTP in Italy and could be related to a *N*-demethylation of MDMA during treatment that could yield to MDA formation

Table 4 – Load per capita of stimulatory drugs in influent samples from 42 WWTPs (NE-Spain) (April 2006 to January 2007)

	Influent (g/(day 1000 inh)) ^a				Influent (mg/(day 1000 inh)) ^a									Cocaine users (%)
	NIC	GOT	CAF	PAR	AMP	METH	MDA	MDMA	MDEA	KET	COC	BE		
1	2	7	0.1	8	–	–	–	–	–	–	0.5	0.5	0	
2	5	1	7	4	1	–	116	3	–	–	16	102	0.4	
3	0.1	0.4	0.1	1	–	–	–	–	–	–	40	187	0.8	
4	9	1	19	13	0.1	–	1	5	0.5	–	28	527	2.2	
5	64	5	48	72	89	–	3	8	–	–	858	754	3.2	
6	6	2	22	26	–	–	7	1	0.3	–	35	402	1.7	
7	12	1	13	8	–	–	–	–	–	–	0.1	0.1	0	
8	24	3	40	34	0.4	–	14	6	0.5	–	1464	2322	6.4	
9	4	1	6	6	–	–	–	6	–	–	3	20	0.1	
10	1	1	15	7	31	3	983	4	–	–	39	265	1.1	
11	5	1	23	1	–	–	–	34	10	5	73	781	0.6	
12	11	2	37	32	129	–	–	–	–	–	60	149	3.3	
13	2	1	6	5	13	–	2	–	–	–	5	50	0.2	
14	21	4	41	47	427	1	–	–	–	–	55	237	1.0	
15	10	2	28	28	28	–	–	16	–	–	82	329	0.4	
16	3	1	5	6	34	1	2	4	–	–	50	96	1.4	
17	0.1	0.1	1	2	–	–	–	9	–	–	36	69	0.3	
18	1	1	0.1	4	–	0.1	–	–	–	7	1	85	0.4	
19	8	2	18	15	78	1	24	14	–	–	73	454	1.9	
20	4	1	7	7	–	1	2	3	–	–	18	97	0.4	
21	3	1	10	8	46	1	–	–	–	–	7	9	0.04	
22	6	2	33	11	–	–	–	–	17	–	77	337	1.4	
23	0.1	1	2	5	–	–	–	1	–	–	21	240	1.0	
24	12	3	29	29	124	2	0.1	11	–	–	183	524	2.2	
25	8	2	13	15	60	0.1	–	–	–	–	126	345	1.5	
26	0.1	0.1	1	1	0.1	1	0.1	42	–	–	2	85	0.4	
27	4	0.4	3	2	6	–	–	–	–	–	14	7	0.03	
28	1	0.3	6	–	0.1	–	0.1	–	–	12	1	3	0.5	
29	6	1	8	11	18	–	11	2	1	–	64	465	2.0	
30	1	1	5	5	–	–	–	8	–	0.3	5	195	0.8	
31	6	1	7	1	7	–	–	3	–	–	4	4	0.02	
32	24	2	10	10	40	0.2	31	192	–	–	34	286	1.2	
33	11	1	6	19	100	3	28	29	–	–	132	1445	5.9	
34	9	2	27	22	137	–	–	0.3	–	18	66	1166	4.9	
35	9	5	17	13	46	0.1	13	69	–	–	538	860	3.6	
36	2	1	4	5	0.1	25	0.1	2	–	–	199	386	1.6	
37	3	1	5	5	0.1	1	0.1	5	–	–	15	48	0.2	
38	7	2	24	9	32	78	15	6	–	–	50	490	2.1	
39	9	1	20	16	31	1	7	9	1	0.3	165	643	2.7	
40	4	1	4	6	0.1	1	0.1	3	–	–	23	44	0.2	
41	8	2	25	18	35	5	22	58	–	–	82	658	2.8	
42	0.1	0.1	1	1	0.1	1	0.1	37	–	0.3	2	75	0.3	
^b TOT	6	1	12	10	23	10	7	26	1	1	90	392		

^a Italics: load values lower than LOQ and higher than LOQ (Martin et al., 2007); Dash= values lower than LOD.

^b TOT: total loads per 1000 inhabitants considering the total g/day and the total treated population.

(Pizarro et al., 2004). Elimination percentages of MDMA ranged from 50% to over 99%. However, less than 60% was eliminated in 3 out of 7 WWTP, and relatively high loads of this compound were found in effluent samples (11–27 mg/(day 1000 inh)).

Treatments applied in these WWTPs proved to be effective at removing both cocaine and benzoylecgonine, with percentages higher than 88%. Despite this, relatively high concentrations were found in some effluent samples, with maximum loads of 19 and 98 mg/(day 1000 inh) for cocaine and benzoylecgonine, respectively. Ketamine, was also effectively removed, with over 80% elimination and was only found in one effluent sample (0.1–0.5 mg/(day 1000 inh)).

3.3. Daily variations

To evaluate variations in drug concentrations during the week, daily variations were estimated by collecting composite samples over 7 consecutive days from the influent (before mechanical clarification) and effluent of one WWTP (No. 33). A summary of the results is displayed in Table 5. Depending on the compound, variations in concentration levels in the influent composite samples were found during the week. For instance, caffeine was detected at similar concentrations (17 µg/L to 24 µg/L) during the 7 days, whereas nicotine concentration increased by more than 50% at the weekend

Table 5 – Drug loads ranges in influent and effluent samples from eight WWTPs studied

	# 33			# 34			# 35			# 36			# 37			# 40			# 41			# 42		
	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)	Inf.	Eff.	Rmv. (%)
<i>g/(day 1000 inh)</i>																								
Nicotine	7-10	0.9-1.1	89±8	7-12	2-3	75±3	4-9	1-2	78±3	1-2	0.2-0.4	86±5	7-10	-	>99	3-4	0.4-1	75±8	6-8	0.2-2.4	84±10	7-10	-	>99
Cotinine	2-3	-	>99	1-3	0.1-0.4	90±3	3-4	0.4-1.2	76±9	0.7-1.3	-	>99	1.0-1.5	-	>99	0.9-1.3	-	>99	1.8-2.2	-	>99	-	-	-
Caffeine	6-8	0.1-0.2	99±2	23-26	0.1-0.3	99±0.4	10-14	1-3	83±6	2-4	0.6-1	86±11	4-5	0.8-1.3	75±4	23-28	1-3	92±3	17-22	4-6	75±2	1-2	0.1-0.8	75±10
Paraxanthine	6-15	-	>99	19-25	-	>99	8-13	0.8-1.3	88±8	3-4	0.8-1.4	72±9	3-5	-	>99	4-8	-	>99	13-17	4-6	70±5	12-14	0.3-0.7	96±1
<i>mg/(day *1000 inh)</i>																								
Amphetamine	13-17	-	>99	95-131	-	>99	36-48	9-15	71±3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22-28	9-13	52±8	-	-	-
METH	6-13	-	>99	-	-	-	-	-	-	1-8	0.2-6	46±16	3-6	1-2	68±10	0.2-2.3	-	>99	3-6	1.5-3.2	44±7	1-2	-	>99
MDA	1-2	-	>99	-	-	-	6-9	-	>99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13-18	16-27	-31±6	-	-	-
MDMA	13-18	5-12	50±11	-	-	-	27-35	10-12	66±5	0.6-2.3	-	>99	4-5	-	>99	2-3	-	>99	45-52	9-11	80±1	52-55	24-32	52±2
Ketamine	-	-	-	1-4	0.1-0.5	89±1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cocaine	228-278	13-19	94±1	55-63	4-9	90±4	467-512	6-9	99±1	111-136	13-16	88±1	13-16	2-3	88±8	18-22	1-3	90±4	71-82	6-9	91±2	4-5	1-2	91±11
BE	1402-1612	25-36	98±0.2	1030-1213	60-82	94±1	698-787	82-98	88±1	381-402	37-45	89±1	41-48	4-6	89±1	38-43	4-6	88±2	193-225	13-18	93±1	62-67	3-7	92±1

Load ranges: minimum-maximum (n=4).
 Inf.: influent; Eff.: effluent; Rmv.(%): Average removal percentage±standard deviation.
 Dash = values lower than LOQ.

Table 6 – Drug concentrations and elimination percentages in influent and effluent samples taken from a WWTP (No. 33) sampled over 7 consecutive days (n=3)^a

	Monday		Tuesday		Wednesday		Thursday		Friday		Saturday		Sunday		Rmv. (%)	
	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.	Inf.	Eff.		
µg/L	Nicotine	17±1.8	<LOQ	15±2.4	<LOQ	12±2.1	<LOQ	12±2.6	<LOQ	18±3.9	<LOQ	23±4.1	0.7±0.07	28±4.4	<LOQ	>98
	Cotinine	1.7±1.7	<LOQ	2.1±0.2	<LOQ	1.4±0.1	<LOQ	1.3±0.1	<LOQ	2.2±0.2	<LOQ	3.1±0.3	<LOQ	1.9±0.2	<LOQ	>92
	Caffeine	24±1.2	0.2±0.02	24±12	<LOQ	17±1.6	0.1±0.01	19±1.7	<LOQ	20±1.6	0.02±0.002	21±1.1	0.04±0.004	18±1.3	<LOQ	>99
	Paraxanthine	14±2.0	<LOQ	16±2.6	<LOQ	14±2.6	<LOQ	15±3.2	<LOQ	28±6.1	<LOQ	42±8.1	<LOQ	4±9.0	<LOQ	>99
	BE	2.6±2.3	0.05±0.005	2.7±0.3	61±4	2.7±0.3	0.07±0.007	2.5±0.3	96±9	2.7±0.3	0.08±0.007	2.8±0.3	0.06±0.005	3.9±0.3	0.06±0.005	98±0.8
ng/L	Cocaine	273±15	20±0.1	268±16	22±0.5	270±16	21±0.1	270±19	25±0.2	272±18	26±0.2	295±20	22±0.1	305±10	28±0.2	92±0.9
	Amphetamine	63±4	<LOQ	35±3	<LOQ	45±7	<LOQ	24±3	<LOQ	40±5	<LOQ	72±6	<LOQ	101±10	<LOQ	>99
	METH	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1±0.3	<LOD	3±1	<LOQ	12±3	1±0.1	>98
	MDA	5±2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	3±2	<LOD	>99
	MDMA	68±3	40±7	34±4	20±4	41±5	22±3	26±4	13±2	58±7	31±5	63±6	36±4	75±7	38±5	46±3.7

Inf.: influent; Eff.: effluent; Rmv.(%): Average removal percentage±standard deviation.
^a Mean of samples analyzed by triplicate±standard deviation; flow rate: 23,030±64 m³/day.

(12 µg/L to 28 µg/L). Cocaine and its metabolite were also detected at similar concentrations throughout the week with maximums of 305 ng/L and 3.9 µg/L, respectively, measured on Sunday. In contrast, concentrations of amphetamine and MDMA varied widely during the week showing a sharp increase (of over 60%) at the weekend. Amphetamine concentrations from Tuesday to Friday ranged from 24 ng/L to 40 ng/L, while from Saturday to Monday the values jumped to 63–101 ng/L. Similar patterns were obtained for MDMA with concentration ranging from 26 to 58 ng/L during the week and from 63 to 75 ng/L at the weekend. Average removal percentages calculated for illicit drugs (Table 6) were similar to those previously calculated.

4. Conclusions

In this study, an extended survey was carried out to assess the incidence of stimulatory drugs in more than 40 WWTPs. Cocaine and amphetamine type stimulants were detected in influent samples at relatively high concentrations and their detection in several effluents indicates not only the incomplete elimination of these compounds by treatment, but also their presence in receiving waters.

We also evaluate for the first time, the daily variations of these compounds in wastewater influents through the week. Remarkable increases in ecstasy concentrations were found at the weekend. However, more constant values were detected for cocaine, which might be an indication of a different pattern of use.

This study reveals the prevalence of these compounds in wastewater effluents. Moreover, because of the potent psychoactive effects of some of these drugs, such as cocaine and ecstasy, this study also highlights illicit drug use as a new environmental problem considering their potential impact on aquatic ecosystems.

Acknowledgments

This work has been financially supported by R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of common research, development and innovation projects of the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited and Suez Environment Program Water and Health Project HE0607 and by the Ministerio de Ciencia y Tecnología (CTM 2006-00753/TECNO). The authors wish to thank Agència Catalana de l'Aigua for facilitating wastewater samples. M.H.F. also acknowledges financial support from Fundació AGBAR.

REFERENCES

- Barber LB. Loading and fate of pesticides, pharmaceuticals, and other organic wastewater compounds along a hydrogeochemical/land-use gradient. The Geological Society of America. Seattle Annual Meeting; 2003.
- Bleda MR, Galceran MT, Ventura F. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2007;1175:38–48.
- Bones J, Thomas KV, Brett P. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J Environ Monit* 2007;9:701–7.
- Buerge IJ, Poiger T, Muller MD, Buser HD. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. *Environ Sci Technol* 2003;37:691–700.
- Castiglioni S, Zuccato E, Crisci E, Chiabrando C, Fanelli R, Bagnati R. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2006;78:8421–9.
- Comission of the European Communities. *Off J Eur Communities* 2002;L221:8–36.
- Cone EJ, Tsadik A, Oyler J, Darwin WD. Cocaine metabolism and urinary excretion after different routes of administration. *Drug Monit* 1998:556–60.
- Eriksson E, Auffarth K, Eilersen AM, Henze M, Ledin A. Household chemicals and personal care products as sources for xenobiotic organic compounds in grey wastewater. *Water SA* 2003;29:135–46.
- European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction, Ministerio de Sanidad y Consumo. Part A, New Developments. Spanish 2006 National Report 2006.
- Generalitat de Catalunya-Institut d'Estadística de Catalunya. Banc d'estadístiques de municipis i comarques. Xifres de Catalunya; 2006 (in Catalan).
- Hemlin HJ, Bracher K, Bourquin D, Vonlanthen D, Brenneisen R, Styk J. Analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its metabolites in plasma and urine by HPLC-DAD and GC-MS. *J Anal Toxicol* 1996;20:432–40.
- Hua W, Bennet ER, Letcher R. Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicide in drinking water sourced from the upper Detroit River, Ontario, Canada. *Water Res* 2006;40:2259–66.
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F. Ultraperformance liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal Chem* 2007;79:3821–9.
- Hummel D, Loeffler D, Fink G, Ternes TA. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ Sci Technol* 2006;40:7321–8.
- Jones-Lepp TL, Alvarez DA, Petty JD, Huckins JN. Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Arch Environ Contam Toxicol* 2004;47:427–39.
- Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance survey. *Environ Sci Technol* 2002;36:1202–11.
- Li SH, Chiang N, Tai B, Marschke CK, Hawks RL. Is quantitative urinalysis more sensitive? *Psychopharmacol Bull* 1995;31:671–9.
- Martin JJ, Winslow SD, Munch DJ. A new approach to drinking water quality data: lowest-concentration minimum reporting level. *Environ Sci Technol* 2007;41:677–81.
- NIST. NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods. <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/> 2006 date.
- Pizarro N, Farré M, Pujadas M, Peiró AM, Roset PN, Joglar J, et al. Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-dihydroxymethamphetamine). *Drug Metab Dispos* 2004;32:1001–7.

- Santos JL, Aparicio I, Alonso E, Callejon M. Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Anal Chim Acta* 2005;550:116–22.
- Segura M, Ortuno J, Farre M, McLure JA, Pujadas M, Pizarro N, et al. 3,4-Dihydroxymethamphetamine (HHMA). A major in vivo 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) metabolite in humans. *Chem Res* 2001;14:1203–8.
- Ternes T, Bonerz M, Schmidt T. Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2001;938:175–85.
- Thomas PM, Foster GD. Tracking acidic pharmaceuticals, caffeine, and triclosan through the wastewater treatment process. *Environ Toxicol Chem* 2005;24:25–30.
- United Nations Office of Drug and Crime. World Drug Report 2007: Analysis; 2007. p. 1. www.unodc.org/unodc/world_drug_report.html.
- Weigel S, Berger U, Jensen E, Kallenborn R, Thoresen H, Huehnerfuss H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere* 2004;56:583–92.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Calamari D, Bagnati R, Schiarea S, et al. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Health* 2005;4:1–7.

Cocaine from drains in Spain

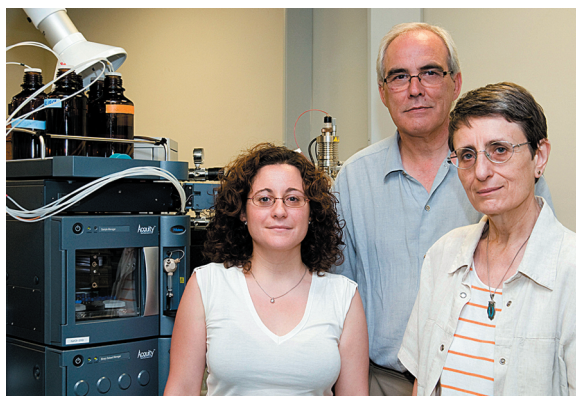
Researchers have documented the flow of so-called drugs of abuse, such as cocaine, methamphetamine, and ecstasy, in rivers and streams from Venice, Italy, to Florence, Ore. However, new research published in *ES&T* (DOI 10.1021/es800768h) shows that conventional drinking-water treatment successfully removes these drugs and others considered to be more benign, such as caffeine and nicotine.

The researchers, from the University of Barcelona and the water corporation Grupo Agbar, tested water samples for a suite of illicit drugs that included PCP, LSD, cocaine, ecstasy, and methamphetamine, as well as several metabolites. They also looked for caffeine and nicotine; nicotine recently has shown promise as a biomarker of human activity (*Environ. Sci. Technol.* **2008**, DOI 10.1021/es800455q). Led by Francesc Ventura of Grupo Agbar, the team monitored the Llobregat, a highly polluted river in Spain, and several of its tributaries.

Drugs can be detected in the treated wastewater that is dumped into these water bodies by more than 55 treatment plants. To track the contamination, the team sampled river water at more than a dozen input sites during different seasons throughout a year. The researchers also took spot samples at the same time every day for a week in December at a treatment plant that provides drinking water for 1 million people. They followed up with a year of regular monitoring.

The researchers found that the river basin is basically flooded with caffeine and trace levels of

nicotine. They also report that the rivers carried up to 15 grams (g) per day of cocaine and 195 g/day of benzoylecgonine, one of its metabolites. And although the team found two amphetamine-like drugs, ecstasy (MDMA: 3,4-methylenedioxy-*N*-



A team of researchers, including (left to right) chemists Maria Huerta, Ventura, and Teresa Galceran, examined the occurrence of illegal drugs in source waters and in treated drinking water in Spain.

methylamphetamine) and its analog MDA (3,4-methylenedioxyamphetamine), the researchers did not detect PCP and some of the other drugs on their list.

But at the intake point of their test treatment plant, the scientists noted several trends: concentrations of nicotine and caffeine remained relatively steady year-round, with an increase in the summer and a slight dip in the fall. Regular spikes in the levels of cocaine and benzoylecgonine (60 and 770 nanograms per liter, respectively) came after weekends. Still, they found “notable loads” throughout the week, “indicating a relatively constant pattern of use,” they wrote. But spikes in ecstasy and cocaine occurred around Christmas and New Year’s, indicating a seasonal shift in drug use.

However, the drinking water was free from these drugs after

undergoing a traditional sequence of treatment—aluminum-based coagulants and flocculants, sand filters, ozone, and finally chlorination to keep a residual level of chlorine in the distribution system that protects the drinking water during final delivery. “The combination of oxidants and sorbents can remove conventional contami-

nants, as well as emerging contaminants,” including legal pharmaceuticals and illegal drugs, comments Stuart Krasner of the Metropolitan Water District of Southern California. Although the concentrations of these drugs in the environment are low, Krasner adds, long-term exposures to any small amount of a contaminant in drinking water raises concerns for human-health effects.

Other research shows that cocaine seems to be particularly intransigent. It

has been found unchanged by natural processes in surface waters in Italy and the U.K. But the treatment at the Spanish water utility plant showed that “the [drinking-water treatment] process can practically remove all these compounds,” says Ventura. “Some questions still remain: what happens when a more simple treatment is applied, and which potential disinfection byproducts are generated?” The results also show that “drugs of abuse are commonly found in the aquatic media at the same or higher concentration levels than other emerging contaminants (i.e., pharmaceuticals),” he adds.

—NAOMI LUBICK

3.3.2. ARTICLE CIENTÍFIC IV

Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Ventura, F
Environmental Science & Technology 42.18 (2008): 6809-6816.

Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant

MARIA HUERTA-FONTELA,^{†,‡}
 MARIA TERESA GALCERAN,[‡] AND
 FRANCESC VENTURA^{*,†}

AGBAR, Av. Diagonal 211, 08018-Barcelona, Spain and
 Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona,
 Av. Diagonal 647, 08028-Barcelona, Spain

Received March 18, 2008. Revised manuscript received
 June 16, 2008. Accepted June 20, 2008.

The presence of psychoactive stimulatory drugs in raw waters used for drinking water production and in finished drinking water was evaluated in a Spanish drinking water treatment plant (DWTP). Contamination of the river basin which provides raw water to this DWTP was also studied. In surface waters, illicit drugs such as cocaine, benzoylecgonine (cocaine metabolite), amphetamine, methamphetamine, MDMA (ecstasy), and MDA were detected at mean concentrations ranging from 4 to 350 ng/L. Nicotine, caffeine, and their metabolites were also found at the $\mu\text{g/L}$ level. The elimination of these compounds during drinking water treatment was investigated in a real waterworks. Amphetamine-type stimulants (except MDMA) were completely removed during prechlorination, flocculation, and sand filtration steps, yielding concentrations lower than their limits of detection (LODs). Further, ozone treatment was shown to be effective in partially eliminating caffeine (76%), while subsequent granulated activated carbon (GAC) filtration removed cocaine (100%), MDMA (88%), benzoylecgonine (72%), and cotinine (63%). Postchlorination achieved the complete elimination of cocaine and nicotine and only one parent compound (caffeine) and two metabolites (cotinine and benzoylecgonine) persisted throughout treatment, although reductions of 90% for caffeine and benzoylecgonine and 74% for cotinine were obtained.

Introduction

It has been widely demonstrated that human habits and activities impact the environment in many ways, one of which is water contamination. Recently, several studies have revealed the presence of human source contaminants such as pharmaceuticals, hormones, and personal care products in wastewater effluents that discharge to rivers, lakes, and seas (reviewed in ref 1). Since some of these waters may be used as raw sources for drinking water production, the presence of such organic contaminants might have a negative impact on the quality of drinking water.

To date, few studies have evaluated the removal of these

compounds through conventional drinking water treatments, or considered their presence in finished drinking water (reviewed in ref 2). Adsorption on activated carbon (3, 4), ozone oxidation (5), and chlorine or chlorine dioxide reactions (6) have been shown to be effective in removing several organic compounds such as pesticides, pharmaceuticals, and odor and taste compounds.

As regards illicit drugs, these have already been detected in wastewaters and surface waters from the United States (7), Italy (8–10), Germany (11), Ireland (12) and Spain (13–15). It has also been demonstrated that some of these compounds are not quantitatively eliminated by wastewater treatments and, moreover, that they can survive natural attenuation processes in surface waters. For instance, Zuccato et al. (10) reported concentrations higher than the LOQ for cocaine (44 ng/L) and MDMA (ecstasy; above 1.7 ng/L) in the Olona River (Italy), while cocaine was also detected in two rivers from Ireland at concentrations ranging from 25 to 33 ng/L (12).

The present study aimed to evaluate the removal of several controlled and noncontrolled drugs in a drinking water treatment plant (DWTP). The most representative stimulatory psychoactive drugs of abuse, such as cocaine, its metabolite benzoylecgonine (BE), amphetamine-type-stimulants (ATS), ketamine, phencyclidine (PCP), lysergic acid (LSD), and fentanyl were selected (Table S1 in the Supporting Information). Stimulatory noncontrolled drugs such as nicotine and caffeine were also included in this study due to their high and widespread consumption. The presence of these drugs was also studied in the raw water of the Llobregat River (NE Spain), which is used for drinking water production in the abovementioned DWTP. This river receives effluents from several WWTPs already studied in a previous report (15). Daily and seasonal variations were also assessed by collecting water from this river over seven consecutive days and a full year, respectively. To evaluate the efficiency of the conventional drinking water treatment process (chlorination, coagulation/flocculation, sand filtration, ozonation, and GAC filtration) in removing these compounds, treated waters from each step were analyzed and removal efficiencies were calculated. To the best of our knowledge, this is the first study to report the removal of psychoactive illicit drugs in a conventional drinking water treatment system.

2. Materials and methods

Sample Collection. Samples were collected and stored in glass bottles below 4 °C. Surface raw waters were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, UK), and ascorbic acid was added to treated waters in order to prevent further degradation with chlorine.

(a) *Surface Water Monitoring.* River water samples were collected from the Llobregat River (NE Spain), from its two main tributaries (Cardener River and Anoia River), and from one additional creek (Rubi) (Figure 1) during three different campaigns conducted in January, March, and May 2007: each sample was analyzed in triplicate. Sampling points were selected in order to evaluate the effects of population and industries along the river. Llobregat River sampling points 1 and 2 were located before and after a reservoir and have no major external contributions from WWTPs. Sampling point 3 was situated downstream of a heavily populated area where more than 30% of the Llobregat River water is diverted for irrigation and drinking water purposes. Sampling point 4 was located downstream, where a decrease in flow rates arises due to the abovementioned diverted flow. Important inputs

* Corresponding author phone: +34 93 342 2715; fax: +34 93 342 2666; e-mail: fventura@agbar.es.

[†] AGBAR.

[‡] University of Barcelona.

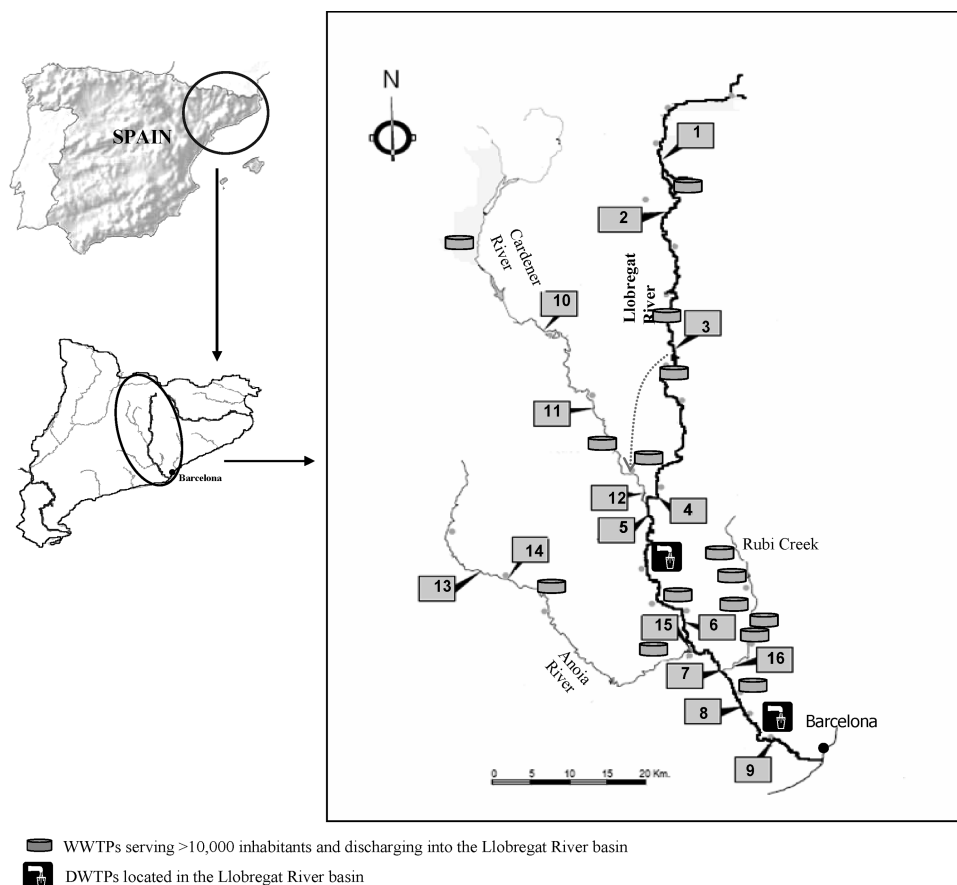


FIGURE 1. Map of surface sampling points in the Llobregat River (NE-Spain).

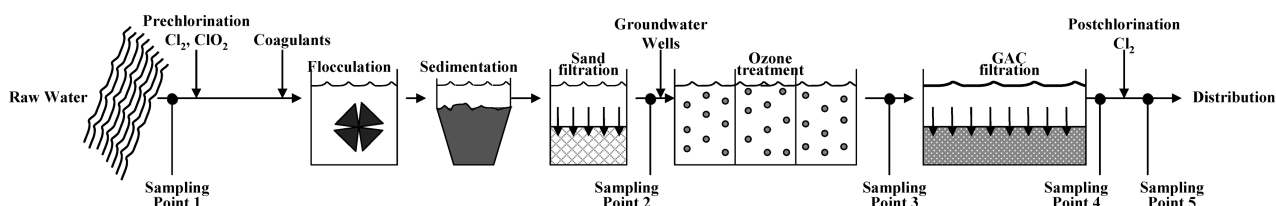


FIGURE 2. Treatment scheme of the DWTP and locations of sampling points.

from large WWTPs cause a general deterioration in quality between this point and sampling point 7. Sampling points 4 and 5 were located up- and downstream of the mouth of the Cardener River into the Llobregat River while points 6 and 7 were situated up- and downstream of the mouth of the Anoia River to the Llobregat River. Sampling points 8 and 9 did not receive any external contribution except for partial and sporadic contributions from the Rubi creek (sampling point 16) which is fully diverted for irrigation purposes and receives several wastewater effluents from both important WWTPs and a densely populated area. Cardener River sampling points 10 and 11 were located before and after a mining zone, while the water of the point 12 was affected by urban contributions and by the remainder of the 30% diverted from the Llobregat River. Sampling points 13, 14, and 15 (Anoia River) were selected in order to evaluate the effect of two densely populated areas. It should also be noted that only 10% of this river discharges into the main river because of its high level of pollution and the remaining portion is diverted.

(b) *Seasonal and Daily Variations.* To assess the quality of raw water used for drinking water production and to evaluate potential daily and seasonal variations due to different patterns of use, samples were collected at the intake of a DWTP located in the Llobregat river basin. Daily

variations were evaluated by collecting three samples over 7 consecutive days ($n = 7 \times 3$) at the same time (10 a.m.) from Monday to Sunday (December 2006). Seasonal variations were also studied by performing a survey during one complete year (May 2006–April 2007). Samples were collected once a week ($n = 48$) and always on the same day (Monday) and at the same time (10 a.m.).

(c) *Drinking Water Monitoring.* The DWTP selected for this study treats about 300 million liters per day and supplies a population of over 1 million people. The raw water used for drinking water production consists of surface water from the Llobregat River. Some properties of the river water measured during the study period (from January to June 2007) are summarized in Table S2.

The characteristics of the treatment performed in the selected DWTP are displayed in Figure 2. The first step consists of a preoxidation by adding chlorine until breakpoint is achieved. In this step several alum-coagulants such as aluminum sulfate ($Al_2(SO_4)_3$), aluminum polychloride (Al_2Cl_3), aluminum oxide (Al_2O_3), and flocculants (poly-DADMAC) are also added. Clarified water passes through sand filters (0.60 m height; 15–30 min) and at this point dilution with groundwater is performed at variable percentages to improve the water quality. The water is then pumped to ozone treatment facilities. Ozone is generated *in situ* and

water is treated inside four ozone chambers (5 mg/L for nominal flow), yielding a residual concentration of 0.2 mg/L. This treatment lasts around 15–20 min depending on the treated water volume. The water is then passed through GAC filters (10 m/h) for at least 15 min at a water flow rate of 6 m³/s. Finally, a postchlorination step is performed in order to maintain a chlorine residual concentration of about 0.8–1.2 mg/L through the distribution system.

To assess the efficiency of the different steps of the treatment, samples were collected before and after each process, taking into account the hydraulic retention times (HRTs). The total HRT can range from 5 to more than 10 h depending on the amount of treated water, the groundwater dilution, the impulsion flow rates, and the number of operative ozone generators. The sampling survey was first performed in January 2007 ($n = 3$) and removal efficiencies were calculated. The survey was then extended from January 2007 to June 2007 (four samples per month; $n = 24$).

Analytical Methods. The analytical method for the selected compounds (Table S3) has been described in a previous report (13). Water samples were enriched by solid-phase extraction (SPE). The SPE extracts were injected into an ultraperformance liquid chromatography (UPLC) system (Waters, USA) coupled to a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer (Micromass, Waters, USA) with electrospray ionization working in positive mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and two transitions (quantification, confirmation) were obtained for each compound.

ESI-MS/MS parameters and a detailed description of the calibration and the quality parameters validation are described elsewhere (13). Isotope dilution was used for quantitation by adding labeled standards to samples prior to extraction. To assess potential contamination during the analysis, blanks were included with each set of 12 samples. Quality parameters of the method such as run-to-run and day-to-day precisions, LODs, and LOQs of the target compounds were established in both ultrapure water and surface water (see Table S3).

Loads Calculation. The Llobregat is a Mediterranean River with a torrential regime and shows important fluctuations in flow rates (from 1000 to 22,700 L/s in 2006) depending on the season. Moreover, important variations in flow rates are also registered throughout the river basin. For instance, the flow rates measured in January ranged from 50 (sampling point 13) to 4000 L/s (sampling point 5), while in March they ranged from 90 (sampling point 13) to 7000 L/s (sampling point 5). To minimize the effect of these fluctuations and normalize the concentration values obtained, loads were calculated by multiplying concentrations by the flow rates measured when collecting the samples and were then expressed as g/day. These values should be considered as estimations since errors associated with the flow rates are ~20% for river basin survey and <10% at the DWTP intake.

Results and Discussion

Psychoactive Drugs in River Water. The Llobregat River basin comprises a densely populated area (over 2 million people) with large contributions from mining and industrial zones. Moreover, it also receives high inputs of wastewaters from more than 55 small-to-medium WWTPs, which serve from 200 to 1 million inhabitants and discharge directly into the river basin. Due to all these contributions, the Llobregat basin exhibits high levels of pollutants which could affect the quality of tap water, since some DWTPs are located in this river basin and use its water for drinking water production.

To evaluate the presence of stimulatory drugs in this river basin, samples along the Llobregat River, its two major tributaries (Anoia River and the Cardener River), and Rubi Creek were collected in January, March, and May 2007 (Figure

1). Sampling was performed by taking into account the flow rates and the distance between sampling points to perform a sequential survey and an estimation of the load values was calculated.

A summary of the results is shown in Table 1. Caffeine was detected at all sampling points (except point 1) with loads of up to 650 g/day (point 5). Its metabolite, paraxanthine, was also detected but at concentrations below its LOQ at points 1–3. Samples collected at points 4–9, which corresponded to more densely populated areas, showed higher concentrations of paraxanthine, with maximum values of 875 g/day. These loads correspond to concentrations (above 280 ng/L) similar to the maximum values reported for caffeine in rivers from Canada and Switzerland (16, 17). Nicotine (4–265 g/day) was detected at most of the sampling points (2–9) at loads lower than those found for caffeine (1–655 g/day) while cotinine (3–185 g/day) was only found downstream (points 4–9). Detected concentrations of cotinine (above 200–500 ng/L) are in the range of those reported by Stackelberg et al. in two streams in the United States (4).

As regards controlled drugs, MDMA, MDA, and cocaine, together with its metabolite (benzoylecgonine), were detected above their LOQs in the main river. Maximum loads were found at sampling point number 7, with maximum values of 15 g/day for cocaine and 195 g/day for benzoylecgonine. These values are in the range of those detected in some Italian rivers (10) which range from 2 to 60 g/day for cocaine and from 8 to 390 g/day for its metabolite. After this site (points 8 and 9) loads of cocaine and benzoylecgonine were stable. MDMA and MDA were also detected at several sampling points. In the case of MDMA, loads ranged from 1 to 8 g/day and a general increase was observed moving down the river basin. Maximum loads were detected at sampling points 5 and 7 with maximum values of 7 and 8 g/day, respectively. Increasing concentrations from points 4 to 7 were also detected for MDA with a maximum load of 4 g/day at point 7. The total maximum loads of ATS were 12 g/day which is also in the range of the total loads detected in Italy (from 0.1 to 30 g/day). Finally, ketamine, PCP, LSD, and fentanyl were not found over their LODs in any of the samples analyzed.

The profiles observed for the detected drugs along the main river with a general increase in concentrations when moving downstream (from points 1 to 7) are probably related to the increase in population density and to discharges from WWTPs. A significant increase in their concentration was observed at sampling points 5 and 7, which can be explained by the fact that these points are located immediately after the mouths of the Cardener and Anoia tributaries, respectively, and they are also affected by important contributions from several WWTPs. At sampling points 8 and 9, stable or decreasing concentrations were obtained, probably due to the lack of external contributions from WWTPs between these points. As an example, Figure S1 shows the evolution profiles for cocaine plus benzoylecgonine and MDMA plus MDA. Noteworthy differences in load levels were obtained during the three sampling periods, which can be explained by seasonal variations (evaluated in next section).

Regarding the two main tributaries, relatively high loads of cocaine (0.4–4 g/day), benzoylecgonine (7–60 g/day), and MDMA (0.2–3 g/day) were detected at the last sampling point of the Anoia River (point 15), while amphetamine (4 g/day) was also detected at sampling point 14. In contrast, the Cardener River contained low concentrations of controlled drugs: only MDMA (0.5–4 g/day), cocaine (0.3–1 g/day), and benzoylecgonine (0.2–15 g/day) were found at concentrations higher than the LOQ at the last sampling point of this river (point 12). Finally, the samples collected in the Rubi creek (point 16) showed relatively high maximum loads of cocaine (3 g/day), benzoylecgonine (30 g/day), MDMA (15 g/day), and methamphetamine (8 g/day).

TABLE 1. Estimated Loads of Stimulatory Drugs (g/day) at Sampling Points from the Llobregat River (1–9) and Its Tributaries (10–16) during Three Campaigns Performed in January, March, and May 2007^a

	Llobregat River ^b			Cardener River ^b			Anoia River ^b			Rubi Creek ^b					
	1	2	3	4	5	6	9	10	11	12	13	14	15	16	
nicotine	-	25/10/5	70/50/7	265/60/5	210/100/5	105/80/8	225/105/10	85/75/4	115/105/5	50/15/2	-	-	25/1/-	30/10/1	25/10/-
cotinine	-	-	-	125/5/-	125/7/-	120/9/4	160/40/4	155/50/3	185/55/5	-	-	-	10/-/-	25/15/1	35/20/-
caffeine	8/1/1	40/2/3	120/90/4	210/130/38	655/280/120	300/165/55	550/285/80	545/290/60	480/370/65	80/17/1	255/35/6	375/90/60	20/8/4	245/20/8	95/50/10
paraxanthine	-	-	-	490/295/55	875/655/80	475/355/80	615/655/105	405/305/75	435/310/70	-	285/25/-	275/135/35	10/6/1	210/50/10	135/130/15
amphetamine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4/1/-	-	-	-
METH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8/-/-
MDA	-	-	-	2/1/-	3/2/-	2/0.1/-	4/1/1	-	-	-	-	-	-	-	-
MDMA	-	-	-	4/3/-	7/3/2	6/2/1	8/5/2	5/3/1	6/3/2	-	-	2/0.3/0.1	-	3/2/0.2	15/6/3
cocaine	-	-	5/1/1	3/1/2	8/3/2	7/3/15	15/4/8	15/5/1	15/5/1	-	1/0.4/0.3	-	4/4/0.4	3/2/-	
BE	-	-	55/2/-	55/4/4	140/35/9	160/35/8	195/80/25	185/80/20	190/80/25	-	15/7/0.2	3/0.2/0.1	8/2/1	60/20/7	30/15/7

^a Dash = values lower than LOQ. ^b Estimated loads obtained in January/March/May; BE (benzoyllecgonine); Ketamine, LSD, PCP, and fentanyl concentrations were <LOD (0.1, 0.3, 0.2, and 0.5 ng/L, respectively)

Due to the high loads detected in the Llobregat River basin for some illicit drugs, one of the DWTP facilities served by this river was selected to evaluate the potential of these contaminants to survive a conventional drinking water treatment.

Raw Waters Used for Drinking Water Production. Raw water was collected at the intake of the DWTP facility in order to evaluate the concentration levels of the selected drugs and their variations depending on the day of the week and the season, both of which could affect the treatment efficiency.

The estimation of daily variations was performed by collecting grab samples over 7 consecutive days ($n = 3 \times 7$, at 10 a.m. during December 2006) at the intake of the DWTP. A summary of the results obtained is shown in Table S4. Nicotine (0.7–0.8 $\mu\text{g/L}$), cotinine (1–1.1 $\mu\text{g/L}$), caffeine (1.0–1.7 $\mu\text{g/L}$), and paraxanthine (1–1.8 $\mu\text{g/L}$) were detected at similar concentrations during the 7 days sampled. As regards controlled drugs, similar variations were observed over the week. The highest values were detected from Saturday to Monday, corresponding to weekend consumption. Amphetamine-type stimulants (amphetamine, methamphetamine, MDA, and MDMA) were only detected above their LOQs from Friday to Monday (except for MDMA, which was also detected on Tuesday, and MDA which was only detected on Monday). These results could be explained by the higher prevalence of these compounds among the young adult population (15–34 years) (18), which tends to use them during the weekend. Maximum concentrations of cocaine and benzoyllecgonine (60 and 770 ng/L, respectively) were also detected on weekend days (Sunday and Monday); however, notable loads of these compounds were also found during the week indicating a relatively constant pattern of use throughout the week. Ketamine, LSD, PCP, and fentanyl were not detected above their LOQs.

Seasonal variations were studied from May 2006 to April 2007 and different patterns in concentration variations were observed depending on the compound. The results obtained are summarized in Table 2, where a raw estimation of the load values has also been included in order to evaluate better any seasonal variation. Nicotine was detected at relatively stable concentrations ranging from 0.7 to 0.9 $\mu\text{g/L}$ throughout the year, except during fall when a 4-fold decrease (0.2 $\mu\text{g/L}$) was observed. Caffeine showed similar variations to nicotine, with maximum concentrations detected during summer (2.6 $\mu\text{g/L}$) and winter (2.3 $\mu\text{g/L}$). As regards controlled drugs, maximum loads were obtained in two different periods. First, an important increase in the concentrations of cocaine and ATS was detected during summer. Concentrations of cocaine and MDMA were above 40 and 25 ng/L, respectively, while MDA (20 ng/L) and methamphetamine (1 ng/L) were also detected during this season. Furthermore, maximum concentrations of amphetamine were obtained during this season, with mean values of 50 ng/L. However, the most noteworthy increase in the concentration of cocaine, ATS (except for amphetamine and MDA), and their metabolites was detected in winter. Mean concentrations of 60 ng/L were found for cocaine which was more than 6-fold higher than those previously obtained during the fall (9 ng/L). Benzoyllecgonine was also detected at concentrations of 150 ng/L during winter season which was over 4-fold higher than during the fall (35 ng/L). Maximum concentrations of MDMA (40 ng/L) and methamphetamine (2 ng/L) were also obtained during this period. These high concentrations could be related to a low degradation rate under the conditions prevailing in winter. However, stable ratios between concentrations of the parent compounds and their metabolites were obtained, there being no noteworthy differences in transformation ratios between seasons. Therefore, the interseasonal varia-

TABLE 2. Seasonal Variation of Stimulatory Drugs in the Llobregat River (Near a DWTP Intake; Point 9) from Spring 2006 to Spring 2007

	Spring 2006 ^a		Summer 2006 ^b		Fall 2006 ^c		Winter 2006/2007 ^d		Spring 2007 ^a	
	C ± SD*	estimated load (g/day)	C ± SD*	estimated load (g/day)	C ± SD*	estimated load (g/day)	C ± SD*	estimated load (g/day)	C ± SD*	estimated load (g/day)
μg/L										
nicotine	0.9 ± 0.1	170	0.9 ± 0.1	140	0.2 ± 0.1	35	0.7 ± 0.1	125	0.9 ± 0.1	140
cotinine	0.3 ± 0.1	55	0.3 ± 0.05	15	0.2 ± 0.04	2	1.4 ± 0.6	245	1.9 ± 0.6	305
caffeine	1.9 ± 0.5	385	2.6 ± 0.5	430	1.1 ± 0.2	175	2.3 ± 0.8	580	1.9 ± 0.6	305
paraxanthine	2.5 ± 0.4	505	2.8 ± 0.3	415	1.4 ± 0.4	235	1.7 ± 0.3	310	0.9 ± 0.2	140
ng/L										
amphetamine	0.4 ^e	0.08	50 ± 5	8	40 ± 10	7	9 ± 3	2	0.4 ^e	0.08
METH	<0.2	<0.04	1 ± 0.5	0.2	1 ± 0.1 ^e	0.1	2 ± 1	0.4	<0.2	<0.04
MDA	0.4 ^e	0.08	20 ± 5	3	15 ± 7 ^e	3	10 ± 4 ^e	2	0.4 ^e	0.08
MDMA	1.5 ± 1	0.3	25 ± 10	4	3 ± 1	0.4	40 ± 5	7	1 ± 0.5	0.2
cocaine	0.1 ^e	0.02	40 ± 5	7	9 ± 2	1	60 ± 10	10	10 ± 4	2
BE	15 ± 1 ^e	3	70 ± 25	10	35 ± 10	6	150 ± 60	25	50 ± 12	8

^a Mean values from March to May (n = 4 × 3). ^b Mean values from June to August (n = 4 × 3). ^c Mean values from September to November (n = 4 × 3). ^d Mean values from December to February (n = 4 × 3). *Concentration ± standard deviation among months. ^e Mean values < LOQ. BE (benzoylecgonine), Ketamine, LSD, PCP, and fentanyl concentrations were < LOD (0.1, 0.3, 0.2, and 0.5 ng/L respectively).

tions obtained could be related to different patterns of use depending on the season.

Due to the noteworthy increase in the concentrations of most of the controlled drugs during winter, a more detailed study of this period was performed by collecting samples more frequently (from December 14, 2006 to January 30, 2007, n = 12). This study revealed an important increase in the concentrations of these compounds during the last days of December and the first days of January, corresponding to the Christmas and New Year holidays (Figure S2). The sum of the cocaine and benzoylecgonine concentrations was above 400 and 350 ng/L after Christmas day and New Year's Eve, respectively, while ecstasy concentrations of 90 and 80 ng/L were found for these two days.

Removal during Drinking Water Treatment. Having demonstrated the frequent presence of selected drugs in raw waters used for drinking water production, the removal of these compounds in a DWTP was investigated. The effectiveness of a DWTP in eliminating or degrading contaminants depends on several factors such as the physicochemical properties of the compounds (Table S1), the quality of the source water (Tables S4 and 2), and the treatment processes applied (Figure 2) (4). Due to their hydrophilic properties (low log K_{ow}) and high solubility (except for fentanyl, which is more prone to be found in the sludge phase) these compounds are susceptible to being found in measurable concentrations in both raw and finished waters.

To evaluate the removal efficiency of conventional drinking water treatments, samples were collected (January 2007) after each treatment step taking into account the HRTs. The first step of drinking water treatment consisted of prechlorination, coagulation/flocculation, and sand filtration processes. Due to the specific location of the sampling points, it was only possible to take a sample after the sand filtration process. Therefore, oxidation with chlorine, coagulation, and sand filtration efficiencies were evaluated together (Figure 2). In this step, ATS (except for MDMA) and paraxanthine were efficiently removed at percentages higher than 99% (Figure 3). Amphetamine, methamphetamine, and MDA were found at the intake of the DWTP at concentrations of 85, 2, and 25 ng/L, respectively, while paraxanthine was present at higher concentrations (1.5 μg/L). After sand filtration, concentrations lower than the LODs were found for the abovementioned compounds. Previously published results indicate that for pharmaceuticals removal percentages during coagulation/flocculation and sand filtration processes are negligible (3, 4, 19, 20). The drugs studied here would probably display the same behavior and chlorination would be the main cause of the elimination percentages obtained. This would also seem to be consistent with the high reactivity of chlorine with primary and secondary amines, which has been described by other authors (21, 22), although MDMA concentration only decreased by 23% during this first step despite containing a secondary amino moiety. As regards the other compounds, nicotine (39%), cotinine (15%), and caffeine (38%) showed poor removal percentages, while cocaine (13%) and benzoylecgonine (9%) were hardly altered at all. After sand filtration, water is blended with different amounts of groundwater to improve its quality. No target compounds were identified in groundwater samples and therefore this was only considered as a dilution factor (15% of groundwater added in this study).

The next treatment step was based on a disinfection and oxidation process with ozone. Ozone has already been demonstrated to react with a large number of organic compounds, mainly with those with amino, phenol, or aliphatic moieties (23). Among the compounds studied, nicotine was the most recalcitrant to ozone treatment, since its concentration was only reduced by 5%. Cotinine also persisted despite treatment and only 16% of this compound

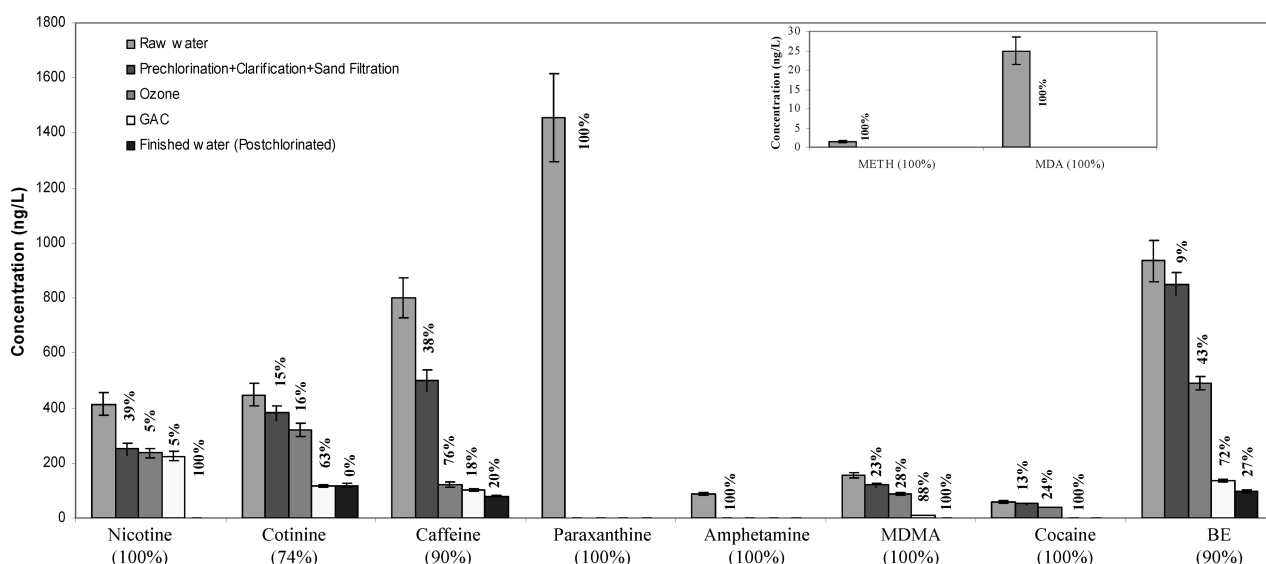


FIGURE 3. Concentrations of the studied drugs after a drinking water treatment consisting on prechlorination, coagulation/flocculation, sand filtration, ozonation, GAC filtration, and postchlorination (January 2007, $n = 3$). The elimination percentages of the compounds after each treatment are included on each bar and the total removal percentages are included in parentheses.

was removed; furthermore, it was detected in a hardly unaltered state in ozonated water (320 ng/L). In contrast, the highest removal efficiencies were found for caffeine, which was eliminated by up to 76%. This percentage is in agreement with values (67–81%) previously reported by Hua et al. (19). However, the results obtained for cotinine are lower than those previously reported for ozone treatment (19). These differences could be related to a possible degradation of nicotine during treatment, which could yield an increase in the concentration of its metabolite (altering the calculated removal percentages), but may also be due to a variation in the elimination efficiencies depending on the water conditions as has been already described (19, 24). Cocaine (24%) and benzoylecgonine (43%) showed poor elimination percentages, probably due to the absence of sites reactive to ozone and the presence of electron withdrawing groups in the aromatic rings that leads to a lower reactivity with ozone (25). MDMA was also poorly removed (28%) in ozonated water despite the amine group and the activated aromatic ring, yielding a concentration of 85 ng/L.

Water treated with ozone was then passed through granulated activated carbon filters (GAC). This step has been shown to be an efficient means of removing most of the compounds that are not eliminated by the previous treatments. Cocaine was efficiently removed at percentages higher than 99% and concentrations lower than 0.08 ng/L were found. MDMA (88%) benzoylecgonine (72%), and cotinine (63%) also showed high elimination percentages, while, in contrast, nicotine (5%) and caffeine (18%) persisted despite GAC filtration. Adsorption on activated carbon depends on the properties of both the activated sorbent and the compound, but for such organic compounds it is mainly controlled by hydrophobic interactions. Thus, the higher the $\log K_{ow}$ constants are, the higher the adsorption rates are. For instance, hydrophobic pharmaceuticals have been reported to be eliminated by GAC filtration, whereas for more hydrophilic compounds, incomplete eliminations have been obtained (3, 5, 21, 26). This probably explains the extensive elimination obtained for cocaine and MDMA (with $\log k_{ow} > 2.0$) and the poor elimination percentages achieved for nicotine and caffeine (with $\log k_{ow} < 1.2$). Nevertheless, benzoylecgonine and cotinine showed significant elimination percentages despite their low k_{ow} . Some authors have already suggested that these deviations could be related to the difficulty of correctly determining the $\log k_{ow}$ of heterocyclic

and aromatic nitrogen-containing compounds (21, 27). Furthermore, other authors (28) have described the total elimination of caffeine during GAC filtration, rather than the 18% obtained in this study. Some of the differences found in removal rates may be related to the age of carbon filters and the regeneration frequencies, which were approximately of 6 months during this study.

The final step consisted of a postchlorination treatment which enabled the study of the removal efficiency for those compounds that persisted to GAC filtration. High removal efficiencies were obtained for nicotine and MDMA which were eliminated during this last step. Concentrations in the postchlorinated water were lower than their LODs (30 and 0.17 ng/L, respectively). The higher efficiency of the post-chlorination treatment compared with the first chlorination step may be related to the lower concentration of these compounds after the previous treatments (225 and 10 ng/L, respectively) as well as to the longer contact times used in this last step. On the other hand, caffeine (20%) and cotinine (0%) showed a low reactivity with free chlorine, which corroborates results reported by Gibs (29) and Stackelberg (4). For both compounds, lower removal percentages than in the first step (38% and 15%, respectively) were obtained, thus suggesting that coagulation/flocculation treatment also contributed to the partial removal of these compounds. Benzoylecgonine also showed poor removal efficiencies (27%), probably because of the lack of sites reactive to chlorine.

An extended study was performed by collecting samples from the DWTP facility between February and June 2007 (four samples per month), with the aim being to evaluate potential variations in the removal efficiencies under different flow rates, water conditions, and drug concentration levels. A summary of the results is shown in Table S5, while the characteristics of raw water quality and some treatment parameters are included in Table S2. Flow rates were shown to not have any potential effect on the removal efficiencies, since similar removal percentages for flow rates of 1000 or 3800 L/s were obtained. These similar elimination patterns are comprehensible since HRTs are adjusted depending on the intake flow rates to ensure appropriate contact times. As regards concentration levels, no significant variations in treatment efficiencies were observed during this extended study, except for MDMA and BE after the chlorination step. For both compounds, different elimination percentages were

obtained depending on the concentrations. For instance, MDMA was eliminated (<LOD) during the first chlorination step when initial concentrations of this drug were lower than 10 ng/L, while for higher concentrations removal percentages of only 21% were obtained and further oxidations with ozone and chlorine were needed to totally remove it. Similar behavior was observed for BE, since high concentrations of this compound led to lower removal rates during the first chlorination step (above 3%), while for low concentrations this step was more effective, with removals above 10%. Furthermore, important variations in removals were found for nicotine during ozone (from 2% to 10%) and GAC treatment (from 0% to 10%). This could be explained by different degradation rates of this compound depending on water conditions, as some authors have already described (19, 24).

Finished Water. Drinking water treatment has been demonstrated to be effective at removing 7 out of 10 target compounds found in raw water. Nevertheless, the detection of three compounds in finished water illustrates the incomplete degradation or removal of these drugs through the treatment process. As an example, an extracted ion chromatogram obtained from one treated sample is shown in Figure S3. The partial elimination of these compounds may be due to their hydrophilic nature ($\log K_{ow} \sim 0$) and their poor reactivity with free chlorine (and/or ozone). Caffeine and cotinine were detected in 4 out of 24 treated water samples and their removal through drinking water treatment was significant, with reductions of 93% and 74%, respectively. The partial elimination of both compounds during treatment and their presence in final water has also been reported in tap waters from the United States (4, 29), Canada (19), and Italy (30). Caffeine was detected at mean concentration levels of 125 ng/L, which is in agreement with previously reported values (4, 30), while the cotinine concentrations (up to 320 ng/L) were higher than those reported by other authors (above 25 ng/L) (4, 29). As regards controlled drugs, neither cocaine nor ATS were found in finished waters. However, benzoylecgonine was detected in treated waters despite the high removal percentages obtained during treatment (89%). This metabolite was found in 22 out of 24 samples at mean concentrations of 45 ng/L, with maximum values of 130 ng/L.

None of the three compounds found in treated waters (caffeine, cotinine, and benzoylecgonine) is regulated in drinking water supplies. According to toxicity studies (31), benzoylecgonine is over 30 times less active than its parent compound, and therefore no toxic effect could be expected at the concentration levels found. Moreover, lifetime ingestion (70 years, 2 L water/day) of benzoylecgonine via drinking water (considering the maximum concentration detected of 130 ng/L) would be about 6 mg, which is around 20 times lower than a typical unit/dose (100 mg at street purity (18)) of the active compound (cocaine). As regards the other controlled drugs that are capable of provoking toxic effects by ingestion and which have known psychoactive properties, all of them are completely eliminated during drinking water treatment and were not detected above their low detection limits (at the ppt level).

Acknowledgments

This work has been financially supported by R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of common research, development, and innovation projects of the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited, and Suez Environment (Project-HE0607) and by Ministerio de Ciencia y Tecnología (CTM2006-00753/TECNO).

Supporting Information Available

A summary of the psychoactive drugs' properties, the river water quality, and the analytical method used, together with the results obtained for the seasonal and daily variation studied and an extracted chromatogram acquired for a treated water sample. This information is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

Literature Cited

- (1) Richardson, S. D. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 4295–4324.
- (2) Huerta-Fontela, M.; Ventura, F. Traceability of Emerging Contaminants from Wastewater to Drinking Water In *The Handbook of Environmental Chemistry* (DOI 10.1007/698_5_01); Petrovic, M., Barcelo, D., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, 2008.
- (3) Ternes, T. A.; Meisenheimer, M.; McDowell, D.; Sacher, H.; Brauch, J.; Gulde, B. H.; Preuss, G.; Wilme, U.; Seirbet, N. Z. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 3855–3863.
- (4) Stackelberg, P. E.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Zaugg, S. D.; Hendersond, A. K.; Reissmand, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Sci. Total Environ.* **2004**, *329*, 99–113.
- (5) Snyder, S. A.; Wert, E. C.; Rexing, D. J.; Zegers, R. E.; Drury, D. D. Ozone Oxidation of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals in Surface Water and Wastewater. *Ozone: Sci. Engin.* **2006**, *28*, 445–460.
- (6) Boyd, G. R.; Reemstmsma, H.; Grimm, D. A.; Mitra, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.* **2003**, *311*, 135–149.
- (7) Jones-Lepp, T. L.; Alvarez, D. A.; Petty, J. D.; Huckins, J. N. Polar Organic Chemical Integrative Sampling and Liquid Chromatography Electrospray/Ion-Trap Mass Spectrometry for Assessing Selected Prescription and Illicit Drugs in Treated Sewage Effluents. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2004**, *47*, 427–439.
- (8) Zuccato, E.; Chiabrando, C.; Castiglioni, S.; Calamari, D.; Bagnati, R.; Schiarea, S.; Fanelli, R. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health: A Global Access Science Source* **2005**, *4*, 1–7.
- (9) Castiglioni, S.; Zuccato, E.; Crisci, E.; Chiabrando, C.; Fanelli, R.; Bagnati, R. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 8421–8429.
- (10) Zuccato, E.; Castiglioni, S.; Bagnati, R.; Chiabrando, C.; Grassi, P.; Fanelli, R. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.* **2008**, *42*, 961–968.
- (11) Hummel, D.; Loeffler, D.; Fink, G.; Ternes, T. A. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 7321–7328.
- (12) Bones, J.; Thomas, K. V.; Brett, P. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J. Environ. Monit.* **2007**, *9*, 701–707.
- (13) Huerta-Fontela, M.; Galceran, M. T.; Ventura, F. Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 3821–3829.
- (14) Boleda, M. R.; Galceran, M. T.; Ventura, F. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1175*, 38–48.
- (15) Huerta-Fontela, M.; Galceran, M. T.; Ventura, F. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* **2008**, *397*, 31–40.
- (16) Buerge, I. J.; Poiger, T.; Muller, M. D.; Buser, H. D. Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 691–700.
- (17) Metcalfe, C. D.; Miao, X. S.; Koenig, B. G.; Struger, J. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near Sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, *22*, 2881–2889.
- (18) United Nations Office of Drug and Crime. *World Drug Report 2007: Analysis*; www.unodc.org/unodc/world_drug_report.html; 2007, Vol 1.

- (19) Hua, W.; Bennet, E. R.; Letcher, R. Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicide in drinking water sourced from the upper Detroit River, Ontario, Canada. *Water Res.* **2006**, *40*, 2259–2266.
- (20) Watts, C.; Maycock, D.; Crane, M.; Fawell, J. Desk based review of current knowledge on pharmaceuticals in drinking water and estimation of potential levels. Watts and Crane Associates: Bedfordshire, UK, CSA 7184/WT02046/DWI70/2/213; 2007.
- (21) Westerhoff, P.; Yoon, Y.; Snyder, S.; Wert, E. Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *36*, 6649–6663.
- (22) Chamberlain, E.; Adams, C. Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water Res.* **2006**, *40*, 2517–2526.
- (23) Hoigne, J.; Bader, H. Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. *Water Res.* **1983**, *17*, 173–183.
- (24) Mazloun, S.; Jasim, S.; Biswas, N.; Rakness, K.; Hunter, G. Improvement and optimization of the A. H. Weeks Water Treatment Plant Processes, Windsor, ON, Canada. *Ozone Sci. Eng.* **2004**, *26*, 125–140.
- (25) Ikehata, K.; Naghashkar, N. J.; El-Din, M. G. Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review. *Ozone Sci. Eng.* **2006**, *28*, 353–414.
- (26) Vieno, N. M.; Härkki, H.; Tuhkanen, T.; Kronberg, L. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* **2007**, *41*, 5077–5084.
- (27) Renner, R. The K_{ow} controversy. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 410A–413A.
- (28) Kim, S. D.; Cho, J.; Kim, I. S.; Vanderford, B. J.; Snyder, S. A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking and waste waters. *Water Res.* **2007**, *41*, 1013–1021.
- (29) Gibs, J.; Stackelberg, P. E.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Zaugg, S. D.; Lippincott, R. L. Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time. *Sci. Total Environ.* **2007**, *373*, 240–249.
- (30) Loos, R.; Wollgast, J.; Huber, T.; Hanke, G. Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 1469–1478.
- (31) Morishima, H. O.; Whittington, R. A.; Iso, A.; Cooper, T. B. The Comparative Toxicity of Cocaine and Its Metabolites in Conscious Rats. *Anesthesiology* **1999**, *90*, 1684–1690.

ES800768H

SUPPORTING INFORMATION

**STIMULATORY DRUGS OF ABUSE IN SURFACE WATERS AND
THEIR REMOVAL IN A CONVENTIONAL DRINKING WATER
TREATMENT PLANT**

Maria Huerta-Fontela^{†,‡}, Maria Teresa Galceran[‡] and Francesc Ventura^{*†}

[†]AGBAR. Av. Diagonal 211. 08018-Barcelona(Spain)

[‡]Department of Analytical Chemistry. University of Barcelona. Av. Diagonal 647. 08028-Barcelona(Spain)

*Corresponding author phone: +34 93 3422715; Fax: +34 93 342 26 66; e-mail: fventura@agbar.es

Figure Captions

Table S1. Psychoactive drugs studied and their properties

Table S2. Characteristics of river raw water quality at the intake of the DWTP (from January to June 2007)

Table S3. ESI-MS/MS acquisition parameters, limits of detection, recoveries and precision values in Milli-Q water and surface water matrices

Table S4. Drug concentrations in surface waters collected over 7 consecutive days (n=7x3) (December 2006) at the DWTP intake

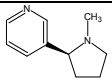
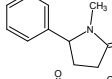
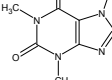
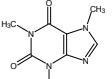
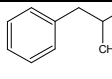
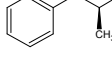
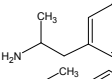
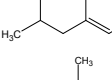
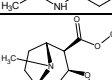
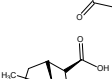
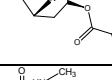
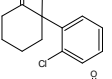
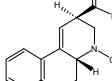
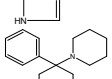
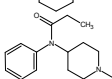
Table S5. Drug concentrations (ng/L) and elimination percentages through drinking water treatment (n=24; January 2007 to June 2007)

Figure S1. Estimated loads of a) cocaine + benzoylecgonine and b) MDMA + MDA through Llobregat River during three campaigns performed in (▲) January, (■) March and (◆) May 2007. Vertical lines indicate standard deviation obtained when performing analysis by triplicate.

Figure S2. Seasonal concentrations in ng/L of cocaine, benzoylecgonine and MDMA at the intake of a DWTP from 14 December 2006 to 30 January 2007. Vertical lines indicate standard deviation obtained when performing analysis by triplicate.

Figure S3. Extracted ion chromatograms of treated water in SRM acquisition mode. (Conf.= confirmation transition)

Table S1 Psychoactive drugs studied and their properties

Compound	CAS Number	Classification ^a	Nominal Mass	pK _a	Log K _{ow} (20-25°C)	Water Solubility (mg/L; 25-30°C)
Nicotine		Non-controlled	162	8.2	1.20	990,000
Cotinine		(Metabolite)	176	4.7	0.10	990,000
Caffeine		Non-controlled	194	10.4	<0	21,600
Paraxanthine		(Metabolite)	180	-	<0	24,000 ^b
Amphetamine		Controlled	135	0.1	1.76	28,000 ^b
Methamphetamine (METH)		Controlled	149	9.9	2.07	13,300 ^b
MDA		Controlled	179	9.7	1.64	22,400 ^b
MDMA		Controlled	193	9.9 ^b	2.28 ^b	2,700 ^b
MDEA		Controlled	207	10.3 ^b	2.77 ^b	6,100 ^b
Cocaine		Controlled	303	8.6	2.30	1,800
Benzoylcegonine		(Metabolite)	289	-	<0	88,000 ^b
Ketamine		Controlled	237	7.5	3.12 ^b	2800
LSD		Controlled	323	7.8	2.95	370 ^b
PCP		Controlled	299	8.7	1.90	11,000
Fentanyl		Controlled	336	7.3	4.10	200

^aClassification according to DEA (Drug Enforcement Administration, USA) and the EMCDDA (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction); ^b Estimated values

Table S2. Characteristics of river raw water quality at the intake of the DWTP (from January to June 2007)

Parameter	Mean \pm SD*	Range
Treated Flow (L/s)	2700 \pm 1086	800-4400
HRT (hydraulic retention time; hours)	8 \pm 2.3	5.56-10.51
pH	8 \pm 0.3	7.3-8.3
Conductivity (20°C; μ S/cm)	1717 \pm 435	1410-3600
Ammonia (mg NH ₃ /L)	1 \pm 0.6	0.2-2.15
P total (μ g/L)	449 \pm 195	193-680
Alkalinity (mg CaCO ₃ /L)	222 \pm 49	3.9-280
TOC (Total organic carbon; mg C/L)	6 \pm 0.9	4.2-8.7
Groundwater Added (%)	22 \pm 14	5-40
Postchlorination dose (mg/L)(residual)	1.0 \pm 0.2	0.8-1.2
Ozone residual (mg/L)	0.2	-

*SD: standard deviation

Table S3. ESI/MS/MS acquisition parameters, limits of detection, recoveries and precision values in Milli/Q water and surface water matrices

	ESI/MS/MS parameters			Surface water			
	C.V. (V)	Transitions	C.E. (V)	LOQ (ng/L)	R ± RSD (%)	Run/to/run (%RSD) [*]	Day/to/day (%RSD) [*]
Nicotine	20	163>130 (117)	17 (23)	200	82 ± 3.1	6.2	9.7
Cotinine	30	177>80 (98)	31 (27)	200	81 ± 4.3	3.6	6.5
Caffeine	30	195>138 (110)	20 (25)	1.5	85 ± 4.8	3.8	5.0
Paraxanthine	30	181>124 (96)	20 (30)	200	80 ± 5.1	8.7	9.5
Amphetamine	15	136>119 (91)	8 (10)	0.8	75 ± 3.9	4.3	7.6
MDA	20	180>163 (105)	12 (20)	0.8	75 ± 4.0	5.7	7.2
METH	15	150>91 (119)	14 (12)	0.7	83 ± 2.1	4.6	5.2
MDMA	20	194>163 (105)	12 (31)	0.3	90 ± 5.0	2.5	7.9
MDEA	15	208>163 (133)	12 (18)	0.8	99 ± 3.4	3.0	4.8
Cocaine	25	304>182 (104)	17 (25)	0.15	90 ± 3.6	3.9	7.0
Benzoylcegonine	25	290>169 (150)	16 (20)	0.1	95 ± 4.2	3.1	4.5
Ketamine	25	238>125 (220)	18 (16)	3.1	85 ± 4.5	2.9	3.6
LSD	25	324>223 (208)	25 (30)	0.9	77 ± 3.9	2.3	5.8
PCP	10	244>85 (159)	17 (7)	0.8	88 ± 2.1	3.0	10.5
Fentanyl	25	337>188 (105)	22(26)	1.5	82 ± 2.9	6.1	7.4

R: recovery (R: recovery (spiked at 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine and cotinine and 80 ng/L for the other compounds; n=6); RSD: relative standard deviation

*Initial concentration 1.5 µg/L for paraxanthine, nicotine and cotinine and 80 ng/L for the other compounds. Run/to run precision calculated for n=6; Day/to day precision calculated for n=30.

Table S4. Drug concentrations in surface waters collected over 7 consecutive days (n=7x3) (December 2006) at the DWTP intake.

	Monday		Tuesday		Wednesday		Thursday		Friday		Saturday		Sunday	
	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD	Conc. ^a	SD
µg/L														
Nicotine	0.81	0.04	0.75	0.04	0.79	0.04	0.79	0.04	0.80	0.04	0.80	0.04	0.79	0.04
Cotinine	1.10	0.06	1.05	0.05	1.00	0.05	1.00	0.05	1.07	0.05	1.12	0.06	1.13	0.06
Caffeine	1.70	0.09	0.96	0.05	0.97	0.05	1.40	0.07	1.37	0.07	1.12	0.06	1.70	0.09
Paraxanthine	1.80	0.09	1.70	0.09	0.99	0.05	1.31	0.07	1.43	0.07	1.58	0.08	1.72	0.09
ng/L														
Amphetamine	50	3	0.8 ^b	/	0.8 ^b	/	0.8 ^b	/	20	1	25	1	35	2
METH	6.1	0.3	0.8 ^b	/	0.8 ^b	/	<0.2	/	5.1	0.3	5.9	0.3	6.1	0.3
MDA	25	1	0.7 ^b	/	<0.2	/	<0.2	/	<0.2	/	0.7 ^b	/	0.7 ^b	/
MDMA	55	3	4.9	0.2	0.3 ^b	/	0.3 ^b	/	15	1	25	1	45	2
Cocaine	60	3	35	2	2.1	0.1	15	1	45	2	55	3	60	3
BE	770	39	560	28	20	1	250	13	155	8	415	21	570	29

^aMean concentration of samples analyzed by triplicate; ^bMean values <LOQ calculated as the half of the LOQ

SD: standard deviation

Ketamine, LSD, PCP and fentanyl concentrations were <LOD (0.1 ng/L, 0.3 ng/L, 0.2 ng/L and 0.5 ng/L, respectively)

Table S5. Drug concentrations (ng/L) and elimination percentages through drinking water treatment (n=24; January 2007 to June 2007)

	Raw Water			Prechlorination +coagulation/flocculation + sand filtration treated water			Ozonated water			GAC filtrated water			Finished water (postchlorinated)			Total Elim. (%)
	Samples (>LOQ) ^a	Con. (ng/L) ^b	Elim. (%) ^c	Samples (>LOQ) ^a	Con. (ng/L) ^b	Elim. (%) ^c	Samples (>LOQ) ^a	Con. (ng/L) ^b	Elim. (%) ^c	Samples (>LOQ) ^a	Con. (ng/L) ^b	Elim. (%) ^c	Samples (>LOQ) ^a	Con. (ng/L) ^b	Elim. (%) ^c	
Nicotine	13	275-775	47±0.4	3	225-355	6±4	2	245-265	5±5	0	<LOD	100	0	<LOD	100	
Cotinine	13	220-6765	19±5	12	205-4470	11±4	4	115-380	64±0.4	4	150-320	0	4	150-320	0	
Caffeine	23	75-5560	41±4	8	65-3135	78±0.3	7	30-255	17±5	4	30-160	21±1	4	30-160	21±1	
Paraxanthine	17	410-4865	100	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	
Amphetamine	12	5-90	100	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	
METH	1	0.2-2	100	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	
MDA	5	2-50	100	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	0	<LOD	—	
MDMA	12	4-190	21±1	5	5-135	30±1	2	2-10	85±0.3	2	<LOD	—	0	<LOD	—	
Cocaine	18	3-120	16±3	10	1-65	25±1	4	35-55	100	0	<LOD	—	0	<LOD	—	
BE	23	20-1350	6±3	23	25-1000	36±1	23	6-220	76±0.4	22	3-130	24±2	22	3-130	24±2	

BE= Benzoylcegonine

^a Number of samples with concentrations higher than LOQ value; ^b Concentration ranges obtained; ^c Elimination percentage for each treatment calculated from samples with concentrations higher than LOQ± relative standard deviation. LODs (treated water): Nicotine and Cotinine (30 ng/L); Paraxanthine (25 ng/L); Caffeine (0.3 ng/L); Amphetamine, METH and MDA (0.15 ng/L); MDMA (0.17 ng/L); Ketamine (0.2 ng/L); Cocaine and BE (0.04 ng/L); LSD and PCP (0.1 ng/L); Fentanyl (0.2 ng/L)

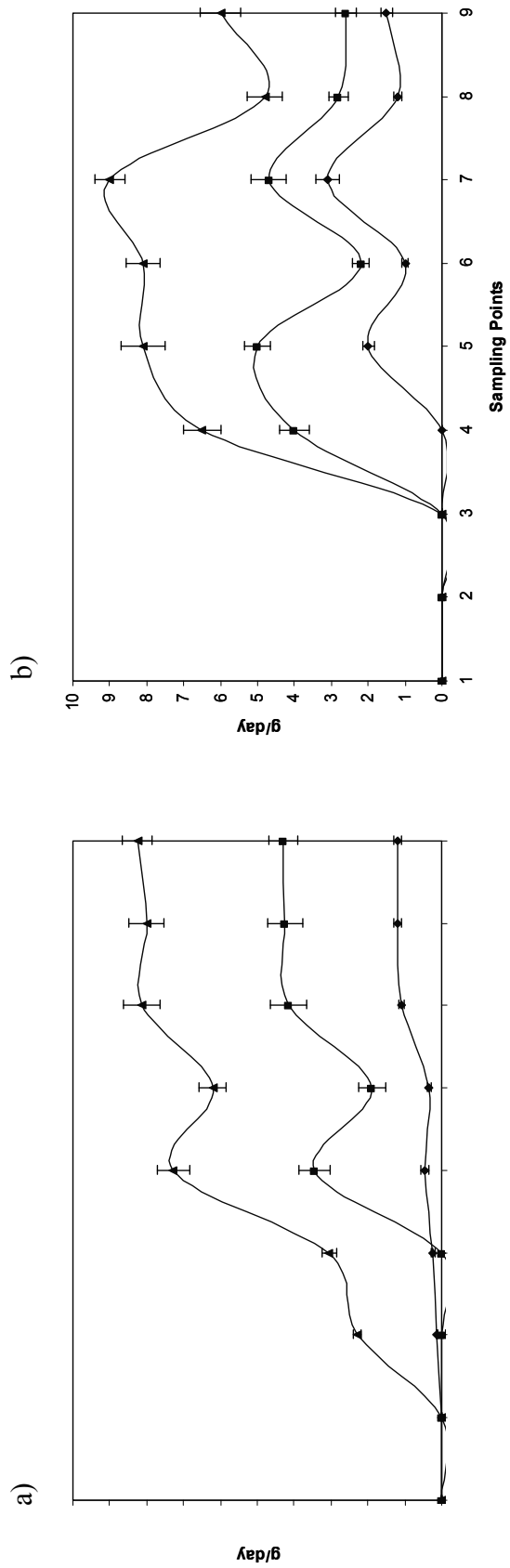


Figure S1. Estimated loads of a) cocaine + benzoylcegonine and b) MDMA + MDA through Llobregat River during three campaigns performed in (▲) January, (■) March and (◆) May 2007. Vertical lines indicate standard deviation obtained when performing analysis by triplicate.

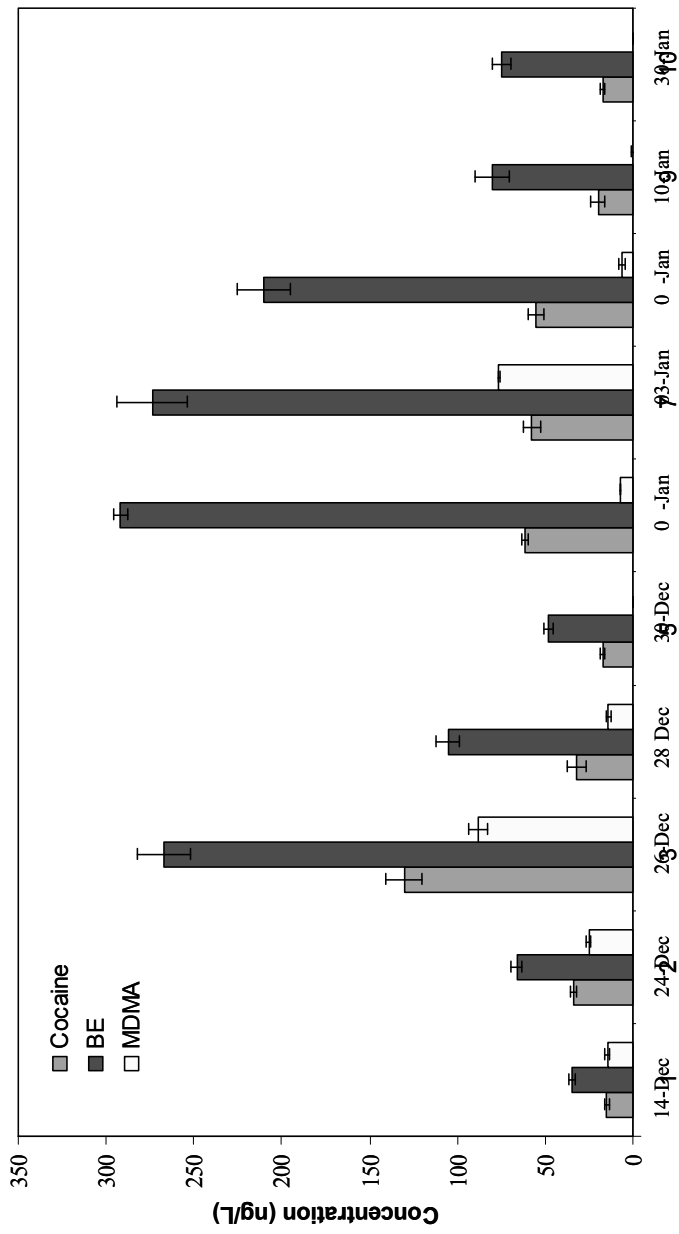


Figure S2. Seasonal concentrations in ng/L of cocaine, benzoylecgonine and MDMA at the intake of a DWTP from 14 December 2006 to 30 January 2007. Vertical lines indicate standard deviation obtained when performing analysis by triplicate.

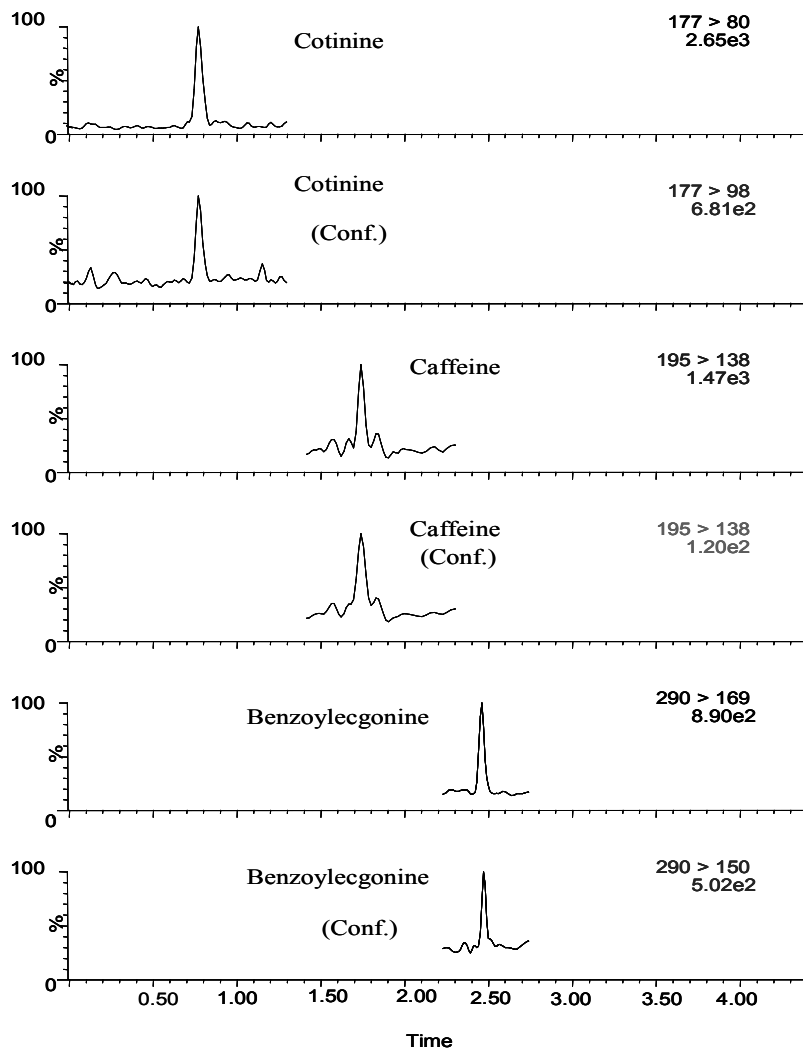


Figure S3. Extracted ion chromatograms of treated water in SRM acquisition mode. (Conf.= Confirmation transition)

3.3. DISCUSSIÓ DE RESULTATS

En aquest apartat es discuteixen els resultats obtinguts en l'anàlisi de les mostres d'aigües residuals i aigües superficials recollides en diverses campanyes i que fan referència tant a la presència i eliminació de drogues en el medi aquós com a les variacions estacionals i/o setmanals. S'inclou també un apartat sobre l'ús dels resultats obtinguts com a biomarcadors per a l'extrapolació de consums.

3.3.1. Presència de les drogues d'abús en aigües residuals i eliminació en EDARs

L'estudi inclòs en l'Article Científic III (apartat 3.2.1) va posar de manifest per primera vegada a Espanya la presència de diverses drogues d'abús estimuladores en aigües residuals. Aquest treball es va vertebrar sobre tres estudis diferenciats que van permetre obtenir un primer panorama real del comportament de les drogues d'abús en aigües residuals. Les tres línies d'estudi van consistir en una avaluació de la presència de drogues d'abús a l'entrada d'EDARs, l'avaluació de les eliminacions assolides en tractaments convencionals de depuració i l'avaluació de les variacions temporals en les concentracions d'aquestes substàncies al llarg de la setmana. Cada un d'aquests estudis va incloure mostres diferenciats adaptats als objectius que es pretenien assolir.

L'objectiu inicial d'aquest treball va consistir per tant, en una primera aproximació a l'estudi de la presència de drogues d'abús estimuladores en aigües residuals, a establir els nivells de concentració als que podien arribar a trobar-se i identificar aquelles substàncies més freqüents. L'estudi dels efluents de les EDARs pretenia avaluar les característiques recalcitrants d'algunes d'aquestes substàncies així com la seva possible introducció en les aigües superficials. Per tal d'assolir aquest primer objectiu es van recollir mostres puntuals en diferents instal·lacions distribuïdes per la geografia catalana (Fig 1, article científic III, apartat 3.2.1) de manera que també es va poder establir la ubiqüitat d'aquestes substàncies en les aigües residuals de tot el territori català. Els resultats obtinguts van permetre confirmar la presència de vuit de les drogues il·lícites estudiades a més de la cafeïna i la nicotina. La cocaïna i el seu metabòlit, benzoilecgonina són les substàncies il·lícites detectades més habitualment a concentracions de l'ordre dels $\mu\text{g/L}$ (concentracions màximes de 4.7 i 7.5 $\mu\text{g/L}$ respectivament) seguides per l'amfetamina (0.7 $\mu\text{g/L}$) i alguns

derivats com el MDMA (0.6 µg/L). Aquests resultats suggereixen un perfil de consum en el país, ja establert en l'Article Científic I (apartat 2.3.1), que ha estat confirmat per altres autors (Postigo i cols., 2008) i que és extrapolable, en línies generals, a la resta de la geografia espanyola (Vazquez-Roig i cols., 2010, Pedrouzo i cols., 2011, Esteban i cols., 2012). En aquesta línia, per exemple, un treball recent publicat l'any 2014, referent a aigües residuals de València (Bijlsma i cols., 2014) confirma aquest rànquing de consum de substàncies i estableix nivells de concentració de l'ordre dels publicats en els Articles Científics I (apartat 2.3.1) i III (apartat 3.2.1) d'aquesta memòria. Aquests resultats posen de manifest en primer lloc que l'estudi de la presència de les drogues d'abús en aigües residuals permet establir tendències de consum fidedignes ja que aquests es correlacionen perfectament amb els establerts per Agències Internacionals (United Nations-Office on Drug and Crime, 2014) i a més, que aquests resultats poden ser comparables entre regions en termes de prevalences i que semblen ser estables en el temps.

El segon objectiu d'aquest treball era avaluar les eliminacions obtingudes en vuit EDARs seleccionades per aquest estudi usant mostres integrades de 24 hores a entrada i sortida de planta tenint en compte els temps de retenció hidràulics de cada una d'elles. Es va seleccionar aquest tipus de mostreig ja que permet obtenir mostres representatives d'un determinat període de temps evitant les possibles fluctuacions que s'obtenen en mostres puntuals (Ort i cols., 2010, Castiglioni i cols., 2013), com per exemple, les que es poden trobar al llarg d'un mateix dia degudes tant als cabals operatius de la planta com a les oscil·lacions de la població servida que presenta importants variacions entre el dia i la nit. Tot i així, cal tenir en compte que una presa de mostra integrada presenta inherentment una sèrie de desavantatges que convé considerar. Entre aquests, cal esmentar les variacions en el volum d'aigua tractada per l'estació que poden induir a errors en el càlcul de les concentracions, o la representativitat del dia seleccionat, ja que com més endavant comprovarem existeixen oscil·lacions entre els dies de la setmana. El principal problema però, relacionat amb l'ús del mostreig integrat, és l'estabilitat de les pròpies substàncies a analitzar durant les 24 hores de mostreig i emmagatzematge en condicions ambientals (temperatura, precipitacions, etc.). Algunes de les substàncies, poden patir degradacions i/o transformacions en funció d'aquests factors, que poden conduir a sobre- o infra-estimacions de les concentracions reals i a importants variacions en les conclusions extretes dels resultats obtinguts. Cal per tant, ser curosos en la selecció del mètode de mostreig considerant que en qualsevol cas les desviacions obtingudes són importants i tenint en

compte aquesta premissa, en tots els treballs inclosos en aquesta memòria es van seleccionar els mètodes de mostreig que es van considerar més adients per a cada campanya i objectiu associat. En el cas concret de l'estudi de l'Article Científic II (apartat 3.2.1.), en relació als percentatges d'eliminació, algunes d'aquestes desviacions són parcialment minimitzades ja que s'aplica el mateix mètode de mostreig tant a l'entrada com a la sortida de la planta. D'aquesta manera, i en condicions correctes d'operació de l'estació, s'avalua, la capacitat d'eliminació dels diferents tractaments aplicats per a aquestes substàncies així com les possibles transformacions que puguin patir durant el procés, deixant de banda el cabal operatiu o variacions setmanals/estacionals. És evident però, que la càrrega de matèria orgànica i les característiques de les aigües residuals d'entrada i sortida són molt diferents i per tant durant l'emmagatzematge de 24 hores, els processos de transformació poden ser també diferents. Tot i així, els estudis publicats en referència a l'estabilitat i degradació de les drogues il·lícites en aigües residuals (Terzic i cols., 2010, van Nuijs i cols., 2012), han demostrat que la majoria de les drogues il·lícites analitzades en aquest estudi, presenten bones estabilitats en condicions reals i a temperatura ambient i per tant la utilització de mostres compostes resulta ser la més adient.

En aquesta línia i pel que fa a les amfetamines, es va observar un efecte curiós per al MDA ja que en una de les estacions estudiades es va produir generació del producte enlloc d'eliminació (-30%). Aquest fet pot estar relacionat amb un procés de transformació d'alguna altre amfetamina. En concret una des-alquilació dels substituent amino tant del MDMA com del MDEA, pot conduir a altres espècies, com el MDA (Pizarro i cols., 2004, Butler i Guilbault, 2004, Thai i cols., 2014) (Figura 3.2.). El fet que aquest increment tan sols s'hagi detectat en una de les vuit estacions mostrejades pot estar relacionat amb les concentracions del total d'amfetamines que en aquesta estació eren les més elevades i a més, presentar les pitjors eliminacions per a totes elles. Aquest fet suggereix una transformació durant el procés, més que durant l'emmagatzematge, ja que els estudis d'estabilitat en mostra presenten bones conservacions per aquest compost. Els percentatges d'eliminació per a la resta de compostos de tipus amfetamínic (50-99%) en les diferents estacions es troben en línia amb els publicats posteriorment per altres autors (Bijlsma i cols., 2009, Loganathan i cols., 2009, Pal i cols., 2013, Repice i cols., 2013) en EDARs amb similars tractaments (Kasprzyk-Hordern i cols., 2009).

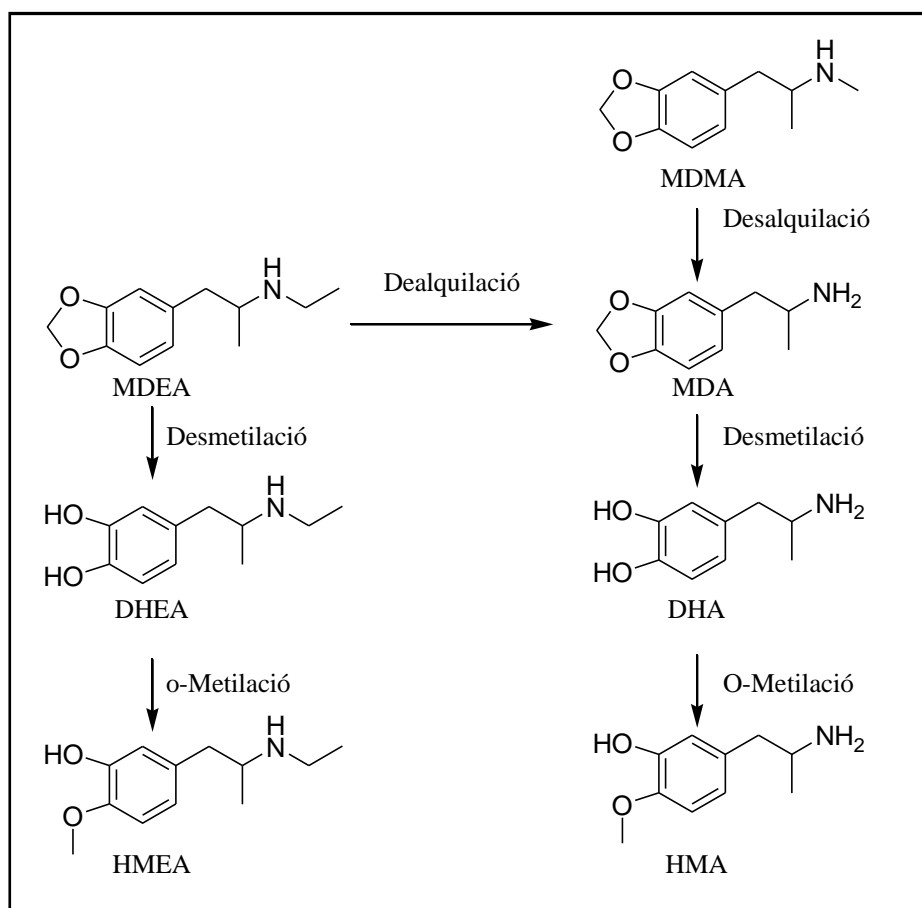


Figura 3.2. Mecanisme de degradació parcial del MDA, MDMA i MDEA. DHEA: 3,4-dihidroxi-etilamfetamina; DHA: 3,4-dihidroxi-amfetamina; HMEA: 3-hidroxi-4-metoxi-etilamfetamina; HMA: 3-hidroxi-4-metoxi-amfetamina.

Pel que fa a la cocaïna i a la benzoilecgonina, els elevats percentatges d'eliminació obtinguts (>88%) també es troben en línia amb els publicats posteriorment que descriuen eliminacions entre el 72-100% per a la cocaïna i entre el 70-100% per a la benzoilecgonina (Bijlsma i cols., 2009, Loganathan i cols., 2009, Karolak i cols., 2010, Postigo i cols., 2010, Pal i cols., 2013, Repice i cols., 2013). Ara bé, per a la cocaïna cal destacar que estudis d'estabilitat i degradació duts a terme per a aquesta substància en matrius d'aigües residuals en condicions ambientals, mostren importants percentatges de degradació que van del 7% fins al 50% (Castiglioni i cols., 2006, Chiaia i cols., 2008, Gheorghe i cols., 2008, Gonzalez-Mariño i cols., 2010, van Nuijs i cols., 2011a, Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b, Thai i cols., 2014). L'ús de marcadors deuterats (Thai i cols., 2014) ha posat de manifest que la cocaïna degradada es transforma en benzoilecgonina de manera que eliminacions del 20% del precursor, produeixen increments al voltant del 8-14% de benzoilecgonina 12 hores després d'iniciar l'estudi. Segons aquestes aproximacions, els percentatges

d'eliminació calculats en condicions normals per a la cocaïna estaran sobreestimats ja que part de l'eliminació d'aquesta substància vindrà donada per la seva transformació mentre que per a la benzoïlecgonina els percentatges obtinguts estaran subestimats ja que es parteix de concentracions més elevades que les inicialment detectades. Tot i així, els elevats i similars percentatges d'eliminació obtinguts en tots els estudis publicats per a aquests compostos permeten concloure que els tractaments convencionals de depuració són capaços d'assolir importants percentatges de degradació de la majoria de drogues il·lícites detectades en aquesta tesi.

Pel que fa a les drogues psicoactives no il·legals, la cafeïna, la nicotina i els seus metabòlits, es detecten en aigües residuals a elevats nivells de concentració (mg/L) en totes les EDARs estudiades, la qual cosa posa de manifest la seva ubiqüitat ambiental relacionada amb el seu consum generalitzat. Les concentracions mitjanes de cafeïna (53.7µg/L) i Paraxantina (42.5µg/L) són de l'ordre dels detectats en d'altres estudis (Buerge i cols., 2003, Santos i cols., 2009, Rosal i cols., 2010, Martinez Bueno i cols., 2011, Senta i cols., 2015) mentre que les de nicotina (32.5µg/L) i cotinina (5.1 µg/L) es troben per sobre de les obtingudes en posteriors estudis realitzats a Suïssa (Buerge i cols., 2008) i Itàlia (Senta i cols., 2015) i coincideixen amb els nivells detectats en estudis realitzats a Espanya (Bueno i cols., 2011, Martinez Bueno i cols., 2011), indicant unes certes variacions regionals en les concentracions i per tant, en el consum d'aquestes substàncies. El percentatges d'eliminació de totes elles, tal i com es descriu a l'apartat 3.2.1., són elevats (del 70% a més del 99%) i en línia amb els publicat a la literatura.

3.3.2. Presència de les drogues d'abús en aigües superficials

La primera part de l'Article Científic IV (apartat 3.2.2) està dedicat a l'estudi de la presència de les drogues d'abús estimuladores en aigües superficials de la conca del riu Llobregat. Es va seleccionar aquesta conca per la seva localització en una zona densament poblada, pròxima a la ciutat de Barcelona, que es troba sotmesa a la influència de la descàrrega de moltes EDARs, i perquè hi té lloc la captació d'aigua superficial per a la producció d'aigua potable a l'ETAP de San Joan Despí que ha estat objecte d'estudi en aquesta tesi.

Els punts de mostreig seleccionats (veure Fig. 1, article IV, apartat 3.2.2) van permetre identificar zones amb majors pressions ambientals degut als abocaments de les EDARs que es troben al llarg de la conca i als efectes acumulatius produïts pels efluents que hi convergeixen. Pel que fa referència a la presència de cocaïna i del seu metabòlit, la benzoïlecgonina, es va observar una tendència creixent al llarg del curs del riu fins a la desembocadura. A la Figura 3.3. es mostren els resultats obtinguts en els tres mostrejos realitzats entre Gener i Maig del 2007 en el riu Llobregat, expressades com a g/dia, a partir de les dades incloses en la Taula 2 de l'Article IV. En l'evolució de les concentracions apareix un increment important en el punt de mostreig 7, que correspon a la confluència de l'efluent Anòia amb el riu Llobregat, i que lluny de provocar una disminució en les concentracions mesurades per efecte de dilució, contribueix a incrementar-les donades les altes concentracions detectades per al MDMA, la cocaïna i la benzoïlecgonina en aquest efluent (2.1, 2.8 i 29 g/dia respectivament).

Per altra banda també s'observen un increment elevat per a la cocaïna entre el punt 4 i el 5, durant la campanya de Gener, i entre aquest i el punt 6, durant la campanya de Maig. Aquests punts de mostreig es troben després de la confluència del riu Cardener amb el Llobregat però les baixes concentracions detectades en general en aquest l'efluent fan difícil una justificació per efecte acumulatiu. Un aspecte a considerar en l'estudi d'aigües superficials, és la possibilitat d'una introducció directa de drogues, per exemple cocaïna, que pot conduir a un increment sobtat en la seva concentració en algun punt de mostreig. Ara bé, en un riu, no és senzill determinar si la introducció ha estat directa o indirecta ja que les relacions molars compost/metabòlit usades en aigües residuals en estudis d'aquest tipus no es mantenen degut a les degradacions que tenen lloc en condicions naturals. Per exemple, en el cas concret de la cocaïna, que com ja s'ha comentat experimenta processos de degradació/transformació natural en aigües superficials (Castiglioni i cols., 2006, Gheorghe i cols., 2008), les relacions molars COC/BE haurien de ser inferiors a les de les aigües residuals. Alguns autors (Postigo i cols., 2010) han proposat un interval de relacions molars aplicable a aigües superficials d'entre 0.02 i 0.27, tot i que cal esmentar que aquest interval pot variar molt degut a múltiples factors com la qualitat de l'aigua, la temperatura o episodis de pluges (que poden contribuir a dilucions). Tot i així, en el cas de les dades d'aquesta tesi, i en concret per als increments observats en els punts 5 i 6 de mostreig, si

s'utilitza aquest interval (0.02-0.21) en una primera aproximació les relacions COC/BE obtingudes es troben entre els valors proposats excepte durant la campanya realitzada el mes de Maig quan es van observar relacions molars entre 0.29 i 0.41. Aquestes relacions més elevades podrien indicar una introducció directa d'aquesta substància entre el punt 5 i 6 durant la campanya realitzada el mes de Maig del 2007.

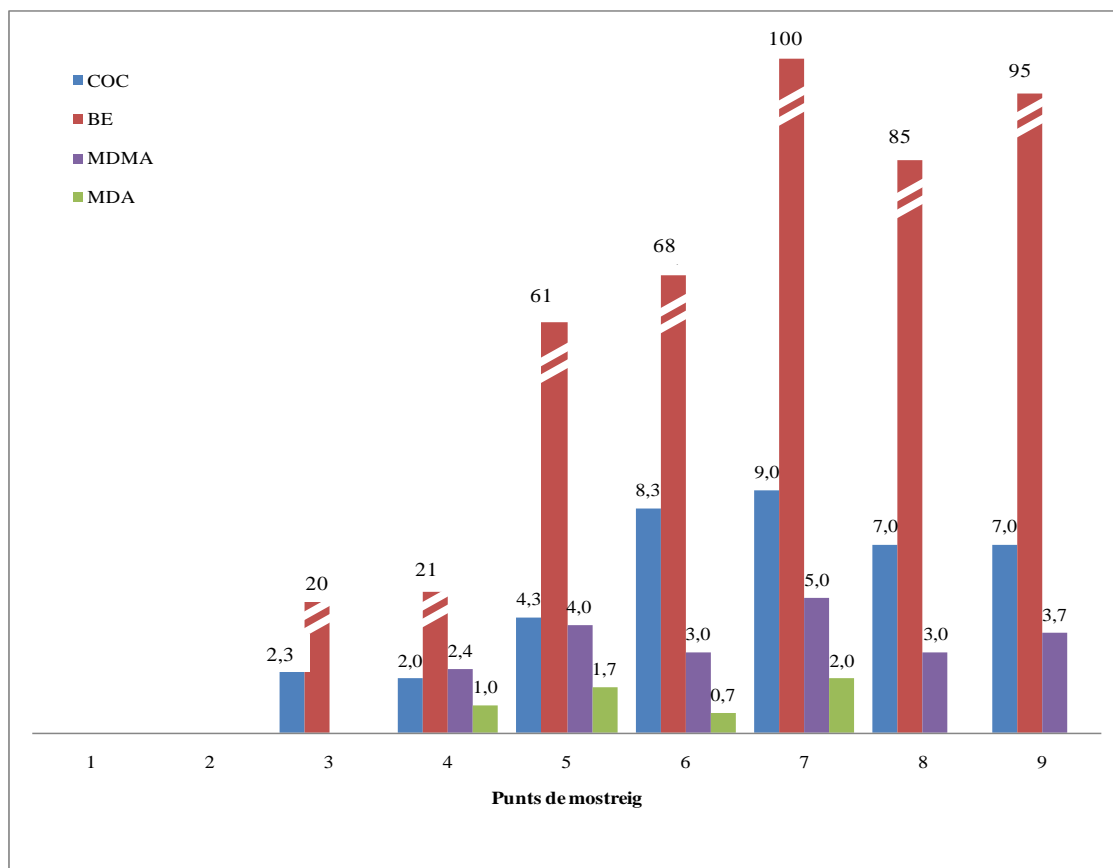


Figura 3.3. Evolució de la presència de les drogues il·lícites detectades al llarg del curs del riu Llobregat (Gener-Maig 2007). Els valors estan expressats com a càrregues mitjanes (g/dia; n=3). Els punts de mostreig s'indiquen a la Fig.1 de l'article IV (apartat 3.2.2)

Pel que fa als valors obtinguts (l'Article IV) i en concret a les concentracions mesurades al llarg del curs del riu Llobregat tant per la cocaïna (1-7.6ng/L) com per la benzoilecgonina (1-870 ng/L), cal indicar que són similars a les obtingudes en altres estudis (Taula 3.1.) realitzats en aigües superficials d'Itàlia, Bèlgica i d'Espanya (Postigo i cols., 2010, Gonzalez-Mariño i cols., 2010, Vazquez-Roig i cols., 2010, Martinez Bueno i cols., 2011, Valcarcel i cols., 2012, Mendoza i cols., 2014a) i més elevades que les trobades a Alemanya, Irlanda (Bones i cols., 2007a), Anglaterra, Suïssa (Berset i cols., 2010b), i

Estats Units. Les diferències en les concentracions detectades entre països està probablement relacionat amb el diferent grau de consum de cocaïna. De fet, segons la UNODC (United Nations-Office on Drug and Crime, 2014), Espanya es troba entre els principals països en consum de cocaïna a nivell mundial i els estudis comparatius realitzats en aigües residuals en diferents ciutats europees comentats en la introducció d'aquest capítol evidencien aquest fet (Thomas i cols., 2012, Ort i cols., 2014). Pel que fa referència a les principals amfetamines detectades, el MDMA i el MDA, es troben també a concentracions similars a les descrites en d'altres estudis (Bones i cols., 2007a, Zuccato i cols., 2008a, Loganathan i cols., 2009, Postigo i cols., 2010). El cas concret de l'MDMA resulta interessant ja que aquesta substància va ser detectada a concentracions lleugerament més elevades (1.5-3.5 ng/L) en el riu Llobregat que en d'altres punts de la geografia espanyola: Almeria (no detectada) (Martinez Bueno i cols., 2011), Castella-La Manxa (0.6-2.5 ng/L) (Valcarcel i cols., 2012) o Castelló (0.5-1.8 ng/L) (Bijlsma i cols., 2014). Aquest fet pot estar relacionat amb les diferents prevalences de consum que s'observen entre diferents zones geogràfiques d'un mateix país. Per exemple recentment Mendoza et al (Mendoza i cols., 2014a) han detectat, a la regió de Madrid, concentracions de l'ordre de les detectades en l'Article Científic IV (apartat 3.2.2.). Aquests resultats es troben en línia amb els informes nacionals sobre consum de drogues il·lícites, que indiquen que Madrid i Catalunya són les regions amb un consum més elevat d'aquestes substàncies (Ministerio de Sanidad, 2013). Tot i així, per a aquests compostos, i a efectes comparatius, cal tenir en compte les importants variacions setmanals i estacionals a les que estan sotmesos i que poden per tant, influir en les estimacions realitzades a nivell global. Pel que fa a l'evolució al llarg del recorregut del riu estudiat, es poden observar perfils similars als de la cocaïna per a les amfetamines detectades amb contribucions importants dels efluents en les concentracions principalment de MDMA i MDA.

Per últim cal destacar que l'estudi de l'apartat 3.2.2 (Article Científic IV) va posar de manifest la presència d'algunes substàncies psicoactives en aigües superficials a concentracions tan elevades com les d'altres contaminants emergents (analgèsics, hormones) les quals ja han estat inclosos recentment en la llista d'observació de la Directiva Marc de l'Aigua (European Commission, 2013).

3.3.3. Variacions temporals

A l'Article Científic III (apartat 3.2.1), s'inclou un estudi sobre les variacions setmanals en les concentracions de les drogues estudiades en aigües residuals. Aquest treball va ser el primer en realitzar una aproximació d'aquestes característiques per a les drogues il·lícites i es van establir per primera vegada variacions entre dies de la setmana que es poden extrapolar als perfils de consum d'algunes d'aquestes substàncies. A la Figura 3.4. es mostra l'evolució de la presència d'aquestes substàncies on es pot observar que les amfetamines són les que pateixen unes oscil·lacions més marcades ja que per exemple compostos com l'MDA o la metamfetamina tan sols es detecten durant els dies propers al cap de setmana. Altres estudis realitzats amb posterioritat han mostrat uns perfils similars al llarg de la setmana. Per exemple, Irvine et al (Irvine i cols., 2011) van detectar concentracions de MDMA durant el cap de setmana cinc vegades superiors a les obtingudes durant la resta de dies a la ciutat d'Adelaida (Austràlia) mentre un estudi realitzat durant nou setmanes consecutives a la ciutat de Zagreb (Croàcia) va revelar que les concentracions d'amfetamina i MDMA eren fins a quatre vegades més altes els caps de setmana que durant la setmana (Terzic i cols., 2010). Baker et al, (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b) també van observar tendències similars a Anglaterra i Gal·les, on per exemple les concentracions de metamfetamina i MDMA van mostrar un increment important durant el cap de setmana, resultats que es van reproduir a Bèlgica (van Nuijs i cols., 2011a, van Nuijs i cols., 2012). Aquest increment generalitzat de les drogues de tipus amfetamínic durant els caps de setmana es relaciona directament amb el fet que, segons la UNODC (United Nations-Office on Drug and Crime, 2014), aquestes substàncies són considerades d'ús recreatiu més que de consum habitual. De fet el MDMA o èxtasi es coneguda com la "droga de club" i és consumida habitualment en ambients festius en dies determinats.

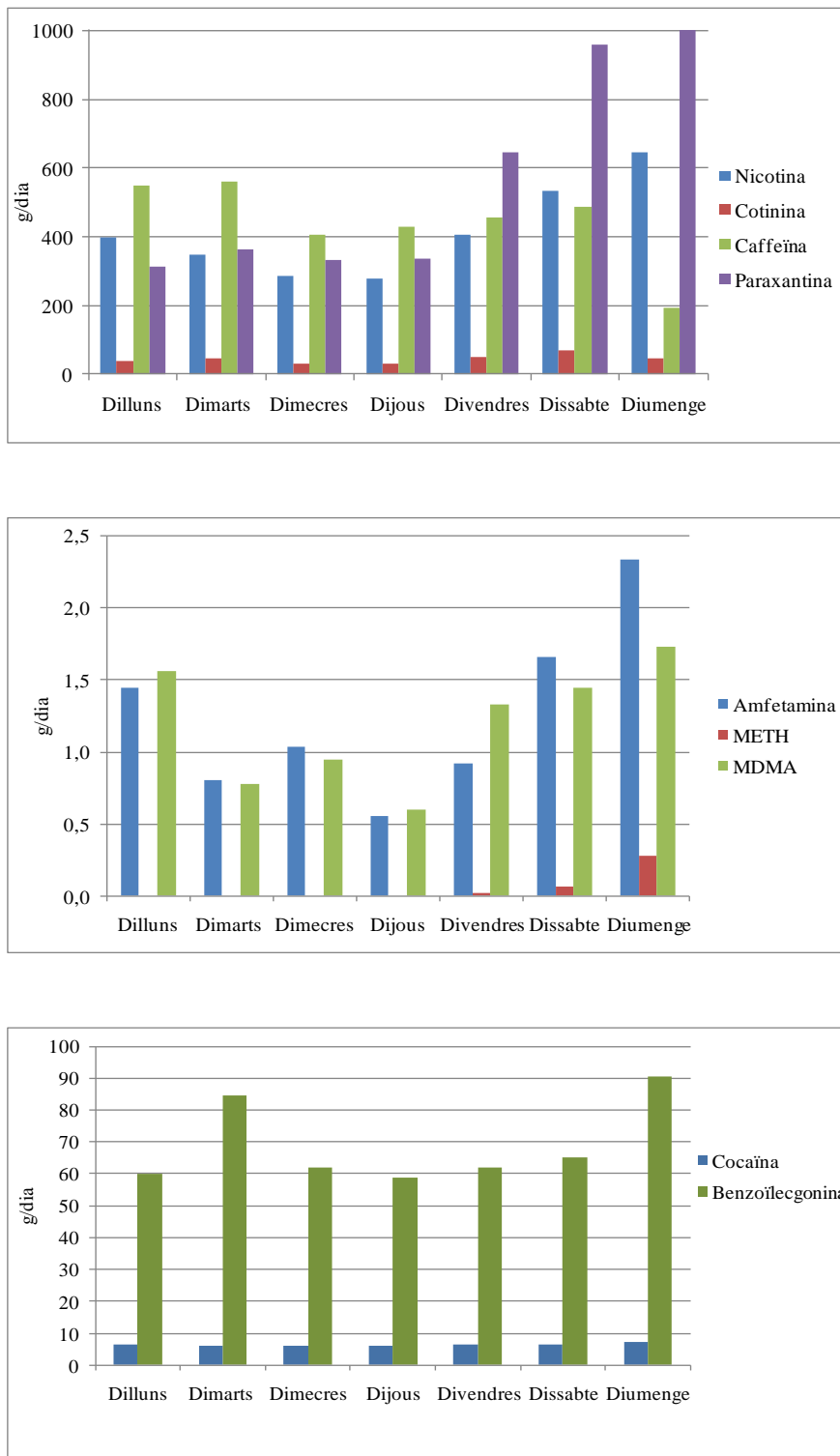


Figura 3.4. Evolució setmanal en aigües residuals de les substàncies detectades. En el gràfic s'indiquen les carregues (mg/dia) per a cada compost.

Pel que fa a la cocaïna i la benzoïlecgonina, tot i que s'observen lleugers increments durant el cap de setmana (Figura 3.4), no es detecten variacions tan destacables com les de les amfetamines, la qual cosa indica un consum més constant d'aquesta substància. S'han descrit resultats similars a Austràlia (Irvine i cols., 2011) o els recentment publicats a la illa de Martinica al Carib (Damien i cols., 2014). Tot i això, d'altres estudis, mostren variacions molt més destacables en les concentracions d'aquestes substàncies durant el cap de setmana, com per exemple els realitzats a Itàlia (Zuccato i cols., 2008b), Bèlgica (van Nuijs i cols., 2009b, van Nuijs i cols., 2011b), Croàcia (Terzic i cols., 2010), França (Karolak i cols., 2010) o Espanya (Bijlsma i cols., 2009, Bijlsma i cols., 2014). En general per aquesta substància es descriuen tant usos recreatius (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, 2014) com consums més lligats a dependència constant (Lai i cols., 2013). Aquesta dualitat en el tipus de consum de la cocaïna pot determinar aquestes variacions menys acusades durant el cap de setmana, que per exemple les observades per a drogues fonamentalment d'ús recreatiu com el MDMA, i que poden suggerir que en la zona d'estudi tot i existir consum recreatiu, es troba també una aportació important de consum dependent i estable d'aquesta substància al llarg de tota la setmana.

En aquesta tesi també s'ha dut a terme un estudi de les variacions en funció del dia de la setmana de la presència de les drogues en aigües superficials en el punt de captació de l'aigua del riu Llobregat per a la producció d'aigua potable (Article Científic IV, apartat 3.2.2). Aquests estudis no permeten extreure tan fàcilment perfils de consum temporals com els duts a terme amb aigües residuals atès que l'atenuació natural a més de les condicions ambientals canviant, poden alterar els resultats. Tot i això, els estudis en aquests tipus de matrius permeten disposar d'informació interessant des d'un punt de vista ambiental. Per exemple, l'efecte que poden tenir pics continuats d'introducció, establir períodes de major problemàtica ambiental i en el cas concret d'aquesta tesi, obtenir informació que pot incidir en el posterior tractament de potabilització de les aigües captades.

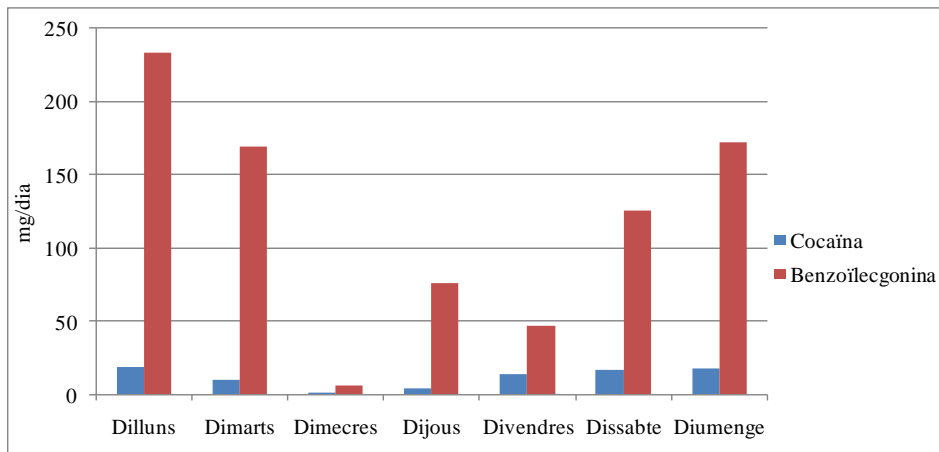
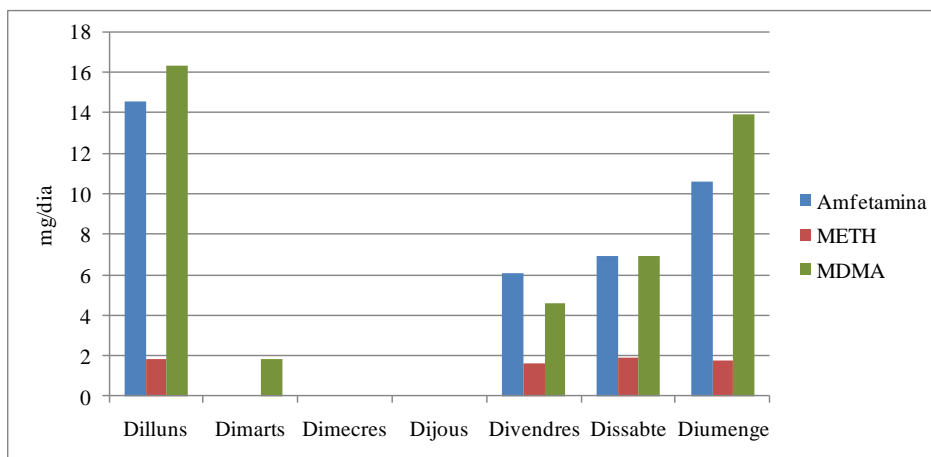
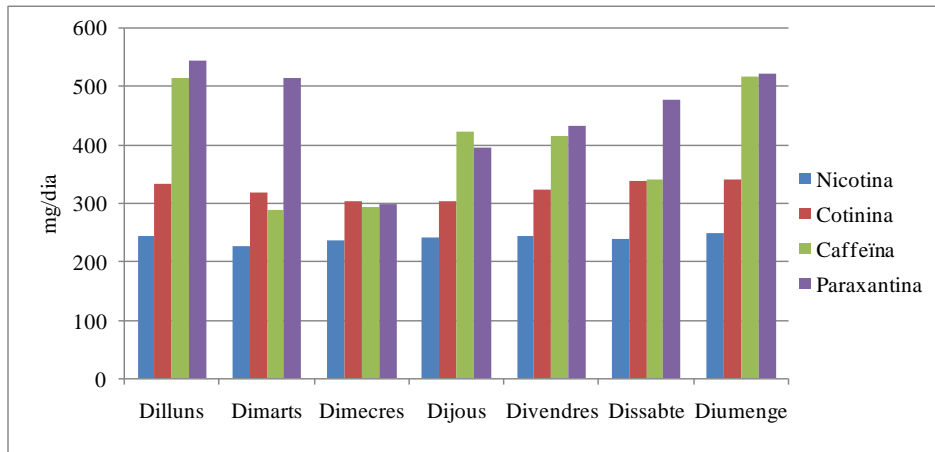


Figura 3.5. Evolució setmanal en aigües superficials a la planta potabilitzadora de Sant Joan Despí de les substàncies detectades expressade en (mg/dia).

Els resultats obtinguts en aquest estudi setmanal es resumeixen a la Figura 3.5, i permeten observar clarament variacions importants entre els dies de la setmana. A diferència dels resultats obtinguts en aigües residuals, s'observa que les concentracions màximes es detecten el dilluns la qual cosa és explicable ja que a diferència de les aigües residuals, en aquest cas existeix un decalatge més gran entre l'entrada de la substància a la xarxa de sanejament i la seva mesura en les aigües del riu. Partint d'aquesta premissa es pot comprovar que els màxims consums corresponen als caps de setmana per a totes les substàncies. Aquest fet és destacable especialment per la cocaïna i el seu metabòlit, que en l'estudi en aigües residuals no mostraven variacions tan importants entre els dies de la setmana mentre que en el cas de les aigües superficials aquesta diferència resulta molt evident. A més, el fet que les relacions entre droga i metabòlit (0.06-0.27) es mantinguin en els intervals establerts per aigües naturals (Postigo i cols., 2010) indica l'absència d'introducció directa de cocaïna al medi així com un augment de l'atenuació natural en algun dia concret. Una possible explicació d'aquestes diferències de comportament entre aigües residuals i superficials podria estar relacionada amb el tipus de perfils de consum de la població servida per la EDAR i el del global de la població que representa el riu mostrejat en el punt d'entrada a l'ETAP. Cal destacar que un dels efluents del riu Llobregat (riera de Rubí) és una zona amb una important concentració de zones recreatives que poden alterar els perfils de variació setmanal. Nogensmenys, aquests resultats posen de manifest que si bé els esforços actualment es centren en l'ús de les aigües residuals com a marcadors de consum, existeixen variables relacionades amb el comportament general de zones que abarquen una població més àmplia o d'activitats concretes i temporals, que un estudi en matrius naturals podria contribuir a evidenciar.

En l'estudi de les variacions estacionals es va observar també que les màximes concentracions de les drogues il·legals es van detectar a l'estiu i l'hivern, mentre que a la primavera i a la tardor aquestes concentracions decreixien notablement (Taula 2, Article Científic V, apartat 3.2.2). Kasprzyk-Hordern i cols. en un estudi similar dut a terme en aigües superficials d'Anglaterra també van trobar les concentracions màximes tant de cocaïna com d'amfetamines al mes d'agost coincidint amb el període de vacances (Kasprzyk-Hordern i cols., 2008). Aquest comportament concorda amb estudis a llarg termini (mesos) que, encara que s'han realitzat en aigües residuals (Harman i cols., 2011, van Nuijs i cols., 2011b, Lai i cols., 2013), han posat de manifest augments en les concentracions en èpoques de vacances o festives. En relació a èpoques festives, els

estudis duts a terme en aquesta tesi (Article Científic IV, apartat 3.2.2) van mostrar que l'increment de concentracions durant l'època d'hivern es centrava fonamentalment entre desembre i gener, i en concret durant les festes de Nadal, Cap d'Any i Reis (Fig. S2, Article científic IV, *Supporting Information*, apartat 3.2.2.), molt especialment per a la benzoilecgonina, amb concentracions màximes de 85 g/dia (mitjanes anuals 11 g/dia), i per al MDMA, amb concentracions màximes de 27 g/dia (mitjanes anuals 2.33 g/dia). D'altres autors han observat tendències similars durant les festes de Cap d'Any. Per exemple, van Nuijs i cols. van comprovar increments importants en el consum de cocaïna (1544 mg/dia·1000 hab. respecte la mitjana de 519 mg/dia·1000 hab.) i sobretot de MDMA (286 mg/dia·1000 hab. respecte la mitjana de 13 mg/dia·1000 hab.) durant aquestes dates a Bèlgica, mentre que a Austràlia, els consums estimats es multipliquen per 1.5 en el cas de la cocaïna, i per 1.6 per l'MDMA (Lai i cols., 2013). Aquests increments també han estat descrits per d'altres autors durant la celebració d'altres fets puntuals, com poden ser festes de graduació (Harman i cols., 2011), events esportius (Gerrity i cols., 2011) o festivals musicals. Per exemple, Van der Aa i cols. van detectar durant un estudi setmanal un increment en les concentracions de MDMA deu vegades per sobre de les habituals (80 g/dia), atribuïble segons els autors a una festa *dance* realitzada un dia abans d'iniciar el mostreig (Van der Aa i cols., 2013). I Bijlsma i cols. van constatar increments en les concentracions de MDMA (406 g/dia) i benzoilecgonina (121 g/dia) durant la celebració d'un festival de música (Bijlsma i cols., 2014).

Les variacions estudiades en els dos articles recollits en aquest capítol de la memòria, tant en aigües residuals com superficials, van posar de manifest en el seu moment l'existència de variacions importants en les concentracions de les substàncies estudiades en funció del dia de la setmana, del mes, de si es tracta de períodes festius o de vacances i, fins i tot, de la proximitat a zones recreatives (com per exemple les variacions observades en EDARs properes a estacions d'esquí durant els mesos d'hivern). Aquests estudis han estat reproduïts posteriorment per múltiples autors en diferents regions amb diferents problemàtiques, i tots ells han evidenciat aquestes mateixes conclusions, que condueixen a plantejar la importància d'establir acuradament els plans de mostreig i a realitzar amb cura qualsevol estudi comparatiu o epidemiològic que se'n derivi.

3.3.4. Biomarcadors d'aigües residuals, càlculs de consum i estudis epidemiològics.

En la introducció d'aquest capítol (apartat 3.1) i a l'article científic III (apartat 3.2.1) s'ha tractat el tema de la possible utilització de les concentracions de drogues en aigües residuals per calcular el consum de la població. En aquesta tesi s'ha calculat el consum de cocaïna i èxtasi (MDMA) a partir de les dades de presència d'aquests compostos en aigües residuals, i s'han obtingut, respectivament, percentatges de consum d'un 1.4% i un 1.1.% de la població entre 15 i 64 anys. Això representa 14 ± 3 dosis per dia de cocaïna i 2 dosis per dia d'MDMA per 1000 habitants en aquesta franja d'edat. Lai i cols. han realitzat estudis similars i en el seu estudi realitzat a Austràlia les tendències de consum semblen invertides, amb 1 dosi de cocaïna i 18 dosis de MDMA per 1000 habitants entre 15 i 64 anys (Lai i cols., 2013). Aquests valors tan allunyats entre si poden reflectir uns perfils de consum diferenciats entre ambdues zones, el que es recull en informes oficials (United Nations-Office on Drug and Crime, 2015). De fet, un estudi realitzat en una zona geogràfica propera a la del treball recollit a l'apartat 3.2.1., la conca del riu Ebre, mostra unes extrapolacions de consum de cocaïna molt similars a les obtingudes en aquesta tesi, amb un valor mitjà de 18 dosis per 1000 habitants. (Postigo i cols., 2010). Tot i així, els valors obtinguts per l'MDMA en aquest estudi, de 0.6 dosis per 1000 habitants entre 15 i 34 anys, disten dels de 4 dosis per 1000 habitants entre 15 i 34 anys obtinguts en el nostre estudi (Article III). Altres aproximacions de càlcul de consum realitzades en d'altres països, com Itàlia, Bèlgica, Irlanda, Suïssa o Anglaterra, evidencien que si bé existeixen unes bones correlacions entre els resultats obtinguts i els consums establerts estadísticament en informes oficials, existeixen una sèrie d'incerteses inherents al càlcul que com ja s'ha comentat a la introducció d'aquest capítol no poden ser obviades (van Nuijs i cols., 2011a).

Com ja s'ha indicat anteriorment en l'apartat 3.1.3, per realitzar aquests càlculs cal utilitzar una fórmula del tipus:

$$\text{Consum per càpita} = \frac{\text{Concentració} \times \text{Volum tractat}}{\text{Factor d'excreció (correcció)} \times \text{Població}}$$

Ara bé, des de la publicació dels valors inclosos en aquesta tesi, s'han publicat diversos treballs centrats en avaluar les possibles incerteses associades a aquest mètode de càlcul. Dels quatre factors que componen la fórmula, el càlcul de les concentracions no presenta problemes, ja que s'apliquen protocols de validació dels mètodes d'anàlisi, i l'error degut al volum tractat, tot i presentar una major dificultat, es pot minimitzar usant tècniques de mostreig dependents del cabal o mesuradors in-situ. Pel que fa als factors d'excreció i/o correcció, tot i haver-hi valors establerts (Khan i Nicell, 2011, Khan i Nicell, 2012) contínuament van apareixent modificacions. A la Taula 3.3 de l'apartat 3.1.1 (Article Científic II) es resumeixen els percentatges d'excreció emprats normalment, així com els factors de correcció entre la droga i el seu metabòlit en el cas d'usar aquest darrer com marcador de consum, com per exemple, la benzoilecgonina pel càlcul del consum de cocaïna. El primer factor de correcció proposat va ser de 2.33 (Zuccato i cols., 2008b), calculat a partir dels percentatges d'excreció obtinguts a través d'una administració inhalada (45%), que en aquell moment estava considerada com la principal ruta d'administració de la substància (United Nations Office of Drug and Crime, 2007). Tot i així, en aquesta tesi (apartat 3.2.1.) es van tenir en compte d'altres rutes d'administració, amb percentatges d'excreció entre 30-50% (injectada i inhalada) (Li i cols., 1995), i es va obtenir un factor de 2.70 ± 0.6 . Posteriorment, Castiglioni i cols., han proposat un factor de 3.59 (Castiglioni i cols., 2013), utilitzant diferents percentatges d'excreció per a la benzoilecgonina en funció de la ruta d'administració de la cocaïna, de 6.5% inhalada (fumada) a 55% ingerida, i dels percentatges de consum de cada una de les formes possibles (inhalada, injectada, ingerida) (Prinzleve i cols., 2004). Aquest valor encara no està totalment admès, atès que existeixen múltiples variables que poden afectar l'extrapolació de consum a partir dels estudis ambientals, que encara no han estat perfectament establerts. A la Taula 3.2. es mostren els valors de consum de cocaïna obtinguts aplicant els tres factors definits, a partir d'un valor comú $0,4 \text{ g BE/dia} \cdot 1000 \text{ hab.}$

Taula 3.2. Comparació factors de correcció COC/BE.

Factor de Correcció	2.33 (Zuccato)	FC 2.7±0.6 (aquesta tesi)	FC 3.59 (Castiglioni)
Consum x càpita (g COC/dia·1000 hab.)	1.19	1.40 ± 0.44	1.86

Referències:(Zuccato i cols., 2005); (Castiglioni i cols., 2013).

Aquests valors de consum per càpita de cocaïna, encara que diferents, són prou similars, sobretot si es comparen amb les elevades dispersions existents en l'avaluació de la població tractada. De fet, el càlcul de la població tractada representa l'escull més importat en el càlcul i la major font d'incerteses. Per disminuir aquesta incertesa, una de les tendències actuals consisteix en utilitzar biomarcadors de població, que són compostos endògens (Chiaia i cols., 2008, Daughton, 2012) o exògens excretats per un elevat nombre de membres de la població (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b). Això permet evitar l'ús de la població en la fórmula (Chen i cols., 2014):

$$\text{Consum per càpita} = \frac{\text{Concentració} \times \text{Factor d'excreció marcador}}{\text{Concentració marcador} \times \text{Factor d'excreció}}$$

Com a biomarcadors s'han proposat les concentracions de diverses substàncies i/o paràmetres, com per exemple, la demanda bioquímica i química d'oxigen (van Nuijs i cols., 2011b), la creatinina (Chiaia i cols., 2008, Pesce i cols., 2010, Biradar i cols., 2011, Daughton, 2012), diversos fàrmacs (Lai i cols., 2011) o esteroides antropogènics (Daughton, 2012). Per exemple, Lai i cols. (Lai i cols., 2011) proposen emprar atenolol, un fàrmac β -bloquejant, que permet obtenir una bona estimació de la població total i comparable amb les dades oficials. Tot i així, la distribució demogràfica de consum d'aquesta substància (principalment població major de 65 anys) resulta un inconvenient en termes de representativitat de la mostra poblacional. Daughton ha avaluat diferents biomarcadors com la creatinina, el coprostanol i el

colesterol, i estableix una eina per tal de determinar la seva idoneïtat com a biomarcador, a partir de vint atributs que hauria de complir el biomarcador seleccionat (Daughton, 2012). A més de ser substàncies detectades amb freqüència a les aigües residuals, amb dades de consum establertes i poca biodegradació, convé que el compost seleccionat sigui exclusiu del metabolisme humà, es distribueixi homogèniament en el medi ambient (coeficients de partició) i que el mètode per a determinar-lo sigui senzill i assequible per tal d'aplicar-lo en mètodes de rutina. El coprostanol, un esterol produït en el colon per degradació del colesterol, sembla ser el compost que millor compleix aquestes condicions segons l'autor, tot i que les dificultats en la seva determinació, especialment pel que fa a la preconcentració i possibles interferències associades a la presència del seu epímer, així com la seva ràpida degradació durant els tractaments, en qüestionen la seva utilització. D'altres autors han suggerit l'ús de metabòlits de la cafeïna i la nicotina (Baker i Kasprzyk-Hordern, 2011b, Chen i cols., 2014) i de fet, molt recentment, Senta i cols. (Senta i cols., 2015) indiquen que la cafeïna, i sobretot la nicotina i els seus metabòlits, són uns bons marcadors de consum amb respostes estables en el temps i que es poden correlacionar amb la població. Es més, aquests autors suggereixen analitzar rutinàriament aquests compostos per tal d'estimar poblacions i variacions en consums.

El valor de població emprat en els càlculs de l'apartat 3.2.1. s'ha obtingut a partir de les dades estadístiques de població disponibles (2.8 milions de població servida) i el càlcul de consum per càpita s'ha realitzat emprant aquestes dades. Tot i així, i donat que en aquest treball tant la cafeïna com la nicotina han estat analitzades habitualment juntament amb la resta de drogues d'abús, es pot realitzar un nou càlcul del consum estimat d'una substància en concret i de la població servida a partir dels mètodes de biomarcadors establerts actualment a la literatura (Chen i cols., 2014, Senta i cols., 2015).

El càlcul de població servida proposat per Senta i cols. (Senta i cols., 2015) requereix conèixer el contingut de nicotina en les cigarretes (1,25 mg nicotina/cigarreta), així com el nombre de cigarretes consumides per dia i habitant, i el percentatge de població fumadora, que es poden obtenir a partir de les estadístiques publicades per cada país o zona d'estudi. Per tal de calcular la població servida a partir de les dades incloses en l'apartat 3.2.1 s'han usat els valors de consum de 6.5 cigarretes per dia i del 40% de població fumadora establerts pels diferents estudis

nacionals realitzats sobre aquest tema (Observatorio español de la droga y las toxicomanías. Ministerio de Sanidad, 2013). Així, i emprant el valor de cotinina obtingut en les 42 EDARs mostrejades (2567 g/dia), es pot arribar a establir un total de població servida de 1.1 milions enfront els 2.8 milions descrits en les estadístiques oficials (Generalitat de Catalunya-Institut d'Estadística de Catalunya, 2006).

Una altra aproximació utilitzada, en aquest cas per a calcular directament el consum per càpita d'una determinada substància, és el proposat per Chen i cols., que no té en compte dades estadístiques, com per exemple el percentatge de població fumadora emprat en l'anterior estimació de la població, i que per tant minimitza les contribucions associades a la incertesa del càlcul (Chen i cols., 2014). Per tal de realitzar-lo, els autors proposen emprar la cotinina com a biomarcador d'aigua residual i s'empra la fórmula descrita anteriorment per al consum per càpita. Aquest càlcul permet determinar per exemple el consum de cocaïna a partir de la concentració (o càrrega) mesurada pel seu metabòlit, benzoilecgonina, i la de la cotinina, així com dels seus respectius factors d'excreció. A partir dels valors obtinguts per a les 42 EDARs mostrejades en l'apartat 3.2.1. (816 g/dia de benzoilecgonina i 2558 g/dia de cotinina), s'obté un consum de cocaïna per càpita de 1.7% enfront el 1.4% obtingut en l'article III.

Com pot comprovar-se, tot i que les diferències entre les estimacions realitzades a l'Article Científic III pel consum per càpita de cocaïna no mostren elevades desviacions, el càlcul de poblacions si que presenta un biaix important. Es requereixen per tant d'estudis més acurats per tal d'establir algun compost com a marcador residual que permeti una millor correlació entre els estudis epidemiològics i els ambientals, convertint aquests últims en una potent eina en l'estudi, prevenció i identificació del consum tant de drogues il·lícites com d'altres substàncies.

3.4. CONCLUSIONS

El treball experimental inclòs en el Capítol 3 d'aquesta memòria, en el que s'ha estudiat la presència de drogues d'abús estimuladores en aigües residuals i superficials, ha permès establir les següents conclusions:

- La major part de drogues d'abús estudiades s'han detectat en les aigües residuals a l'entrada de les 42 plantes de tractament d'aigües residuals distribuïdes per la geografia catalana analitzades. Les concentracions són relativament elevades especialment per a les drogues legals, nicotina (1.2-104 µg/L), cafeïna (0.7-209 µg/L) i els seus metabòlits cotinina (1.2-42 µg/L) i paraxantina (1.6-238 µg/L) així com per les drogues il·legals, cocaïna (4-4700 ng/L) i el seu metabòlit, benzoïlecgonina (9-7500 ng/L) i per algunes del tipus amfetamínic com per exemple l'MDMA (2-598 ng/L).
- Els percentatges d'eliminació en les plantes de tractament d'aigües residuals són en general elevats, per sobre del 88% per la cocaïna i la benzoïlecgonina i per sobre del 99% per a l'amfetamina o el MDA, però insuficients per eliminar completament la majoria de les drogues estudiades, fet que comporta que aquestes es trobin presents en els efluent a concentracions entre 1-100 ng/L per la cocaïna, 1-1500 ng/L pel seu metabòlit, la benzoïlecgonina o 2-267 ng/ per l'MDMA entre d'altres i en conseqüència que s'aboquin en el medi natural.
- A partir de les concentracions mesurades en les aigües residuals a l'entrada de les plantes depuradores estudiades, s'ha estimat un consum de cocaïna i MDMA (èxtasi) de respectivament, 14 i 2 dosis per dia per 1000 habitants (entre 15 i 64 anys) que representa un 1.4% i un 1.1% de la població d'aquest interval d'edat.
- S'ha posat de manifest per primera vegada que els continguts de drogues d'abús en les aigües residuals varien en funció del dia de la setmana. Aquestes variacions depenen del compost i estan relacionades amb l'ús de les drogues. Així, l'augment dels continguts dels estimulants de la família de les amfetamines (60 %) durant els caps de setmana es pot relacionar amb el seu ús recreatiu mentre que l'ús

continuat i constant de la cocaïna, substància amb un major grau de dependència, explica la poca variació de les concentracions de la cocaïna i la benzoilecgonina. Els estudis realitzats en diferents àrees geogràfiques han permès detectar una important influència de la zona. Les concentracions de cocaïna i del seu metabòlit són superiors en EDARs pròximes a zones urbanes poblades així com durant les campanyes d'hivern, en una zona pròxima a estacions d'esquí.

- S'ha detectat la presència de cocaïna, benzoilecgonina, amfetamina, MDMA i MDA, a concentracions mitjanes anuals entre 4-350 ng/L i nicotina, cafeïna i els seus metabòlits a concentracions mitjanes entre 0.2-2.9 µg/L en les aigües superficials del riu Llobregat. L'estudi dels diferents punts analitzats al llarg de la conca han permès determinar zones d'especial pressió ambiental com la confluència d'altres efluent o EDARs presents en el curs del riu.
- La presència de les drogues d'abús en les aigües superficials mostren variacions estacionals. Mentre que les drogues d'abús lícites mantenen concentracions estables durant tot l'any amb un lleuger increment durant el període de vacances d'estiu, les drogues il·lícites presenten variacions importants entre estacions amb les concentracions més elevades durant les èpoques de vacances tant d'estiu com d'hivern i molt especialment al voltant de les dates de Nadal que posen de manifest hàbits d'ús de les drogues d'abús entre la població.

**CAPÍTOL 4 - AIGÜES POTABLES
I SUBPRODUCTES DE DESINFECCIÓ**

4.1. INTRODUCCIÓ

La presència de contaminants d'origen antropogènic en el medi ambient, discutida en els anteriors capítols d'aquesta memòria, s'associa a una sèrie d'efectes negatius, alguns ja coneguts i d'altres que encara no ho són, que poden afectar tant el medi natural sobre el que incideixen com el propi ésser humà. Una de les rutes per les quals aquestes substàncies poden retornar i incidir sobre l'ésser humà és a través l'aigua potable, completant d'aquesta manera el seu recorregut a través del cicle de l'aigua. Aquest retorn pot tenir lloc en forma de substància inalterada, de metabòlit o de subproducte de degradació i depèn de la seva presència en les aigües captades per a la potabilització i de l'eficàcia dels processos emprats per a eliminar-les.

Les substàncies susceptibles de completar aquest cicle són capaces, per tant, de sobreviure als tractaments de depuració de les EDARs, als processos d'atenuació natural en aigües naturals o superficials i per últim als processos de potabilització, en alguns casos avançats, de les estacions de tractament d'aigües potables (ETAPs). Aquesta supervivència al llarg del cicle es pot deure a les elevades concentracions d'entrada en el medi, com succeeix amb algunes substàncies prioritàries, que si bé són parcialment degradades, una part important es pot mantenir inalterada fins a les últimes etapes del tractament. Aquest és l'escenari en el que es troben fonamentalment les substàncies de característiques industrials o que provenen d'episodis concrets de contaminació, que en general no s'haurien d'associar a les drogues d'abús, excepte en el cas hipotètic d'un abocament directe d'aquestes substàncies al medi. Un altre escenari és el que contempla la presència dels contaminants a baixes concentracions, però amb unes característiques fisico-químiques que els permeten sobreviure als diferents processos d'eliminació als que són sotmeses i arribar inalterades, o lleugerament transformades, a les aigües finals tractades. Aquest és el cas més habitual, i en aquest grup s'inclouen els contaminants emergents, algunes de les substàncies incloses en la Directiva Marc de l'Aigua (DMA) (European Commission, 2013) i en d'altres regulacions nacionals (RD 140/2003), així com substàncies de nova generació, producció o bé simplement descobriment que són introduïdes al medi natural; les drogues d'abús pertanyen a aquest últim grup. L'estudi de la presència de drogues d'abús en aigües superficials, i en concret en punts de captació per a la producció d'aigua potable recollits en els apartats 3.1.1. i 3.2.2, ha permès posar de manifest la presència, a concentracions relativament elevades, de

moltes de les drogues estimuladores estudiades i, per tant, la seva introducció en el sistema de producció d'aigua potable. Cal esmentar que l'eliminació i transformació dels compostos durant els processos de potabilització depenen de les seves propietats fisico-químiques i estructurals. Això implica que la teòrica eliminació d'un contaminant al llarg del tractament pot acabar convertint-se en l'obtenció d'un subproducte de desinfecció, amb característiques i propietats toxicològiques desconegudes.

4.1.1. Drogues d'abús en els tractaments d'obtenció d'aigua potable

En aquest apartat es discuteix el comportament de les drogues il·lícites i els tipus de reaccions que tenen lloc en els tractaments convencionals de producció d'aigua potable i inclou, l'Article Científic V (apartat 4.1.1.1) intitulat "*Presence and removal of illicit drugs in Conventional Drinking Water Treatment Plants*" i l' apartat 4.1.1.2 on s'analitza l'evolució d'aquests estudis des de la publicació de l'article esmentat.

4.1.1.1. ARTICLE CIENTÍFIC V

Presence and removal of illicit drugs in Conventional Drinking Water Treatment Plants

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Ventura, F

In: *Illicit Drugs in the Environment: Occurrence, Analysis and Fate using Mass Spectrometry*. Wiley, Hoboken, 2011

CHAPTER 11

PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS IN CONVENTIONAL DRINKING WATER TREATMENT PLANTS

MARIA HUERTA-FONTELA, MARIA TERESA GALCERAN, and
FRANCESC VENTURA

11.1 ILLICIT DRUGS IN DRINKING WATER

The presence of chemical pollutants released into the aquatic environment as a consequence of anthropogenic activities has been recognized as an important issue in environmental chemistry. Water analysis provides exhaustive and reliable information about human habits and activities. Recently, illicit drugs were identified as a new unexpected group of water contaminants, thus confirming this “water squealer” ability. To date, these compounds have been found in several water matrices around the world and the concern regarding their presence in these resources is exponentially growing, because of their potent psychoactive properties and their unknown effects on the aquatic environment. The presence and detection of illicit drugs in water resources is related to the combination of two main effects: their excretion as unchanged or slightly transformed metabolites allows easy identification of these compounds; and the high consumption rates reported for them contribute to relatively high concentration measurable levels in aquifers.

These compounds directly enter the water system by means of sewage waters, as was demonstrated in the first study reporting the presence of cocaine and its major metabolite, benzoylecgonine, in Italian wastewaters (Zuccato et al., 2005). Since then, several studies dealing with the analysis of illicit drugs in wastewaters showed that some of them survive common wastewater treatments. Compounds such as cocaine, amphetamine, ecstasy, or cannabinoids are found, at concentrations in

Illicit Drugs in the Environment: Occurrence, Analysis, and Fate Using Mass Spectrometry, Edited by Sara Castiglioni, Ettore Zuccato, and Roberto Fanelli
Copyright © 2011 John Wiley & Sons, Inc.

the nanogram per liter range in wastewater treatment plant (WWTP) effluents in Italy, Germany, Spain, Belgium, Ireland, United Kingdom, and the United States (Jones-Lepp et al., 2004; Castiglioni et al., 2006; Hummel et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a, b; Bones et al., 2007; Boleda et al., 2007; Kasprzyk-Hordern et al., 2008a, 2009; Gheorghe et al., 2008; Biljsma et al., 2009; van Nuijs et al., 2009; Zuccato and Castiglioni, 2009; Petrovic et al., 2009; Postigo et al., 2010). For instance, Castiglioni et al. (2006) measured cocaine and benzoylecgonine at 11 and 29 ng/L, respectively, in effluent samples, and Hummel et al. (2006) found benzoylecgonine (45 ng/L) in treated waters in Germany. Cocaine was also found in treated waters in Spain at concentrations ranging from 900 (Postigo et al., 2010) to 1400 ng/L (Huerta-Fontela et al., 2008a). The poor removal of illicit drugs in WWTPs has a direct effect on the rivers, lakes, or seas where WWTPs discharge their effluents. Several studies have also reported relatively high levels of several different illicit drugs, such as cocaine, amphetamines, ecstasy, LSD, or cannabinoids, in surface waters. For instance, the main carboxylic metabolite of tetrahydrocannabinol (THC-COOH) was detected at concentrations ranging from 0.5 to 7 ng/L in Italian rivers (Zuccato et al., 2008), at 1 ng/L in one United Kingdom river (Bones et al., 2007), and at 15 ng/L in Spain (Boleda et al., 2009). However, the “water trip” does not end at this stage, because surface waters are often used for drinking water production. The removal efficiencies in drinking water treatment plants (DWTPs) and the production of new and additional disinfection by-products (DBP) during treatments affect the quality of tap water directly, as they are responsible for both the complete elimination of illicit drugs from the water cycle and the introduction of new by-products that can reach human beings.

Up to now, few studies on the presence of these compounds in final treated waters (Hummel et al., 2006) have been conducted and still fewer studies dealing with the removal or behavior of these compounds through treatments have been found (Huerta-Fontela et al., 2008b; Zuccato et al., 2008; Boleda et al., 2009). In 2006, Hummel et al. studied the presence of several psychoactive drugs in wastewater, river water, and final treated tap water in Germany. Benzoylecgonine, the main metabolite of cocaine, and opiates (codeine and morphine) were among the compounds investigated and were not found at levels above their limit of quantification (LOQ) (2–10 ng/L) in the two tap water samples analyzed. In the same study, some other compounds, such as carbamazepine or primidone, were detected in the final drinking waters. The presence and behavior of stimulatory drugs, such as MDMA (ecstasy), cocaine, and LSD in a DWTP, was evaluated by Huerta-Fontela in another study in 2008. The survey, conducted over six consecutive months, included the evaluation of the effectiveness of both the conventional and the advanced treatments used in the facility investigated. Benzoylecgonine was found to be the most persistent compound, found in 22 out of 24 treated water samples at concentrations ranging from 3 to 130 ng/L. At the same time, Boleda et al. (2009) published a similar report evaluating the removal of depressor drugs, such as opiates and cannabinoids, in the same drinking water facility. The results showed the presence of methadone and its main metabolite (EDDP) in the final treated water at concentrations of 20 and 60 ng/L, respectively. To the best of our knowledge, only these two surveys evaluating the presence of illicit drugs in DWTPs

exist. More research is needed in order to improve our knowledge of the behavior and presence of these psychoactive drugs in tap waters.

11.2 ILLICIT DRUGS THROUGH DRINKING WATER TREATMENT

The treatments used to keep tap water safe for human consumption and to improve its quality by removing undesired contaminants are similar around the world. The most common processes are physical treatments, such as filtration, flocculation, and sedimentation. There are other processes involving ion exchange (that is, reverse osmosis), adsorption (activated carbon), and chemical disinfection, such as chlorination or ozonation. Facilities select the treatments or the combinations of treatment depending on several different factors, such as the characteristics of the raw water, the specific problems affecting the water to be treated and, obviously, the costs of each treatment. Generally, the effectiveness of drinking water treatments in eliminating or degrading contaminants depends on the physicochemical properties of the compounds, the quality of the source water, and the treatment processes applied.

Table 11.1 summarizes the physicochemical properties of illicit drugs found most frequently in water. Log K_{ow} is a valuable parameter used to predict the partition behavior of the selected compounds. This parameter together with water solubility can give us a fair idea of the presence and distribution of illicit drugs in the aquatic environment. For instance, fentanyl with a log K_{ow} of 4 and a water solubility of 200 mg/L is more prone to be found in the sludge phase. However, the information given by log K_{ow} should be carefully evaluated, since the removal efficiency of drinking water treatments can be affected by additional parameters, such as interactions with raw water materials, hydrogen bonding, or cation exchange that may modify predicted behavior.

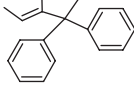
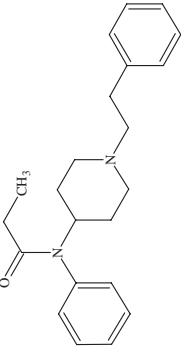
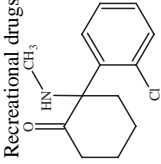
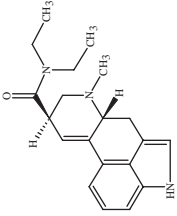
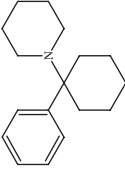
Generally, the physicochemical properties of the compounds, together with the structural information, suggest their behavior during conventional and well-known drinking water treatments. The knowledge of the chemical properties of these substances and the experience obtained studying the behavior of other contaminants can help us predict the behavior of illicit drugs during DWT. Table 11.2 correlates certain reactive groups present in the structure of illicit drugs with their expected behavior in drinking water treatments. However, it must be considered that external effects, such as raw water composition (namely, presence of bromide, ammonia, temperature) or treatment operational status (that is, carbon filter aging, ozone generation efficiency) will play an important and, in some cases, determinant role.

11.2.1 Filtration, Coagulation, and Sedimentation

The water treatment in most frequent use since the early twentieth century is a combination of the following steps: coagulation, flocculation–sedimentation, and filtration. Filtration is used by many water treatment facilities to remove particles from the water. It clarifies water and enhances the effectiveness of disinfection. Coagulation and flocculation are also common DWTP unit operations that may decrease the concentrations of potential drinking water contaminants in the source water.

TABLE 11.1 Structures of the Main Illicit Drugs Investigated and Their Physicochemical Properties

Classification	Amphetamine-	Compound	CAS number	MW	pK _a	Log K _{ow}	Solubility (mg/L; water)
type stimulants	Amphetamine	R ₁ =H	30-62-9	135	10.1	1.76	28,000 ^b
	METH	R ₁ =CH ₃	537-46-2	179	9.7	1.64	22,400 ^b
	MDA	R ₁ =H	4764-17-4	149	9.9	2.07	13,300 ^b
	MDMA	R ₁ =CH ₃	42542-10-9	193	9.9 ^b	2.28 ^b	2700 ^b
	MDEA	R ₁ =CH ₂ -CH ₃	82801-81-8	207	10.3 ^b	2.77 ^b	6100 ^b
Alkaloids	Cocaine	R ₁ =CH ₃	50-36-2	303	8.6	2.30	1800
	Norcocaine	R ₁ =H	18717-72-1	289	9.4	1.72	4900
	Cocathylene	R ₁ =CH ₃	529-38-4	317	8.8	2.66	—
	BE	R ₁ =CH ₃	519-09-5	289	—	<0	88,000 ^b
	Norbenzoyllecgonine	R ₁ =H	519-09-5	289	4.3	<0	—
Cannabinoids	THC	R ₁ =CH ₃	1972-08-3	314	10.6	7.6	2800
	THC-COOH	R ₁ =COOH	56354-06-4	445	4.1	6.57	—
	THC-OH	R ₁ =CH ₂ -OH	36557-05-8	330	3.7	5.33	—
Opiates	Heroin	R ₁ =CH ₃ R ₂ =COCH ₃	561-27-3	369	7.95	1.58	600
	Morphine	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	57-27-2	285	8.21	0.89	149
	Morphine-3β-gluc. ^a	R ₁ =CH ₃ R ₂ =Gluc	—	461	8.2/2.9	<0	—
	Normorphine	R ₁ =H R ₂ =H	466-97-7	271	9.8	0.5	256,000
	Codeine	R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₃	76-57-3	299	8.2	1.19	9000
	Norcodeine	R ₁ =CH ₃ R ₂ =CH ₃	467-15-02	285	9.23	0.69	3,920,000
	6-AM	R ₁ =CH ₃ R ₂ =H	2784-73-8	327	9.6	1.72	—
Methadone	—	—	76-99-3	309	8.94	3.93	48.5

EDDP		66729-78-0	278	—	2.97	—
Fentanyl		437-38-7	336	7.3	4.1	200
Ketamine		6740-88-1	237	7.5	3.12 ^b	2800
LSD		50-37-3	323	7.8	2.95	370 ^b
PCP		77-10-01	243	8.7	1.90	11,000

209

^aGluc.: Glucuronide.
^bEstimated values.

TABLE 11.2 Predicted Reactivity of Illicit Drugs through Conventional Drinking Water Treatments

Compound	Treatments			
	Chlorination	Chlorine dioxide	Ozonation	Carbon adsorption
Amphetamine	—NH ₂	—	—	—
METH	—NHR	—	—	—
MDA	—NH ₂	—	—	—
MDEA	—NHR	—	—	—
MDMA	—NHR	—	—	—
Cocaine	— ^a	NR ₃	—	—
Norcocaine	—NHR	—	—	—
Cocaethylene	—	NR ₃	—	—
BE	—	NR ₃	—	—
Norbenzoylecgonine	—NHR	—	—	—
Ketamine	—NHR	—	—	Log <i>K</i> _{ow} >3
LSD	—NHR	NR ₃	—	—
PCP	—	NR ₃	—	—
Heroin	Ph-R(donor)	NR ₃	C=C	—
Morphine	—OH	NR ₃	C=C	—
Normorphine	—NHR > —OH	—	C=C	—
Codeine	—	NR ₃	C=C	—
Norcodeine	—NHR > —OH	NR ₃	C=C	—
6-AM	—OH	NR ₃	C=C	—
Methadone	—	NR ₃	—	Log <i>K</i> _{ow} >3
EDDP	—	NR ₃	C=C	Log <i>K</i> _{ow} >3
Fentanyl	—	NR ₃	—	Log <i>K</i> _{ow} >3
THC	—OH	—	C=C	Log <i>K</i> _{ow} >3
THC-COOH	—OH	—	C=C	Log <i>K</i> _{ow} >3
THC-OH	—OH	—	C=C	Log <i>K</i> _{ow} >3

^a—, No reactive sites.

No studies solely examining the behavior of illicit drugs during these treatments have been published. However, studies performed with pharmaceutical compounds report low or negligible removal rates during the processes of clarification and sand filtration. For instance, Nakada et al. (2007) reported that compounds with log *K*_{ow} < 3 showed removal percentages lower than 50% after sand filtration, suggesting that hydrophobicity can be a limiting factor during the filtration process. In addition, Stackelberg et al. (2007) reported reductions in the concentration of compounds with log *K*_{ow} (< 3) lower than 15% during clarification, confirming that this is not a primary route for degradation and removal of organic compounds.

Given the physicochemical properties of illicit drugs, it can be extrapolated that filtration, coagulation, or clarification are not the appropriate steps for removing these compounds. An exception can be found for cannabinoids, fentanyl, LSD, ketamine, and methadone, which may show higher removals because of their relatively high hydrophobicity.

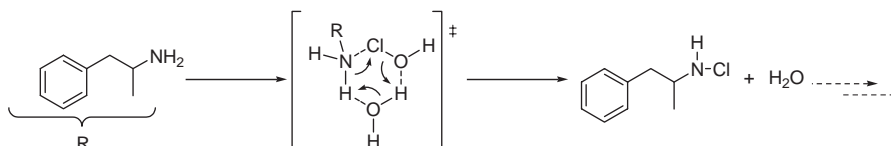
11.2.2 Oxidation Process

Because of their suitability for disinfection and oxidation (e.g., taste and odor control, micropollutant removal), chemical oxidants are commonly used in water treatment processes. In drinking water treatment systems, the oxidants commonly used are chlorine, chlorine dioxide, chloramines, and ozone.

11.2.2.1 Chlorination For nearly a century, chlorine has been the most widely used oxidant for the disinfection of drinking water. Specifically, 98% of drinking water facilities use chlorine-based disinfectants among their treatments. Chlorine is often used at one or two points during treatment as a pretreatment for a primary disinfection and as a post-treatment to ensure a residual concentration of chlorine through the distribution system, thus avoiding microbial regrowth.

Oxidations, additions to unsaturated bonds, and electrophilic substitutions at nucleophilic sites are the most usual reaction pathways of chlorine. These reactions generally introduce small modifications in the reacting compound, which may cause one of the major drawbacks of chlorination treatments: the formation of chlorinated organic compounds as disinfection by-products. The different structures and moieties of illicit drugs suggest different behavior with chlorine treatment. Most of the drugs studied and found in water systems contain amino groups. It is known that chlorine has high reactivity with amino moieties by means of a water-assisted mechanism.

Generally, the rate constants of amines decrease as follows: $\text{-NH}_2 > \text{-NHR} > \text{-NR}_2$, with the rate constant of tertiary amines at least two orders of magnitude lower than that of primary or secondary amines. As suggested by Abia et al. (1998), the reaction occurs between the amine moiety, which undergoes a proton transfer to water, and the HOCl molecule, leading to the formation of chloramines (Reaction 11.1). Therefore, compounds such as amphetamine-type stimulants (ATS), ketamine, LSD (and its metabolites) or some drug metabolites like normorphine, norcodeine, norcocaine, or norbenzoylecgonine should show high reactivity and removal efficiency with chlorine treatment.



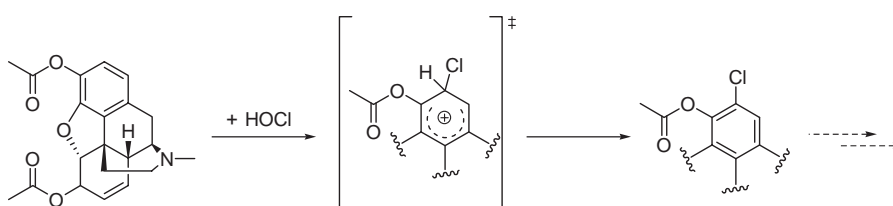
Reaction 11.1 Suggested chlorination for amphetamine according to mechanism suggested by Abia et al. (1998).

For other illicit drugs, with tertiary amino moieties or nonamino compounds, other reaction pathways for evaluating the efficiency of chlorine treatment to remove them need to be considered. For these compounds, chlorine reactions will be controlled by the affinity of chlorine with its oxygenated moieties, since unsaturated bonds or alkylic chains are poorly reactive to chlorine without catalyzation. Oxygenated moieties vary in reactivity, depending on their chemical nature and on the adjacent

212 PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS

substituents. Acidic moieties are stable in the presence of chlorine, while aldehyde or ketone moieties show limited reactivity, which depends on the electron-donor or withdrawing properties of the substituents linked to the carbonyl group. Compounds such as cocaine, benzoylecgonine, norbenzoylecgonine, fentanyl, and methadone have carbonyl moieties linked to electron-donor groups. As these groups reduce the acidity of the α -carbon group, which is the one reactive to chlorine, low or negligible reactivity can be expected.

For instance, at real-scale experiments, cocaine and benzoylecgonine (Huerta-Fontela, 2008b) were hardly removed after chlorine treatment (13% and 9%, respectively) and methadone also had poor percentages (54%) (Boleda et al., 2009). For opiates, such as morphine, codeine, 6-acetylmorphine, and cannabinoids, the main chlorine reactivity can be expected through the alcohol moieties. In general, primary and secondary alcohol moieties react with chlorine by an oxidation step leading to the formation of carbonyl moieties (Caserio et al., 1960). In real-scale experiments, the reactivity of chlorine with some of these compounds has already been shown (Boleda et al., 2009). For heroin, an electrophilic substitution reaction with chlorine can be expected, because of the presence of electron-donor groups attached to the aromatic ring (Reaction 11.2).



Reaction 11.2 Suggested chlorination for heroin according to an electrophilic aromatic substitution mechanism.

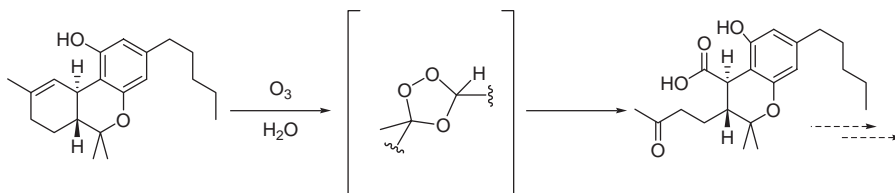
Finally, compounds such as PCP or EDDP do not exhibit active moieties to chlorine treatment, suggesting negligible removals through this treatment, as observed for EDDP at real-scale experiments.

11.2.2.2 Chlorine Dioxide Oxidation Chlorine dioxide (ClO_2) is an oxidant used for disinfection of high-quality water, such as groundwater or treated surface water. Its reactivity is because of free chlorine and ozone. Chemically, ClO_2 is a very selective oxidant for specific functional groups of organic compounds, such as phenolic moieties, tertiary amino groups, or thiol groups (Hoigne and Bader, 1994), leading to its reduction to chlorite through a one-electron transfer reaction.

Chlorine dioxide cleaves one of the N-C bonds of the tertiary amines (Buxton, 1998), leading to dealkylation to a secondary amine and then to their respective aldehydes. Therefore, illicit drugs containing tertiary amines, such as cocaine, benzoylecgonine, methadone or some opiates, among others, could be removed by chlorine dioxide treatment.

11.2.2.3 Ozonation Ozone is used in water treatment as both disinfectant and oxidant and reacts with a large number of organic and inorganic compounds. Ozone decays rapidly after a few minutes and its decomposition leads to a major secondary oxidant, the hydroxyl radical. Oxidation then occurs by means of the molecular ozone (O_3) or of the OH radical ($OH\cdot$) (Hoigne et al., 1983). The OH radical, a powerful, but less selective, oxidant, reacts with high second-order rate constants with most organic compounds, but these reactions are less efficient, because a large fraction of the radical is scavenged by the water matrix (Buxton et al., 1998). Additional oxidation processes are the advanced oxidation processes (AOPs), which use OH radicals as the main oxidants. Of the oxidation processes, ozone reacts more readily with organic compounds than chlorine does and is particularly reactive toward unsaturated double bonds or moieties with electron-donating properties (Weyer and Riley, 2001; Xu et al., 2002). However, it must be taken into account that the ozone reaction rate with a specific contaminant is moiety-specific and pH-dependent. For instance, neutral tertiary amine moieties show high reactivity with ozone, but, at low pH, the protonation of the amines prevents their oxidation. In addition to pH, other water properties, such as temperature or organic carbon content, affect the reactivity of a compound with ozone (Huber et al., 2005; Dodd 2007; Huang, 2007; Zwiener et al.,

A general and easy approach to ozone reactivity is its reaction with unsaturated moieties, which occurs through the well-established Crigee mechanism. An electrophilic addition occurs over the double bond, leading to the cleavage of the bond and to the formation of aldehydes or ketones (Bailey and Ferrell, 1978; Dowideit et al., 1998). The presence of accessible double bonds in the structures of opiates and cannabinoids suggests a rapid reaction of these compounds with ozone (Reaction 11.3).



Reaction 11.3 Suggested chlorination for THC according to Crigee mechanism.

Real-scale experiments confirmed the reactivity of ozone with some opiates such as morphine, codeine, and norcodeine (Boleda et al., 2009). EDDP behaved differently: despite the presence of a double bond in its structure, it survived this treatment. This can be explained by the imine–enamine tautomeric equilibrium, which decreases the electron density of the C–C double bond, thus lowering its reactivity toward ozone.

Reactions of ozone with amine moieties are more complex, as previously mentioned. In general, amines, and especially tertiary amines, react with ozone by means of electron transfer reactions, leading to the formation of secondary amines and aldehydes (Muñoz and von Sonntag 2000). According to this chemical reactivity,

214 PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS

amino-containing drugs, such as ATS, cocainelike compounds, methadone or LSD, among others, should react efficiently under ozone treatment. However, real-scale experiments demonstrated that MDMA, cocaine, benzoylecgonine, and norbenzoylecgonine were resistant to treatment, with removals lower than 30% (Huerta-Fontela et al., 2008b). The lower reaction rates of these compounds, together with short ozone contact times, explain this unexpected behavior.

11.2.2.4 Activated Carbon Sorption Activated carbon, such as powdered activated carbon (PAC) or granular activated carbon (GAC), is a commonly used adsorbent for the removal of several water contaminants. Adsorption on activated carbon depends on the intrinsic properties of the activated carbon sorbent (surface area and charge, pore size distribution, and oxygen content) and on its solute properties (shape, size, charge, and hydrophobicity).

Removal of organic compounds is mainly controlled by hydrophobic interactions. GAC and PAC have proved efficient in removing hydrophobic compounds ($\log K_{OW} > 3-5$), despite the competitive effects with natural organic matter, which tends to decrease the adsorption rates. Therefore, activated carbon treatment can be effective in removing illicit drugs, such as fentanyl or cannabinoids with octanol–water constants higher than 4.

However, since these compounds have relatively high hydrophobic properties, a percentage of these compounds could be found in the sludge rather than in the water phase.

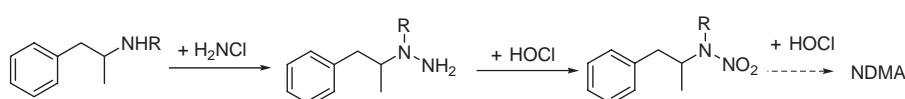
Real-scale experiments showed the efficiency of GAC treatment to completely remove fentanyl (Boleda et al., 2009), as predicted. However, methadone and EDDP, which have an octanol–water constant higher than 3, were poorly removed, and codeine and norcodeine were completely removed, despite their poor hydrophobic properties (Boleda et al., 2009). These results suggested that the sorption of different substances on activated carbon is often regulated by factors other than their own physicochemical properties.

11.3 DISINFECTION BY-PRODUCTS

An additional problem related to conventional treatments of drinking water should also be considered, namely, the presence in final treated waters of new disinfection by-products (DBPs) produced during the treatment processes.

The formation of DBPs has been widely described since they were first reported in 1974 in two publications (Rook, 1974; Bellar et al., 1974) that demonstrated that conventional drinking water treatments could not completely guarantee tap water quality and safety. Rook (1974) reported that chloroform and other trihalomethanes (THMs) were found at higher concentrations in chlorinated drinking water than in raw waters and proposed that THMs were produced by reactions between chlorine and natural organic matter (NOM) in water. The discovery of these new water contaminants and their potential carcinogenicity for humans required the introduction of new regulations to control the presence of THMs and haloacetic acids (HAAs) in tap waters.

The establishment of regulatory levels and guidelines enhanced the study of the effects of conventional drinking water treatments in terms of DBPs. Therefore, in the almost 40 years since THMs were identified, several new DBPs have been reported in the literature (Richardson, 1998). This number is increasing exponentially with the discovery of new and potentially reactive contaminants in raw waters. Illicit drugs can be included in this group, since it has been demonstrated that they can enter DWTPs and may be reactive to some conventional treatments. For instance, several illicit drugs, such as amphetamine-type stimulants (ATs) with amine moieties, have structures suited to generating *N*-nitrosodimethylamine (NDMA)-related compounds (Reaction 11.4).



Reaction 11.4 Suggested formation of NDMA and *N*-alkylamines from ATs.

It has been demonstrated that the presence of primary or secondary amines, together with reactive chlorine, such as monochloramine or chlorine and ammonia, leads to the formation of NDMA. This compound belongs to the chemical class of the *N*-nitrosoamines and is a potential human carcinogen more active than trihalomethanes and chlorination DBPs (Mitch et al., 2003). In 1989, NDMA was first detected at high concentrations (up to 0.3 $\mu\text{g/L}$) in treated drinking water from Ohsweken (Ontario, Canada). This finding led to the survey of 145 Ontario DWTPs (Jobb et al., 1995; Graham et al., 1995), but the concentrations of NDMA detected in the treated water were lower than 5 ng/L.

In addition, several illicit drugs have aromatic rings that react readily with oxidants, such as chlorine and ozone, generating by-products, as has been demonstrated for other anthropogenic water contaminants, such as pesticides, pharmaceuticals, or personal care products. For instance, chlorination of amphetamine-type stimulants, led to the formation of two chlorination ring products, 4-chloro-1,3-benzodioxole and 1-chloro-3,4-dihydroxybenzene, in laboratory experiments (Huerta-Fontela et al., 2009; Huerta-Fontela et al., 2010). However, the presence of nitrogen-containing moieties, linked to aromatic rings, enhances the halogenation of the nitrogen moiety, leading to ring-chlorinated products, like those found for sulfamethoxazole. This reaction pathway was also that of some illicit drugs, such as ketamine or LSD (Dodd and Huang, 2004).

11.4 ANALYSIS OF DRINKING WATER SAMPLES: A REAL CASE STUDY

As previously mentioned, only two studies (Huerta-Fontela et al., 2008b; Boleda et al., 2009) in the literature deal with the analysis of illicit drugs in drinking-water

treatment. Both these studies reported the analysis of stimulatory and depressor drugs and suggested that some of these compounds survive the treatment. In view of these results, our research group decided to perform an additional investigation with several illicit drugs and metabolites that, because of their structure, might survive the treatments. The study ran for an entire month, in order to compare and to evaluate removals under similar water and treatment conditions, thus excluding possible seasonal variations in drug concentrations. The results confirmed those obtained in our previous study and revealed that some other drug metabolites are also present in final treated waters. The results are summarized in Fig. 11.1.

Raw water collected at the intake of a DWTP facility in April 2008 showed the frequent occurrence of several illicit drugs at relatively high concentrations. However, ketamine, LSD, PCP, MDEA, heroin, 6-acetylmorphine, morphine glucuronide, and THC were not found in the samples collected. Amphetamine-type stimulants were found in raw waters at concentrations ranging from 2 to 155 ng/L. During the first treatment, which consisted of prechlorination, clarification, and sand filtration, all ATS (except MDMA), were efficiently removed at percentages higher than 99% (Fig. 11.1). These high removal percentages were related to the high reactivity of chlorine and chlorine dioxide with the primary and secondary amines described by other authors (Westerhoff et al., 2005; Chamberlain and Adams, 2006). Nevertheless, the removal of MDMA after the first treatments was only 23%, even though this compound contains a secondary amino moiety. A postchlorination step was, therefore, necessary to completely remove it from raw water. Opioid concentrations ranged from 4 to 14 ng/L at the DWTP intake and their removal in treatment was similar to that observed for ATS. Morphine, codeine, and norcodeine were completely removed during the first chlorination step, whereas normorphine persisted through the first chlorination treatment and was totally removed at the last chlorination step. THC was not detected in raw waters, but its main metabolites (THC-COOH and THC-OH) were detected at 8 and 5 ng/L, respectively. Both the compounds were completely removed during the first chlorination step, probably because of the specific reactivity of chlorine with carbon bond moieties present in their structures. For cocaine-like compounds, a different behavior was observed, depending on the different molecules and their concentrations in raw water. For instance, norcocaine and cocaethylene were detected at low concentrations in raw water (0.6 and 0.2 ng/L, respectively) and were completely removed (>99%) during the first treatment step. However, cocaine, benzoylecgonine, and norbenzoylecgonine were poorly removed during this first chlorination step (9–14%) and unexpectedly were not removed by ozonation, either, even though they had aromatic rings, which have been described as reacting with ozone (Hoigne and Bader, 1983). The poor removal rates observed for cocaine, benzoylecgonine, and norbenzoylecgonine (24%, 43% and 20%, respectively) were probably related to the presence of electron-withdrawing groups in the aromatic rings, which led to lower reactivity with ozone (Ikehata et al., 2006). The water treated with ozone was successively passed through granulated activated carbon filters (GAC), which efficiently removed cocaine (>99%). Benzoylecgonine and norbenzoylecgonine were also removed at high percentages during this step (72% and 75%, respectively), and also survived postchlorination. They were, therefore,

218 PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS

measured in treated waters at concentrations of 36 ng/L for benzoylecgonine and 2 ng/L for norbenzoylecgonine. Methadone and EDDP also lasted throughout drinking water treatment. Neither the post- nor prechlorination treatments were effective in removing these compounds, probably because of the lack of reactive sites to chlorine. Ozonation and GAC filtration did not remove these compounds completely, found in the final treated waters at concentrations of 2.6 ng/L for methadone and 1.9 ng/L for EDDP.

These results showed that drinking water treatment was effective in removing 13 out of 17 target compounds found in raw water.

Since 2009, the process of this DWTP has been modified. After sand filtration and dilution with groundwater, the filtered water is split in two treatment lines. Around 30% of the water is subjected to ultrafiltration/reverse osmosis (UF/RO), whereas the remaining 70% is treated by ozonation and GAC filtration. The permeated water and the carbon-filtered waters are then blended, chlorinated, and distributed.

The behavior of illicit drugs in the new UF/RO process was studied. Cocaine, benzoylecgonine, EDDP, methadone, codeine, norcodeine, and ketamine, which were the only compounds identified after sand filtration, were fully eliminated. Thus, UF/RO treatment was able to remove all the target illicit drugs.

In conclusion, the results obtained reveal that methadone, EDDP, benzoylecgonine, and norbenzoylecgonine are not fully removed during conventional drinking water treatment and can be measured in the treated water. It was also demonstrated that improvements in water treatment technology, such as the introduction of new drinking water steps (that is, UF/RO), enable these recalcitrant illicit drugs to be removed and “better water quality” to be achieved. However, it must be taken into account that few DWTPs implement these new advanced technologies. The presence of these psychoactive substances in tap waters must be checked, since no studies evaluating the potential effects of these drugs on humans have yet been performed.

11.5 CONCLUDING REMARKS

The presence of illicit drugs in the water cycle, far from being a temporary or a national problem, has been a constant problem of global concern since it was first reported by researchers from the Mario Negri Institute. The illicit drugs used by humans reach the environment by means of sewage waters, which, in some cases, are discharged into rivers, lakes, or seas and may then be used for drinking water production. At this point, the crucial question is whether these drugs can return to human beings by means of our tap waters.

This chapter has conducted a review of the drinking water treatment technologies most commonly used to eliminate illicit drugs. Treatment efficiencies to remove these compounds were evaluated theoretically through examination of the chemical properties of each compound. The estimated behavior was found to be in line with the results obtained during several surveys carried out at real-scale DWTPs. Chlorine oxidation was shown to be effective in removing ATSSs, cannabinoids, and several

opiates; GAC treatment removed fentanyl and cocaine; while ozonation removed morphine completely. Only four compounds survived these treatments, benzoylecgonine, norbenzoylecgonine, methadone, and EDDP, which have also been found in finished waters. However, the complete removal of these substances was achieved by an UF/RO treatment. The low concentrations measured in finished drinking water suggest low exposure of humans to these substances. More research is needed on the topic, because the potentially adverse effects on human health and the environment that might be posed by exposure to chronic, subtherapeutic levels of these substances and/or their transformation products are still unknown. In addition, the possible formation of new disinfection by-products, such as chlorinated precursors or NDMA, should also be taken into account when evaluating the impact of illicit drugs' entrance into conventional drinking water treatment plants.

REFERENCES

- Abia, L., X. L. Armesto, M. L. Canle, M. V. García, and J. A. Santaballa. 1998. Oxidation of aliphatic amines by aqueous chlorine. *Tetrahedron* **54**:521–530.
- Bailey P. S., and T. M. Ferrell. 1978. Mechanism of ozonolysis. A more flexible stereochemical concept. *J. Am. Chem. Soc.* **100**:899–905.
- Bellar, T. A., J. J. Lichtenberg, and R. C. Kroner. 1974. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. *J. Am. Waterworks Assoc.* **66**:703–706.
- Bijlsma, L., J. V. Sancho, E. Pitarch, M. Ibañez, F. Hernandez. 2009. Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *J. Chromatogr. A* **1216**:3078–3089.
- Boleda, M. R., M. T. Galceran, and F. Ventura. 2007. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1175**:38–48.
- Boleda, M. R., M. T. Galceran, and F. Ventura. 2009. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Res.* **43**:1126–1136.
- Bones, J., K. V. Thomas, and B. Brett. 2007. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J. Environ. Monitor.* **9**:701–707.
- Buxton G. V. 1998. The Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. *Assessment report of the technology and economic assessment panel.* UNEP.
- Chamberlain, E., and C. Adams 2006. Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water Res.* **40**:2517.
- Caserio M. C., W. H. Graham, and J. D. Roberts. 1960. Small-ring compounds—XXIX. A reinvestigation of the solvolysis of cyclopropylcarbonyl chloride in aqueous ethanol. Isomerization of cyclopropylcarbinol. *Tetrahedron* **11**:171–182.
- Castiglioni, S., E. Zuccato, E. Crisci, C. Chiabrando, P. Grassi, and R. Fanelli. 2006. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* **78**:8421–8429.

220 PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS

- Dodd, M. C., and C. H. Huang. 2004. Transformation of the antibacterial agent sulfamethoxazole in reactions with chlorine: kinetics, mechanisms, and pathways. *Environ. Sci. Technol.* **38**:5607–5615.
- Dodd, M. C., and C. H. Huang. 2007. Interactions of fluoroquinolone antibacterial agents with aqueous chlorine: reaction kinetics, mechanisms, and transformation pathways. *Water Res.* **41**:647–656.
- Dowideit P., and C. von Sonntag. 1998. Reaction of ozone with ethene and its methyl- and chlorine-substituted derivatives in aqueous solution. *Environ. Sci. Technol.* **32**:1112–1119.
- Gheorghe, A., B. van Nuijs, L. Pecceu, P. G. Bervoets, P. G. Jorens, and R. Blust R. 2008. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **391**:1309–1319.
- Graham, J. E., O. Meresz, G. J. Farquahar, and S. A. Andrews 1995. Factors affecting NDMA formation during drinking water treatment. In *Proceedings of American Water Works Association Water Quality Technology Conference*, Denver, CO.
- Hoigne, J., and H. Bader. 1983. Constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. *Water Res.* **17**:185–194.
- Hoigne, J., and H. Bader. 1994. Kinetics of reactions of chlorine dioxide (OCIO) in water–I. Rate constants for inorganic and organic compounds. *Water Res.* **28**:45–52.
- Huber, M. M., S. Korhonen, T. A. Ternes, and U. von Gunten. 2005. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res.* **39**:3607–3615.
- Huerta-Fontela M., and F. Ventura. 2010. Illicit drugs: Disinfection-by-products. Alliance Project He0607. Internal Report.
- Huerta-Fontela, M., M. T. Galceran, F. Ventura. 2007. Ultraperformance liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal. Chem.* **79**:3821–3829.
- Huerta-Fontela, M., M. T. Galceran, J. Martin, and F. Ventura. 2008a. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* **397**:31–40.
- Huerta-Fontela, M., M. T. Galceran, and F. Ventura. 2008b. Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* **42**:6809–6816.
- Huerta-Fontela, M., M. T. Galceran, and F. Ventura. 2009. Illicit drugs through water treatment: generation of new disinfection-by-products. In *Spanish Society Chromatography Conference*, Donostia Spain.
- Hummel, D., D. Loeffler, G. Fink, and T. A. Ternes. 2006. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **40**:7321–7328.
- Ikehata, K., N. J. Naghashkar, and M. G. El-Din. 2006. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review ozone. *Sci. Eng.* **28**:353–364.
- Jobb, D. B., R. B. Hunsinger, O. Meresz, and V. Y. Taguchi. 1995. Removal of N-nitrosodimethylamine. In *Proceedings of American Water Works Association Water Quality Technology Conference*, Denver, CO.
- Jones-Lepp T. L., D. A. Alvarez, J. D. Petty, and J. N. Huckins. 2004. Organic chemical integrative sampling and liquid chromatography electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Arch. Environ. Contamination Toxicol.* **47**:427–439.

- Kasprzyk-Hordern, B., R. M. Dinsdale, and A. J. Guwy. 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Anal. Bioanal. Chem.* **391**:1293–1308.
- Kasprzyk-Hordern B., R. M. Dinsdale, and A. J. Guwy. 2009. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving. *Water Res.* **42**:3498–3518.
- Mitch, W. A., J. O. Sharp, R. R. Trussell, D. L. Alvarez-Cohen, Sedlak, D. 2003. N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: a review. *Environ. Eng. Sci.* **20**:389–404.
- Muñoz F., and C. von Sonntag. 2000. The reactions of ozone with tertiary amines including the complexing agents nitrilotriacetic acid (NTA) and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in aqueous solution. *Chem. Soc. Perkin Trans.* **2**:2029–2041.
- Nakada, N., H. Shinohara, A. Murata, K. Kiri, S. Managaki, N. Sato, and H. Takada. 2007. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. *Water Res.* **41**:4373–4382.
- Petrovic, M., M. J. Lopez de Alda, S. Diaz-Cruz, C. Postigo, J. Radjenovic, M. Gros, and D. Barceló. 2009. Fate and removal of pharmaceuticals and illicit drugs in conventional and membrane bioreactor wastewater treatment plants and by riverbank filtration. *Philos. Trans. R Soc. A* **367**:3979–4003.
- Postigo, C., M. J. López de Alda, and D. Barceló. 2010. Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environ. Int.* **36**:75–84.
- Richardson, S. 1998. *The Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*, p. 1398. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Rook, J. J. 1974. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treatment Exam.* **23**:234–240.
- Rosenblatt, D. H., L. A. Hull, D. C. De Luca, G. T. Davis, R. C. Weglein, and H. K. R. Williams. 1967. Oxidations of amines. II. substituent effects in chlorine dioxide oxidations. *J. Am. Chem. Soc.* **89**:1158–1165.
- Stackelberg, P. E., J. Gibbs, E. T. Furlong, M. T. Meyer, S. D. Zaugg, and L. Lippincott. 2007. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci. Total Environ.* **377**:255–263.
- van Nuijs, A. L. N., L. Pecceu, N. Theunis, C. Dubois, P. G. Charlier, L. Jorens, R. Bervoets, H. Blust, A. Neels, and A. Covaci. 2009. Cocaine and metabolites in waste and surface water across. *Belgium Environ. Pollut.* **157**:123–129.
- Westerhoff, P., Y. Yoon, S. Snyder, and E. Wert. 2005. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking. *Water Treatment Processes Environ. Sci. Technol.* **36**:6649–6659.
- Weyer, P., and D. Riley. 2001. Endocrine disruptors and pharmaceuticals in drinking water. *Am. Water Works Assoc.*
- Xu P, Janex M-L, Savoye P, Cockx A, Lazarova V. 2002. Determination of nicotine and cotinine in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with atmospheric-pressure chemical ionization interface. *Water Res* 2002;**4**:1043–1055.
- Zuccato E, Castiglioni S. 2009. Illicit drugs in the environment. *Phil Trans R Soc A* 2009;**367**:3965–3978.

222 PRESENCE AND REMOVAL OF ILLICIT DRUGS

- Zuccato, E., C. Chiabrando, S. Castiglioni, D. Calamari, R. Bagnati, S. Schiarea, and R. Fanelli. 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ. Health A Global Access Sci Source* **4**:1–7.
- Zuccato, E., S. Castiglioni, R. Bagnati, C. Chiabrando, P. Grassi, and R. Fanelli. 2008. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.* **42**:961–968.
- Zwiener, C., S. D. Richardson, D. M. DeMarini, T. Grummt, T. Glauner, and F. H. Frimmel. 2007. Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* **41**:363–371.

4.1.2. Presència i eliminació de les drogues d'abús estimuladores en els tractaments d'aigües potables: 2011-2015

Tal i com es descriu en l'Article Científic V, existeixen poc estudis que tractin la presència de les drogues d'abús en aigües potables i el seu comportament en els diferents tractaments convencionals de potabilització. Aquesta tendència s'ha mantingut, i actualment es segueix trobant un nombre reduït de treballs que hi facin referència.

Des de la publicació del primer treball sobre la presència de les drogues il·lícites en aigües potables i l'evolució de les concentracions durant els tractaments de potabilització (apartat 3.2.2.), diversos autors han realitzat estudis en la mateixa línia a Espanya (Boleda i cols., 2009, Boleda i cols., 2011b, Valcarcel i cols., 2012, Mendoza i cols., 2014b), Holanda (Van der Aa i cols., 2013) i Canadà (Rodayan i cols., 2015).

D'entre aquests treballs, cal destacar un estudi realitzat a nivell mundial que va incloure l'anàlisi de mostres d'aigua d'aixeta de ciutats espanyoles, europees, japoneses i llatinoamericanes (Boleda i cols., 2011a). Aquest estudi va evidenciar per una part, la presència d'algunes drogues il·lícites, com els derivats de la cocaïna, metadona, EDDP i amfetamines, i d'altres legals, com la cafeïna, nicotina i metabòlits, en aigües de beguda. Per altra part també posa de manifest l'efecte dels tractaments de potabilització en les eliminacions d'aquestes substàncies durant els diferents processos. A la Taula 4.1. es resumeixen els resultats obtinguts per algunes de les substàncies estudiades des de l'any 2011.

Taula 4.1. Presència de drogues il·lícites en aigua potable en treballs publicats des de l'any 2011. C_m : concentració mitjana. C_{max} : concentració màxima (Mendoza i cols i Valcárcel i cols concentracions per n=1).

Compost	País	Origen	Descripció	C_m (ng/L)	* C_{max} (ng/L)	Referències
Cocaïna	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.4	2.3	(Boleda i cols., 2011a)
	Espanya	Aixeta	Toledo	-	2.1	(Valcarcel i cols., 2012)
	Espanya	Aixeta	Madrid	-	1.6	(Mendoza i cols., 2014b)
	Europa	Aixeta	7 ciutats	0.1	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Canadà	ETAP	Quebec	4.2	-	(Rodayan i cols., 2015)
	Sud-Amèrica	Aixeta	7 ciutats	0.6	-	(Boleda i cols., 2011a)
Benzoïlecgonina	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.2	3.1	(Boleda i cols., 2011a)
	Espanya	Aixeta	Toledo	-	2.5	(Valcarcel i cols., 2012)
	Europa	Aixeta	7 ciutats	0.2	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Holanda	ETAP	10 ETAPs	<1	-	(Van der Aa i cols., 2013)
	Canadà	ETAP	Quebec	10	-	(Rodayan i cols., 2015)
	Sud-Amèrica	Aixeta	7 ciutats	4.5	-	(Boleda i cols., 2011a)
Cocaetilè	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.2	0.9	(Boleda i cols., 2011a)
Amfetamina	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	-	1.7	(Boleda i cols., 2011a)
Metamfetamina	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	-	1.4	(Boleda i cols., 2011a)
MDA	Canada	ETAP	Quebec	6.7	-	(Rodayan i cols., 2015)
	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	-	0.9	(Boleda i cols., 2011a)
MDEA	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	-	0.6	(Boleda i cols., 2011a)
Efedrina	Espanya	Aixeta	Madrid	-	0.3	(Mendoza i cols., 2014b)
	Canadà	ETAP	Quebec	12	-	(Rodayan i cols., 2015)
Ketamina	Canadà	ETAP	Quebec	15	-	(Rodayan i cols., 2015)
Fentanil	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	-	1.4	(Boleda i cols., 2011a)
	Canadà	ETAP	Quebec	11	-	(Rodayan i cols., 2015)
Codeïna	Canadà	ETAP	Quebec	43	-	(Rodayan i cols., 2015)
Dihidrocodeïna	Canadà	ETAP	Quebec	43	-	(Rodayan i cols., 2015)
EDDP	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.4	3.5	(Boleda i cols., 2011a)
	Europa	Aixeta	7 ciutats	0.4	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Japó	Aixeta	3 ciutats	0.1	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Sud-Amèrica	Aixeta	7 ciutats	0.4	-	(Boleda i cols., 2011a)
Morfina	Canadà	ETAP	Quebec	6	-	(Rodayan i cols., 2015)
Oxicodona	Canadà	ETAP	Quebec	3	-	(Rodayan i cols., 2015)
Metadona	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.2	3.1	(Boleda i cols., 2011a)
	Espanya	Aixeta	Toledo	-	0.99	(Valcarcel i cols., 2012)
	Europa	Aixeta	7 ciutats	0.1	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Sud-Amèrica	Aixeta	7 ciutats	0.4	-	(Boleda i cols., 2011a)
OH-THC	Espanya	Aixeta	43 Ciutats	0.2	-	(Boleda i cols., 2011a)
	Espanya	Aixeta	Toledo	-	0.49	(Valcarcel i cols., 2012)

Pel que fa referència a l'evolució de la presència d'aquestes substàncies durant els tractaments convencionals de potabilització, encara són menys els treballs que l'avaluen. Fins a la data, a més dels dos treballs realitzats en el nostre grup de treball sobre el comportament de les drogues d'abús, estimuladores (apartats 3.3.2 i 4.1.1.1) i depressores (Boleda i cols., 2009), en cada un dels tractaments de potabilització s'ha publicat un estudi on s'avalua la disminució de la concentració d'algunes drogues d'abús en una planta de tractament d'aigües potables a Holanda (Van der Aa i cols., 2013) encara que no s'han pogut determinar les eficiències dels tractaments utilitzats, donat que no es tenen en compte els temps de retenció hidràulics. Per últim, en un treball publicat recentment, Rodayan i cols. realitzen càlculs d'eliminació totals per a algunes drogues il·lícites en una ETAP canadenca (Rodayan i cols., 2015). Els resultats d'aquest estudi indiquen que moltes de les drogues d'abús, com per exemple cocaïna, benzoilecgonina, MDA i alguns opioides, no són eliminats durant el tractament de potabilització estudiat (coagulació, floculació, filtració i cloració) tot i que els autors suggereixen que les baixes eliminacions obtingudes (-18% a 49%) poden ser degudes al fet que la planta opera a cabals per sobre dels dissenyats.

4.1.3. Formació de subproductes de desinfecció en tractaments d'aigua potable

La presència de contaminants durant el procés de potabilització pot abordar-se des de la perspectiva de l'eficiència dels tractaments emprats per tal d'eliminar-los i garantir la producció d'una aigua de beguda lliure d'aquestes substàncies. Ara bé, un aspecte que no s'ha d'obviar és que aquesta eliminació pot comportar en realitat una transformació cap a d'altres espècies, lleugerament o altament modificades, amb propietats similars o completament diferents a les de la precursora, i que poden representar un problema a diferents nivells: organolèptic, toxicològic o epidemiològic. Per tant, el recorregut complet d'una substància a través del cicle de l'aigua pot dur-nos a la introducció de noves espècies en el medi.

Tal i com s'ha comentat a l'apartat 4.1.1., un dels principals camps d'estudi en relació als tractaments de potabilització de l'aigua és la formació de subproductes de desinfecció (DBPs) (Richardson i Postigo, 2012, Krasner i cols., 2013). A l'apartat següent (4.1.3.), es citen alguns dels principals DBPs descrits a la literatura, des del

descobriments dels primers trihalometans, fins a d'altres de més recents com la nitrosodimetilamina (NDMA) o els iodo-DBPs. Avui dia s'han identificat més de 600 DBPs en aigües tractades de beguda. Tot i així, el total de substàncies formades durant els processos de potabilització encara és desconegut (Richardson i Ternes, 2014). De fet, actualment s'estima que els trihalometans, perfectament establerts i regulats, constitueixen un 13% dels DBPs generats i encara existeixen més d'un 70% de substàncies generades desconegudes (Figura 4.1).

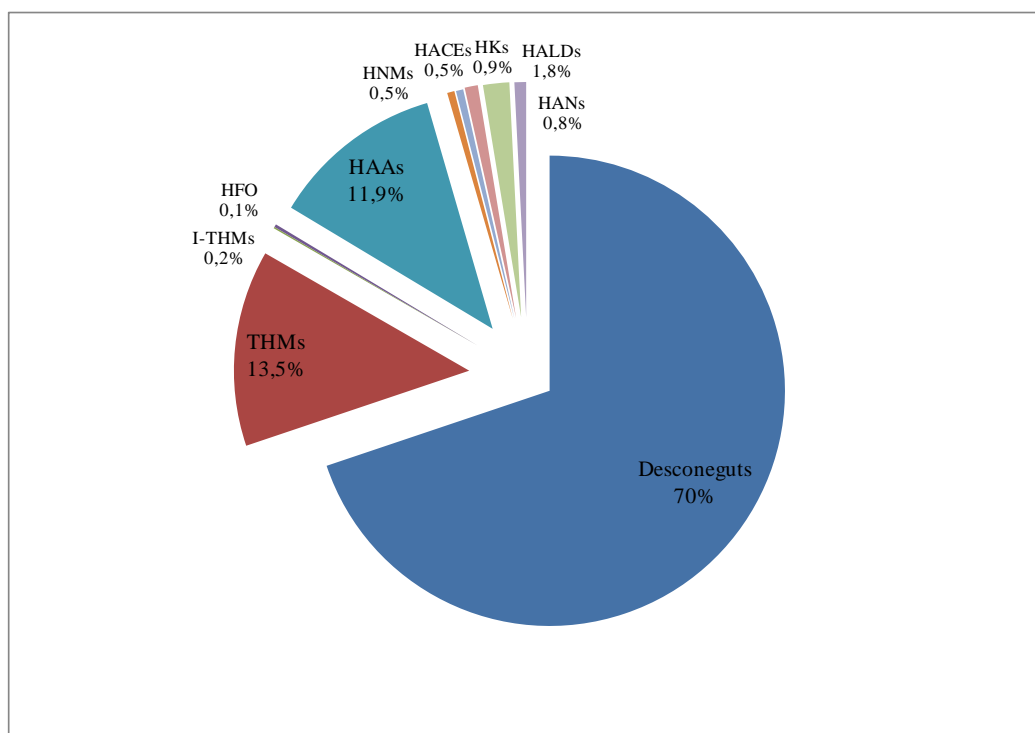


Figura 4.1. Distribució de DBPs en aigües tractades. Adaptat de Krasner i cols. (Krasner i cols., 2006) THMs: trihalometans; i-THMs: iodo-THMs; HFO: halofuranones; HAAs: àcids haloacètics; HNMs: halonitrometans; HACEs: haloacetamides; HKs: halocetones; HALDs: haloacetaldehids; HANs: haloacetanitrils.

La importància d'aquests subproductes rau fonamentalment en les seves característiques toxicològiques, i en els riscos associats, que la seva ingesta continuada pot representar per la salut humana. Diversos estudis toxicològics i epidemiològics han demostrat que moltes d'aquestes substàncies presenten elevades toxicitats. Ja fa més de dotze anys que Plewa i cols. van realitzar els primers estudis quantitius avaluant la citotoxicitat i genotoxicitat *in vitro* dels DBPs en cèl·lules de mamífers (Plewa i cols., 2002), i van concloure que els DBPs representaven un important risc per a la salut. Aquest risc es pot associar a problemes reproductius, de desenvolupament i, en molts casos, a diversos tipus de càncers, especialment de

bufeta (Villanueva i cols., 2007, Hrudey, 2009, Chen i cols., 2014). Successius estudis realitzats en la mateixa línia han proporcionat resultats similars i a més, han posat èmfasi en la toxicitat especialment elevada de DBPs diferents als clorats, més estudiats i coneguts, com són els que contenen brom, iode o nitrogen (N-DBPs) (Richardson i cols., 2007, Plewa i cols., 2010). A més, cal destacar que existeixen dos efectes difícilment controlables i/o avaluables, per una part les exposicions a llarg termini, i per l'altre els efectes acumulatius desconeguts de diferents tipus d'aquests DBPs (Nieuwenhuijsen i cols., 2009). A més d'aquestes dificultats cal esmentar l'aparició de noves espècies contaminants en el medi natural, com són les drogues d'abús o els fàrmacs, que poden ser introduïdes en el procés de potabilització, i que per tant són susceptibles de generar nous DBPs, alguns inclosos en el grup dels DBPs ja descrits, i d'altres encara desconeguts, passant a engreixar el percentatge d'espècies noves generades. Aquest escenari precisament es el que s'ha tractat a l'Article Científic V (apartat 4.1.1.1), on es descriuen possibles rutes de transformació a partir d'alguns dels substituents més reactius de les drogues d'abús.

Amb posterioritat als articles inclosos en aquest capítol sobre DBPs generats a partir de drogues d'abús, s'han publicat alguns treballs que estudien la formació d'aquests compostos a partir d'altres famílies de drogues. Aquests treballs es troben resumits a la Taula 4.2. S'inclouen també els estudis realitzats en aigües superficials i residuals que permeten identificar productes de transformació (TPs), ja que en molts casos els resultats obtinguts poden traslladar-se als tractaments emprats durant la potabilització.

Taula 4.2. Subproductes de desinfecció descrits per a les drogues d'abús.

Precursor	Tractament	Condicions	DBPs	Tipus d'aigua	Referències
Cocaïna	Cloració	Cl ₂ (1-10mg/L)	BE, nor-BE, nor-COC, N-formilnorcoïcaina	Laboratori	(Gonzalez-Mariño i cols., 2012b)
	Cloració	8 mg/L Cl ₂	BE, nor-BE, nor-COC + 4TP	Superficial/Residual	(Bijlsma i cols., 2013a)
	Fotòlisi	UV-254nm	BE, nor-BE + 6TP	Superficial/Residual	(Bijlsma i cols., 2013a)
	Ozonització	O ₃ (0.01-0.30mg/L)	2TP (TP-305, TP-319)	Residuals	(Rodayan i cols., 2014)
Benzoillegonina	Hidròlisi	Cl ₂ (1-10 mg/L)	Estable	Laboratori	(Gonzalez-Mariño i cols., 2012b)
	Cloració	8 mg/L Cl ₂	2TP- demetilat clorat i oxidat	Superficial/Residual	(Bijlsma i cols., 2013a)
MDMA	Fotòlisi	UV-254nm	BE, nor-BE + 2TP	Superficial/Residual	(Bijlsma i cols., 2013a)
	Ozonització	O ₃ (0.01-0.3mg/L)	2TP (TP-213, TP-229)	Residuals	(Rodayan i cols., 2014)
THC-COOH	Cloració	Cl ₂ (1-10mg/L)	7TP-Cloracions de 1-3 Cl i oxidacions	Laboratori	(Gonzalez-Mariño i cols., 2013)
	Hidròlisi	pH:3-8	1TP	Superficial/Residual	(Boix i cols., 2014)
	Cloració	8 mg/L Cl ₂	8TP	Superficial/Residual	(Boix i cols., 2014)
	Fotòlisi	UV-254nm	3TPs	Residuals	(Boix i cols., 2014)
Metadona	Hidròlisi	pH:5-8	Estable	Superficial	(Postigo i cols., 2011)
	Fotòlisi	UV-254nm	90% degradació	Superficial	(Postigo i cols., 2011)
	Fotocatalític	TiO ₂ (200 mg/L)	EDDP, OH-MET i EMDP	Superficial	(Postigo i cols., 2011)
	Cloració	Cl ₂ (1-10mg/L)	EDDP (3TP)+ 5TP	Superficial	(Gonzalez-Mariño i cols., 2015)
EDDP	Cloració	Cl ₂ (1-10mg/L)	3TP	Superficial	(Gonzalez-Mariño i cols., 2015)

COC: cocaïna; BE: benzoillegonina; TP: productes de transformació

En general, en tots aquests estudis es posa de manifest que alguns substituents de les drogues són especialment reactius. Per exemple, la presència de grups amino en la majoria de les drogues il·lícites estimuladores permet predir elevades reactivitats durant la cloració i la formació de DBPs clorats lleugerament modificats (Article Científic V, Apartat 11.2, Taula 11.2). D'altra banda, per a d'altres espècies, com el metabòlit carboxílic del THC o la metadona, la presència d'anells aromàtics activats constitueix un punt important de reactivitat per a la generació de DBPs clorats (Gonzalez-Mariño i cols., 2013, Gonzalez-Mariño i cols., 2015).

4.1.4. Fàrmacs en els tractaments d'obtenció d'aigua potable

Atès que en aquesta memòria també s'ha estudiat l'eliminació de productes farmacèutics en els tractaments d'aigua potable, en aquest apartat es tracta la presència d'aquests compostos en aigua potable i inclou l'Article Científic VI (apartat 4.1.3.1.) intitulat "*Traceability of emerging contaminants from wastewater to drinking water*" on es discuteix la presència de contaminants emergents, i més concretament dels fàrmacs, en aigües de beguda/aixeta i el seu comportament durant els tractaments convencionals de potabilització així com, la formació de subproductes de desinfecció. Finalment l'apartat 4.1.3.2. es centra en analitzar la situació actual de l'estudi de la presència dels fàrmacs estudiats en aigües potables.

4.1.4.1. ARTICLE CIENTÍFIC VI

Traceability of emerging contaminants from wastewater to drinking water

Huerta-Fontela, Ventura, F

In: Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste: Occurrence, Analysis and Effects, vol 5. Springer, 2008.

Traceability of Emerging Contaminants from Wastewater to Drinking Water

M. Huerta-Fontela^{1,2} (✉) · F. Ventura¹

¹AGBAR-Aigües de Barcelona, Av. Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain
mhuerta@agbar.es

²Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Av. Diagonal 647,
 08028 Barcelona, Spain

1	Emerging Contaminants in Drinking Water	144
2	Emerging Contaminants During Drinking Water Treatment	148
2.1	Activated Carbon Adsorption	148
2.2	Oxidation Processes	149
2.2.1	Ozonation	149
2.2.2	Chlorination	153
2.2.3	Chlorine Dioxide	154
2.3	Membrane Separation	155
2.3.1	Ultrafiltration	155
2.3.2	Nanofiltration/Reverse Osmosis	156
3	Emerging Disinfection By-Products	157
4	Removal of New Emerging Contaminants in a Drinking Water Treatment Plant (DWTP)	159
5	Concluding Remarks	163
	References	164

Abstract Due to the incomplete elimination of some human contaminants during wastewater treatment, some of these compounds can be found in surface waters or groundwaters which are used as raw waters for drinking water production. The treatment efficiency to completely eliminate these emerging contaminants or to partially remove them will determine the quality of the final treated water. Up to today, few studies have been performed to evaluate the efficiency of the usual drinking water treatments in eliminating emerging contaminants. Moreover, every day new potential emerging contaminants are discovered and new disinfection by-products are also generated during treatment, with a total ignorance of their potential toxicity or effect on human health. In this chapter, a summary of the state of the art of emerging contaminant occurrence and elimination during drinking water processes at the bench scale or real scale is presented. A study of the presence and elimination of a new group of human contaminants, susceptible to being considered as a new emerging contaminant group, in a real drinking water treatment plant in Spain has also been included.

Keywords Carbon · Disinfection by-products · Drinking water · Emerging contaminants · Illicit drugs · Oxidation · Sorption

1 Emerging Contaminants in Drinking Water

The occurrence of emerging contaminants (i.e., human and veterinary drugs, surfactants, textile dyes, algal toxins, etc.) in wastewaters [1–7] and surface waters [1, 8–14] and their removal during conventional treatments has been widely evaluated in recent years. Several organic pollutants, e.g., pharmaceuticals, are not quantitatively eliminated by wastewater treatment and “survive” natural attenuation processes in surface waters. Therefore, the occurrence of these contaminants in these resources can have a negative impact on the quality of drinking water and, perhaps, produce adverse health effects. The incidence of these organic micropollutants in raw water and their elimination during drinking water treatment, as well as the formation of disinfection by-products (DBPs), are issues related to the quality of raw resources and water supplies. Compared to wastewater treatment plants, much less is known about the behavior of these compounds in drinking water treatment plants (DWTPs). In Table 1, a summary of some of the emerging contaminants detected in drinking water is displayed. The lack of systematic monitoring programs or the fact that they are present at fluctuating concentrations near the analytical method detection limits (some of these compounds usually occur in the low ng/L range) could be some reasons to explain the relatively little knowledge of the occurrence of these compounds in drinking water production [15]. However, several studies have found that the removal of emerging contaminants (mostly polar compounds) during drinking water treatment is incomplete. In 1993, clofibric acid, the active metabolite of some blood lipid regulators such as clofibrate, etofyllin clofibrate, and etofibrate, was found in Berlin tap water at high concentrations above 165 ng/L. Further studies, showed a direct correlation between bank filtration and artificial groundwater enrichment (used by a particular waterworks in drinking water production) and the concentrations of this drug in treated water [16, 17]. The same authors also detected the presence of propylphenazone and diclofenac in finished drinking water. Clofibric acid occurrence was also investigated in drinking waters from southern California [18]. This compound was not found in the samples analyzed; however, ibuprofen, triclosan, several phthalates, and additives were detected in samples of finished drinking water. These authors also performed a seasonal study to evaluate the performance of these compounds through time, concluding that higher concentrations in raw waters were detected between August and November (dry season), probably related to lower flow rates.

Boyd et al. [19] examined the occurrence of nine pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting compounds (EDCs), including clofibric acid, anti-inflammatories, analgesics, antibiotics, and hormones, in drinking water from the USA and Canada, and none of them was found in the finished drinking water. The presence of several pharmaceuticals, including lipid regulators, analgesics, anti-inflammatories, and their

metabolites, was also evaluated in tap water from Cologne (Germany) [20]. Most of these compounds were found in the rivers and ponds analyzed but none of the eight selected drinking water samples showed the presence of the studied pharmaceuticals. Nevertheless, some hormones and antibiotics were detected in final drinking waters from the USA and Italy in recent years [21, 22]. Thus, McLachlan et al. [21] showed the presence of 17β -estradiol, estriol, and nonylphenol in final drinking waters. Regarding antibiotics, Perret et al. [22] studied the occurrence of 11 sulphonamide compounds (SAs) in mineral and municipal drinking waters from Italy. Concentrations of SAs from 9 to 80 ng/L in four different brands of mineral waters were obtained, while drinking water treatment was shown to be effective in the elimination of these compounds, with concentrations of SAs in municipal waters below the limit of quantification.

MTBE, a gasoline additive used since 1979, has also been detected in finished drinking water from the USA and Europe. Williams [23] reported the occurrence of this contaminant in about 1.3% of the drinking water samples from California (USA) analyzed during a period of 6 years. Concentrations ranged from 5 to 15 $\mu\text{g/L}$, nevertheless only 27% of the positive samples exceeded California's primary health-based standard of 13 $\mu\text{g/L}$. MTBE was also found in tap water from Germany; Achten et al. [24] reported maximum concentrations above 71 ng/L in treated water from the Frankfurt area. In 1997, another emerging contaminant, perchlorate, was discovered in water supplies from the USA. Exhaustive surveys were performed in California (USA) and perchlorate was found in 185 out of 2200 drinking water sources analyzed [25].

Algal toxins can also impact humans through drinking water contamination. The most lethal outbreak attributed to the presence of cyanobacteria in drinking water occurred in Brazil, where 88 deaths occurred over a 42-day period [26]. In 1999, toxic cyanobacteria blooms, microcystins, anatoxin-a, and cylindrospermopsin were also found in finished drinking waters from Florida (USA) at levels higher than those proposed in human health guidelines [27].

A more extended study was performed by Stackelberg et al. [28] who evaluated the persistence of 106 organic wastewater-related contaminants through conventional treatment processes and their occurrence in finished treated water. Results showed the presence of 17 of the selected contaminants in final water samples; caffeine (0.119 $\mu\text{g/L}$), carbamazepine (0.258 $\mu\text{g/L}$), dehydronifedipine (nifedipine metabolite; 0.004 $\mu\text{g/L}$), and cotinine (nicotine metabolite; 0.025 $\mu\text{g/L}$) were detected among the selected prescription and nonprescription drugs. Fragrances such as 7-acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl tetrahydronaphthalene (AHTN or Tonalide) and 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta- γ -2-benzopyran (HHCb or Galaxolide), the cosmetic triethyl citrate, and the plasticizer bisphenol A were found at high ng/L concentrations. Some pesticides, flame retardants, and solvents were also detected

Table 1 Summary of emerging contaminants found in tap water reported in the literature

Compound	Classification	Concentration (in tap water)	Country	Refs.
Bezafibrate	Pharmaceutical	up to 27 ng/L	Germany	[4]
		0.7 ng/L	Italy	[29]
Carbamazepine	Pharmaceutical	up to 30 ng/L	Germany	[4]
		119 ng/L	USA	[28]
		43.2 ng/L	France	[30]
		up to 20 ng/L	Germany	[123]
		5 ng/L	Italy	[29]
		140 ng/L	USA	[31]
Clofibrate	Pharmaceutical	270 ng/L	Germany	[17]
		0.58 ng/L	USA	[18]
Clofibric acid	Pharmaceutical	70–7300 ng/L	Germany	[17]
		3.2–5.3 ng/L	Italy	[32]
		up to 70 ng/L	Germany	[4]
		0.63 ng/L	USA	[18]
Codeine		30 ng/L	USA	[31]
Diazepam	Pharmaceutical	19.6–23.5 ng/L	Italy	[32]
Diclofenac	Pharmaceutical	up to 6 ng/L	Germany	[4]
		0.4–0.9 µg/L	Germany	[33]
Dilantin	Pharmaceutical	1.3 ng/L	USA	[34]
Fenofibric acid	Pharmaceutical	up to 45 ng/L	Germany	[17]
		up to 42 ng/L	Germany	[4]
Gemfibrozil	Pharmaceutical	0.4 ng/L	Italy	[29]
		70 ng/L	Canada	[35]
Ibuprofen	Pharmaceutical	up to 200 ng/L	Germany	[17]
		up to 3 ng/L	Germany	[4]
		0.6 ng/L	France	[30]
		5.85 ng/L	USA	[18]
Ibuprofen methyl ester	Metabolite	9.22 ng/L	USA	[18]
Ketoprofen	Pharmaceutical	3.0 ng/L	France	[30]
Meprobamate	Pharmaceutical	5.9 ng/L	USA	[34]
Naproxen	Pharmaceutical	0.15 ng/L	France	[30]
Paracetamol	Pharmaceutical	211 ng/L	France	[30]
Phenazone	Pharmaceutical	up to 1250 ng/L	Germany	[17]
		up to 50 ng/L	Germany	[4]
		400 ng/L	Germany	[36]
		250 ng/L	Germany	[37]
Primidone	Pharmaceutical	up to 20 ng/L	Germany	[123]
Propiphenazone	Pharmaceutical	up to 1465 ng/L	Germany	[17]
		120 ng/L	Germany	[36]
		80 ng/L	Germany	[37]
Sulfamethizole	Pharmaceutical (veterinary)	9 ng/L	Italy	[22]
Sulfamethoxazole	Pharmaceutical (veterinary)	8–13 ng/L	Italy	[22]

Table 1 (continued)

Compound	Classification	Concentration (in tap water)	Country	Refs.
Sulfadimethoxine	Pharmaceutical (veterinary)	11 ng/L	Italy	[22]
Tylosin	Pharmaceutical	0.6–1.7 ng/L	Italy	[32]
Diatrizoic acid	X-ray contrast	up to 85 ng/L	Germany	[4]
Iopamidol	X-ray contrast	up to 79 ng/L	Germany	[4]
Iopromid	X-ray contrast	up to 86 ng/L	Germany	[4]
Caffeine	Stimulant	0.119 µg/L	USA	[28]
		0.237 µg/L	Italy	[29]
		0.06 µg/L	USA	[31]
Cotinine	Nicotine metabolite	25 ng/L	USA	[28]
		20 ng/L	USA	[31]
17 α -Ethinylestradiol	Hormone	50 pg/L	Germany	[38]
Benzophenone	Sunscreen	0.13 µg/L	USA	[28]
Hydrocinnamic acid	Sunscreen	12.5 ng/L	USA	[18]
Triclosan	Germicide	0.734 µg/L	USA	[18]
		0.14 µg/L	USA	[8]
AHTN	Fragrance	0.49 µg/L	USA	[28]
		0.068 µg/L	USA	[31]
Camphor	Fragrance	0.017 µg/L	USA	[31]
HHCB	Fragrance	0.082 µg/L	USA	[28]
Triethyl citrate	Cosmetic	0.062 µg/L	USA	[28]
		0.082 µg/L	USA	[31]
MTBE	Gasoline additive	<13 µg/L	USA	[23]
		up to 75 ng/L	Germany	[24]
Anatoxin-A	Algal toxin	8.5 µg/L	USA	[27]
Cylindrospermopsin	Algal toxin	97.1 µg/L	USA	[27]
Microcystin	Algal toxin	up to 12.5 µg/L	USA	[27]
		up to 1 µg/L	USA	[39]
		<1 µg/L	Germany and Switzerland	[40]
Dimethyl phthalate	Plasticizer	2.36 µg/L	USA	[18]
Diethyl phthalate	Plasticizer	0.16–0.2 µg/L	Germany and Poland	[41]
		0.3 µg/L	Greece	[42]
		2.10 µg/L	USA	[18]
Dibutyl phthalate	Plasticizer	0.38–0.64 µg/L	Germany and Poland	[41]
		0.2–10.4 µg/L	Germany	[43]
		1.04 µg/L	Greece	[42]
		3.71 µg/L	USA	[18]
Butyl benzyl phthalate	Plasticizer	0.02–0.05 µg/L	Germany and Poland	[41]
		0.7 µg/L	Germany	[43]
		0.651 µg/L	USA	[18]
DEHP	Plasticizer	0.05–0.06 µg/L	Germany and Poland	[41]
		0.93 µg/L	Greece	[42]

but their concentrations did not exceed the maximum concentration levels established by the US Environmental Protection Agency.

Recently, Loos et al. [29] performed a survey of the anthropogenic environmental pollutants in surface and drinking waters from Italy. Fifty-one contaminants including pharmaceuticals, hormones, phthalates, surfactants, and herbicides were analyzed in both water matrices. Results achieved from surface waters coming from a lake showed the presence of 28 contaminants in the ng/L concentration range and similar concentration levels were obtained in tap water for the 23 detected compounds. For instance, pharmaceuticals such as carbamazepine, gemfibrozil, and bezafibrate were found at 5, 0.4, and 0.7 ng/L concentration levels in the tap water samples analyzed.

2

Emerging Contaminants During Drinking Water Treatment

2.1

Activated Carbon Adsorption

Activated carbon is a commonly used adsorbent for the removal of organic compounds such as pesticides, pharmaceuticals, and odor and taste compounds [44–46]. Adsorption on activated carbon depends on the intrinsic properties of the activated carbon sorbent (surface area and charge, pore size distribution, oxygen content) and on the solute properties (shape, size, charge, and hydrophobicity). Removal of such organic compounds is mainly controlled by hydrophobic interactions.

Powdered activated carbon (PAC) was evaluated for the elimination of selected PPCPs and endocrine disruptors during simulated drinking water treatment processes in the laboratory [47]. Octanol–water partition coefficients were shown to be a reasonable indicator of compound removal in PAC test conditions. Therefore, compounds with $\log K_{ow}$ values higher than 3 (i.e., sulfamethoxazole or carbamazepine) showed elimination percentages higher than 70% (5 mg/L; 4-h contact time) except for compounds with deprotonated acid functional groups (i.e., naproxen or ibuprofen), which seemed the most difficult to remove with PAC. Deviations from this correlation were also detected for N-heterocyclic compounds (i.e., caffeine or trimethoprim) or protonated bases (i.e., acetaminophen) with low K_{ow} , which showed higher removal percentages than expected.

Granular activated carbon (GAC) was also evaluated for the elimination of pharmaceuticals (bezafibrate, clofibrac acid, diclofenac, and carbamazepine) under laboratory, pilot, and waterworks conditions in Germany [33]. Pilot experiments showed high adsorption capacities for all the compounds except for clofibrac acid, which due to its acidic properties had a low breakthrough volume (17 m³/kg in a 160-cm carbon layer). In waterworks, GAC filtration was also

shown to be a very effective removal process, even at high concentrations of pharmaceuticals. They were almost completely removed at throughputs over $70 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$ except for clofibric acid, which could be removed completely at $15\text{--}20 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$. Nevertheless, the results obtained for carbamazepine were contradicted by a subsequent study performed in a DWTP in the USA [28]. In this work, GAC efficiency was evaluated for the elimination of prescription and nonprescription drugs, fragrance compounds, PPCPs, and other organic contaminants. These studies indicated that carbamazepine and other hydrophobic compounds, such as fragrances HHCB (Galaxolide) and AHTN (Tonalide), persisted through DWTPs including filtration with GAC. The authors suggested that different sorption efficiencies depend on competition with other organic compounds; therefore, the adsorption capacities for these compounds result in smaller values in a DWTP that contains amounts of organic compounds rather than in a laboratory or pilot-scale experiment.

2.2

Oxidation Processes

In drinking water treatment systems, the oxidants commonly used are chlorine, chlorine dioxide, and ozone. Ozone is widely used in Europe for the treatment of surface waters while free chlorine is preferred in the USA, although in recent years ozone use has experienced an increase. All three oxidants are strong electrophiles that exhibit selective reactivity with organic compounds. Among them, ozone tends to be more reactive, following the order $\text{O}_3 > \text{ClO}_2 > \text{HOCl}$. One exception is waters with high ammonia content where chlorine has the highest reactivity.

Oxidation processes have to deal with one major drawback, the formation of undesirable DBPs which in some cases can exhibit higher toxicity than the precursors. A summary of some DBPs from pharmaceuticals produced during oxidation processes described in the literature is displayed in Table 2.

2.2.1

Ozonation

Ozone is used in water treatment as both disinfectant and oxidant and reacts with a large number of organic and inorganic compounds [48–50]. Rate constants for the reaction with ozone range several orders of magnitude, showing that ozone is a very selective oxidant. Regarding organic compounds, ozone is particularly reactive toward amines, phenols, and compounds with double bonds, especially in aliphatic compounds. In addition, ozone is unstable in water (from seconds to hours) and its decomposition leads to a major secondary oxidant, the hydroxyl radical [50, 51]. The OH radical is a powerful but less selective oxidant; it reacts with high rate constants with most organic compounds but these reactions are less efficient because a large fraction is scavenged by

Table 2 Summary of DBPs described in the literature and produced from pharmaceutical precursors during oxidation processes

Compound	Class	Process	DBPs/Intermediates
Amoxicillin	Antibiotic	Ozonation	Elemental sulfur
MMTD	Antibiotic	Ozonation	Hydroxylation of phenol ring
		H ₂ O ₂ /UV	Degradation pathway
MMTD-Me	Antibiotic	Photolysis	One DBP
		H ₂ O ₂ /UV	S oxidation
		Photolysis	Two DBPs
Lincomycin	Antibiotic	TiO ₂ /hv	Mineralization
Sulfadiazine	Antibiotic	TiO ₂ /hv	4-Methyl-2-aminopyrimidine
Sulfamethoxazole	Antibiotic	Ozonation	Hydroxylamine formation
Sulfamethoxine	Antibiotic	Chlorination	3-Amino-5methylisoxazole;
		TiO ₂ /hv	N-chloro- <i>p</i> -benzoquinoneimine
		TiO ₂ /hv	2,6-Dimethoxy-4-aminopyrimidine; 2-aminothiazole
		TiO ₂ /hv	4-Methyl-2-aminopyrimidine
		TiO ₂ /hv	2,6-Dimethoxy-4-aminopyrimidine; 2-aminothiazole
		Ozonation/chlorination	Degradation pathway
		Chlorination	Chlorinated and hydroxylated products
Busperidone	Antianxiety	TiO ₂ /hv	from TMP's 3,4,5-trimethoxybenzyl moiety
Carbamazepine	Anticonvulsant	TiO ₂ /hv	Hydroxybusperidone; dihydroxybusperidone, dipyrimidinylbusperidone; 1-pyrimidinyl piperazine
		Ozonation	Degradation pathway
		Ozonation	1-(2-Benzaldehyde)-4-hydro-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-quinazoline-2-one (BQM)
Trimethoprim	Antibiotic	Ozonation	1-(2-Benzaldehyde)-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-quinazoline-2,4-dione (BQD)
		H ₂ O ₂ /UV	1-(2-Benzoic acid)-(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-quinazoline-2,4-dione (BaQD)
		TiO ₂ /hv	Acridine, salicylic acid, catechol, and anthranilic acid
		TiO ₂ /hv	Degradation pathway

Table 2 (continued)

Compound	Class	Process	DBPs/Intermediates	Refs.
Acetaminophen	Analgésic	Chlorination	Chloro-4-acetamidophenol; dichloro-4-acetaminophenol, 1,4-benzoquinone; <i>N</i> -acetyl- <i>p</i> -benzoquinone imine	[72]
Diclofenac	Anti-inflammatory	Ozonation H ₂ O ₂ /UV Photo-Fenton	Degradation pathway	[95] [95] [96]
Paracetamol	Anti-inflammatory	Ozonation Ozonation H ₂ O ₂ /UV	Degradation pathway <i>N</i> -(4-hydroxyphenyl) acetamide <i>N</i> -(4-hydroxyphenyl) acetamide 2-[(2,6-Dichlorophenyl)amino]-5-hydroxyphenylacetic acid); 2,5-dihydroxyphenylacetic acid	[92] [57] [97, 98]
Cimetidine	Histamine receptor	Anodic oxidation Fenton	Oxalic acid, oxamic acid Cimetidine sulfoxide, <i>N</i> -desmethylcimetidine, <i>N</i> -desmethylcimetidine sulfoxide, cimetidine guanylyurea, and 5-hydroxymethylimidazole	[99] [100]
Ranitidine 17β-Estradiol	Histamine receptor Hormone	TiO ₂ /hv Ozonation Ozonation TiO ₂ /hv	Mineralization Degradation pathway Oxidized and chlorine substituted compounds 10 ϵ -17β-Dihydroxy-1,4-estradien-3-one and testosterone-like species	[101] [71] [72] [102]
Estrone	Hormone	Ozonation Photo-Fenton Chlorination	Degradation pathway Six intermediates 2-Chloroestrone, 4-chloroestrone, 2,4-dichloroestrone, and 1,4-estradiene-3,17-dione	[70] [102] [103]
17α-Ethinylestradiol	Hormone	Ozonation	Dehydrated and decarboxylated compounds (five products)	[71]
Clofibrac acid	Lipid regulator	Ozonation TiO ₂ /hv	Oxidized and chlorine substituted compounds	[72]
Iomeprol	X-ray contrast	TiO ₂ /hv	Degradation pathway By-products unidentified	[94] [94]

the water matrix. Additional oxidation processes are the advanced oxidation processes (AOPs) which use OH radicals as the main oxidants. These processes accelerate the formation of radicals by increasing the pH in water, by adding hydrogen peroxide, or by applying UV radiation [50, 52, 53].

Several experiments have been developed in the laboratory in order to evaluate the oxidation of organic compounds with ozone during drinking water treatment [54]. These experiments showed that certain pharmaceuticals react quickly with ozone while others show no reaction, depending on their structural characteristics. Diclofenac, tetracyclines, carbamazepine, 17 α -ethinylestradiol, and estradiol showed rate constants higher than $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (pH 7 at 20 °C). For water treatment conditions (pH 7–8; $[\text{O}_3] = 1 \text{ mg/L}$) half-lives for these compounds are lower than 1 s, indicating the complete transformation of the parent compound during the ozonation process. Compounds with no reactive sites for ozone reaction, with lower rate constants, were more efficiently removed by reaction with OH radicals when AOPs were used, with rate constants about two or three times faster. For instance, iopromine, with an ozonation constant of $<0.8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, showed a K_{OH} of $3.3 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ and ibuprofen, which was only oxidized above 31%, increased this percentage to 84% when OH radicals were formed.

Ternes et al. [33] evaluated the elimination of bezafibrate, clofibrac acid, diclofenac, carbamazepine, and pirimidone under laboratory and full-scale DWTP conditions. Ozone was shown to be effective in eliminating carbamazepine and diclofenac (97%, 0.5 mg/L ozone dose), bezafibrate and pirimidone were appreciably removed with percentages above 50% (1 mg/L ozone doses), while clofibrac acid was poorly removed even at high ozone doses ($<40\%$, 2.5–3.0 mg/L ozone doses).

Oxidation of EDCs by reaction with ozone has also been experimentally evaluated. Estrogen steroids and nonylphenols reacted with ozone under similar conditions to those applied in water treatment systems [46]. Petrovic et al. evaluated the elimination of neutral and acidic nonylphenols in a Spanish DWTP [55, 56]. An efficiency of 87% in the elimination of these compounds and their halogenated by-products under ozone treatment was obtained.

More recently, bench-, pilot-, and full-scale studies have been performed to evaluate the ozone efficiency in the elimination of 36 diverse contaminants, including PPCPs, hormones, and pesticides in the USA [57]. Results showed that all the compounds were removed with percentages higher than 50% except for TCEP, lindane, and musk ketone, which were eliminated with percentages lower than 20%, and atrazine, iopromide, and meprobamate with removal percentages between 20 and 50%.

Regarding the transformation products generated from emerging contaminant precursors during ozonation, little information is found [58]. Ozonation of carbamazepine was studied in a German waterworks [59], with the conclusion that when this compound was present in raw water, two main products were formed, BQM (benzaldehydehydroquinazolineone) and BQD (benzalde-

hydequinazolinedione). Additionally, some transformation products could be predicted on the basis of known reaction pathways for specific functional groups [50]. For instance, it is known that secondary and tertiary amines react with ozone giving hydroxylamines and amine oxides, respectively [60]. Formation of these hydroxylamines could be problematic, for example in the case of sulfonamides, of which hydroxylamines are related to hypersensitivity reactions [61].

2.2.2

Chlorination

Chlorine is an oxidant used for disinfection of water supplies. Free chlorine (i.e., HOCl and OCl⁻) is commonly used in the USA for disinfection and oxidation of inorganic species. One major drawback in chlorination use is the formation of chlorinated organic compounds (mainly trihalomethanes and haloacetic acids) as DBPs, which are classified as carcinogenic and/or mutagenic compounds [62, 63]. Although the oxidation kinetics for organic compounds are lower than those for ozone or chlorine dioxide, it reacts rapidly with phenolic compounds, mainly through the reaction between HOCl and the deprotonated phenolate anion [64]. The sequential addition to the aromatic ring leads to ring cleavage. The reactivity with phenol moieties could explain the transformation of hormones (estradiol, ethynylestradiol, estriol, estrone) and nonylphenol by chlorine, evaluated in laboratory experiments [46].

Some experiments have been performed in order to assess chlorination effects over several emerging compounds at the laboratory scale [65–68]. The fate and occurrence of PPCPs (including musk fragrances), endocrine disruptors, and other organic contaminants were evaluated during simulated drinking water treatment (25 mg/L of Cl₂; contact time 24 h) [47]. Under these conditions gemfibrocil, hydrocodone, carbamazepine, compounds with primary or secondary amines (diclofenac, sulfamethoxazole, trimethoprim), and compounds with phenolic moieties (estradiol, estrone, ethynylestradiol, acetaminophen; oxybenzone, triclosan; bisphenol A) showed high reactivity with chlorine. On the other hand, the least reactive compounds were those that have electron-withdrawing functional groups or no conjugated carbon bonds (atrazine, BHC, DEET, fluoxetine, iopromide, meprobamate, and TCEP). The chlorination efficiency to eliminate ten antibiotics (carbadox, erythromycin, roxithromycin, sulfadimethoxine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethizole, sulfamethoxazole, sulfathiazole, and tylosin) was also evaluated on the laboratory scale and in surface waters [69]. The results obtained showed that a significant removal of all these compounds could be expected during free chlorination in most water treatment utilities. For instance, carbadox was completely removed within 1 min of contact time and at a chlorine concentration of 0.1 mg/L, while macrolides were removed above 85% with 2 h of contact time and 1 mg/L of chlorine.

Oxidation of organic contaminants has been also evaluated in full-scale treatments. Chlorination studies performed in different DWTPs in the USA and Canada, to assess the elimination of pharmaceuticals (i.e., clofibric acid, naproxen, ibuprofen, acetaminophen, fluoxetine), steroids (i.e., estrone, 17 β -estradiol), and plasticizers (bisphenol A), showed nondetectable concentrations of the target compounds after the chlorination step [19].

More recently, the effect of chlorine residual to eliminate several pharmaceuticals and other organic compounds (POOCs) has been evaluated in drinking waters from the USA. The addition of free chlorine to finished drinking water is a common practice as a distribution system disinfectant residual. Gibs et al. [70] have evaluated the effect of the addition of 1.2 mg/L of free chlorine in a finished drinking water with 98 POOCs. Results showed that 52 POOCs would remain after 10 days, with an unremarkable reduction in their concentrations.

As previously described, chlorine usually produces undesirable chlorination by-products to some extent. The formation, fate, and toxicity of oxidative by-products from pesticides and EDCs/PPCPs has been studied and assessed as of potential concern [53, 71]. The E-screen performed after chlorination of bisphenol A, 17 α -estradiol, and 17 α -ethynylestradiol showed a reduction in estrogenic activity after extended exposure time (120 min). Nevertheless, all compounds showed a similar estrogenicity trend, with a higher estrogenicity activity registered during the first phases of oxidation probably related to the formation of chlorination by-products [72]. Chlorination of acetaminophen has also been studied showing the formation of two chlorination ring products, chloro-4-acetamidophenol and dichloro-4-acetamidophenol, and two quinoidal oxidation by-products, 1,4-benzoquinone and *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine (NAPQI). These toxic compounds are associated with acetaminophen overdoses in humans with lethal effects [73].

Chlorination of sulfamethoxazole (SMX), a member of the sulfonamide antibacterial class, has also been studied in wastewater and drinking water matrices. Chlorine reacted with the aniline nitrogen giving the halogenation of the aniline moiety, yielding a ring chlorinated product, and with the SMX sulfonamide moiety to yield the formation of 3-amino-5-methylisoxazole and *N*-chloro-*p*-benzoquinoneimine subproducts [74].

2.2.3

Chlorine Dioxide

Chlorine dioxide (ClO₂) is an oxidant used for disinfection of high quality water, such as groundwater or treated surface water. In Europe, it is also used to protect drinking water distribution at residual concentrations (0.05 to 0.1 mg/L), while in the USA it is mainly used for the preoxidation of surface waters. Compared to chlorine, ClO₂ is generally a stronger and faster oxidant, [75] and is more effective for the inactivation of viruses, bacteria,

and protozoa (including the cyst of *Giardia* and the oocysts of *Cryptosporidium*). Chemically, ClO_2 has been demonstrated to be a very selective oxidant of specific functional groups of organic compounds, such as phenolic moieties, tertiary amino groups, or thiol groups [76]. Additionally, halogenated DBPs are not formed even under suitable conditions [77]. Nevertheless, other DBPs are formed during ClO_2 reaction. Therefore, chlorite is the major reduction product of ClO_2 , considered to be a blood poison [61, 78] and regulated by the USEPA at the 1 mg/L level [79].

Due to the oxidant doses used of ClO_2 in drinking water treatment and its specific reactivity, a complete elimination of parent contaminants is not expected. Nevertheless, this treatment could lead to the deactivation of specific functional groups responsible for parent activity. Chlorine dioxide has demonstrated cleavage of one of the N – C bonds of tertiary amines [80], which would mean the loss of a methyl or amino group in macrolide antibiotics leading to a related and expected decrease in pharmacological activity [81].

Oxidation of several pharmaceuticals by ClO_2 was evaluated in samples from a German DWTP [82]. Water samples were collected before ClO_2 treatment and spiked with the selected pharmaceuticals. Then, ClO_2 doses of 0.95 and 11.5 mg/L were added and samples were analyzed after 30 min of contact time. Under these experimental conditions, bezafibrate, carbamazepine, diazepam, and ibuprofen showed no reactivity while diclofenac was completely oxidized and phenazone derivatives and naproxen showed an appreciable reactivity.

2.3 Membrane Separation

In membrane processes, a semipermeable membrane separates contaminants from the water by a process known as crossflow filtration (also called tangential flow filtration). The bulk solution flows over, and parallel to, the filter surface while, under pressure, a portion of the water is forced through the membrane to produce a permeate stream. The turbulent flow of the feedwater over the membrane surface minimizes accumulation of particulate matter there, and facilitates continuous operation.

Different types of membranes are applied to drinking water treatment with different characteristic separations depending on their composition and pores. Several classifications can be made to characterize membranes; size exclusion is one of the most significant mechanisms to separate contaminants.

2.3.1 Ultrafiltration

Ultrafiltration (UF) allows the removal of turbidity, microorganisms, and many hydrophobic macromolecules (0.001–0.1 μm) with $\log K_{ow} > 4$. The

removal properties of UF membranes are usually expressed in terms of molecular weight cutoff (MWCO) which ranges from 1000 up to 50 000 Da. Nevertheless, most organic EDC/PPCP compounds range from 150 to 500 Da, and only those associated with particles or colloidal organic matter are removed.

An investigation on the removal of 52 EDCs and PPCPs with different physicochemical properties such as size, hydrophobicity, and acidity by UF and nanofiltration (NF) has been carried out in model and natural waters [104, 105]. The results showed that the UF membrane retained hydrophobic EDCs mainly by adsorption processes. UF membranes showed retention percentages lower than 40% for all compounds except triclosan (87%), oxybenzone (77%), and progesterone (56%). In most cases, the concentration of EDCs and PPCPs was feed > retentate > permeate except for few compounds (i.e., diclofenac, erythromycin, estriol, gemfibrozil, ibuprofen, chlordane, dieldrin) that showed lower concentrations in retentate than initial ones. These compounds were probably adsorbed onto the membrane and into the membrane pores. It has been reported that retention of relatively hydrophobic compounds and hormones (i.e., $\log K_{ow} > 3$) by UF, reverse osmosis (RO), and NF membranes is mainly due to adsorption [106, 107]. Yoon et al. [105] stated that compounds highly retained by UF (30–80%) have common structural properties including aromatic ring structures, high pK_a , and/or high $\log K_{ow}$ values, whereas poorly retained compounds include those with low $\log K_{ow}$ due to aliphatic, aromatic, nitrogen, carbonyl, phosphate, amine, or hydroxyl functional groups.

2.3.2

Nanofiltration/Reverse Osmosis

NF and RO are effective physical diffusion-controlled and size-exclusion processes which have been demonstrated to effectively remove pathogens and organic contaminants. However, the rejection efficiency correlates to different parameters affecting the solute, the membrane, and the feed water composition; moreover, it is also correlated with the concentration of the organic contaminant and its effective charge state. Both processes have the broadest duration of treatment capability but require a great degree of pretreatment, and in addition RO has a high relative cost compared with other technologies.

Bench-scale tests have been performed in order to evaluate the removal of several emerging contaminants by NF and/or RO. A pilot system with RO membranes was used to evaluate the elimination ratio of several pharmaceuticals, pesticides, and PPCPs. The system evaluated both virgin and fouled membranes, showing that target analytes were well-rejected and no effect of membrane fouling was detected [108]. Another study evaluated the elimination of steroid hormones by RO in wastewater matrices. Results showed removals greater than 90% for 17β -estradiol and 17α -ethinylestradiol [66].

NF membranes have also been evaluated by bench-scale tests for the analysis of EDCs and PPCPs [109]. Results showed that NF membranes had a low adsorption capacity for the less volatile and less hydrophobic compounds. Average retention percentages were 30–90% depending on their properties, except for naproxen which showed poor retention lower than 10%. In these tests, hydrophobicity led to adsorption and polarity to charge repulsions that were more important than molecular weight in removing EDCs and PPCPs.

A study of the removal of pesticides [110] and pharmaceuticals [111] by NF and RO membranes in a real DWTP has been performed. The DWTP supplies treated water to 20 000 inhabitants and uses one NF line and two parallel RO lines with a final mixing of the three permeates to obtain treated water. Triazines (i.e., simazine, atrazine, terbutylazine, and terbutryn) and metabolites (DIA, DEA) were fully eliminated in both NF and RO lines. On the other hand, removal of pharmaceuticals showed very similar percentages to those obtained for triazines, and high values above 80% were obtained in both NF and RO lines for most of the selected compounds (i.e., hydrochlorothiazide, ketoprofen, gemfibrozil, diclofenac, sulfamethoxazole, sotalol, metoprolol, propylphenazone, and carbamazepine). However, strong fluctuations in the permeate concentrations for some compounds, such as acetaminophen and mefenamic acid, were measured.

An assessment of removal possibilities with NF of priority pollutants in water sources of Flanders and The Netherlands has been recently reviewed [112]. The authors suggested that rejection of organic pollutants in NF could be qualitatively predicted as a function of a limited set of solute parameters, such as $\log K_{ow}$, pK_a , and molar mass. The prediction was based on the scheme proposed by Bellona et al. [113] but using hydrophobicity as the primary solute parameter. Their qualitative predictions for target compounds (hormones, industrial chemicals, pesticides, and pharmaceuticals) roughly correlated with values from the literature. The authors stated that the solute parameters together with a knowledge of the membrane material can give real estimations of the rejection of organic micropollutants and can provide feasible evaluations of NF in drinking water plant designs.

3 Emerging Disinfection By-Products

A widely known group of drinking water contaminants are DBPs which are generated during the treatment process. Some of these compounds, such as trihalomethanes, haloacetic acids, bromates, or chlorites, are widely known and they have been studied and regulated for the last 30 years. However, emerging contaminants in raw waters and new alternative disinfectants and treatments for drinking water production, implemented by the DWTPs, could lead to the formation of new DBPs. In Sect. 2, DBP formation from pharma-

ceuticals and hormones was examined. In this section, the emerging DBPs generated during water treatment due to alternative disinfectants from chlorine (i.e., ozone, chlorine dioxide, and chloramines) will be discussed. Up to now, scarce information about the potential toxicity of DBPs generated from these alternative disinfectants can be found. New DBPs identified include iodo-acids, bromonitromethanes, iodo-trihalomethanes, brominated forms of MX, bromoamines and bromopyrrole [114], nitrosodimethylamine (NDMA), and other nitrosamines. Recent studies [115] of their toxicity have demonstrated that some of these compounds are more genotoxic than many of the DBPs regulated, and are present at similar concentration levels to those regulated.

Among the emerging DBPs investigated, one remarkable compound is NDMA [116–118] which is generated from chloramines or chlorine disinfection (Fig. 1) [128–130]. This compound belongs to the chemical class of the *N*-nitrosoamines and its importance remains, as it is considered a potential human carcinogen with more cancer potencies than those reported for trihalomethanes [119, 120]. In 1989, NDMA was first detected in treated drinking water from Ohsweken (Ontario, Canada) at elevated concentrations (up to 0.3 $\mu\text{g/L}$). This finding prompted a survey of 145 Ontario DWTPs [116, 121, 122] and the concentrations of NDMA detected in the treated water were lower than 5 ng/L (except for some samples exceeding 9 ng/L). More recently, similar results were obtained for NDMA concentrations in drinking water systems from the USA. Results showed that NDMA was detected at concentra-

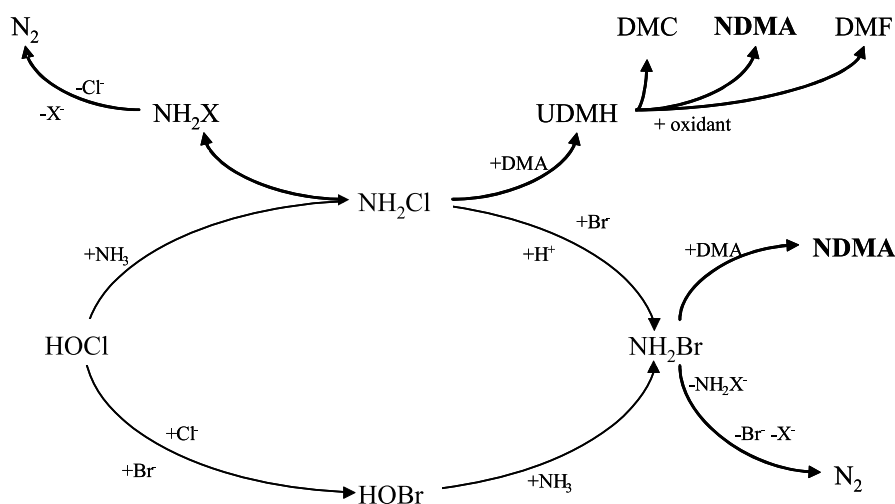


Fig. 1 NDMA formation mechanism for the chloramine/bromamine pathway [128–130]. X: Cl/Br; UDMH: unsymmetrical dimethylhydrazine; DMC: dimethylcyanamide; DMF: dimethylformamide

tion levels lower than 5 ng/L in water supplies which used only free chlorine, while 3 out of 20 chloraminated supplies contained concentrations higher than 10 ng/L [99]. Nevertheless, a more extended survey performed from 2001 to 2002 in 21 USA water systems indicated median concentrations of NDMA in chlorinated or chloraminated waters lower than 1 ng L⁻¹ [123]. Regarding legislation, although NDMA is listed as a priority pollutant [124], a maximum contaminant level (MCL) has not been established and it has not yet been included on the candidate contaminant list (CCL), which is a list of unregulated contaminants for monitoring in the USA [125]. Nevertheless, some regulatory agencies have established guidelines for maximum concentrations of NDMA; the Ontario Ministry of the Environment and Energy has fixed a value of 9 ng/L [126], while the California Department of Health Services has suggested a value of 10 ng/L [127].

With regard to other emerging DBPs, Richardson et al. [131] studied the formation of DBPs when alternative disinfectants were used. Over 200 DBPs were identified and a comparison between by-products formed from different treatments was also performed. The effect of high concentrations of bromide on the formation of chlorine dioxide DBPs was also evaluated by selecting natural waters from Israel (Sea of Galilee) with high natural levels of this compound. The DBP structures identified showed high degrees of bromide, such as 1,1,3,3-tetrabromopropane.

Finally, new alternative routes of exposure to drinking water DBPs are now being recognized. Inhalation or dermal absorption during bathing or showering can be translated into high exposure to toxic/carcinogenic compounds [132]. A recent study performed by Villanueva et al. [133] revealed a correlation between these activities and a higher risk of bladder cancer. An additional new route of exposure to DBPs is swimming pools. Zwiener et al. [134] published a review article on the formation of DBPs in swimming pool waters and the adverse health effects that could be related to them.

4 Removal of New Emerging Contaminants in a Drinking Water Treatment Plant (DWTP)

Human habits and activities have been widely demonstrated to impact the environment in many ways. Recently, a new group of human-use contaminants, illicit drugs, have been detected in aquatic media from the USA [135], Italy [136, 137], Germany [138], Spain [139, 140], and Ireland [141]. Due to the high consumption rates—around 200 million people have consumed illicit drugs in the last year—the determination of these compounds has become an important issue, not only for forensic sciences but also in environmental studies [135]. Some of these drugs are released unaltered or as slightly transformed metabolites. Therefore, they reach municipal wastewater treat-

Table 3 Drug concentrations in WWTP samples (NE Spain) (April to September, 2006) and in water from the Llobregat river (NE Spain) (September 2006) [139]

Compound	WWTP influent (n: 16)			WWTP effluent (n: 16)			River (n: 6)		
	Samples (>LOQ ^a)	C max ng/L	C mean ng/L	Samples (>LOQ ^a)	C max ng/L	C mean ng/L	Samples (>LOQ ^a)	C max ng/L	C mean ng/L
Nicotine	10	56053	13082	6	4775	2669	5	815	595
Cotinine	16	6820	2732	12	2726	1419	5	516	331
Caffeine	15	61638	23134	14	22848	4356	6	2991	1926
Paraxanthine	14	54220	14240	12	45681	5932	5	2709	1756
Amphetamine	1	15	15	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b
MDMA	5	91	49	4	67	41	2	3.5	3
MDEA	1	27	28	0	<LOQ ^b	<LOQ ^b	0	<LOD	<LOD
Ketamine	9	50	41	2	49	19	0	<LOD	<LOD
Cocaine	14	225	79	6	47	17	2	10	6
Benzoylcegonine	14	2307	810	11	928	216	4	111	77

^a Number of samples with concentrations higher than LOQ value

^b Concentrations between LOQ and LOD. LOQs (wastewater): nicotine (800 ng/L); cotinine (500 ng/L); caffeine (5 ng/L); paraxanthine (850 ng/L); amphetamine and MDA (1 ng/L); METH (0.9 ng/L); MDMA (1.5 ng/L); MDEA (2.5 ng/L); ketamine (5 ng/L); cocaine and BE (0.2 ng/L). LOQs (surface water): nicotine, cotinine, and paraxanthine (200 ng/L); caffeine (1.5 ng/L); amphetamine, MDA, and MDEA (0.8 ng/L); METH (0.7 ng/L); MDMA (0.3 ng/L); ketamine (3.1 ng/L); cocaine (0.15 ng/L); BE (0.1 ng/L)

ment plants (WWTPs) where, depending on the efficiency of the treatment, they are totally removed or, on the contrary, persist during the treatment and can be detected in receiving waters. The effectiveness of the water treatment processes and the impact of most of these compounds on the aquatic environment are still unknown.

An UPLC-MS/MS method was developed for the analysis of caffeine, nicotine, cocaine, amphetamine related compounds, and other synthetic controlled drugs, and their metabolites, in waste and surface waters [139]. Once the method was optimized and the quality parameters were established, the method was applied to the estimation of the occurrence of these substances in water samples from Catalonia (NE Spain) (Table 3). Results displayed in this table have been already submitted for publication. The analysis of several samples from WWTPs revealed the presence of drugs, such as cocaine and amphetamine related compounds, in both influent and effluent samples. Several illicit drugs, such as cocaine or MDMA (ecstasy), were also found in surface waters while nicotine and caffeine were detected in all the analyzed samples. The results obtained demonstrate that the presence of these drugs in aquatic media must be considered a matter of environmental concern [139].

The incidence of these illicit drugs in surface waters posed the need to investigate the elimination of these compounds during drinking water treatment and their presence in final treated water. The treatment in the DWTP investigated consisted in prechlorination (with chlorine or chlorine dioxide), sand filtration, flocculation and sedimentation, ozonation, GAC filtration, and final postchlorination.

Table 4 Drug concentrations of raw water, treated water, and elimination percentages in a DWTP (Spain)

	Intake ^a ng/L	Treated ^a ng/L	Elimination (%)
Nicotine	nd-1047	<LOQ	>99.9
Cotinine	nd-516	nd-276	74
Caffeine	nd-2991	nd-126	93
Paraxanthine	nd-2709	<LOQ	>99.9
Amphetamine	nd-165	<LOQ	>99.9
MDA	nd-6	<LOQ	>99.9
MDMA	nd-123	<LOQ	>99.9
MDEA	nd-54	<LOQ	>99.9
Ketamine	nd-61	<LOQ	>99.9
Cocaine	nd-411	<LOQ	>99.9
Benzoylcgonine	nd-1047	nd-24	89

nd: non detected

^a $n = 24$

Several controlled drugs, such as cocaine, benzoylecgonine (cocaine metabolite) and some amphetamine type stimulants (i.e., amphetamine or ecstasy), were detected with concentrations higher than their limit of quantitation (LOQ) at the intake of the selected DWTP [141]. For instance, maximum concentrations of 22 ng/L were obtained for cocaine and up to 37 ng/L for ecstasy. The removal efficiency during treatment was also evaluated and the results (Table 4) showed that removal percentages higher than 99.9% were obtained for most of the compounds found at the intake, including cocaine and ecstasy.

Only three of the studied compounds were detected in some samples with concentrations higher than the LOQs. Cotinine and caffeine among the controlled drugs were found in treated water with removal percentages of about 74 and 93%, respectively, and among the illicit drugs only the biologically inactive metabolite of cocaine was found in treated water at low ng/L levels with a removal of 89%. The analyses were performed by using an UPLC system coupled to tandem mass spectrometry (MS/MS) and the quality parameters were already established [139]. An extracted chromatogram from a treated water sample is displayed in Fig. 2. Two transitions were acquired for each compound in order to obtain four identification points, fulfilling the

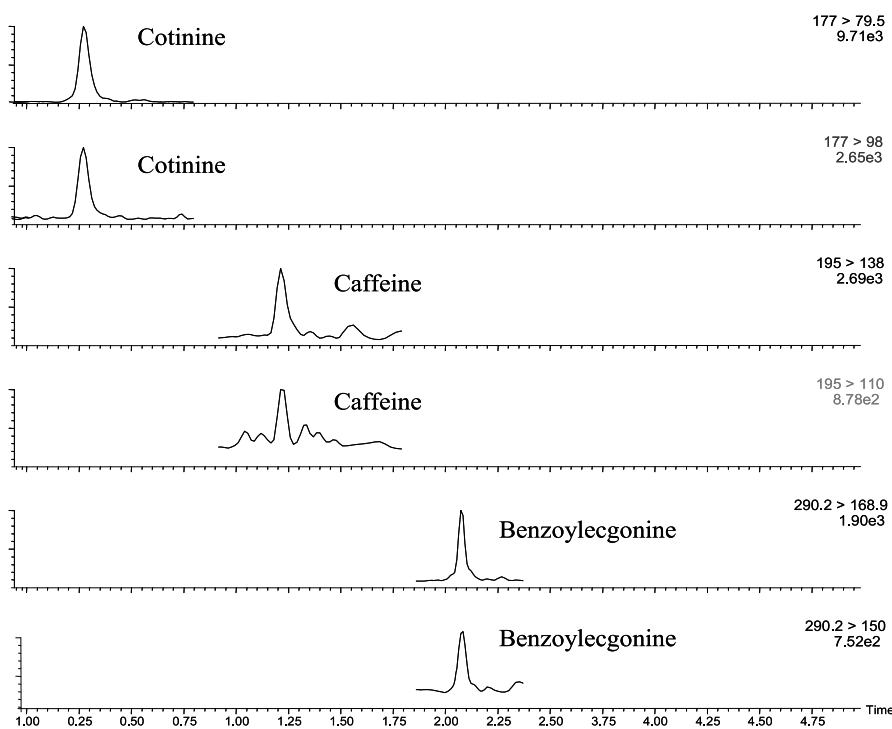


Fig. 2 Extracted ion chromatogram obtained at the intake of a Spanish DWTP. SRM acquisition mode

European Council directives (96/23/EC) regarding mass spectrometric detection [142] and the general criteria for forensic analysis [143].

5 Concluding Remarks

The occurrence of emerging contaminants in aquatic media has been widely assessed in the last decade. Nevertheless, much more data are needed in order to improve the knowledge of the behavior/removal of these compounds in wastewaters and surface waters, as well as their toxicological impact on both aquatic life and human beings and to establish safe guideline values. Moreover, the occurrence of these contaminants in drinking water, just like the removal efficiency of the treatment processes, is still relatively unknown.

In this chapter, a summary of the works published regarding the elimination of emerging contaminants through conventional drinking water treatments and the persistence of some of them through treatments has been presented. Activated carbon adsorption (PAC or GAC) has been shown to be effective to remove nonionic compounds with $\log K_{ow}$ higher than 3. Nevertheless, some pharmaceuticals such as carbamazepine and some fragrances such as HHCB (Galaxolide) persisted throughout treatment. NF and RO membranes were also found to remove organic contaminants to a very high extent. Oxidation processes such as ozonation and chlorination have also been evaluated in the elimination of emerging contaminants. Ozone was shown to be very effective in eliminating several pharmaceuticals, hormones, and nonylphenols with percentages higher than 50%, while poorer elimination rates were found for some pesticides (i.e., lindane, atrazine), fragrances (i.e., musk ketone), and pharmaceuticals (i.e., clofibric acid, meprobamate). Oxidation with chlorine or chlorine dioxide was shown to be less efficient but high reactivities were obtained when contaminants contained phenolic or amino moieties (i.e., hormones, nonylphenols, sulfonamides). One major drawback of the oxidation processes is the formation of undesirable DBPs which could have toxic effects. The formation of DBPs from these emerging contaminants together with new disinfection treatments could lead to emerging DBPs. Up to now some new DBPs, such as NDMA, bromonitromethanes, or iodo-trihalomethanes, have already been identified.

Finally, it must be emphasized that the emerging contaminants field is still growing. New human habits or activities could cause the appearance of novel contaminants in aquatic media that may become emerging contaminants. One example of new contaminants derived from human activities and detected in water sources are illicit drugs. These contaminants have recently been detected in aquatic media from the USA and Europe, thus demonstrating once more the cause-effect relationship between human activities and environmental contamination.

References

1. Ternes T (1998) *Water Res* 32:3245
2. Ternes TA, Kreckel P, Mueller J (1999) *Sci Total Environ* 225:91
3. Johnson AC, Sumter JP (2001) *Environ Sci Technol* 35:4697
4. Ternes T (2001) Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton C, Jones-Lepp T (eds) *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: scientific and regulatory issues*. American Chemical Society, Washington, p 39
5. Ternes T, Stuber J, Herrmann N, McDowell D, Ried A, Kampmann M, Teiser B (2003) *Water Res* 37:1976
6. Joss A, Keller E, Alder A, Gobel A, McArdell C, Ternes T, Siegrist H (2005) *Water Res* 39:3139
7. Thomas P, Foster G (2005) *Environ Toxicol Chem* 24:25
8. Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT (2002) *Environ Sci Technol* 36:1202
9. Stumpf M, Ternes T, Wilken R-D, Rodrigues S, Baumann W (1999) *Sci Total Environ* 225:135
10. Snyder S, Kelly K, Grange A, Sovocool GW, Snyder E, Giesy J (2001) Pharmaceuticals and personal care products in the waters of Lake Mead Nevada. In: Daughton C, Jones-Lepp T (eds) *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: scientific and regulatory issues*. American Chemical Society Washington, p 117
11. Barber LB, Leenheer JA, Pereira W, Noyes T, Brown G, Tabor C, Writer J (1995) Contaminants in the Mississippi River from municipal and industrial wastewater. In: *US Geological survey circular 1133*, Virginia
12. Singer H, Muler S, Tixier C, Pillonel L (2002) *Environ Sci Technol* 36:4998
13. Calamari D, Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R (2003) *Environ Sci Technol* 37:1241
14. Daughton C (2004) *Environ Impact Assess Rev* 24:711
15. Zwiener C (2007) *Anal Chem* 387:1159
16. Heberer T, Stan H-J (1997) *Int J Environ Anal Chem* 67:113
17. Heberer T, Schmidt-Bäumler K, Stan H-J (1998) *Acta Hydrochim Hydrobiol* 26:272
18. Loraine G, Pettigrove M (2006) *Environ Sci Technol* 40:687
19. Boyd GR, Reemtsma H, Grimm DA, Mitra S (2003) *Sci Total Environ* 311:135
20. Jux U, Baginski RM, Arnold H, Kronke M, Seng PN (2002) *Int J Hyg Environ Health* 205:393
21. McLachlan JA, Guillette LJ, Iguchi T Jr, Toscano WA Jr (2001) *Ann NY Acad Sci* 948:153
22. Perret D, Gentili A, Marchese S, Greco A, Curini R (2006) *Chromatographia* 63:225
23. Williams PRD (2001) *Environ Forensics* 2:75
24. Achten C, Kolb A, Puttmann W (2002) *Environ Sci Technol* 36:3662
25. California Department of Health Services. California's experience with perchlorate in drinking water. <http://www.drs.ca.gov/ps/ddwem/chemicals/perchl/perchlindx.htm>
26. Teixeira G, Costa C, de Carvalho VL, Pereira S, Hage E (1993) *Bull Pan Am Health Organ* 27:244
27. Burns J (2003) Report to the Florida Department of Health. Tallahassee
28. Stackelberg PE, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Hendersond AK, Reissmand DB (2004) *Sci Total Environ* 329:99

29. Loos R, Wollgast J, Huber T, Hanke G (2007) *Anal Bioanal Chem* 387:1469
30. Rabiet M, Togola A, Brissaud F, Seidel JL, Budzinski H, Elbaz-Poulichet F (2006) *Environ Sci Technol* 40:5282
31. Stackelberg PE, Gibs J, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Lippincott L (2007) *Sci Total Environ* 377:255
32. Zuccato E, Calamari D, Natangelo M, Fanelli R (2000) *Lancet* 355:1789
33. Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher H, Brauch J, Gulde BH, Preuss G, Wilme U, Seirbet NZ (2002) *Sci Total Environ* 36:3855
34. Vanderford BJ, Snyder SA (2006) *Environ Sci Technol* 40:7312
35. Tauber R (2003) Quantitative analysis of pharmaceuticals in drinking water from ten Canadian cities. *Enviro-Test Laboratories, Xenos Division, Ontario*
36. Reddersen K, Heberer T, Dunnbier U (2002) *Chemosphere* 49:539
37. Zuehlke S, Duennbier U, Heberer T (2004) *J Chromatogr A* 1050:201
38. Holger MK, Ballschmiter K (2001) *Environ Sci Technol* 35:3201
39. Carmichael WW (2001) *American Water Works Association Research Foundation, Denver*
40. Hoeger SJ, Hitzfeld BC, Dietrich DR (2005) *Toxicol Appl Pharmacol* 203:231
41. Luks-Betlej K, Popp P, Janoszka B, Paschke H (2001) *J Chromatogr A* 938:93
42. Psillakis E, Kalogerakis N (2003) *J Chromatogr A* 999:145
43. Fromme H, Kuchler T, Otto T, Pilz K, Muller J, Wenzel A (2002) *Water Res* 36:1429
44. Robeck GG, Dostal KA, Cohen JM, Kriessl JF (1965) *J Am Water Works Assoc* 57:181
45. Sacher F, Haist-Gulde B, Brauch H-J, Preuss G, Wilme U, Zullei-Seibert N, Meisenheimer M, Welsch H, Ternes TA (2000) 219th ACS national meeting, San Francisco, p 116
46. West P (2000) *AWWA Annual Conference, Denver*
47. Westerhoff P, Yoon Y, Snyder S, Wert E (2005) *Environ Sci Technol* 36:6649
48. Hoigne J, Bader H (1983) *Water Res* 17:185
49. Hoigne J, Bader H (1985) *Water Res* 19:993
50. von Gunten U (2002) *Water Res* 37:1443
51. Haag WR, Yao CCD (1992) *Environ Sci Technol* 26:1005
52. Hoigne J (1998) In: Hubrec J (ed) *Handbook of environmental chemistry*. Springer, Berlin, p 83
53. Acero JL, von Gunten U (2001) *J Am Water Works Assoc* 93:90
54. Huber MM, Canonica S, Park G-Y, von Gunten U (2003) *Environ Sci Technol* 37:1016
55. Petrovic M, Diaz A, Ventura F, Barceló D (2001) *Anal Chem* 73:5886
56. Petrovic M, Diaz A, Ventura F, Barceló D (2003) *Environ Sci Technol* 37:4442
57. Snyder SA, Wert EC, Rexing DJ, Zegers RE, Drury DD (2006) *Ozone Sci Eng* 28:445
58. Ikehata K, Naghashkar NJ, El-Din MG (2006) *Ozone Sci Eng* 28:353
59. McDowell DC (2005) *Environ Sci Technol* 39:8014
60. Muñoz F, von Sonntag C (2000) *Chem Soc Perkin Trans* 2:2029
61. Sisson ME, Rieder MJ, Bird IA, Almawi WY (1997) *Int J Immunopharmacol* 19:299
62. WHO guidelines for drinking-water quality (2004) WHO, Geneva, p 451
63. Miles AM, Singer PC, Ashley DL, Lynberg MC, Langlois PH, Nuckols JR (2002) *Environ Sci Technol* 36:1692
64. Faust BC, Hoigne J (1987) *Environ Sci Technol* 21:957
65. Adams SM, Greeley MS (2000) *Water Air Soil Pollut* 123:103
66. Huang C, Sedlak DL (2001) *Environ Toxicol Chem* 20:133
67. Sedlak DL, Pinkston KE (2001) *Water Res Update* 120:56
68. Gould JP, Richards JT (1984) *Water Res* 18:1001

69. Chamberlain E, Adams C (2006) *Water Res* 40:2517
70. Gibs J, Stackelberg PE, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg SD, Lippincott RL (2007) *Sci Total Environ* 373:240
71. Huber MM, Ternes TA, von Gunten U (2004) *Environ Sci Technol* 38:5177
72. Alum A, Yoon Y, Westerhoff P, Abbaszadegan M (2004) *Environ Toxicol* 19:257
73. Bredner M, MacCrehan WA (2006) *Environ Sci Technol* 40:516
74. Dodd M, Huang C (2004) *Environ Sci Technol* 38:5607
75. Ravacha C, Blits R (1984) *Water Res* 19:1273
76. Hoigne J, Bader H (1994) *Water Res* 28:45
77. USEPA: Stage 1 disinfectants and disinfection by-product rule (1998). EPA 63-FR 69390-69476
78. Condie LW (1986) *J Am Water Works Assoc* 73:78
79. USEPA: Alternative disinfectants and oxidants guidance manual (1999). EPA 815-R-99-014
80. Rosenblatt DH, Hull LA, De Luca DC, Davis GT, Weglein RC, Williams HKR (1967) *J Am Chem Soc* 89:1158
81. Li XQ, Zhong DF, Huang HH, Wu SD (2001) *Acta Pharmacol Sin* 22:469
82. Huber MM, Korhonen S, Ternes TA, von Gunten U (2005) *Water Res* 39:3607
83. Arslan-Alaton I, Dogruel S (2004) *J Hazard Mater* 112:105
84. Andreozzi R, Canterino M, Marotta R, Paxeus N (2005) *J Hazard Mater* 122:243
85. Lopez A, Bozzi A, Mascolo G, Ciannarella R, Passino R (2002) *Ann Chim* 92:41
86. Bozzi A, Lopez A, Mascolo G, Tiravanti G (2002) *Water Sci Technol Water Suppl* 2:19
87. Addamo M, Augugliaro V, Di Paola A, García-López E, Loddo V, Marci G, Palmisano L (2005) *J Appl Electrochem* 35:765
88. Calza P, Pazzi M, Medana C, Baiocchi C, Pelizzetti E (2004) *J Pharm Biomed Anal* 35:9
89. Adams C, Wang Y, Loftin K, Meyer M (2002) *J Environ Eng ASCE* 128:253
90. Dodd MC, Huang CH (2007) *Water Res* 41:647
91. Calza P, Medana C, Pazzi M, Baiocchi C, Pelizzetti E (2004) *Appl Catal B Environ* 53:63
92. Andreozzi R, Caprio V, Marotta R, Vogna D (2003) *Water Res* 37:993
93. Vogna D, Marotta R, Napolitano A, Andreozzi R, d'Ischia M (2004) *Water Res* 38:414
94. Doll TE, Frimmel FH (2005) *Water Res* 39:847
95. Vogna D, Marotta R, Andreozzi R, Napolitano A, d'Ischia M (2004) *Chemosphere* 54:497
96. Pérez-Estrada LA, Maldonado MI, Gernjak W, Agüera A, Fernández-Alba AR, Ballesteros MM, Malato S (2005) *Catal Today* 101:219
97. Vogna D, Marotta R, Napolitano A, d'Ischia M (2002) *J Org Chem* 67:6143
98. Andreozzi R, Caprio V, Marotta R, Vogna D (2003) *Water Res* 37:993
99. Brillas E, Sirés I, Arias C, Cabot PL, Centellas F, Rodríguez RM, Garrido JA (2005) *Chemosphere* 58:399
100. Zbaida S, Kariv R, Fischer P, Silmangreenspan J, Tashma Z (1986) *Eur J Biochem* 154:603
101. Addamo M, Augugliaro V, Di Paola A, García-López E, Loddo V, Marci G, Palmisano L (2005) *J Appl Electrochem* 35:765
102. Ohko Y, Iuchi KI, Niwa C, Tatsuma T, Nakashima T, Iguchi T, Kubota Y, Fujishima A (2002) *Environ Sci Technol* 36:4175
103. Nakamura H, Kuruto-Niwa R, Uchida M, Terao Y (2007) *Chemosphere* 66:144
104. Feng XH, Ding SM, Tu JF, Wu F, Deng NS (2005) *Sci Total Environ* 345:229

105. Yoon Y, Westerhoff P, Snyder SA, Wert EC (2006) *J Memb Sci* 270:88
106. Kimura K, Amy G, Drewes J, Watanabe Y (2003) *J Memb Sci* 221:89
107. Nghiem LD, Schaeffer AI, Elimelech M (2004) *Environ Sci Technol* 38:1888
108. Snyder SA, Adham S, Redding AM, Cannon FS, Decarolish J, Oppenheimer J, Wert EC, Yoon Y (2006) *Desalination* 202:156
109. Yoon Y, Westerhoff P, Snyder SA, Wert EC, Yoon J (2006) *Desalination* 202:16
110. Quintana J, Ventura F, Martí I, Luque F (2005) EMCO workshop, Dubrovnik
111. Radjenovic J, Petrovic M, Ventura F, Barceló D (2007) EMCO workshop, Belgrade
112. Verliefde A, Cornelissen E, Amy G, Van der Bruggen B, van Dijk H (2007) *Environ Pollut* 146:281
113. Bellona C, Drewes JE, Xu P, Amy G (2004) *Water Res* 38:2795
114. Krasner SW, Weinberg HS, Richardson SD, Pastor SJ, Chinn R, Scilimenti MJ, Onstad GD, Thruston AD Jr (2006) *Environ Sci Technol* 40:7175
115. Richardson SD, Thruston AD Jr, Rav-Acha C, Groisman L, Popilevsky I, Juraev O, Glezer V, McKague AB, Plewa MJ, Wagner ED (2003) *Environ Sci Technol* 37:3782
116. Jobb DB, Hunsinger RB, Meresz O, Taguchi VY (1995) Proc Am Water Works Assoc, water quality technology conference, Denver
117. Graham JE, Meresz O, Farquhar GJ, Andrews SA (1995) Proc Am Water Works Assoc, water quality technology conference, Denver
118. Najm I, Trussell RR (2001) *J Am Water Works Assoc* 93:92
119. Mitch WA, Sharp JO, Trussell RR, Valentine RL, Alvarez-Cohen L, Sedlak DL (2003) *Environ Eng Sci* 20:389
120. US EPA (2002) Integrated risk information system. Office of Research and Development (ORD), National Center for Environmental Assessment, www.epa.gov/ngispgm3/iris/search.htm
121. MOE (1998) Ontario Ministry of the Environment. Drinking Water Surveillance Program, 1996–1997. Executive Summary Report, www.ene.gov.on.ca/envision/dwsp/index96_97.htm
122. DHS (2002) California Department of Health Services; NDMA in California drinking water. March 15, www.dhs.ca.gov/ps/ddwem/chemicals/NDMA/history.htm
123. Barrett S, Hwang C, Guo Y, Andrews SA, Valentine R (2003) Proceedings of the 2003 AWWA annual conference, Anaheim
124. CFR (2001) Code of Federal Regulations, Title 40, Chapter 1, Part 131.36
125. US EPA (1998) Announcement of drinking water candidate contaminant list. *Fed Reg* 63(40):10273
126. MOE (2000) Ontario Ministry of the Environment and Energy. Regulation made under the Ontario Water Resources Act: Drinking Water Protection—Larger Water Works, www.ene.gov.on.ca/envision/WaterReg/Reg-final.pdf
127. www.epa.gov/safewater/mdbp/dbp1.html
128. www.valleywater.org/media/pdf/SFPUC_NDMA_White_Paper.pdf
129. Mitch WA, Sedlak DL (2002) *Environ Sci Technol* 36:588
130. Mitch WA, Sharp JO, Trussell RR, Valentine RL, Alvarez-Cohen L, Sedlak DL (2003) *Environ Eng Sci* 20:389
131. Richardson SD, Thruston AD, Caughran T, Chen PH, Collette TW, Schenck KM, Lykins BW Jr, Rav-Acha C, Glezer V (2000) *Water Air Soil Pollut* 123:95
132. Richardson S (2007) *Anal Chem* 79:4295
133. Villanueva CM, Cantor KP, Grimalt JO, Malats N, Silverman D, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Castano-Vinyals G, Marcos R, Rothman N, Real FX, Dosemeci M, Kogevinas M (2007) *Am J Epidemiol* 165:148

134. Zwiener C, Richardson SD, DeMarini DM, Grummt T, Glauner T, Frimmel FH (2007) *Environ Sci Technol* 41:363
135. Jones-Lepp TL, Alvarez DA, Petty JD, Huckins JN (2004) *Arch Environ Contam Toxicol* 47:427
136. Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Calamari D, Bagnati R, Schiarea S, Fanelli R (2005) *Environ Health* 4:1
137. Castiglioni S, Zuccato E, Crisci E, Chiabrando C, Fanelli R, Bagnati R (2006) *Anal Chem* 78:8421
138. Hummel D, Loffer D, Fink G, Ternes TA (2006) *Environ Sci Technol* 40:7321
139. Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F (2007) *Anal Chem* 79:3821
140. Boleda MT, Galceran MT, Ventura F (2007) *J Chromatogr A* 115:38
141. Bones J, Thomas KV, Pull B (2007) *J Environ Monit* 9:701
142. Commission of the European Communities Official Journal of the European Communities (2002) p 221
143. Rivier L (2003) *Anal Chim Acta* 492:69

4.1.5. Presència i eliminació dels fàrmacs en els tractament d'aigües potables: 2010-2015

El nombre reduït de publicacions en el camp de l'aigua potable, i sobretot de l'evolució de la presència de les drogues d'abús durant els tractaments, també es reproduïx en el camp d'estudi d'un altre grup de contaminants ambientals molt més establert, el dels fàrmacs. Tot i existir un major nombre de publicacions relatives a la presència i comportament dels fàrmacs en els tractaments de potabilització, aquest es molt inferior al total d'estudis realitzats per aquests compostos en d'altres matrius ambientals (Albaiges, 2015). A l'article VI (apartat 4.1.3.1.) es recullen dades sobre la presència de diferents contaminants emergents, i en concret de fàrmacs, en aigües finals tractades a més del seu comportament durant el tractament fins l'any 2008. Cal destacar, però, que en els darrers anys el nombre de treballs en aquest camp s'han multiplicat. El fet que tres fàrmacs, diclofenac, etinilestradiol (EE2) i estradiol (E2), hagin estat inclosos en la llista d'observació de la Directiva Marc de l'Aigua (2013/39/EU), i que la *Environmental Protection Agency* dels Estats Units (EPA) hagi inclòs l'eritromicina, l'EE2, l'E2, l'estrona (E1), l'estriol (E3), l'equileína, el mestranol, la noretindrona i la nitroglicerina en la llista de candidats a ser inclosos en la llista de contaminants d'aigua de beguda (CCL-3), reobre l'interès per l'estudi d'aquestes substàncies a nivell mundial i a més, centra el focus d'atenció en matrius menys estudiades, com la d'aigua potable.

Des de la publicació dels primers treballs on es descriu la presència de l'àcid clofibríc en aigües potables a Berlin (Heberer i cols., 1998, Ternes, 1998) i EEUU (Kolpin i cols., 2002) la presència de fàrmacs en aigües residuals, superficials, subterrànies i potables ha estat descrita arreu del món (Nikolaou i cols., 2007, Verlicchi i cols., 2012, Hughes i cols., 2012, Barcelo, 2012, Bu i cols., 2013, Kaplan, 2013, Rivera-Utrilla i cols., 2013, Richardson i Ternes, 2014, Sima i cols., 2014, Petrovic i cols., 2014, Richardson i Postigo, 2015)). Durant tot aquest temps s'han identificat més de 200 fàrmacs i els seus metabòlits en aigües residuals, superficials i subterrànies.

En concret i pel que fa a les aigües superficials i subterrànies, les famílies terapèutiques més freqüentment detectades arreu del món, són les relacionades amb el sistema cardiovascular (diürètics, β -bloquejants i reguladors lipídics), el sistema músculo-esquelètic, (antiinflamatoris i antireumàtics), els associats al sistema nerviós (analgèsics

antidepressius, antiepilèptics i psicoactius), els associats al sistema genito-urinari i hormones sexuals, els associats al sistema gastrointestinal (agents anti-úlceres i reguladors d'acidesa), els relacionats amb el sistema respiratori (antihistamínics), els agents per combatre infeccions (antibiòtics) i els marcadors de contrast de raigs X (Hughes i cols., 2012). La presència d'aquestes substàncies en les aigües emprades habitualment per a la producció d'aigua potable les converteix en candidates per trobar-se en l'aigua de beguda en funció de l'eficiència dels tractaments emprats i les concentracions inicials a les que es trobin. De fet, els estudis realitzats en aquest camp els darrers anys mostren la presència habitual d'alguns d'aquests fàrmacs a l'aigua potable de diferents països d'arreu del món com poden ser Anglaterra (Boxall i cols., 2012), França (Mompelat i cols., 2011), Alemanya (Dore, 2015), Espanya (Vazquez-Roig i cols., 2012, Carmona i cols., 2014, Boleda i cols., 2014), Itàlia (Riva i cols., 2015), Suècia (Villanueva i cols., 2014), Portugal (de Jesus Gaffney i cols., 2015), EEUU (Wang i cols., 2011, Padhye i cols., 2014), Canadà (Uslu i cols., 2013), Xina (Wen i cols., 2014) i Brasil (Thomas i cols., 2014), entre d'altres.

A la Figura 4.2. es mostra la distribució mundial de fàrmacs en aigües de l'aixeta, destacant EEUU, Canadà, Austràlia, Xina, França i Noruega on el nombre de substàncies detectades supera la trentena.



Figura 4.2. Distribució de la presència de fàrmacs en aigües potables arreu del món. Llegenda-nombre de fàrmacs detectats en aigües d'aixeta. Adaptada de (World Health Organization, 2012).

En el cas concret d'Espanya, on s'ha realitzat l'estudi inclòs als apartats 4.1.1.1. i 4.2.1., s'han detectat i quantificat fins a 29 fàrmacs del total de 223 estudiats (Figura 4.3.). D'entre aquests els identificats més habitualment en aigües tractades són l'iopromid, l'ibuprofè, la venlafaxina, l'atenolol, l'acetaminofen, l'hydroclorotiazida i la carbamazepina a concentracions màximes d'entre els 5.7 i els 84 ng/L (Boleda i cols., 2014). Cal tenir en compte que els estudis realitzats en aigües superficials destaquen la presència a concentracions elevades de molts d'aquests fàrmacs, que superen en alguns casos els valors mitjans europeus com succeeix per exemple, per als reguladors lipídics (441%), els agents cardiovasculars (209%) o els analgèsics (209%) (Hughes i cols., 2012). És evident per tant, que els processos de potabilització per tractar aquestes aigües revesteixen una importància cabdal no tan sols per eliminar aquests compostos de les aigües tractades sino per aconseguir reduir-ne les seves elevades concentracions.

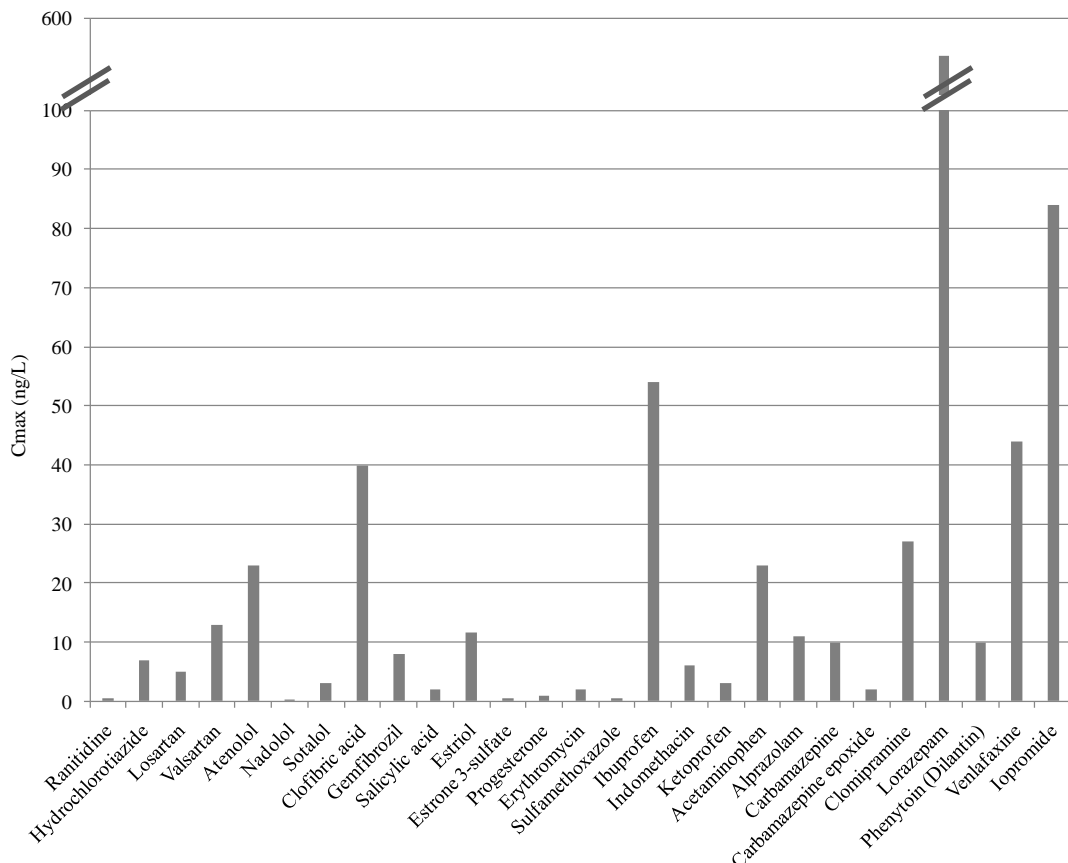


Figura 4.3. Fàrmacs detectats en aigües de beguda a Espanya (C_{max}:concentració màxima). Adaptada de (Boleda i cols., 2014).

El comportament dels fàrmacs en els tractaments de potabilització, ha estat descrit en diferents treballs i resums (Jelic i cols., 2012, Rivera-Utrilla i cols., 2013, Postigo i Richardson, 2014, Richardson i Postigo, 2015) que discuteixen no tan sols la presència d'aquests compostos en les aigües finals tractades, sinó que n'avaluen el seu comportament en cadascun dels tractaments emprats per assolir la seva eliminació. Per fer-ho alguns autors, estudien l'eliminació dels fàrmacs en condicions reals (Kleywegt i cols., 2011, Boleda i cols., 2011b, Padhye i cols., 2014, Simazaki i cols., 2015) mentre que d'altres utilitzen aproximacions a escala de laboratori (Westerhoff i cols., 2005, Vieno i cols., 2007, Sudhakaran i cols., 2013) on simulen els tractaments reals. En general, aquests estudis confirmen que, com ja s'ha comentat a l'apartat anterior (4.1.3.1), alguns dels processos convencionals emprats per a l'eliminació de fàrmacs són poc efectius, com per exemple la filtració i la coagulació, per a les quals tan sols s'han descrit eliminacions superiors al 50% per a antibiòtics com el trimetoprim (60%) i algunes tetraciclins (55-66%) (Alexander i cols., 2012). En canvi, el tractament amb clor que és el més àmpliament emprat resulta eficient per eliminar un gran nombre de fàrmacs incloent sulfonamides, fluoroquinolones, analgèsics o antiinflamatoris (Jelic i cols., 2012, Rivera-Utrilla i cols., 2013). D'entre aquests, el diclofenac, acetaminofen, naproxè, indometacin, gemfibrozil, triclosan, sulfametoxazol o la norfloxazina, són eliminats completament (>99%) i d'altres com l'ibuprofè (70-83%) mostren també elevades reactivitats (Westerhoff i cols., 2005, Giri i cols., 2010, Boleda i cols., 2011b, Quintana i cols., 2012, Bulloch i cols., 2012, Postigo i Richardson, 2014, Jezkova i Slavickova, 2015). Altres oxidants com el diòxid de clor o l'ozó també han demostrat ser eficients per a alguns dels fàrmacs més recalcitrants com s'ha comentat a l'article científic VI de l'apartat anterior. Per exemple l'ozó és capaç d'oxidar alguns antibiòtics, analgèsics i hormones com el sulfametoxazol, la roxitromicina, el diclofenac o l'etinilestradiol (Rivera-Utrilla i cols., 2013, Padhye i cols., 2014) i el diòxid de clor per la seva part reacciona selectivament amb compostos amb grups funcionals amb una elevada densitat de carrega com les amines i els grups fenoxi, com per exemple, les sulfonamides, els macròlids i els estrògens (Postigo i Richardson, 2014). Les tècniques avançades d'oxidació com per exemple la combinació d'ozó amb peròxid d'hidrogen han demostrat un elevat poder oxidant per eliminar compostos especialment estables com la carbamazepina (>99%) o l'eritromicina (>99%) (Snyder i cols., 2006) i la combinació d'ozó amb UV ha permès assolir elevats percentatges d'eliminació per a

marcadors de contrast com l'iopromid (90%), l'àcid mefenàmic (95%) o el triclosan (>99%) (Ternes i cols., 2003, Chen i cols., 2012, Chang i cols., 2012). D'altres tractaments permeten eliminar diversos fàrmacs recalcitrants als tractaments convencionals. Per exemple, la carbamazepina, el diazepam, la fluoxetina (92%), roxitromicina (90%) o el trimetoprim (99%) (Westerhoff i cols., 2005, Liu i cols., 2012, Baccar i cols., 2012), i compostos com l'etinilestradiol mostren elevades eliminacions al voltant del 77% amb una filtració amb carbó actiu mentre que altres compostos com els marcadors de contrast com l'iopromid resulten molt poc eliminats (30%). Els reactors de biomembrana, l'osmosi inversa o la nanofiltració són uns altres tractaments proposats per reduir les concentracions dels compostos que sobreviuen als tractaments convencionals obtenint-se per alguns d'ells elevades eliminacions (Boleda i cols., 2011b, Miralles-Cuevas i cols., 2014, Akhtar i cols., 2015, Cincinelli i cols., 2015, Jung i cols., 2015). Per exemple, l'osmosi inversa i la nanofiltració presenten una elevada eficàcia (85%) per a l'eliminació d'un important nombre de fàrmacs (Petrovic i cols., 2013).

4.2.TREBALL EXPERIMENTAL

En aquesta tesi s'ha avaluat la presència, comportament i eliminació de les drogues d'abús estimuladores durant diversos tractament de potabilització convencionals en l'ETAP de Sant Joan Despí que tracta aproximadament uns 300 milions de litres d'aigua per dia, i que abasteix un nombre elevat de població de l'Àrea Metropolitana de Barcelona. L'evolució de la presència de les substàncies estudiades des del moment de la captació fins a la distribució ha estat controlada abans i després de cadascun dels tractaments emprats, que consisteixen fonamentalment en una pre-oxidació amb clor, clarificació i filtració, mescla amb aigua subterrània, ozonització, filtració per carbó actiu i post-cloració. Els temps de retenció hidràulics han estat controlats en tot moment per tal de poder establir els percentatges d'eliminació en cada un dels tractaments, així com el del procés global. Els resultats d'aquest estudi es recullen a, en la publicació IV intitulada *“Stimulatory Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant”* i recollida l'apartat 3.3.2. del Capítol 3.

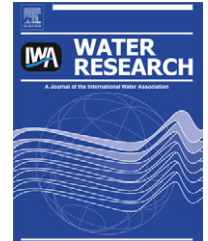
Donats els resultats d'eliminació obtinguts per a les drogues d'abús durant els tractaments de potabilització, es va realitzar un estudi en el laboratori amb l'objectiu d'avaluar la possible formació de subproductes de desinfecció dels compostos de tipus amfetamínic en condicions reals de cloració. Els subproductes identificats van ser sintetitzats per a la seva confirmació i posteriorment es va procedir a estudiar la seva formació i presència a la planta durant els tractaments de potabilització i en les aigües finals tractades. Aquest estudi i els resultats obtinguts es troben recollits en la publicació VII intitulada: *“Identification of new chlorinated amphetamine type stymulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment”* (apartat 4.2.1).

Finalment s'inclou un estudi realitzat per tal d'avaluar el comportament de diferents famílies de fàrmacs durant el tractament de potabilització dut a terme a la planta i correlacionar-lo amb el de les drogues d'abús. En aquest treball es van seleccionar quaranta-dos fàrmacs, que inclouen β -bloquejants, agents cardíacs, drogues psiquiàtriques o antihistamínics, hormones i els seus metabòlits. El treball corresponent a aquest estudi es troba recollit a l'apartat 4.2.2, publicació VIII intitulada: *“Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment”*.

4.2.1. ARTICLE CIENTÍFIC VII

Identification of new chlorinated amphetamine type stimulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment.

Huerta-Fontela, M., Pineda, O., Galceran, M. T., Ventura, F
Water Research 46 (2012): 3304-3314.

Available at www.sciencedirect.comjournal homepage: www.elsevier.com/locate/watres

Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment

Maria Huerta-Fontela ^{a,b}, Maria Teresa Galceran ^b, Francesc Ventura ^{a,*}

^a AGBAR-Aigües de Barcelona, Av. Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain

^b Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Av. Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 May 2010

Received in revised form

25 October 2010

Accepted 30 October 2010

Available online 5 November 2010

Keywords:

Pharmaceuticals

Hormones

Drinking water

Chlorination

Ozonation

GAC

Tap water

ABSTRACT

The occurrence of fifty-five pharmaceuticals, hormones and metabolites in raw waters used for drinking water production and their removal through a drinking water treatment were studied. Thirty-five out of fifty-five drugs were detected in the raw water at the facility intake with concentrations up to 1200 ng/L. The behavior of the compounds was studied at each step: prechlorination, coagulation, sand filtration, ozonation, granular activated carbon filtration and post-chlorination; showing that the complete treatment accounted for the complete removal of all the compounds detected in raw waters except for five of them. Phenytoin, atenolol and hydrochlorothiazide were the three pharmaceuticals most frequently found in finished waters at concentrations about 10 ng/L. Sotalol and carbamazepine epoxide were found in less than a half of the samples at lower concentrations, above 2 ng/L. However despite their persistence, the removals of these five pharmaceuticals were higher than 95%.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The occurrence of human pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewaters (Ternes, 2001, 1998) and in surface waters (Daughton, 2004; Kolpin et al., 2002; Richardson, 2007) has been demonstrated and widely evaluated in the last decade. These compounds together with their metabolites enter the environment primarily through domestic use to sewage treatment plants. If pharmaceuticals are not quantitatively eliminated, they can be then discharged to rivers, lakes and seas which may be used as raw sources for drinking water production. Therefore the presence of such organic contaminants might have a negative impact on the quality of drinking water together with unknown toxicological

effects through chronic exposure. In view of this scene, the incidence of pharmaceuticals in raw waters used for drinking water production and their elimination through treatment must be considered an issue in terms of health safety for water production. However, compared to wastewater treatment plants, much less is known about the behavior of these drugs in drinking water treatment plants or their presence in tap waters. The lack of systematic monitoring programs and also the fact that they are present at fluctuating concentrations near analytical method detection limits (some of these compounds usually occur in the low ng/L range or below) could be some reasons to explain the relative little knowledge of the occurrence of these compounds, their metabolites and their transformation products through drinking water treatment

* Corresponding author. Tel.: +34 93 342 2715; fax: +34 93 342 2666.

E-mail address: fventura@agbar.es (F. Ventura).

0043-1354/\$ – see front matter © 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.watres.2010.10.036

(Zwiener, 2007). Recently, Jones et al. (2005) and Mompelat et al. (2009) reviewed the occurrence and fate of pharmaceuticals and transformation products in drinking waters.

To date, several pharmaceuticals have been found in European and USA' tap waters (Heberer et al., 2004, 1998; Jones et al., 2005; Loos et al., 2007; Loraine and Pettigrove, 2006; McLachlan et al., 2001; Mompelat et al., 2009; Perez and Barcelo, 2007; Snyder et al., 2006; Stackelberg et al., 2007, 2004; Togola and Budzinski, 2008; Vanderford and Snyder, 2006; Vieno et al., 2005; Zuccato et al., 2000; Zuehlke et al., 2004) at concentrations ranging from ng/L level to low $\mu\text{g/L}$. The first work reporting the presence of one pharmaceutical in drinking water was published in 1993. Heberer et al. (Heberer et al., 1998) reported the finding of clofibrac acid, the active metabolite of some blood lipid regulators, in Berlin tap water at high concentrations above 165 ng/L uncovering the chance for pharmaceuticals to return to human beings by means of drinking waters. Few years later, McLachlan et al. (McLachlan et al., 2001) showed the presence of EDCs, such as 17 β -estradiol, estriol and nonylphenol in final drinking waters while Loos et al. (Loos et al., 2007) described the presence of pharmaceuticals such as carbamazepine, gemfibrozil and bezafibrate in tap waters from Italy.

The overall removal efficiency of these compounds in DWTPs is less known. Some works have studied the presence of pharmaceuticals in raw waters and in distribution waters in order to evaluate the removal of these compounds through treatments (Glassmeyer and Shoemaker, 2005; Stackelberg et al., 2007, 2004; Ternes et al., 2002; Yoon et al., 2007). Stackelberg et al. (Stackelberg et al., 2007) performed one study evaluating the presence of 23 pharmaceutical residues, among other organic wastewater-related contaminants, after a treatment process consisting on clarification, filtration and disinfection. Results showed, for instance, complete removals of erythromycin or sulfamethoxazole while values of 98% and 85% were obtained for carbamazepine.

Finally the behavior of pharmaceuticals through each step of drinking water treatment such as chlorination, ozonation, sand filtration or granulated active carbon is not well-known. Most of the studies have been performed in laboratory scale. For instance, Westerhoff et al. (Westerhoff et al., 2005) evaluated the behavior of several pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds (EDCs) during simulated drinking water treatments. Results showed different removal efficiencies depending on the oxidation treatment and also described the formation of new disinfection-by-products. Benotti et al. (Benotti et al., 2009) have recently performed one real scale study, evaluating the efficiency of ozone and chlorine treatment for the elimination of 20 pharmaceuticals and 25 EDCs. In this study, compounds were classified in three groups depending on their removal efficiencies through oxidation.

The aim of this work was to evaluate the presence of 42 pharmaceuticals, including psychiatric drugs, angiotensin agents, antihistaminics, β -blockers and cardiac agents, 6 EDCs and 6 main metabolites after each treatment in a real scale drinking water plant which included extensive treatments such as ozonation and granular activated filtration GAC. Removals through drinking water treatment were calculated as the disappearance of the pharmaceutical either by the

elimination of the precursor or by its transformation into disinfection-by-products (DBPs). The results obtained not only provided new information regarding treatment efficiencies for these compounds but also an assessment of the drinking water quality.

2. Experimental

2.1. Chemicals and materials

Alprazolam, atenolol, bromazepam, carbamazepine, chlordi-azepoxide, chlorpromazine, diazepam, diltiazem, fluoxetine, furosemide, hydrochlorothiazide, loratadine, lorazepam, metoprolol, oxazepam, paroxetine, phenytoin, propranolol, sertraline, venlafaxine and zolpidem were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA). Demethylsertraline, desmethylvenlafaxine, irbesartan, L-dopa, losartan, terbutaline, valsartan and warfarin were purchased to Toronto Research Chemicals (North York, Canada) while all the other standards were obtained from Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA).

Deuterated alprazolam- d_5 , chlorpromazine- d_3 , diazepam- d_5 , lorazepam- d_4 , oxazepam- d_6 , paroxetine- d_6 and zolpidem- d_6 were from LGC Promochem (Austin, TX, USA). Carbamazepine- d_2 , furosemide- d_5 and losartan- d_3 were from Toronto Research Chemicals (North York, Canada) whereas atenolol- d_7 , was purchased from Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA).

Structures of the studied compounds grouped according their pharmaceutical applications are depicted in Fig. 1.

2.2. Analytical method

The analytical method for the selected compounds (Fig. 1) was that previously established for wastewaters (Huerta-Fontela et al., 2010). Briefly, water samples were enriched by solid phase extraction (SPE) by using Osais HLB cartridges (6 mL, 200 mg) from Waters (Waters Corp., Milford, MA, USA). The SPE extracts were injected in an ultra-performance liquid chromatography (UPLC) system (Waters Corp., Milford, MA, USA) coupled to 3200 Qtrap hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with a turbo Ion Spray source working in both positive and negative modes. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and two transitions (quantification, confirmation) were obtained for each compound.

ESI-MS/MS parameters and a detailed description of the calibration are described elsewhere (Huerta-Fontela et al., 2010). Deuterated standards were used as surrogates and internal standards. In order to assess potential contamination during the analysis, blanks were included with each set of 12 samples. Quality parameters of the method such as recoveries, run-to-run, day-to-day precisions and LOQs of the target compounds were established in surface waters (see Table 1 and Table S1).

2.3. Sampling protocol

The DWTP selected for this study treats about 400 million liters per day and supplies a population of over 1 million

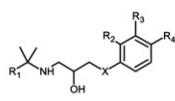
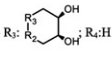
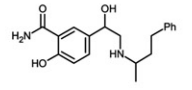
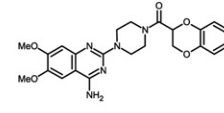
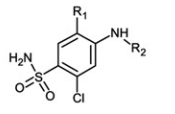
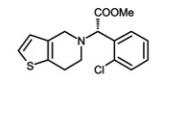

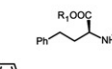

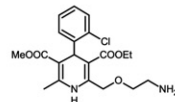
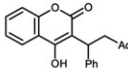
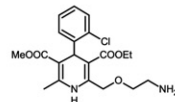
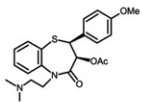
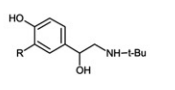
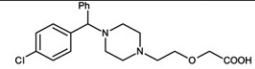
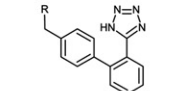
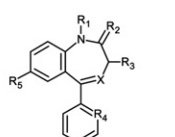
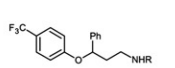
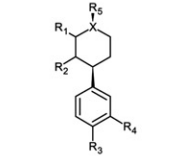



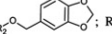

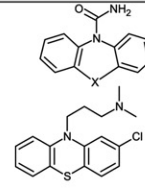

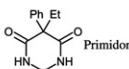

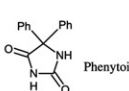
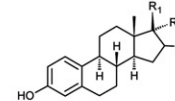
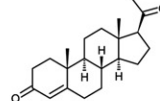
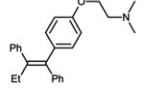
<p>B-blockers</p> 	<p>Acebutolol $R_1=R_3=H; X=O; R_2=COCH_3; R_4=NH-CO-nPr$ Atenolol $R_1=R_2=R_3=H; X=O; R_4=CH_2-CO-NH_2$ Betaxolol $R_1=R_2=R_3=H; X=O; R_4=CH_2-CH_2-O-CH_2-cPr$ Bisoprolol $R_1=R_2=R_3=H; X=O; R_4=CH_2-O-(CH_2)_2-O-iPr$ Metoprolol $R_1=R_2=R_3=H; X=O; R_4=CH_2-CH_2-O-CH_3$ Nadolol $R_1=CH_3; X=O; R_2=R_3=$  $R_4=H$ Propranolol $R_1=CH_3; X=O; R_2=R_3=$ Fused benzene; $R_4=H$ Sotalol $R_1=R_2=R_3=H; X=-; R_4=NH-SO_2-CH_3$</p>	 <p>Labeltalol</p>  <p>Doxazosin</p>
<p>Cardiac agent</p>  	<p>Hydrochlorothiazide $R_1=R_2=$  $R_2=$  Furosemide $R_1=-COOH; R_2=$  Clopidogrel $R_1=$ </p>	<p>Enalapril $R_1=CH_2-CH_3; R_2=H$ Lisinopril $R_1=H; R_2=(CH_2)_5-NH_2$ Warfarin  Amlodipine $R_1=$  Diltiazem </p>
<p>Antihistaminic</p> 	<p>Salbutamol $R: -OH$ Terbutaline $R: -H$ Loratadine $R: COOCH_2CH_3$ Desloratadine $R: H$</p>	<p>Cetirizine  Prednisone $R=O$ Prednisolone $R=OH$</p>
<p>Angiotensin agents</p> 	<p>Irbesartan $R: n-Bu$ Losartan $R: n-Bu$</p>	<p>Valsartan $R: n-Bu$</p>
<p>Psychiatric</p>   	<p>Alprazolam $R_1=R_2=$  $; R_3=H; X=N; R_4=CH; R_5=Cl$ Diazepam $R_1=CH_3; R_2=O; R_3=H; X=N; R_4=CH; R_5=Cl$ Bromazepam $R_1=H; R_2=O; R_3=H; X=N; R_4=N; R_5=Br$ Chlordiazepoxide $R_1=H; R_2=NH-CH_3; R_3=H; X=N=O; R_4=CH; R_5=Cl$ Lorazepam $R_1=H; R_2=O; R_3=OH; X=N; R_4=CH; R_5=Cl$ Oxazepam $R_1=H; R_2=O; R_3=OH; X=N; R_4=CH; R_5=Cl$ Fluoxetine $R: CH_3$ Norfluoxetine $R: H$ Sertraline $R_1=R_2=$  $; R_3=R_4=Cl; X=CH_2; R_5=NH-CH_3$ Desmethylsertraline $R_1=R_2=$  $; R_3=R_4=Cl; X=CH_2; R_5=NH_2$ Paroxetine $R_1=R_4=R_5=H; R_2=$  $; R_3=F; X=N$</p>	<p>Carbamazepine $X: CH=CH-$ Carbamazepine Epoxide $X:$  Chlorpromazine  Venlafaxine $R: CH_3$ Desmethylvenlafaxine $R: H$ LDopa  Primidone  Zolpidem  Phenytoin </p>
<p>Hormones</p> 	<p>Estrone (E1) $R_1=O; R_2=H$ Estradiol (E2) $R_1=OH; R_2=H$ Estriol (E3) $R_1=OH; R_2=OH$ Ethinyl Estradiol (EE2) $R_1=OH; R_2=CH=CH; R_3=H$</p>	<p>Progesterone  Tamoxifen </p>

Fig. 1 – Structures of the selected pharmaceuticals.

Table 1 – Pharmaceutical and EDCs concentrations (ng/l) through drinking water treatment (n = 12 × 3; October 2008 to January 2009).^a

	LOQ		Raw water		Prechlorination		Clarification + sand filtration		Groundwater		Ozonation		GAC filtration		Finished water (postchlorinated)				
	r ₀ ^b	Max	Mean	r ₀ ^b	Max	Mean	r ₀ ^b	Max	Mean	r ₀ ^b	Max	Mean	r ₀ ^b	Max	Mean	r ₀ ^b	Max		
																		r ₀ ^b	Max
β-Blocker	0.01	10	170	44	10	160	37	10	160	36	5	8	2	5	13	3	–	–	
	5	12	900	470	12	895	470	12	715	380	7	10	4	12	84	47	10	23	12
Antihist. Angioten.	0.02	5	13	5	5	2	1	5	1	0.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.01	5	250	57	5	250	56	5	230	53	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Cardiac	0.01	5	10	4	5	1	0.4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.01	5	16	6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Psychiatric	0.01	7	380	90	7	21	10	7	81	23	7	12	6	7	10	5	5	9	3
	1.1	2	270	54	2	180	37	2	130	26	2	62	12	2	49	10	2	45	9
Hormones	0.1	12	160	100	12	150	99	12	66	53	5	16	6	5	10	4	2	6	4
	0.01	5	3	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.15	5	5	2	5	2	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.8	5	9	4	5	6	3	5	6	2	5	2	1	5	1	1	–	–	–
Psychiatric	9	2	110	22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	1	12	1900	670	12	480	330	12	160	74	12	56	25	12	33	17	10	8	3
Antihist. Angioten.	0.1	5	3	1	5	2	1	5	1	0.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.02	12	86	27	7	130	37	7	110	32	7	9	2	–	–	–	–	–	–
Psychiatric	40	10	830	330	10	200	82	10	200	81	10	24	7	15	210	53	10	28	15
	14	10	620	260	10	150	99	7	150	97	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.02	10	1300	685	10	1200	620	10	1300	690	7	26	6	10	330	171	10	70	41
	5	5	14	7	5	14	6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Psychiatric	1.1	12	54	13	2	49	10	2	37	7	2	44	9	–	–	–	–	–	–
	0.01	15	71	54	10	50	41	10	50	35	5	33	17	7	19	13	7	4	2
Antihist. Angioten.	1.2	5	265	54	5	72	15	2	5	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	1.1	10	7	5	10	6	4	10	5	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Psychiatric	0.02	5	22	5	5	33	7	5	15	4	2	2	1.5	5	2	1	5	1	0.4
	0.4	5	12	3	2	6	1	2	5	1	–	–	–	2	0.5	0.5	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.01	12	46	20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.02	7	140	56	7	140	51	7	110	50	7	78	35	7	72	28	7	25	17
Antihist. Angioten.	0.15	2	200	39	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.01	12	12	11	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.01	5	59	12	4	45	9	2	36	7	2	14	3	2	3	1	2	4	1
	0.02	5	6	2	5	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.2	7	1	0.3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	4.7	7	72	26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Antihist. Angioten.	0.2	7	3.4	2.5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	0.01	5	0.15	0.1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

^a Only compounds found in raw water at concentration >LOQ have been included in the table.

^b Number of samples with concentrations higher than LOQ value; Max.: maximum concentrations; Mean: mean concentrations; Antihist.: antihistaminics; Angioten.: angiotensin agents.

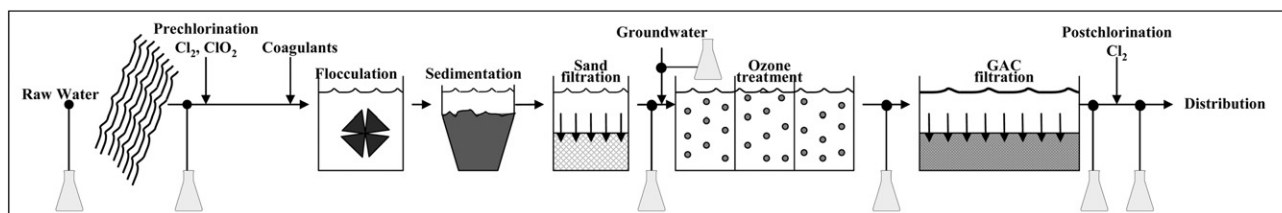


Fig. 2 – Treatment scheme of the DWTP and location of sampling points.

people. The raw water used for drinking water production consists of surface water from the Llobregat River (NE-Spain) which exhibits a highly variable quality. For instance, TOC values during the sampled period (October 2008–January 2009) ranged from 2.7 to 10 mg C/L, conductivity values ranged from 700 to 2900 $\mu\text{S}/\text{cm}$ and measured pHs were from 7.4 to 8.5. Three samples were collected each month (per triplicate) at each treatment point displayed in Fig. 2.

The intake water enters into the DWTP at flow rates ranging from 2300 to 5100 L/s. First, chlorine is added until break-point is achieved and then several coagulants (i.e. $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, Al_xCl_3 , Al_2O_3) and flocculants (poly-DADMAC) are also added. Clarified water passes through sand filters (0.60 m height; 15–30 min) and at this point dilution with groundwater from the aquifer is performed at variable percentages (6–29%) to improve the water quality. The water is then pumped to ozone treatment facilities. Ozone is generated in situ and water is treated inside four ozone chambers (5 mg/L for nominal flow), yielding a residual concentration of 0.2 mg/L. This treatment lasts around 15–20 min depending on the treated water volume. The water is then passed through GAC filters (10 m/h) for at least 15 min at a water flow rate of 6 m^3/s . Finally, a post-chlorination step is performed in order to maintain a chlorine residual concentration of about 0.8–1.2 mg/L when leaving the DWTP.

In order to assess the efficiency of the different steps of the treatment, samples were collected before and after each process, taking into account the hydraulic retention times (HRTs). The total HRT calculated during this survey ranged from 3 to 9 h depending on the amount of treated water, the groundwater dilution, the impulsion flow rates and the number of operative ozone generators.

Samples were collected and stored in glass bottles below 4 °C. Surface raw waters were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, UK) and ascorbic acid was added to treated waters in order to prevent further reaction with chlorine. Samples were extracted within the 48 subsequent hours after collection.

3. Results and discussion

3.1. Raw water characteristic and occurrence of pharmaceuticals

Raw water was collected at the intake of the DWTP facility in order to evaluate the concentration levels of the selected pharmaceuticals. The raw water used for drinking water

production consists of surface water from the Llobregat River.

A summary of the results is shown in Table 1. Thirty-five out of fifty-five pharmaceuticals were detected at the intake of the drinking water facility. β -blockers were frequently detected in raw waters with concentrations ranging from 7 to 400 ng/L. The highest values were obtained for propranolol (30–269 ng/L), metoprolol (20–383 ng/L), sotalol (11–160 ng/L) and atenolol (52–896 ng/L) which were often found in the intake waters. These concentrations are in agreement with those reported in Italy, Germany and UK (Ashton et al., 2004; Calamari et al., 2003; Kasprzyk-Hordern et al., 2008; Sacher et al., 2001; Ternes et al., 2002; Zuccato et al., 2004). For instance Calamari et al. (2003) reported concentrations of atenolol in the Po river (Italy) ranging from 4 to 240 ng/L and Kasprzyk-Hordern et al. (2008) found this compound in Ely River (UK) at 130–520 ng/L.

Other related compounds such as warfarin, diltiazem or doxazosin were found at concentrations lower than 10 ng/L while higher concentrations were detected for hydrochlorothiazide with maximum values up to 1900 ng/L. Similar results were reported for diltiazem in rivers from USA (Cahill et al., 2004) and UK (Kasprzyk-Hordern et al., 2009). Antihypertensive agents (valsartan, irbesartan and losartan) were also often detected (in 10 out of 12 surveys) with mean values ranging from 260 to 685 ng/L.

Several psychiatric drugs were also found at the intake of the drinking water facility with concentrations ranging from 5 to 93 ng/L. Among them the antiepileptic drug carbamazepine and its main metabolite carbamazepine epoxide were frequently detected in raw waters with mean concentrations above 13 ng/L and 54 ng/L respectively. The concentrations obtained for the parent compound are lower than those reported in surface waters from Berlin (Germany) (Heberer et al., 2001; Zuehlke et al., 2004) where maximum values above 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ were found but they are similar to those reported in Italy (Zuccato et al., 2006), Finland (Vieno et al., 2007), France (Rabiet et al., 2006) and USA (Vanderford and Snyder, 2006; Westerhoff et al., 2005) among others.

Finally hormones such as estrone, estriol or ethinyl estradiol were also found with mean concentrations of 0.3, 26 and 2.5 ng/L respectively which are in agreement with previous reported values (Benotti et al., 2009; Cargouet et al., 2004; Hu et al., 2005; Stumpf et al., 1999; Vulloet et al., 2008). For instance, Benotti et al. (2009) reported the presence of these three compounds in raw waters used by four DWTP from USA at concentrations of 0.9, 17 and 1.4 ng/L respectively.

3.2. Treatment processes used in the DWTP

Once the presence of several pharmaceuticals was demonstrated in raw waters used for drinking water production, the behavior of these compounds was studied in a real DWTP. Several factors can affect the removal efficiencies of the drinking water treatment such as the quality and physico-chemical properties of the raw water or the treatment processes applied. In this study, the physicochemical properties of the studied compounds especially concerning their chemical structure and moieties will be the connecting thread all through the discussion. A summary of the behavior of pharmaceuticals and EDC through drinking water treatment steps is displayed in Table 1 and in Fig. 3.

3.2.1. Prechlorination

The first treatment of raw water consisted of preoxidation with chlorine at break-point concentration. In this step, concentrations of several compounds such as amlodipine, tamoxifen, sertraline, oxazepam and furosemide, were reduced at percentages higher than 99%. The efficiency of this treatment for these compounds can be explained by the high reactivity of chlorine with primary and secondary amines as has been described by other authors (Chamberlain and Adams, 2006; Westerhoff et al., 2005).

For β -blockers, high reactivity was expected due to their primary and secondary amine moieties (Dodd et al., 2005; Pinkston and Sedlak, 2004). Labetalol, betaxolol and doxazosin showed high removals (>99%, >80% and >90% respectively) confirming the expected reactivity. However, for the other β -blockers detected in raw waters, the use of chlorine unpredictably showed to be a non-efficient treatment. For

instance, negligible decreases in concentrations were found for atenolol, acebutolol, bisoprolol and sotalol (0–5%) after prechlorination step while higher rates were obtained for propranolol and metoprolol with mean removals above 30% and 55% respectively. Recently, Benotti et al. (2009) have reported similar poor removals for atenolol when chlorine treatment was applied. However no data has been published regarding chlorination at real scale of other β -blockers.

For angiotensin agents, the presence of nitrogen containing heterocyclic moieties has also been demonstrated to be critical for chlorine reaction. Therefore, whereas for losartan and irbesartan high concentration reductions were obtained (92% and 70% respectively), valsartan was poorly removed with percentages up to 20%, suggesting that the absence of the imidazole moiety contributed to the deactivation of the aromatic ring to the chlorine reaction.

Carbamazepine and its epoxy metabolite also survived chlorination with poor removals above 5% and 30% respectively, yielding to almost unaltered concentrations after treatment. Similar results have been reported for carbamazepine by other authors (Benotti et al., 2009; Gibs et al., 2007) however, higher degradation rates have been described when chlorine (4 mg/L) was added to surface waters (Westerhoff et al., 2005). This different behavior could be attributed to the fact that carbamazepine removal depends on pH, at high pH values the removal of this compound is worse than at lower pH (Westerhoff et al., 2005).

Regarding to the other psychiatric drugs, different chlorination efficiencies were obtained. For instance, zolpidem showed relative high removal rates (70–80%) which could be related to the activation of the aromatic ring by means of the indolizine moiety described by some authors for similar

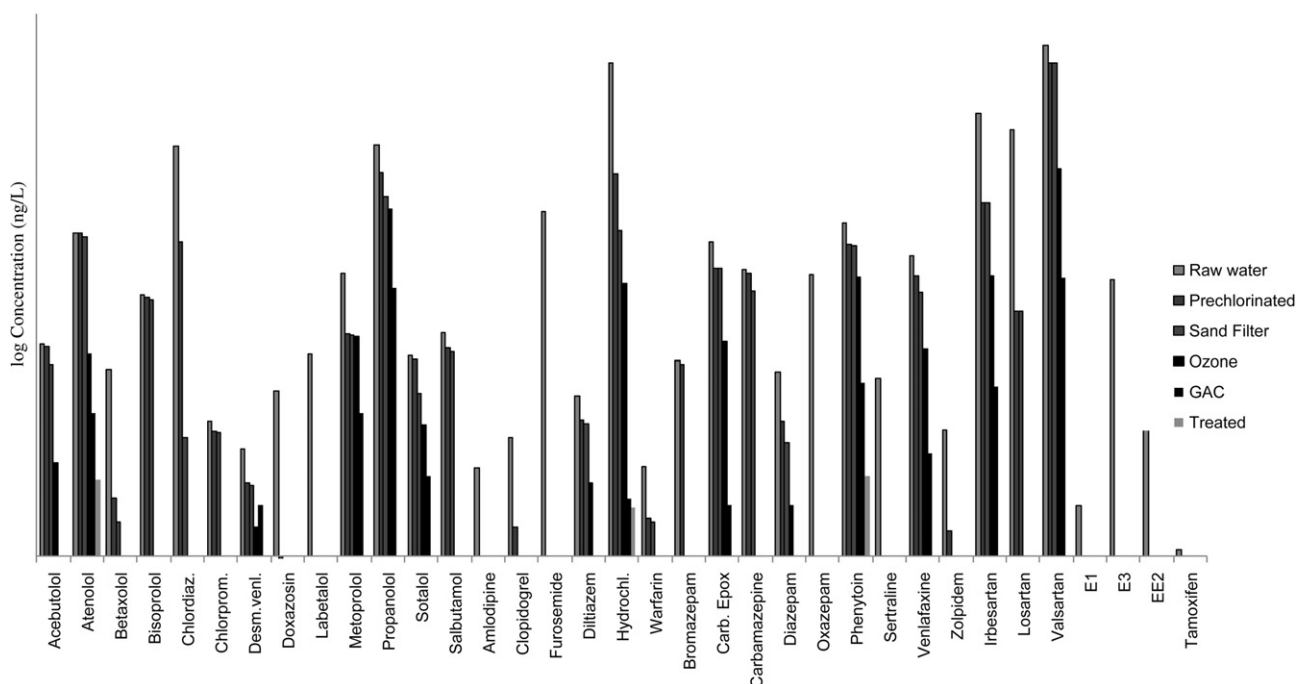


Fig. 3 – Concentrations of the pharmaceuticals after a drinking water treatment consisting on prechlorination, clarification, sand filtration, ozonation, GAC filtration and post-chlorination (October 2008, $n = 3$). Removals were >99% for all the compounds except for atenolol (97%), metoprolol (93%), carbamazepine epoxide (99%), oxazepam (97%) and hydrochlorothiazide (99%).

heterocyclic structures (Lin and Carlson, 1984; Prütz, 1996, 1998). For diazepam, lower concentration reductions were obtained (50%) which agree with previous results published for this compound in surface waters (Kim et al., 2007). However, for bromazepam which is structurally similar to diazepam, small removals of only 5% were obtained after chlorine treatment. These results suggest that the presence of a bromide instead of chlorine in one of the aromatic rings and the substitution of a benzene ring by a pyridine one blocks the reactivity of this compound through chlorine attack. Other compounds, such as venlafaxine (23%) or chlorpromazine (14%) exhibited poor removal rates probably due to the absence or inactivation of chlorine reactive sites. This also occurs for phenytoin with poor removals (25%) similar to those reported by Benotti et al. (2009).

Finally, estrogenic hormones were also removed (>99%) after chlorine treatment. For these compounds chlorine is expected to react with the phenolic ring by means of an electrophilic attack (Alum et al., 2004) since all the other functional groups exhibit low reactivity to chlorine. The complete removal of hormones through chlorine treatment has been already observed in full scale surveys (Benotti et al., 2009; Boyd et al., 2003; Gibs et al., 2007).

3.2.2. Flocculation, sand filtration and sedimentation

Coagulation with alum-coagulants, flocculation with a diallyldimethyl ammonium chloride homopolymer (poly-DAD-MAC) and clarification through sand filters did not produce extensive reductions of pharmaceuticals concentrations. Only five compounds (chlordiazepoxide, zolpidem, bromazepam, clopidogrel and doxazosin) were completely removed during this step while only warfarin, betaxolol and hydrochlorothiazide accounted for removals higher than 50%. All these compounds, except the last one, exhibit relative hydrophobic properties ($\log K_{ow} > 2$) which could indicate removal by partitioning. This phenomena can not explain the reduction of hydrochlorothiazide since this compound is hydrophilic ($\log K_{ow} < 0$), however its hydrolysis during coagulation step could be the reason for its removal as suggested by Stackelberg et al. (Stackelberg et al., 2007) for other compounds such as sulfamethoxazole or acetaminophen.

Removals obtained for the remaining 18 compounds were lower than 30% and moreover for some pharmaceuticals, such as irbesartan, losartan or carbamazepine epoxide negligible eliminations were obtained.

The poor removal efficiencies obtained for pharmaceuticals in this study are consistent with results published from previously surveys, which indicate that for pharmaceuticals removal percentages during clarification and sand filtration processes are almost negligible (Heberer et al., 1998; Loraine and Pettigrove, 2006; Stackelberg et al., 2004, 2007; Ternes et al., 2002).

3.2.3. Groundwater dilution

In the DWTP studied in this work, dilution with groundwater is usually performed after sand filtration in order to improve raw water quality. Percentages added depend on the raw water flow rate at the intake of the DWTP and on the operational status of the facility. During this study, dilution percentages varied from 6% to 30%, and they were taken into account for calculations.

In this study, 15 out of 55 target pharmaceuticals were found in wells water. The presence of pharmaceuticals in groundwaters and water from wells can be explained by infiltration of contaminated surface water in addition to leaks from landfills and sewer drains. The highest concentrations were found for propranolol, carbamazepine, hydrochlorothiazide and phenytoin with values ranging from 44 ng/L to 78 ng/L. Carbamazepine has been also found in water supply wells from Germany at similar concentration levels.

The occurrence of pharmaceuticals in groundwater is well documented (Barnes et al., 2008; Nikolaou et al., 2007; Rabiet et al., 2006; Ternes et al., 2002). In our case, dilution with groundwater slightly contributes to the presence of pharmaceuticals in partially treated water but is largely compensated by the overall improvement of the general water quality.

3.2.4. Ozonation

The next treatment step was based on an oxidation process with ozone which has already demonstrated to be one of the most effective disinfection techniques for the removal of pharmaceuticals. Ozone interacts with a large number of organic compounds through direct reaction with molecular O_3 or by the formation of free radicals (i.e. OH^\bullet). It is a very selective oxidant which mainly reacts with amino and aliphatic moieties and with activated aromatic rings (Hoigne and Bader, 1983).

In this study, the pharmaceuticals that survived previous treatments achieved, in general, high extensive reductions percentages during ozonation step. β -blockers such as bisoprolol, betaxolol and salbutamol were completely removed with ozone which agree with results obtained in experiments at laboratory scale (Ternes et al., 2003; Vieno et al., 2007). These compounds contain secondary amino groups and slight activated aromatic rings which are probably reactive sites to ozone treatment. Nevertheless, propranolol, metoprolol, sotalol, atenolol and acebutolol persisted through treatment despite their reactive moieties, with removal percentages from 5% to 88%. A similar behavior was described by Ternes et al. (2003) for atenolol, propranolol and metoprolol that showed lower degradation when a dose of 5 mg/L of ozone was used in laboratory experiments. However, Benotti et al. (2009) described a complete removal of atenolol through ozone treatment in drinking water, differences could be due to the higher concentration levels of this compound found in the present study (from 10 to 100 times higher) which could explain its persistence through ozone oxidation.

Regarding angiotensin agents, losartan was highly removed (>99%) while irbesartan (65%) and valsartan (76%) partially survived the treatment. The activation of the 1,3-diazole aromatic ring by the chlorine in losartan structure could be the reason for the higher reactivity of this compound with ozone. A similar effect, the chlorine activation of the aromatic ring, can also be suggested to explain the effective removal of chlorpromazine (>99%).

Carbamazepine was another compound that did not survive ozonation treatment (>99%). This compound is one of the most persistent pharmaceutical in the environment and it is highly resistant to biodegradation (Clara et al., 2004). However, it has been already demonstrated that it is highly reactive toward

ozonation (Huber et al., 2003; Ternes et al., 2002) with a large second-order rate constant at 25 °C of $3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (Huber et al., 2003). A different behavior was observed for carbamazepine metabolite, epoxycarbamazepine. For this compound, incomplete removals were obtained (63%) yielding to mean concentrations higher than 13 ng/L in ozonated water. The reason of this different reactivity can be found in the reaction mechanism with ozone. In two separate studies (Andreozzi et al., 2002; McDowell et al., 2005) dealing with the reactivity of carbamazepine with ozone, it was suggested that ozone first attacks the non-aromatic carbon–carbon double bond of carbamazepine yielding to a ring opening mechanism. Therefore, the lack of the reactive bond in carbamazepine metabolite structure could yield to a lower reactivity only due to the amino group. Finally, warfarin, chlordiazepoxide and chlorpromazine were completely removed while diazepam, venlafaxine, desmethylvenlafaxine, phenytoin, diltiazem and hydrochlorothiazide persisted through ozone treatment with removals ranging from 40% to 90%. Low degradation rates by ozone have been already reported for diazepam (Huber et al., 2003; McDowell et al., 2005). For instance, Huber et al. (2003) performed degradation studies of diazepam at laboratory scale; obtaining removals from 24% to 65% depending on the raw water used when an ozone dose of 2 mg/L was added. In our study, higher concentration reductions were obtained (85–90%) probably because of the higher ozone doses applied during real scale treatment (5 mg/L). However, the incomplete removals obtained suggested a deactivation of the aromatic ring by the diazepam and chlorine moieties. For the other compounds, similar explanation for their incomplete removal can be suggested since the presence of electron withdrawing moieties in their structures (i.e. methoxy, chlorine or carboxy groups) can also deactivate the aromatic ring.

3.2.5. GAC filtration

Water treated with ozone was then passed through 20 granular activated filters of 150 m³ each one. Adsorption on activated carbon is mainly controlled by hydrophobic interactions and depends on the intrinsic properties of the activated carbon sorbent, on the solute properties and on the raw water organic matter content. Thus, for such organic compounds as pharmaceuticals $\log K_{ow}$ can be used as an appropriate indicator for compound removals in GAC treatment (Westerhoff et al., 2005), so the higher the constants are the higher adsorption rates are obtained.

Nevertheless, in this study, only three out of the fourteen remaining pharmaceuticals, acebutolol, diazepam and diltiazem, were completely removed during GAC filtration despite their hydrophobic properties. Additionally, hydrochlorothiazide, carbamazepine epoxide, irbesartan, valsartan, phenytoin and venlafaxine removals were higher than 75%, but β -blockers exhibited poor removal efficiencies with values ranging from 55% to 70%. The lower elimination percentages were obtained for atenolol and sotalol which could be explained by their low hydrophobic interactions ($\log K_{ow}$ 0.2 for both compounds) (Vieno et al., 2007). For propranolol and metoprolol, a higher removal than that obtained (65–70%) was expected because of their hydrophobic properties ($\log K_{ow}$ 3 and 2 respectively). A similar behavior for these compounds

has been also described by other authors (Paxeus, 2004; Radjenovic et al., 2007; Vieno et al., 2007).

3.2.6. Post-chlorination

The final step of the treatment on the DWTP consisted on a post-chlorination yielding to a chlorine residual concentration of 1 mg/L. For β -blockers, removal behaviors were similar to those described for prechlorination step. Propranolol and metoprolol showed the highest removals yielding to their complete elimination while atenolol and sotalol persisted to the treatment with removals of 65% and 67% respectively. Carbamazepine epoxide, phenytoin and hydrochlorothiazide also survived the treatment with removals ranging from 14% to 72%.

On the other hand, venlafaxine and its demethylated metabolite exhibited higher reactivity to chlorine than that observed in the prechlorination step yielding to a complete removal of both compounds, and the same effect was found for irbesartan and valsartan. The higher efficiency of this post-chlorination step could indicate that once water is free of most of organic contaminants, chlorine treatment can operate more efficiently.

3.3. Finished water

Five pharmaceuticals out the 55 selected in this study survived treatments and were found in finished waters at trace levels. Phenytoin and atenolol were detected in 11 out of 12 treated waters with eliminations of 96% and 97%, respectively. The partial elimination of both compounds during treatment and their presence in final water has also been reported in finished waters from the USA (Benotti et al., 2009). Phenytoin was detected at mean concentration levels of 9 ng/L, which are in agreement with the values reported (Benotti et al., 2009) while atenolol concentrations (12 ng/L) were higher than those suggested for ozonated waters (Benotti et al., 2009). Hydrochlorothiazide was also frequently found (10 out of 12 samples) at concentrations up to 7 ng/L and removals higher than 98%. On the contrary, carbamazepine metabolite and sotalol were not so often found (5 and 4 out of 12 samples, respectively) and moreover, lower concentrations were obtained with values ranging from 1 to 2 ng/L for carbamazepine epoxide and from 1 to 3 ng/L for sotalol.

4. Conclusions

In this study, and extended survey was carried out to assess the presence and behavior of 55 pharmaceuticals, hormones and metabolites through a conventional drinking water treatment and to evaluate their presence in final treated waters.

Coagulation, flocculation and sand filtration showed, in general, poor removal efficiencies, while chlorination and ozonation accounted for the higher efficiencies. Both oxidation processes removed a high number of contaminants found in raw waters, above 20 out of 35 compounds found at raw waters. GAC filtration was also efficient to remove compounds with high hydrophobic properties while dilution with

groundwater demonstrated to be inadequate for some pharmaceuticals due to their presence in these matrices.

On the whole, the drinking treatment survey performed has demonstrated to be effective removing 30 out of 35 target pharmaceuticals found in raw water. The treatment studied accounted for a decrease of the concentration of pharmaceuticals found in raw waters (above 4000 ng/L) in a 99.7%. Nevertheless, five compounds were detected in finished waters, phenytoin, atenolol, sotalol, hydrochlorothiazide and carbamazepine epoxide, although at trace levels, this fact illustrates the incomplete degradation or removal of these compounds through the potabilization process. Additionally, further studies are needed in order to evaluate the complete elimination of pharmaceuticals and also their transformation into disinfection-by-products with potential toxic effects.

Acknowledgments

This work has been financially supported by R+i Alliance a company established in France to select, fund and coordinate the execution of common research, development and innovation projects of the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited and Suez Environment (Project-HE0607) and by Ministerio de Ciencia y Tecnología, Spain (CTM2006-00753/TECNO).

Appendix. Supplementary material

Supplementary data related to this article can be found online at [doi:10.1016/j.watres.2010.10.036](https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.10.036).

REFERENCES

- Alum, A., Yoon, Y., Westerhoff, P., Abbaszadegan, M., 2004. Oxidation of bisphenol A, 17 β -estradiol, and 17 α -ethynyl estradiol and byproduct estrogenicity. *Earth Environ. Sci.* 19, 257.
- Andreozzi, R., Marotta, R., Pinto, G., Pollio, A., 2002. Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonation treatment and preliminary assessment on algal toxicity. *Water Res.* 36, 2869–2877.
- Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 184.
- Barnes, K.K., Kolpin, D., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., Meyer, M.T., Barber, L.B., 2008. A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States – I) groundwater. *Sci. Total Environ.* 402, 192–200.
- Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J., Standford, B.D., Snyder, S.A., 2009. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597–603.
- Boyd, G.R., Reemtsma, H., Grimm, D.A., Mitra, S., 2003. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.* 311, 135–149.
- Cahill, J.D., Furlong, E.T., Burkhardt, M.R., Kolpin, D., Anderson, L.G., 2004. Determination of pharmaceutical compounds in surface- and ground-water samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1041, 171–180.
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., 2003. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in Northern Italy. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1241–1248.
- Cargouet, M., Perdiz, D., Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S., Levi, Y., 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Total Environ.* 324, 55–66.
- Chamberlain, E., Adams, C., 2006. Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine. *Water Res.* 40, 2517–2526.
- Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N., 2004. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Res.* 38, 947–954.
- Daughton, C., 2004. Nonregulated water contaminants: emerging research. *Environ. Impact Assess. Rev.* 24 (8), 711–732.
- Dodd, M.C., Shah, A.D., vonGunten, U., Huang, C.H., 2005. Interactions of fluoroquinolone antibacterial agents with aqueous chlorine: reaction kinetics, mechanisms, and transformation pathways. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7065–7076.
- Gibs, J., Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Lippincott, R.L., 2007. Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time. *Sci. Total Environ.* 373, 240–249.
- Glassmeyer, S.T., Shoemaker, J.A., 2005. Effects of chlorination on the persistence of pharmaceuticals in the environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 74, 24–31.
- Heberer, T., Mechlinski, A., Fanck, B., Knappe, A., Massman, G., Pekdeger, A., Fritz, B., 2004. Field studies on the fate and transport of pharmaceutical residues in bank filtration. *Ground Water Monit. Remediat.* 24, 70–77.
- Heberer, Th., Fuhrmann, B., Schmidt-Baumier, K., Tsipi, D., Koutsouba, V., Hiskia, A., 2001. Occurrence of pharmaceutical residues in sewage, river, ground, and drinking water in Greece and Berlin (Germany). In: Daughton, C., Jones-Lepp, T. (Eds.), *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*. American Chemical Society, Washington DC Scientific and Regulatory Issues.
- Heberer, Th., Schmidt-Bäumler, K., Stan, H.J., 1998. Occurrence and distribution of organic contaminants in the aquatic system in Berlin. Part II: substituted phenols in Berlin surface water. *Acta Hydrochem. Hydrobiol.* 26, 272.
- Hoigne, J., Bader, H., 1983. Constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. *Water Res.* 17, 173–183.
- Hu, J., Zhang, H., Chang, H., 2005. Improved method for analyzing estrogens in water by liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1070, 221–224.
- Huber, M.M., Canonica, S., Park, G.Y., 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1016.
- Huerta-Fontela, M., Ventura, F., Galceran, M.T., 2010. Fast liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and hormones in water. *J. Chromatogr. A* 1217, 4212.
- Jones, O., Lester, J.N., Voulvoulis, N., 2005. Pharmaceuticals: a threat to drinking water? *Trends Biotechnol.* 23, 163–167.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2009. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater

- treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Res.* 43, 363–380.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498–3518.
- Kim, S.D., Cho, J., Kim, I.S., Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2007. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking and waste waters. *Water Res.* 41, 1013–1021.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999–2000: a national reconnaissance survey. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202–1211.
- Lin, S., Carlson, R.M., 1984. Susceptibility of environmentally important heterocycles to chemical disinfection: reactions with aqueous chlorine, chlorine dioxide, and chloramine. *Environ. Sci. Technol.* 18, 743–748.
- Loos, R., Wollgast, J., Huber, T., Hanke, G., 2007. Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1469–1478.
- Loraine, G., Pettigrove, M., 2006. Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in southern California. *Environ. Sci. Technol.* 40, 687–695.
- McDowell, D.C., Huber, M.M., Wagner, M., von Gunten, U., Ternes, T.A., 2005. Ozonation of carbamazepine in drinking water: identification and kinetic study of major oxidation products. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8014–8022.
- McLachlan, J.A., Guillette, L.J., Iguchi Jr., T., Toscano, J., 2001. Fate and analysis of pharmaceutical residues in the aquatic environment. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 948, 153.
- Mompelat, S., Le Bot, B., Thomas, O., 2009. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ. Int.* 35, 814.
- Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D., 2007. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1225–1234.
- Paxeus, N., 2004. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, γ -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional waste water treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Sci. Technol.* 50, 253–260. *Water Suppl.*
- Perez, S., Barcelo, D., 2007. Application of advanced MS techniques to analysis and identification of human and microbial metabolites of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Trends Analyt. Chem.* 26, 494–514.
- Pinkston, K.E., Sedlak, D.L., 2004. Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4019–4025.
- Prütz, W.A., 1996. Hypochlorous acids interactions with thiols, nucleotides, DNA and other biological substrates. *Arch. Biochem. Biophys.* 332, 110–120.
- Prütz, W.A., 1998. Reactions of hypochlorous acid with biological substrates are activated catalytically by tertiary amines. *Arch. Biochem. Biophys.* 357, 267–273.
- Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J.L., Budzinski, H., Elbaz-Poulichet, F., 2006. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized mediterranean catchment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5282–5288.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barcelo, D., 2007. Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *Trends Analyt. Chem.* 26, 1132–1144.
- Richardson, S.D., 2007. Water analysis: emerging contaminants and current issues. *Anal. Chem.* 79, 4295–4324.
- Sacher, F., Lange, F. Th., Brauch, H.J., Blankenhorn, I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr. A* 938, 210.
- Snyder, S.A., Wert, E.C., Rexing, D.J., Zegers, R.E., Drury, D.D., 2006. Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. *Ozone-Sci. Eng.* 28, 445–460.
- Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Hendersond, A.K., Reissmand, D.B., 2004. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Sci. Total Environ.* 329, 99–113.
- Stackelberg, P.E., Gibs, J., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zug, S.D., Lippincott, L., 2007. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci. Total Environ.* 377, 255–272.
- Stumpf, M., Ternes, T., Wilken, R.-D., Rodrigues, S., Baumann, W., 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.* 225, 135–141.
- Ternes, T., 2001. Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton, C., Jones-Lepp, T. (Eds.), *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*. American Chemical Society, Washington DC, pp. 39–45. *Scientific and Regulatory Issues*.
- Ternes, T., Stuber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., Teiser, B., 2003. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewaters? *Water Res.* 37, 1976–1982.
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32, 3245–3260.
- Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, H., Brauch, J., Gulde, B.H., Preuss, G., Wilme, U., Seirbet, N.Z., 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3855–3863.
- Togola, A., Budzinski, H., 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1177, 150–158.
- Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2006. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7312–7320.
- Vieno, N.M., Härkki, H., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2007. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5077–5084.
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2005. Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8220–8226.
- Vulloet, E., Wiest, L., Baudot, R., Genier-Loustalor, M.F., 2008. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1210, 84–91.
- Westerhoff, P., Yoon, Y., Snyder, S., Wert, E., 2005. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environ. Sci. Technol.* 36, 6649–6663.
- Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S.A., Wert, E.C., Yoon, Y., 2007. Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes. *Desalination* 202, 16–23.
- Zuccato, E., Calamari, D., Natangelo, M., Fanelli, R., 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* 355, 1789–1790.

- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Bagnati, R., Calamari, D., 2004. Environmental loads and detection of pharmaceuticals in Italy. In: Kummerer, K. (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment-Sources, Fate, Effects and Risks*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 19–26.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Reitanol, G., Bagnati, R., Chiabrando, C., Pomati, F., Rossetti, C., Calamari, D., 2006. Pharmaceuticals in the environment in Italy: causes, occurrence, effects and control. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 13, 15–21.
- Zuehlke, S., Duennbier, U., Heberer, T., 2004. Determination of polar drug residues in sewage and surface water applying liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 76, 6548–6554.
- Zwiener, C., 2007. Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Anal. Bioanal. Chem.* 38, 1159–1162.

Table S1. Recoveries and precision values (10 ng/L) in surface water matrices.

	R (%)±RSD	Run-to-run (%RSD)*	Day-to-day (%RSD)*
Acebutolol	68±3	4.2	7.0
Alprazolam	114±5	4.0	7.0
Amlodipine	94±3	3.9	7.7
Atenolol	73±4	4.9	8.2
Betaxolol	62±3	5.6	7.9
Bisoprolol	69±3	4.2	9.1
Bromazepam	76±3	3.7	
Carbamazepine	75±2	3.4	4.3
Carbamazepine Epoxide	76±4	1.7	6.1
Cetirizine	103±4	2.8	6.8
Chlordiazepoxide	104±1	4.3	7.7
Chlorpromazine	57±4	5.0	7.3
Clopidogrel	81±4	4.4	8.0
Desloratadine	63±2	3.9	4.7
Desmethylsertraline	105±1	3.5	5.2
Desmethylvenlafaxine	78±4	4.8	9.1
Diazepam	95±3	1.8	
Diltiazem	102±2	2.2	
Doxazosin	75±2	5.3	7.5
Enalapril Maleate	104±3	3.1	5.0
Estradiol	85 ±3	2.9	4.2
Estrinol	83±4	5.2	7.5
Estrona	88±3	1.6	3.0
Ethinil Estradiol	78±4	3.0	5.5
Fluoxetine	64±4	6.5	8.3
Furosemide	115±4	3.2	7.9
Hydrochlorothiazide	90±3	3.8	8.8
Irbesartan	99±2	2.4	7.8
Labetalol	86±4	2.8	8.0
LDOPA	106±4	4.5	6.6
Lisinopril	78±2	5.3	8.1
Loratadine	64±3	2.0	5.4
Lorazepam	106±4	3.1	
Losartan	84±4	3.8	4.9
Metoprolol	77±4	1.2	3.2
Nadolol	63±4	6.8	7.7
Norethindrone	111 ±3	3.1	6.3
Norfluoxetine	97±2	3.9	5.7
Oxazepam	79±4	3.8	
Paroxetine	90±3	5.4	7.5
Phenytoin	102±3	2.5	3.2
Prednisolone	103±3	2.9	3.7
Prednisone	84±4	3.5	7.2
Primidone	92±4	3.0	5.5
Progesterone	85±1	3.9	6.1
Propranolol	75±4	4.0	8.0
Salbutamol	73±3	5.2	8.3
Sertraline	62±3	3.1	5.7
Sotalol	93±5	6.7	7.1
Tamoxifen	114±3	2.5	3.7
Terbutaline	79±4	4.4	6.5
Valsartan	97±2	2.7	4.7
Venlafaxine	73±4	1.6	6.4
Warfarin	100±3	3.9	7.7
Zolpidem	75±2	1.8	5.0

R: recovery; RSD: relative standard deviation; * Run/to run precision calculated for n=6; Day/to day precision calculated for n=30.

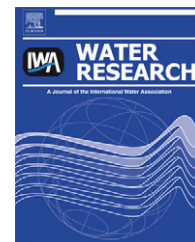
4.2.2. ARTICLE CIENTÍFIC VIII

Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment

Huerta-Fontela, M., Galceran, M. T., Ventura, F
Water Research 45.3 (2011): 1432-1442.

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/watres

New chlorinated amphetamine-type-stimulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment

Maria Huerta-Fontela^{a,b}, Oriol Pineda^c, Francesc Ventura^d, Maria Teresa Galceran^{b,*}

^a AGBAR-Aigües de Barcelona, General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

^b Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona, Av. Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

^c Department of Organic Chemistry, University of Barcelona, Av. Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

^d IDAEA-CSIC, Dpt. Environm. Chem., Jordi Girona 18, 08034 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 December 2011

Received in revised form

13 March 2012

Accepted 14 March 2012

Available online 2 April 2012

Keywords:

Disinfection-by-products

Illicit drugs

Amphetamine-type-stimulants

Drinking water

ABSTRACT

Previous studies have demonstrated high removal rates of amphetamine-type-stimulants (ATSS) through conventional drinking water treatments; however the behaviour of these compounds through disinfection steps and their transformation into disinfection-by-products (DBPs) is still unknown. In this work, for the first time, the reactivity of some ATSS such as amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) with chlorine has been investigated under simulated and real drinking water treatment conditions in order to evaluate their ability to give rise to transformation products. Two new DBPs from these illicit drugs have been found. A common chlorinated-by-product (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole, was identified for both MDA and MDEA while for MDMA, 3-chlorocatechol was found. The presence of these DBPs in water samples collected through drinking water treatment was studied in order to evaluate their formation under real conditions. Both compounds were generated through treatment from raw river water samples containing ATSS at concentration levels ranging from 1 to 15 ng/L for MDA and from 2.3 to 78 ng/L for MDMA. One of them, (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole, found after the first chlorination step, was eliminated after ozone and GAC treatment while the MDMA DBP mainly generated after the postchlorination step, showed to be recalcitrant and it was found in final treated waters at concentrations ranging from 0.5 to 5.8 ng/L.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The presence of human-use compounds in aquatic environments has been recognized as an important issue in environmental chemistry. In this context, illicit drugs have been identified in the last years as a new group of water contaminants. To date, these compounds have been found in several

water matrices around the world (rev. in: (Zuccato and Castiglioni, 2009; Castiglioni et al., 2011)) and the concern regarding their presence in these resources is growing due to their potent psychoactive properties and their unknown effects to the aquatic environment. These compounds enter directly the water system through sewage waters and their non-quantitative elimination in wastewater treatment plants

* Corresponding author. Tel.: +34 93 402 1275; fax: +34 93 402 1233.

E-mail address: mtgalceran@ub.edu (M.T. Galceran).

0043-1354/\$ – see front matter © 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.watres.2012.03.029

(WWTPs) has a direct effect in surface waters. The presence of illicit drugs in raw waters which can be used for drinking water production may have a negative impact in the quality of the final tap water. Compounds such as cocaine, amphetamine, ecstasy, or cannabinoids have been found at concentrations in the nanogram per litre range in wastewater treatment plant (WWTP) effluents in United States, Italy, Germany, Spain, Ireland, United Kingdom, and Belgium (Jones-Lepp et al., 2004; Castiglioni et al., 2006; Hummel et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a; Bones et al., 2007; Boleda et al., 2007; Kasprzyk-Hordern et al., 2008; Gheorghe et al., 2008; van Nuijs et al., 2008; Zuccato and Castiglioni, 2009; Petrovic et al., 2009; Postigo et al., 2010). Recent published works (Huerta-Fontela et al., 2008b; Boleda et al., 2009) have demonstrated that conventional drinking water treatments are able to remove most of the illicit drugs or metabolites detected in raw waters. For instance, amphetamine-type-stimulants (except ecstasy) were removed during prechlorination steps while granulated activated carbon (GAC) filtration allowed removing cocaine (>99%) and benzoylecgonine (72%) and postchlorination achieved the elimination of ecstasy. Despite the fact that some of them are mainly removed, their presence during these treatment steps can potentially cause the generation of new disinfection-by-products (DBPs).

Chlorine is currently used for the disinfection of drinking water all over the world and despite its benefits one well-known drawback is the formation of DBPs (Rook, 1974; Richardson et al., 2007). Recently the formation of chlorinated DBPs from several emerging contaminants (Richardson, 2007; Huerta-Fontela and Ventura, 2008) such as alkylphenol ethoxylate surfactants (Petrovic et al., 2003), ethinylestradiol (Alum et al., 2004), acetaminophen (Bedner and MacCrehan, 2006), antibacterial agents (Rule et al., 2005), bisphenol A (Wu et al., 2009) or X-ray contrast media (Duirk et al., 2011) among others has been demonstrated.

Due to the specific structures of illicit drugs and their presence in raw waters subjected to chlorination treatments, some of these compounds can be considered as candidates to generate new DBPs. Specifically, amphetamine-type-stimulants (ATs): amphetamine, methamphetamine (METH), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDEA), are an interesting group since chlorine reacts easily with primary and secondary amines by electrophilic substitution (Deborde and von Gunten, 2008). As suggested by Abia et al. (1998) the reaction occurs between the amine moiety and the HOCl molecule leading to the formation of chloramines and other small modifications in their structure susceptible to generate toxic haloamine DBPs.

The aim of the present study was to assess the formation of DBPs from ATs during chlorination treatment. The reactivity of these compounds was studied and chlorination products were characterized by using liquid chromatography (LC) coupled to mass spectrometry (MS). The unequivocal structural confirmation of the identified DBPs was performed by using commercial or synthesized standards. Finally, the presence of the new DBPs along the potabilization process in a drinking water treatment plant (DWTP) was investigated.

2. Experimental section

2.1. Materials and methods

Amphetamine, METH, MDA, MDMA, and MDEA, amphetamine-d8, methamphetamine-d9, MDA-d5, MDMA-d5, MDEA-d5 at a concentration of 1 mg/L, (99%) were purchased from Cerilliant (Austin, TX, USA). 3-chlorobenzoic acid and 4-chlorobenzoic acid, (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole, (4-chlorobenzo)-1,3-dioxole, 3-chlorocatechol and 3-chloro-2-hydroxybenzaldehyde standards were obtained from Sigma–Aldrich (USA) (>99%). In Table 1 properties of the selected compounds are shown.

Sodium hypochlorite solution (NaOCl with 10–15% (m/V) of active chlorine), sodium hydroxide (98%), hydrogen peroxide solution ($\geq 30\%$) and sodium sulphate ($\geq 99\%$) were purchased from Sigma–Aldrich (USA). Hydrochloric acid ($\geq 99\%$) was obtained from Carlo Erba (Italy) and dichloromethane from Merck (USA).

Acetonitrile LC-MS grade and water obtained from Merck (USA) were used as LC mobile phases and methanol Purge and Trap grade was obtained from Riedel-de-Haën (Germany).

Water used for experiments was purified (18.2 M Ω cm, 25 °C and TOC < 5 μ g/L) in an Elix-Milli-Q system (Millipore Corp., USA)

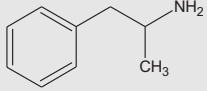
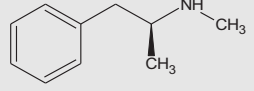
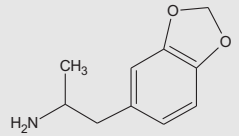
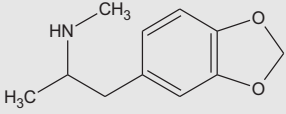
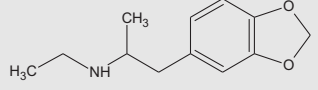
2.2. Water samples

Water samples were collected from a DWTP located in NE-Spain from April to June 2009. In this facility, chlorination is performed twice throughout the treatment. First, chlorine is added to the raw river water until break-point is achieved in order to completely remove the natural ammonia present in these raw waters. Next, after successive treatments including flocculation, coagulation, ozonation and GAC filtration, postchlorination is performed to maintain a chlorine residual concentration of about 0.8–1.2 mg/L through the distribution system (Fig. 1). The torrential regime of this Mediterranean river leads to significant temporal variation in the quality of raw water at the intake of the DWTP as shown in Table 2.

Raw water and treated water samples were collected after each treatment step by step taking into account the hydraulic retention times (HRT). They were stored in amber glass bottles below 4 °C and extracted within 48 h of collection. Surface raw waters were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, UK). Sodium thiosulphate to quench chlorine can convert N-chloro compounds back into their original form (Pinkston and Sedlak, 2004) and therefore ascorbic acid was added to treated waters in order to prevent further degradation.

In order to detect the parent compounds in raw waters, a highly sensitive SPE LC-MS/MS method, described elsewhere (Huerta-Fontela et al., 2007), was used. The DBPs were only traced for those intake samples showing the presence of the related parent compounds. Additionally, samples were collected after each treatment step in order to evaluate the DBPs formation, their evolution through the treatment and the influence of other oxidative and non-oxidative steps.

Table 1 – Amphetamine-type stimulatory drugs studied and their properties.

Compound	Structure	Nominal mass	pKa	Log K_{ow} (20–25 °C)
Amphetamine		135	10.1	1.76
Methamphetamine (METH)		149	9.9	2.07
4-methylenedioxyamphetamine (MDA)		179	9.7	1.64
3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA)		193	9.9 ^b	2.28 ^b
3,4-methylenedioxyamphetamine (MDEA)		207	10.3 ^b	2.77 ^b

a Cody, 2007; Pranker, 2007.
b Estimated values.

2.3. Compound chlorination

In order to study the formation of chlorinated DBPs, 25-mL amber bottles were filled with Milli-Q water spiked with individual standards of the ATs at concentrations between 1 and 100 µg/L. These concentrations, higher than those found environmentally (Huerta-Fontela et al., 2008b), were used in order to avoid the enrichment step in the analysis of parent and generated compounds by LC-MS. Chlorine was added at concentrations between 1 and 1000 mg/L at compound:oxidant ratios ranging from 1:100 to 1:1000, trying to maintain the proportion between analyte and chlorine concentration found at the DWTP. Analyte concentration ranges and concentrations used in the chlorination experiments are summarized in Table 3. Stirring was performed all through the experiments and chlorine stock solution was standardized before use by means of iodometric titration (APHA et al., 2005) without showing any substantial variations.

Sample aliquots of 1 mL were taken at a series of sequential times, quenched with ascorbic acid and analyzed by LC-MS/MS. The reaction mixtures were monitored over a period of 15 h since this is the maximum HRT measured in the real scale facility during the performed surveys and a total number of 27 samples were collected and analyzed during this period. External standard calibration was used and, at the end of each experiment, residual chlorine concentrations were measured by titration. In general, oxidant concentrations were stable; the maximum changes were lower than 10% of the starting chlorine concentration. The pH stability was also checked by measuring it at the beginning and end of each experiment.

Experiments were performed by triplicate and oxidant and blank controls were included in all the experimental sets in order to ensure product and chlorine stability. All chlorination experiments were performed at room temperature, 23 (±1) °C.

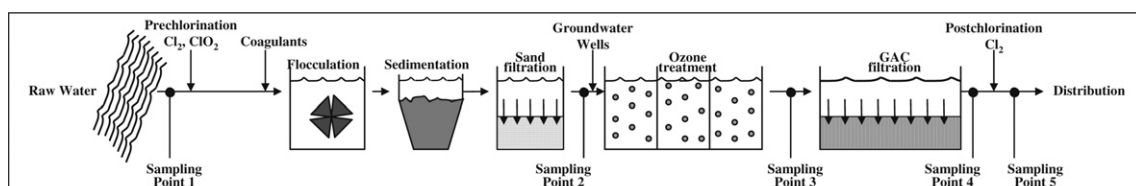
**Fig. 1 – Treatment scheme of the DWTP and location of sampling points.**

Table 2 – Characteristics of river raw water quality at the intake of the DW P (April–June 2009).

Parameter	Range
pH	7.4–8.8
Conductivity (20 °C; $\mu\text{S}/\text{cm}$)	730–1617
Ammonia (mg NH_3/L)	<0.02–5.8
Alkalinity (mg CaCO_3/L)	189–368
Bromide (mg Br/L)	0.3–0.9
TOC (total organic carbon; mg C/L)	2.1–7.9
Break point (mg Cl_2/L)	3–20

2.4. Synthesis of 3-chlorocatechol

Synthesis of 3-chlorocatechol was performed by extensive oxidation of 3-chloro-2-hydroxybenzaldehyde (through 3-chloro-2-hydroxybenzoic acid intermediate) as described elsewhere (Huerta-Fontela et al., 2008b). Briefly, 3-chloro-2-hydroxybenzaldehyde (300 mg) was dissolved in sodium hydroxide (0.05 N, 30 mL) and then hydrogen peroxide (30%, 1 mL) was added dropwise during 30 min. After stirring for 2 h, one additional mL of oxidant was added and the mixture was stirred for two additional hours to furnish 3-chlorocatechol. The reaction was monitored by regularly injecting samples into the MS system. When all the starting material was consumed, the reaction mixture was quenched with $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ followed by acidification (1.0 N HCl, 2.5 mL) and the resulting solution was then extracted with CH_2Cl_2 . The extract was then dried with Na_2SO_4 and evaporated to dryness. This residue was purified by preparative column chromatography (stationary phase SiO_2 , eluent CH_2Cl_2). Collected fractions were injected into the MS system, and those containing pure

3-chlorocatechol were combined and evaporated to dryness to obtain the final product. The purity of the 3-chlorocatechol obtained in this way was established by LC/MS (>99%), and its structure was confirmed by $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz); δ : 5.71 ppm (1H, s, OH), 5.78 ppm (1H, s, OH), (1H, dd, $J_1 = J_2 = 7.1$ Hz, H5), 6.64 ppm (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H6), 6.84 ppm (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H4).

2.5. Analytical methods

Analyses were performed by using a Waters Acquity ultra-performanceTM liquid chromatography system, equipped with a quaternary pump system (Milford, USA) and an Acquity BEH C18 column (50 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μm particle size). This system was coupled to a 3200 Qtrap hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometer (Applied Biosystems, CA, USA) with a turbo Ion Spray source. All data were acquired and processed using Analyst 1.4 software. Different analytical methods were selected depending on the determinations performed.

For laboratory chlorination experiments and by-products identification, samples were directly injected into the LC-MS system (5 μL) without performing any enrichment step. For the chromatographic separation mobile phases consisting of acetonitrile (A) and water (B) and low flow rates (0.2 mL/min) were used. A linear gradient was selected (0–0.1 min, 0% A; 0.1–5.0 min, 100% A; 5.0–6.0 min, 100% A; 6.0–7.0 min to initial conditions; 7.0–8.0 min, column equilibration). Gentle parameters were selected for the MS instrument. Ionization in the turbo Ion Spray source was performed by setting up a temperature of 250 °C, curtain gas was fixed at 15 psi and desolvation gases at 20 and 25 psi, and both positive and

Table 3 – Experimental chlorination conditions (contact time 15 h).

Parent compound	Raw water concentration (ng/L)	Spiked concentration ($\mu\text{g}/\text{L}$)	Chlorine concentration ($\mu\text{g}/\text{L}$)	Ratio
Amphetamine	5–90	10	1000	1:100
			10,000	1:1000
		50	5000	1:100
Methamphetamine	0.2–2		50,000	1:1000
		1	1000	1:1000
		2	1000	1:500
MDA	2–50		2000	1:1000
		2	1000	1:500
			2000	1:1000
MDEA	0.2–12		2500	1:100
			10,000	1:400
		50	5000	1:100
MDMA	4–190		50,000	1:1000
		1	1000	1:1000
		10	1000	1:100
MDMA	4–190		10,000	1:1000
			1000	1:200
			5000	1:1000
		20	2000	1:100
			15,000	1:750
		50	5000	1:100
	50,000	1:1000		
	100	10,000	1:100	
		100,000	1:1000	

negative modes (one injection per mode) were studied. Acquisition was performed by using information dependent analysis (IDA) experiments. Full scan acquisition (enhanced mass spectra, EMS) was selected as survey scan over a mass scan range of 60–500 m/z . Criteria level was set by fixing a scan intensity threshold of 1000 cps and former target ions were excluded for 15 s. When this criterion was fulfilled, enhanced product ion (EPI) scans were acquired by using collision energy spread (CES) at three different collision energies (CE: 30 ± 20 eV). This method was used for the identification of the new compounds generated from oxidation with chlorine. Additionally, another IDA experiment was performed in order to identify chlorine isotope clusters. In this case, survey scan and dependent scan were the same as previously described while criteria level consisted on the matching isotopes measure mode, by selecting ions with m/z differences of 2 ± 0.2 Da. For both experiments, declustering potential (DP) was set to 25 V while entrance potential (EP) and collision exit potential (CEP) were fixed to 10 and 14 V, respectively.

For quantitation of ATS concentrations in raw waters at the entrance of the drinking water treatment plant, a method based on solid-phase extraction (SPE) described in a previous work was used (Hansen and Skattebøl, 2005). For LC-MS/MS, the Acquity BEH C18 (50 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μ m particle size) was used and compounds were separated by using solvent (A) acetonitrile with 0.1% formic acid; solvent (B) 30 mM formic acid/ammonium formiate (pH 3.5) at a flow rate of 0.5 mL/min. The gradient elution was: 0–0.1 min, 5% A; 0.1–3.0 min, 5–30% A; 3.0–5.0 min, 30–80% A; 5.0–5.5 min return to initial conditions; 5.5–6.5 min, equilibration of the column. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and two transitions (quantification, confirmation) were used for each compound (Huerta-Fontela et al., 2007).

Finally, when DBPs were analyzed in real water samples, an enrichment step was mandatory in order to measure the low concentrations of the new identified compounds. Samples (500 mL) were loaded at pH = 7 after washing Oasis®HLB (6 mL, 200 mg) (Waters) cartridges with methanol (10 mL) and Milli-Q water (10 mL). Next, cartridges were rinsed with 8 mL of 1% methanol aqueous solution, dried with nitrogen gas and eluted using 8 mL of methanol. Extracts were evaporated to 100 μ L under a stream of nitrogen, reconstituted in 500 μ L of a 20% methanol aqueous solution and injected into the LC-MS system. Chromatographic conditions were the same ones used for chlorination experiments while MS acquisition was performed by SRM acquisition with two transitions per compound (Table S1).

3. Results and discussion

As a preliminary step the behaviour of ATS during chlorination treatment was studied. Chlorination was carried out by using concentrations higher ($\times 100$) than those found at the entrance of the DWTP (0.2–190 ng/L) (Huerta-Fontela et al., 2008b) and hypochlorite doses were fixed according to these concentrations as detailed in Table 3. The reactions were monitored for 15 h since it was the maximum HRT found in

the drinking water facility during this study. Results obtained showed that all compounds exhibit a similar trend, with concentrations fast decreasing, confirming the high reactivities of amines to chlorine (Deborde and von Gunten, 2008). Amphetamine and methamphetamine showed the shortest reaction times, while for MDA and MDEA longer times were necessary to be removed (60 min and 90 min respectively) and for MDMA contact times of 6 h were needed to achieve a complete degradation of the parent compound. These results suggested that while amphetamine and methamphetamine will rapidly react with chlorine during treatment in real waterworks, MDA, MDEA and MDMA would be rather stable throughout treatment.

The reactions half-lives were also estimated and values ranging from 43 s for amphetamine to 71 min for MDMA were obtained. These results allowed predicting the efficiency of a conventional real scale chlorination treatment over ATS and indicated if a recalcitrant compound needs higher doses of chlorine or longer contact times to be eliminated.

3.1. Identification of disinfection-by-products

For the unequivocal identification and characterization of the compounds generated during chlorination, several experiments were performed. First, the analysis of the chlorinated samples was carried out by LC-MS using information dependent analysis (IDA) acquisition and the chlorine isotopic criteria. IDA experiments allowed to easily identify the new generated compounds. Scan intensity threshold criteria level, described in the Experimental section, was used to find new compounds with ions exceeding the fixed minimum intensity. When using this last criterion non-conclusive results were obtained and no DBPs were identified. On the other hand, the IDA method using the matching isotope criteria level allowed the identification of new chlorinated compounds from some ATSs. Thus for amphetamine and methamphetamine, no by-products were identified while for MDA, MDEA and MDMA, after chlorination experiments, some different by-products were found. Their identification is discussed below but in general a common acquisition protocol was followed in order to unequivocally identify and characterize these compounds. The fragmentation studies were performed using both positive and negative electrospray ionization. Full scan MS spectra and product ion spectra (MS/MS and MS/MS²) from the new generated compounds were obtained (Fig. 2). Only the ions corresponding to the $[M + H]^+$ or $[M - H]^-$ isotopic clusters without fragments or adducts were observed in MS spectra. To obtain additional information of the unknown compounds their fragmentation behaviour was studied by using MS/MS and MS/MS² experiments. For MS/MS experiments, protonated or deprotonated molecular ions were isolated in the first quadrupole as precursor ions, fragmented in the collision cell at three different collision energies and trapped and analyzed in the linear ion trap (LIT) obtaining product ion full scan spectra. The most abundant product ions obtained from the MS/MS experiments were selected as precursors for further fragmentation in the LIT (MS/MS²) and higher order full scan spectra were recorded.

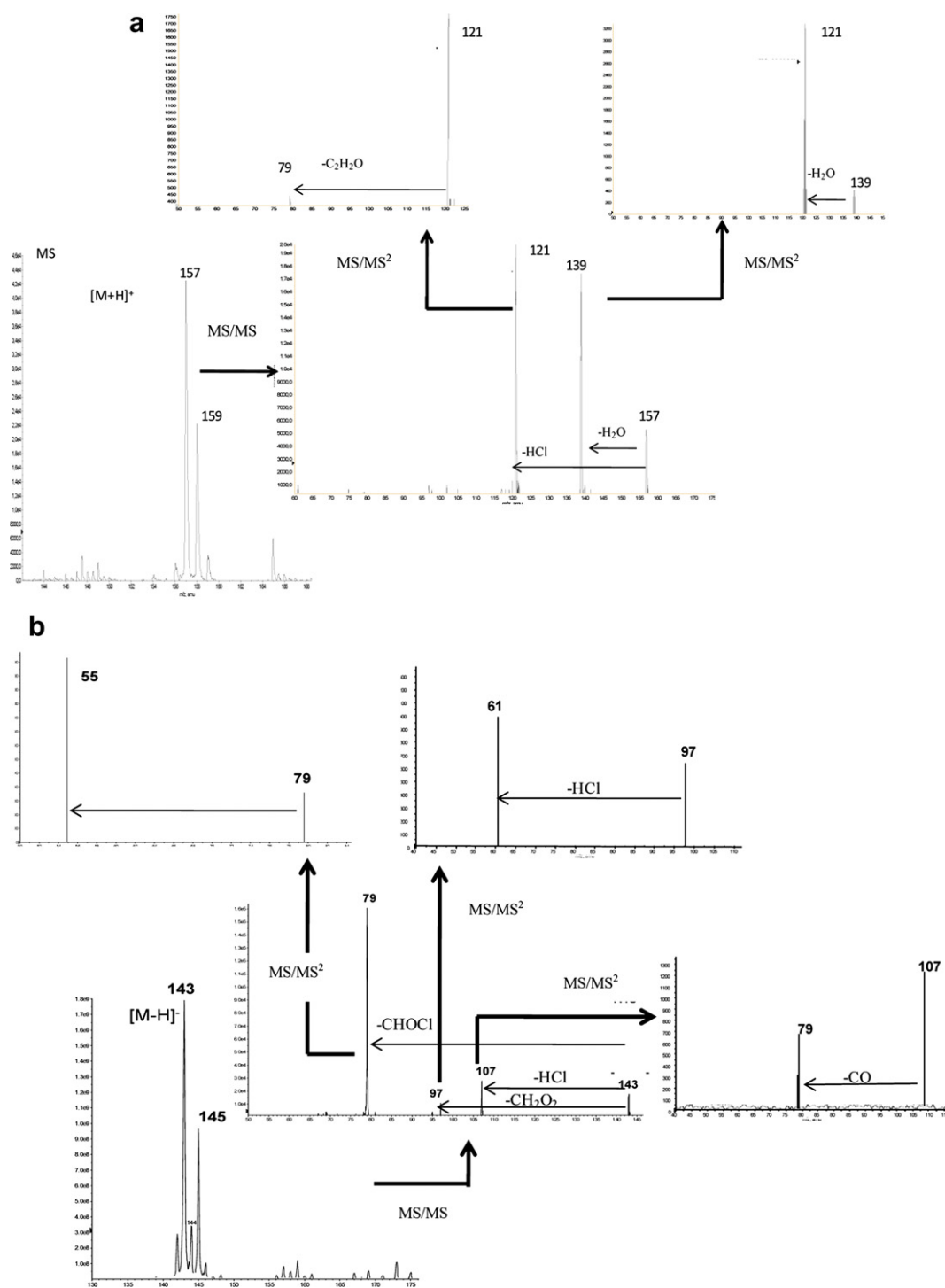


Fig. 2 – (a) (ESI+)–MS, MS/MS and MS/MS² spectra of MDEA DBP; (b) (ESI–)–MS, MS/MS and MS/MS² spectra of MDMA DBP.

3.1.1. MDA and MDEA by-products

For both, MDA and MDEA a peak with a retention time of 1.72 min appeared in the total ion chromatogram after a reaction time of 30 min. The MS full scan spectra of this peak acquired under positive ionization mode showed the same base peak (m/z 157). Fig. 2a shows, as an example, the spectrum of the compound generated by chlorination of MDEA. This new compound was found neither in blank samples (before chlorine

addition) nor at starting reaction time, exhibited a characteristic isotopic pattern suggesting the presence of a single chlorine in the structure. The structures and nominal molecular weights of MDA (179) and MDEA (207) and the fact that a common product was obtained for both of them with one chlorine atom in its structure, probably on the aromatic ring due to an electrophilic aromatic substitution (S_EAr), suggested two plausible molecular formulas for the ion at m/z 157: i)

$C_9H_{13}Cl$ coming from the loss of the amine moiety and the dioxole one or ii) $C_7H_5ClO_2$, coming from the loss of the side chain. It is worth considering that the molecular weight of the generated product is not compatible with the presence of the amino group. In order to identify the compound MS/MS spectra were acquired at three different collision energies to obtain the maximum fragmentation information in a single scan. Two abundant product ions at m/z 121 and m/z 139 were obtained from the precursor ion at m/z 157 (Fig. 2). The product ion at m/z 139 corresponded to $[M + H - 18]^+$ which can only result from the loss of a water molecule. According to this fragmentation, the first molecular formula suggested ($C_9H_{13}Cl$) can be discarded since the presence of at least one oxygen atom in the structure of the new generated compound is mandatory. The second product ion $[M + H - 36]^+$ (m/z 121) can be related to the loss of HCl or to the consecutive loss of two water molecules. For the correct assignment of this ion, MS/MS experiments were also performed selecting as precursor the ion $[M + H + 2]^+$ of the isotopic cluster at m/z 159. Two product ions were then obtained one at m/z 121 and the other at m/z 141. The product ion at m/z 141 agreed with the loss of water $[M + H + 2 - H_2O]^+$ while the ion at m/z 121, $[M + H + 2 - H^{37}Cl]^+$, allowed to confirm the loss of HCl. MS/MS² experiments were next performed by selecting as precursors MS/MS product ions (m/z 121 and m/z 139) which were fragmented in the LIT by using a single-frequency excitation. No further information was obtained from these experiments since the ion at m/z 121 could not be fragmented and from the ion at m/z 139, only the loss of water corresponding to $[M + H - H_2O - H_2O]^+$ (m/z 121) was observed. In order to obtain additional information, the MS/MS² experiments for the ion at m/z 121 were also performed at higher collision energy (CE: +90 eV). Under these conditions a low intensity product ion at m/z 79 was obtained which can result from the loss of C_2H_2O due to the cleavage of the aromatic ring. Two structures can be proposed for the suggested molecular formula ($C_7H_5ClO_2$) that is in agreement with the fragmentation obtained: chlorobenzoic acid and (chlorobenzo)-1,3-dioxole. However, information obtained from MS/MS² spectra did not allowed to identify the generated chlorination product. So, in order to identify this MDA and MDEA by-product, standards of the suspected chlorinated compounds were analyzed by LC-MS and the results were compared with those of the unknown compound. Retention times indicated that the by-product generated during chlorination experiments was (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole (Fig. 3-f1). The formation of (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole could be explained by an intramolecular chlorine transfer from a chloramine intermediate (Fig. 3-c1). The length of the "amine arm" explains that

this chlorine is not transferred to the nearer *ortho* position but to the *meta* one, thus furnishing the (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole observed. DBPs with a higher number of chlorine atoms were not found in the chlorination of MDA and MDEA.

3.1.2. MDMA by-products

A similar strategy was followed in order to identify chlorinated-by-products from MDMA. In this case after 5 h chlorination, the colour of the spiked water turned slightly brownish which could indicate the formation of a new product. Injection into the LC instrument allowed the detection of a new compound at a retention time of 3.80 min whilst mass spectrum showed a base peak at m/z 143. Acquisition was performed under negative ionization mode and full scan MS spectrum exhibited an isotopic pattern corresponding to the presence of a single chlorine atom. Fig. 2b shows the spectra obtained for this compound. Taking into account the nominal molecular mass of MDMA (193), the presence of one chlorine in the structure of the by-product and that a chlorination pathway similar to that of MDA/MDEA can be expected, the molecular formula $C_6H_5O_2Cl$ (chlorocatechol) coming from the acetal hydrolysis and alkyl amine side chain cleavage can be suggested. MS/MS experiments selecting the ion at m/z 143 as precursor, provided a spectrum with three product ions at m/z 107 (18%), 97 (5%) and 79 (100%) (Fig. 2b). In order to evaluate the presence of the chlorine atom in these product ions, MS/MS experiments were also performed for the ion at m/z 145 corresponding to the isotope ^{37}Cl . Two of the product ions obtained, m/z 107 and m/z 79, lost the chlorine atom while the third one appeared at m/z 99 (two units higher than the fragment obtained from m/z 143) indicating that the ^{37}Cl is present after fragmentation. According to these results the product ion at m/z 107 resulted from the loss of HCl. On the other hand, the ion at m/z 79 matches with the loss of a $CHOC$ fragment while the third product ion obtained at m/z 97 can come from the loss of CH_2O_2 . These fragments are consistent with those reported for catechol compounds by Knuutinen and Korhonen (1983). MS/MS² experiments were next performed for the three product ions obtained from MS/MS acquisition. The fragmentation of the ion at m/z 107 yielded to a product ion at m/z 79 coming from the loss of a CO. The ion at m/z 97 fragmented into a product ion at m/z 61 which could come from the loss of two water molecules or HCl. A further MS/MS² experiment for the ion at m/z 99 (^{37}Cl) yielded the same product ion confirming the loss of an HCl molecule. Finally, the ion at m/z 79 was also fragmented and a product ion at m/z 55, already reported (Knuutinen and Korhonen, 1983) was obtained. These fragmentations agreed with the

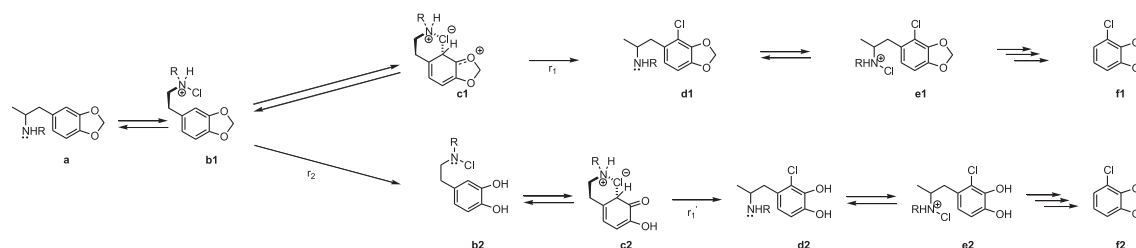


Fig. 3 – Tentative reaction pathways for MDA, MDEA and MDMA (r_1 , r_1' , r_2 limiting reaction rates).

structure of the *ortho*- or *meta*-chlorocatechol indicating that this compound was generated from MDMA by chlorination. Nevertheless, the MS experiments could not provide a clear evidence of the *ortho* or *meta* position of the chlorine on the aromatic ring. Standards from the suspected catechols were used in order to confirm the structure of the DBP obtained from MDMA. The 4-chlorocatechol standard was purchased but 3-chlorocatechol was synthesized as described in the previous section. Different retention times were obtained for both compounds and comparison with the retention time of the DBP allowed identifying it as 3-chlorocatechol.

No additional DBPs were detected and no further degradation of this chlorocatechol was either observed. Even though this compound could be sensitive to chlorine giving rise to the formation of polyhalogenated compounds such as chloroform, previous works have demonstrated that catechols (1,2-dihydroxybenzenes) are less reactive (<1% chloroform) than the corresponding resorcinols (1,3-dihydroxybenzenes) which highly degrade into chloroform. (Rook, 1977; de Laat et al., 1982). A similar behaviour can be then expected for 3-chlorocatechol confirming the stability observed for this compound.

A tentative reaction pathway for the chlorination of MDA, MDMA and MDEA may be proposed from their experimental behaviour (Fig. 3). The first step would consist on an electrophilic attack of the chlorine to the nitrogen, to afford an intermediate chloramine (b1) (O'Connor and Mortishire-Smith, 2006). Afterwards, the sensitive aromatic ring would suffer an intramolecular electrophilic aromatic substitution reaction (EAS), yielding to the attack of the chlorine over the α -carbon of the dioxole moiety (c1) thus deactivating the aromatic ring for further aromatic substitutions (Fig. 3, r_1). This reaction is competitive with the cleavage of the dioxole moiety (b2) to give rise to the corresponding catechol (Kuramshin et al., 1989) (Fig. 3, r_2). The last step of both routes leads to the loss of the side chain by an oxidative mechanism on the benzylic carbon. When the chlorination is faster than the cleavage (Fig. 3, $r_1 > r_2$, MDA and MDEA), we observe the chlorinated dioxole (f1). On the other hand, when the chlorination is slower ($r_2 > r_1$, MDMA), the chlorocatechol formation is observed (f2). Since there is no evident explanation of the different behaviour of MDMA and MDA/MDEA, standard semi-empirical theoretical calculations using Gaussian 03 software (Frisch et al., 2004) were performed. This procedure allows the determination of the electronic structure of single molecules, which can be later correlated to thermodynamical parameters such as reaction enthalpies. These values enable to assess of the feasibility of a reaction by taking into account reactives vs products energies. Results showed that ΔH of the substitution (EAS) reaction for MDMA is 2.1 kcal/mol higher than those of MDA and MDEA. This can explain that the EAS reaction of MDMA is much slower than those of MDA and MDEA and, therefore, MDMA would follow the dioxole cleavage route (r_2).

3.2. Occurrence of DBPs in a DWTP

The presence of ATs was evaluated in raw waters used for drinking water production. Only those sets of samples with parent compounds concentrations above their LOQs (0.3 ng/L

for MDMA and 0.8 ng/L for MDA and MDEA) were selected to assess the presence of the previous identified chlorination-by-products. Since MDEA was not detected in any of these samples, the study about the presence of its chlorinated product could not be performed.

In order to investigate the presence of the identified chlorinated-by-products in the water samples, an extraction method was developed. For this purpose, three different sorbents were tested: Oasis-HLB, Accubond-C18 and Isolute C18. Parent and chlorinated standards were added to blank matrices and recoveries were then calculated by comparing the responses in the MS detector. Oasis-HLB gave better recoveries for both 3-chlorocatechol and (3-chlorobenzoyl)-1,3-dioxole (54% and 61%) following the method described in the Experimental section.

The SPE method was applied to samples collected after each treatment step, taking into account the HRT. Water samples from intake, prechlorination, coagulation and sand filtration, ozonation, GAC filtration and postchlorination were extracted and analyzed. Parent compounds and chlorinated products were traced through treatment by SRM acquisition (Table S1). The survey was performed from April to June 2009 and 15 different sets (from intake to postchlorinated samples) were studied during this period. Concentrations were estimated using response factors obtained by injecting the corresponding standards.

MDA was found in 5 raw water samples at concentrations ranging from 1 to 15 ng/L which are in the range of those previously reported (Huerta-Fontela et al., 2008b). After the first chlorination step, MDA degradation was mainly complete (>99%), confirming the efficient removal of this compound through chlorine treatment. The presence of the DBP from MDA, (3-chlorobenzoyl)-1,3-dioxole, was then evaluated in the 5 samples that contained the parent compound. This DBP was only found in two of these samples at concentrations of 1.2 and 3 ng/L and in both cases after the first chlorination step. The formation of this DBP in an early stage of the treatment is in agreement with the fast reaction times measured at laboratory scale and with the complete removal of MDA during the treatment. Concentrations obtained indicate that, for both samples, above 20% of MDA is transformed into (3-chlorobenzoyl)-1,3-dioxole during the chlorination step. DBP concentrations suffered a slight decrease after the ozonation step, probably because of further degradation. Moreover, a further removal after GAC filtration was observed. Fig. 5 shows the behaviour of both MDA and its DBP during drinking water treatment from one of the positive samples. In this sample, MDA was found in raw waters (Fig. 4), at a concentration of 6.4 ng/L while the maximum concentration of the DBP after prechlorination was 1.2 ng/L. Neither MDA nor (3-chlorobenzoyl)-1,3-dioxole, were detected in the final post-chlorinated waters, suggesting the removal of both compounds during treatment.

MDMA was found in 10 out of 15 raw water samples at concentrations ranging from 2.3 to 78 ng/L which agree with already reported values in surface waters (Huerta-Fontela et al., 2008b). For samples containing MDMA, 3-chlorocatechol generation during water treatment was observed in 9 of them. MDMA confirmed to be a recalcitrant compound since it survived all treatment steps and efficient

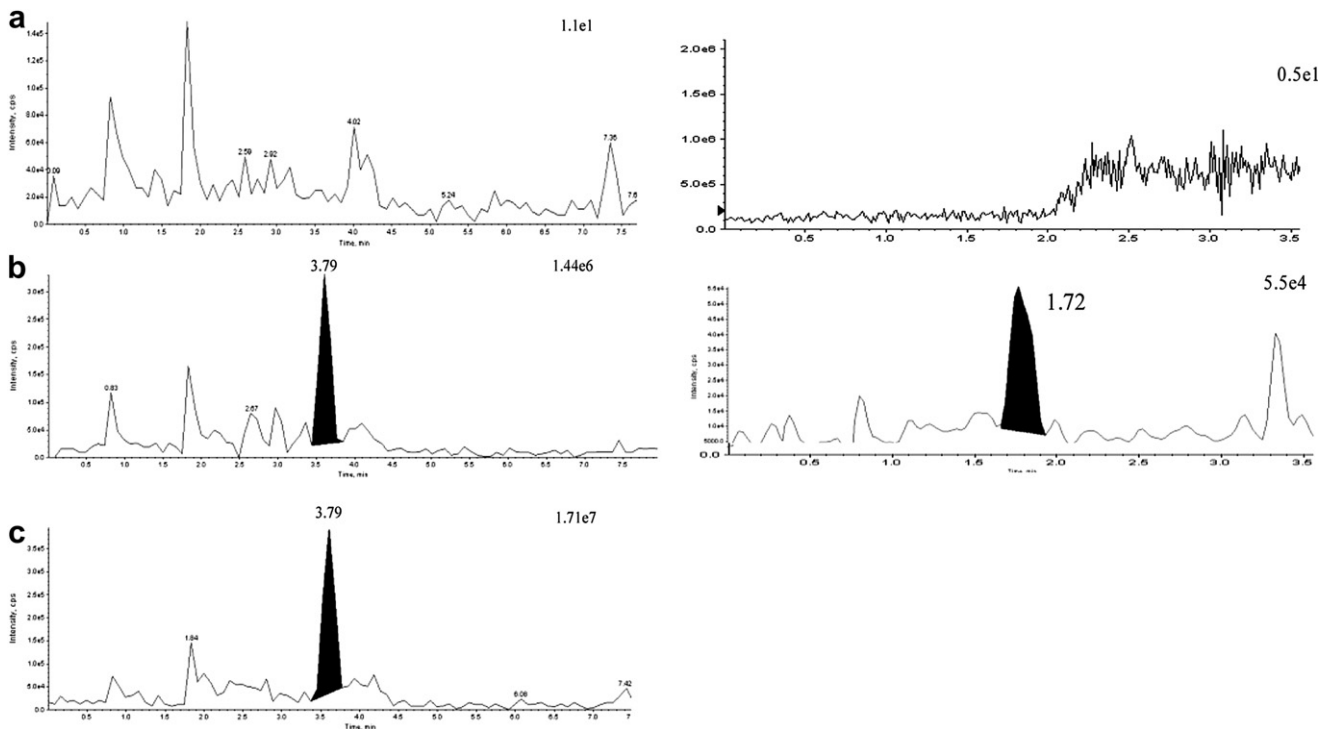


Fig. 4 – Left: MDMA by-product, 3-chlorocatechol. Reconstructed ion chromatograms (m/z : 143) from (a) raw water, (b) GAC filtered water and (c) postchlorinated water. Right: MDA by-product, 3-chloro-benzodioxole. Reconstructed ion chromatograms (m/z 157) of: (a) raw water and (b) prechlorinated + sand filtrated water.

elimination was only obtained after postchlorination. The presence of secondary amino groups in its structure could suggest a rapid reaction with chlorine; however both laboratory and real scale studies confirmed that long reaction times are needed for this compound to react. In fact, 3-chlorocatechol formation was mainly observed after the last chlorination step (Fig. 5). At first sight, the high by-product generation after postchlorination rather than after prechlorination could be explained by the higher substrate: oxidant molar ratios obtained in the postchlorination step. However, the chlorocatechol formation began to be observed after the ozonation step, during GAC treatment (4.5–6 h after prechlorination) indicating that probably the reaction time is the main factor affecting the generation of this by-product. This is in agreement with the laboratory experiments which have shown that long reaction times (5 h) were necessary to generate 3-chlorocatechol. This could explain the latter appearance of this compound during treatment and also indicate that the increase in catechol concentration after the postchlorination step is probably related to the first chlorination step at the beginning of the treatment process rather than to the postchlorination one. Estimated concentrations of this DBP after postchlorination ranged from 0.5 to 5.8 ng/L which correspond to MDMA transformation percentages into 3-chlorocatechol above 5–8% (7–12 mol%). Fig. 4 shows as an example the chromatograms obtained from one real sample containing both MDMA and 3-chlorocatechol.

In order to unequivocally assure the origin of both (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole and 3-chlorocatechol, free MDA and MDMA raw waters were also analyzed through treatment.

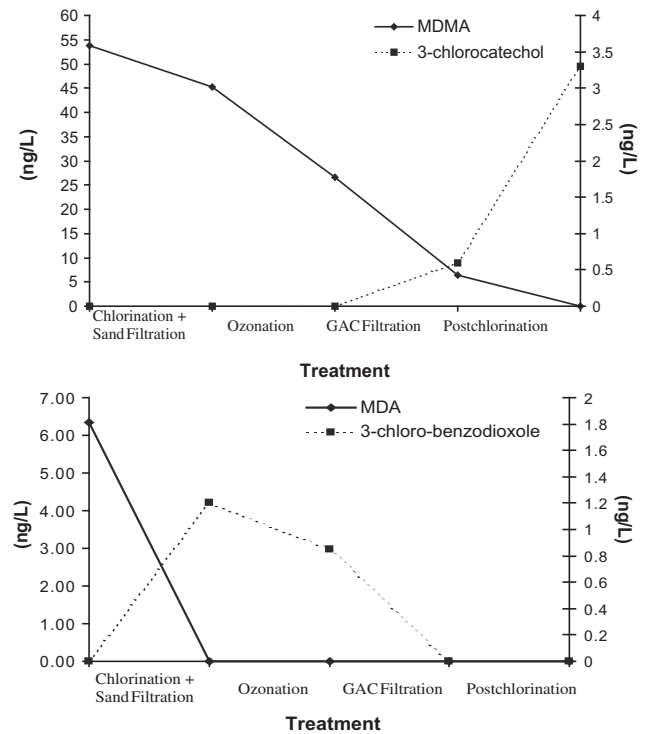


Fig. 5 – Evolution of MDMA, MDA and their DBPs concentrations (from one selected sample) through the studied drinking water treatment plant.

These samples did not give rise to (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole or 3-chlorocatechol suggesting that these compounds are only formed from the chlorination of both illicit drugs.

4. Conclusions

The results obtained from the study of the behaviour of several amphetamine-type-stimulants through chlorine oxidation have demonstrated the formation of new disinfection-by-products during conventional drinking water treatments.

LC-MS analysis using information dependent acquisition (IDA) and the chlorine isotopic criteria were used to identify these compounds. The new identified DBPs were characterized by performing fragmentation studies and comparing these results to their corresponding standards. For amphetamine and methamphetamine no chlorinated-by-products were identified through experiments while, in the case of MDA and MDEA a common chlorinated compound, (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole, was identified. A different chlorinated DBP, 3-chlorocatechol, was identified after the chlorination of MDMA.

Studies performed in a drinking water treatment plant in order to evaluate the presence of these compounds showed that both (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole and 3-chlorocatechol are formed by chlorination practices in this DWTP when MDA and MDMA are present in raw waters. For MDA, the formation of (3-chlorobenzo)-1,3-dioxole was observed after the first chlorination step. Further steps, such as ozone and GAC filtration, allowed to completely removing it and therefore it was not found in the final treated water. For MDMA, the long reaction times needed to obtain the catechol DBP allowed it to survive the conventional drinking water treatments and be present, at low concentrations (0.5–5.8 ng/L) in final treated waters. The presence of these chlorinated compounds through treatment together with the recalcitrant occurrence of the DBP from MDMA indicates that additional DBPs from these compounds can be generated. The relatively high concentrations of bromide in raw waters, suggests the potential formation of brominated DBPs. Further work is in progress in order to identify new compounds.

Acknowledgments

This work has been financially supported by R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of common research, development and innovation projects of the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited and Suez Environment (Project-HE0607) and by Ministerio de Ciencia e Innovación (CTQ-2009-09253). The authors acknowledge Dr. S. Ricart for her help.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found online at [doi:10.1016/j.watres.2012.03.029](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.03.029).

REFERENCES

- Abia, L., Armesto, X.L., Canle, M., García, M.V., Santaballa, J.A., 1998. Oxidation of aliphatic amines by aqueous chlorine. *Tetrahedron* 54 (3–4), 521–530.
- Alum, A., Yoon, Y., Westerhoff, P., Abbaszadegan, M., 2004. Oxidation of bisphenol A, 17 β -estradiol, and 173-ethynyl estradiol and byproduct estrogenicity. *Earth Environ. Sci.* 19 (3), 257.
- APHA, AWWA, WEF, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, DC.
- Bedner, M., MacCrehan, W.A., 2006. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. *Environ. Sci. Technol.* 40 (2), 516–522.
- Boleda, M.R., Galceran, M.T., Ventura, F., 2007. Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1175 (1), 38–48.
- Boleda, M.R., Galceran, M.T., Ventura, F., 2009. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Res.* 43 (4), 1126–1136.
- Bones, J., Thomas, K.V., Brett, P., 2007. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J. Environ. Monit.* 9, 701–707.
- Castiglioni, S., Zuccato, E., Crisci, E., Chiabrando, C., Fanelli, R., Bagnati, R., 2006. Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 78 (24), 8421–8429.
- Castiglioni, S., Zucatto, E., Fanelli, R. (Eds.), 2011. *Illicit Drugs in the Environment: Occurrence, Analysis, and Fate Using Mass Spectrometry*. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ, USA.
- Cody, J.T., 2007. Amphetamines. In: Bogusz, M.J. (Ed.), *Forensic Sciences*. Elsevier, pp. 127–174.
- Deborde, M., von Gunten, U., 2008. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment — Kinetics and mechanisms: a critical review. *Water Res.* 42 (1–2), 13–51.
- Duirk, S.E., Lindell, C., Cornelison, C.C., Kormos, J., Ternes, T.A., Attene-Ramos, M., Osio, J., Wagner, E.D., Plewa, M.J., Richardson, S.D., 2011. Formation of toxic iodinated disinfection by-products from compounds used in medical imaging. *Environ. Sci. Technol.* 45 (16), 6845–6854.
- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Vreven, T., Kudin, K.N., Burant, J.C., Millam, J.M., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Barone, V., Cossi, M., Rega, N., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Klene, M., Li, X., Knox, J.E., Hratchian, H.P., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyeb, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Ayala, P.Y., Morokuma, K., Voth, G.A., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Strain, M.C., Farkas, O., Malick, D.K., Fox, D.J., Raghavachari, K., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cui, Q., Baboul, A.G., Clifford, S., Cioslowski, J., Stefanov, B.B., Liu, G., Liashenko, A., Piskorz, P., Komaromi, I., Martin, R.L., Keith, T., Al-Laham, M.A., Peng, C.Y., Nanayakkara, A., Gill, P.M.W., Johnson, B., Chen, W., Pople, J.A., 2004. Gaussian 03, Revision C.02.
- Gheorghe, A., van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, P.G., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2008. Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-

- phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (4), 1309–1319.
- Hansen, T.V., Skattebøl, L., 2005. One-spot synthesis of substituted catechols from the corresponding phenols. *Tetrahedron Lett.* 46 (19), 3357–3358.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2007. Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal. Chem.* 79 (10), 3821–3829.
- Huerta-Fontela, M., Ventura, F., 2008. Traceability of emerging contaminants from wastewater to drinking water. In: Petrovic, M., Barcelo, D. (Eds.), *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste*. Springer, Berlin/Heidelberg, pp. 143–168.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Martin, J., Ventura, F., 2008a. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 397 (1–3), 31–40.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2008b. Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 42 (18), 6809–6816.
- Hummel, D., Löffler, D., Fink, G., Ternes, T.A., 2006. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 40 (23), 7321–7328.
- Jones-Lepp, T.L., Alvarez, D.A., Petty, J.D., Huckins, J.N., 2004. Polar organic chemical integrative sampling and liquid chromatography electrospray/ion-trap mass spectrometry for assessing selected prescription and illicit drugs in treated sewage effluents. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47, 427–439.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42 (13), 3498–3518.
- Knuutinen, J., Korhonen, I.O.O., 1983. Mass spectra of chlorinated aromatics formed in pulp bleaching: I — chlorinated catechols. *Org. Mass Spectrom.* 18 (10), 438–441.
- Kuramshin, E.M., Kulak, L.G., Nazarov, M.N., Zlotzky, S.S., Rakhmankulov, D.L., 1989. Oxidation of cyclic acetals as a preparative method of diol monoester production. *J. Praktische Chemie* 331, 591–599.
- de Laat, J., Merlet, N., Dore, M., 1982. Chloration de composés organiques: demande en chlore et réactivité vis-à-vis de la formation des trihalométhanes. Incidence de l'azote ammoniacal (Chlorination of organic compounds: chlorine demand and reactivity in relationship to the trihalomethane formation. Incidence of ammoniacal nitrogen). *Water Res.* 16 (10), 1437–1450.
- van Nuijs, A.L.N., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2008. Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environ. Pollut.* 157 (1), 123–129.
- O'Connor, D., Mortishire-Smith, R., 2006. High-throughput bioanalysis with simultaneous acquisition of metabolic route data using ultra performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (1), 114–121.
- Petrovic, M., Diaz, A., Ventura, F., Barceló, D., 2003. Occurrence and removal of estrogenic short-chain ethoxy nonylphenolic compounds and their halogenated derivatives during drinking water production. *Environ. Sci. Technol.* 37 (19), 4442–4448.
- Petrovic, M., Lopez de Alda, M., Diaz-Cruz, M.S., Postigo, C., Radjenovic, J., Gros, M., Barcelo, D., 2009. Fate and removal of pharmaceuticals and illicit drugs in conventional and membrane bioreactor wastewater treatment plants and by riverbank filtration. *Phil. Trans. R. Soc. Am.* 367 (1904), 3979–4003.
- Pinkston, K.E., Sedlak, D.L., 2004. Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4019–4025.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M., Barcelo, D., 2010. Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environ. Int.* 36 (1), 75–84.
- Pranker, R.J., 2007. In: Brittain, H.G. (Ed.), *Analytical Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*. Elsevier, Heidelberg/Berlin.
- Richardson, S.D., Plewa, M.J., Wagner, E.D., Schoeny, R., DeMarini, D.M., 2007. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutation Res./Rev. Mutation Res.* 636 (1–3), 178–242.
- Richardson, S.D., 2007. Water analysis: emerging contaminants and current issues. *Anal. Chem.* 79 (12), 4295–4324.
- Rook, J.J., 1974. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treat. Exam.* 23 (2), 234–243.
- Rook, J.J., 1977. Chlorination reactions of fulvic acids in natural waters. *Environ. Sci. Technol.* 11 (5), 478–482.
- Rule, K.L., Ebbett, V., Vikesland, P.J., 2005. Formation of chloroform and chlorinated organics by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan. *Environ. Sci. Technol.* 39 (9), 3176–3185.
- Wu, Q.Y., Hu, H.Y., Zhao, X., Sun, Y.X., 2009. Effect of chlorination on the estrogenic/antiestrogenic activities of biologically treated wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 43 (13), 4940–4945.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., 2009. Illicit drugs in the environment. *Phil. Trans. R. Soc. Am.* 367 (1904), 3965–3978.

TABLE S1. ESI/MS/MS acquisition parameters, limits of quantification, recoveries and precision values.

Compound	ESI mode	Precursor ion (m/z)	D.P. (V)	Quantitation		Confirmation		LOQ (ng/L)	R± RSD (%)	Run/to/run (%RSD)	Day/to/day (%RSD)
				Product ion (m/z)	C.E. (V)	Product ion (m/z)	D.P. (V)				
Amphetamine	+	136	15	119	8	91	10	0.8	75 ± 3.9	4.3	7.6
Methamphetamine	+	150	15	91	14	119	12	0.7	83 ± 2.1	4.6	5.2
MDA	+	180	20	163	12	105	20	0.8	75 ± 4.0	5.7	7.2
MDEA	+	208	15	163	12	133	18	0.8	99 ± 3.4	3.0	4.8
MDMA	+	194	20	163	12	105	31	0.3	90 ± 5.0	2.5	7.9
(3-chlorobenzo)-1,3-dioxole	+	157	25	139	15	121	20	0.8	61 ± 3.8	5.9	7.3
3-chlorocatechol	-	143	25	79	-30	107	-25	0.4	54 ± 4.5	6.3	8.1

DP.: Declustering potential (V); CE: collision energy (V); LOQ: limit of quantification; R: recovery; RSD: relative standard deviation Run/to run precision calculated for n=6; Day/to day precision calculated for n=30.

4.3.DISCUSSIÓ DE RESULTATS

En aquest apartat es discuteixen els resultats obtinguts en l'estudi de l'evolució de la presència de drogues d'abús i fàrmacs en les aigües sotmeses a un tractament convencional de potabilització en l'ETAP d'estudi (Sant Joan Despí), així com la formació i presència de subproductes de desinfecció dels derivats amfetamínics a escala real i la importància toxicològica d'alguns dels resultats obtinguts.

4.3.1. Evolució de la presència de les drogues d'abús i fàrmacs durant els tractaments de potabilització

A l'article IV de l'apartat 3.2.2. d'aquesta memòria s'inclou un estudi sobre l'eliminació de les drogues d'abús en les diferents etapes del tractament dut a terme a l'estació de tractament d'aigües potables (ETAP) en estudi que va permetre confirmar per primera vegada la introducció d'aquestes substàncies en el sistema de potabilització així com posar de manifest la seva presència en les aigües finals tractades. A la Figura 4.4. es mostra un esquema del tractament de potabilització emprat en l'ETAP de Sant Joan Despí durant els anys en que van tenir lloc aquests estudis. Aquest consisteixen bàsicament en una etapa inicial d'oxidació amb clor i diòxid de clor de l'aigua captada del riu Llobregat seguida d'una etapa de floculació i coagulació, sedimentació i filtració per sorra, en aquest punt s'afegeix un percentatge variable d'aigua subterrània i es procedeix al tractament amb ozó seguit per una filtració sobre carbó actiu (GAC) i una postcloració final. Des de juliol de 2009 el tractament de potabilització inclou una línia addicional d'ultrafiltració i osmosi inversa. Aproximadament un 30% de l'aigua a tractar es derivada a aquesta línia després de l'addició d'aigua subterrània i es reincorpora a la línia principal abans de la post-cloració. Aquest tractament s'avalua breument en un dels treballs inclosos en aquesta memòria (article V, apartat 4.1.1.1.) mentre que la resta de treballs estan enfocats a estudiar la línia principal.

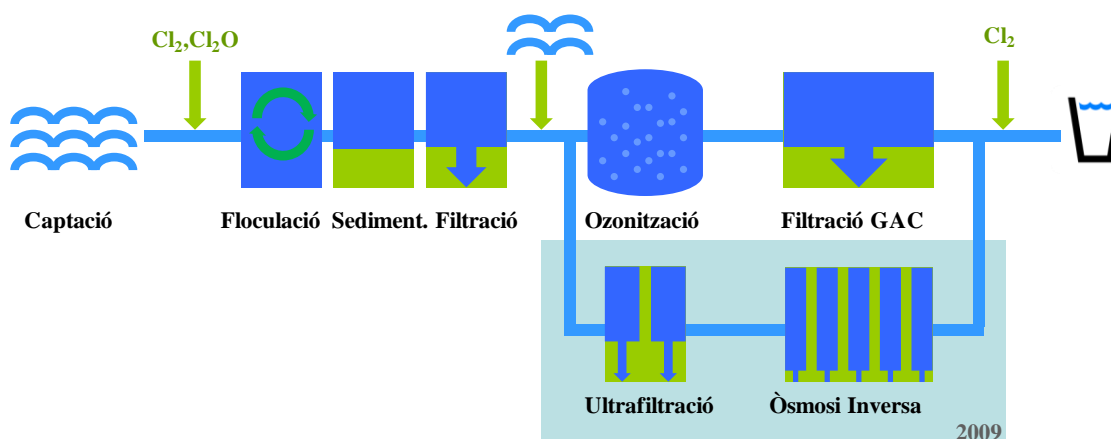


Figura 4.4. Esquema dels tractaments de l'ETAP de Sant Joan Despí estudiada.

Aquest estudi, juntament amb el de l'apartat 4.2.2. sobre els fàrmacs, ha permès avaluar el comportament a escala real de compostos de característiques fisico-químiques i estructurals molt diferents així com aprofundir en el coneixement de les reactivitats associades a les estructures específiques de les substàncies estudiades.

En primer lloc, l'anàlisi de les aigües de captació recollides a l'entrada de la planta en estudi va revelar la presència tant de diverses drogues d'abús com de fàrmacs en aquestes aigües. Les drogues d'abús identificades han estat: nicotina, cafeïna i els seus metabòlits, a concentracions mitjanes entre 410-1450 ng/L, amfetamina, metamfetamina i MDA, a concentracions entre 2 i 87 ng/L, MDMA (155 ng/L), cocaïna (59 ng/L) i benzoïlecgonina (936 ng/L). Les concentracions d'aquests compostos són en general, més elevades que les detectades en altres estudis realitzats en aigües d'entrada a plantes potabilitzadores, com per exemple a Holanda, on només s'ha detectat benzoïlecgonina a una concentració de 2 ng/L (Van der Aa i cols., 2013) o a Canadà, on s'han identificat benzoïlecgonina (10 ng/L), cocaïna (4.2 ng/L) i MDA (6 ng/L).

Pel que fa referència als fàrmacs, dels cinquanta-cinc compostos estudiats se'n han identificat trenta-cinc en les aigües d'entrada a l'ETAP (Taula 1, Article VIII, apartat 4.2.2.), entre els quals hi ha onze drogues psiquiàtriques i dos del seus metabòlits a concentracions mitjanes entre 2-56 ng/L, un antihistamínic, el salbutamol (27 ng/L), tres angiotensinògens (260-685 ng/L), nou β-bloquejants (4-470 ng/L), sis agents

cardíacs (1– 670 ng/L) i quatre agents estrogènics (0.1-26 ng/L). La major part d'aquests compostos es troben entre els detectats habitualment en altres estudis com es posa de manifest en el treball de recopilació sobre la presència de fàrmacs en aigües superficials de diferents països publicat per Hughes i cols (Hughes i cols., 2012) o en el de Boleda i cols (Boleda i cols., 2014) sobre aigües superficials espanyoles i europees on s'indica per exemple, que l'atenolol i la carbamezapina, detectats a l'aigua d'entrada a la planta de Sant Joan Despí, es troben amb freqüència en els rius espanyols. Mentre que en un estudi realitzat en aigües de rius catalans (riu Ter i Onyar) destaca també la presència de molts dels compostos detectats en el riu Llobregat, com són, l'atenolol, el propranolol, el sotalol, la furosemida, el diltiazem, la carbamazepina i el seu metabòlit epòxid o els tres angiotensinògens identificats, corroborant per tant perfils similars en ambdues zones pròximes (Gros i cols., 2012).

En relació a les diferents etapes del tractament, la pre-cloració realitzada com a etapa inicial ha permès posar de manifest els diferents comportaments de les famílies en estudi. En general s'ha observat que els tractaments de cloració són especialment efectius per a les substàncies que contenen amines primàries o secundàries en l'estructura (Article Científic V), com per exemple els derivats amfetamínicos, substàncies depressores com la morfina i la codeïna, metabòlits com la paraxantina, norcocaïna, norbenzoilecgonina, cocaetilè, norcodeïna, normorfina, derivats del THC o fàrmacs com l'oxazepam, el tamoxifè o alguns β -bloquejants (Article Científic VII), entre d'altres. La presència de substituents oxigenats no desactivats o anells aromàtics amb grups donadors d'electrons facilita la reacció d'oxidació amb clor, com és el cas per exemple, de les hormones que en general s'eliminen en aquest tractament. Tot i així, a la literatura es pot trobar algun treball que indica la presència d'etinilestradiol (0.2-2.1 ng/L) (Loos i cols., 2007) o de l'estriol (11.6 ng/L) en aigües finals clorades (Kuster i cols., 2008). La dificultat de l'anàlisi dels estrògens podria explicar aquestes diferències.

Per algunes substàncies tot i que són d'esperar elevades reactivitats en el tractament de cloració, s'obtenen eliminacions poc eficients en condicions reals. Per exemple, per a l'MDMA cabrien esperar eliminacions similars a les dels seus homòlegs amfetamínicos, donada la presència d'una amina secundària en la seva estructura. Ara bé, els resultats obtinguts en aquesta tesi indiquen que tan sols

s'aconsegueixen eliminacions al voltant del 20% durant la primera etapa de cloració (pre-oxidació) i que l'eliminació completa només s'assoleix en la darrera etapa de post-cloració. De fet, alguns autors han descrit eliminacions incompletes per d'altres ATSS, durant el procés de cloració, per exemple Rodayan i cols. (Rodayan i cols., 2015) observen la presència de MDA (a concentracions properes al LOQ) en aigües finals clorades. Aquests autors no han estudiat el comportament de l'MDMA ja que aquest compost no es troba en les aigües d'entrada analitzades. El comportament de l'MDMA en tractaments de cloració en altres tipus de matrius, com aigües residuals, ha demostrat que la cloració és poc eficient (Bijlsma i cols., 2014), la qual cosa suggereix un comportament diferenciat d'aquesta substància respecte la resta d'ATSS. Una possible explicació a aquest comportament podria estar relacionada amb la cinètica de la reacció, ja que una segona cloració al final del tractament permet aconseguir l'eliminació completa d'aquesta espècie. Aquest fet indica que molt probablement els temps de contacte o les concentracions de clor emprades en la fase preliminar del procés resulten insuficients per eliminar les concentracions d'entrada d'aquesta substància.

Per a la norbenzoïlecgonina s'observa també una eliminació poc eficient (article V, apartat 4.1.1.) en l'etapa de cloració (al voltant del 15%), a pesar de la presència d'una amina secundària reactiva. De fet, les eliminacions obtingudes per a aquest compost resulten similars a les de la cocaïna (13%) i benzoïlecgonina (9%), espècies amb amines terciàries poc reactives. Atès que estructuralment resulta difícil justificar un comportament diferenciat al de, per exemple, la norcocaïna, compost que s'elimina completament en aquest tractament, una possible explicació seria la formació de norbenzoïlecgonina com a subproducte de desinfecció a partir de la resta de compostos de la família dels cocaínics, que podria compensar la degradació (equilibri entre degradació i nova formació del compost (Figura 4.5).

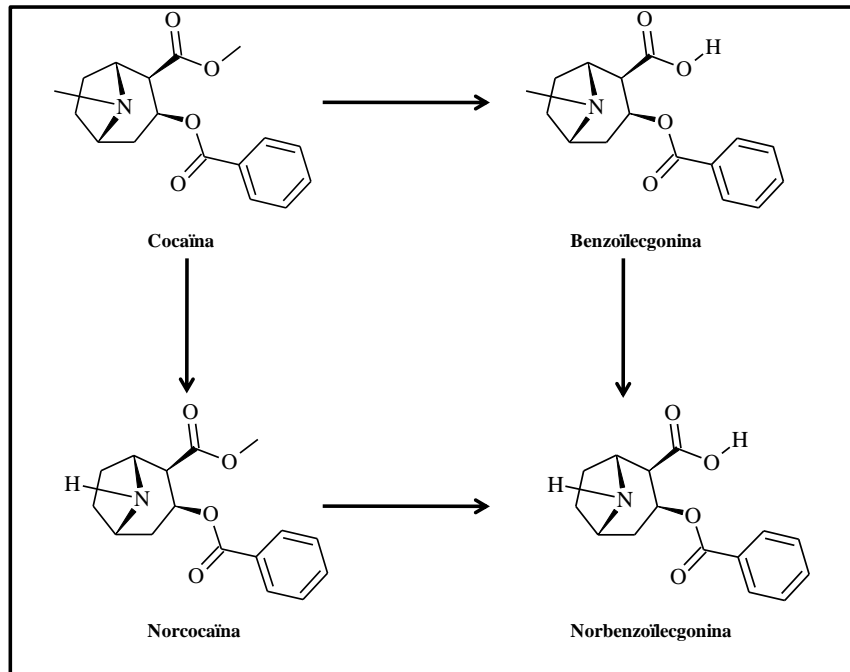


Figura 4.5. Esquema de la hidròlisis de la cocaïna durant el tractament de cloració segons (Gonzalez-Mariño i cols., 2012b).

La formació de subproductes durant la cloració ha estat demostrada a escala de laboratori per González-Mariño i cols. en un estudi sobre la cloració de la cocaïna (Gonzalez-Mariño i cols., 2012b). En aquest estudi els autors suggereixen que com a conseqüència de la degradació de la benzoilecgonina i la norcocaina, té lloc la formació de norbenzoilecgonina si els temps de contacte són prou elevats.

Entre els compostos estudiats en aquesta tesi que presenten eliminacions poc eficients en el tractament amb clor cal citar dos fàrmacs β -bloquejants, l'atenolol i el sotalol i dos de psiquiàtrics, la carbamazepina i el seu metabòlit, la carbamazepina epòxid (Article VIII, apartat 4.4.2.). En general els β -bloquejants presenten una elevada reactivitat davant la cloració. Tot i així, tant l'atenolol, amb una amida aromàtica com el sotalol amb una amina secundària presenten eliminacions insuficients en els dos tractaments de cloració emprats, comportament que està d'acord amb algunes dades de la literatura (Ternes i cols., 2002). La carbamazepina i el seu metabòlit, tot i que contenen amines primàries disponibles, tampoc reaccionen amb el clor. En aquest cas pot ser degut al pH ja que s'ha descrit que a un pH elevat les eliminacions obtingudes són baixes. (McDowell i cols., 2005, Westerhoff i cols., 2005).

Pel que fa referència al tractament d'ozonització, els diferents treballs inclosos en aquest capítol el descriuen extensament i n'avaluen l'eficiència per tal d'eliminar els compostos en estudi. En general, aquest tractament resulta especialment eficaç per a compostos que contenen grups amino, anilines alifàtiques, fenols, fenolats i anells aromàtics substituïts amb grups alcòxid i anells aromàtics policíclics. D'acord amb aquesta capacitat, en aquesta tesi s'han obtingut bones eliminacions per a compostos no controlats, com la cafeïna o la carbamazepina (Article IV, apartat 3.2.2.). Per contra, tant la nicotina com la cotinina, tot i contenir amines terciàries, en principi reactives, han presentat baixes eliminacions (5% i 16% respectivament) en el tractament amb ozó. Aquests resultats han estat confirmats en múltiples estudis, per exemple en un treball recent realitzat en una ETAP dels Estats Units (Padhye i cols., 2014), s'ha comprovat que el tractament amb ozó és eficient per a la cafeïna (74%), mentre que per la cotinina les eliminacions són tan sols del 25%. La baixa reactivitat de la nicotina i la cotinina pot explicar-se per la desactivació produïda pel grup piridina en tots dos casos.

Entre els exemples de baixa reactivitat amb ozó cal esmentar l'MDMA, que tot i disposar d'un grup amino terciari reactiu i un anell aromàtic activat, presenta un percentatge d'eliminació de tan sols el 28%, i els compostos de la família dels cocaïnics, cocaïna, benzoïlecgonina i norbenzoïlecgonina, els quals, tot i tenir anells aromàtics, no presenten bones eliminacions en aquest tractament (24%, 43% i 20% respectivament). En un treball recent on s'estudia el procés d'ozonització d'algunes drogues d'abús en aigües residuals (Rodayan i cols., 2014), tant la cocaïna com la benzoïlecgonina han presentat eliminacions pobres, del 30% i 4% respectivament, valors de l'ordre dels obtinguts en els treballs inclosos en aquesta memòria, especialment pel cas de la cocaïna (24%). Aquesta baixa reactivitat pot estar relacionada amb la presència de grups amb parells d'electrons que poden produir una disminució de la reactivitat del grup amino davant l'ozó per apantallament (Figura 4.6.).

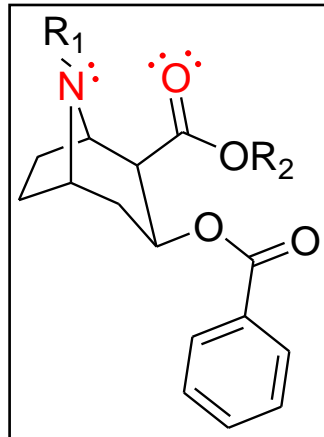


Figura 4.6. Efecte d'apantallament sobre el grup reactiu a l'ozó pels compostos de la família dels cocaínics.

D'altra banda, en aquest mateix estudi, Rodayan i cols. descriuen percentatges d'eliminació del 50% per l'MDMA a concentracions d'ozó de 0.30 mg/L i temps de contacte de 30 minuts. Aquests resultats suggereixen que les baixes eliminacions obtingudes en aquesta memòria (Articles Científics IV i V) per l'MDMA (28%) poden estar relacionades amb les condicions reals a la planta en estudi en la que tot i emprar concentracions d'ozó elevades (5 mg/L) els temps de contacte, de 12-15 minuts, poden resultar insuficients per assolir una bona eliminació de l'MDMA.

Si bé per a les drogues d'abús el tractament amb ozó no resulta del tot eficient, per als fàrmacs s'obtenen bones eliminacions per a molts dels compostos estudiats, especialment per als β -bloquejants (atenolol, 80%; acebutolol, 74%, betaxolol, >99%), angiotensinògens (losartan, >99%, valsartan, 76%), warfarin (>99%), clordiazepòxid (>99%), clorpromazina (>99%) i la carbamazepina (>99%), compost especialment recalcitrant en els tractaments que no empen ozonització o tècniques avançades de potabilització. Aquests resultats coincideixen amb d'altres publicats a la literatura (resumits a (Hubner i cols., 2015)). Per exemple, l'elevada velocitat de la reacció de l'olefina amb l'ozó per a la carbamazepina (McDowell i cols., 2005) així com les dels β -bloquejants a través dels grups amino (Tay i cols., 2011, Tay i cols., 2015) poden explicar les elevades eliminacions, entre el 70 i el 99% d'aquests compostos.

La filtració amb carbó activat granular (GAC) proporciona molt bons percentatges d'eliminació per a la majoria de les drogues d'abús que sobreviuen a la cloració i ozonització, especialment per als cocaïnics que són els més persistents. Per als fàrmacs aquesta etapa resulta proporcionalment menys eficaç encara que permet l'eliminació completa de tres compostos (acebutolol, diazepam i diltiazem). Per compostos com l'atenolol o el sotalol en aquesta tesi s'han obtingut eliminacions insuficients (56-77%), en línia amb els resultats publicats per altres autors (Delgado i cols., 2012), probablement degut a l'efecte de la presència de grups funcionals ionitzables com per exemple en l'atenolol, compost que està protonat a pH 7. Per a les drogues d'abús s'obtenen percentatges d'eliminació superiors al 70% per a la benzoïlecgonina i la norbenzoïlecgonina, mentre que la cocaïna és eliminada completament durant aquest tractament. L'eficiència de la filtració per GAC en el cas de la cocaïna resulta cabdal. De fet, en els treballs en els que s'estudien instal·lacions de potabilització que no inclouen aquest tractament, ni d'altres d'avançats, la cocaïna és capaç de sobreviure i trobar-se en les aigües finals tractades. Per exemple, Rodayan i cols. la detecten en una ETAP que utilitza un tractament simple basat únicament en cloració, el qual que és incapaç d'eliminar la cocaïna (Rodayan i cols., 2015) i altres autors han posat de manifest la presència de cocaïna en mostres puntuals d'aigua potable de països amb tractaments de potabilització que no inclouen la filtració per carbó actiu (Boleda i cols., 2011a).

En resum, el tractament de potabilització aplicat en aquesta tesi, permet l'eliminació de la major part dels compostos, encara que alguns sobreviuen. Entre ells hi ha cinc fàrmacs (atenolol, sotalol, hidroclorotiazida, carbamazepina epòxid i fenitoïna) que es troben a concentracions de 1.5-91 ng/L en les aigües tractades, dues drogues d'abús legals, la cafeïna (30-160 ng/L) i la cotinina (150-320 ng/L) i, pel que fa a les drogues il·lícites dos metabòlits de la cocaïna benzoïlecgonina (3-130 ng/L) i norbenzoïlecgonina (1-3.3 ng/L) i dues substàncies depressores, metadona (2.1-3.0 ng/L) i EDDP (1.5-2.4 ng/L).

Pel que fa referència als fàrmacs identificats en les aigües finals tractades, cal indicar que diferents treballs recopilatoris publicats en els darrers anys posen de manifest la presència habitual d'aquests fàrmacs en aigües tractades (Delgado i cols., 2012, Rivera-Utrilla i cols., 2013, Uslu i cols., 2013, Padhye i cols., 2014). En relació a les drogues d'abús, d'altres estudis realitzats a Espanya, (Valcarcel i cols., 2012, Mendoza i cols., 2014b), també han posat de manifest la presència d'algunes d'elles en aigües tractades.

Així, Valcárcel i cols. han detectat benzoïlecgonina (2.47 ng/L) juntament amb d'altres substàncies com l'MDMA (1.51 ng/L), l'efedrina (0.90 ng/L) i la cocaïna (2.11 ng/L) compost també detectat per Mendoza i cols. (1.61 ng/L) (Mendoza i cols., 2014b). Aquests compostos, també han estat detectats en aigües finals tractades del Canadà en un estudi recent (Rodayan i cols., 2015). Tot i així, cal tenir en compte que la majoria d'ETAPs estudiades en aquests treballs empen tractaments més senzills que l'utilitzat en aquesta tesi que no inclouen per exemple la filtració amb carbó actiu ni l'ozonització.

En general, tots els treballs publicats fins avui referents a la presència de drogues d'abús en aigües potables coincideixen en indicar que la benzoïlecgonina és un compost recalcitrant. Pel que fa a la resta de substàncies, els tractaments de potabilització convencionals són incapços d'eliminar-les completament, ja sigui per la seva baixa reactivitat o per les successives transformacions que pateixen, que poden conduir a la formació d'altres substàncies de la mateixa família. En aquests casos, l'ús de tècniques avançades pot constituir una bona alternativa. Per exemple, en un estudi realitzat en aigües tractades holandeses (Van der Aa i cols., 2013) en el que s'utilitzen tractaments avançats d'oxidació per UV/H₂O₂ i s'avalua l'eliminació de diverses drogues d'abús, s'ha detectat tan sols la benzoïlecgonina en una de les mostres finals i a baixes concentracions (1 ng/L), encara que cal esmentar que les concentracions inicials en les aigües de captació eren força baixes. L'ús de tècniques avançades, per tant, sembla tenir un efecte important en l'eliminació de les substàncies recalcitrants. Tot i que en aquesta tesi s'ha utilitzat el tractament de la línia principal (Figura 4.4.), a l'article V (apartat 4.1.1.) es va realitzar una primera avaluació de l'efecte de la utilització de tractaments d'ultrafiltració i osmosi inversa (UF/RO) en l'eliminació d'alguns dels compostos més recalcitrants al tractament. Els resultats posen de manifest que la major part dels compostos que sobreviuen el tractament de pre-cloració i filtració/coagulació s'eliminen completament. En concret, la cocaïna, benzoïlecgonina, EDDP, metadona, codeïna i norcodeïna no es troben presents en les aigües tractades en aquestes condicions. Aquest resultat han estat avaluats més extensament en treballs publicats posteriorment (Boleda i cols., 2011b, Van der Aa i cols., 2013) i permeten concloure que l'ús de tècniques avançades de potabilització presenten dos avantatges fonamentals, en primer lloc una eliminació més eficient dels compostos recalcitrants que sobreviuen als tractaments convencionals i, per altra part, una menor formació de subproductes de desinfecció, gracies a la reducció o eliminació dels tractaments que en generen, com per exemple l'ozonització.

4.3.2. Subproductes de desinfecció

Un aspecte d'interès abordat en aquesta tesi és l'estudi de la formació, caracterització i identificació a escala real d'alguns subproductes de desinfecció clorats generats en els processos de potabilització. En concret s'ha estudiat el comportament de les amfetamines i s'han identificat alguns dels DBPs generats en aigües finals tractades (Article Científic VII, apartat 4.2.1).

En els anteriors estudis realitzats (apartat 3.2.2. i 4.1.1.1.) ja s'ha demostrat que els compostos de tipus amfetamínic presenten elevades reactivitats davant l'oxidació amb clor. Aquest comportament explica que totes les ATSs siguin eliminades per cloració. Excepte l'MDMA que s'elimina durant la post-cloració tota la resta de compostos d'aquesta família s'eliminen completament durant l'etapa de pre-cloració. Ara bé, les estructures químiques d'aquestes substàncies, especialment reactives degut a la presència d'una amina les fan susceptibles de generar subproductes de cloració i per aquest motiu, es van escollir per dur a terme aquest estudi.

La primera fase de l'estudi que ha consistit en realitzar una sèrie d'experiments de cloració a escala laboratori simulant les condicions reals a planta (relació substrat/oxidant i temps) tot i que les concentracions d'ATSs emprades han estat superiors ($\times 100$) a les detectades en condicions reals (0.2-190 ng/L) per tal de facilitar els estudis de degradació d'aquestes substàncies i la identificació de noves espècies, ha permès avaluar la reactivitat dels diferents compostos estudiats (amfetamina, metamfetamina, MDA, MDEA i MDMA) i identificar alguns dels subproductes generats.

En concret l'amfetamina i la metamfetamina presenten elevades reactivitats, comportament que és coherent amb les estructures poc impedides i la presència d'amines primàries i secundàries molt disponibles, i uns temps mitjans de vida de menys d'un minut per a ambdues. Per als altres compostos (MDA i MDEA, MDMA), els temps de reacció augmenten considerablement (Taula 4.3) i arriben a ser de 6 hores per a l'MDMA. Aquests temps de contacte més elevats i unes constants cinètiques de cloració molt menors resulten coherents amb el comportament observat especialment per a la MDMA en el tractament de pre-cloració, descrit en l'apartat anterior, i al fet que tant sols durant la post-cloració s'obtinguin eliminacions eficients probablement degut als majors temps de contacte emprats.

Taula 4.3. Constants cinètiques de cloració de les ATSS estudiades.

	t_r (min)	$t_{1/2}$ (min)	K'_{app} ($M^{-1}s^{-1}$)
Amfetamina	< 15	0.72	2.1×10^1
Metamfetamina	< 15	0.85	1.5×10^1
MDA	60	22	1.07×10^{-3}
MDEA	90	34	1.3×10^{-3}
MDMA	360	71	3.45×10^{-4}

t_r : temps de reacció; $t_{1/2}$ temps de vida mig; k'_{app} és la constant aparent de reacció.

Els subproductes de les ATSS s'han identificat analitzant les alíquotes recollides a un temps determinats durant el procés de cloració, mitjançant cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses amb ionització en mode positiu i negatiu en una font d'electrosprai. Per obtenir la informació necessària per a la identificació s'han realitzat dos experiments en mode *Information Dependent Acquisition* (IDA), mode que permet combinar dues adquisicions diferents per a aquells ions que compleixen un criteri prèviament establert. El primer experiment en mode IDA ha consistit en l'obtenció de l'espectre *full scan* emprant el mode *Enhanced Mass Spectra* (EMS) per als compostos que presenten un interval de masses definit (m/z : 60-500). Els ions $[M+H]^+$ o $[M-H]^-$ amb una intensitat de senyal superior a 1000 cps s'han utilitzat com a precursors en l'adquisició en mode *Enhanced Product Ion* (EPI) emprant tres energies de col·lisió (30 ± 20 eV). Aquest experiment, es va dissenyar amb l'objectiu d'identificar espècies oxidades de les ATSS, però els resultats obtinguts però no van permetre identificar cap subproducte. El segon experiment en mode IDA plantejat que consisteix en una adquisició en mode EMS seguida d'un escombratge en mode EPI, però tan sols per aquells compostos que presenten el clúster isotòpic de clor va permetre detectar la presència de dues espècies clorades obtingudes a partir de tres ATSS.

En primer lloc en els experiments de cloració del MDA i MDEA i després de 30 minuts de l'inici es va detectar l'aparició d'un compost amb d'un ió característic $[M+H]^+$ de $m/z:157$ que compleix el criteri de clúster isotòpic. Els estudis de fragmentació duts a terme emprant diferents ions del clúster isotòpic i experiments MS/MS^2 a diferents energies de col·lisió (Figura 2a, article científic 4.2.2.) van permetre proposar en una primera aproximació l'àcid 3-clorbenzoic i/o el seu isòmer constitucional el 4-clorobenzoic i el 4-cloro-1,3-benzodioxol juntament amb el seu isòmer el 5-cloro-1,3-benzodioxol com a possibles subproductes. L'anàlisi per LC-MS/MS dels patrons comercials d'aquests quatre compostos va permetre identificar el 4-cloro-1,3-benzodioxol a partir del temps de retenció i l'espectre obtingut.

La utilització del mateix protocol va permetre detectar (Fig. 4.8) per al MDMA un compost amb un ió molecular $[M-H]^-$ de $m/z:143$, cinc hores després d'iniciar-se la cloració i amb un espectre característic d'un compost que conté un àtom de clor (Figura 2b, article científic 4.2.2.). Els espectres de MS/MS i MS/MS^2 van permetre establir temptativament dues possibles estructures la del 3-clorocatecol i la del seu isòmer el 4-clorocatecol. La confirmació definitiva es va realitzar comparant els temps de retenció del compost identificat amb els d'un patró comercial de 4-clorocatecol i el d'un patró de 3-clorocatecol sintetitzat al laboratori. Els temps de retenció obtinguts van permetre determinar que el compost generat durant la cloració del MDMA és el 3-clorocatecol.

La cinètica de formació d'aquests nous DBPs (el 4-cloro-1,3-benzodioxol i el 3-clorocatecol) (Figura 4.7.) suggereix que ambdós poden estar presents en el procés de potabilització, ja que els seus temps de generació són inferiors a les 15 hores que dura el tractament total i a més són estables durant aquest temps.

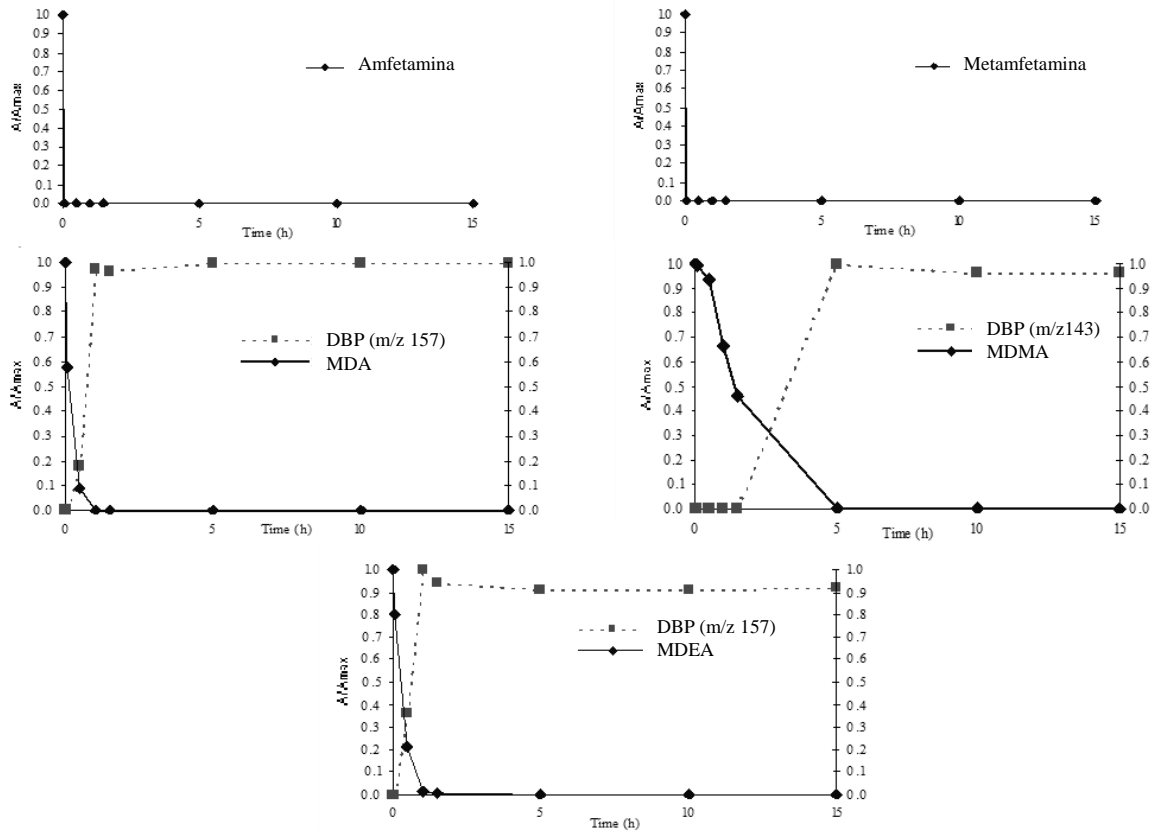


Figura 4.7. Cinètica de cloració de l'amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA i MDEA i formació del 4-cloro-1,3-benzodioxol (m/z: 157) i 3-clorocatecol (m/z: 143). A_i/A_{max} representa la relació entre l'àrea de pic i la màxima mesurada per adquisició en mode SRM (dades Taula 4.3, apartat 4.2.1).

Cal remarcar que aquests dos potencials DBPs han estat identificats durant el tractament a la planta potabilitzadora d'aigües de captació que contenen tant el MDMA i com el MDA. L'aparició del 4-cloro-1,3-benzodioxol compost provinent de l'MDA té lloc després de la primera cloració i desapareix durant el tractament, la no presència d'aquest compost en l'última etapa de post-cloració suggereix que a més de l'eliminació del precursor també s'elimina completament el subproducte o bé sofreix una ulterior transformació donant lloc a una altra espècie que no ha estat identificada. Pel que fa al DBP de l'MDMA l'aparició del 3-clorocatecol, tan sols s'observa en l'etapa de post-cloració, comportament explicable per la menor velocitat de reacció del precursor, i comporta per tant, que aquest compost es trobi present en les aigües finals tractades a concentracions entre 0.5-5.8 ng/L. Tot i tractar-se d'un compost amb una estructura relativament senzilla susceptible de provenir d'altres compostos, cal indicar que les mostres que no contenen MDMA a l'entrada de planta no mostren l'aparició d'aquest compost en les aigües finals tractades.

En els estudis duts a terme en aquesta tesi no s'han detectat DBPs generats ni per l'amfetamina ni per a la metamfetamina, probablement degut als elevats temps de reacció (Taula 4.3.). Tot i així, ateses les seves característiques no es pot descartar la formació d'altres DBPs no identificats en aquest estudi. Fins avui no s'ha publicat cap treball que faci referència a la formació de DBPs d'aquests compostos, tot i així, si es tenen en compte les estructures específiques d'aquestes substàncies i les condicions reals de potabilització, podrien existir alguns possibles DBPs. En concret, estudis de cloració realitzats amb compostos antropogènics (fonamentalment fàrmacs) amb substituents amino evidencien la formació d'altres DBPs provinents d'una oxidació més extensiva. Per exemple, en un estudi de Le Roux i cols, s'observa la formació de DBPs nitrogenats com la nitrosodimetilamina (NDMA), així com haloacetats i halocetones generats a partir de la reacció entre fàrmacs i pesticides d'estructures específiques i la dimetilamina (Le Roux i cols., 2011). L'NDMA, és un dels DBPs més àmpliament estudiats donades les seves propietats carcinogèniques així com les de molts dels seus derivats (NDEA, NMEA, NDPA, entre d'altres) (California Department of Public Health, 2002, Mitch i cols., 2003, USEPA, 2007), i la seva presència en aigües de beguda ha estat avaluada per diversos autors (Mitch i cols., 2003, Krasner i cols., 2006, Health Canada., 2010, European Chemicals Agency, 2010, Krasner i cols., 2013) estudis que segueixen ampliant-se en els darrers anys (McCurry i cols., 2015, Yang i cols., 2015, Richardson i Postigo, 2015). De fet, l'NDMA es forma habitualment durant els tractaments de desinfecció de compostos amb amines secundàries i cloramina, tot i que el tractament amb clor lliure en presència d'amoni (Mirvish, 1995) així com l'ozonització també poden donar lloc a la formació d'aquestes espècies (Andrzejewski i cols., 2008). Per tant, i ateses les característiques estructurals de múltiples drogues d'abús i especialment de les ATSS, l'NDMA i d'altres derivats d'aquesta espècie, podrien ser DBPs addicionals generats durant els tractaments de potabilització d'aquestes substàncies.

4.3.3. Rellevància toxicològica de la presència de drogues i DBPs en aigües de beguda

Tal i com s'ha comentat a la introducció d'aquesta memòria, la presència de substàncies d'origen antropogènic, especialment bioactives en el medi pot tenir efectes desconeguts sobre l'ecosistema. Aquest efectes es poden magnificar en les cas de les aigües de beguda, que contenen aquestes substàncies, en ser ingerides directament pels éssers humans i els animals. Pel que fa referència als fàrmacs, existeixen diversos estudis que n'avaluen els possibles riscos associats a la seva presència en aigües de beguda. La major part d'aquests estudis conclouen que els riscos greus a curt termini per a la salut humana són molt baixos, a causa precisament de les baixes concentracions a les que es troben a les aigües potables (Adler i cols., 2003, Uslu i cols., 2013). De fet, en algun d'aquests estudis s'avalua la càrrega de fàrmacs ingerida a través de l'aigua de beguda i s'arriba a la conclusió que bevent durant tota la vida dos litres d'aigua, amb presència de fàrmacs a les concentracions reals mesurades, no s'arribaria a consumir una única dosi de qualsevol d'aquestes substàncies (World Health Organization, 2011). A l'article científic IV (apartat, 3.2.2) s'ha realitzat una estimació similar per a la benzoilecgonina i tenint en compte les concentracions mesurades en les aigües tractades i bevent 2 L d'aigua diàriament durant 70 anys tant sols es consumiria una quantitat 20 vegades inferior a la d'una dosi estàndard de cocaïna. Tot i així, els efectes a llarg termini o els de sensibilització, com per exemple les resistències a patògens per la presència d'antibiòtics en aigües, no poden ser predits i en molts casos poden passar desapercibuts (Ngwenya i cols., 2013, Rizzo i cols., 2013).

En el cas de les drogues d'abús, aquesta desconexença és encara major, atès que l'estudi d'aquestes substàncies en el medi ambient és relativament recent i encara no existeixen suficients treballs que permetin extreure conclusions definitives en relació als efectes de toxicitat i ecotoxicitat. El cas de les aigües de beguda encara és més complicat, donats els pocs treballs que es troben a la literatura. Tot i així, existeixen diferents eines d'aproximació que permeten calcular teòricament la possible toxicitat associada a les concentracions mesurades a escala real, com per exemple, el *Hazard Quotient* (HQ) emprat per Mendoza i cols. per avaluar el nivell de toxicitat de les concentracions de drogues d'abús mesurades en aigües (Mendoza i cols., 2014b). Aquest índex s'ha definit

per la *Environmental Protection Agency* (EPA) (US EPA, 1998) com la relació entre l'exposició potencial a una substància determinada (MEC) i el nivell per al qual no s'estimen efectes adversos (PNEC).

Així, a partir de les concentracions mesurades en les aigües de beguda, obtingudes en aquesta tesi (articles IV, apartat 3.2.2 i V, apartat 4.1.1.1) es pot estimar el risc ambiental associat a les concentracions mesurades (HQ) (Taula 4.4.)

Taula 4.4. Quocients de Risc (HQ) de les concentracions mesurades a l'entrada i la sortida de l'ETAP per a les drogues d'abús estudiades.

	*PNEC	Superficial-Captació		Sortida-Tractada	
		C (ng/L)	HQ	C (ng/L)	HQ
Amfetamina	2.2	50	0.023		
METH	2.3	2	0.001		
MDA	2.2	20	0.009		
MDMA	2.7	40	0.015		
Cocaïna	2.28	60	0.026		
Benzoïlecgona	6.81	150	0.022	45	0.007
Norcocaïna	4.9	0.6	0.000		
Cocaetilè	2.05	0.2	0.000		
Norbenzoïlecgona	4.9	13	0.003	2	0.000
Metadona	0.172	37	0.215	2.6	0.015
EDDP	0.04	63	1.575	1.9	0.048
THC-OH	0.029	8	0.276		
THC-COOH	0.029	5	0.172		
Cafeïna	87	2600	0.030	125	0.001
Paraxantina	87	2800	0.032		
Nicotina	0.0024	900	375.000		
Cotinina	0.589	1900	3.226	320	0.543

*PNECs:BE o norBE (Van der Aa i cols., 2013); Cafeïna, nicotina, paraxantina i cotinina (Valcarcel i cols., 2011); resta de compostos (Mendoza i cols., 2014b).

Tal i com es pot comprovar, els quocients de risc avaluats es troben majoritàriament per sota del 0.1, valor que indica que no s'espera cap efecte advers, excepte per la cotinina, amb un HQ entre 0.1-10, valor que representa un risc baix encara que convé realitzar un seguiment. Aquests coeficients de risc concorden amb

els obtinguts per altres autors. Per exemple, van der Aa i cols. obtenen valors de HQ inferiors a 0.1 per a totes les drogues d'abús identificades en aigües superficials, excepte per a la codeïna (0.38 (Van der Aa i cols., 2013) i Mendoza i cols. també obtenen resultats similars. En aquest últim cas, tan sols 3 dels 19 compostos mesurats en l'estudi (morfina, EDDP i THC-COOH) presenten valors de toxicitat entre 1 i 10, que indiquen riscos associats moderats (Mendoza i cols., 2014b).

En resum, l'avaluació de la toxicitat associada als compostos identificats, tant en aigües de captació com en aigües de beguda, es troben en general, en els estudis publicats fins avui, per sota dels índex de toxicitat establerts. Tot i així, cal tenir en compte que la majoria de valors PNECs estan extrapolats del model ECOSAR, que presenta una elevada incertesa associada. A més, per a les substàncies psicoactives, aquestes incerteses poden ser superiors i la relació entre efectes severes/crònics poden diferir molt del de les substàncies tradicionals. Donada l'activitat d'aquestes substàncies, els efectes a nivell psicoactiu i les possibilitats que els riscos associats esdevinguin crònics, els resultats obtinguts a partir d'aquestes aproximacions han de ser considerats com valors orientatius mentre no es disposi de resultats reals d'ecotoxicitat i toxicitat per a aquestes substàncies (Parolini i Binelli, 2013, Pedriali i cols., 2013, Parolini i cols., 2013b).

4.4. CONCLUSIONS

El treball experimental inclòs en el Capítol 4 de la memòria, dedicat a l'estudi del comportament de drogues d'abús i de fàrmacs en el tractament dut a terme a l'ETAP de Sant Joan Despí, a la presència de drogues d'abús en aigües potables així com a la formació de subproductes de cloració, ha permès establir les següents conclusions:

- Les drogues d'abús estimuladores i els seus metabòlits (cocaïna, benzoilecgonina, norcocaïna, norbenzoilecgonina, cocaetilè, amfetamina, metamfetamina, MDA i MDMA) es troben a concentracions entre 0.1-350 ng/L en les aigües del riu Llobregat en el punt de captació de l'aigua utilitzada per a la producció d'aigua potable a l'ETAP. També s'ha detectat la presència de nicotina i cafeïna a concentracions de l'ordre dels µg/L i de metadona EDDP, morfina, normorfina, codeïna, norcodeïna i dels metabòlits del THC, hidroxil i carboxil, entre 0.1-75 ng/L.
- S'ha detectat la presència de trenta-cinc fàrmacs dels cinquanta-cinc estudiats a les aigües d'entrada a l'ETAP. Els fàrmacs detectats pertanyen als següents grups terapèutics: psiquiàtrics, cardíacs, angiotensinogens, antihistamínics i hormones i s'han trobat en aquest punt de captació de l'aigua concentracions entre 0.15 ng/L i 1900 ng/L.
- El tractament amb clor ha demostrat ser efectiu per a l'eliminació de la major part dels compostos amb grups reactius a l'oxidació amb clor, com les amines primàries i secundàries i els grups hidroxil. Ja en l'etapa de pre-cloració s'eliminen els compostos amfetamínics, cannabinoides, la majoria d'opiacis i alguns fàrmacs com oxazepam, sertralina, labetalol, amlodipina, furosemida, estrona, estriol i etinil estradiol. Per a l'MDMA, la normorfina i la nicotina es requereixen temps de contacte superiors i per tant, l'eliminació completa no s'obté fins a l'etapa de post-cloració al final del tractament.
- L'ozonització es necessària per a l'eliminació completa de la morfina i dels fàrmacs losartan, bisoprolol, betaxolol, salbutamol, carbamazepina, clorpromazina, clordiazepoxid i warfarin. La utilització de filtres de carbó actiu

permet assolir la completa eliminació de la cocaïna i mostra una important eficiència en l'eliminació de la benzoilecgonina (72-76%), norbenzoilecgonina (75%), MDMA (85-88%) i tres fàrmacs, acebutolol, diltiazem i diazepam.

- El tractament dut a terme a l'ETAP (pretractament, ozonització i filtre de carbó) és eficaç per eliminar la major part de les drogues d'abús atès que a les aigües finals tractades tan sols romanen dues drogues d'abús no controlades, cafeïna (125 ng/L) i cotinina (175 ng/L), i quatre drogues d'abús controlades o metabòlits (benzoilecgonina, norbenzoilecgonina, metadona i EDDP) a baixes concentracions mitjanes (1.9-45 ng/L) que són eliminades completament emprant tècniques avançades d'ultrafiltració i osmosi inversa.
- El tractament aplicat a l'ETAP permet l'eliminació de la major part dels trenta-cinc fàrmacs detectats a l'aigua de captació. A l'aigua de sortida tan sols s'han detectat l'atenolol, el sotalol, l'hydroclorotiazida, la fenitoïna, i l'epòxid de la carbamazepina a unes concentracions màximes d'entre els 2 i els 23 ng/L.
- S'ha demostrat que les amfetamines són capaces de generar subproductes de desinfecció. A partir de l'MDMA, MDA i MDEA s'han obtingut dos nous compostos clorats el 4-cloro-1,3-benzodioxol i el 3-clorocatecol. Aquests compostos han estat identificats en el tractament de potabilització a l'ETAP de Sant Joan Despí i un d'ells el 3-clorocatecol, ha estat detectat també en les aigües finals tractades (0.5-5.8 ng/L), la qual cosa posa de manifest que per a aquestes substàncies, les eliminacions observades condueixen en part, a la formació de nous compostos clorats.
- L'avaluació de la toxicitat de les espècies identificades tant a l'entrada a planta com en les aigües tractades realitzada a partir de models teòrics QSAR mostra que les baixes concentracions de drogues d'abús identificades comporten en general, per a la major part d'elles, baixos índexs de risc associats. Ara bé, es tracta de dades provisional atès que actualment no es disposa de valors de toxicitat experimentals establerts per determinar la toxicitat d'aquestes espècies, especialment a nivell crònic.

CONCLUSIONS GENERALS

CONCLUSIONS GENERALS

Aquesta tesi representa una contribució destacable a l'estudi de la presència de drogues d'abús en el medi aquàtic. Els estudis realitzats tant en aigües residuals com superficials i potables van permetre establir per primera vegada a Espanya, una visió general sobre la presència i permanència d'aquests compostos. Els resultats obtinguts han permès a més, contribuir a obrir camí en l'estudi de la relació entre la contaminació del medi aquàtic i els hàbits de consum de les drogues d'abús per part de la població.

Les principals conclusions generals obtingudes es resumeixen a continuació:

- La combinació de la SPE, la cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia i l'espectrometria de masses en tàndem (UHPLC-MS/MS) ha permès disposar d'un mètode sensible, amb LOQs entre 0.1-9.0 ng/L i bones recuperacions tant en aigües residuals com superficials, entre el 69 i el 103%, per a la determinació simultània de drogues tant estimuladores com depressores. Els mètodes cromatogràfics optimitzats són ràpids (de 5 a 9 minuts), selectius ja que utilitzen espectrometria de masses en tàndem i fiables, en emprar dos ions producte un de quantificació i un de confirmació.
- S'ha identificat per primera vegada a Espanya, la presència de drogues d'abús estimuladores en aigües residuals a concentracions relativament elevades (des dels 209 µg/L per la cafeïna als 4700 ng/L de la cocaïna o els 7500 ng/L del seu metabòlit, benzoilecgonina. S'ha demostrat que les eliminacions mitjanes obtingudes en la majoria de les estacions depuradores d'aigües residuals, tot i ser en general elevades (75-95%), són insuficients per eliminar completament la majoria de les drogues estudiades, fet que comporta que aquestes es trobin presents en els efluent a concentracions a nivells de ng/L per a les drogues il·lícites i del µg/L per a la nicotina i cafeïna.

- L'estudi de les aigües superficials ha permès detectar per primera vegada la presència de drogues d'abús, majoritàriament cocaïna, benzoilecgonina i èxtasi (MDMA), entre 1.5 i 350 ng/L, al llarg del riu Llobregat i en la zona de captació per a la producció d'aigua potable. L'estudi de l'evolució d'aquestes substàncies al llarg d'una conca amb diferents pressions ambientals, com poden ser descàrregues d'EDARs, zones densament poblades o confluències d'efluents altament contaminats, mostra un augment sostingut de totes les substàncies d'estudi al llarg de riu fins arribar a la desembocadura, posant de manifest així un efecte acumulatiu de tots aquests factors.
- Es proposa emprar les dades de concentracions de cocaïna i èxtasi (MDMA) en les aigües residuals per calcular, en una primera aproximació, el nivell de consum d'aquestes drogues. Els resultats obtinguts, tot i ser dels primers duts a terme aplicant aquest procediment, i que cal prendre mesures per minimitzar les d'incerteses associades a la determinació, concorden amb els resultats publicats en informes elaborats a partir de dades estadístiques i enquestes poblacionals realitzats a nivell nacional i internacional.
- Per primera vegada s'ha posat de manifest que la presència de les drogues d'abús en les aigües varia en funció del dia de la setmana, de l'estació de l'any i de períodes concrets com poden ser les vacances d'estiu o les festes de Nadal. Mentre que el consum de substàncies lícites no presenta importants variacions durant la setmana, la concentració de substàncies il·lícites, especialment ATSS, augmenta considerablement durant el cap de setmana, tant en aigües residuals com superficials, demostrant que el seu consum és principalment recreatiu. Pel que fa a la cocaïna i el seu metabòlit, en les aigües residuals no s'observen unes diferències tan destacables com per les ATSS probablement degut a un ús més sostingut d'aquesta substància. Pel que fa als estudis estacionals, s'observa un increment notable de les concentracions de les substàncies analitzades durant les vacances d'estiu, i d'hivern al voltant dels dies de Nadal i Reis.

- S'ha demostrat que el tractament d'aigües potables dut a terme a l'ETAP de Sant Joan Despí (amb cloració, ozonització i filtre de carbó) és eficient per a eliminar la major part de les substàncies detectades a l'entrada de la instal·lació, trenta-cinc fàrmacs, nicotina, cafeïna i els seus metabòlits i drogues il·lícites, amfetamina, metamfetamina, MDA, MDMA, cocaïna i benzoïlecgonina. Tan sols cinc fàrmacs, atenolol, sotalol, hidroclorotiazida, fenitoïna, i l'epòxid de la carbamazepina, la cafeïna, la cotinina i quatre drogues d'abús, benzoïlecgonina, norbenzoïlecgonina, metadona i EDDP han estat identificats, a baixes concentracions, a l'aigua final tractada.
- El estudis de cloració realitzats al laboratori han permès demostrar la formació de dos subproductes clorats dels compostos amfetamínics, el 4-cloro-1,3-benzodioxol i el 3-clorocatecol. Aquests compostos han estat identificats a l'ETAP durant les etapes de pre-cloració (4-cloro-1,3-benzodioxol) i post-cloració (3-clorocatecol). Aquests últim, el 3-clorocatecol, ha estat detectat en les aigües finals tractades (0.5-5.8 ng/L).
- Els resultats obtinguts sobre la presencia de noves espècies generades a partir de les drogues d'abús durant el procés de potabilització, posen de manifest la necessitat d'ampliar els estudis en aquest camp per tal d'avaluar els potencials problemes que poden presentar, a nivell de toxicitat, aquests nous i altres possibles subproductes de desinfecció.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

Adler,M., Langer,M., Witthom,J.E., Eck,J., Blohm,D., and Niemeyer,C.M. (2003) Detection of Viscumin in plasma samples by immuno-PCR. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 300 757-763.

Aguilar,J.A.P., Andreu,V., Vázquez,P., and Picó,Y. (2014) Presence and spatial distribution of emerging contaminants (dárugs of abuse) in protected agroecological systems (L'Albufera de Valencia Coastal Wetland, Spain). *Environmental earth sciences* 71 (1), 31-37.

Akhtar,J., Amin,N.A.S., and Shahzad,K. (2015) A review on removal of pharmaceuticals from water by adsorption. *Desalination and Water Treatment* (ahead-of-print), 1-19.

Albaiges,J. (2015) Pharmaceutical accumulation in the environment: prevention, control, health effects, and economic impact. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 95 (1), 92.

Alexander,J.T., Hai,F.I., and Al-aboud,T.M. (2012) Chemical coagulation-based processes for trace organic contaminant removal: Current state and future potential. *Journal of environmental management* 111 195-207.

Alvarez,D.A., Cranor,W.L., Perkins,S.D., Clark,R.C., and Smith,S.B. (2008) Chemical and toxicologic assessment of organic contaminants in surface water using passive samplers. *Journal of Environmental Quality* 37 (3), 1024-1033.

Anderson,G.M., Braun,G., Braun,U., Nichols,D.E., and Shulgin,A.T. (1978) Absolute configuration and psychotomimetic activity. *NIDA Res Monogr* 22 8-15.

Andrzejewski,P., Kasprzyk-Hordern,B., and Nawrocki,J. (2008) N-nitrosodimethylamine (NDMA) formation during ozonation of dimethylamine-containing waters. *Water Research* 42 863-870.

Baccar,R., Sarra,M., Bouzid,J., Feki,M., and Blanquez,P. (2012) Removal of pharmaceutical compounds by activated carbon prepared from agricultural by-product. *R.Chem.Eng.* 211 310-317.

Bagnall,J.P., Evans,S.E., Wort,M.T., Lubben,A.T., and Kasprzyk-Hordern,B. (2012) Using chiral liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface and wastewater at the enantiomeric level. *Journal of Chromatography A* 1249 115-129.

Bagnati,R. and Davoli,E. (2011) Analytical methods for the detection of illicit drugs in wastewaters and surface waters. *Illicit Drugs in the Environment* 55.

Baker,D.R. and Kasprzyk-Hordern,B. (2011a) Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218 (44), 8036-8059.

Baker,D.R. and Kasprzyk-Hordern,B. (2011b) Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1218 (12), 1620-1631.

Baker,D.R. and Kasprzyk-Hordern,B. (2013) Spatial and temporal occurrence of pharmaceuticals and illicit drugs in the aqueous environment and during wastewater treatment: new developments. *Sci.Total Environ.* 442-456.

Balducci,C., Nervegna,G., and Cecinato,A. (2009) Evaluation of principal cannabinoids in airborne particulates. *Analytica Chimica Acta* 641 (1), 89-94.

Banta-Green,C.J., Field,J.A., Chiaia,A.C., Sudakin,D.L., Power,L., and De Montigny,L. (2009) The spatial epidemiology of cocaine, methamphetamine and 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) use: a demonstration using a population measure of community drug load derived from municipal wastewater. *Addiction* 104 (11), 1874-1880.

Barcelo,D. (2012) *Emerging organic contaminants and human health.*, Springer.

Barreiro,J.C., Vanzolini,K.L., Madureira,T.V., Tiritan,M.E., and Cass,Q.B. (2010) A column-switching method for quantification of the enantiomers of omeprazole in native matrices of waste and estuarine water samples. *Talanta* 82 (1), 384-391.

Bartelt-Hunt,S.L., Snow,D.D., Damon,T., Shockley,J., and Hoagland,K. (2009) The occurrence of illicit and therapeutic pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters in Nebraska. *Environmental Pollution* 157 (3), 786-791.

Baselt,R.C. (2004) *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man.*, Biomedical Publications, California, USA.

Berset,J.D., Brenneisen,R., and Mathieu,C. (2010a) Analysis of llicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). *Chemosphere* 81 (7), 859-866.

Berset,J.D., Brenneisen,R., and Mathieu,C. (2010b) Analysis of llicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (HPLCGÇMS/MS). *Chemosphere* 81 (7), 859-866.

Bijlsma,L., Sancho,J.V., Pitarch,E., Ibañez,M., and Hernandez,F. (2009) Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater. *J.Chromatogr.A.* 1216 3078.

Bijlsma,L., Emke,E., Hernandez,F., and De Voogt,P. (2012) Investigation of drugs of abuse and relevant metabolites in Dutch sewage water by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *Chemosphere* 89 1399-1406.

- Bijlsma,L., Boix,C., Niessen,W.M., Ibañez,M., Sancho,J.V., and Hernández,F. (2013a) Investigation of degradation products of cocaine and benzoylecgonine in the aquatic environment. *Science of the Total Environment* 443 200-208.
- Bijlsma,L., Emke,E., Hernández,F., and De Voogt,P. (2013b) Performance of the linear ion trap Orbitrap mass analyzer for qualitative and quantitative analysis of drugs of abuse and relevant metabolites in sewage water. *Analytica Chimica Acta* 768 102-110.
- Bijlsma,L., Serrano,R., Ferrer,C., Tormos,I., and Hernández,F. (2014) Occurrence and behavior of illicit drugs and metabolites in sewage water from the Spanish Mediterranean coast (Valencia region). *Science of the Total Environment* 487 703-709.
- Biradar,S.B., Kallaganad,G.S., Rangappa,M., Kashinakunti,S.V., and Retnakaran,R. (2011) Correlation of spot urine protein-creatinine ratio with 24-hour urinary protein in type 2 diabetes mellitus patients: a cross sectional study. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences* 16 (5), 634.
- Bisceglia,K.J., Roberts,A.L., Schantz,M.M., and Lippa,K.A. (2010) Quantification of drugs of abuse in municipal wastewater via SPE and direct injection liquid chromatography mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398 (6), 2701-2712.
- Bogusz,M.J. (2008) Handbook of Analytical Separation in: *Forensic Science.*, vol 6. Elsevier.
- Boix,C., Ibañez,M., Bijlsma,L., Sancho,J.V., and Hernández,F. (2014) Investigation of cannabis biomarkers and transformation products in waters by liquid chromatography coupled to time of flight and triple quadrupole mass spectrometry. *Chemosphere* 99 64-71.
- Boix,C., Ibañez,M., Sancho,J.V., Rambla,J., Aranda,J.L., Ballester,S., and Hernández,F. (2015) Fast determination of 40 drugs in water using large volume direct injection liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 131 719-727.
- Boleda,M.R., Galceran,M.T., and Ventura,F. (2007) Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J.Chromatogr.A* 1175 (1), 38-48.
- Boleda,M.R., Galceran,M.T., and Ventura,F. (2009) Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Research* 43 (4), 1126-1136.
- Boleda,M.R., Huerta-Fontela,M., Ventura,F., and Galceran,M.T. (2011a) Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters. *Chemosphere* 84 (11), 1601-1607.
- Boleda,M.R., Galceran,M.T., and Ventura,F. (2011b) Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. *Environmental Pollution* 159 (6), 1584-1591.

Boleda,M.R., Alechaga,E., Galceran,M.T., and Ventura,F. (2014) Survey of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish finished drinking waters. *Environ.Sci.Pollut.Res.* 21 10917-10939.

Boles,T.H. and Wells,M.J. (2014) Pilot survey of methamphetamine in sewers using a Polar Organic Chemical Integrative Sampler. *Science of the Total Environment* 472 9-12.

Bones,J., Thomas,K.V., and Brett,P. (2007a) Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J.Environ.Monitor.* 9 701-707.

Bones,J., Macka,M., and Paull,B. (2007b) Evaluation of monolithic and sub 2 -um particle packed columns for the rapid screening for illicit drugs: application to the determination of drug contamination on Irish euro banknotes. *Analyst* 132 (3), 208-217.

Borova,V.L., Maragou,N.C., Gago-Ferrero,P., Pistos,C., and Thomaidis,N.S. (2014) Highly sensitive determination of 68 psychoactive pharmaceuticals, illicit drugs, and related human metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 406 (17), 4273-4285.

Boxall,A., Monteiro,S.C., Fussell,R., Williams,R.J., Bruemer,J., Greenwood,R., and Bersuder,P. (2012) Targeted monitoring for human pharmaceuticals in vulnerable source and final waters.

Brausch,J.M., Connors,K.A., Brooks,B.W., and Rand,G.M. (2012) Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review of recent toxicological studies and considerations for toxicity testing. In: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 218*. 1-99, Springer.

Brimblecombe,R.W. and Pinder,R.M. (1975) *Hallucinogenic agents.*, Wright-Scientehnica Bristol.

Broadbear,J.H., Winger,G., and Woods,J.H. (2004) Self-administration of fentanyl, cocaine and ketamine: effects on the pituitary-adrenal axis in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* 176 (3-4), 398-406.

Bu,Q., Wang,B., Huang,J., Deng,S., and Yu,G. (2013) Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: a review. *Journal of hazardous materials* 262 189-211.

Bueno,M.M., Uclés,S., Hernando,M.D., Dávoli,E., and Fernandez-Alba,A.R. (2011) Evaluation of selected ubiquitous contaminants in the aquatic environment and their transformation products. A pilot study of their removal from a sewage treatment plant. *Water Research* 45 (6), 2331-2341.

Buerge,I.J., Poiger,T., Muller,M.D., and Buser,H.D. (2003) Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. *Environ.Sci.Technol.* 37 691-700.

Buerge,I.J., Kahle,M., Buser,H.R., Muller,M.D., and Poiger,T. (2008) Nicotine derivatives in wastewater and surface waters: application as chemical markers for domestic wastewater. *Environmental science & technology* 42 (17), 6354-6360.

- Bulloch,D.N., Lavado,R., Forsgren,K.L., Beni,S., Schlenk,D., and Larive,C.K. (2012) Analytical and biological characterization of halogenated gemfibrozil produced through chlorination of wastewater. *Environ.Sci.Technol.* (46), 5583-5589.
- Butler,D. and Guilbault,G.G. (2004) Analytical techniques for ecstasy. *Analytical letters* 37 (10), 2003-2030.
- California Department of Public Health. Studies on the Occurrence ofNDMA in Drinking Water. 2002.
- Campos,D., Noratto,G., Chirinos,R., Arbizu,C., Roca,W., and Cisneros-Zevallos,L. (2006) Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), Oca (*Oxalispulchra* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *J.Sci.Food Agr.* 86 1481-1488.
- Carmona,E., Andreu,V., and Picó,Y. (2014) Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. *Science of the Total Environment* 484 53-63.
- Carson,R. (1962) *Silent spring.*, Houghton Mifflin Harcourt.
- Castiglioni,S., Zuccato,E., Crisci,E., Chiabrando,C., Fanelli,R., and Bagnati,R. (2006) Identification and measurement of illicit drugs and their metabolites in urban wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 78 8421-8429.
- Castiglioni,S., Zuccato,E., and Fanelli,R. (2011) *Illicit drugs in the environment: occurrence, analysis, and fate using mass spectrometry.*, John Wiley & Sons.
- Castiglioni,S., Bijlsma,L., Covaci,A., Emke,E., Hernández,F., Reid,M., Ort,C., Thomas,K.V., van Nuijs,A.L., and De Voogt,P. (2013) Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Environmental science & technology* 47 (3), 1452-1460.
- Castiglioni,S., Thomas,K.V., Kasprzyk-Hordern,B., Vandam,L., and Griffiths,P. (2014) Testing wastewater to detect illicit drugs: State of the art, potential and research needs. *Sci.Total Environ.* 487 613-620.
- Cecinato,A., Balducci,C., Budetta,V., and Pasini,A. (2010) Illicit psychotropic substance contents in the air of Italy. *Atmospheric Environment* 44 (19), 2358-2363.
- Chang,E.E., Liu,T.Y., Huang,C.P., Liang,C.H., and Chiang,P.C. (2012) Degradation of mefenamic acid from aqueous solutions by the ozonation and O₃/UV processes. *Separation and Purification Technology* 98 123-129.
- Chen,C., Kostakis,C., Gerber,J.P., Tschärke,B.J., Irvine,R.J., and White,J.M. (2014) Towards finding a population biomarker for wastewater epidemiology studies. *Science of the Total Environment* 487 621-628.
- Chen,X., Richard,J., Liu,Y., Dopp,E., Tuerke,J., and Bester,K. (2012) Ozonation products of triclosan in advanced wastewater treatment. *Water Research* 46 2247-2246.

Chiaia,A.C., Banta-Green,C., and Fink,G. (2008) Eliminating Solid Phase Extraction with Large-Volume Injection LC/MS/MS: Analysis of Illicit and Legal Drugs and Human Urine Indicators in US Wastewaters. *Environ.Sci.Technol.* 42 (23), 8841-8848.

Cincinelli,A., Martellini,T., Coppini,E., Fibbi,D., and Katsoyiannis,A. (2015) Nanotechnologies for Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products from Water and Wastewater. A Review. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 15 (5), 3333-3347.

Damien,D.A., Thomas,N., Hélène,P., Sara,K., and Yves,L. (2014) First evaluation of illicit and licit drug consumption based on wastewater analysis in Fort de France urban area (Martinique, Caribbean), a transit area for drug smuggling. *Science of the Total Environment* 490 970-978.

Darland,T.D.J.E. (2001) Behavioral screening for cocaine sensitivity in mutagenizedzebrafish. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.* 98 (20), 11691-11696.

Daughton,C.G. (2001) Illicit drugs in municipal sewage: Proposed new non-intrusive tool to heighten public awareness of societal use of illicit/abused drugs and their potential for ecological consequences. In: Daughton,C.G. and Jones-Lepp,T. (eds), *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment. Scientific and Regulatory Issues.* 348-364, American Chemical Society, Washington.

Daughton,C.G. (2011) Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. In: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 210.* 59-110, Springer.

Daughton,C.G. (2012) Real-time estimation of small-area populations with human biomarkers in sewage. *Science of the Total Environment* 414 6-21.

de Jesus Gaffney,V., Almeida,C.M., Rodrigues,A., Ferreira,E., Benoliel,M.J., and Cardoso,V.V. (2015) Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Research* 72 199-208.

De Voogt,P., Emke,E., Helmus,R., Panteliadis,P., and van Leerdam,J.A. (2011) Determination of illicit drugs in the water cycle by LC-Orbitrap MS. *Illicit Drugs in the Environment: Occurrence, Analysis, and Fate Using Mass Spectrometry.* John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA 87-114.

Delgado, L. F., Charles, P., Glucina, K., and Morlay, C. The removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceutically activated compounds and cyanobacterial toxins during drinking water preparation using activated carbon—A review. *Sci.Total Environ.* 435-436, 509-525. 2012.

Diaz,R., Ibañez,M., Sancho,J.V., and Hernández,F. (2012) Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. *Analytical Methods* 4 (1), 196-209.

Diaz-Cruz,M.S., Garcia-Galan,M.J., Guerra,P., Jelic,A., Postigo,C., Eljarrat,E., Farré,M., Lopez de Alda,M.J., Petrovic,M., and Barcelo,D. (2009) Analysis of selected emerging contaminants in sewage sludge. *Trends in Analytical Chemistry* 28 1263-1275.

- Djozan,D., Farajzadeh,M.A., Sorouraddin,S.M., and Baheri,T. (2011) Synthesis and application of high selective monolithic fibers based on molecularly imprinted polymer for SPME of trace methamphetamine. *Chromatographia* 73 (9-10), 975-983.
- Domingo,G., Schirmer,K., Bracale,M., and Pomati,F. (2011) Illicit drugs in the environment: Implications for ecotoxicology. In: *Illicit drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate using Mass Spectrometry*. 253-274, Wiley, Milan, Italy.
- Dore,M.H. (2015) Drinking Water in Germany: A Case Study of High Quality Drinking Water. In: *Global Drinking Water Management and Conservation*. 259-290, Springer.
- Dotson,J.W., Ackerman,D.L., and West,L.J. (1995) Ketamine abuse. *Journal of Drug Issues* 25 751-758.
- Edge,A.M., Shillingford,S., Smith,C., Payne,R., and Wilson,I.D. (2006) Temperature as a variable in liquid chromatography: Development and application of a model for the separation of model drugs using water as the eluent. *Journal of Chromatography A* 1132 (1), 206-210.
- EMCDDA. 2012 Annual report on the state of the drugs problem in Europe. Luxembourg, Publications Office of the European Union. 2012.
- Emke,E., Evans,S., Kasprzyk-Hordern,B., and De Voogt,P. (2014) Enantiomer profiling of high loads of amphetamine and MDMA in communal sewage: a Dutch perspective. *Sci.Total Environ.* 487 666-672.
- Esteban,S., Valcárcel,Y., Catalí,M., and Castromil,M.G. (2012) Psychoactive pharmaceutical residues in the watersheds of Galicia (Spain). *Gaceta Sanitaria* 26 (5), 457-459.
- European Chemicals Agency. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. ECHA-2010-G-19-EN. 2010.
- European Commission. Council Directive 96/23/EC. 1996.
- European Commission. Council Directive 2002/657/EC. 2002a.
- European Commission. Council Directive 2009/90/EC. 2009.
- European Commission. Council Directive 2013/39/EC. 2013.
- European Commission Decision (2002) 2002/657/EC.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2014) *European Drug Report 2014: Trends and Developments*.
- Evans,S.E. and Kasprzyk-Hordern,B. (2014) Applications of chiral chromatography coupled with mass spectrometry in the analysis of chiral pharmaceuticals in the environment. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 1 34-51.
- Fedorova,G., Randak,T., Lindberg,R.H., and Grabic,R. (2013) Comparison of the quantitative performance of a Q-Exactive high-resolution mass spectrometer with that of

a triple quadrupole tandem mass spectrometer for the analysis of illicit drugs in wastewater. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 27 (15), 1751-1762.

Fedorova,G., Randak,T., Golovko,O., Kodes,V., Grabicova,K., and Grabic,R. (2014) A passive sampling method for detecting analgesics, psycholeptics, antidepressants and illicit drugs in aquatic environments in the Czech Republic. *Science of the Total Environment* 487 681-687.

Feitosa,R.S., Sodre,F.F., and Maldaner,A.O. (2013) Drogas de abuso em águas naturais e residuárias urbanas: ocorrência, determinação e aplicações forenses. *Quim Nova* 36 (2), 291-305.

Ferrari,A., Coccia,C.P., Bertolini,A., and Sternieri,E. (2004) Methadone-metabolism, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacological Research* 50 551-559.

Ferris,R.M. and Tang,F.L. (1979) Comparison of the effects of the isomers of amphetamine, methylphenidate and deoxypradol on the uptake of 1-[3H] norepinephrine and [3H] dopamine by synaptic vesicles from rat whole brain, striatum and hypothalamus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 210 (3), 422-428.

Finnegan,D. (2003) The health effects of stimulant drinks. *Nutrition Bulletin* 28 (2), 147-155.

Fontanals,N., Marcé,R.M., and Borrull,F. (2011) On-line solid-phase extraction coupled to hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry for the determination of polar drugs. *Journal of Chromatography A* 1218 (35), 5975-5980.

Fontanals,N., Borrull,F., and Marcé,R.M. (2013) On-line weak cationic mixed-mode solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry to determine illicit drugs at low concentration levels from environmental waters. *Journal of Chromatography A* 1286 16-21.

Gago-Ferrero,P., Borova,V., Dasenaki,M.E., and Thomaidis,N.S. (2015) Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407 (15), 4287-4297.

Generalitat de Catalunya-Institut d'Estadística de Catalunya (2006) Banc d'estadístiques de municipis i comarques. *Xifres de Catalunya*.

Gerrity,D., Trenholm,R.A., and Snyder,S.A. (2011) Temporal variability of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and the effects of a major sporting event. *Water Research* 45 (17), 5399-5411.

Gheorghe,A., van Nuijs,A., Pecceu,B., Bervoets,L., Jorens,P.G., Blust,R., Neels,H., and Covaci,A. (2008) Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 391 (4), 1309-1319.

Gibson,G.G. and Skett,P. (2001) *Introduction to Drug Metabolism 3rd Ed.*, Nelson Thornes.

Gilart,N., Cormack,P.A.G., Marce,R.M., Fontanals,N., and Borrull,F. (2014) Selective determination of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewaters using a novel strong cation-exchange solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1325 137-146.

Giri,R.R., Ozaki,H., Takanami,R., and Taniguchi,S. (2010) Degradation of common pharmaceuticals and personal care products in mixed solutions by advanced oxidation techniques. *International Journal of Environmental Science* 7 251-260.

Goldstein,R.A., DesLauries,C., and Burda,A.M. (2009) Cocaine: history, social implications, and toxicity-a review. *Disease Month* 55 6-38.

Gomez,M.J., Gomez-Ramos,M.M., Malato,O., Mezcua,M., and Fernandez-Alba,A.R. (2010) Rapid automated screening, identification and quantification of organic micro-contaminants and their main transformation products in wastewater and river waters using liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry with an accurate-mass database. *Journal of Chromatography A* 1217 (45), 7038-7054.

Gonzalez-Mariño,I., Quintana,J.B., Rodriguez,I., Rodil,R., Gonzalez-Peñas,J., and Cela,R. (2009) Comparison of molecularly imprinted, mixed-mode and hydrophilic balance sorbents performance in the solid-phase extraction of amphetamine drugs from wastewater samples for liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination. *J.Chromatogr.A* 1216 (48), 8435-8441.

Gonzalez-Mariño,I., Quintana,J.B., Rodriguez,I., and Cela,R. (2010) Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction, derivatisation and gas chromatography ion trap-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217 (11), 1748-1760.

Gonzalez-Mariño,I., Quintana,J.B., Rodriguez,I., Gonzalez-Diez,M., and Cela,R. (2012a) Screening and selective quantification of illicit drugs in wastewater by mixed-mode solid-phase extraction and quadrupole-time-of-flight liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 84 (3), 1708-1717.

Gonzalez-Mariño,I., Quintana,J.B., Rodriguez,I., Sanchez-Méndez,N., and Cela,R. (2012b) Transformation of cocaine during water chlorination. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (10), 3135-3144.

Gonzalez-Mariño,I., Rodriguez,I., Quintana,J.B., and Cela,R. (2013) Investigation of the transformation of 11-nor-9-carboxy-9-tetrahydrocannabinol during water chlorination by liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of hazardous materials* 261 628-636.

Gonzalez-Mariño, Iria, Rodríguez, Isaac, Quintana, Jose Benito, and Cela, Rafael. (2015) Transformation of methadone and its main human metabolite, 2-ethylidene-1, 5-dimethyl-3, 3-diphenylpyrrolidine (EDDP), during water chlorination. *Water Research* 68, 759-770.

Gros,M., Rodriguez-Mozaz,S., and Barcelo,D. (2012) Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid

chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1248 104-121.

Hannigan,M.P., Cass,G.R., Penman,B.W., Crespi,C.L., Lafleur,A.L., Busby,W.F., Thilly,W.G., and Simoneit,B.R.T. (1998) Bioassay-directed chemical analysis of Los Angeles airborne particulate matter using a human cell mutagenicity assay. *Environ.Sci.Technol.* 32 3502-3514.

Hapeshi,E., Gros,M., Lopez-Serna,R., Boleda,M., Ventura,F., Petrovic,M., Barcelo,D., and Fatta-Kassinos,D. (2015) Licit and Illicit Drugs in Urban Wastewater in Cyprus. *CLEAN:Soil, Air, Water* 43 (9), 1272-1278.

Harman,C., Reid,M., and Thomas,K.V. (2011) In situ calibration of a passive sampling device for selected illicit drugs and their metabolites in wastewater, and subsequent year-long assessment of community drug usage. *Environmental science & technology* 45 (13), 5676-5682.

Health Canada. N-Nitrosodimethylamine (NDMA in Drinking Water. Document for Public Comment. 2010.

Heberer,Th., Schmidt-Bäumler,K., and Stan,H.J. (1998) Occurrence and Distribution of Organic Contaminants in the Aquatic System in Berlin.Part II: Substituted Phenols in Berlin Surface Water. *Acta Hydrochem.Hydrobiol.* 26 272.

Hernandez,F., Ibañez,M., Bijlsma,L., and Sancho,J.V. (2014) Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry* 63 140-157.

Heuett,N.V., Ramirez,C.E., Fernandez,A., and Gardinali,P.R. (2015) Analysis of drugs of abuse by online SPE-LC high resolution mass spectrometry: Communal assessment of consumption. *Science of the Total Environment* 511 319-330.

Hogenbooma,A.C., van Leerdama,J.A., and de Voogta,P. (2008) Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *J.Chrom.A* 16 510-519

Hrudey,S.E. (2009) Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me. *Water Research* 43 (8), 2057-2092.

Huang,Q., Zhang,K., Wang,Z., Wang,C., and Peng,X. (2012) Enantiomeric determination of azole antifungals in wastewater and sludge by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403 (6), 1751-1760.

Hubner,U., von Günten,U., and Jekel,M. (2015) Evaluation of the persistence of transformation products from ozonation of trace organic compounds-A review. *Water Research* 68 150-170.

Hughes,S.R., Kay,P., and Brown,L.E. (2012) Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. *Environmental science & technology* 47 (2), 661-677.

- Hummel,D., Löffler,D., Fink,G., and Ternes,T.A. (2006) Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ.Sci.Technol.* 40 7321-7328.
- Irvine,R.J., Kostakis,C., Felgate,P.D., Jaehne,E.J., Chen,C., and White,J.M. (2011) Population drug use in Australia: a wastewater analysis. *Forensic Science International* 210 (1), 69-73.
- Jaber,M., Jones,S., Giros,B., and Caron,M.G. (1997) The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission. *Movement Disorders* 12 (5), 629-633.
- Jelic,A., Petrovic,M., and Barcelo,D. (2012) Pharmaceuticals in drinking water. In: *Emerging organic contaminants and human health.* 47-70, Springer.
- Jezkova,B. and Slavickova,K. (2015) Pharmaceuticals in the environment. *Journal of Biological Pharmaceutical And Chemical Research* 2 (1), 13-20.
- Johansen,S.S. and Jensen,J.L. (2005) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of LSD, ISO-LSD and the main metabolite 2-oxo-3-hydroxy-LSD in forensic samples and application in a forensic case. *J.Chromatogr., B* 825 21-28.
- Johnston,L.D., Malley,P.M., Bachman,J.G., and Schulenberg,J.E. (2012) Monitoring the future: National results on adolescent drug use: 2012. University of Michigan, Institute for Social Research, 2013
- Jones-Lepp,T.L., Alvarez,D.A., Petty,J.D., and Huckins,J.N. (2004) Polar Organic Chemical Integrative Sampling and Liquid Chromatography Electrospray/Ion-Trap Mass Spectrometry for Assessing Selected Prescription and Illicit Drugs in Treated Sewage Effluents. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47 427-439.
- Jones-Lepp,T.L. and Stevens,R. (2007) Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/sewage sludge: the interface between analytical chemistry and regulation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387 (4), 1173-1183.
- Jones-Lepp,T.L., Sanchez,C., Alvarez,D.A., Wilson,D.C., and Taniguchi-Fu,R.L. (2012) Point sources of emerging contaminants along the Colorado River Basin: source water for the arid Southwestern United States. *Science of the Total Environment* 430 237-245.
- Jung,C., Son,A., Her,N., Zoh,K.D., Cho,J., and Yoon,Y. (2015) Removal of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in water using carbon nanotubes: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.*
- Kaletka,A., Ferdig,M., and Buchberger,W. (2006) Semiquantitative determination of residues of amphetamine in sewage sludge samples. *Journal of Separation Science* 29 (11), 1662-1666.
- Kaplan,S. (2013) Review: pharmacological pollution in water. *Critical reviews in environmental science and technology* 43 (10), 1074-1116.
- Karolak,S., Nefau,T., Bailly,E., Solgadi,A., and Levi,Y. (2010) Estimation of illicit drugs consumption by wastewater analysis in Paris area (France). *Forensic Science International* 200 (1), 153-160.

Kasprzyk-Hordern,B., Dinsdale,R.M., and Guwy,A.J. (2007) Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J.Chromatogr.A* 1161 (1-2), 132-145.

Kasprzyk-Hordern,B., Dinsdale,R.M., and Guwy,A.J. (2008) The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research* 42 3498-3518.

Kasprzyk-Hordern,B., Dinsdale,R.M., and Guwy,A.J. (2009) The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research* 43 363-380.

Kasprzyk-Hordern,B., Kondakal,V.V., and Baker,D.R. (2010) Enantiomeric analysis of drugs of abuse in wastewater by chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217 (27), 4575-4586.

Kasprzyk-Hordern,B. and Baker,D.R. (2012) Estimation of community-wide drugs use via stereoselective profiling of sewage. *Science of the Total Environment* 423 142-150.

Khan,U. and Nicell,J.A. (2011) Refined sewer epidemiology mass balances and their application to heroin, cocaine and ecstasy. *Environment International* 37 (7), 1236-1252.

Khan,U. and Nicell,J.A. (2012) Sewer epidemiology mass balances for assessing the illicit use of methamphetamine, amphetamine and tetrahydrocannabinol. *Science of the Total Environment* 421 144-162.

Kleywegt,S., Pileggi,V., Yang,P., Hao,C., Zhao,X., Rocks,C., Thach,S., Cheung,P., and Whitehead,B. (2011) Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada: occurrence and treatment efficiency. *Science of the Total Environment* 409 (8), 1481-1488.

Kolpin,D.W., Furlong,E.T., Meyer,M.T., Thurman,E.M., Zaugg,S.D., Barber,L.B., and Buxton,H.T. (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance survey. *Environ.Sci.Technol.* 36 1202-1211.

Kramer,J.F. and Cameron,D.C. (1975) *A manual on drug dependence.*, WHO.

Krasner,S.W., Weinberg,H.S., Richardson,S.D., Pastor,S.J., Chinn,R., Scilimenti,M.J., Onstad,G.D., and Thruston,A.D. (2006) Occurrence of a new generation of disinfection byproducts. *Environmental science & technology* 40 (23), 7175-7185.

Krasner,S.W., Mitch,W.A., McCurry,D.L., Hanigan,D., and Westerhoff,P. (2013) Formation, precursors, control, and occurrence of nitrosamines in drinking water: A review. *Water Research* 47 (13), 4433-4450.

Kuster,M., de Alda,M.L., Hernando,M.D., Petrovic,M., Martin-Alonso,J., and Barcelo,D. (2008) Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *Journal of Hydrology* 358 (1), 112-123.

- Lai,F.Y., Ort,C., Gartner,C., Carter,S., Prichard,J., Kirkbride,P., Bruno,R., Hall,W., Eaglesham,G., and Mueller,J.F. (2011) Refining the estimation of illicit drug consumptions from wastewater analysis: co-analysis of prescription pharmaceuticals and uncertainty assessment. *Water Research* 45 (15), 4437-4448.
- Lai,F.Y., Bruno,R., Hall,W., Gartner,C., Ort,C., Kirkbride,P., Prichard,J., Thai,P.K., Carter,S., and Mueller,J.F. (2013) Profiles of illicit drug use during annual key holiday and control periods in Australia: wastewater analysis in an urban, a semiGÇÉrural and a vacation area. *Addiction* 108 (3), 556-565.
- Le Roux,J., Gallard,H., and Croué,J.P. (2011) Chloramination of nitrogenous contaminants (pharmaceuticals and pesticides): NDMA and halogenated DPBs formation. *Water Research* 45 (10), 3164-3174.
- Levin,E.D., Bencan,Z., and Cerutti,D.T. (2007) Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. *Physiol.Behav.* 90 54-58.
- Li,S.H., Chiang,N., Tai,B., Marschke,C.K., and Hawks,R.L. (1995) Is Quantitative Urinalysis More Sensitive? *Psychopharmacol.Bull.* 31 671-679.
- Liechti,M.E. and Vollenweider,F.X. (2001) Which neuroreceptors mediate the subjective effects of MDMA in humans? A summary of mechanistic studies. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental* 16 (8), 589-598.
- Liu,Q., Zhang,J., Bao,N., eng,C., Re, L., and Zhang,C. (2012) Textural properties and surface chemistry of lotus stalk-derived activated carbons prepared using different phosphorus oxyacids: adsorption of trimethoprim. *J.Hazard.Mater.* 235 367-375.
- Lizasoain,I., Moro,M.A., and Lorenzo,P. (2002) *Adicciones* 14 57-65.
- Loganathan,B., Phillips,M., Mowery,H., and Jones-Lepp,T.L. (2009) Contamination profiles and mass loadings of macrolide antibiotics and illicit drugs from a small urban wastewater treatment plant. *Chemosphere* 75 (1), 70-77.
- Loos,R., Wollgast,J., Huber,T., and Hanke,G. (2007) Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal.Bioanal.Chem.* 387 1469-1478.
- Lopes,A., Silva,N., Bronze,M.R., Ferreira,J., and Morais,J. (2014) Analysis of cocaine and nicotine metabolites in wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Cross abuse index patterns on a major community. *Science of the Total Environment* 487 673-680.
- Mari,F., Politi,L., Biggeri,A., Accetta,G., Trignano,C., Di Padua,M., and Bertol,E. (2009) Cocaine and heroin in waste water plants: a 1-year study in the city of Florence, Italy. *Forensic Science International* 189 (1), 88-92.
- Martinez Bueno,M.J., Uclés,S., Hernando,M.D., and Fernández-Alba,A.R. (2011) Development of a solvent-free method for the simultaneous identification/quantification of drugs of abuse and their metabolites in environmental water by LC-MS/MS. *Talanta* 85 (1), 157-166.

Martinez-Bueno,M., Ulaszewska,M.M., Gomez,M.J., Hernando,M.D., and Fernández-Alba,A.R. (2012) Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water. *Journal of Chromatography A* 1256 80-88.

Masia,A., Ibañez,M., Blasco,C., Sancho,J.V., Picó,Y., and Hernández,F. (2013) Combined use of liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry and liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry in systematic screening of pesticides and other contaminants in water samples. *Analytica Chimica Acta* 761 117-127.

Maurer,H.H. (2005) Multi-analyte procedures for screening for and quantification of drugs in blood, plasma, or serum by liquid chromatography-single stage or tandem mass spectrometry (LC-MS or LC-MS/MS) relevant to clinical and forensic toxicology. *Clin.Biochem.* 38 310-318.

McCalley,D.V. (2003) Rationalization of retention and overloading behavior of basic compounds in reversed-phase HPLC using low ionic strength buffers suitable for mass spectrometric detection. *Analytical Chemistry* 75 (14), 3404-3410.

McCalley,D.V. (2011) Some practical comparisons of the efficiency and overloading behaviour of sub-2µm porous and sub-3µm shell particles in reversed-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1218 (20), 2887-2897.

McCurry,D.L., Krasner,S.W., von Gunten,U., and Mitch,W.A. (2015) Determinants of disinfectant pretreatment efficacy for nitrosamine control in chloraminated drinking water. *Water Research* 84 161-170.

McDowell,D.C., Huber,M.M., Wagner,M., von Gunten,U., and Ternes,T.A. (2005) Ozonation of carbamazepine in drinking water : Identification and kinetic study of major oxidation products. *Environ.Sci.Technol.* 39 (20), 8014-8022.

Melis,M., Castiglioni,S., and Zuccato,E. (2011) Metabolism and excretion of illicit drugs in humans. In: Castiglioni,S., Zuccato,E., and Fanelli,R. (eds), *Illicit Drugs in the environment. Occurrence, analysis and Fate Using Mass Spectrometry.* 31-52, Wiley, Milan, Italy.

Mendoza,A., de Alda,M.L., González-Alonso,S., Mastroianni,N., Barceló,D., and Valcárcel,Y. (2014a) Occurrence of drugs of abuse and benzodiazepines in river waters from the Madrid Region (Central Spain). *Chemosphere* 95 247-255.

Mendoza,A., Rodríguez-Gil,J.L., González-Alonso,S., Mastroianni,N., de Alda,M.L., Barceló,D., and Valcárcel,Y. (2014b) Drugs of abuse and benzodiazepines in the Madrid Region (Central Spain): Seasonal variation in river waters, occurrence in tap water and potential environmental and human risk. *Environment International* 70 76-87.

Metcalfe,C., Tindale,K., Li,H., Rodayan,A., and Yargeau,V. (2010) Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drug use. *Environmental Pollution* 158 (10), 3179-3185.

Ministerio de Sanidad, Sevicios Sociales e Igualdad. Encuesta Domiciliaria sobre Alcohol y Drogas en España (EDADES). 2013.

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Encuesta Domiciliaria sobre Alcohol y Drogas en España (EDADES). 2015.

Miralles-Cuevas,S., Audino,F., Oller,I., Sánchez-Moreno,R., Pérez,J.S., and Malato,S. (2014) Pharmaceuticals removal from natural water by nanofiltration combined with advanced tertiary treatments (solar photo-Fenton, photo-Fenton-like Fe (III-EDDS complex and ozonation). *Separation and Purification Technology* 122 515-522.

Mirvish, S. S. Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Letters* 93, 17-48. 1995.

Mitch,W.A., Sharp,J.O., Valentine,R.L., Alvarez-Cohen,L., and Sedlak,D.L. (2003) N-Nitrosodimethylamine (NDMA) as a Drinking Water Contaminant: A Review. *Environ.Eng.Sci.* 20 (5), 389-404.

Mompelat,S., Thomas,O., and Le Bot,B. (2011) Contamination levels of human pharmaceutical compounds in French surface and drinking water. *Journal of Environmental Monitoring* 13 (10), 2929-2939.

Moore,M.T., Greenway,S.L., Farris,J.L., and Guerra,B. (2015) Assessing caffeine as an emerging environmental concern using conventional approaches. *Arch.Environ.ContaminationsToxicol.* 54 (1), 31-35.

National Institute on Drug Abuse (NIDA). Cocaine: Abuse and Addiction. 10-4166. 2010.

Nefau,T., Karolak,S., Castillo,L., Boireau,V., and Levi,Y. (2013) Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France. *Science of the Total Environment* 461 712-722.

Ngwenya,N., Ncube,E.J., and Parsons,J. (2013) Recent advances in drinking water disinfection: successes and challenges. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 222 111-170.

Nieuwenhuijsen,M., Smith,R., Golfinopoulos,S., Best,N., Bennett,J., Aggazzotti,G., Righi,E., Fantuzzi,G., Bucchini,L., and Cordier,S. (2009) Health impacts of long-term exposure to disinfection by-products in drinking water in Europe: HIWATE. *Journal of water and health* 7 (2), 185-207.

Nikolaou,A., Meric,S., and Fatta,D. (2007) Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal.Bioanal.Chem.* 387 1225-1234.

Novotny,T.E. and Slaughter,E. (2014) Tobacco product waste: an environmental approach to reduce tobacco consumption. *Current environmental health reports* 1 (3), 208-216.

Observatorio español de la droga y las toxicomanías.Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. ESTADÍSTICAS 2013: Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España. 2013.

Ort,C., Lawrence,M.G., Reungoat,J., and Mueller,J.F. (2010) Sampling for PPCPs in wastewater systems: comparison of different sampling modes and optimization strategies. *Environmental science & technology* 44 (16), 6289-6296.

Ort,C., Nuijs,A.L., Berset,J., Bijlsma,L., Castiglioni,S., Covaci,A., Voogt,P., Emke,E., Fatta-Kassinos,D., and Griffiths,P. (2014) Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction* 109 (8), 1338-1352.

OSPAR. <http://www.ospar.org/>. 2013.

Ostman,M., Fick,J., Nasstrom, and Lindberg,R.H. (2014) A snapshot of illicit drug use in Sweden acquired through sewage water analysis. *Science of the Total Environment* 472 862-871.

Padhye,L.P., Yao,H., Kung'u,F.T., and Huang,C.H. (2014) Year-long evaluation on the occurrence and fate of pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupting chemicals in an urban drinking water treatment plant. *Water Research* 51 266-276.

Pal,R., Megharaj,M., Kirkbride,K.P., and Naidu,R. (2013) Illicit drugs and the environment: a review. *Science of the Total Environment* 463 1079-1092.

Parolini,M. and Binelli,A. (2013) Adverse effects induced by ecgonine methyl ester to the zebra mussel: a comparison with the benzoylecgonine. *Environmental Pollution* 182 371-378.

Parolini,M., Pedriali,A., Riva,C., and Binelli,A. (2013a) Sub-lethal effects caused by the cocaine metabolite benzoylecgonine to the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Sci.Total Environ.* 444 43-50.

Pedriali,A., Riva,C., Parolini,M., Cristoni,S., Sheehan,D., and Binelli,A. (2013) A redox proteomic investigation of oxidative stress caused by benzoylecgonine in the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha*. *Drug Test Anal.* 5 646-656.

Pedrouzo,M., Borrull,F., Pocurull,E., and Marcé,R.M. (2011) Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science* 34 (10), 1091-1101.

Perez-Parada,A., del Mar Gómez-Ramos,M., Bueno,M.J.M., Uclés,S., Uclés,A., and Fernandez-Alba,A.R. (2012) Analytical improvements of hybrid LC-MS/MS techniques for the efficient evaluation of emerging contaminants in river waters: a case study of the Henares River (Madrid, Spain). *Environmental Science and Pollution Research* 19 (2), 467-481.

Pesce,A., West,C., West,R., Crews,B., Mikel,C., Rosenthal,M., Alamazon,P., and Latyshev,S. (2010) Determination of medication cutoff values in a pain patient population. *Journal of opioid management* 7 (2), 117-122.

Petrie,B., Barden,R., and Kasprzyk-Hordern,B. (2015) A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research* 72 3-27.

- Petrovic,M., Perez,S., and Barcelo,D. (2013) *Analysis, Removal, Effects and Risk of Pharmaceuticals in the Water Cycle: Occurrence and Transformation in the Environment.*, Newnes.
- Petrovic,M., Skrbic,B., Zivancev,J., Ferrando-Climent,L., and Barcelo,D. (2014) Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole-linear ion trap in different types of water in Serbia. *Science of the Total Environment* 468 415-428.
- Pizarro,N., Farré,M., Pujadas,M., Peiró,A.M., Roset,P.N., Joglar,J., and de La Torre,R. (2004) Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-dihydroxymethamphetamine). *Drug Metab.Dispos.* 32 1001-1007.
- Plewa,M.J., Kargalioglu,Y., Vankerk,D., Minear,R.A., and Wagner,E.D. (2002) Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity analysis of drinking water disinfection by-products. *Environmental and molecular mutagenesis* 40 (2), 134-142.
- Plewa,M.J., Simmons,J.E., Richardson,S.D., and Wagner,E.D. (2010) Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity of the haloacetic acids, a major class of drinking water disinfection by-products. *Environmental and molecular mutagenesis* 51 (89), 871-878.
- Plósz,B.G., Reid,M.J., Borup,M., Langford,K.H., and Thomas,K.V. (2013) Biotransformation kinetics and sorption of cocaine and its metabolites and the factors influencing their estimation in wastewater. *Water Research* 47 (7), 2129-2140.
- Postigo,C., Lopez de Alda,M.J., and Barcelo,D. (2008) Fully Automated Determination in the Low Nanogram per Liter Level of Different Classes of Drugs of Abuse in Sewage Water by On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Electrospray-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 80 (9), 3123-3134.
- Postigo,C., Lopez de Alda,M.J., and Barceló,D. (2010) Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environment International* 36 (1), 75-84.
- Postigo,C., Sirtori,C., Oller,I., Malato,S., Maldonado,M.I., de Alda,M.L.p., and Barcelo,D. (2011) Photolytic and photocatalytic transformation of methadone in aqueous solutions under solar irradiation: Kinetics, characterization of major intermediate products and toxicity evaluation. *Water Research* 45 (16), 4815-4826.
- Postigo,C. and Richardson,S.D. (2014) Transformation of pharmaceuticals during oxidation/disinfection processes in drinking water treatment. *Journal of hazardous materials* 279 461-475.
- Prinzleve,M., Haasen,C., Zurhold,H., Matali,J.L., Bruguera,E., Gerevich,J., B+icskai,E., Ryder,N., Butler,S., and Manning,V. (2004) Cocaine use in Europe:a multi-centre study: patterns of use in different groups. *European Addiction Research* 10 (4), 147-155.
- Quintana,J.B., Rodil,R., Lopez-MAhia,P., Munitagui-Lorenzo,S., and Prada-Rodriguez,D. (2012) Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-

product formation aided by an experimental design methodology. *Chemosphere* (86), 1040-1049.

Racamonde,I., Villaverde-de-Sáa,E., Rodil,R., Quintana,J.B., and Cela,R. (2012) Determination of A9-tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy-A9-tetrahydrocannabinol in water samples by solid-phase microextraction with on-fiber derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1245 167-174.

Reid,M.J., Langford,K.H., Morland,J., and Thomas,K.V. (2011) Quantitative assessment of time dependent drug-use trends by the analysis of drugs and related metabolites in raw sewage. *Drug and alcohol dependence* 119 (3), 179-186.

Reid,M.J., Derry,L., and Thomas,K.V. (2014) Analysis of new classes of recreational drugs in sewage: Synthetic cannabinoids and amphetamine-like substances. *Drug testing and analysis* 6 (1-2), 72-79.

Repice,C., Dal Grande,M., Maggi,R., and Pedrazzani,R. (2013) Licit and illicit drugs in a wastewater treatment plant in Verona, Italy. *Science of the Total Environment* 463 27-34.

Richardson,S.D. and Bowron,J.M. (1985) The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 37 (1), 1-12.

Richardson,S.D., Plewa,M.J., Wagner,E.D., Schoeny,R., and DeMarini,D.M. (2007) Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 636 (1), 178-242.

Richardson,S.D. and Postigo,C. (2012) Drinking water disinfection by-products. In: *Emerging organic contaminants and human health*. 93-137, Springer.

Richardson,S.D. and Ternes,T.A. (2014) Water analysis: emerging contaminants and current issues. *Analytical Chemistry* 86 (6), 2813-2848.

Richardson,S.D. and Postigo,C. (2015) Safe Drinking Water? Effect of Wastewater Inputs and Source Water Impairment and Implications for Water Reuse.

Riva,F., Zuccato,E., and Castiglioni,S. (2015) Prioritization and analysis of pharmaceuticals for human use contaminating the aquatic ecosystem in Italy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis* 106 71-78.

Rivera-Utrilla,J., Sánchez-Polo,M., Ferro-García,M.Á., Prados-Joya,G., and Ocampo-Pérez,R. (2013) Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere* 93 (7), 1268-1287.

Rizzo,L., Manaia,C., Merlin,C., Schwartz,T., Dagot,C., Ploy,M.C., and Fatta-Kassinou,D. (2013) Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: a review. *Science of the Total Environment* 447 345-360.

- Rodayan,A., Segura,P.A., and Yargeau,V. (2014) Ozonation of wastewater: removal and transformation products of drugs of abuse. *Science of the Total Environment* 487 763-770.
- Rodayan,A., Afana,S., Segura,P.A., Sultana,T., Metcalfe,C.D., and Yargeau,V. (2015) Linking drugs of abuse in wastewater to contamination of surface and drinking water. *Environmental Toxicology and Chemistry* 9999 1-7.
- Rosal,R., Rodriguez,A., Perdigon-Meln,J.A., Petre,A., Garcia-Calvo,E., Gomez,M.a.J., Aguera,A., and Fernández-Alba,A.R. (2010) Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Research* 44 (2), 578-588.
- Rosi-Marshall,E.J., Snow,D., Bartelt-Hunt,S.L., Paspalof,A., and Tank,J.L. (2015) A review of ecological effects and environmental fate of illicit drugs in aquatic ecosystems. *Journal of hazardous materials* 282 18-25.
- Santos,J.L., Aparicio,I., Callejon,M., and Alonso,E. (2009) Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *Journal of hazardous materials* 164 (2), 1509-1516.
- Seidi,S., Yamini,Y., Baheri,T., and Feizbakhsh,R. (2011) Electrokinetic extraction on artificial liquid membranes of amphetamine-type stimulants from urine samples followed by high performance liquid chromatography analysis. *Journal of Chromatography A* 1218 (26), 3958-3965.
- Senta,I., Gracia-Lor,E., Borsotti,A., Zuccato,E., and Castiglioni,S. (2015) Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment. *Water Research* 74 23-33.
- Shoblock,J.R., Sullivan,E.B., Maisonneuve,I.M., and Glick,S.D. (2003) Neurochemical and behavioral differences between d-methamphetamine and d-amphetamine in rats. *Psychopharmacology* 165 (4), 359-369.
- Sima,L., Amador,J., Silva,A.D., Miller,S.M., Morse,A.N., Pellegrin,M.L., Rock,C., and Wells,M.J. (2014) Emerging Pollutants GÇôPart I: Occurrence, Fate and Transport. *Water Environment Research* 86 (10), 1994-2035.
- Simazaki,D., Kubota,R., Suzuki,T., Akiba,M., Nishimura,T., and Kunikane,S. (2015) Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. *Water Research* 76 187-200.
- Snyder,S.A., Wert,E.C., Rexing,D.J., Zegers,R.E., and Drury,D.D. (2006) Ozone Oxidation of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals in Surface Water and Wastewater. *Ozone:Sci. & Engin.* 28 445-460.
- Stuart,M., Lapworth,D., Crane,E., and Hart,A. (2012) Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment* 416 1-21.

Sudhakaran,S., Lattemann,S., and Amy,G.L. (2013) Appropriate drinking water treatment processes for organic micropollutants removal based on experimental and model studies: a multi-criteria analysis study. *Science of the Total Environment* 442 478-488.

Sussman,S. and Ames,S.L. (2008) Concepts and classes of drugs. In: Sussman,S. and Ames,S.L. (eds), *Drug Abuse: Concepts, Prevention, and Cessation*. 3-56, Cambridge University Press.

Tay, K. S., Abb Rahman, N., and Bin Abas, M. R. Ozonation of metoprolol in aqueous solution: ozonation by-products and mechanisms of degradation. *Environ.Sci.Pollut.Res.* 20[5], 3115. 2015.

Tay, K. S., Rahman, N. A., and Bin Abas, M. R. Characterization of atenolol transformation products in ozonation by using rapid resolution high-performance liquid chromatography/ quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Microchem J.* 99[2], 312-326. 2011.

Ternes,T.A. (1998) Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research* 32 3245-3260.

Ternes,T. (2001) Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton,C. and Jones-Lepp,T. (eds), *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment. Scientific and Regulatory Issues*. 39-45, American Chemical Society, Washington DC.

Ternes,T.A., Meisenheimer,M., McDowell,D., Sacher,H., Brauch,J., Gulde,B.H., Preuss,G., Wilme,U., and Seirbet,N.Z. (2002) Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment. *Environ.Sci.Technol.* 36 (17), 3855-3863.

Ternes,T., Stuber,J., Herrmann,N., McDowell,D., Ried,A., Kampmann,M., and Teiser,B. (2003) Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewaters? *Water Research* 37 1976-1982.

Terzic,S., Senta,I., and Ahel,M. (2010) Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia)-Estimation of drug abuse in a transition country. *Environmental Pollution* 158 (8), 2686-2693.

Thai,P.K., Jiang,G., Gernjak,W., Yuan,Z., Lai,F.Y., and Mueller,J.F. (2014) Effects of sewer conditions on the degradation of selected illicit drug residues in wastewater. *Water Research* 48 538-547.

Thomas,K.V., Bijlsma,L., Castiglioni,S., Covaci,A., Emke,E., Grabic,R., Hernández,F., Karolak,S., Kasprzyk-Hordern,B., and Lindberg,R.H. (2012) Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Science of the Total Environment* 432 432-439.

Thomas,K.V., Silva,F.M.A., Langford,K.H., Souza,A.D.L., Nizzeto,L., and Waichman,A.V. (2014) Screening for Selected Human Pharmaceuticals and Cocaine in the Urban Streams of Manaus, Amazonas, Brazil. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 50 (2), 302-308.

United Nations. Single Convention on Narcotic Drugs, 1961. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 41[10], 735-736. Wiley Online Library. 1961.

United Nations Department of Economic and Social Affairs. Population and Vital Statistics Report. Series A. Vol. LXV. New York, United Nations. Statistical Papers. 2013.

United Nations International Drug Control Programme. Laboratory Section (2003) *Terminology and Information on Drugs.*, New York: United Nations.

United Nations Office of Drug and Crime. World Drug Report 2007. Retrieved from www.unodc.org/unodc/world_drug_report.html 1. 2007.

United Nations Office on Drugs and Crime. Information about drugs. Vienna. Austria. 2009.

United Nations-Office on Drug and Crime. World Drug Report 2014. 2014.

United Nations-Office on Drug and Crime. World Drug Report 2015. 2015.

US EPA. Guidelines for ecological risk assessment (EPA publication no. 630/R-95/002F). Washington DC. 1998.

USEPA. www.epa.gov/iris/subst/index.html. 2007.

Uslu, M.O., Jasim, S., Arvai, A., Bewtra, J., and Biswas, N. (2013) A survey of occurrence and risk assessment of pharmaceutical substances in the Great Lakes Basin. *Ozone: Science & Engineering* 35 (4), 249-262.

Valcarcel, Y., Gonzalez Alonso, J.L., Rodriguez-Gil, J.L., and Catala, M. (2011) Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere* 84 (10), 1336-1348.

Valcarcel, Y., Martínez, F., González-Alonso, S., Segura, Y., Català, M., Molina, R., Montero-Rubio, J.C., Mastroianni, N., de Alda, M.L., and Postigo, C. (2012) Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: Heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. *Environment International* 41 35-43.

Van der Aa, N.G.F.M., Dijkman, E., Bijlsma, L., Emke, E., Van de Ven, B.M., Nuijs, A.L.N., and De Voogt, P. (2010) Drugs of Abuse and Tranquilizers in Dutch Surface Waters, Drinking Water, and Wastewater: Results of Screening Monitoring in 2009; RIVM Report 703719064. *National Institute for Public Health and the Environment: Bilthoven, The Netherlands.*

Van der Aa, M., Bijlsma, L., Emke, E., Dijkman, E., van Nuijs, A.L., Van de Ven, B., Hernandez, F., Versteegh, A., and De Voogt, P. (2013) Risk assessment for drugs of abuse in the Dutch watercycle. *Water Research* 47 (5), 1848-1857.

van Nuijs, A.L.N., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., and Covaci, A. (2008) Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environmental Pollution* 157 (1), 123-129.

van Nuijs,A.L., Pecceu,B., Theunis,L., Dubois,N., Charlier,C., Jorens,P.G., Bervoets,L., Blust,R., Neels,H., and Covaci,A. (2009a) Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environmental Pollution* 157 (1), 123-129.

van Nuijs,A.L., Pecceu,B., Theunis,L., Dubois,N., Charlier,C., Jorens,P.G., Bervoets,L., Blust,R., Neels,H., and Covaci,A. (2009b) Spatial and temporal variations in the occurrence of cocaine and benzoylecgonine in waste-and surface water from Belgium and removal during wastewater treatment. *Water Research* 43 (5), 1341-1349.

van Nuijs,A.L., Tarcomnicu,I., Bervoets,L., Blust,R., Jorens,P.G., Neels,H., and Covaci,A. (2009c) Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395 (3), 819-828.

van Nuijs,A.L., Castiglioni,S., Tarcomnicu,I., Postigo,C., de Alda,M.L., Neels,H., Zuccato,E., Barcelo,D., and Covaci,A. (2011a) Illicit drug consumption estimations derived from wastewater analysis: a critical review. *Science of the Total Environment* 409 (19), 3564-3577.

van Nuijs,A.L., Mougel,J.F., Tarcomnicu,I., Bervoets,L., Blust,R., Jorens,P.G., Neels,H., and Covaci,A. (2011b) Sewage epidemiology:a real-time approach to estimate the consumption of illicit drugs in Brussels, Belgium. *Environment International* 37 (3), 612-621.

van Nuijs,A.L., Abdellati,K., Bervoets,L., Blust,R., Jorens,P.G., Neels,H., and Covaci,A. (2012) The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology? *Journal of hazardous materials* 239 19-23.

van Nuijs,A.L., Gheorghe,A., Jorens,P.G., Maudens,K., Neels,H., and Covaci,A. (2014) Optimization, validation, and the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of new drugs of abuse in wastewater. *Drug testing and analysis* 6 (7-8), 861-867.

Vazquez-Roig,P., Andreu,V., Blasco,C., and Picó,Y. (2010) SPE and LC-MS/MS determination of 14 illicit drugs in surface waters from the Natural Park of L'Albufera (València, Spain). *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397 (7), 2851-2864.

Vazquez-Roig,P., Andreu,V., Blasco,C., Morillas,F., and Picó,Y. (2012) Spatial distribution of illicit drugs in surface waters of the natural park of Pego-Oliva Marsh (Valencia, Spain). *Environmental Science and Pollution Research* 19 (4), 971-982.

Vazquez-Roig,P., Blasco,C., and Picó,Y. (2013) Advances in the analysis of legal and illegal drugs in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry* 50 65-77.

Verlicchi,P., Al Aukidy,M., and Zambello,E. (2012) Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatmentGCÇöa review. *Science of the Total Environment* 429 123-155.

Viana,M., Querol,X., Alastuey,A.s., Postigo,C., de Alda,M.L.p., Barcelo,D., and Artiñano,B.A. (2010) Drugs of abuse in airborne particulates in urban environments. *Environment International* 36 (6), 527-534.

- Vieno,N.M., Härkki,H., Tuhkanen,T., and Kronberg,L. (2007) Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environ.Sci.Technol.* 41 (14), 5077-5084.
- Villanueva,C.M., Cantor,K.P., Grimalt,J.O., Malats,N., Silverman,D., Tardón,A., Garcia-Closas,R., Serra,C., Carrato,A., and Castano-Vinyals,G. (2007) Bladder cancer and exposure to water disinfection by-products through ingestion, bathing, showering, and swimming in pools. *American journal of epidemiology* 165 (2), 148-156.
- Villanueva,C.M., Kogevinas,M., Cordier,S., Templeton,M.R., Vermeulen,R., Nuckols,J.R., Nieuwenhuijsen,M.J., and Levallois,P. (2014) Assessing exposure and health consequences of chemicals in drinking water: current state of knowledge and research needs. *Environ Health Perspect* 122 (3), 213-221.
- Vuori,E., Happonen,M., Gergov,M., Nenonen,T., Järvinen,A., Ketola,R.A., and Vahala,R. (2014) Wastewater analysis reveals regional variability in exposure to abused drugs and opioids in Finland. *Science of the Total Environment* 487 688-695.
- Wang,C., Shi,H., Adams,C.D., Gamagedara,S., Stayton,I., Timmons,T., and Ma,Y. (2011) Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Water Research* 45 (4), 1818-1828.
- Watanabe,K., Narimatsu,S., Yamamoto,I., and Yoshimura,H. (1991) Oxygenation mechanism in conversion of aldehyde to carboxylic acid catalyzed by a cytochrome P-450 isoenzyme. *J.Biol.Chem* 266 2709-2711.
- Wen,Z.H., Chen,L., Meng,X.Z., Duan,Y.P., Zhang,Z.S., and Zeng,E.Y. (2014) Occurrence and human health risk of wastewater-derived pharmaceuticals in a drinking water source for Shanghai, East China. *Science of the Total Environment* 490 987-993.
- Westerhoff,P., Yoon,Y., Snyder,S., and Wert,E. (2005) Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. *Environ.Sci.Technol.* 36 6649-6663.
- Wick,A., Fink,G., Joss,A., Siegrist,H., and Ternes,T. (2009) Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. *Water Research* 43 1060-1074.
- Wilkinson,G.R. (2001) *Goodman & Gilman's-The pharmacological basis of therapeutics*. pp. 3-30, McGraw-Hill New York, New York.
- Winter,J.C. (2009) Hallucinogens as discriminative stimuli in animals: LSD, phenethylamines, and tryptamines. *Psychopharmacology* 203 (2), 251-263.
- Wood,A.J., Kearns,G.L., Abdel-Rahman,S.M., Alander,S.W., Blowey,D.L., Leeder,J.S., and Kauffman,R.E. (2003) Developmental pharmacology-Drug disposition, action, and therapy in infants and children. *New England Journal of Medicine* 349 (12), 1157-1167.
- World Health Organization (2004) *Neuroscience of psychoactive substance use and dependence.*, World Health Organization.

World Health Organization (2006) Neuroscience of Psychoactive Substance Use and Dependence. www.who.int/substance_abuse/publications/en/Neuroscience_E.pdf.

World Health Organization. Pharmaceuticals in drinking water. 2011.

World Health Organization. Pharmaceuticals in drinking water. 2012.

Yamada,H., Ishii,Y., and Oguri,K. (2005) Metabolism of Drugs of Abuse: Its Contribution to the Toxicity and the Inter-Individual Differences in Drug Sensitivity. *Journal of Health Science* 51 (1), 1-7.

Yang,L., Kim,D., Uzun,H., Karanfil,T., and Hur,J. (2015) Assessing trihalomethanes (THMs) and N-nitrosodimethylamines (NDMA) formation potentials in drinking water treatment plants using fluorescence spectroscopy and parallel factor analysis. *Chemosphere* 121 84-91.

Yargeau,V., Taylor,B., Li,H., Rodayan,A., and Metcalfe,C.D. (2014) Analysis of drugs of abuse in wastewater from two Canadian cities. *Science of the Total Environment* 487 722-730.

Zuccato,E., Chiabrando,C., Castiglioni,S., Calamari,D., Bagnati,R., Schiarea,S., and Fanelli,R. (2005) Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environmental Health: A global Access Science Source* 4 (14), 1-7.

Zuccato,E., Castiglioni,S., Bagnati,R., Chiabrando,C., Grassi,P., and Fanelli,R. (2008a) Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Research* 42 961-968.

Zuccato,E., Chiabrando,C., Castiglioni,S., Bagnati,R., and Fanelli,R. (2008b) Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environmental Health Perspectives* 116 (8), 1027-1032.

Zuccato,E., Castiglioni,S., Tettamanti,M., Olandese,R., Bagnati,R., Melis,M., and Fanelli,R. (2011) Changes in illicit drug consumption patterns in 2009 detected by wastewater analysis. *Drug and alcohol dependence* 118 (2), 464-469.

ABREVIATURES I ACRÒNIMS

ABREVIATURES I ACRÒNIMS

ACN	Acetonitril
ACM	Acetilmorfina
AMP	Amfetamina
API	Ionització a pressió atmosfèrica
APCI	Ionització química a pressió atmosfèrica
ATS	Estimulants de tipus amfetamínic
BE	Benzoïlecgonina
C18	Octadecilsilà
C8	Octilsilà
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CAFE	Cafeïna
CEC	<i>Contaminants of Emerging Concern</i>
CH ₂ Cl ₂	Diclorometà
COC	Cocaïna
COCET	Cocaetilè
COD	Codeïna
COTI	Cotinina
CREAT	Creatinina
EDAR	Estació depuradora d'aigua residual
EDDP	2-etilè-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina
EMDP	2-etilè-5-metil-3,3-difenilpirrolidina
EMS	<i>Enhanced Mass Spectra</i>
EME	etilmetilecgonina
EPH	Efedrina
EPI	<i>Enhanced Product Ion</i>
ETAP	Estació de tractament d'aigües potables
ESI	Electrosprai
FENTA	Fentanil
EU	Unió Europea
FLUNI	Flunitrazepam
GC	Cromatografia de gasos

GC-MS	Cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de masses
HER	Heroïna
HILIC	Cromatografia d'ineracció hidrofílica
HLB	Balanç hidrofílic lipofílic
HRMS	Espectrometria de masses d'alta resolució
KET	Ketamina
LC	Cromatografia de líquids
LC-MS	Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses
LC-MS/MS	Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem
LC-MS ⁿ	Cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses en etapes successives
LIT	Trampa d'ions lineal
LOD	Límit de detecció
LOQ	Límit de quantificació
LSD	Àcid liergicdietilamida
LVI	Injecció directa de grans volums
MAX	Fase invertida-intercanvi aniònic
MCX	Fase invertida-intercanvi catiònic
MDA	3,4-metilendioxiamentamina
MDEA	3,4-metilen- <i>N</i> -etilamfetamina
MDMA	3,4- metilendioximetamfetamina
MIP	Polímer d'empremta molecular
MeOH	Metanol
META	Metadona
METH	Metamfetamina
MOR	Morfina
MOR3G	Morfina-3-glucurònid
MRM	Monitorització de múltiples reaccions
MS	Espectrometria de masses
MS/MS	Espectrometria de masses en tàndem
MS ⁿ	Espectrometria de masses en etapes successives
NICO	Nicotina
NIDA	<i>National Institute on Drug Abuse</i>

OXY	Oxicodona
PARA	Paraxantina
POCI	Mostrejadors passius integrats per a compostos orgànics
PCP	Fenciclidina
PPCP	Fàrmacs i productes de cura personal
QqQ	Triple quadrupol
Q-TOF	Quadrupol-temps de vol
Q-TRAP	Quadrupol-trampa d'ions
RMN	Resonància Magnètica Nuclear
RSD	Desviació estandard relativa
SIM	Monitorització selectiva d'ions
SN	Sistema Nerviós
S/N	Senyal/Soroll
SPE	Extracció en fase sòlida
SPME	Microextacció en fase sòlida
SRM	Monitorització de reaccions selectives
THC	Tetrahidrocannabiol
THC-COOH	11-carboxi- tetrahidrocannabiol
THC-OH	11-hidroxi- tetrahidrocannabiol
TP	Productes de transformació
TFA	trifluoroacetic acid
TOF	Temps de vol
UHPLC	Cromatografia de líquids d'ultra elevada eficàcia
UNODC	<i>United Nations Office on Drug and Crime</i>
WAX	Bescanvi aniònic feble
WCX	Bescanvi cationic feble
WDR	<i>World Drug Report</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>