



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Drogues d'abús i fàrmacs en el medi aquàtic: Anàlisi, presència i comportament

M^a Rosa Boleda Vall-llovera

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA



FACULTAT DE QUÍMIQUES
UNIVERSITAT DE BARCELONA

PROGRAMA DE DOCTORAT:

“QUÍMICA ANALÍTICA DEL MEDI AMBIENT I LA POL·LUCIÓ”

DROGUES D'ABÚS I FÀRMACS EN EL MEDI AQUÀTIC: ANÀLISI, PRESÈNCIA I COMPORTAMENT.

Memòria presentada per a optar al grau de Doctor en Química per
la Universitat de Barcelona per:

M^a Rosa Boleda Vall-Ilovera

Treball desenvolupat a Aigües de Barcelona S.A.

Barcelona, Novembre 2015

Dra. M^a Teresa Galceran Huguet (UB)
Directora / Tutora de Tesis.

Dr. Francesc Ventura Amat
(AGBAR-Aigües de Barcelona S.A.)
Director de Tesi.

AGRAÏMENTS:

Finalment ha arribat el dia, i veient la tesi acabada sobre la taula, només em venen al cap paraules d'agraïment. És clar que hi ha hagut moments molt difícils i s'ha fet llarg, molt llarg, però ara el que m'agradaria és agrair a tothom qui m'ha recolzat, encoratjat, animat, ajudat,...a emprendre i seguir aquesta "creuada" particular i professional en la que un dia em vaig ficar. Els que em coneixeu be, sabeu que no m'agrada gaire posar per escrit els meus pensaments, però l'ocasió s'ho val. Espero no deixar-me a ningú, tot i que serà difícil després de tants anys.

Primer de tot m'agradaria adreçar els agraïments als meus directors de tesi: Dra M^aTeresa Galceran i Dr. Francesc Ventura. Maite: moltíssimes gràcies per la paciència, per les correccions que a vegades em deixaven "K.O.", però que sempre perfeccionaven el treball, per tot el que m'has ensenyat (que és molt), i sobretot per transmetre sempre la teva passió, l'estima incondicional per la investigació. Francesc: Queda lluny el dia que vas venir al laboratori d'Aigües de Barcelona de Passeig de Sant Joan i em vas proposar de fer la tesi, et vas quedar parat que et digués que sí tant ràpid oi?...*"si vols pensa-t'ho i ja m'ho diràs"* vas dir...És que llavors no sabia que seria tant dur i llarg!. Fora bromes, si fos ara tornaria a dir que sí!. Moltíssimes gràcies per pensar i confiar en mi per fer aquest treball que m'ha permès ampliar coneixements i horitzons. Gràcies també per les correccions dels articles i de la tesi, que entre la Maite i tu, fèieu que el que havia posat jo lluis. Gràcies per la paciència, sobretot amb les "maleïdes" taules de Word que mai quedaven com volies, i també per transmetre les ganes de conèixer quins contaminants orgànics hi ha en l'aigua o quins poden aparèixer després dels tractaments, de com analitzar-los o de com es poden eliminar de l'aigua... També per *"alimentar-me"*, com sempre dius, amb els nombrosos articles científics, tant per la tesi com per les *"nits d'insomni"*. En aquest punt, no em vull deixar d'agrair també l'*"aliment"* a la Dra Susana Ricart.

Evidentment, vull agrair especialment a Aigües de Barcelona S.A., la oportunitat i el suport per desenvolupar aquest treball, i als dos directors de la Direcció de la Qualitat de l'Aigua, que he tingut des de que vaig començar la tesi: Leonard Matia i Miquel Paraira, sense el seu vist i plau, aquest treball no s'hagués pogut fer. Moltes gràcies als dos per

confiar en mi (Lleonard: *des de la planta pilot!!*), encoratjar-me a fer la tesi i animar-me a acabar-la (Miquel: finalment *"Aquest any sí! Com el Barça!*). També vull agrair a en Jordi Martin, a més del seu recolzament, les explicacions dels diferents tractaments aplicats a les aigües, sempre enriquidores.

Agrair també a l'empresa DOW Chemical, la seva col·laboració en l'estudi de membranes d'osmosi inversa en la depuradora de Salou.

Moltes gràcies als meus companys del laboratori de l'àrea de Química Orgànica, Jordi, Sandra, Lúdia, Guillem, Agustina, i el "nostre doctorant" Adrià, per la seva comprensió en els moments d'estrès i els ànims en la recta final. I també, als que ara no estan en la nostra àrea (Isabel, Jordi, Laura), però que, al principi, els va tocar fer part de la meva feina per tal de que jo em pogués dedicar més estona a la tesi, i a la Sònia Peiró i la Yolanda Bellver, que sempre hi són en moments en que se les necessita amb els arxius i la informàtica, i el Lluís i en Joan per l'ajuda i elucubracions sobre incerteses. També a tota la resta de companys del laboratori i de la planta de Sant Joan Despí, tant els que encara hi són com els que estan jubilats o pre-jubilats, els quals no anomeno doncs no em vull deixar a ningú. Tots m'heu donat ànims, en diferents moments, i els de Sant Joan Despí i les depuradores, a més m'heu donat "les mostres"!! (*"Un altre cop?"..."Sí, Sí totes amb temps de retenció de la planta i amb tiosulfat sòdic si tenen clor lliure!"...*).

Gràcies també a la gent del departament de Química Analítica de la UB que, sempre que anava per allí, em feien sentir com una més del departament tot i que no feia l'experimental en el seus laboratoris. Especialment vull agrair a la Dra. Encarnación Moyano les seves explicacions i comentaris sobre fases mòbils i més endavant, sobre els trencaments de les molècules en espectrometria de masses d'alta resolució. També a l'Èlida, per la seva paciència i explicacions davant l'"Orbitrap".

Gràcies a les noies de la "Colla d'esmorzar", Núria, Lúdia, Verònica i Maribel, que m'heu animat i aguantat "els rotllos monotemàtics" durant alguns esmorzars, els vostres ànims m'han ajudat molt!.

Gràcies a tots els familiars i amics que durant aquest temps s'han interessat per la marxa de la tesi i m'han recolzat.

I és clar, agrair TOT als meus pares! Per donar-me estimació, per ensenyar-me que *"si es vol aconseguir alguna cosa has de lluitar per ella amb esforç i constància"*, per donar-

me uns estudis que han permès que arribés fins aquí, etc, etc, etc ...Estic segura que si estigués físicament aquí el meu pare, aquest seria un altre moment molt feliç que compartiríem tots plegats!

I finalment, però els més importants en la meva vida actual, agrair també TOT a la meva família: al meu marit Alfred, i fills Laia i Carles, tota la paciència, estimació, suport,...TOT... que m'han mostrat i demanar-los perdó, sí perdó per haver dedicat tantes hores a la tesi, sobretot els últims temps de l'escriptura, i no haver-les dedicat a ells com m'hagués agradat. Especialment vull agrair a l'Alfred que em recolzés i m'animés a fer-la des del primer moment que li vaig comentar, si no hagués estat així avui no seria aquí. **US ESTIMO MOLT I US DEDICO AQUESTA TESI!**

ÍNDIX

Objectius i estructura de la memòria	I
Acrònims	III
Resum/Abstract	VII
1. Introducció	1
1.1. Contaminants en l'aigua: Legislació i Contaminants emergents	3
1.2. Compostos orgànics emergents estudiats en aquest treball.....	7
Fonts	7
Selecció	11
1.3. Drogues: Característiques i presència	14
1.3.1. Cannabinoïdes	16
1.3.2. Opioides: Opiacis i opioides	18
1.3.3. Presència en el medi aquàtic dels cannabinoïdes	25
Cannabinoïdes i opioides en aigües residuals	25
Cannabinoïdes i opioides en aigües superficials, subterrànies i potables	37
1.4. Fàrmacs: Característiques i presència	46
1.5. Classificació	47
1.6. Presència dels fàrmacs en el medi aquàtic	54
Presència dels fàrmacs en aigües residuals	54
Presència dels fàrmacs en aigües superficials, subterrànies i potables.....	61
1.6.1. Article científic: <i>Survey of the occurrence of pharmaceutical in spanish finished drinking waters. Environmental Science and Pollution Research 2014, 21: 10917-10939</i>	69
2. Drogues d'abús en aigües	135
2.1. Introducció.	137
2.2. Treball experimental	162
2.2.1. Article científic: <i>Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatographia-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1175 (2007) 38-48</i>	165

2.2.2. Article científic: <i>Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. Water Research</i> 43 (2009) 1126-1136.....	179
2.2.3. Article científic: <i>Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters. Chemosphere</i> 84 (20011b)1601-1607.....	193
2.3. Discussió dels resultats	212
2.4. Metodologia d'anàlisi	212
2.5. Presència en aigües residuals	221
2.6. Presència en aigües superficials	228
2.7. Presència en aigües potables	235
2.8. Conclusions	239
3. Comportament de les drogues i els fàrmacs en nous tractaments d'aigües. ..	243
3.1. Tractaments per aigües residuals i potables	245
3.1.1. Tractaments aplicats a les aigües residuals	245
3.1.2. Tractaments aplicats a les aigües superficials i potables.....	250
3.1.3. Planta de tractament d'aigua potable de Sant Joan Despí	253
3.2. Treball experimental	257
3.2.1. Article científic: <i>Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography-tandem spectrometry. Journal of Chromatography A</i> 1286 (2013) 146-158....	259
3.2.2. Article científic: <i>Removal of drugs of abuse from municipal wastewater using reverse osmosis membranes. Desalination and Water Research</i> 21 (2010) 122-130.....	275
3.2.3. Article científic: <i>Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in 20 a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments Environmental Pollution</i> 159 (2011) 1584-1591	287
3.3. Discussió dels resultats	304
3.3.1. Anàlisi de fàrmacs: metodologia i presència.....	304
3.3.2. Nous tractaments en depuradores i potabilitzadores: Comportament de les drogues d'abús i els fàrmacs..	310
3.4. Conclusions	319
4. Conclusions finals	323
5. Referències	329

OBJECTIUS:

En general els compostos que es controlen en aigües són els legislats i la legislació s'ha establert prenent en consideració els anomenats contaminants prioritaris, especialment els contaminants orgànics persistents. Ara bé, cada cop augmenta més la preocupació pels anomenats contaminants emergents, compostos encara no legislats, però presents en el medi ambient en general, i en particular en el medi aquàtic, per als quals cal establir metodologia per analitzar-los, avaluar la seva presència, conèixer les fonts i com poden afectar a la salut humana i l'ecosistema. Les drogues d'abús i els fàrmacs, estudiats en aquesta tesi, es troben entre aquest grup de contaminants.

En aquest marc, els objectius de la present tesi, són:

- Establir les metodologies sensibles i selectives, per determinar les drogues d'abús i els fàrmacs en aigües i validar-les en les diferents matrius aquoses a estudiar: aigües residuals, superficials i potables,.
- Aplicar les metodologies desenvolupades per l'anàlisi de drogues d'abús i fàrmacs en el medi aquàtic, en concret en:
 - ❖ Aigües residuals, tant a l'entrada com a la sortida de depuradores, amb l'objectiu de conèixer tant la seva presència i com el grau d'eliminació.
 - ❖ Aigües superficials, que reben els efluents de les depuradores i a més sovint s'utilitzen per potabilitzar i distribuir a la població raó per la qual cal conèixer els nivells d'aquests contaminants.
 - ❖ Les aigües potables tant a la sortida de les potabilitzadores com les que reben els consumidors, ja que és imprescindible conèixer fins a quin punt aquests compostos poden arribar a la població.
 - ❖ Avaluar el grau d'eliminació de les drogues i els fàrmacs en dels diferents tractaments aplicats a aigües residuals i en les plantes potabilitzadores per

conèixer el comportament en les diferents etapes dels processos i l'efectivitat dels tractaments.

ESTRUCTURA DE LA MEMÒRIA:

La present memòria ha estat estructurada en tres capítols:

- Capítol 1: Introducció general. Fa referència a les característiques i presència, segons la bibliografia, de les drogues i els fàrmacs en el medi aquàtic.
- Capítol 2: Drogues d'abús en aigües. En aquest capítol es recull tota la informació i els treballs experimentals d'aquesta memòria, en relació a les drogues d'abús en aigües.
- Capítol 3: Comportament de les drogues i els fàrmacs en nous tractaments d'aigües. En aquest capítol s'engloba tota la informació i els treballs experimentals d'aquesta memòria, en relació al comportament i eliminació de les drogues d'abús i els fàrmacs, al llarg dels tractaments aplicats en aigües residuals i superficials.

Els capítols 2 i 3, que inclouen la part experimental, estan estructurats en els següents apartats:

- ❖ Introducció al capítol: on s'exposa la informació bibliogràfica que fa referència al capítol
- ❖ Treballs experimentals: on es troben les publicacions científiques.
- ❖ Discussió dels resultats: on es comparen els resultats obtinguts amb els publicats en la literatura.
- ❖ Conclusions: específiques al tema del capítol.

Al final de la memòria s'inclouen les conclusions finals de la tesi i referències bibliogràfiques.

LLISTA D'ACRÒNIMS

6-AM: 6-Acetyl morfina

Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahydrocannabinol

ACN: Acetonitril

AB: Aigües de Barcelona S.A.

AGBAR: Grup Aigües de Barcelona

AMP: amfetamina

API: Ionització a pressió atmosfèrica (*atmospheric pressure ionization*)

APCI: Ionització química a pressió atmosfèrica (*Atmospheric pressure Chemical ionization*)

ATC: Codi de classificació terapèutica

CAS: *Chemical abstracts service*

C.E.: Energia de col·lisió (*collision energy*)

CECs: Contaminants d'interès emergent (*contaminants with emergint concern*)

CCL: Llista de candidats a contaminants (*contaminant candidate list*)

C.V. : Voltatge de con (*cone voltatge*)

DAD: Detector de rengles de díodes (*diode array detector*)

DDD: Dosi diària definida

DDS: subllista de disposició de fàrmacs (*drug disposal and stewardship*)

DMA: Directiva Marc de l'aigua

ECD: Detector de captira d'electrons (*electron capture detector*)

EDDP: Metabòlit de la metadona , 2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine.

EMDP: Metabòlit de la metadona 2-etil-5-metil-3,3- difenilpirrolidina

E1: Estrona

E2: 17-beta-Estradiol

EC: Comissió europea

EDAR: Estació tractament d'aigües residuals

EE2: 17-alfa-Etinilestradiol

EMA: Agència Europea d'Avaluació de Medicaments

EPA: Agència de protecció del medi ambient

ESI: Ionització per electroesprai (*electrospray ionization*)

ESI+: Ionització positiva per electroesprai

ESI-: Ionització negativa per electroesprai

ETAP: Estació tractament aigües potables
FC: Filtre de Carbó
FID: Detector de ionització a la flama (*flame ionization detector*)
FLD: Detector de fluorescència (*fluorescence detector*)
FO: *Forward Osmosis*
FS: Filtre de sorra
GC: Cromatografia de Gasos (*gas chromatography*)
GC-MS: Cromatografia de Gasos acoblada a espectrometria de masses (*Gas chromatography/ mass spectrometry*)
GC-MS/MS: Cromatografia de Gasos acoblada a espectrometria de masses en tàndem (*Gas chromatography/ tandem mass spectrometry*)
Hb: Habitants
HRFS: Alta resolució amb escombrat total
HRMS: Espectrometria de masses d'alta resolució
HRPS: Alta resolució amb escombrat del producte.
IDA: Adquisició de dades en funció de la informació obtinguda (*"information-dependent acquisition"*)
IDLs: Límits de detecció instrumentals
IQLs: Límits de quantificació instrumentals
LC: liquid chromatography
LC-MS: liquid chromatography-mass spectrometry
LC-MS/MS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry
LLE: Liquid- liquid extraction
LOAD: Quantitat diària
LOD: Límit de detecció
LODs: Límits de detecció
LOQ: Limit de quantificació
LOQs: Limits de quantificació
LSD : Àcid lisèrgic dietilamida
MALDI: *matrix assisted laser desorption*
MBR: Bio-reactor de membrana (*membrane bio-reactor*)
MeOH: Metanol
MDA: 3,4-metilendioxiamfetamina
MDEA : 3,4-metilendioxietamfetamina
MDMA: 3,4-metilendioximetamfetamina
METH: Metamfetamina
MRM: Multiple reaction monitoring

MS: Mass spectrometry
NCS: Sistema nerviós central
OI: Òsmosi Inversa
OMS: Oficina de salut mundial
PCP: fenciclidina
PFAAs: àcids alquilics polifluorats
PDMS: Polydimethylsiloxane
PhHex: PhenylHexyl
PPCPs : compostos farmacèutics i d'us personal
QqQ: Triple quadrupol
Q-TOF: Quadrupol-Temps de vol
Q-Trap: Quadrupol- Trampa iònica
SIM: Single ion monitoring
SJD: Sant Joan Despí
SPE: Extracció en fase sòlida (solid phase extraction)
SRM: Monitorització de la reacció seleccionada (*selective reaction monitoring*)
THC: Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahydrocannabinol
THC-OH: 11-Hidroxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol
THC-COOH: 11-nor-carboxy – Δ^9 -tetrahydrocannabinol
TOF: temps de vol (*time-of-flight*)
UF: Ultrafiltració
UPLC: Ultra-performance TM liquid chromatography
UNODC: *United Nations Office of Drugs and Crime*
UV: Radiació ultravioleta

RESUM:

Les drogues d'abús i els fàrmacs estan considerats com contaminants d'interès emergent en el medi aquàtic, és a dir, són substàncies que no estan incloses en els programes habituals de control i monitorització d'aigües, tot i que s'ha demostrat la seva presència en el medi ambient. Donat que aquests contaminants són possibles candidats a ésser regulats en futures legislacions, l'objectiu d'aquesta memòria ha estat desenvolupar metodologies d'anàlisi a nivells traça per poder quantificar la seva presència en el medi aquàtic i conèixer el seu comportament al llarg dels tractaments, tant en les plantes depuradores com en les potabilitzadores.

S'han desenvolupat metodologies d'anàlisi per drogues d'abús i fàrmacs, basades en l'extracció en fase sòlida i determinació per cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses en tàndem. En tots els casos s'han trobat límits de quantificació, que permeten la detecció d'aquests contaminants en les tres matrius aquoses a nivells de ng/L.

S'han analitzat les drogues d'abús en aigües residuals, a les entrades i sortides de les depuradores. Les eliminacions calculades a partir de les concentracions trobades van indicar que els tractaments aplicats no són suficientment efectius per eliminar completament aquests contaminants, i per tant es poden trobar en les aigües superficials on s'aboquen les aigües depurades.

S'ha estudiat la presència de drogues i fàrmacs en les aigües superficials. En concret, l'aigua del riu Llobregat al llarg de tota la conca i exhaustivament a l'entrada de la planta potabilitzadora de Sant Joan Despí. Els estudis han demostrat que aquests contaminants es troben en l'aigua superficial en concentracions més baixes que a la sortida de les depuradores i que són susceptibles d'entrar a la planta potabilitzadora. Tanmateix, han permès tenir localitzats els punts més contaminats del riu per aquests tipus de compostos i veure que segueixen un comportament estacional, trobant les màximes concentracions a l'hivern i a la tardor.

En aquest treball s'ha estudiat també la presència de drogues d'abús i fàrmacs en les aigües potables, tant a la sortida de la potabilitzadora de Sant Joan Despí com en aixetes de consumidors de les principals ciutats espanyoles i d'altres països europeus, sud-americans i del Japó. La conclusió és que alguns contaminants (p.ex. cafeïna, nicotina, benzoïlecgonina, ibuprofè) poden arribar a les aixetes dels consumidors encara que a nivells de traça (pocs ng/L).

Un cop vist que les drogues d'abús i fàrmacs es poden trobar en les tres matrius d'aigua, es va portat a terme un estudi sobre el tractament avançat en aigua residual basat en membranes d'osmosi inversa, per a l'eliminació de les drogues d'abús, arribant a la conclusió que és molt més efectiu que els tractaments convencionals més comuns utilitzats avui en dia. A més es va provar que l'efectivitat amb tres membranes diferents és similar, de manera que es va triar la membrana que requeria menys energia pel seu funcionament.

Així mateix s'ha estudiat com els tractaments que s'apliquen en la potabilitzadora de Sant Joan Despí eliminen els fàrmacs i les drogues d'abús. Els resultats obtinguts demostren que s'aconsegueixen bones eliminacions pràcticament per tots els compostos estudiats, tant amb el tractament convencional (que inclou ozonització i filtració per carbó) com amb el tractament avançat (que inclou membranes d'ultrafiltració i osmosi inversa), tot i que aquest darrer les millora fins a un 15% per compostos com la nicotina.

ABSTRACT

Drugs of abuse and pharmaceuticals are considered contaminants of emerging concern in the aquatic environment. Given that these contaminants are potential candidates to be regulated in future legislations, the objective of this thesis has been devoted to develop a methodology for their analysis at trace levels; to quantify its presence in the aquatic environment as well as to improve the knowledge of their behaviour in different types of water treatments plants.

Analytical methods for drugs of abuse and pharmaceuticals, based on solid phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry have been developed. In all cases, the quantification limits achieved, allowed the detection of contaminants at trace levels (ng/L).

Drugs of abuse in influents and effluents of wastewaters treatment plants (WWTP) were analyzed. Results showed that the applied treatments are not enough effective and these pollutants can reach surface waters.

The presence of drugs and pharmaceuticals in surface waters were studied in Llobregat river and their basin and at the intake of the drinking water treatment plant (DWTP) in Sant Joan Despí. Results showed that these compounds are present in surface waters at lower concentrations than in effluents of WWTPs and therefore they can enter to the DWTP. Moreover, it has also allowed to keep track of the most polluted river points, and to verify that they follow a seasonal pattern, with the highest concentrations in winter and autumn.

This work has also studied the presence of drugs of abuse and pharmaceuticals in treated waters from the DWTP and from tap waters of main Spanish cities and other countries. The principal conclusion is that few of these contaminants (i.e. caffeine, nicotine, benzoilecgonine, ibuprofen) can reach tap waters at trace levels (few ng/L).

A study on the advanced wastewater treatment based on reverse osmosis membranes showed that it is much more effective than conventional treatments commonly used in most WWTPs. No significant differences between the three kinds of

membranes tested was observed and the membrane which requires less energy is proposed.

Likewise, studies of how treatments applied in DWTPs of Sant Joan Despí eliminated pharmaceuticals and drugs of abuse were carried out. Good eliminations for almost all studied compounds in the conventional treatment (using ozonation and carbon filtration) as in advanced treatment (with ultrafiltration and reverse osmosis membranes) were achieved, although with the latter the elimination is improved up to 15% for compounds such as nicotine.

1.1. Contaminants orgànics en l'aigua: Legislació i contaminants emergents.

L'aigua com a recurs natural, escàs i imprescindible per la vida, requereix una constant vigilància per preservar-ne l'origen i la qualitat. La presència de contaminants en l'aigua és prou coneguda, ha estat objecte d'estudi i preocupació de temps ençà i a més, està directament relacionada amb el progrés tecnològic de la societat en les últimes dècades. Aquest progrés ha comportat una gran producció de productes utilitzats en camps tant diversos com el farmacèutic, alimentari, automoció, polímers, etc.. Molts d'aquests productes, són o contenen compostos orgànics susceptibles d'anar a parar al medi aquàtic i són els que anomenem *Contaminants Orgànics*.

Els contaminants, poden arribar al medi aquàtic tant de forma directa com indirecta, i representen en major o menor mesura, una amenaça per la salut, tant dels ecosistemes, com dels animals i els éssers humans.

Les fonts d'introducció de contaminants orgànics a l'aigua poden ser tant naturals com antropogèniques. Entre les fonts naturals es poden citar, per exemple, els organismes que viuen en l'aigua els quals produeixen o deixen anar certs compostos, com per exemple microcistines o productes de metabolisme microbià com la geosmina o el 2-metil isoborneol. Ara bé, també arriben al medi aquàtic gran quantitats de contaminants orgànics provinents de fonts antropogèniques, normalment abocaments d'aigües residuals urbanes o industrials, que en els casos que són controlats, posen de manifest les deficiències en els processos de tractament d'aigües residuals. A part d'aquestes dues fonts generals d'introducció de contaminants en el medi aquàtic, cal esmentar que els compostos introduïts, poden evolucionar degradant-se i/o reaccionant amb d'altres substàncies presents en el medi, donant lloc a d'altres compostos dels quals normalment es desconeix, el seu efecte tòxic, tan a curt com a llarg termini.

Si es parla de contaminants en l'aigua en general, també cal tenir en compte els possibles compostos que es poden generar durant el tractament de l'aigua degut a la

introducció de reactius, que reaccionen amb els contaminants presents, i que generen com a resultat, diversos subproductes. Són el que s'anomena *Productes de desinfecció* (DBPs “desinfection By Products”), i que també es consideren contaminants a l'aigua. Un altre origen de contaminants orgànics en l'aigua que no es pot menystenir, especialment des d'un punt de vista de la distribució d'aigua potable, és la migració de compostos des dels materials en contacte amb aquesta, com per exemple canonades entre d'altres.

La identificació i caracterització de contaminants en l'aigua així com els estudis sobre la seva presència i toxicitat que s'han dut a terme durant els últims 50 o 60 anys, han permès obtenir nombroses dades, que s'han utilitzat per establir legislació sobre la seva presència i concentració en l'aigua. Així alguns dels contaminants emergents han estat inclosos en les llistes de substàncies prioritàries. A Europa, per exemple, la protecció i restitució dels recursos hídrics s'articula mitjançant la Directiva Marc de l'Aigua (*DMA*, 2000/60/CE). Aquesta directiva parteix dels següents principis bàsics:

- Us sostenible de l'aigua i protecció dels sistemes hídrics.
- Consolidació dels principis de cautela, i de prevenció
- Consolidació del principi de qui contamina paga
- Compromís de millorar el coneixement i les dades disponibles sobre l'origen de les substàncies prioritàries i les vies de contaminació en general.

Per tal d'assolir aquests objectius, la directiva estableix plans de control en les conques hidrogràfiques i proposa que aquest any 2015 els Estats Membres hagin satisfet les necessitats de la població, respectant el funcionament dels ecosistemes i la protecció de la biodiversitat. A més, el Parlament Europeu i el seu consell van aprovar l'any 2001 una primera llista de 33 substàncies prioritàries que va passar a ser una llista dinàmica de revisió obligada cada 4 anys. De fet, existeix una llista de substàncies que han estat sotmeses a revisió per la seva possible consideració com substàncies prioritàries o bé com substàncies perilloses, i que amplia a 48 la llista de substàncies prioritàries a monitoritzar en les aigües naturals (proposta 2011/0429(COD)). Finalment, d'aquesta llista es van treure els tres últims (17alfa- etinilestradiol, 17beta- estradiol i diclofenac) de manera que queden pendents d'incloure per la propera revisió, depenent de dades de presència i concentració que s'obtinguin durant aquest temps. Aquesta llista, amb les 45 substàncies prioritàries, es troba en l'Annex X de la Directiva 2013/39/UE del Parlament Europeu i del seu Consell, aprovada el 12 d'agost del 2013, per la qual es modifiquen les directives 2000/60/CE i 2008/115/CE pel que fa a substàncies prioritàries en l'àmbit de la política d'aigües.

Recentment, el 20 de març del 2015, es va publicar la decisió d'execució (UE) 2015/495 de la comissió, que inclou una llista d'observació de substàncies que amplia aquesta de 3 a 17 compostos i en la que es troben: 17-alfa-Etinilestradiol (EE2) 17-beta-Estradiol (E2), estrona (E1) Diclofenac 2,6-di-terc-Butil-4-metilfenol, 4-Metoxicinamato de 2-etilhexilo, Antibiótics macròlids (Eritromicina, claritromicina i azitromicina), Metiocarb, Neonicotinoides (Imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, clotianidina, acetamiprid), Oxadiazón i Trialato, ampliant la llista de substàncies a ser monitoritzades i qüestionades per incloure en la propera legislació.

Els futurs candidats a ser inclosos en aquestes llistes de substàncies prioritàries, són els anomenats **contaminants emergents** o més recentment contaminants d'interès emergent (**CECs**, "Contaminants with Emerging Concern"), que es defineixen com aquelles substàncies que no estan legislades, ni incloses en els programes habituals de control i monitorització d'aigües, tot i que s'ha demostrat la seva presència en el medi ambient. La consideració d'un determinat contaminant emergent com a possible candidat a ésser regulat en futures legislacions depèn de la seva (eco)toxicitat, dels potencials efectes sobre la salut, de la percepció pública i de les concentracions en els diferents compartiments ambientals.

Als Estats Units, l'EPA (Agència Protecció Mediambiental) és qui estableix els criteris de qualitat de l'aigua (*Clean Water Act*), i publica periòdicament una llista de contaminants (anomenada *Contaminant Candidate List* o *CCL*). Totes aquestes llistes (*CCL* de l'EPA o la de substàncies prioritàries de la UE), s'utilitzen per prioritzar la investigació i la recopilació de dades necessàries per ajudar a determinar quan un compost específic s'ha de legislar. En aquest sentit, cada dos anys, es publica un recull dels avenços en l'anàlisi de contaminants emergents i de les tendències en les tècniques d'anàlisi, el darrer va ser el 2014 *Anal Chem* 86 (2014) 2813-2848. "*Water Analysis: Emerging contaminants and corrent issues*" (Richardson and Ternes, 2014).

En general, la detecció de noves substàncies en el medi i per tant, els possibles futurs contaminants emergents, va sovint lligada a l'avenç de la instrumentació analítica que permet la identificació de nous compostos a concentracions cada cop més baixes. A partir del moment que es detecten i s'identifiquen, apareix la necessitat de conèixer l'abast de la presència d'aquestes noves substàncies, el seu comportament i la toxicitat en el medi.

Així per exemple, els anys 1970's-1980's els contaminants emergents eren els trihalometans, els hidrocarburs aromàtics policíclics (PAH's) i alguns plaguicides que es podien analitzar amb la instrumentació analítica del moment: cromatografia de gasos (GC)

amb detectors d'ionització de flama (FID), de captura d'electrons (ECD), de nitrogen fòsfor (NPD); cromatografia de líquids (HPLC) amb detectors de fluorescència (FLD), d'ultraviolat-visible (UV), rengles de diodes (DAD) i Cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de masses (GC-MS) i que es detectaven nivells de concentració de µg/L. Als anys 1980's-1990's, l'anàlisi amb GC-MS emprant espectròmetres de masses més sensibles va permetre baixar a nivells de µg/L-ng/L i analitzar dioxines, detergents, i els seus metabòlits. Als anys 1990's-2000's, la instrumentació utilitzada per l'anàlisi ambiental era: GC-MS (ng/L); la cromatografia de gasos acoplada a l'espectrometria de masses en tàndem emprant analitzadors de masses de trampa d'ions, GC-MSⁿ (ng/L) i també la cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses, LC-MS (µg/L), instrumentació que va permetre analitzar compostos com: disruptors endocrins, fàrmacs i difenil èters polibromats (PBDEs) entre d'altres. A partir de l'any 2000, hi ha hagut un gran desenvolupament i utilització a gran escala de la LC-MS (ng/L), tant en tàndem LC-MS/MS (<ng/L) com amb analitzadors d'alta resolució LC-MS-TOF (ng/L), LC-MS-Orbitrap (ng/L) i això ha permès identificar nous compostos orgànics polars a nivells de concentració molt baixos. Des d'aleshores, s'han detectat nombrosos compostos a l'aigua com per exemple: nous productes de desinfecció i de transformació, àcids alquílics polifluorats (PFAAs), nanopartícules (ful.lerens), hormones, compostos farmacèutics i d'ús personal (PPCPs,) (*Contaminants Emergents. Documents de treball, sèrie medi ambient n°5, 2011*), i més recentment les drogues d'abús.

En la última llista d'observació de substàncies prioritàries de la UE (2015/495), ja hi ha incloses algunes hormones i fàrmacs (17-alfa-etinilestradiol (EE2) 17-beta-estradiol (E2), estrona (E1), diclofenac , eritromicina, claritromicina, azitromicina), però les drogues d'abús, considerades també com contaminants *emergents*, no es troben actualment a la proposta d'ampliació de la llista de substàncies prioritàries de la DMA, ni regulades als USA per part de l'EPA, ni contemplades a la legislació d'aigües de cap altre país. De moment, no s'espera la seva regulació a curt termini, si bé autoritats sanitàries de diferents països (França, Alemanya, USA) han iniciat programes per a la seva monitorització en les aigües naturals.

1.2. Contaminants orgànics emergents en l'aigua estudiats en aquest treball.

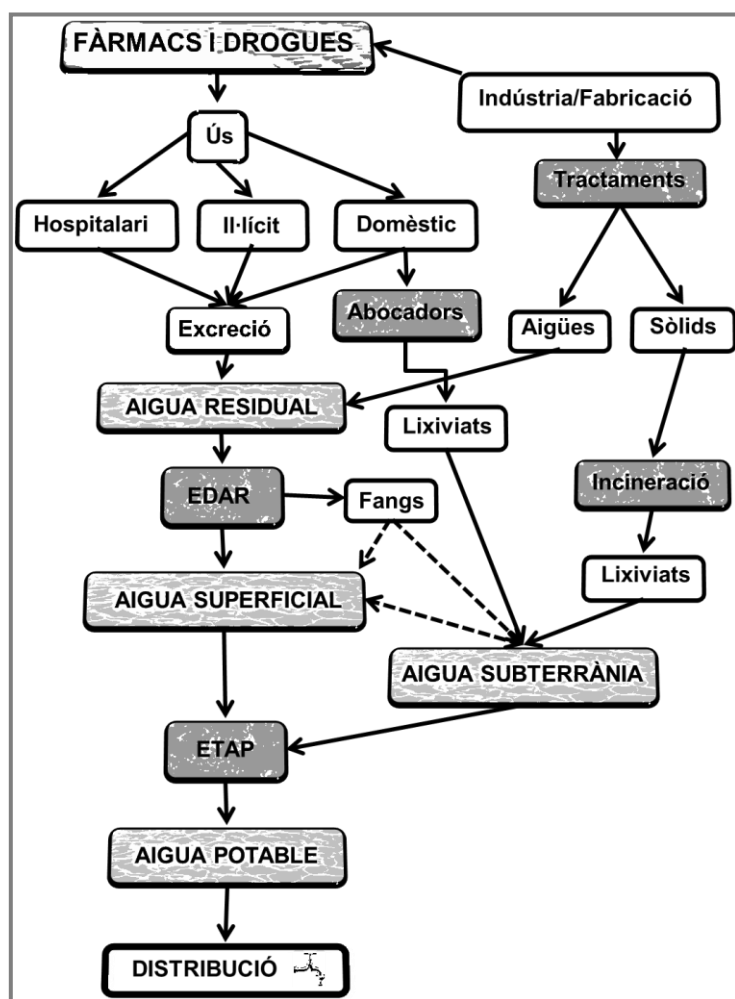
Fonts

Els darrers anys, s'han dut a terme nombrosos estudis dirigits a la caracterització dels contaminants presents en el medi ambient en general, i en el medi aquàtic en particular. Aquests estudis han aportat coneixements sobre l'existència i nivells de concentració d'un gran ventall de compostos orgànics emergents. Entre aquests compostos es poden citar diversos tipus de plastificants, tensioactius, antioxidants, retardants de flama i desinfectants així com fàrmacs i drogues d'abús. Aquests dos últims són objecte d'estudi en la present tesi.

Aquests productes són molt variats i s'empren en higiene personal, i amb finalitats terapèutiques així com d'esbarjo, per la qual cosa s'incorporen al medi de manera inherent al seu ús (generalment a través de les aigües sanitàries), i constitueixen un exemple clar de contaminació difusa o silenciosa. Entendre bé com aquests compostos arriben al medi aquàtic, és de gran importància per comprendre l'abast i la magnitud de la seva presència. Tot i que els fàrmacs es troben a nivells de concentració molt baixos i es coneixen com contaminants a nivells traça, alguns autors (*Daughton and Ternes, 1999*), parlen d'ells com contaminants persistents en el medi, degut a que la seva incorporació és constant i ininterrompuda a partir dels efluent de les plantes de tractament d'aigües residuals i dels sistemes sèptics. Els abocaments puntuals no són freqüents. Tenint en compte que hi ha una tendència a l'augment de l'ús d'aquests compostos, degut a causes tan diverses com la introducció de fàrmacs genèrics, la publicitat dirigida al consumidor, el fàcil accés als productes mitjançant Internet, l'envelliment de la població, l'ús preventiu i finalment l'ús de drogues il·lícites i drogues d'abús que continua creixent, es pot considerar l'excreció com una font constant d'introducció d'aquests compostos al medi aquàtic.

La descàrrega dels efluent de les processos de fabricació es pot considerar també una font d'aportació de fàrmacs al medi aquàtic (figura. 1.1). Normalment, les emissions procedents de la fabricació de productes farmacèutics, estan ben regulades, però aquest podria no ser el cas en els països en vies de desenvolupament. Tot i així, els contaminants

que hi poden arribar a partir dels residus generats en la fabricació, són una part molt petita si es compara amb el gran volum de productes farmacèutics d'ús humà distribuïts i consumits per la població (Williams 2005, Monteiro i Boxall 2010). En ambdós casos els fàrmacs van a parar a les plantes de tractament d'aigües residuals (depuradores) on se sotmeten a tractament. Ara bé, l'aplicació dels fangs de depuradora als sòls agrícoles com a fertilitzants constitueix una via addicional d'introducció d'aquestes substàncies en el medi ambient. (Figura 1.1). (Daughton 2007, Monteiro i Boxall, 2010). També cal tenir en compte com a font de contaminació l'eliminació inadequada dels medicaments no utilitzats o caducats (Díaz-Cruz i Barceló, 2004) i els vessaments accidentals durant la producció o la distribució.



Pel que fa a les drogues, cal distingir entre les il·lícites (entre les que es troben algunes autoritzades per ús terapèutic, com la codeïna o la morfina) i les lícites (o bé no regulades i d'ús molt extens, com per exemple la cafeïna o la nicotina). La proporció de drogues il·lícites d'ús terapèutic és molt baixa i en conseqüència l'aportació al medi a partir d'aquesta font, és negligible en comparació amb el volum de drogues consumides en el món, i només en cas d'abocaments fortuïts i puntuals, hom es pot trobar amb una aportació considerable. La principal font

Figura 1.1. Principals fonts d'aportació dels fàrmacs i les drogues al medi aquàtic (Adaptació de Daughton 2007 (original EPA,2001)).

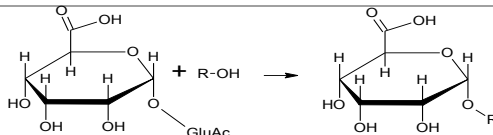
de fàrmacs i drogues al medi aquàtic és doncs, l'excreció i, conseqüentment, els efluents de les plantes de tractament d'aigües residuals.

Actualment es disposa de molta bibliografia sobre aquest tema, sobretot pels fàrmacs. Segons l'EPA, s'han publicat més de quinze mil articles (des de l'any 2008 al 2013, *Daughton and Scuderi (2013)*). Reculls d'aquesta informació al llarg dels anys es poden trobar en diverses recopilacions com per exemple les de *Khetan and Collins (2007)*, *Petrovic et al. (2009)*, *Monteiro and Boxall (2010)*, *Fatta-Kassinos et al (2011)* and *Daughton and Scuderi (2013)*, que avalen que molts d'aquests compostos surten de les plantes de tractament d'aigües residuals, parcial o totalment inalterats i poden arribar així a les aigües superficials. A més, l'utilització dels fangs per adob pot permetre que aquests compostos arribin a les aigües subterrànies (*Ternes 1998*, *Loos et al, 2010*, *Lapworth et al. 2012*). Aquestes aigües, tant les superficials com les subterrànies, són emprades com a matèria prima en les ETAPs (Estacions de Tractament d'Aigües Potables), de manera que en major o menor mesura, i depenent de les característiques del tractament i del contaminant, aquestes substàncies poden arribar a les aixetes dels consumidors. (*Jones et al, 2005*; *Mompelat et al, 2009*; *Monteiro and Boxall, 2010*; *Daughton, 2010*; *Ontario Ministry of Environment MOE, 2010*; *Boxall et al, 2011*; *Valcárcel et al. 2012*).

D'altra banda, els éssers humans, tenen la capacitat de metabolitzar compostos estranys a l'organisme que no tenen rellevància per les funcions energètiques. Dins dels cos, es produeixen una sèrie de reaccions de biotransformació, majoritàriament en el fetge, que modifiquen l'estructura química d'aquests compostos, entre els quals es troben les drogues d'abús i els fàrmacs, de manera que es transformen en molècules més hidrosolubles i de més fàcil eliminació. Aquesta transformació es dona en dues fases. En una primera fase, es produeixen principalment reaccions d'oxidació, reducció, hidròlisi, desalquilacions i deshalogenacions, que provoquen l'aparició de nous grups funcionals en les molècules, donant lloc a un metabòlit més reactiu i més polar, al qual li és més fàcil unir-se a molècules endògenes a la cèl·lula com l'àcid glucurònic, sulfats o aminoàcids, generant compostos conjugats de fàcil eliminació, fet que es produeix en la fase II del metabolisme. Però, totes aquestes reaccions depenen de l'estructura i característiques de la molècula. Així, doncs en funció dels grups funcionals i de la naturalesa del compost, aquest pot reaccionar ràpidament eliminant-se totalment o parcialment com a metabòlit o excretar-se inalterat. A la taula 1.1., s'inclouen les principals reaccions metabòliques que es poden produir quan els fàrmacs i les drogues entren al cos humà. Actualment existeixen una gran varietat de fàrmacs per a tot tipus d'aplicacions terapèutiques utilitzats comunament. Aquests compostos són sovint alterats o metabolitzats quan entren al cos humà, de manera que una combinació de fàrmacs inalterats i metabolitzats són excretats en grans quantitats i en conseqüència arriben al medi aquàtic provinents d'abocaments domèstics i d'hospitals. Pel que fa a les drogues, el comportament és pràcticament idèntic, és a dir en el medi

aquàtic s'hi pot trobar una barreja de drogues inalterades i dels seus metabòlits, que provenen principalment d'abocaments domèstics i, per les drogues il·lícites d'ús terapèutic, també dels hospitals.

Taula 1.1. Possibles reaccions involucrades en el metabolisme de les drogues i els fàrmacs. (adaptació Monteiro 2010).

		Reacció	Exemples
Fase I	Reaccions oxidatives	$\text{R-NH-CH}_3 \rightarrow \text{R-NH-H} + \text{H-C(=O)-H}$	Codeïna Eritromicina
		$\text{R-CH}_2\text{-CH}_3 \rightarrow \text{R-CH(OH)-CH}_3$	Ibuprofè
		$\text{R}_1\text{-N(H)-R}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{-N(OH)-R}_2$	Acetaminofè
		$\text{R-CH(NH}_2\text{)-CH}_3 \rightarrow \text{R-C(OH)(NH}_2\text{)-CH}_3 \rightarrow \text{R-C(=O)-CH}_3 + \text{NH}_3$	
Reaccions d'hidròlisi	$\text{R}_1\text{-C(=O)-O-R}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{-C(=O)-O-H} + \text{R}_2\text{-OH}$	Àcid Acetil Salicíl·lic Clofibrat	
	$\text{R}_1\text{-C(=O)-NH-R}_2 \rightarrow \text{R}_1\text{-C(=O)-O-H} + \text{R}_2\text{-NH}_2$	Indometacina	
Fase II	Reaccions de conjugació		Acetaminofè Morfina
		$\text{R-OH} + \text{PAPS} \rightarrow \text{R-S(=O)}_2\text{-OH} + \text{3'-PHOSPHOADENOSINE-5'-PHOSPHATE}$	Sulfonamides

La presència d'aquestes substàncies en les aigües, es pot considerar un risc ecològic, però a més, tenint en compte que algunes d'aquestes aigües (rius, llacs, pous,...) són utilitzades per obtenir aigua potable que podria contenir traces d'aquests productes, es evident que poden representar un risc potencial per a la salut humana. Ara bé, fins avui no s'han establert nivells permesos en l'aigua potable, i tanmateix, hi ha alguns estudis que

defensen la idea que no hi ha risc per a la salut humana (*Schwab et al 2005; Webb et al 2003*).

Selecció dels compostos

Com ja s'ha comentat, des de les primeres publicacions on es parla de la presència de fàrmacs a l'aigua (*Garrison et al. 1976, Hignite i Azarnhoff 1977*) fins avui dia, i gràcies a l'evolució de les tècniques de detecció, s'han publicat nombroses dades que posen de manifest la presència de fàrmacs en les aigües d'entrada a les plantes depuradores, la parcial eliminació en aquestes plantes i per tant, la presència d'aquestes substàncies en els rius, plantes de tractament d'aigua potable i inclús en l'aigua de distribució. A la dècada dels anys 80 ja s'havia detectat regularment la presència de diversos fàrmacs (p.ex. clofibrate, naproxen, diclofenac) a l'entrada de la planta potabilitzadora de Sant Despí, que eren compostos analitzables amb les limitacions instrumentals (CG-EM) de l'època (AGBAR 1980, Memòries internes. Resultats no publicats).

Tenint en compte també aquests antecedents, es va plantejar la necessitat d'estudiar la presència d'una àmplia varietat de fàrmacs amb les noves tècniques instrumentals actuals en l'aigua del riu Llobregat, a l'entrada a l'ETAP de Sant Joan Despí, que abasteix la ciutat de Barcelona i tota l'àrea metropolitana, i avaluar la seva eliminació durant els processos de tractament emprats. Per altra banda l'any 2005 es va publicar per primera vegada, un estudi sobre la presència de drogues il·lícites en diferents trams del riu Po (Itàlia) (*Zuccato et al 2005*). La presència d'aquests compostos en aigües fluvials i el fet que la font majoritària d'aportació al medi aquàtic fos la mateixa que per als fàrmacs, va propiciar la seva inclusió en l'estudi dut a terme en aquesta memòria.

Per tal d'escollir els fàrmacs a estudiar, es van tenir en compte els que es troben amb més freqüència a les aigües. En concret els identificats en els treballs publicats sobre la presència de fàrmacs en rius espanyols entre els anys 2000 i 2009 (*Farre et al 2001; Rodríguez-Mozaz et al 2004a, 2004b; Gros et al 2006, 2007, 2008; Pedrouzo et al 2007; Kuster et al. 2008; Muñoz et al. 2009*) van servir de base per a una primera selecció dels compostos. També es va valorar el consum a partir de les quantitats (tones) de medicaments venudes que contenen els principis actius més usats. Aquesta informació es troba en les publicacions de *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud* a la

web del Ministeri de Sanitat Espanyol.. (http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol28_5gruposTerapeuticos03.pdf).

Però, a més a més, també es van afegir a la llista de fàrmacs seleccionats, d'altres menys estudiats a la literatura amb l'objectiu d'ampliar el coneixement, per cobrir un gran nombre de classes de productes farmacèutics i per avaluar el potencial d'aquests compostos per sobreviure els processos de potabilització. Segons Daughton 2003, la recopilació de dades de presència negativa i una caracterització més completa dels productes farmacèutics actualment no estudiats, són essencials per assegurar una avaluació holística del risc.

Pel que fa referència a les drogues, els informes de la *United Nations Office on Drugs and Crime* UNODC World Drug Report (*WDR 2013*) posen de manifest que l'ús generalitzat dels opiacis es manté estable amb un lleuger augment del nombre total estimat de consumidors amb els anys degut en gran mesura, a l'augment de la població mundial. El World Drug Report 2007 (*WDR 2007*) corresponent a l'any que es va iniciar l'estudi, els cinc principals mercats d'opiacis de l'Europa occidental són: Anglaterra, Itàlia, França, Alemanya i Espanya. L'heroïna representava més del 70% dels opiacis d'ús il·lícit i els cannabinoides eren la droga més usada a nivell mundial. Quasi 160 milions de persones, que equival al 3,8% de la població mundial en edat compresa entre els 15 i els 64 anys, va consumir cànnabis durant l'any 2005. Aquestes dades suggereixen que tant aquests compostos com els seus metabòlits es poden trobar en les aigües residuals urbanes i en les superficials i per tant, s'han inclòs entre els compostos a estudiar en questa tesi. A la taula 1.2, es llisten els compostos estudiats.

Taula 1.2. Compostos estudiats i el seu nombre CAS

Fàrmacs		CAS #	CAS #
Analgèsic/ antiinflamatori			Cannabinoïdes
Diclofenac	15307-86-5		Δ9-THC
Fenoprofè	53746-45-5		THC-COOH
Ibuprofè	15687-27-1		THC-OH
Indomethacina	91853-74-6		
Ketoprofè	22071-15-4		
àcid Mefenamic	61-68-7		
Naproxè	22204-53-1		
Paracetamol	103-90-2		
àcid Salicilic	69-72-7		
Antibiòtic			
Amoxicilina	26787-78-0		
Azythromycina	117772-70-0		
Carbadox	6804-07-5		
Clorotetraciclina	64-72-2		
Claritromicina	81103-11-9		
Eritromycina	114-07-8		
Lincomicina	859-18-7		
Olaquinox	23696-28-8		
Roxitromicina	80214-83-1		
Sulfadimetoxina	122-11-2		
Sulfametazina	57-68-1		
Sulfametoxazol	723-46-6		
Tetraciclina	64-75-5		
Trimetoprim	738-70-5		
Tilosina	1405-54-5		
Regulador Lipídic/control colesterol			
Bezafibrat	41859-67-0		
àcid Clofibrac	882-09-7		
Fenofibrat	49562-28-9		
Gemfibrozil	25812-30-0		
Mevastatina	73573-88-3		
Pravastatina	81131-70-6		
Simvastatina	79902-63-9		
Antihistamínic/ Gàstric			
4-OH-omeprazol	30166-82-9		
5-O-desmetil omeprazol	151602-49-2		
Cimetidina	51481-61-9		
Famotidina	76824-35-6		
Lansoprazol	103577-45-3		
Omeprazol	73590-58-6		
Ranitidina	66357-35-5		
Contrast Raigs X			
àcid Diatrízoic	117-96-4		
Iohexol	66108-95-0		
Iopromida	73334-07-3		
Barbiturics			
Amobarbital	57-43-2		
Butalbital	77-26-9		
Hexobarbital	56-29-1		
Pentobarbital	76-74-4		
Fenobarbital	50-06-6		
Secobarbital	29071-21-4		
Altres			
Clorhexidina	55-56-1		
Miconazol	22916-47-8		
N-desmetil sildenafil	139755-82-1		
Prednisona	53-03-2		
Sildenafil	139755-83-2		
Tricosan	3380-34-5		
Drogues d'abús.			
Opioides			
Codeïna	76-57-3		
EDDP	466-97-7		
Fentanil	437-38-7		
Heroïna	561-27-3		
Metadona	76-99-3		
Morfina	57-27-2		
Morfina-3β- glucurònid	-		
Norcodeïna	467-15-02		
Normorfina	466-97-7		

1.3. Drogues: Característiques i presència

En l'antiguitat ja es coneixia que algunes plantes curaven o mitigaven el dolor, d'altres mataven i n'hi havia que modificaven l'estat d'ànim o que provocaven visions. Els sumeris i egipcis ja utilitzaven l'opi com analgèsic i tranquil·litzant. Els grecs coneixien les propietats embriagadores del cànem i els metges empraven l'opi com a fàrmac i ingredient del antídote universal. A Roma l'opi ja era objecte d'adulteracions i era considerat de tanta importància que el preu era intervingut i l'ús era restringir segons l'edat i estatus social. De fet, l'opi va ser durant mil·lennis una droga de gran importància a la cultura occidental. Inclús va provocar la "guerra de l'opi" entre Anglaterra i la Xina (1839-1842).

Al segle XIX, els apotecaris i farmacèutics es van començar a distanciar dels herbolaris i va començar la recerca dels principis actius, és a dir les substàncies de les plantes que són responsables dels seus efectes. A partir de l'aïllament dels principis actius, ja no es depenia de les collites ni de si una substància determinada es trobava a més o menys concentració a la planta, se'n podia graduar fàcilment la dosi i els efectes. L'any 1804, el farmacèutic Friedrich Sertürner va aïllar un alcaloide de l'opi que va anomenar *morphium* i es va encetar una nova línia en la indústria farmacèutica. Després de la morfina es va aïllar la codeïna (1832) i la heroïna (1897), entre d'altres. A mitjans del segle XIX es va descobrir que la morfina no solament era un potent somnífer sinó que també era un gran anestèsic. En un principi, la morfina, també s'usava per tractar l'alcoholisme i l'addicció a l'opi. Quan va aparèixer l'heroïna (derivat diacetilat de la morfina) es va voler utilitzar per curar els addictes a la morfina, la qual cosa va comportar un cercle viciós. L'heroïna es va sintetitzar l'any 1897 per l'equip de químics de l'empresa Bayer, tot i que està documentat que anteriorment a l'any 1874 va ser sintetitzada per primer cop per C.R. Alder Wright, però no li va donar un ús comercial. En un principi també es va pensar que la heroïna no generava addicció, però la generada per aquest derivat de l'opi és fins vuit vegades superior a la de la morfina. Quan es va comprovar el poder d'addicció de la heroïna, l'any 1910, Bayer va deixar de fabricar-la. A la figura 1.2 es mostren diverses presentacions comercials del cànnabis, heroïna i morfina de venda lliure fins la segona dècada del segle XX.

Convé remarcar que la paraula droga ha experimentat una sèrie de canvis al llarg de la història. La venda i ús d'espècies a Europa a principis segle XVI va donar lloc a l'aparició d'aquest mot que es referia especialment als condiments aromàtics. Posteriorment l'ús

farmacèutic d'algunes espècies va desplaçar el significat de la paraula cap al camp de la medicina i es va convertir en un sinònim d'estupefaent. Al segle XIX la pràctica i l'abús dels narcòtics naturals ja formava part dels costums excèntrics dels artistes i bohemis i a partir d'aquest moment es coneix com a "droga" tota substància que altera l'estat d'ànim, la percepció o el coneixement.



Imatges extretes de:
"dossiers. Presència juliol 2010"

<http://perso.wanadoo.es/jcuso/drogas-medicamentos/heroina-jarabe-bayer.htm>

Figura 1.2. Presentacions comercials del cànnabis , heroïna i morfina.

Des d'un punt de vista científic, una droga és una substància d'origen natural o sintètic que afecta les funcions dels organismes vius. Els fàrmacs que afecten especialment el sistema nerviós central, format pel cervell i la medul·la espinal, s'anomenen psicoactius. Aquestes substàncies són capaces d'inhibir el dolor, modificar l'estat anímic o alterar les percepcions. Les drogues psicoactives, es classifiquen depenent de l'acció que tenen sobre el sistema nerviós central (NCS). Segons aquesta classificació, les drogues poden ser estimulants o depressores. Entre les drogues depressores, es troben aquelles substàncies que tenen la capacitat d'alentir el funcionament habitual del cervell, provocant reaccions que poden anar des de la desinhibició fins al coma en un procés progressiu d'adormiment cerebral. Els cannabinoides i els opioides, formen part les drogues depressores.

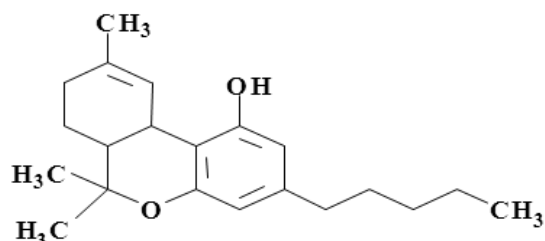
1.3.1. Cannabinoides.



http://ca.wikipedia.org/wiki/Fitxer:Cannabis_sativa_Koehler_drawing.jpg

Segons el *World Drug Report 2013* (WDR 2013), l'ús del cànnabis ha augmentat, en particular a Àsia des del 2009. Les regions del món on l'ús continua essent alt són l'Àfrica de l'Est i central (12,4%), Oceania (10,9%), Nord Amèrica (10,7%) i Europa Occidental i Central (7,6%). A Nord Amèrica, i en molts llocs de l'Europa Occidental i Central, es considera que l'ús es manté estable o inclús presenta una certa tendència a disminuir. El percentatge es refereix a la població que tenen entre 15 i 64 anys d'edat, i que han consumit aquesta droga durant el darrer any.

El cànnabis, cànem de l'Índia, marihuana o vulgarment herba o maria, o també anomenada "verdesca" (*Cannabis sativa*) és una espècie herbàcia que pertany a la família de les cannabàcies. La planta *Cànnabis Sativa* conté més de 60 cannabinoides diferents, el més actiu dels quals és el tetrahidrocannabinol (THC o Δ^9 -THC). Aquest es troba en diferents parts de la planta en quantitats que van de les traces al 12% en pes (Baselt, 2004). El Δ^9 -tetrahidrocannabinol, és psicoactiu i químicament estable (Coleman, 2010).



Pel seu consum el cànnabis es presenta en dues formes bàsiques: la marihuana i el haixix. La marihuana és una mescla de flors, troncs i fulles seques de la planta femella i conté del 5 al 15% de THC.. El haixix és la resina que s'obté de les flors i la part més alta de les fulles i conté fins un 20% de THC. La seva toxicitat és major que la de la marihuana. L'administració pot ser per via oral o bé fumant. La dosi efectiva quan es fuma està entre 2 i 22 mg, mentre que quan es pren oralment està entre 20 i 90 mg. En condicions normals, quan es fuma es consumeix entre un 16 i un 19% del THC, la resta es pirolitza.

Després del consum el THC és ràpidament metabolitzat a THC-OH (*11-hidroxi- Δ 9-tetrahidrocannabinol*), metabòlit farmacològicament actiu, així com també al metabòlit inactiu THC-COOH (*11-nor-9-carboxi- Δ 9-tetrahidrocannabinol*), i altres derivats minoritaris. A la Figura 1.3. es mostren els metabòlits principals del cànnabis en el cos humà i s'indiquen algunes de les principals característiques fisico-químiques. El THC, al cap de les 72h, és excretat en un 70%; un 49% en les femtes i 30% per l'orina (Baselt, 2004). El metabòlit THC-OH, no només és més potent que el THC, sinó que a més penetra al cervell més ràpidament. Pel que fa a l'altre metabòlit THC-COOH, encara que sigui inactiu, és el principal metabòlit trobat a l'orina (Un 70% del THC és excretat com a THC-COOH (Castiglioni et al. 2006b), i això fa que sigui utilitzat com a marcador del cànnabis en els protocols d'anàlisi d'ús de drogues.

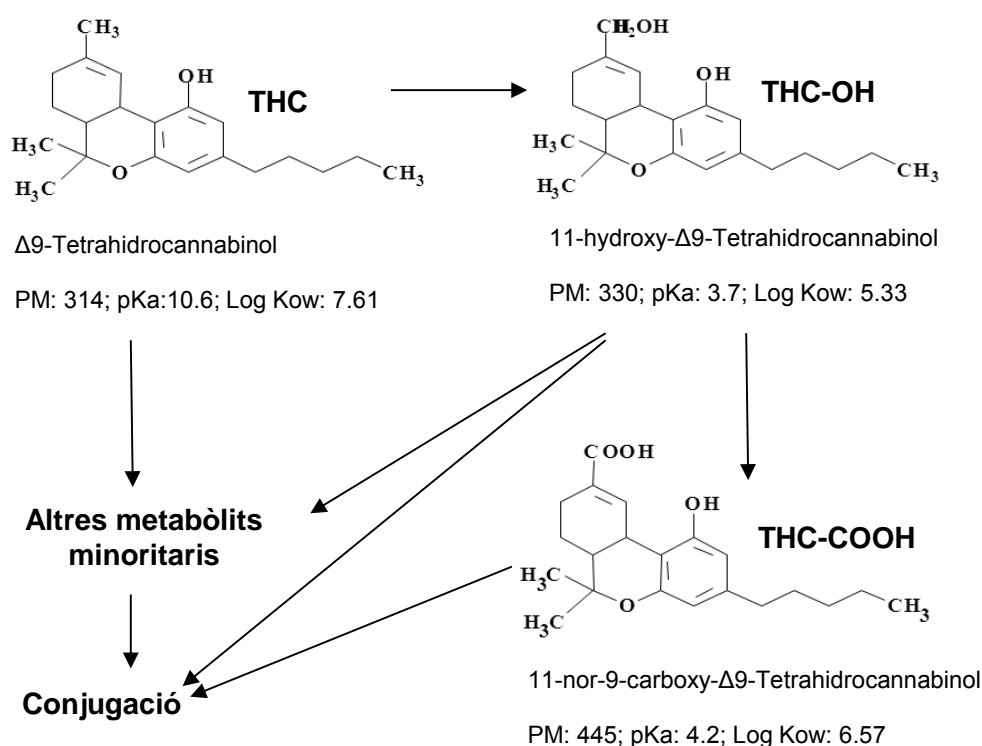


Figura 1.3. Metabolisme del Cànnabis en l'home. (Adaptat de Baselt, 2004)

1.3.2. Opioides: Opiacis i Opioides.



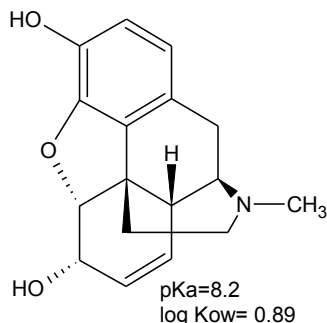
©. 1988 Credit: Mark Nesbitt and Delwen Samuel
<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Papaversomniferum.jpg>

Un opiaci és una substància derivada de la planta de rosella (que conté opi) . El terme **opiaci**, fa referència als alcaloides que es troben en l'extracte de les llavors que hi ha dins el cascall de les roselles de la planta *Papaver somniferum L.* (opi). Aquestes substàncies derivades de l'opi i per tant, naturals, redueixen l'activitat del sistema nerviós central. Són opiacis comuns la morfina i la codeïna,

ambdues obtingudes directament de les plantes de rosella. En canvi, els **opioides** poden ser tant substàncies derivades de l'opi com substàncies amb una activitat semblant a la de l'opi, de manera que el terme **opioides** és més genèric. Els **opioides** també inclouen els opioides endògens (les endorfines, les encefalines i les dinorfines), que són substàncies generades pel propi cos que tenen una activitat semblant a la de l'opi, i els opioides sintètics o semi-sintètics (l'heroïna i la metadona, entre d'altres), que també actuen d'una manera similar a la de l'opi. Cal tenir clar, però que els opioides poden actuar igual que els opiacis en el cos humà.

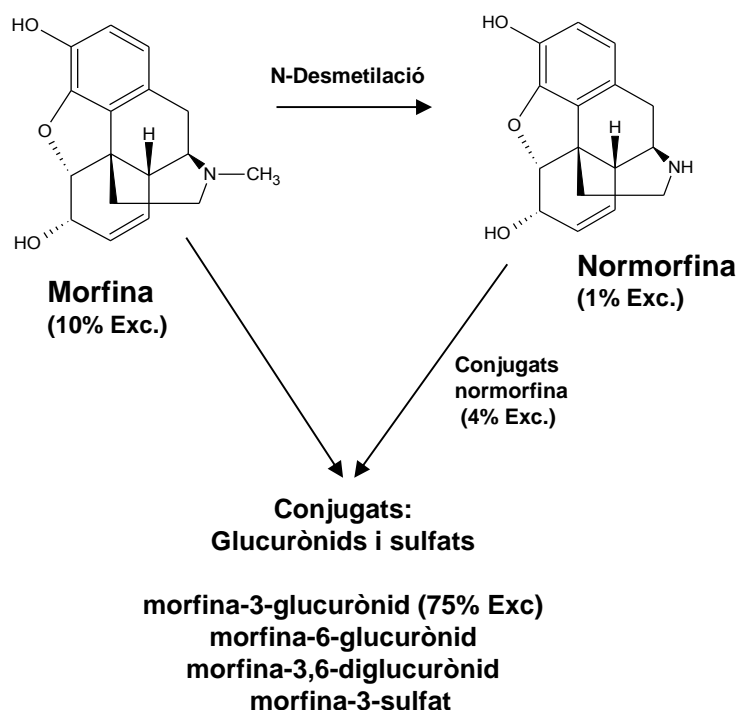
Actualment, els termes s'usen indistintament, però es tendeix a utilitzar el terme "**opioides**" per referir-se a totes les substàncies similars a l'opi (incloent opiacis i opioides), i limitar l'ús de "**opiacis**" de la rosella d'opi pels derivats naturals com la morfina. És a dir els opiacis són opioides, però no tots els opioides poden ser classificats com opiacis.

En el darrer informe *World Drug Report 2013 (WDR 2013)* ja es distingeix entre opioides i opiacis. Segons aquest informe, l'ús dels opioides ha augmentat a Àsia des del 2009, sobretot a l'Est i al Sud-Est. Les regions del món on la prevalença de l'ús dels opioides està per sobre de la mitjana mundial són: Nord Amèrica (3.9%), Oceania (3.0%), Àsia de l'Est (1.9%) i Europa Occidental i Sud-Occidental (1.2%). Pel que fa als opiacis, destaquen amb valors de percentatges de prevalença per sobre la mitjana Àsia de l'Est (1,2%), Àsia Central (0,8%), Europa Occidental i Sud-Occidental (0,8%), Nord Amèrica (0.5%) i Àfrica de l'Est i Central (0,4%). Igual que pels cannabinoides, el percentatge es refereix a la població que té entre 15 i 64 anys d'edat, i que han consumit aquesta droga durant el 2013.

MORFINA:

L'opi conté més de 20 alcaloides actius i d'aquests, el que es va aïllar primer (1804, Freidrich Sertürner), és la morfina. El seu nom prové de Morfeo, déu grec de la son, degut a la somnolència que provoca. La morfina, $C_{17}H_{19}NO_3$, és el més abundant dels alcaloides de l'opi i estroba a concentracions que van del 4 al 21% en la planta. Només una petita quantitat de la morfina que s'obté de l'opi s'utilitza directament, la resta es converteix en codeïna i altres derivats. La substitució dels grups hidroxil i la desmetilació permet modificar àmpliament les capacitats analgèsiques de la morfina, des de reduir-les fins a potenciar-les centenars de vegades.

La morfina és una de les drogues més conegudes per la seva eficàcia en l'alleugeriment del dolor intens. Tradicionalment, s'utilitzava quasi exclusivament per injecció, no obstant, avui en dia, es comercialitza en diverses formes, incloent-hi solucions orals,

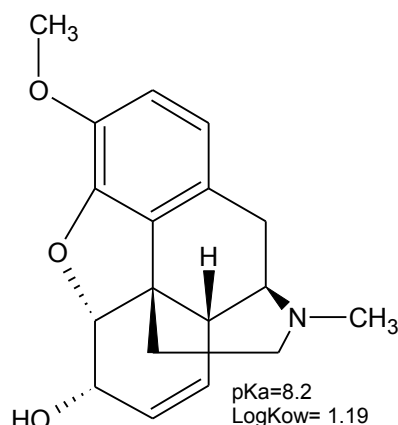


(Percentatges d'excreció sobre el 40% de la dosi de morfina, després de 72h de l'administració) (Baselt, 2004)

Figura 1.4. Metabolisme de la morfina en l'home.

comprimits, càpsules i preparacions injectables. Aproximadament, un 5% de la dosi, correspon al compost N-desmetilat, **normorfina**, la qual és menys activa que la morfina, i no contribueix significativament als efectes farmacològics. La normorfina s'excreta per la orina (1% en forma lliure i un 4% conjugada). La major part de la morfina administrada es converteix en **morfina-3-glucurònid** (un 75% en la orina al cap de 72 h de l'administració de la morfina, mentre que la morfina que s'excreta per la orina en forma lliure és tan sols un 10% de la dosi). Entre els altres conjugats de la morfina (figura 1.4) la morfina-6-glucurònid està considerat un metabòlit actiu i es creu que contribueix a l'activitat analgèsica (Baselt, 2004).

CODEÏNA:



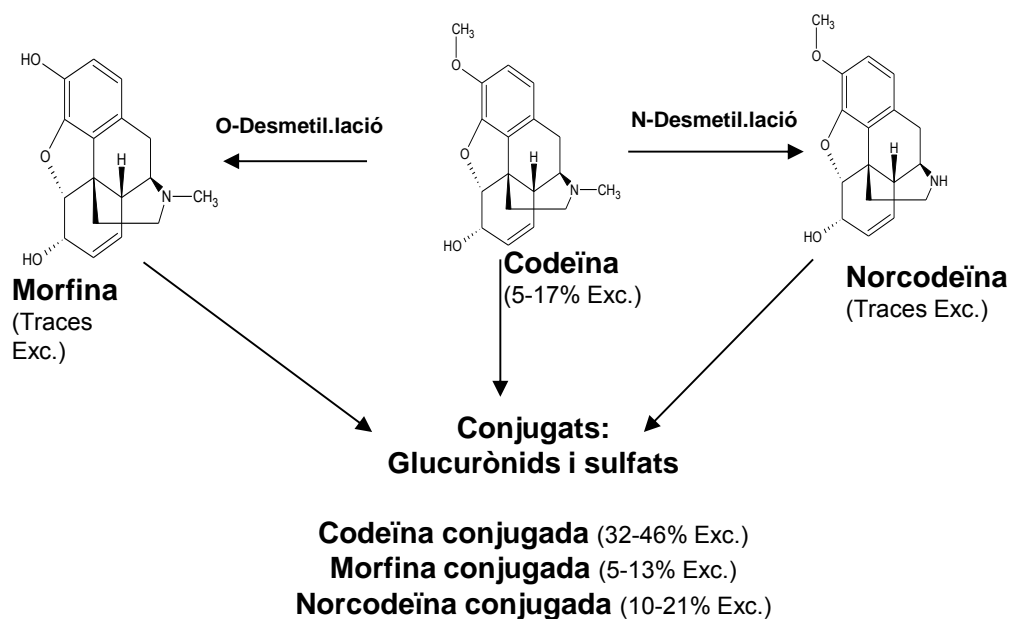
La codeïna és l'opiàci més usat en medicina. Es va aïllar en l'any 1832. La seva estructura és igual a la de la morfina però un dels grups hidroxil ha estat substituït per un grup metoxil. Aquest alcaloide es troba en l'opi a concentracions entre 0.7 a 2.5 %. De totes maneres, la major part de la codeïna que es consumeix, es produeix a partir de la 3-O-metil·lació de la morfina, que com ja s'ha comentat, està present en més quantitat en la planta

Papaver somniferum. Els efectes de la codeïna com a analgèsic, sedant i depressor respiratori són més lleus que els de la morfina, tot i que és efectiva com a antitossiú. Normalment es pren oralment, encara que també com a solució injectable. També es pot trobar en nombroses preparacions en combinació amb analgèsics (no narcòtics), antihistamínics o altres principis actius. Degut a les seves propietats depressores del sistema nerviós central, els productes amb codeïna, es troben també en el mercat negre juntament amb altres drogues d'abús.

Quan entra al cos humà, es biotransforma en **morfina** mitjançant una O-desmetil·lació, i en **norcodeïna** via una N-demetil·lació. Tots tres compostos són excretats per l'orina en forma lliure o bé com a glucurònids. Així, després de la ingesta a l'orina es troba d'un 5 a un 17% de codeïna lliure, d'un 32% a un 46% de codeïna conjugada, traces de norcodeïna, del 10 al 21% de norcodeïna conjugada, traces de morfina i d'un 5 a un 13% de morfina conjugada (figura 1.5) (Baselt, 2004). Així, després d'administrar codeïna, la

relació de concentració en l'orina entre **codeïna / morfina**, és >1 durant les primeres 24h; <1 entre les 24 i les 30h mentre que després de les 30h només es detecta morfina.

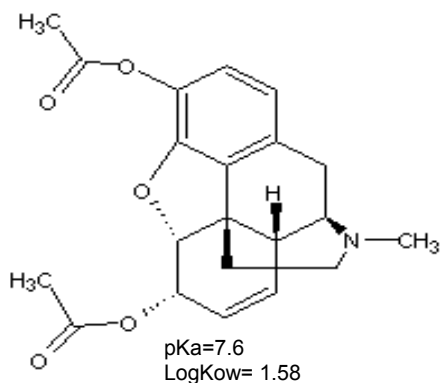
Totes aquestes dades han estat, i són, importants per dur a terme càlculs de dosis en els programes de detecció de drogues d'abús, i en aquest estudi per saber quins components es poden trobar com a contaminants en el medi aquàtic.



(Percentatges d'excreció sobre el 95% de la dosi de codeïna, després de 48h de l'administració) (Baselt, 2004)

Figura 1.5. Metabolisme de la codeïna en l'home.

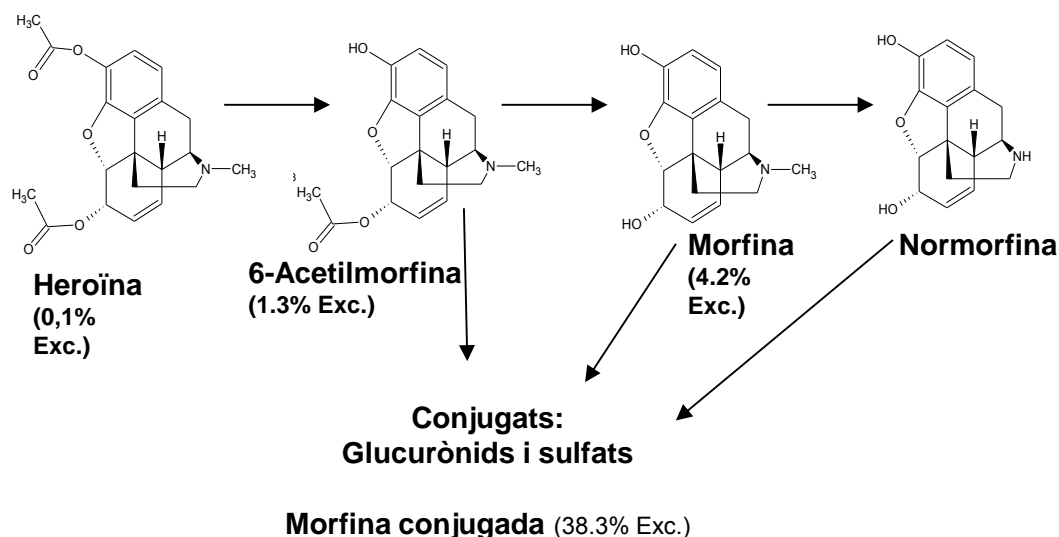
HEROÏNA:



L'heroïna (diacetil morfina o diamorfina) va ser sintetitzada per primer cop l'any 1874, i és un potent narcòtic depressor que pràcticament destrueix l'habilitat de raonament de qui la pren. S'acostuma a administrar per via intravenosa, però també es fuma barrejada amb marihuana i/o altres drogues, o s'insufla via nasal. El consum de l'heroïna desenvolupa molt ràpidament tolerància, la qual cosa fa que s'hagi d'augmentar la dosi paulatinament per

obtenir els mateixos efectes. Quan hom ja n'és dependent, s'utilitza per evitar l'estat de necessitat que crea aquesta substància.

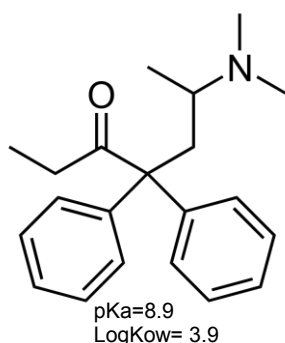
Quan entra al cos humà, es desacetil·la ràpidament a **6-acetil morfina**, i aquesta s'hidrolitza a **morfina**. Així al cap de 40h, es troba un 45% de la dosi d'heroïna ingerida, en forma de morfina (4,2), morfina conjugada (38,3%), 6-acetil morfina (1,3%) i tant sols un 0,1% com a heroïna lliure (*Baselt, 2004*), (figura 1.6).



(Percentatges d'excreció en orina sobre el 45% de la dosi d'heroïna, després de 40h de l'administració) (*Baselt, 2004*)

Figura 1.6. Metabolisme de la heroïna en l'home.

METADONA:



La metadona, és un opiàtic sintètic, la síntesi del qual es va desenvolupar durant la segona guerra mundial degut a l'escassetat de morfina i s'ha utilitzat clínicament des del 1947 als Estats Units. Tot i que químicament no s'assembla a la morfina ni a l'heroïna, la metadona produeix majoritàriament els mateixos efectes. Avui dia el principal ús de la metadona és el tractament per l'addicció a l'heroïna. S'administra com a solució oral, comprimits o solucions injectables, essent quasi tant efectiva quan s'administra

oralment com quan s'injecta. Comercialment està disponible com a salt d'una barreja racèmica i l'activitat farmacològica es quasi tota deguda a un dels isòmers ((*R*)-enantiòmer) (*Melis et al, 2011*).

Els efectes de la metadona poden durar fins a 24 hores, la qual cosa permet l'administració d'un cop al dia en els programes de desintoxicació. L'administració prolongada de metadona, també desenvolupa tolerància i dependència, però el síndrome d'abstinència és més suau, tot i que és més prolongat, que el síndrome d'abstinència de l'heroïna. Irònicament, la metadona, utilitzada per al control narcòtic, es troba freqüentment en el mercat negre de drogues i ha estat associada a morts per sobredosi. Quan la metadona entra al cos humà, és metabolitzada per mono- i di-N-desmetilació i posterior ciclació a **2-etilidè-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina (EDDP)** i **2-etil-5-metil-3,3-difenilpirrolidina (EMDP)** (figura 1.7.). Els tres compostos són també hidrolitzats en la posició *para* d'un dels fenils i conjugats a glucurònids. Al cap de 24h de prendre una dosi de metadona, es troben a l'orina entre un 5 i un 50% de metadona lliure, d'un 3 a un 25% de EDDP, i tan sols traces de EMDP. Existeixen grans variacions individuals depenent del pH de l'orina, el volum, la dosi i el metabolisme de l'individu. Tanmateix existeixen estudis que corroboren que, la relació entre la concentració de EDDP i de metadona augmenta amb el temps, així si es subministra metadona diàriament durant diversos dies aquesta relació augmenta, per exemple en 26 dies varia del 0,6% el primer dia a un 1,8% l'últim (Baselt, 2004).

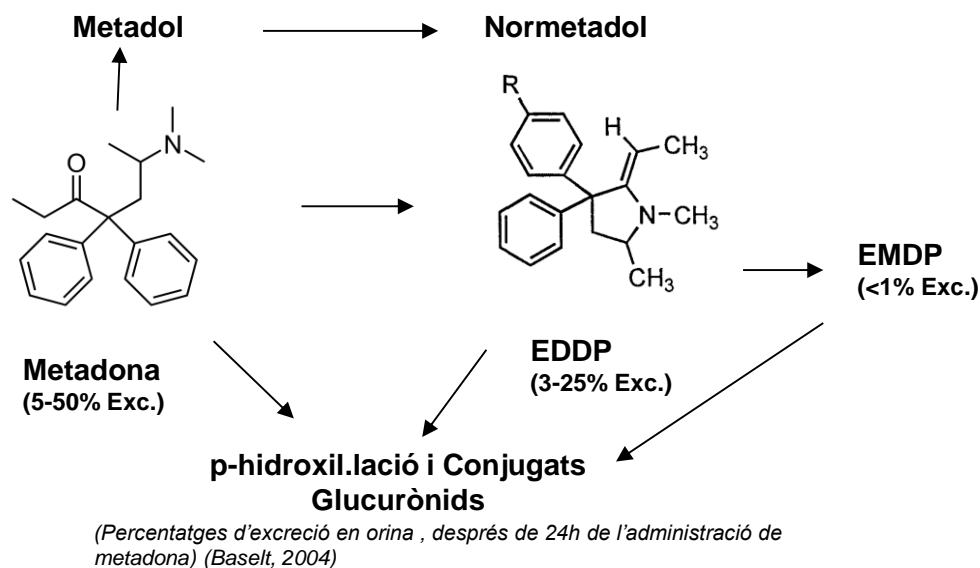
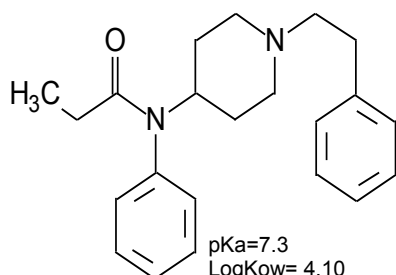


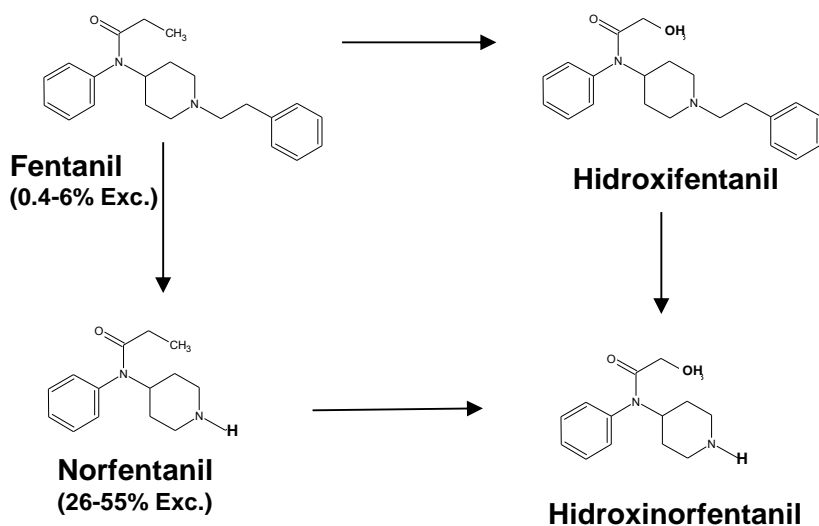
Figura 1.7. Metabolisme de la metadona en l'home

FENTANIL:

El **fentanil**, és un opiaci sintètic, l'acció analgèsica del qual, és prop de 100 vegades més potent que la de la morfina i 50 vegades més potent que la de l'heroïna. Es va introduir amb finalitats clíniques l'any 1963, sobretot per a l'anestèsia en les operacions quirúrgiques i per al control del dolor crònic.

Es presenta en una gran varietat de formes i combinacions amb d'altres principis actius. Les seves característiques principals són l'elevada potència i el reduït temps d'acció. És una droga controlada per les autoritats sanitàries i el seu abús no és molt estès encara que provoca efectes eufòrics. Als anys 1970, es van sintetitzar derivats del fentanil amb finalitats il·lícites, per exemple el **metilfentanil** mil vegades més potent que l'heroïna o el **Carfentanil** deu mil vegades més potent que la morfina (Coleman, 2010).

A la figura 1.8, es mostra el metabolisme humà del fentanil. Més del 85% de la dosi intravenosa de fentanil, és excretada per l'orina al cap de 3-4 dies. Un 0,4-6% s'excreta com fentanil lliure i un 26-55% com **norfentanil** (Fig.1.8). L'**hidroxifentanil** i l'**hidroxinorfentanil** també s'han descrit com a productes del metabolisme del fentanil (Baselt, 2004).



(Percentatges d'excreció en orina sobre el 85% de la dosi de fentanil, després de 3-4 dies de l'administració) (Baselt, 2004)

Figura 1.8. Metabolisme del Fentanil en l'home.

Pel que fa referència als log Kow, en el cas dels opioïdes estudiats, majoritàriament presenten valors < 4 , excepte el fentanil (4.10), per tant tindran tendència a ser hidrofílics i en conseqüència a trobar-se a l'aigua (fase dissolta). Els metabòlits de la morfina, normorfina i morfina-3-glucurònid, són encara més hidrofílics i presenten valors de log Kow inferiors. Pel que fa referència als seus pKa ls opioïdes estudiats mostren en general, un comportament més aviat.

1.3.3. Presència en el medi aquàtic dels cannabinoïdes i els opioïdes.

Opioïdes i cannabinoïdes en aigües residuals.

Tal com s'ha comentat, les drogues arriben a les aigües residuals sobretot via l'excreció humana després del seu ús, legal o il·legal. Els nivells de concentració als que es troben les drogues en l'orina del consumidor, és de l'ordre de mg/L (ppm), però els nivells de concentració en les aigües residuals, decreix un ordre de magnitud i es troben de l'ordre de µg/L (ppb) (*Baselt, 2004; Castiglioni, et al. 2008*). Pel que fa als nivells de concentració en les aigües superficials i a l'eficiència de l'eliminació d'una determinada planta de tractament de aigües residuals (EDAR), dependrà bàsicament, de les tecnologies aplicades en l'EDAR, la concentració de les drogues a l'entrada i a la natura i comportament fisicoquímic de cada droga en particular.

El nombre de publicacions sobre drogues d'abús, que han aparegut des del 2005, en que *Zuccato et al.* van publicar el primer recull de dades sobre la presència de drogues il·lícites (cocaïna i el seu metabòlit benzoïlecgonina) en aigües residuals i superficials, on també es fa referència a la utilització de les dades sobre presència de drogues en aigües residuals per calcular el consum per part de la població, no ha fet més que augmentar. Des del 1995 fins 2013, s'han publicat 135 articles (PUBMED) sobre drogues d'abús en aigües residuals, dels quals 122 ho han estat entre el 2008 i el 2013 (*Prichard et al. 2014*). Això ens dóna una idea de la importància que ha adquirit aquest tema d'investigació a nivell mundial.

A la taula 1.3, s'inclouen les dades de la literatura sobre la concentració (ng/L) de les drogues d'abús estudiades en aquesta tesi en aigües residuals a l'entrada i sortida d'EDARs, en diferents llocs del món, i a la figura 1.9, s'han resumit gràficament els valors del % d'eliminació de les drogues d'abús incloses en aquesta taula. Cal indicar que la major part dels treballs de la literatura han estat publicats al mateix temps que els d'aquesta tesi (2007- 2012). Els valors de les drogues d'abús a l'entrada de les EDARs permeten tenir una idea del consum d'aquestes en la localitat on està situada l'EDAR. En canvi, els valors a la sortida de les EDARs posen de manifest la contaminació potencial que trobarem en les aigües superficials.

Els opioides més estudiats en aigües residuals, són: la morfina, la 6-acetilmorfina (metabòlit de l'heroïna), la metadona i els seu principal metabòlit l'EDDP. En general, la major part dels opioides, es troben a les entrades de les EDARs, a excepció de l'heroïna i el fentanil, que majoritàriament no han estat detectats. En el cas de l'heroïna, s'han trobat algunes mostres positives, però depenent de l'autor i la metodologia emprada les mostres poden correspondre a concentracions molt diferents, atès que hi ha una gran variació en els valors dels límits de quantificació (LOQs) (entre 0.78 ng/L (*Postigo et al 2008b*) i 154 ng/L (*Baker et al 2011*)). El que si que s'ha trobat amb freqüència a l'entrada de les plantes de tractament d'aigua, és el seu metabòlit principal, la 6-acetilmorfina. En el cas del fentanil, el metabòlit d'excreció àmpliament majoritari és el norfentanil (figura 1.8), i aquest hauria de ser el compost identificat, ara bé la presència d'aquest compost en aigües no ha estat estudiada fins avui.

La morfina és un dels opiacis més estudiats i del que s'han trobat nivells alts de concentració, que van dels 12.3 ng/L (*Mari et al., 2009*) als 1637 ng/L (*Nefau et al., 2013*) a l'entrada de les EDARs. Pel que fa referència a la seva eliminació en les plantes de tractament d'aigües residuals (figura 1.9), els valors de la literatura són molt dispers i van del 8% (*Berset et al., 2010*) al 98% (*Castiglioni et al. 2008*). L'hidròlisi del glucurònid, la morfina s'excreta en aquesta forma en un 75%, durant el tractament en les depuradores pot explicar els baixos valors d'eliminació a les sortides d'algunes EDARS (*Castiglioni, et al., 2006*).

La codeïna s'ha detectat en tots els estudis d'aigües residuals reportats a la taula 1.3, tant a l'entrada com a la sortida de las EDARs, amb una mitjana d'eliminació del 54%. Tal com passa amb la morfina, la desconjugació és un factor a tenir en compte a l'hora d'explicar els percentatges d'eliminacions de la codeïna en les EDARs (figura 1.9). A l'entrada s'han trobat valors entre 42 ng/L i 8191 ng/L (*Castiglioni et al. 2011*),

Taula 1.3. Presència en aigües residuals de les drogues d'abús estudiades.

Droga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
Morfina	83.3-204.4 ^c	<3,95 (LOQ) ^a , 55.4 ^c	Itàlia - Suïssa	Castiglioni et al., 2006, 2007
	310 ^c	40 ^c	Alemanya	Hummel et al., 2006
	-	663 ^c	Irlanda	Bones et al., 2007 ^b
	146-196 ^b	17-25 ^b	Catalunya	Postigo et al., 2008 ^b
	12.3	-	Itàlia	Mari et al., 2009
	300 ^c	25 ^c	Alemanya	Wick et al., 2009
	1007 ^c	929 ^c	Suïssa	Berset et al., 2010
	137 ^c	102 ^c	Espanya	Gonzalez-Mariño et al., 2010
	54.2-166.0 ^b	5.4-80.5 ^b	Espanya	Postigo et al., 2010 [*]
	160-476 ^b	18-101 ^b	Croàcia	Terzic et al., 2010 [*]
	481.2 ^c	130.7 ^c	Anglaterra	Baker et al., 2011
	90-275 ^b	60-155 ^b	Espanya	Matínez Bueno et al., 2011
	112-1261 ^{b,c}	-	Itàlia, Suïssa	Castiglioni et al., 2011

Droga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
Morfina (cont.)	400-1600 ^b	4-75 ^b	Holanda	De Voogt et al., 2011
	-	5-45	Catalunya	Pedrouzo et al., 2011
	1346	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	21	-	Espanya	Gonzalez-Mariño et al., 2012
	71-1637 ^b	-	França	Nefau et al., 2013 [*]
	<0.15 ^d	<0.15 ^d	Itàlia	Repice et al., 2013
	339-394 ^b	-	Anglaterra	Baker et al., 2014 [*]
	183-1099 ^b	-	Suècia	Östman et al., 2014 [*]
	28.0-168 ^b	-	Finlàndia	Vuori et al., 2014 [*]
	15-36 ^b	<3 (LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
	202.6 ^c	61.9 ^c	Anglaterra	Baker et al., 2011
	51.2-69.2 ^b	-	Anglaterra	Baker et al., 2014 [*]
	<6(LOQ)-5 ^b	<3 (LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
Morfina & alucornid	2.5-18.1	<0.63 (LOQ)	Itàlia-Suïssa	Castiglioni et al., 2006
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
Codeïna	159-364 ^b	88-206 ^b	Croàcia	<i>Terzic et al., 2010</i>
	2121.2 ^c	436.9 ^c	Anglaterra	<i>Baker et al., 2011</i>
	234-1556 ^b	289-786 ^b	Espanya	<i>Matínez Bueno et al, 2011</i>
	42-8191 ^b	-	Itàlia, Suïssa	<i>Castiglioni et al, 2011</i>
	45-370 ^b	2-230 ^b	Holanda	<i>De Voogt et al., 2011</i>
	275-335 ^b	110-126 ^b	Itàlia	<i>Repice et al., 2013</i>
	1088-1270 ^b	-	Anglaterra	<i>Baker et al., 2014*</i>
	403-971 ^b	-	Suècia	<i>Östman et al 2014*</i>
	610-1630 ^b	-	Finlandia	<i>Vuori et al 2014*</i>
	2316-6460 ^b	<(LOQ)-3783	Xipre	<i>Hapeshi et al., 2015</i>
	111.7 ^c	32.8 ^c	Anglaterra	<i>Baker et al., 2011</i>
	30.2-34.6 ^b	-	Anglaterra	<i>Baker et al., 2014*</i>
Norcodeïna	<(LOQ)-1356 ^b	<(LOQ)-418 ^b	Xipre	<i>Hapeshi et al., 2015</i>
	<0.78 (LOQ) -2	<0.78 (LOQ) -1	Catalunya	<i>Postigo et al., 2008b</i>
	<0.78(LOQ)	<0.78(LOQ)	Espanya	<i>Postigo et al., 2010*</i>
Heroïna	<154 LOQ) ^c	<140 LOQ) ^c	Anglaterra	<i>Baker et al., 2011</i>

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
6-Acetil morfina	<90 (LOQ)	<80 (LOQ)	Espanya	<i>Matínez Bueno et al, 2011</i>
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	<i>Hapeshi et al., 2015</i>
	11.8-10.4	<5.3 (LOQ)	Itàlia - Suïssa	<i>Castiglioni et al, 2006</i>
	<2 (LOQ)	-	Bèlgica	<i>Van Nuijs et al., 2009a</i>
	<5 (LOQ)-82 ^b	<5 (LOQ)	Suïssa	<i>Berset et al., 2010</i>
	1.3-4.0 ^b	-	Espanya	<i>Postigo et al., 2010*</i>
	3.3-28 ^b	<0.2-6.8 ^b	Croàcia	<i>Terzic et al., 2010</i>
	22.2 ^c	<2.6(LOQ) ^c	Anglaterra	<i>Baker et al., 2011</i>
	<75 (LOQ)	<65 (LOQ)	Espanya	<i>Matínez Bueno et al, 2011</i>
	2-14 ^{b,c}	-	Itàlia Suïssa	<i>Castiglioni et al, 2011</i>
	63	-	Catalunya	<i>Postigo et al., 2011</i>
	2-33 ^b	-	Bèlgica	<i>Van Nuijs et al., 2011b</i>
<10(LOQ)	<10(LOQ)	Itàlia	<i>Repice et al., 2013</i>	
3-14.6 ^b	-	Anglaterra	<i>Baker et al., 2014*</i>	
<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	<i>Hapeshi et al., 2015</i>	

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
Metadona (cont.)	1.09-46.9 ^b	-	Finlandia	Vuori et al., 2014*
	450-6071 ^b	<(LOQ)-398 ^b	Xipre	Hapeshi et al., 2015
EDDP	19.8 ^c -91.3 ^c	22.6 ^c -72.1 ^c	Itàlia - Suïssa	Castiglioni et al., 2006
	-	82.5 ^c	Irlanda	Bones et al., 2007b
	3-98 ^b	-	Bèlgica	Van Nuijs et al., 2009a
	153-634 ^b	151-442 ^b	Suïssa	Berset et al., 2010
	71-156 ^b	74-163 ^b	Croàcia	Terzic et al., 2010
	193.0 ^c	89.1 ^c	Anglaterra	Baker et al., 2011
	64-542 ^b	49-90 ^b	Espanya	Matinez Bueno et al., 2011
	9262	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	27-158 ^b	-	Bèlgica	Van Nuijs et al., 2011b
	22.3-54.6 ^b	21.0-33.9 ^b	Espanya	Gonzalez-Mariño et al., 2012
	6-260 ^b	10-246 ^b	França	Nefau et al., 2013*
	70.8-86.6 ^b	-	Anglaterra	Baker et al., 2014*
	3577 ^c	-	Xina	Khan et al., 2014*
22-114 ^b	-	Finlandia	Kankaanpää et al., 2014*	

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
Metadona	11.6 ^c -49.7 ^c	9.1 ^c -36.2 ^c	Itàlia - Suïssa	Castiglioni et al., 2006
	14-59 ^{b,c}	-	US	Chiara et al., 2008
	88	87	Alemanya	Wick et al., 2009
	<1 (LOQ)-48 ^b	-	Bèlgica	Van Nuijs et al., 2009a
	42-202 ^b	44-128 ^b	Suïssa	Berset et al., 2010
	25-94 ^b	20-60 ^b	Croàcia	Terzic et al., 2010
	87.9 ^c	49.6 ^c	Anglaterra	Baker et al., 2011
	19-127 ^b	15-80 ^b	Espanya	Matinez Bueno et al., 2011
	13-50 ^{b,c}	-	Itàlia, Suïssa	Castiglioni et al., 2011
	4704	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	14-105 ^b	-	Bèlgica	Van Nuijs et al., 2011b
	15.1-33.4 ^b	15.2-20.0 ^b	Espanya	Gonzalez-Mariño et al., 2012
	42-234 ^b	40-145 ^b	França	Nefau et al., 2013*
	52.4-59.8 ^b	-	Anglaterra	Baker et al., 2014*
2978 ^c	-	Xina	Khan et al., 2014*	
1.83-49.9 ^b	-	Suècia	Östman et al., 2014*	

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
EDDP (cont.)	1.83-50.1 ^b	-	Suècia	Östman et al 2014*
	0.59-42.1 ^b	-	Finlàndia	Vuori et al 2014*
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
Fentanil	<0.6(LOQ) ^c	<0.8(LOQ) ^c	Anglaterra	Baker et al., 2011
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
THC	18 ^c	6.5 ^c	Catalunya	Postigo et al., 2008b
	<LOQ-48.4	<LOQ	Espanya	Postigo et al., 2010*
	67 ^c	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
THC-COOH	62.7 ^c -91.2 ^c	<1.75 (LOQ) ^c -7.2 ^c	Itàlia - Suïssa	Castiglioni et al., 2006
	<4000	<800	Espanya	Bijlsma et al. 2009
	<100(LOQ)	<100(LOQ)	Suïssa	Berset et al., 2010
	10.6-21.7 ^b	5.4-72.8 ^b	Espanya	Postigo et al., 2010*
	116 ^c	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	55.7-228 ^b	<20(LOQ)-32.2 ^b	Espanya	Gonzalez-Mariño et al., 2012
	44-1196 ^b	5-161 ^b	França	Nefau et al., 2013*

Druga	Entrada EDAR (ng/L)	Sortida EDAR (ng/L)	Lloc geogràfic	Referència
THC-COOH (cont.)	18.8-940.2	<LOQ	Espanya	Andrés-Costa et al., 2014*
	0.22-86.5 ^b	-	Finlàndia	Vuori et al 2014*
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015
THC-OH	2.3-90.9 ^b	<LOQ-0.4 ^b	Espanya	Postigo et al., 2010*
	<LOQ	-	Catalunya	Postigo et al., 2011
	<(LOQ)	<(LOQ)	Xipre	Hapeshi et al., 2015

^a LOQ Límit de quantificació; ^b Interval de concentració (ng/L); ^c valor mitjà de concentracions (ng/L); "-" dada no disponible.

depenent sobretot de l'EDAR (població, ciutat) i a la sortida de 2 ng/L (De Voogt et al., 2011) i 3783 ng/L (Hapeshi et al., 2015). L'eliminació més alta (79%) s'ha trobat en una EDAR d'Anglaterra (Baker et al., 2011), on a part de la codeïna també s'han trobat nivells alts d'eliminació en d'altres drogues estudiades (morfina 73%, normorfina 69%, norcodeïna 71%, 6-acetil morfina 94%, metadona 44% i EDDP 54%).

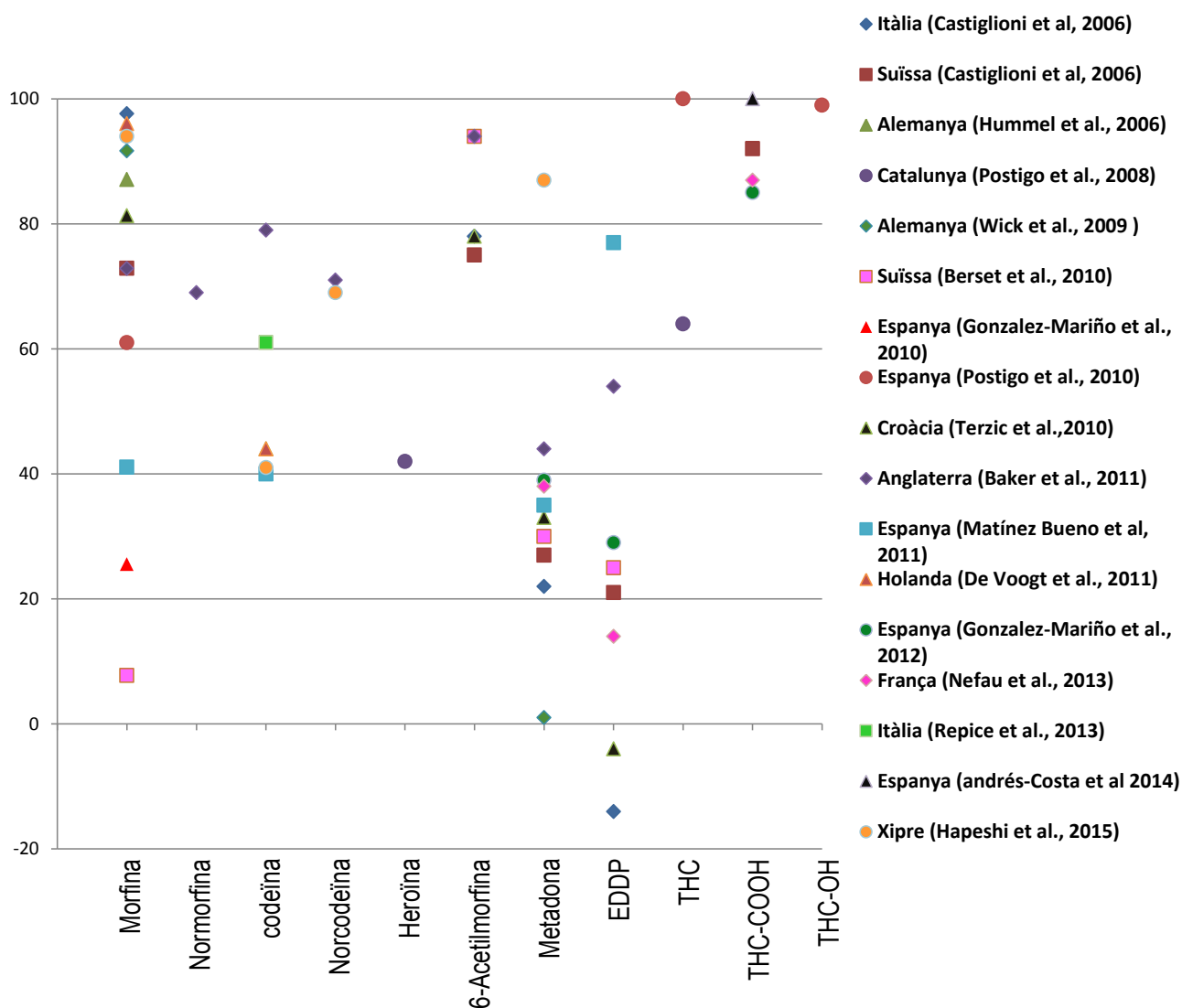


Figura 1.9 % eliminacions en EDARS de les drogues estudiades.

Uns dels compostos més àmpliament estudiats, pel seu consum tant en el mercat negre com també en els programes de desintoxicació de l'heroïna, són la metadona i el seu principal metabòlit l'EDDP. Ambdós es troben a nivells considerables (taula 1.3) tant a l'entrada (1.09-6071 ng/L metadona i 0.59-9262 ng/L EDDP) com a la sortida (9-398 ng/L metadona i 10-442 ng/L EDDP), destacant els nivells trobats en les aigües residuals d'una

presó (4704 ng/L metadona i 9262 ng/L EDDP) (Postigo et al., 2011). Pel que fa als percentatges d'eliminació (figura 1.9), tant per la metadona (interval d'eliminacions de 1 al 87%) amb una mitjana del 36% , com pel EDDP (del -14 al 77%), amb una mitjana d'eliminacions del mateix ordre, són baixes eliminacions i inclús en algun cas es troben eliminacions negatives pel EDDP (Castiglioni et al, 2006, Terzic et al.,2010). Un cop més aquestes eliminacions es poden explicar per desconjugacions que tenen lloc durant el tractament a l'EDAR ja que l'excreció de les formes conjugades és important en ambdós casos (figura 1.7.)

Pel que fa als **cannabinoïdes**, tan sols es tenen concentracions d'entrada i sortida d'EDARS en treballs del mateix autor pel THC i el THC-OH (Postigo et al. 2008b; 2010 i 2011), la resta d'estudis utilitzen les dades a l'entrada de les EDAR per fer càlculs de consums i no miren les sortides. A més, un dels treballs en el que la concentració THC de és elevada (67 ng/L), no correspon, a l'entrada d'una EDAR, sinó a l'aportació en un punt que recull les aigües residuals d'una presó de Barcelona (Postigo et al. 2011). També han estat estudiats per Hapeshi et al., 2015, però en aquest cas no es van trobar valors per sobre dels LOQs ni a l'entra ni a la sortida de les EDARs. En canvi el seu metabòlit principal, el THC-COOH, ha estat estudiat més cops, trobant-se a concentracions que van des de 0.22 ng/L (Vuori et al., 2014) als 1196 ng/L (Nefau et al., 2013) a l'entrada d'EDARs i de 5 ng/L a 161 ng/L a la sortida (Nefau et al., 2013). Pel que fa referència a les eliminacions (figura 1.9) tant el THC com el THC-OH s'eliminen pràcticament del tot, però pel THC-COOH es troben valors molt dispersos, en general entre del 100% (Andrés-Costa et al. 2014) i el 85% (Gonzalez-Mariño et al., 2012), però també generació del compost (-142%) (Postigo et al., 2010), que suggereixen la desconjugació per enzims β -glucuronidasa de bacteris fecals presents en les aigües residuals durant el procés de depuració. Aquests processos s'han observat també per a altres compostos conjugats, per exemple s'ha observat l'hidròlisi de la morfina-3 β -D-glucurònid a morfina lliure en un test d'estabilitat de 3 dies en aigua residual (Castiglioni 2006). També cal esmentar que darrerament, s'ha publicat un estudi (Boix et al. 2014), on es posa de manifest la importància d'estudiar possibles subproductes generats durant els tractaments. En concret en aquest treball es van estudiar els potencials subproductes del THC-COOH que es poden obtenir per cloració, hidròlisi i fotodegradació amb radiació UV o solar.

Com ja s'ha comentat, les concentracions de drogues a les aigües residuals s'utilitzen per estimar el consum en el que avui dia es coneix com **epidemiologia en aigües residuals ("Sewage epidemiology")**. Normalment, l'estimació dels consumidors de drogues il·lícites es basa en enquestes a la població i en altres fonts d'informació com per exemple

demandes de tractament, producció de droga, detencions i confiscacions, entre d'altres, i això pot donar lloc a un marge d'error considerable. Ja l'any 2001 Daughton suggeria que l'anàlisi de drogues en aigües podia representar una manera més acurada de calcular els consumidors i les pautes de consum (Daughton , 2001). El primer treball en portar aquesta idea a la pràctica fou el de *Zuccato et al. (2005)*, que van considerar que les càrregues de diversos influents d'EDARs reflectien l'excreció directa de drogues corresponents als consumidors de les poblacions servides per aquestes EDARs.

Aquest és un camp d'investigació emergent que en els últims anys ha adquirit molta importància. De fet des de l'any 1995 a l'octubre del 2013 s'han publicat més de 135 articles (*Prichard et al.2014*) que fan referència a aquest tema, dels quals 122 han estat publicats entre el 2008 i el 2013, quan aquest camp va experimentar un increment considerable. Per l'epidemiologia de les drogues d'abús en aigües residuals, diversos autors han publicat percentatges pels seus països i comentat la necessitat d'aquests càlculs. A la Taula 1.3. s'indiquen amb un “*” els autors que han fet estudis d'aquest tipus a partir de les dades d'aquesta taula.

Per estimar els consums de drogues a partir de les concentracions en les aigües residuals, cal en primer lloc escollir el compost a utilitzar, ja sigui la pròpia droga o bé el metabòlit més adient i determinar les concentracions a l'aigua d'entrada a l'EDAR (*Castiglioni et al. 2014*). Els valors obtinguts s'han de corregir pel flux diari, la qual cosa permet obtenir la càrrega diària (p.e. g/dia). A més, s'ha de tenir en compte el metabolisme de la droga en el cos humà i per tant, el percentatge d'excreció; s'ha de corregir el valor obtingut per la població servida (p.e. g/dia x 1000 habitants) i finalment si el que es vol és donar el valor com a dosi de droga, cal tenir en compte els mg o g que conté una dosi mitjana de la droga.

En la taula 1.4., adaptada de l'article de *Castiglioni et al , 2014*, es reflecteix clarament el tipus d'informació que proporcionen els estudis epidemiològics tradicionals, com per exemple les enquestes, i el que proporciona l'anàlisi de les aigües residuals, que presenta l'avantatge de proporcionar informació a temps real del consum de drogues, per exemple es poden detectar clarament els increments de consums durant els caps de setmana o bé les vacances. També pot donar informació de la manera com s'administren i, si es fan estudis retrospectius, conèixer on i quan apareixen noves drogues. El que l'anàlisi d'aigües residuals d'una població no proporciona, és informació de la freqüència d'ús de cada consumidor, del perfil d'aquests consumidors i de la puresa i el preu de les drogues. En canvi, els estudis

Taula 1.4. Comparació de la informació donada pels estudis epidemiològics tradicionals v.s. la donada per l'anàlisi d'aigües residuals (adaptació Castiglioni et al. 2014)

Tipus d'Informació	Estudis epidemiològics tradicionals	Anàlisi d'aigües residuals
Estimació del consum		
Freqüència d'ús	Sí	No
Canvis en la rutina d'ús (diàriament, setmanalment...)	No	Sí
Manera com es consumeix (administració)	Sí	Sí
Usuaris (edat, sexe...)	Sí	No
Puresa i preu de la droga	Sí	No
Tendències: Drogues emergents	No	Sí
Metodologia		
Costos dels estudis elevats	Sí	No
Estimacions a temps real	No	Sí
Anàlisi retrospectiva	No	Sí

epidemiològics tradicionals permeten obtenir informació de la freqüència i modes d'administració de les drogues, així com dels preus i puresa d'aquestes i del perfil dels usuaris, encara que no donen informació a temps real i són molt cars. Així doncs, les informacions que aporten els dos tipus d'estudis són complementaries, i per això la tendència actual és d'utilitzar-los conjuntament. De totes maneres els resultats donen idea, encara que sigui aproximada del consum. En un estudi d'estimació de consum de drogues, a partir de l'anàlisi en les aigües residuals, que es va realitzar els anys 2011- 2013 que abarca a uns 24,74 milions de persones repartides en diverses ciutats europees (*Thomas et al 2012; Castiglioni et al 2013; Ort et al 2014*) es posen de manifest els avantatges i problemes que presenta aquest sistema de càlcul. Atès que les dades d'aquest estudi epidemiològic, estan d'acord amb les dades publicades per les entitats de vigilància a la drogoaddicció, el procediment sembla que pot ser aplicable. A més, els resultats evidencien diferències entre els llocs i períodes de mostreig i per tant, el procediment ofereix la oportunitat de tenir informació, gairebé a temps real, del consum per part de la població d'un lloc concret i de regions en general, així com d'avaluar tendències d'ús de determinades drogues. De totes maneres com ja s'ha comentat, no tot són avantatges i en aquesta línia és interessant el

treball de *Ort et al., 2014*, on es fa una avaluació de les dificultats i la incertesa associada a aquesta metodologia. Així per exemple, parlen de les dificultats del mostreig (que ha de ser representatiu), de la incertesa aportada per l'anàlisi en sí, de la mesura dels cabals d'entrada a les diferents EDARS (m^3/dia) i de l'estimació de la població. Totes aquestes dificultats comporten segons els autors una incertesa global del càlcul per cada droga del 30%. Una de les dificultats que es van trobar, precisament va ser que les dades demogràfiques que obtenien d'una ciutat, no sempre coincidien amb les dades publicades a nivell nacional. També van proposar buscar estratègies de mostreig per a que aquest fos representatiu de tot l'any i no depengués tant de l'època en que es mostra (estació de l'any, vacances, etc.). Una altra dificultat constatada és que amb les dades que s'obtenen, no es pot diferenciar entre un nombre reduït de persones que consumeixen gran quantitat de droga o a la inversa. També, per acabar de minimitzar la incertesa associada a aquesta estimació, proposen fer interlaboratoris i ampliar els mostresos a fi de obtenir més dades. En aquesta línia de l'epidemiologia en les aigües residuals, han sorgit també recentment, moltes publicacions on els autors exposen les necessitats de tenir unes guies estandarditzades i ètiques per fer aquests càlculs i minimitzar els diferents components a la incertesa del càlcul i poder comparar les diferents publicacions (*van Nuijs et al 2011; Zuccato et al 2011; Castiglioni et al 2013, 2014; ; Burgard et al 2014; Jones et al 2014; Prichard et al.2014; Vuori 2014*).

A la taula 1.5. es llisten les dades de consum obtingudes aplicant el procediment de mesura de les concentracions a les aigües residuals de les drogues d'abús estudiades en aquesta tesi. El que primer destaca és el nombre de publicacions del darrer any (2014) en aquest tema, que confirma la importància creixent de l'epidemiologia en l'anàlisi d'aigües residuals. No s'han trobat càlculs de consums per: morfina- 3β -glucurònid i $\Delta 9$ -THC. Això segurament és degut a que morfina- 3β -glucurònid ha estat molt poc estudiada, i pel $\Delta 9$ -THC, el que es té en compte per fer els càlculs de consums de cànnabis són els seus metabòlits, sobretot THC-COOH.

Precisament pel cànnabis, destaquen els valors del metabòlit àcid que van trobar *Postigo et al 2010*, quan mostrejaven les aigües residuals d'una presó de Barcelona i els trobats per *Andrés-Costa et al., 2014* en una zona de valència amb molta activitat nocturna. *Nefau et al 2013*, van mostrejar durant els dies de la setmana i el cap de setmana (99.6 i 88 mg/d/1000hb de THCCOOH, respectivament), i no van trobar diferències prou significatives per arribar a conclusions sobre de tendències de consums entre dies laborables i no laborables. També *Khan et al 2014*, van analitzar THC-COOH, però no en van trobar, fet que

Taula 1.5. Consum de drogues (mg/dia per 1000 habitants) calculat a partir de les concentracions de drogues d'abús en aigües residuals.

Referència	Droga (mg/dia/1000hb)	Codeïna	EDDP	Heroïna	6-AM	Metadona	Morfina	Norcodeïna	Normorfina	THC-COOH	THC-OH
Zuccato et al 2008	Milà			70 ^a			32			20	
	Lugano			100 ^a			102			43	
	Londres			210 ^a			173			50	
Postigo et al 2010	presó de Barcelona			795 - 63594 ^d		1677.5 - 7060				375 - 2193 ^b	
	Barcelona			183 - 363 ^d		n/a				3690 ^b	72 - 123 ^c
Terzic et al., 2010	Croàcia			262 ^a							
Lai et al., 2011	Austràlia		34.8 - 60.8			13				364 - 1410 ^b	
Baker et al. 2012	Rep. Txeca					38 ^e					
Nefau et al, 2013	França					117,9-70,7				99.6 ^b -88 ^b	
Yargeau et al, 2013	Canadà			81 ^a							
Andrés-Costa et al., 2014	València									1579-12422	
Khan et al, 2014	Xina		0,93		0,47	0,35				-	
Baker et al, 2014	Anglaterra	1240	112		5,2	75	282	37,2	69		
Kankappa et al, 2014	Finlàndia					40 - 150 ^e					
Östman et al 2014	Suècia	110 - 520	0.5 - 29.3			0.5 - 29	50-350				
Vuori et al 2014	Finlàndia	130 - 367	0.12 - 11.5			0.87 - 12.8	10.6 - 50.7			0.05 - 23.6	

^a Heroïna calculada a partir dels càlculs de la morfina. Restant -hi al total trobat de morfina, el que es calcula que cada població consumeix de morfina teraèutica. ^b cannabis calculat com THCCOOH. ^c Cannabis calculat com THCOH. ^d heroïna a partir 6-acetilmorfina. ^e metadona calculada amb EDDP.

concorda també amb les dades publicades UNODC i que confirma que el cànnabis no es una droga habitual a Xina si es compara amb Europa o Austràlia. Pel que fa a l'heroïna, la major part dels autors (*Zuccato et al 2008*, *Terzic et al 2010*, *Yargeau et al 2013*), fan els càlculs a partir de les concentracions trobades de morfina, tenint en compte el percentatge

d'heroïna excretada com morfina i restant-hi el consum que en fa la població de morfina terapèutica. D'altres (*Postigo et al 2010, Baker et al 2014*) defensen que es poden fer els càlculs a partir de la 6-acetilmorfina atès que fer els càlculs a partir de la morfina pot portar a errors, sobretot en poblacions on l'ús terapèutic de la morfina i la codeïna està molt estès, com és el cas d'Anglaterra (*Baker et al 2014*). Els consums d'heroïna es troben entre els 70 i 363 mg/d/1000hb, ja siguin els calculats a partir de la 6-acetilmorfina com a partir de la morfina, si hom no té en compte els valors trobats per *Postigo et al 2010* (fins a 63594 mg/d/1000hb) en una presó de Barcelona, que destaquen per alts comparats amb la resta. Per la metadona els càlculs normalment es fan a partir del seu principal metabòlit, l'EDDP. També en aquest cas, els valors trobats en la presó de Barcelona (*Postigo et al 2010*), destaquen per ser molt alts (1677.5 – 7060 mg/d/1000hb), comparats amb la resta de valors trobats en d'altres poblacions (0.35 – 150 mg/d/1000hb). En aquest cas, es pot explicar pels programes de desintoxicació de la heroïna amb metadona, que es porten a terme en aquesta presó. Pel que fa a la resta de dades recollides en la taula 1.5, els autors declaren estar en concordança amb les publicades per les entitats de vigilància a la drogoaddicció dels diferents països, posant de manifest un cop més la validesa d'aquest tipus de càlculs. Ara bé, cal tenir present la possible generació de metabòlits i altres subproductes de les drogues d'abús, així com també l'estabilitat de tots aquests compostos, en aigües residuals, a fi de poder treure conclusions adequades (*Baker et al 2012, 2014; van Nuijs et al 2012; Castiglioni et al 2013*).

Cannabinoides i opioides en aigües superficials, subterrànies i potables

La presència de les drogues d'abús en les **aigües superficials**, es deu principalment a la incompleta eliminació d'aquestes durant el tractament en les depuradores com s'ha comentat a l'apartat anterior. Ara bé, les concentracions de les drogues d'abús en les aigües superficials són menors que les trobades a la sortida de les depuradores, degut a un efecte de dilució. Així doncs, els nivells de concentració que es poden esperar en una zona determinada del riu són inversament proporcionals a la distància al punt de descàrrega de les depuradores (*Bones et al., 2007b*). Tanmateix, la dilució dels contaminants està directament relacionada amb el flux i les característiques del riu que rep la descàrrega i així els rius cabalosos i turbulents permeten una ràpida barreja i dilució de les substàncies abocades (*Castiglioni et al., 2011*). Així, per exemple, els càlculs de factors de dilució realitzats per *Postigo et al., 2010*, en diferents abocaments de depuradores al llarg del riu

Ebre, posen de manifest les diferències en la diluïció dels contaminants en diferents punts d'un mateix riu (factors entre 3 i 1785).

També es va trobar gran variabilitat entre les diferents estacions de l'any i diferents rius d'Itàlia (*Zuccato et al. 2005, 2008; Castiglioni et al. 2006*), d'Espanya (*Huerta-Fontela et al. 2007, 2008b; Postigo et al. 2010; Vázquez-Roig et al. 2010; Gonzalez Mariño et al. 2010; Martínez Bueno et al. 2011; Valcárcel et al. 2012; Mendoza et al. 2014a,b*), a Alemanya (*Hummel et al., 2006*); a Irlanda (*Bones et al. 2007*), a Polònia (*Kasprzyk-Hordern et al., 2007*); al Regne Unit (*Kasprzyk-Hordern et al., 2007, 2008a,b, 2009*), a Suïssa (*Berset et al. 2010*), a Holanda (*van der Aa et al. 2013*) i a Bèlgica (*Gheorge et al., 2008; van Nuijs et al., 2009a,b*). Això lliga amb el que ha estat reportat en la literatura (*Terzic et al., 2010; Pal et al., 2013*), on les eficiències d'eliminació de les drogues d'abús i els seus metabòlits en les EDARs, depenen de la temperatura de l'estació de l'any, degut a que aquesta incideix directament en la biotransformació durant el procés de depuració, i també la biotransformació que es produeix en els rius.

A la taula 1.6. s'inclou un recull dels estudis sobre la presència de cannabinoides i opioides en aigües superficials. En contrast amb els estudis en aigües residuals, que en alguns casos estan dirigits a avaluar el consum de drogues, els estudis en aigües superficials, bàsicament pretenen tenir un coneixement dels nivells de concentració en les aigües ja que en molts casos, aquestes són utilitzades per ser potabilitzades i distribuïdes a la població.

En la taula 1.6, veiem com els **opioides** més estudiats en aigües superficials, són precisament els mateixos que en les aigües residuals: la morfina, la 6-acetilmorfina (metabòlit de l'heroïna), la metadona i els seu principal metabòlit EDDP, encara que també s'ha avaluat amb freqüència la presència de codeïna i heroïna. L'heroïna, la 6-acetilmorfina i el fentanil, no han estat detectats en cap dels estudis reportats en la taula 1.6., la qual cosa concorda amb el fet que normalment no es detecten a la sortida de les EDARs (Taula 1.3). Tal com s'ha comentat abans, l'heroïna s'excreta com a tal en un 0,1% i la 6-acetilmorfina en un 1.5% (*Baselt 2004*), i a més, tan una com l'altre tendeixen a disminuir de concentració amb el temps i la temperatura (*Baker et al. 2012, 2014*). Tot i així l'heroïna es pot trobar en aigües superficials, fruit d'algun abocament. Pel que fa al fentanil, també s'excreta com a tal amb un percentatge baix d'excreció (0.4-6%, *Baselt 2004*), i també presenta una baixa estabilitat en aigües residuals (-8.3%; *Baker et al. 2012, 2014*). Per tot això no ens ha d'estranyar no trobar-los en l'aigua superficial.

La normorfina i la norcodeïna tan sols han estat estudiades en un riu d'Anglaterra on no s'han detectat, (o a nivells molt baixos la norcodeïna 8.9 ng/L) encara que en el mateix treball s'havien detectat a la sortida d'EDARs, (taula 1.3). En aquest cas, es podria explicar per l'efecte dilució, ja que les concentracions als abocaments de les EDARs no són elevades i l'efecte de dilució pot comportar valors no superiors o molt propers, als LOQ de les metodologies analítiques emprades. A més cal recordar que aquests dos compostos tenien percentatges d'excreció molt baixos (1% i traces respectivament).

Els estudis reportats a la taula 1.6 sobre la presència de morfina en aigües superficials, posen de manifest que aquesta substància amb freqüència hi és present, ja que en tots ells es va trobar com a mínim en alguna de les mostres estudiades per sobre dels LOQs (0.04-10 ng/L). L'interval de nivells de concentració va des de valors propers als LOQs fins als 35 ng/L, tot i que, per exemple *Mendoza et al., 2014*, la troba (als rius Manzanares i Jarama), amb una freqüència del 100% amb puntes de concentració properes als 150 ng/L, que com els seus autors reconeixen, es un valor per sobre dels trobats tant en els rius espanyols com en els europeus. La codeïna, també es s'ha trobat en alguna de les mostres reportades a la taula 1.6, amb un interval general de concentració entre els LOQs (0.03-30 ng/L) i prop de 50 ng/L, tot i que en tres estudis, *Gonzalez-Mariño et al., 2010; Baker et al., 2011 i Martínez Bueno 2011*, es van trobar valors més alts (149- 341 ng/L). Aquests també són resultats esperables, ja que en totes les sortides de les EDARS de la taula 1.3, la codeïna hi era present a concentracions més elevades que les trobades en les aigües superficials. A més cal tenir en compte que augmenta de concentració en el temps (+12.4%, *Baker et al 2012, 2014*). Es important també destacar que en general, els percentatges d'excreció juguen un rol important a l'hora de trobar-los o no.

Pel que fa referència a la metadona i el seu metabòlit principal EDDP, aquests compostos s'han trobat per sobre dels LOQs en pràcticament tots els rius estudiats i els intervals de concentració reportats van de < LOQ (0.01-2) a 54,8 ng/L per la metadona i de < LOQ (1.56-30) a 151 pel EDDP, i precisament els valors màxims per als dos compostos corresponen als rius Jarama i Manzanares, com en el cas de la morfina (*Mendoza et al., 2014*). Per aquest dos compostos, metadona i EDDP, hi ha autors que declaren que augmenten de concentració amb la temperatura i en el temps (+5% i +2% respectivament, *Castiglioni et al 2006*, o +9% per la metadona, *van Nuijs et al 2012*), i d'altres que disminueixen (-6.7% i -12.8% respectivament, *Baker et al 2012, 2014* o -5% pel EDDP, *van Nuijs et al 2012*). Per tant, hom pot pensar que aquesta presència generalitzada es déu exclusivament a la seva presència en les aigües residuals (sortida d'EDARs entre 3.4-732 ng/L per la metadona i entre 2.7-442 ng/L pel EDDP).

Finalment pels **cannabinoides**, les dades de la taula 1.6 posen de manifest que el THC, que només s'ha estudiat en rius d'Espanya, no s'ha trobat en cap, és a dir que els nivells de concentració han estat sempre per sota del límit de quantificació (LOQ) o del de detecció (LOD). Aquest és un resultat esperat, ja que és pràcticament eliminat o transformat en les EDARs (taula 1.3). En canvi, el seu principal metabòlit THC-COOH, es troba amb freqüència a concentracions per sobre del LOQ, en algun dels rius estudiats (taula 1.6) i en diferents països com al Lambro (3.7 ng/L), Po (0.3 ng/L) i Arno (0.5ng/L) a Itàlia; Tàmesis (1 ng/L) a Anglaterra; Sar (31 ng/L) , Ebre (5.5 ng/L), Albufera (5.3 ng/L), Tajo (6.5 ng/L), Manzanares i Jarama (79.7 ng/L) a Espanya), tot i que són nivells bastant més baixos que els trobats a les sortides de les EDARs i que com s'ha comentat, pot ser degut a l'efecte dilució del riu, entre d'altres causes. L'altre metabòlit, menys estudiat, THC-OH, només ha estat reportat en dos rius d'Espanya (Ebro i Tajo) a concentracions inferiors a 1 ng/L.

Taula 1.6. Presència en aigües superficials de les drogues d'abús estudiades.

Droga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
Morfina	10 ^d	Rhine, Saar, Mosel, Lahn (Al)	Hummel et al, 2006
	38	Olona (I)	Zuccato et al., 2008
	3.5	Lambro (I)	
	3 ^c	Arno (I)	
	<0,55 (LOQ) ^a	Po (I)	
	12.7 ^c	Thames (An)	Berset et al., 2010
	2.2 ^c	22 rius o rieres (S)	
	89 ^c	Sar (E)	González-Mariño et al., 2010
	≤3 (LOD) ^a	Lengüelle (E)	
	≤3 (LOD) ^a	Riera Dos Pasos (E)	Postigo et al., 2010
	6,5-10,8	Ebro (E)	
	<0.04 (LOD) ^a -11.70	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	<1 (LOQ) ^a -35.8	Calder (An)	Baker et al., 2011
	<10 (LOQ) ^a - 19	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011
<1.45 (LOQ) ^a -1.75	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012	

Droga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
Morfina (cont)	<(LOQ) ^a -7	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al, 2013
	21.1-148.0	Manzanares, Jarama (E)	Mendoza et al., 2014
Normorfina	<5 (LOQ) ^a	Calder (An)	Baker et al., 2011
Codeïna	38 ^d	Rhine, Saar, Mosel, Lahn (Al)	Hummel et al, 2006
	51	Olona (I)	Zuccato et al., 2008
	12	Lambro (I)	
	6.2 ^c	Arno (I)	
	1.8 ^c	Po (I)	
	<1 (LOQ) ^a -18	22 rius o rieres (S)	Berset et al., 2010
	149	Sar (E)	González-Mariño et al., 2010
	≤1 (LOD) ^a	Lengüelle Riera Dos Pasos (E)	
	<0.03 (LOQ) ^a -18	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	341.7 ^c	Calder (E)	Baker et al., 2011
<30 (LOQ) ^a -174	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011	
<(LOQ) ^a -23	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al, 2013	

Druga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
Metadona	8.6	Olona (I)	Zuccato et al., 2008
	3.4	Lambro (I)	
	4.8 ^c	Arno (I)	
	0.5 ^c	Po (I)	
	<0.2 (LOQ) ^a -4.6	22 rius o rieres (S)	Berset et al., 2010
	<2 (LOQ) ^a	Sar, Lengüelle Riera Dos Pasos (E)	González-Mariño et al., 2010
	<0.01 (LOD) ^a - 0.69	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	10 ^c	Calder (An)	Baker et al., 2011
	<2(LOQ) ^a - 14	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011
	<0.62 (LOQ) ^a - 9.01	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
EDDP	<(LOQ) ^a -2	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al., 2013
	7.7-54.8	Manzanares, Jarama(E)	Mendoza et al., 2014
	18	Olona (I)	Zuccato et al., 2008
	9.9	Lambro (I)	
	4.3 ^c	Arno (I)	
	1.0 ^c	Po (I)	
	2.2-8.7	22 rius o rieres (S)	Berset et al., 2010
	19.1 ^c	Calder (An)	Baker et al., 2011

Druga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
Norcodèina	<1 (LOQ) ^a -8.9	Calder (An)	Baker et al., 2011
Heroina	<13 (LOQ) ^a	Sar, Lengüelle Riera Dos Pasos (E)	González-Mariño et al., 2010
	< (LOQ) ^a	Ebro (E)	Postigo et al., 2010
	<0.17 (LOD) ^a	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	<10 (LOQ) ^a	Calder (An)	Baker et al., 2011
	<40 (LOQ) ^a	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011
	<1.66 (LOQ) ^a	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
	<2.07 (LOQ) ^a	Manzanares, Jarama(E)	Mendoza et al., 2014
	<0,31 (LOQ) ^a	Olona, Lambro, Arno, Po (I)	Zuccato et al., 2008
	< (LOQ) ^a -1.2	22 rius o rieres (S)	Berset et al., 2010
	< (LOQ) ^a	Ebro (E)	Postigo et al., 2010
6-Acetil morfina	<0.3 (LOD) ^a	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	<0.5 (LOQ) ^a	Calder (An)	Baker et al., 2011
	<30(LOQ) ^a	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011
	<0.64 (LOQ) ^a	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
	<(LOQ) ^a	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al., 2013
	<5.17 (LOQ) ^a	Manzanares, Jarama (E)	Mendoza et al., 2014

Druga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
EDDP (cont.)	<30(LOQ) ^a - 40	Henares (E)	Martínez Bueno et al., 2011
	<1.56 -13.80	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
	<(LOQ) ^a	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al, 2013
	20.7-151.0	Manzanares, Jarama (E)	Mendoza et al., 2014
Fentanil	<0.8(LOQ) ^a	Calder (An)	Baker et al., 2011
	<(LOQ) ^a	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al, 2013
THC	<0.9(LOQ) ^a	Sar, Lengüelle Riera Dos Pasos (E)	González-Mariño et al., 2010
	<(LOQ) ^a	Ebro (E)	Postigo et al., 2010
	<1.22 (LOD) ^a	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	<0.61 (LOQ) ^a	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
	<6.81 (LOQ) ^a	Manzanares, Jarama(E)	Mendoza et al., 2014
THC-COOH	<0.48 (LOQ) ^a	Olona (I)	Zuccato et al., 2008
	3.7	Lambro (I)	
	0.5 ^c	Arno (I)	
	<0.48 (LOQ) ^{a,c}	Po (I)	
	<(LOQ) ^a	22 rius o rieres (S)	
31	Sar (E)	Berset et al., 2010 González-Mariño et	

Druga	Concentració (ng/L)	Riu	Referència
THC-COOH (cont.)	<1 (LOQ) ^a	Lengüelle (E)	al., 2010
	<1 (LOQ) ^a	Riera Dos Pasos (E)	Postigo et al., 2010
	5.5 ^c	Ebro (E)	
	<1.54 (LOD) ^a - 5.13 LOQ) ^a	Albufera (E)	Vázquez-Roig et al., 2010
	6.51 ^d	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012
	<(LOQ) ^a	Meuse, Rhine (H)	van der Aa et al, 2013
THC-OH	<17.9(LOQ) ^a - 79.7	Manzanares, Jarama (E)	Mendoza et al., 2014
	0.4 ^c	Ebro (E)	Postigo et al., 2010
	<1.26(LOQ) ^a	Tajo (E)	Valcárcel et al., 2012

^a LOQ Límit de quantificació; LOD Límit de detecció. ^b Interval de concentració (ng/L). ^c valor mitjà de concentracions (ng/L). ^d Mediana (ng/L). Al: Alemanya; An: Anglaterra; E: Espanya; H: Holanda; I: Italia; S: Suïssa.

Encara que s'ha demostrat que les drogues d'abús arriben a les depuradores on els tractaments no les eliminen totalment, i que es troben en aigües de rius, la seva presència en les **aigües potables i subterrànies** ha estat molt poc estudiada. Les dades recopilades de la bibliografia, es resumeixen en la taula 1.7. Cal remarcar que tots aquests treballs s'han publicat al mateix temps que els resultats d'aquesta tesi.

En general les drogues d'abús no es troben en aquests tipus d'aigües per sobre dels límits de quantificació de la metodologia emprada, si bé en algun cas s'han trobat a valors de pocs ng/L i propers a aquests límits de quantificació. Per exemple, en l'estudi d'aigües subterrànies de Barcelona, que van fer *Jurado et al 2012*, van trobar morfina (1.4 ng/L), metadona (7.4 ng/L) i el seu metabòlit principal EDDP (0.7 ng/L).

Pel que fa a les aigües potables de distribució, tan sols hi ha dos treballs que analitzen les drogues d'abús a la sortida de plantes potabilitzadores (ETAPs) dels Països Baixos (*Hogenboom et al, 2009, Van der Aa et al 2013*), i els resultats indiquen que en tot cas, les drogues es troben per sota dels límits de quantificació dels mètodes emprats. En canvi, *Valcárcel et al, 2012*, van trobar diverses drogues en tres fonts públiques i un dipòsit de distribució a Toledo i Talavera de la Reina (Taula 1.7.) a concentracions entre els 0.3 ng/L (EDDP) i 5 ng/L (THC). La presència de cannabinoides a concentracions per sobre dels límits de quantificació només ha estat descrita per aquests autors, però en canvi la presència de metadona i EDDP, s'ha detectat en altres dos dels estudis de la taula 1.7. encara que abaixes concentracions (ng/L).

Taula 1.7. Presència en aigües potables i subterrànies de les drogues d'abús estudiades.

Droga	Conc. (ng/L)	S/P	Ciutat o País	Referència
Morfina	1.4	S	Barcelona	<i>Jurado et al 2012</i>
Codeïna	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Van der Aa et al 2013</i>
6-AM				
Metadona	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Hogenboom et al, 2009</i>
	7.4	S	Barcelona	<i>Jurado et al 2012</i>
	<LOQ-0.99	P (aixeta)	Toledo, Talavera de la Reina	<i>Valcárcel et al 2012</i>
	0.47	P (dipòsit)		
	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Van der Aa et al 2013</i>
EDDP	0.7	S	Barcelona	<i>Jurado et al 2012</i>
	<LOQ	P (aixeta)	Toledo, Talavera de la Reina	<i>Valcárcel et al 2012</i>
	0.34	P (dipòsit)		
	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Van der Aa et al 2013</i>
Fentanil	<LOQ			
THC	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Hogenboom et al, 2009</i>
	<LOQ-5	P (aixeta)	Toledo, Talavera de la Reina	<i>Valcárcel et al 2012</i>
	<LOQ	P (dipòsit)		
THCCOOH	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Hogenboom et al, 2009</i>
	<LOQ	P (aixeta)	Toledo, Talavera de la Reina	<i>Valcárcel et al 2012</i>
		P (dipòsit)		
	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Van der Aa et al 2013</i>
THCOH	<LOQ	P (sortida ETAP)	Països Baixos	<i>Hogenboom et al, 2009</i>
	<LOQ-0.49	P (aixeta)	Toledo, Talavera de la Reina	<i>Valcárcel et al 2012</i>
	<LOQ	P (dipòsit)		

S= Subterrània; P= Potable

1.4. Fàrmacs: Característiques i presència

Des dels anys 90 del segle passat, s'ha posat de manifest un interès creixent sobre la presència i comportament dels fàrmacs en tots els compartiments ambientals. L'USEPA compila periòdicament una base de dades de tota la literatura publicada sobre fàrmacs i productes d'ús personal (PPCPs), (Daughton and Scuderi 2015). Aquestes cites bibliogràfiques fan referència als orígens, fonts, presència, comportament, transport, efectes, eliminació, prevenció de la contaminació, caracterització i tractaments de l'aigua, així com també avaluació i comunicació dels riscos de la presència dels fàrmacs al medi ambient i d'altres aspectes relacionats amb aquests. Per donar una idea de la magnitud de les publicacions al respecte es pot indicar que al maig del 2010, la base de dades dels PPCPs va superar les 10.000 entrades. Atès que un dels principals aspectes dels PPCPs que atreu interès és l'eliminació de fàrmacs i la cura del medi ambient, es va compilar una sub-llista anomenada base de dades DDS (*drug disposal and stewardship*). En data del 9 d'abril del 2015, aquesta darrera base de dades tenia 2.741 referències que representa un 12,6% del total de la base de dades dels PPCPs. La necessitat de aquestes bases de dades va néixer de la dificultat de realitzar cerques bibliogràfiques. Actualment, les principals limitacions de la base de dades bibliogràfica són sobretot, la manca de cobertura completa de la literatura que no ha estat escrita en anglès, així com els errors tipogràfics i les inconsistències de format.

Aquesta base de dades de PPCPs, existeix com a base de dades digital actualitzada diàriament, i com arxius de text en la versió pública, actualitzada cada 3-4 mesos. A data de 10 d'abril del 2015, la base de dades de PPCPs contenia 21.781 referències (Daughton, Scuderi 2015). Això dona una idea molt clara de la magnitud de la recerca dirigida a aquests compostos.

A l'apartat 1.2 d'aquesta memòria, ja s'ha parlat dels orígens dels productes farmacèutics en el medi ambient que principalment, s'alliberen com a contaminants traça, resultat de la seva excreció per l'orina i la femta, ja siguin metabolitzats o com a compostos inalterats. També hi ha altres vies alternatives per a l'entrada de productes farmacèutics en

el medi ambient, com ara l'eliminació de restes de fàrmacs no utilitzats; la fabricació de medicaments, etc. o inclús l'alliberament de fàrmacs a través de la pell durant el bany i el rentat, El fet que vagin a parar al medi ambient a nivells traça, però de forma continua, és el motiu que es consideri una contaminació difusa cap al medi aquàtic (*Li, 2014*)

En relació amb la legislació de productes farmacèutics en l'àmbit de la política d'aigües, en l'apartat 1.1. d'aquesta memòria, també s'ha fet referència a la recent publicació (20 març 2015), de la decisió d'execució (UE) 2015/495 de la Comissió Europea, on s'amplia la llista de compostos en observació. Doncs bé, en aquesta llista s'hi han inclòs 7 fàrmacs: 17- α -etinilestradiol (EE2); 17- β -estradiol (E2); estrona (E1); diclofenac, i tres antibiòtics macròlids (eritromicina, claritromicina i azitromicina).

1.4.1. Classificació dels fàrmacs

Actualment existeixen gran varietat de fàrmacs i també diverses maneres de classificar-los. Les classificacions més emprades, són les que es basen en l'ús terapèutic (la finalitat per la que es pren) o en l'activitat farmacològica del fàrmac (on actua). Però també hi ha altres tipus de classificacions, com per exemple: segons siguin substàncies controlades o de risc d'abús, comportament químic semblant o segons els mecanismes d'acció entre d'altres.

Els noms dels fàrmacs, a més a més, depenen de la classificació. Així, tots els compostos d'una mateixa classe farmacològica tendeixen a tenir el mateix sufix. Per exemple: tots els beta-bloquejants acaben en "-olol" (p.ex. atenolol), totes les benzodiazepines acaben en "-epam" (p.ex. diazepam); els bloquejants H2 acaben en "-tidine" (p.ex. cimetidine); molts antibiòtics acaben en "-cina" (p.ex. eritromicina) i més específicament els antibiòtics derivats de la penicil·lina acaben en "-cil·lina" (p.ex. amoxicil·lina), o els derivats de la tetraciclina acaben en "-cyclina" (p.ex. doxiciclina). D'altres tenen un prefix que indica la classe a que pertanyen, per exemple els antibiòtics de la classe de les cefalosporines que comencen per "cef-" (p.ex. cefalexin) o els derivats de la rifamicina que comencen per "rif-" (rifampicina). A més, els fàrmacs d'una mateixa classe farmacològica tenen semblants indicacions, mecanisme d'acció, contraindicacions i

precaucions, interaccions, reaccions adverses, etc. però poden diferir en la dosificació, el temps mitjà d'acció o disponibilitat.

En el simposi *The Consumption of Drugs*, celebrat el 1969 a Oslo, es va percebre per primera vegada la necessitat d'establir un sistema de classificació internacional que pogués utilitzar-se en els estudis sobre l'ús de medicaments. En aquest simposi es va crear el Grup "DURG" (*Drug Utilization Research Group*), la tasca principal del qual, va consistir en formular mètodes d'aplicació mundial per investigar la utilització de fàrmacs. Ja en la dècada dels setanta, i amb aquests antecedents, uns investigadors noruecs, en estreta col·laboració amb el *Norwegian Medicinal Depot* (NMD), van modificar i van ampliar l'antic sistema de classificació anatòmica (*AC System*) de productes farmacèutics forjat per la EPhMRA (*European Pharmaceutical Market Research Association*) i el PBIRG (*Pharmaceutical Business Intelligence and Research Group*), del qual també deriva la classificació anatòmica de medicaments fins fa poc vigent a Espanya, i van concebre d'aquesta manera un sistema de classificació anatòmica, terapèutica i química, més conegut com **classificació ATC** (*Anatomical Therapeutic Chemical [ATC] classification*). En paral·lel amb la creació del sistema de classificació ATC, i a fi de valorar l'ús d'un determinat fàrmac, va sorgir la necessitat de formular una unitat tècnica de mesura, la *Defined Daily Dose* (DDD), definida com la dosi mitjana per dia per la principal indicació del fàrmac en adults. Aquesta unitat de mesura no reflecteix necessàriament la dosi diària que es recomana o es prescriu al pacient. Al contrari, la dosi que s'assigna a un pacient sol diferir de la DDD, ja que es basa en factors tant individuals (edat, pes) com farmacocinètics.

La classificació ATC / DDD es va utilitzar per primera vegada en 1976, en un article que portava per títol *Nordic Statistics on Medicines*. Anys més tard, l'any 1981, l'Oficina Regional de l'OMS per a Europa va recomanar emprar el sistema de classificació ATC / DDD en tots els estudis internacionals d'utilització de medicaments. A l'any següent es va crear a Oslo l'organisme responsable de coordinar l'ús de la classificació ATC, el Centre Col·laborador de l'OMS en Metodologia Estadística sobre Medicaments (*WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology*). A partir de 1996, l'OMS va fer seva la recomanació de l'Oficina Regional de l'OMS per a Europa i va adoptar la classificació ATC. Des de llavors, l'utilitzen diversos centres col·laboradors de l'OMS que participen en activitats de vigilància farmacèutica, així com l'Agència Europea d'Avaluació de Medicaments (EMA). (http://www.whocc.no/atc_ddd_index/).

L'any 2010, Daughton (*Daughton,2010*), va recomanar la utilització dels codis de classificació ATC per consensuar les classificacions emprades en les publicacions

científiques sobre fàrmacs, i va fer un recull d'aquestes, basat en el sistema ATC per ser utilitzat en les publicacions de fàrmacs en l'aigua. El codi ATC està organitzat segons els grups terapèutics, i engloba el sistema o òrgan sobre el qual actua, l'efecte farmacològic, les indicacions terapèutiques i l'estructura química del fàrmac. Aquest codi està estructurat en cinc nivells (Veure taula 1. 8: Classificació per codis ATC)

- Nivell 1: Tracta un grup anatòmic, o sia, l'òrgan o sistema en el qual actua el fàrmac. És una lletra i existeixen 14 grups en total.
- Nivell 2: El segon nivell del codi es basa en el grup terapèutic que pertany. Consisteix en 2 dígits
- Nivell 3: El tercer nivell del codi es basa en el subgrupo farmacològic/terapèutic que pertany. Consisteix en una lletra.
- Nivell 4: El quart nivell del codi es basa en el subgrup químic/farmacològic/terapèutic que pertany i consisteix en una lletra.
- Nivell 5: El cinquè nivell del codi es basa en el nom de la substància química o l'associació farmacològica i consisteix en 2 dígits.

Existeix també un codi ATC per fàrmacs d'ús veterinari (ATCvet). Els codis ATCvet es poden crear mitjançant la col·locació de la lletra Q al davant del codi ATC dels medicaments humans. Per exemple, la furosemida per a ús veterinari té el codi QC03CA01, i per l'ús humà C03CA01.

Un dels propòsits del sistema ATC / DDD, és servir com una eina per a la recerca, presentació i comparació de les estadístiques de consum de drogues a nivell internacional. Per això, un objectiu important del Grup de Treball i el Centre (*WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology 2013*) és mantenir estables els codis ATC i DDD en el temps, per permetre veure les tendències en el consum dels fàrmacs sense la complicació de canvis freqüents en el sistema.

Taula 1.8. Classificació per codis ATC

A	Sistema digestiu i metabolisme	A01: Preparats estomatològics
		A02: Medicaments per als trastorns relacionats amb l'acidesa
		A03: Medicaments contra els trastorns gastrointestinals funcionals
		A04: Antiemètics i antinauseosos
		A05: Fàrmacs per la bilis i la teràpia de fetge
		A06: Laxants
		A07: Antidiarreics, agents antiinflamatoris / anti-infecciosos intestinals
		A08: Preparats contra l'obesitat, excloent productes de la dieta
		A09: Digestius, incloent enzims
		A10: Medicaments utilitzats en la diabetis
		A11: Vitamines
		A12: Suplements minerals
		A13: Tònics
		A14: Agents anabòlics per a ús sistèmic
		A15: Estimulants de la gana
		A16: Fàrmacs pel tracte alimentari i metabolisme
B	Sang i òrgans hematopoètics	B01: Antitrombòtics
		B02: Antihemorràgics
		B03: Antianèmics
		B05: Substituts del plasma i solucions per infusió
		B06: Altres fàrmacs hematològics
C	Sistema cardiovascular	C01: Fàrmacs per la teràpia cardíaca
		C02: Antihipertensius
		C03: Diurètics
		C04: Vasodilatadors perifèrics
		C05: Medicaments vasoprotector
		C07: Beta agents bloquejants
		C08: Bloquejadors dels canals de calci
		C09: Agents que actuen sobre el sistema renina-angiotensina
		C10: Agents modificadors de lípids
D	Medicaments dermatològics	D01: Antifúngics per a ús dermatològic
		D02: Emol·lients i protectors
		D03: Tractament de ferides i úlceres
		D04: Antipirètics
		D05: Antipsoriàtics
		D06: Antibiòtics i quimioteràpics per a ús en dermatologia
		D07: Corticosteroides tòpics dermatològics
		D08: Antisèptics i desinfectants
		D09: Apòsits medicats

G	Aparell genitourinari i hormones sexuals	G01: Antiinfecciosos i antisèptics ginecològics
		G02: Altres medicaments ginecològics
		G03: Hormones reproductives i moduladors del sistema genital
		G04: Medicaments urològics
H	Preparats hormonals sistèmics excepte hormones sexuals i insulines	H01: Pituïtària i hormones hipotalàmiques i anàlogues
		H02: Corticosteroides sistèmics
		H03: Fàrmacs per la teràpia de tiroide
		H04: Hormones pancreàtiques
		H05: Fàrmacs per l'homeòstasi del calci
J	Antiinfecciosos en general per a ús sistèmic	J01: Antibacterians
		J02: Medicaments antimicòtics
		J04: Antimicobacterians
		J05: Antivirals
		J06: Inmunosueros i immunoglobulines
		J07: Vacunes
L	Agents antineoplàstics i immunomoduladors	L01: Antineoplàstics
		L02: Fàrmacs per la teràpia endocrina
		L03: Immunoestimulants
		L04: Immunosupressors
M	Sistema musculoesquelètic	M01: Antiinflamatoris i antireumàtics
		M02: Productes tòpics per al dolor articular i muscular
		M03: Relaxants musculars
		M04: Preparacions antigota
		M05: Medicaments per al tractament de malalties òssies
		M09: Altres fàrmacs per desordres del sistema musculoesquelètic
N	Sistema nerviós	N01: Anestèsics
		N02: Analgèsics
		N03: Antiepilèptics
		N04: Antiparkinsonians
N	Sistema nerviós (cont.)	N05: Psicolèptics
		N06: Psicoanalèptics (antidepressius)
		N07: Altres medicaments del sistema nerviós
P	Productes antiparasitaris, insecticides i repel·lents	P01: Antiprotozoaris
		P02: Antihelmítics
		P03: Ectoparasticides, incloent escabicides, insecticides i repel·lents
R	Sistema respiratori	R01: Preparacions nasals
		R02: Fàrmacs per la Gola
		R03: Fàrmacs per a malalties obstructives de les vies respiratòries
		R05: Fàrmacs per la tos i el refredat
		R06: Antihistamínics per a ús sistèmic
		R07: Altres productes del sistema respiratori

S	Òrgans dels sentits	S01: Fàrmacs d'ús oftalmològic
		S02: Fàrmacs d'ús otològic
		S03: Preparats oftalmològics i otològics
V	Altres	V01: Al·lèrgens
		V03: Tots els altres productes terapèutics
		V06: Nutrients generals
		V08: Fàrmacs de contrast (X-Ray)
Q	Q al davant indica ús veterinari	

Per un fàrmac determinat es pot trobar més d'un codi ATC si es que està disponible en dues o més presentacions o vies d'administració i per diferents usos terapèutics. Un bon exemple pot ser la prednisolona que té diversos codis ATC degut a usos terapèutics diferents i diverses formulacions d'aplicació local: A07EA01 agents antiinflamatoris intestinals (ènemes i escumes); C05AA04 antihemorroïdals per a ús tòpic (supositoris); D07AA03 preparacions dermatològiques (cremes, ungüents i locions); H02AB06 corticosteroides per a ús sistèmic (pastilles, injeccions); R01AD02 descongestionants nasals (aerosols nasals / gotes); S01BA04 Oftalmològics (gotes per als ulls) o bé S02BA03 otològics (gotes per l'oïda). Així doncs, un fàrmac pot ser utilitzat per dos o més indicacions igualment importants, i a més, el principal ús terapèutic d'un medicament pot diferir d'un país a un altre. Això sovint dóna diverses alternatives de classificació encara que s'intenta minimitzar i donar només un codi per la principal indicació. Els problemes, en la classificació, es discuteixen en el Grup de Treball Internacional (*WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology*) on es va decidir la classificació final, i és aquest grup qui vetlla per la bona utilització d'aquest sistema de classificació.

En la següent taula (taula 1.9.) es mostren els fàrmacs que s'han estudiat en aquesta tesi, classificats segons els codis ATC.

Taula 1. 9: Classificació per codis ATC dels fàrmacs estudiats.

Codi ATC	Fàrmac
A: Sistema digestiu i metabolisme	
<i>Preparats estomatològics (A01)</i>	
A01AB03 (mlt)	Clorhexidina
A01AB09 (mlt)	Miconazol

Codi ATC	Fàrmac
<i>Medicaments per als trastorns relacionats amb l'acidesa (A02)</i>	
A02BA01	Cimetidina
A02BA03	Famotidina
A02BC03	Lansoprazol

Codi ATC	Fàrmac
A02BC01 met.	5-desMe omeprazol
A02BC01 met.	4-OH-omeprazol
A02BC01	Omeprazol
A02BA02	Ranitidina
Antidiarreics, agents antiinflamatoris / anti-infecciosos intestinals (A07)	
A07EC04	Carbadox
A07EA03	Prednisona
C: Sistema cardiovascular	
Agents modificadors de lípids (C10)	
C10AB02	Bezafibrat
C10AB01 met	àcid Clofíbric
C10AB05	Fenofibrat
C10AB04	Gemfibrozil
-	Mevastatina
Agents modificadors de lípids (C10)(cont.)	
C10AA03	Pravastatina
C10AA01	Simvastatina
D: Medicaments dermatològics	
Antisèptics i desinfectants (D08)	
D08AE04	Triclosan
G: Aparell genitourinari i hormones sexuals	
Medicaments urològics (G04)	
G04BE03	Sildenafil
G04BE03 met.	Sildenafil desmetil
J: Antiinfecciosos en general per a ús sistèmic	
Antibacterians (J01)	
J01CA04	Amoxicil·lina
J01FA10	Azitromicina
J01FA09	Claritromicina
J01AA03	Clorotetraciclina
J01FA01	Erithromicina
J01FF02	Lincomicina
QJ01MQ01	Olaquinox
J01FA06	Roxitromicina
J01ED01	Sulfadimetoxina

Codi ATC	Fàrmac
J01EB03	Sulfametazina
J01EC01	Sulfamètoxazol
J01AA07	Tetraciclina
J01EA01	Trimetoprim
QJ01FA90	Tilosina
M: Sistema musculoesquelètic	
Antiinflamatoris i antireumàtics(M01)	
M01AB05	Diclofenac
M01AE04	Fenoprofè
M01AE01	Ibuprofè
M01AB01	Indomethacina
M01AE03	Ketoprofè
M01AG01	àcid Mefenamic
M01AE02	Naproxè
N: Sistema nerviós	
Analgèsics (N02)	
N02BE01	Acetaminofè (Paracetamol)
N02BA	àcid Salicil·lic
Psicolèptics (N05)	
N05CA02	Amobarbital
N05CA	Butalbital
N05CA16	Hexobarbital
N05CA01	Pentobarbital
N05CA24	Phenobarbital
N05CA06	Secobarbital
V: Altres	
Fàrmacs de contrast (X-Ray)	
V08AA01	àcid Diatrizoic
V08AB02	Iohexol
V08AB05	Iopromida

1.4.2. Presència dels fàrmacs en el medi aquàtic

Presència dels fàrmacs en aigües residuals

Com s'ha comentat a l'apartat anterior, existeix molta bibliografia sobre fàrmacs en general, i també de la presència dels fàrmacs en el medi aquàtic, per això en aquest apartat es tindran en compte només les publicacions i reculls més recents, sobre la presència dels fàrmacs estudiats en aquesta memòria.

Pel que fa referència a les aigües residuals, en general, s'han trobat fàrmacs tant a les entrades com a les sortides de depuradores, en estudis fets en diversos països del món. De fet, la descàrrega dels efluent de les depuradores cap als rius, es considera la principal font de fàrmacs cap al medi aquàtic. Com ja s'ha comentat a l'apartat 1.2 d'aquesta introducció, el rebuig inapropiat dels medicaments quan han caducat, els abocaments accidentals durant la fabricació i distribució per part de les empreses farmacèutiques són considerades de poca aportació al medi, o també la utilització dels fangs de les depuradores, contaminats amb fàrmacs, que són utilitzats com a fertilitzants en l'agricultura es considera que no aporten quantitats remarcables de fàrmacs al medi.

Monteiro and Boxall, 2010, van fer un extens recull d'informació sobre la presència i comportament de fàrmacs, d'ús humà, en el medi ambient. Concretament, dediquen bona part de l'estudi a la presència dels fàrmacs en aigües residuals, tant a l'entrada com sobretot a la sortida de les depuradores, i com són eliminats, transformats o inalterats, pels diferents tractaments que s'apliquen en aquestes. La discussió la fan per cada un dels diferents grups terapèutics. Pel que fa als analgèsics i els antiinflamatoris, van trobar molta literatura tant a Europa, com als Estats Units i el Canadà. Dels compostos estudiats en aquesta tesi, els que indiquen que han estat més sovint detectats a les sortides de les depuradores són l'ibuprofè (màx. 85 µg/L), el diclofenac (màx. 5.45 µg/L), l'acetaminofè (màx. 6 µg/L), el naproxè (màx. 5.22 µg/L), i l'àcid salicílic (màx. 13000 µg/L). Altres compostos detectats també a les sortides, són el fenoprofè (màx. 0.405 µg/L), la indometacina (màx. 0.60 µg/L), i el ketoprofè (màx. 0.871 µg/L). Els antibiòtics que han estat identificats en les depuradores europees i americanes són els macròlids, les sulfonamides, les tetraciclins i el trimetoprim, a més de les fluoroquinolones i el cloramfenicol que no han estat estudiats en aquesta tesi. El grup d'antibiòtics de les penicil·lines, tot i que són receptades en grans quantitats generalment no es detecten en els efluent de les depuradores, i la raó que en donen és perquè l'anell β-

lactama de les penicil·lines és fàcilment hidrolitzat i degradat en el medi, encara que *Zuccato et al. 2005a*, va trobar 4.7 ng/L de mitjana en sortides de depuradores italianes. L'antibiòtic, macròlid, més freqüentment detectat (amb un valor de mediana de 2.5 µg/L), és l'eritromicina deshidratada. L'eritromicina és excretada amb la pèrdua d'una molècula d'aigua, i és aquest producte de degradació el que s'estudia i es detecta en el medi aquàtic. El sulfametoxazole, és la sulfonamida més detectada (nd-2.140 µg/L), en Europa, USA i Canadà. La tetraciclina ha estat detectada en depuradores de Canadà (nd-1.0 µg/L), i el trimetoprim (0.009-1.760 µg/L), és un compost detectat i estudiat molt freqüentment. Els reguladors lipídics o agents modificadors de lípids, és un altre dels grups de fàrmacs més estudiats a Europa, USA, Canadà i Brasil i s'han trobat sovint a les sortides de les depuradores el bezafibrat (nd-4.6 µg/L), l'àcid clofibríc (nd-0.68 µg/L), el fenofibrat (nd-0.16 µg/L), i amb més freqüència el gemfibrozil (0.005-4.76 µg/L). Finalment, un altre de les famílies de fàrmacs estudiades en aquesta tesi i dels que es parla en la compilació de *Monteiro and Boxall* són els fàrmacs iodats utilitzats pel contrast en raigs X. D'aquests es reporten bàsicament els estudis fets a Alemanya per *Ternes and Hirsch (2000)* que van trobar diatrizoat (0.25-8.7 µg/L) i iopromide (0.75-11 µg/L), entre altres, en tots els efluent de les depuradores que van estudiar. Altres fàrmacs com l'omeprazol i la cimetidina, no s'han trobat en estudis d'Alemanya i Itàlia (*Ternes, 2001a, Zuccato et al., 2005a*), i la ranitidina només a es va detectar a Itàlia (0.2882 µg/L, *Zuccato et al., 2005a*).

Una altra recopilació de presència de fàrmacs en el medi aquàtic és la publicada per *Fatta-Kassinos et al. 2011*. En aquest recull es parla de les fonts, els avenços en la metodologia analítica i de la presència dels fàrmacs en les diferents matrius d'aigües. Donen una especial importància a la presència d'antibiòtics en el medi ambient, degut a les possibles resistències microbianes que es poden crear en els diferents compartiments mediambientals, quan aquests estan presents. En aquest sentit, fa un recull de publicacions amb les concentracions d'antibiòtics. Els autors comenten la dificultat de comparar els nivells d'aquest compostos trobats, degut a la dispersió de dades ja que sovint provenen de mostres preses amb diferents criteris, diverses mostres preses en diferents punts, una mostra per punt, un punt mostrejat a diferents èpoques de l'any etc., i a això se li ha d'afegir les diferents maneres de fer el mostreig. Tot hi això les dades poden donar una idea dels nivells de contaminació. Així per exemple posen de manifest que els antibiòtics en aigües residuals a sortides de depuradores es poden trobar a concentracions relativament elevades que per exemple arriben als 1670 ng/L per l'amoxicil·lina. als 1420 ng/L per la tetraciclina o als 9420 ng/L per al sulfametoxazole.

Entre las compilacions de dades sobre fàrmacs cal citar la de *Verlicchi et al 2012*, que han inclòs 78 articles científics, sobre les concentracions detectades de 118 fàrmacs en entrades a depuradores i sortides després del tractament secundari. A grans trets, el grup de fàrmacs que es troba en més grans quantitats i presència després del tractament secundari de 224 EDARs, és el grup M01- analgèsics/antiinflamatoris (per exemple l'ibuprofè 143-4329 ng/L), però el grup que preocupa més, des d'un punt de vista ecotoxicològic, és, de nou, el J01- antibiòtics (per exemple l'eritromicina 109-1385 ng/L). Més recentment, *Petrie et al 2015* també han fet un recull de dades de contaminants emergents en aigües residuals, entre els que hi ha molts dels fàrmacs estudiats en aquesta tesi, i que tenen per objectiu ampliar el coneixement d'aquests compostos de cara a fer recomanacions (manera de mostrejar, selecció de compostos, etc.) per futures investigacions. A la taula 1.10., es mostren les concentracions en aigües residuals dels fàrmacs estudiats, que han estat publicats en aquest recull i en articles més recents. En aquesta taula, es continua posant de manifest la dispersió dels nivells de concentració trobats pels diferents autors, que ja comentaven *Fatta-Kassinos et al. 2011*, per un mateix fàrmac. Els grups terapèutics que mostren més dispersió són els J01, M01 i N02. Per exemple, dins el grup J01 es troba la eritromicina (35-2530 ng/L) o el trimetoprim (11-2925 ng/L). Pel grup M01, destaquen el diclofenac (nd-1500 ng/L) i l'ibuprofè (1681-33764 ng/L) i pel grup N02 els màxims representants, i més estudiats, l'acetaminofè (16720-422340 ng/L) i l'àcid salicílic (295-52000 ng/L). Destaca també, el nombre de referències trobades pels fàrmacs del grup dels antibiòtics (J01) i dels analgèsics-antiinflamatoris (M01), en comparació a les dels altres grups estudiats en aquesta tesi (A01, A02, A07, C10, D08, G04, N02, N05 i V08).

Taula 1.10. Concentracions dels fàrmacs en aigües residuals (ng/L).

Codi ATC	Fàrmac	Entrada EDARS ng/L	Sortida EDARS ng/L	Referències
C10A B05	Fenofibrat		293,67	López-Serna et al. 2010
C10A B04	Gemfibrozil	924-5120 336	8,58 65-1018	López-Serna et al. 2010 Gros et al. 2012
-	Mevastatina		460	Carmona et al. 2014
C10A A03	Pravastatina		nd	López-Serna et al. 2010
C10A A01	Simvastatina	nd-152	nd-36	Gros et al. 2012
D08A E04	Triclosan	<7-115	<3-5	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009
G04B E03	Sildenafil	70-2500	25-200	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Gardner et al. 2012
J01C A04	Amoxicilina	2,3	46	Carmona et al. 2014
J01F A10	Azitromicina	8,3-25	7,0-9,7	Baker and Kasprzyk-Hordern 2011a; 2013
J01F A09	Clarithromicina	15	3,6	Gomez et al. 2012
J01A A03	Clorotetraciclina	<87	31	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a
J01F A01	Eritromicina	44-205	22-209	AI Aukidy et al. 2012
			1031,67	López-Serna et al. 2010
			20-170	Gros et al. 2012
			237,83	López-Serna et al. 2010
			89-374	AI Aukidy et al. 2012
			nd-192	Gros et al. 2012
			40-390	García-Lor et al. 2014
			nd	López-Serna et al. 2010
			109-1385	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006; Gardner et al. 2012; Ashton et al. 2004.

Codi ATC	Fàrmac	Entrada EDARS ng/L	Sortida EDARS ng/L	Referències
A02B A01	Cimetidina	2219-3452	462-2605	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009
A02B A03	Famotidina	nd-166	32,05	López-Serna et al. 2010
A02B C01 met.	4-OH-omeprazol	nd-30	nd-15	Gros et al. 2012
A02B C01	Omeprazol	nd-30	nd-9	López-Serna et al. 2010
A02B A02	Ranitidina		120-250	Gros et al. 2012
			nd	García-Lor et al. 2014
			<9-425	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009
			197,67	López-Serna et al. 2010
			56-179	Gros et al. 2012
			177-418	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009
			217,5	López-Serna et al. 2010
			nd-39	AI Aukidy et al. 2012
			5-26	Gros et al. 2012
			nd-249,4	Queiroz et al. 2012
			53	Carmona et al. 2014
			6-44	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006; Gardner et al. 2013
			22,43	López-Serna et al. 2010
			nd	Carmona et al. 2014
			nd	García-Lor et al. 2014

Codi ATC	Fàrmac	Entrada EDARS ng/L	Sortida EDARS ng/L	Referències
M01A B05	Diclofenac (cont.)	nd-240.2 90 414-1080		Queiroz et al. 2012 Carmona et al. 2014 Osorio et al. 2014
M01A E01	Ibuprofè	1681-33764	143-4239	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006; Gardner et al. 2012; Ashton et al. 2004. López-Serna et al. 2010 Gros et al. 2012 Martin et al. 2012 Carmona et al. 2014
M01A B01	Indomethacina	3812-9481 4374	nd 8000 nd	López-Serna et al. 2010 Gros et al. 2012 Martin et al. 2012 Carmona et al. 2014
M01A E03	Ketoprofè	nd-60 0,6 28-102 412-1128	nd-71 nd 16-23 nd-23 31-560	Gros et al. 2012 Carmona et al. 2014 Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009 Al Aukidy et al. 2012 Gros et al. 2012
M01A G01	àcid Mefenamic		980 17,38 nd-27	Martin et al. 2012 López-Serna et al. 2010 Al Aukidy et al. 2012
M01A E02	Naproxè	838-1173	170-370 72,17 nd-21 44-150	Kasprzyk-Hordern et al. 2009 López-Serna et al. 2010 Al Aukidy et al. 2012 Gros et al. 2012
N02B E01	Acetaminofè Paracetamol	2399 6924-492340	102 <20-11733	Carmona et al. 2014 Kasprzyk-Hordern, 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006

Codi ATC	Fàrmac	Entrada EDARS ng/L	Sortida EDARS ng/L	Referències
J01F A01	Eritromicina (cont.)	35-63	677 nd-17	López-Serna et al. 2010 Gros et al. 2012
J01F A06	Roxitromicina		3,9	López-Serna et al. 2010
J01E B03	Sulfametazona		373,84	López-Serna et al. 2010
J01E C01	Sulfamethoxazolona	<3-115	10-19 140.48 nd-185 nd-222	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009 López-Serna et al. 2010 Al Aukidy et al. 2012 Gros et al. 2012
J01A A07	Tetraciclina	nd-150.8	171,47 nd	Queiroz et al. 2012 López-Serna et al. 2010 Gros et al. 2012
J01E A01	Trimethoprim	213-2925	18-1152 nd-39 nd-100	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006; Ashton et al. 2004. Al Aukidy et al. 2012 Gros et al. 2012
QJ01 FA90	Tilosina	11-204 23.2-113.7	7,17	Queiroz et al. 2012 López-Serna et al. 2010
M01A B05	Diclofenac	69-1500 398-436	58-599 421,5 223-800 34-376 740	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Roberts and Thomas 2006; Gardner et al. 2012; Ashton et al. 2004. Gros et al. 2012 López-Serna et al. 2010 Al Aukidy et al. 2012 Gros et al. 2012 Martin et al. 2012

Codi ATC	Fàrmac	Entrada EDARS ng/L	Sortida EDARS ng/L	Referències
N02B E01	Acetaminofè Paracetamol (cont.)		77,83	López-Serna et al. 2010
		16720- 18681	nd-338	Gros et al. 2012
N02B A	àcid Salicil.líc	5866- 52000	75-209	Kasprzyk-Hordern et al. 2008a, 2009; Gardner et al. 2013
			674,33	López-Serna et al. 2010
		3224- 13640	nd-114	Gros et al. 2012
N02B A	àcid Salicil.líc (cont.)		3170	Martín et al. 2012
		295	30	Carmona et al. 2014
N05C A	Butalbital		nd	López-Serna et al. 2010
N05C A01	Pentobarbital		nd	López-Serna et al. 2010
N05C A24	Phenobarbital		nd	López-Serna et al. 2010
V08A B05	Iopromida	186-6263	287-8514	Gros et al. 2012

Tanmateix, els darreres treballs sobre fàrmacs en aigües residuals, no es limiten a parlar de la presència o de la dispersió dels nivells trobats, sinó que recullen tota la informació possible per permetre explicar les causes d'aquesta dispersió, com i en quin grau s'eliminen el fàrmacs en els tractaments, quins productes de transformació es produeixen tant en els tractaments com durant el transport fins les EDARs, i també, sobretot els darrers anys, s'utilitzen les dades recopilades per fer càlculs del risc ecològic que pot suposar que els efluents de les EDARs s'aboquin als rius, o que els fangs s'utilitzin com adobs en l'agricultura, per exemple.

En la compilació que fan *Petrie et al 2015*, senyalen com a variables responsables de la dispersió dels nivells de concentració, a part de la mescla i dilució amb aigües residuals industrials, la biodegradació dins les canonades de transport, les pluges, el mode de mostrejar, l'estratègia de presa de mostres, si són mostres integrades (normalment 24h) o puntuals. En aquest darrer punt, critiquen especialment el fet que en la majoria dels estudis, no es té en compte el temps de retenció de l'aigua des de que entra fins que surt de l'EDAR, ni les fluctuacions del cabal. També parlen de la conveniència de repetir els estudis en diferents èpoques de l'any, doncs les concentracions poden variar sensiblement. *Petrovic 2014*, va publicar també, un recull on posa de manifest les limitacions dels mètodes analítics i fan una valoració dels punts més crítics de la metodologia, començant per la tria d'analits, el tipus i manera de mostrejar, l'estabilitat dels analits en la mostra, en les solucions dels patrons, les pèrdues que es poden produir durant el pretractament de la mostra (filtració, adsorció dels analits en els materials utilitzats, etc.), els efectes de la matriu, que s'han de tenir en compte per poder desenvolupar un mètode robust per la quantificació dels analits.

Fatta –Kassinou et al. 2011, en la seva recopilació bibliogràfica, comenten a més, les eficiències d'eliminació dels diferents tractaments aplicats en les EDARs, i els possibles productes de transformació obtinguts en aquests tractaments i que són motiu d'estudi en molts dels darreres treballs publicats, ja que en alguns cassos aquests productes de transformació podrien arribar a ser més tòxics que el compost de partida. En aquesta línia, *Evgenidou et al. 2015*, han publicat recentment una revisió bibliogràfica enfocada a posar de manifest els productes de transformació i de biodegradació generats en les depuradores. La majoria dels productes de transformació que es troben, són els metabòlits humans que es generen després del consum del fàrmac, però cada cop s'identifiquen més compostos que es generen en processos abiòtics o biòtics o per fotòlisi. També en els tractaments terciaris, on s'afegeix per exemple clor com desinfectant, aquest pot provocar canvis estructurals en els fàrmacs que hagin sobreviscut al tractament secundari, i aparèixer la formació de productes de transformació clorats. Gràcies als avenços instrumentals d'anàlisi, sobretot

amb l'espectrometria de masses d'alta resolució, s'han pogut identificar productes de transformació que abans no es coneixien, i segurament per aquest motiu, els estudis actuals es decanten cap aquesta aspectes i cap a la necessitat de que, un cop identificats, es mesuri la seva presència en el medi aquàtic i es calculi el risc ecotoxicològic que pot suposar. En concret, dels fàrmacs estudiats en aquesta tesi, en l'article esmentat es mostren dades de presència d'alguns productes de transformació com per exemple l'eritromicina hidratada (Karthikeyan and Meyer 2006; Lin and Tsai 2009); l'àcid clorfibríic (Stamatis and Konstantinou 2013 Wiegel 2004); l'àcid fenofibríic (Rosal et al., 2010; Martínez-Bueno et al., 2011b); àcid salicílic (Lee et al., 2005; Kosma et al., 2014); l'hidroxi-ibuprofè i el carboxi-ibuprofè (Weigel et al., 2004;); 4-hidroxi-diclofenac (Pérez et al., 2008; Stülten et al., 2008); i l'hidroxi-simvastatina (Vanderford and Snyder 2006). A més, les recopilacions bibliogràfiques i recomanacions que s'han comentat com les de Ortiz de Garcia et al. 2013, Verlicchi et al. 2012, 2014, Backhaus & Karlson 2014 o Orias & Perrodin 2014, Vasquez et al. 2014, fan també càlculs de prediccions de concentracions ambientals del analít (PEC "Predicted Environmental Concentration") i del risc ecotòxic (HQ "Hazard Quotien") que pot provocar la presència dels fàrmacs o de barreges de fàrmacs al medi ambient. Els detalls dels diferents tipus de tractaments que s'apliquen en les depuradores, i les eliminacions o subproductes esperats, es discuteixen a l'apartat 3.1 d'aquesta memòria.

Presència dels fàrmacs en aigües superficials, subterrànies i potables

Igual que en el cas de les drogues d'abús, s'ha demostrat que els fàrmacs també passen a les aigües superficials atesa la incompleta eliminació en els tractaments que es duen a terme en les depuradores. Un cop en les aigües superficials, els fàrmacs poden entrar a les plantes de tractament d'aigües potables (ETAPs), i si no són del tot eliminats, podrien arribar a les aixetes dels consumidors.

Sobre la presència dels fàrmacs en aigües superficials, subterrànies i potables, també s'han publicat nombrosos treballs i diverses compilacions, tot i que no tantes com per a les aigües residuals. Una informació molt completa referent a aquest tema es troba en la introducció i en el material addicional de l'article científic de l'apartat 1.4.3 intitulat "**Survey of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish finished drinking waters**" (*Environ Sci Pollut Res* (2014) 21:10917–10939). La part de dades experimentals que inclou aquest article, serà discutida en l'apartat 3.3 d'aquesta memòria.

Les aigües superficials, són sovint utilitzades per potabilitzar i distribuir l'aigua a la població. En l'esmentat article i la informació addicional d'aquest, es fa una compilació de dades de presència/absència i mitjanes/ intervals de concentracions de fàrmacs publicats en rius d'Espanya, Europa i Nord Amèrica. En aquest recull, es posa de manifest que, en general, els compostos més estudiats en la bibliografia són els corresponents al: sistema cardiovascular (C03 diürètics, C07 beta-bloquejants, C10 modificadors de lípids), sistema músculo-esquelètic (M01 antiinflamatoris/antireumàtics), sistema nerviós (N02 analgèsics, N03 antiepilèptics, N05 psicolèptics, N06 psicoanalèptics), sistema genito-urinari i hormones sexuals (G01 antiinfecciosos i antisèptics ginecològics, G03 hormones reproductives i moduladors del sistema genital, G04 medicaments urològics), sistema digestiu (A02 medicaments per als trastorns relacionats amb l'àcid), sistema respiratori (R), antiinfecciosos (J01) i fàrmacs de contrast (X-Ray) (V08). Tot i que, sovint hi ha uns quants fàrmacs que són estudiats en la majoria dels estudis, quan es fan aquest tipus de recopilacions es veu una certa tendència entre països a receptor un fàrmac o un altre.

En el recull de dades del article de l'apartat 1.4.3 d'aquesta memòria, es posa de manifest que en els rius espanyols els fàrmacs del sistema digestiu i metabolisme (codi ATS A) mes estudiats i trobats són els medicaments per a trastorns relacionats amb l'acidesa (A02), i entre ells el que s'ha trobat sempre que s'ha buscat és la ranitidina (A02BA02; 4.9-570 ng/L). Entre els medicaments per al sistema cardiovascular, destaquen els dels grups C03 (diürètics), C07, (beta-bloquejants) i C10 (agents modificadors de lípids), i entre ells destaquen per freqüència i per concentració l'hydroclorotiazida (C03AA03; 11.9-17589 ng/L), l'atenolol (C07AB03; 26-11020 ng/L), el bezafibrat (C10AB02; 10-15060 ng/L), l'àcid clofibrilic (C10AB01; 4.9-7910 ng/L) i el gemfibrozil (C10AB04; 3.80-7780 ng/L). D'entre les hormones reproductives i moduladors del sistema genital (G03), destaquen l'estriol (G03CA04; 72-100 ng/L), i l'estrona (G03CA07; 0.68-22 ng/L). Del grup d'antibacterians (J01) hi ha 16 fàrmacs que s'han trobat en els rius espanyols, i d'aquests destaquen la claritromicina (J01FA09; 36.9-1727 ng/L), l'eritromicina (J01FA01; 30-3847 ng/L), el metronidazol (J01XD01; 19-1834 ng/L), l'ofloxacín (J01MA01; 20-8770 ng/L), la sulfametazina (J01EB03; 5-2481.8 ng/L) i la sulfametoxazole (J01EC01; 23.7-11920 ng/L). Un altre grup àmpliament estudiat, és el dels fàrmacs antiinflamatoris i antireumàtics (M01, amb 6 fàrmacs trobats i entre aquests els dos màxims representants, tant per presència com per nivells de concentració en les aigües superficials espanyoles, són el diclofenac (M01AB05; 35-18740 ng/L) i l'ibuprofè (M01AE01; 44-16886 ng/L). També han estat estudiats els fàrmacs del grup dels analgèsics (N02) essent els més freqüents l'acetaminofè o paracetamol (N02BE01; 30-2813 ng/L) i àcid salicílic (N02BA o també classificat com D01AE12; 7-8800 ng/L). Entre els fàrmacs del sistema nerviós (codi ATS N), destaquen l'antiepilèptic carbamazepina (N03AF01; 6-67715

ng/L), el psicolèptic diazepam (N05BA01; 2.68-90 ng/L) i l'antidepressiu venlafaxina (N06AX16; 45-1003 ng/L). Finalment, també es troba amb freqüència la codeïna, com a fàrmac per la tos i el refredat (R05DA04; 19-3141 ng/L), tot i que hi ha més estudis que l'analitzen com a droga opiàcia que com a fàrmac, la loratadina, com antihistamínic (R06AX13; 3-201.6 ng/L) i l'iopromida com agent de contrast (X-Ray) (V08AB05; 58-505 ng/L).

D'altra banda, *Hughes et al. 2013*, van fer un llistat dels fàrmacs més freqüentment estudiats en rius de diversos països del món, i coincideixen en trobar fàrmacs dels mateixos grups terapèutics que vam trobar nosaltres. I d'aquests, els deu més freqüentment identificats en aigües superficials són: ibuprofè, diclofenac, naproxè, àcid clofíbric, carbamazepina, sulfametoxazole, trimetoprim, bezafibrat, atenolol i gemfibrozil, a concentracions que van dels pocs ng/L (per exemple 10 ng/L de sulfadimetoxina) a µg/L (com per exemple 90 µg/L d'eritromicina o d'àcid acetil salicílic). Un cop més, també en les aigües superficials, els nivells de concentració és una de les diferències que es destaquen quan es comparen dades d'un determinat fàrmac entre països, tot i que no hi ha gaires diferències proporcionalment parlant entre grups; és a dir que els grups amb més presència són globalment els mateixos. A més, cal tenir en compte que els autors han de triar sempre la seva selecció de compostos, i existeixen moltes llistes. Això fa que a vegades es faci difícil comparar la presència d'un mateix compost en diferents estudis, doncs pot ser que en algun no l'hagin analitzat.

Les dades de publicacions posteriors o contemporànies a la nostra, on es fan estudis de fàrmacs en aigües superficials i potables *Carmona et al., 2014; EurEau, 2014; Garcia-Lor et al., 2014, Li, 2014; Verlicchi et al., 2014; Cai et al., 2015; e Jesus Gaffney et al., 2015; Khan and Nicell, 2015; Simazaki et al., 2015*; estan recollides en la taula 1.11. Comparant les dades d'aquestes publicacions amb la recopilació del paper de l'apartat 1.4.3 dels rius espanyols, en general es continuen estudiant els mateixos tipus de fàrmacs, però els nivells trobats són més baixos.

Pel que fa a la presència dels fàrmacs estudiats en aquesta tesi en les aigües potables, s'han trobat en aigües distribuïdes espanyoles la ranitidina (0.6 ng/L màx.), l'àcid clofíbric (40 ng/L màx.), el gemfibrozil (8 ng/L màx.), l'àcid salicílic (2 ng/L màx.), l'eritromicina (2 ng/L màx.), el sulfametoxazole (0.5 ng/L màx.), l'ibuprofè (54 ng/L màx.), la indometacina (6 ng/L màx.), el ketoprofè (3 ng/L màx.), l'acetaminofè (23 ng/L màx.) i la iopromida (84 ng/L màx.). Per la resta de fàrmacs estudiats, a la bibliografia no es s'han trobat dades de nivells per sobre dels límits de detecció de les metodologies emprades.

Comparant les dades recollides de l'aigua en aixetes espanyoles i a l'aigua d'aixetes europees, destaca sobretot la presència en aigües potables europees dels compostos de contrast (Raigs-X), on es van trobar tots els estudiats (àcid ditriazònic, iohexol i iopromida), a nivells que van de 5 a 149 ng/L, mentre que en les aigües potables espanyoles només es va detectar la iopromida. Dels fàrmacs trobats en aigües potables espanyoles, la ranitidina i l'eritromicina, no es van detectar en les europees, i en canvi bezafibrat (32 ng/L màx.), trimetoprim (1ng/L màx.), diclofenac (18 ng/L màx.), naproxè (0.5 ng/L màx.), tilosina (1.7 ng/L màx.), àcid ditriazòic (149 ng/L màx.) i iohexol (57 ng/L màx.), es van trobar en aigües potables europees mentre que estaven per sota els límits de detecció en el cas de les mostres espanyoles.

Taula 1.11. Nivells (ng/L) de fàrmacs en aigües superficials i potables, publicats entre 2014 i 2015

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
A02BC01 met. 4OH-omeprazol	4		Castelló, València	Gracia-Lor et al.,2014
A02BC01 Omeprazol	nd		Castelló, València	Gracia-Lor et al.,2014
C-10AB02 Bezafibrat	4	nd	València	Carmona et al., 2014
	2-34 0.20-0.77	0.31-0.85	Europa Xina	EurEau, 2014 Cai et al., 2015
C-10AB01 met àcid Clofibrac		3	Canadà	Khan and Nicell, 2015
	52 (max.)	120(max)	Japó	Simazaki et al., 2015
	17	19	València	Carmona et al., 2014
	nd		Castelló, València	Gracia-Lor et al.,2014
C-10AB05 Fenofibrat	nd	nd	Xina	Cai et al., 2015
		2	Canadà	Khan and Nicell, 2015
	23 (max.)	14 (max.)	Japó	Simazaki et al., 2015
C-10AB04 Gemfibrozil	27 (max.)	61 (max.)	Japó	Simazaki et al., 2015
	77	2	València	Carmona et al., 2014
D08AE04 Triclosan		18 (max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015
		26	Canadà	Khan and Nicell, 2015
	1	nd	València	Carmona et al., 2014

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
J01FA10 Azitromicina	7		Italia	Vericchi et al., 2014
J01FA09 Claritromicina	6		Italia	Vericchi et al., 2014
	nd-11		Europa	EurEau, 2014
J01AA03 Cloro-tetraciclina	nd-12		Castelló, València	Gracia-Lor et al.,2014
	nd	12 (max.)	Japó	Simazaki et al., 2015
	nd-27		Europa	EurEau, 2014
J01FA01 Erithromicina	nd		Italia	Vericchi et al., 2014
		5 (max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015
		13	Canadà	Khan and Nicell, 2015
J01FA06 Roxitromicina	nd		Italia	Vericchi et al., 2014
		10	Canadà	Khan and Nicell, 2015
J01EB03 Sulfametazi-na		0.5(max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015
	nd - 16.9		França	Camilleri et al., 2014
J01EC01 Sulfamethoxazole	13-60		Europa	EurEau, 2014
	nd		Castelló, València	Gracia-Lor et al.,2014
	33 -4330		Europa, America Àsia	Li, 2014
		1.3(max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
	nd-23		Europa	<i>EurEau, 2014</i>
	30- 468		Europa, America i Àsia	<i>Li, 2014</i>
	nd-16.23	nd-17.17	Xina	<i>Cai et al., 2015</i>
M01AE01 Ibuprofè (cont.)		1.3(max.)	Portugal	<i>Gaffney et al., 2015</i>
		47	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
	17 (max.)	33 (max.)	Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>
M01AE04 Fenoprofè	nd		França	<i>Camilleri et al., 2014</i>
	3	4	València	<i>Carmona et al., 2014</i>
M01AB01 Indometacina		11 (max.)	Portugal	<i>Gaffney et al., 2015</i>
	50 (max.)		Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>
	1.6 - 31.1		França	<i>Camilleri et al., 2014</i>
	nd		Europa	<i>EurEau, 2014</i>
	16- 620		Europa, America i Àsia	<i>Li, 2014</i>
M01AE03 Ketoprofè	nd	nd	Xina	<i>Cai et al., 2015</i>
		3	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
	60 (max.)	31 (max.)	Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>
M01AG01 àcid Mefenamic	37 (max.)	nd	Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
		3	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
J01EC01 Sulfamethoxa- zole (cont.)	1.39-2.48	nd	Xina	<i>Cai et al., 2015</i>
	38 (max.)	29 (max.)	Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>
J01AA07 Tetraciclina	nd (Itàlia)		Itàlia	<i>Verlicchi et al., 2014</i>
		5	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
	1.0 - 32.1		França	<i>Camilleri et al., 2014</i>
	2-6		Europa	<i>EurEau, 2014</i>
J01EA01 Trimetoprim	59.9 - 1808		Europa, America i Àsia	<i>Li, 2014</i>
	2		Itàlia	<i>Verlicchi et al., 2014</i>
		1	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
	49	18	València	<i>Carmona et al., 2014</i>
	6-71		Europa	<i>EurEau, 2014</i>
	62- 764		Europa, America i Àsia	<i>Li, 2014</i>
M01AB05 Diclofenac	nd-0.6	nd	Xina	<i>Cai et al., 2015</i>
		11 (max.)	Portugal	<i>Gaffney et al., 2015</i>
		1	Canadà	<i>Khan and Nicell, 2015</i>
	44 (max.)	nd	Japó	<i>Simazaki et al., 2015</i>
M01AE01 Ibuprofè	830	39	València	<i>Carmona et al., 2014</i>

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
M01AE02 Naproxè	278	11	València	Carmona et al., 2014
M01AE02 Naproxè (cont.)	5-18		Europa	EurEau, 2014
	80.5- 555		Europa, America i Àsia	Li, 2014
	nd	nd	Xina	Cai et al., 2015
N02BE01 Acetaminofè		6 (max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015
		1	Canadà	Khan and Nicell, 2015
	37.0 - 115.0		França	Camilleri et al., 2014
	nd-11		Europa	EurEau, 2014
N02BE01 Acetaminofè (cont.)	40		Europa, America i Àsia	Li, 2014
	0.07-0.12	nd	Xina	Cai et al., 2015
		47 (max.)	Portugal	Gaffney et al., 2015
N02BA àcid Salicil.líc		6	Canadà	Khan and Nicell, 2015
	20 (max.)	29 (max.)	Japó	Simazaki et al., 2015
N02BA àcid Salicil.líc	70	31	València	Carmona et al., 2014
	184		Europa, America i Àsia	Li, 2014
	11 (max.)	9.5(max.)	Japó	Simazaki et al., 2015

Codi ATC Fàrmac	A.SUP.	A. POT.	Ciutat/Pais	Referències
V08AB05 Iopromida	88-340		Europa	EurEau, 2014
	36 (max.)	57 (max.)	Japó	Simazaki et al., 2015

nd: no detectat; (max.): valor màxim trobat; A.SUP.: Aigües superficials. interval o mitjana (ng/L) A.POT.: Aigües potables interval o mitjana

En la taula 1.11, es pot veure que el bezafibrat també es va trobar en aigües potables de la Xina, Canadà i Japó (*Cai et al., 2015; Khan and Nicell, 2015 i Simazaki et al., 2015*), el timetroprim només s'ha identificat al Canadà (*Khan and Nicell, 2015*); diclofenac i naproxè a València, Portugal i Canadà (*Carmona et al., 2014; Gaffney et al., 2015; i Khan and Nicell, 2015*), mentre que la tilosina, àcid ditriazòic i iohexol, no s'han estudiat. Pel que fa a la ranitidina i l'eritromicina, que es van trobar en les aigües potables espanyoles, però no en les europees, la primera no ha estat estudiada recentment, però l'eritromicina també es va trobar en Portugal i Canadà (*Gaffney et al., 2015; i Khan and Nicell, 2015*). Tanmateix, de la gran quantitat de fàrmacs estudiats en la bibliografia, la gran majoria no es detecten en l'aigua potable, i els ja comentats que es detecten estan a nivells de pocs ng/L

Com s'ha comentat abans, cal insistir en que les llistes de fàrmacs que estudien els diferents autors dels articles científics varia, encara que alguns compostos es repeteixen molt sovint. Així per exemple, l'antibiòtic sulfadimetoxina es més estudiat a Nord Amèrica (6 ref.), que a Europa (0 ref.) o a Espanya (2 ref.), (material addicional del l'article de l'apartat 1.4.3 d'aquesta tesi), però en canvi dins d'aquest mateix grup, la claritromicina està més present a les llistes de compostos a estudiar espanyoles (5 ref.) que a les nord americanes i europees (0 ref. per les dues).

1.4.3. Article científic:

SURVEY OF THE OCCURRENCE OF PHARMACEUTICALS IN SPANISH FINISHED DRINKING WATERS.

M. Rosa Boleda^a, Élida Alechaga^b, Encarnación Moyano^b, M. Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^a.

^aAigües de Barcelona, S.A. General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

Environmental Science and Pollution Research. 2014, 21: 10917-10939

Survey of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish finished drinking waters

M. Rosa Boleda · Élica Alechaga ·
Encarnación Moyano · M. Teresa Galceran ·
Francesc Ventura

Received: 12 February 2014 / Accepted: 2 April 2014 / Published online: 24 April 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Fifty samples of finished drinking waters (FDWs) from Spain covering 12 million inhabitants were tested for 53 pharmaceuticals pertaining to 12 different Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system codes. The studied compounds are a combination of most commonly consumed pharmaceuticals with other barely reported in the literature. Five compounds, azithromycin, clarithromycin, erythromycin, sulfamethoxazole, and ibuprofen were tentatively identified by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) in some samples (2 to 15 %), but only ibuprofen and azithromycin could be confirmed when analyzed by liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) with a quadrupole-Orbitrap instrument. Concentration levels of ibuprofen in the positive samples ranged from 12 to 17 ng/L ($n=6$) while for azithromycin values from 5 to 9.5 ng/L ($n=3$) were found. Ibuprofen fragmentation behaviour in different mass spectrometry instrument configurations (triple quadrupole, quadrupole-ion trap, and quadrupole-Orbitrap) was evaluated.

Keywords Pharmaceuticals · ATC code · FDW · LC-MS/MS · LC-HRMS

Introduction

Pharmaceuticals are one of the hottest topics in the environmental scientific literature (Khetan and Collins 2007). Since the mid-1990s, an exponential interest has emerged on their presence in numerous environmental compartments that has led USEPA to compile a pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) literature database of more than 15,000 references covering origins, sources, occurrence, transport, fate, monitoring, and risk assessment among other aspects (Daughton and Scuderi 2013). Pharmaceuticals are released into the environment as trace pollutants mainly as a result of their excretion via urine and feces either metabolized or as parent compounds. Alternative routes for the entry of pharmaceuticals into the environment such as their release from skin during bathing and washing, disposal of unused, leftover medications, etc. have also been compiled (Daughton and Ruhoy 2009). The presence of pharmaceuticals in sewage effluents, groundwater, surface waters, and less frequently drinking waters has been extensively documented (Boxall et al. 2011; Daughton 2010; Hughes et al. 2013; Jones et al. 2005; Lapworth et al. 2012; Loos et al. 2010; Mompelat et al. 2009; Monteiro and Boxall 2010; Ontario 2010) and methodologies to prioritize compounds of interest have been developed (Besse and Garric 2008; De Voogt et al. 2009).

In relation to legislation of pharmaceuticals in the field of the water policy, the 3rd EPA drinking water contaminant candidate list CCL3 in the USA has included erythromycin and nitroglycerin. In Europe, three pharmaceuticals, diclofenac, 17- α -ethynylestradiol, and 17- β -estradiol were proposed to be added to the list of priority substances that are monitored and controlled in European Union surface

Responsible editor: Philippe Garrigues

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s11356-014-2885-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.

M. R. Boleda · F. Ventura
Aigües de Barcelona, S.A. General Batet 5-7,
08028 Barcelona, Spain

É. Alechaga · E. Moyano · M. T. Galceran
Department of Analytical Chemistry, University of Barcelona,
Av. Diagonal, 647, 08028 Barcelona, Spain

F. Ventura (✉)
Department of Environmental Chemistry, IDAEA-CSIC,
J. Girona 18, 08034 Barcelona, Spain
e-mail: fvaqam@cid.csic.es

waters, but finally, they have been only included in the watch list of compounds that needs more data to support further prioritization.

Data from presence and concentration ranges in raw water sources (i.e., rivers and groundwater) provide information about targeted pharmaceuticals that are more prone to occur in drinking water, although the efficiencies of the treatments used in the drinking water treatment plants must be taken into account. Recently, pharmaceutical data sets collected from river systems around the world have been critically evaluated (Hughes et al. 2013). In this work, it is stated that most studies have been performed in the USA, Spain, China, Germany, Canada, and UK, and specifically in Europe, most of them have been undertaken in the Ebro and Llobregat (Spain) and Elbe and Rhine basins (Germany and Switzerland). An interesting finding related to the results from Spain is that the national mean for some compounds is much higher than the global mean of the ten most studied countries. For instance, Spain presents values exceeding 441 % of the global mean for blood lipid regulators, 213 % for other cardiovascular drugs, and 209 % for painkillers (Hughes et al. 2013) in raw waters.

The current state of knowledge of pharmaceuticals in Spanish rivers, which are the main raw source of the distributed drinking waters in the country is summarized in Table 1. Data available in the literature from positive and negative occurrence in finished drinking waters (FDW) in Spain and Europe are also included. Table 1 is restricted to the 75 compounds most frequently studied (out of the 220 compiled pharmaceuticals in Spain, Europe, and North America in FDW and Spanish rivers—Tables S1 and S2, respectively, of the Electronic supplementary material), where the corresponding references are included and uses the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification system codes as a framework to organize the data as suggested by Daughton (2010). Table 1 displays the number of publications where the pharmaceutical has been targeted, the positive occurrence data (expected for most raw source waters), the absence (expected for most FDW), and the range of the maximum values and the mean or median values if available, with their ranges.

Most of the Spanish data on pharmaceuticals came from studies carried out in the Llobregat river basin (NE Spain) (Farre et al. 2001; García-Galán et al. 2010; Huerta-Fontela et al. 2011; Köck-Schulmeyer et al. 2011; Kuster et al. 2008; López-Roldan et al. 2010; López-Serna et al. 2012; Boleda et al. 2011, 2013; Muñoz et al. 2009; Pedrouzo et al. 2007; Rodríguez-Mozaz et al. 2004a, b), in the Ebro River basin (NE Spain) (Ferreira da Silva et al. 2011; García-Galán et al. 2011; Gonçalves et al. 2011; Gros et al. 2006, 2007, 2008; López-Roldan et al. 2010; López-Serna et al. 2011; Pedrouzo et al. 2007), in Henares–Tagus–Jarama rivers (Central Spain) (Fernández et al. 2010; González-Alonso et al. 2010; Martínez Bueno et al. 2010; Valcárcel et al. 2011a, b, 2013) and less frequently, in other rivers of the country (Esteban et al. 2012;

Iglesias et al. 2012; Martín et al. 2011; Rodil et al. 2012). The most studied compound classes are those related to the cardiovascular system (diuretics, β -blocking agents, and lipid modifying agents); the muscular–skeletal system (anti-inflammatory and antirheumatic products); the nervous system (analgesics, antiepileptics, psycholeptics, and psychoanaleptics); the genito-urinary system and sex hormones; the alimentary tract (acid-related disorders); the respiratory system and also anti-infectives (antibacterials), and X-ray contrast media, which is in agreement with the worldwide coverage of compound classes (Hughes et al. 2013). The ten most frequently identified compounds in Spanish rivers are ibuprofen, diclofenac, naproxen, clofibrac acid, carbamazepine, sulfamethoxazole, trimethoprim, bezafibrate, atenolol, and gemfibrozil with concentration levels ranging from few ng/L to high μ g/L. Their maximum levels represent the highest concentrations in river waters reported in the literature except for ibuprofen, naproxen and trimethoprim (Hughes et al. 2013). As regards Spanish FDW, quantitative data have been published for 29 pharmaceuticals among a total of 223 studied compounds (see Table S1). Table 1 displays 21 pharmaceuticals identified in Spanish FDW out of the 75 ranked; 48 compounds were never detected and 6 (enalapril, iomeprol, iopamidol and its transformation products, and iothalamic and ioxithalamic acids) were not studied in FDW. The most refractory compounds frequently reported in Spanish finished water (see the percentage of absence in Spanish FDW in Fig. S1) are (maximum concentration in brackets) iopromide (84 ng/L), ibuprofen (54 ng/L), venlafaxine (44 ng/L), atenolol and acetaminophen (23 ng/L), hydrochlorothiazide (7 ng/L), and carbamazepine (5.7 ng/L), some of them not included in the 75 (Table 1) most studied worldwide. Table 1 also displays quantitative data from European FDW for 32 pharmaceuticals out of 75 ranked (Table S1 provides quantitative data for 46 compounds out of 207 total targeted pharmaceuticals). The most refractory FDW compounds found in Europe are the X-ray contrast media group and their transformation products (see Table 1 and references cited herein). As examples, levels of iopamidol up to 270 ng/L, to 500 ng/L, and to 260 ng/L for iopromide transformation products were measured (Kormos et al. 2011). In Spain, only iopromide has been found. Other compounds commonly found in European FDW such as acetaminophen (maximum levels of 210 ng/L), carbamazepine (43 ng/L), and ibuprofen (28 ng/L) were also found in Spain whereas other pharmaceuticals such as phenazone (400 ng/L), clofibrac acid (170 ng/L), salicylic acid (122 ng/L), propyphenazone (120 ng/L), sulfamethoxazole (25 ng/L), or diclofenac (18 ng/L) were practically not identified in Spanish FDW. On the contrary, venlafaxine and hydrochlorothiazide were absent or not studied in European FDWs. When comparing data from FDWs of Europe and North America, important differences are observed among the pharmaceuticals most frequently studied and encountered.

Table 1 Summary of occurrence data for the top 75 most frequently reported pharmaceutical compounds in Spanish rivers and finished drinking waters from Spain and rest of Europe (concentrations in ng/L)

Spain rivers		Spain FDW		Europe FDW					
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or median) ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	
Stomatological (A01), acid-related disorders (A02), antidiarrheals (A07), and antidiabetics (A10)									
A02BA01	Cimetidine	4/6	10.7–12	(0.1–10.7)	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Serna et al. (2011), and Gros et al. (2008, 2013)	2/2	nd	Boleda et al. (2011) and Gros et al. (2013)	
A02BA03	Famotidine	6/13	8.6–349	(0.1–14)	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011), Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Serna et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a, 2013)	4/4	nd	Boleda et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)	
A02BC01	Omeprazole	4/4	1.6–222		Boleda et al. (2011, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a)	5/5	nd	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Pedrouzo et al. (2008)	
A02BA02	Ranitidine	15/15	4.9–570	(0.8–142)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Serna et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a), Pedrouzo et al. (2008)	6/7	0.6	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, 2013), Pedrouzo et al. (2008), and Gros et al. (2013)	Zuccato et al. (2000)
Cardiac (C01), diuretics (C03), calcium channel blockers (C08), and agents acting on the renin-angiotensin system (C09)									
C08DB01	Diltiazem	2/2	13	(4)	Huerta-Fontela et al. (2011) and Gros et al. (2013)	2/2	nd	Huerta-Fontela et al. (2011) and Gros et al. (2013)	
C09AA02	Enalapril*	4/5	3.10–6.84	(1.50–4.18)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2012), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Serna et al. (2011), and Gros et al. (2008)	4/4	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	Zuccato et al. (2000) and Valliét et al. (2011)
C03CA01	Furosemide	10/10	40–3,228	(9.2–174)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011b, 2013)	4/4	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	
C03AA03	Hydrochlorothiazide	11/11	11.9–17,589	(20–670)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	3/5	7	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	

Table 1 (continued)

		Spain FDW				Europe FDW					
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
β-blocking agents (C07)											
C07AB03	Atenolol	17/17	26–11,020	(7.4–2,789)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), Kuster et al. (2008), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Rodil et al. (2012)	2/5	6–23	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	2/3	2	Zuccato et al. (2000), Vulliet et al. (2011), and De Jongh et al. (2012)
C07AB02	Metoprolol	14/15	5–1,600	(1–327)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Serna et al. (2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Serna et al. (2011), Gross et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011b, 2013)	4/4	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	2/4	14–26	Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), De Jongh et al. (2012), and Stolker et al. (2004)
C07AA05	Propranolol	12/16	5–270	(2–54)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Martin et al. (2011), and Bourgin et al. (2013)	5/5	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	1/1	nd	Vulliet et al. (2011)]
C07AA07	Sotalol	14/14	13–1,820	(2.9–570)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Bourgin et al. (2013)	3/4	3	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	1/1	nd	De Jongh et al. (2012)
Lipid-modifying agents (C10)											
C10AB02	Bezafibrate	17/18	10–15,060	(6–1,020)	Bolsa et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2013), and Bourgin et al. (2013)	6/6	nd	Bolsa et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	4/8	1.9–32	Zuccato et al. (2000), Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), De Jongh et al. (2012), Stolker et al. (2004), Stumpf et al. (1996), and Vieno et al. (2005)

Table 1 (continued)

Spain rivers		Spain FDW				Europe FDW					
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
C10AB01 (mtl)	Clofibric acid	18/20	4.9–7,910	(2–2,280)	Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Bourgin et al. (2013) Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), Kuster et al. (2008), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Martín et al. (2011), Bourgin et al. (2013), and Hernando et al. (2006)	6/7	40	Boleda et al. (2011, 2013), Kuster et al. (2008), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Hernando et al. (2006)	0/7	32–170	Zuccato et al. (2000), Versteegh et al. (2007), Ternes (2001), Stolker et al. (2004), Stumpf et al. (1996), Heberer and Stan (1997), and Versteegh et al. (2003)
C10AB04	Gemfibrozil	17/17	3.80–7,780	(2.1–1,420)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Martín et al. (2011), and Bourgin et al. (2013)	4/5	8	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	1/2	0.8	Loos et al. (2007) and Togoła and Budzinski (2008)
C10AB05	Fenofibrate	6/10	1.23–127	(0.2–82.1)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b), Valcárcel et al. (2013), Bourgin et al. (2013)	3/3	nd	Boleda et al. (2011) and Valcárcel et al. (2011b, 2013)	1/2	14–21	Versteegh et al. (2007) and Stolker et al. (2004)
none	Mevastatin	0/13	nd		Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b), and Bourgin et al. (2013)	3/3	nd	Boleda et al. (2011) and Valcárcel et al. (2011b, 2013)			
C10AA03	Pravastatin	7/14	14.5–378	(8.57–65.1)	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013)	4/4	nd	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b), Valcárcel et al. (2013), and Gros et al. (2013)	0/1	0.2	Vulliet et al. (2011)

Table 1 (continued)

TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges	References	Spain FDW			Europe FDW		
						Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
Spain rivers											
Antifungals (D01), anipruritics (D04), antibiotics (D06), corticosteroids (C07), and antiseptics (D08)											
D01AE12, S01BC08	Salicylic acid	12/14	7–8,800	(1.8–333.2)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Petrozou et al. (2007), Gros et al. (2008, 2013), Fernández et al. (2010), Valércel et al. (2011b, 2013), Valércel et al. (2013), Rodil et al. (2012), and Martín et al. (2011)	4/5	2	Boleda et al. (2011), Valércel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	0/2	19–122	Versteegh et al. (2007) and Vuillet et al. (2011)
D08AE04	Triclosan	1/4	40		Boleda et al. (2011, 2013), Kuster et al. (2008), and Rodil et al. (2012)	3/3	nd	Boleda et al. (2011), Kuster et al. (2008), and Rodil et al. (2012)	2/2	nd	Vuillet et al. (2011) and Loos et al. (2007)
Sex hormones and modulators of the genital system (G03) and urogicals (G04)											
G03CA03	17β-Estradiol	0/7	nd		Köck-Schulmeyer et al. (2011), Kuster et al. (2008), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2012), and Martín et al. (2011)	3/3	nd	Kuster et al. (2008) and Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)	1/2	0.2–2.1	Loos et al. (2007) and Kuch and Ballschmitter (2001)
G03CA04	Estradiol-17-glucuronide	0/5	nd		Kuster et al. (2008), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b), López-Roldán et al. (2010), and López-Serna et al. (2012)	3/3	nd	Kuster et al. (2008) and Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)			
	Estradiol-17-acetate	0/2	nd		Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)	2/2	nd	Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)			
	Estrinol	2/6	72–100	(26)	Huerta-Fontela et al. (2011), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a), Rodríguez-Mozaz et al. (2004b), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2012), and Martín et al. (2011)	3/4	11.6	Huerta-Fontela et al. (2011), Kuster et al. (2008), and Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)	1/1	nd	Vuillet et al. (2011)
G03CA07	Estrone	7/8	0.68–22	(0.3–1.80)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), Kuster et al. (2008), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b), López-Serna et al. (2012), and Martín et al. (2011)	5/5	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Kuster et al. (2008), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b), and López-Roldán et al. (2010)	1/4	0.2–1.0	Vuillet et al. (2011), Hirsch et al. (2000), Loos et al. (2007), and Kuch and Ballschmitter (2001)
G03CA01	17α-ethinyl estradiol	1/7	3.4	(2.5)	Huerta-Fontela et al. (2011), Kuster et al. (2008), Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2012), and Martín et al. (2011)	4/4	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Kuster et al. (2008), and Rodríguez-Mozaz et al. (2004a, b)	1/2	0.15–0.50	Kuch and Ballschmitter (2001) and Aheme and Briggs (1989)
Antibacterials (J01) and antivirals (J05)											
J01CA04	Amoxicillin	0/2	nd		Boleda et al. (2011) and Martínez Bueno et al. (2010)	1/1	nd	Boleda et al. (2011)			
J01FA10	Azithromycin	11/12	17.6–569	(1.7–71.7)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-	5/5	nd	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-	1/1	nd	Vuillet et al. (2011)

Table 1 (continued)

TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean) and/or [median] ^c ranges	Spain FDW			Europe FDW				
					References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges		
J01DB01	Cefalexin	0/1	nd		Sema et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013) Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a)	1/1	nd		Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)			
J01MA02 (ml)	Ciprofloxacin	7/8	23–224	(3.3–93)	Gros et al. (2013) Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Sema et al. (2012), López-Sema et al. (2011), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a), and Iglesias et al. (2012)	3/3	nd		Gros et al. (2013) Valcárcel et al. (2011a, 2013) and Gros et al. (2013)	1/1	nd	Zuccato et al. (2000)
J01FA09	Clarithromycin	11/11	36.9–1,727	(8.76–88.8)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Sema et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a, 2013)	5/5	nd		Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)	1/1	nd	Bruchet et al. (2005)
J01FA01	Erythromycin	13/16	30–3,847	(1.2–175)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Sema et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Pedrouzo et al. (2008)	4/6	2.0		Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, 2013), Pedrouzo et al. (2008), and Gros et al. (2013)	4/4	nd	Zuccato et al. (2000), Bruchet et al. (2005), De Jongh et al. (2012), and Stolker et al. (2004)
J01FF02	Lincomycin	3/3	17.9–644		Boleda et al. (2011, 2013) and Martínez Bueno et al. (2010)	2/2	nd		Boleda et al. (2011, 2013)	2/2	nd	Zuccato et al. (2000) and Bruchet et al. (2005)
J01XD01 (ml)	Metronidazole	8/9	19–1,834	(0.4–44.9)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Sema et al. (2012), Ferreira da Silva et al. (2011), López-Sema et al. (2011), Gros et al. (2008), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a), Valcárcel et al. (2013), and Gros et al. (2013)	2/2	nd;		Valcárcel et al. (2013) and Gros et al. (2013)	2/2	nd	Vulliet et al. (2011) and Bruchet et al. (2005)
J01MA01	Ofloxacin	11/12	20–8,770	(7.3–2,110)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Sema et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2013)	3/3	nd		Valcárcel et al. (2011a, 2013) and Gros et al. (2013)			
J01FA06	Roxithromycin	2/6	(0.32–0.5)		Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Sema et al. (2011, 2012), Gros et al. (2008), and Pedrouzo et al. (2008)	2/2	nd		Boleda et al. (2011) and Pedrouzo et al. (2008)	2/2	nd	Vulliet et al. (2011) and Bruchet et al. (2005)
J01EC02	Sulfadiazine	8/10	6.4–2,978	(1.8–708.8)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), García-Galán et al. (2010), López-	1/1	nd		Pedrouzo et al. (2008)			

Table 1 (continued)

TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges	References	Spain FDW			Europe FDW		
						Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
J01ED01	Sulfadimethoxine	5/5	7–43		Sema et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), García-Galán et al. (2011), Gros et al. (2008), Martínez Bueno et al. (2010), and Iglesias et al. (2012)	2/2	nd	Boleda et al. (2011, 2013)			
J01EB03	Sulfamethazine	8/12	5–2,481.8	(2.6–112)	Boleda et al. (2011, 2013), García-Galán et al. (2010, 2011), and Fernández et al. (2010)	3/3	nd	Boleda et al. (2011, 2013) and Pedrouzo et al. (2008)	1/1	nd	Bruchet et al. (2005)
J01EC01	Sulfamethoxazole	17/19	23.7–11,920	(11–1,110)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), García-Galán et al. (2010, 2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008), Martínez Bueno et al. (2010), Iglesias et al. (2012), and Pedrouzo et al. (2008)	5/6	0.5	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011a, b), Pedrouzo et al. (2008), and Gros et al. (2013)	2/6	0.8–25	Versteegh et al. (2003, 2007), Vulliet et al. (2011), Brichet et al. (2005), Stolker et al. (2004), and Loos et al. (2007)
J01AA07	Tetracycline	3/8	63.4–228	(1.2–86.9)	Boleda et al. (2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a)	3/3	nd	Valcárcel et al. (2011a, b) and Gros et al. (2013)			
J01EA01	Trimethoprim	17/19	9–690	(4–140)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, b), Martín et al. (2011), Pedrouzo et al. (2008), and Gros et al. (2013)	5/5	nd	Boleda et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, b), Pedrouzo et al. (2008), and Gros et al. (2013)	0/1	1.0	Vulliet et al. (2011)
L01AB01	Antineoplastic agents (L01) and endocrine therapy (L02)	0/2	nd		Martínez Bueno et al. (2010) and Valcárcel et al. (2011a)	2/2	nd	Valcárcel et al. (2011a, 2013)	1/1	nd	Zuccato et al. (2000)
M01AB05	Antiinflammatory and antirheumatic products (M01)	19/21	35–18,740	(13–2,200)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), Kuster et al. (2008)	8/8	nd	Boleda et al. (2011, 2013), Kuster et al. (2008), Valcárcel et al.	3/8	0.2–18	Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), Ternès (2001),

Table 1 (continued)

Spain rivers		Spain FDW			Europe FDW			
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
M01AE01	Ibuprofen	20/22	44–16,886	(46–1,370)	al. (2008), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b), Valcárcel et al. (2013), Rodil et al. (2012), Martín et al. (2011), and Hermando et al. (2006)	5/8	5–54	(2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Gros et al. (2013), and Hermando et al. (2006)
M01AB01	Indomethacin	11/14	10–380	(6.8–160)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), Kuster et al. (2008), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Martín et al. (2011), Gros et al. (2013), and Hermando et al. (2006)	4/5	6	Boleda et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)
M01AE03	Ketoprofen	11/19	10.4–2,710	(3.2–790)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Rodil et al. (2012)	5/6	3	Boleda et al. (2011), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Gros et al. (2013), and Hermando et al. (2006)
M01AG01	Mefenamic acid	11/13	2.4–104	(2–20)	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007), Martínez Bueno et al. (2010), Rodil et al. (2012), Martín et al. (2011), and Hermando et al. (2006)	3/3	nd	Boleda et al. (2011) and Valcárcel et al. (2011b, 2013)
							0.6–28	Zuccato et al. (2000), Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), Temes (2001), Stolker et al. (2004), Vieno et al. (2005), and Togola and Budzinski (2008)

Table 1 (continued)

TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or median) ^c ranges	Spain FDW			Europe FDW			
					References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	
M01AE02	Naproxen	19/21	50–3,140	(32.4–530)	Valcárcel et al. (2011b, 2013), and González-Alonso et al. (2010) Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), Martín et al. (2011), and Hernando et al. (2006)	6/6	nd	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011b), Rodil et al. (2012), Gros et al. (2013), and Hernando et al. (2006)	1/3	0.2–0.5	Vulliet et al. (2011), Vieno et al. (2005), and Togola and Budzinski (2008)
Anesthetics (N01) and analgesics (N02)											
N02BE01	Acetaminophen	17/17	30–2,813	(10–499.4)	Boleda et al. (2011, 2013), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011b, 2013)	3/5	3.4–23	Boleda et al. (2011, 2013), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Gros et al. (2013)	1/4	33–210.1	Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), and Togola and Budzinski (2008)
N02BB01	Phenazone (antypirine)	8/9	10.2–752	(1.8–40.3)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	3/3	nd	Valcárcel et al. (2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	0/5	20–400	Versteegh et al. (2007), Temes (2001), De Jongh et al. (2012), Reddersen et al. (2002), and Zuhlike et al. (2004)
N02BB04	Propyphenazone	10/12	10–180	(2.6–90)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011b, 2013), and Rodil et al. (2012)	4/4	nd	Valcárcel et al. (2011b, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	1/3	80–120	De Jongh et al. (2012) and Reddersen et al. (2002), Zuhlike et al. (2004)
Antiepileptics (N03), psycholeptics (N05), and psychoanaleptics (N06)											
N03AF01	Carbamazepine	19/19	6–67,715	(13–1,070) [82]	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Pedrouzo et al. (2007), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010)	3/6	2–5.7	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), Esteban et al. (2012), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	2/9	9.1–43	Versteegh et al. (2007), Vulliet et al. (2011), Temes (2001), De Jongh et al. (2012), Stolker et al. (2004), Loos et al. (2007), Versteegh et al. (2003), Togola and Budzinski (2008), and Hummel et al. (2006)

Table 1 (continued)

Spain rivers		Spain FDW				Europe FDW					
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or median) ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
N03AF01 (ml)	Carbamazepine epoxide	5/5	14–282	(10.5–54)	Huerta-Fontela et al. (2011), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)	3/4	2	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)	1/1	nd	De Jongh et al. (2012)]
N06AB04	Citalopram	5/5	10–160	(2.2)[43]	Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and González-Alonso et al. (2010), and Gros et al. (2013)	4/4	nd	Valcárcel et al. (2011a, 2013), Esteban et al. (2012), and Gros et al. (2013)			
N05BA01	Diazepam	8/10	2.68–90	(2.68–14.9)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a, 2013)	4/4	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Gros et al. (2013)	3/4	19.3–23.5	Zuccato et al. (2000), Togola and Budzinski (2008), and Hummel et al. (2006), and Hass et al. (2012)
N06AB03	Fluoxetine	6/13	3–66.1	(2–10.87)/[14]	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Fernández et al. (2010), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a), and González-Alonso et al. (2010)	4/4	nd	Valcárcel et al. (2011a, 2013), Esteban et al. (2012), and Gros et al. (2013)	1/2	10	Vensteegh et al. (2007), and Vuillet et al. (2011)
N05BA06	Lorazepam	6/7	19–53.1	(11–41.3)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008), González-Alonso et al. (2010), and Gros et al. (2013)	1/2	562	Esteban et al. (2012) and Gros et al. (2013)	1/1	nd	Vuillet et al. (2011)
N06AB03 (ml)	Norfluoxetine	0/2	nd		González-Alonso et al. (2010) and Gros et al. (2013)	1/1	nd	Gros et al. (2013)	1/1	nd	Vuillet et al. (2011)
N06AB05	Paroxetine	3/12	40–225	(0.4–212.5)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a), and González-Alonso et al. (2010)	3/3	nd	Valcárcel et al. (2011a, 2013) and Gros et al. (2013)			
N03AB02	Phenytin	2/2	107.4–140	(56)	Huerta-Fontela et al. (2011) and Fernández et al. (2010)	0/1	10	Huerta-Fontela et al. (2011)			
N06AX16	Venlafaxine	6/6	45–1,003	(12–76.6)/[57]	Huerta-Fontela et al. (2011), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, 2013), González-Alonso et al. (2010), and Gros et al. (2013)	3/5	9–44	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), Esteban et al. (2012), and Gros et al. (2013)	1/1	nd	De Jongh et al. (2012)

Table 1 (continued)

Spain rivers		Spain FDW			Europe FDW				
TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean and/or [median] ^c ranges)	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References	
Veterinary: antibiotics for systemic use (Q01), anesthetics (QN01), and antiprotozoals (QP51)									
Q01FA90	Tylosin	4/7	0.77–1.6	(0.6–0.77)	Boleda et al. (2011), Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008), and Pedrouzo et al. (2008)	2/2	nd	Boleda et al. (2011, 2013)	Zuccato et al. (2000), Vuillet et al. (2011), and Bruchet et al. (2005)
R05DA04	Codeine	7/7	19–3,141	(5.6–110)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Gros et al. (2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011b)	3/3	nd	Valcárcel et al. (2011b, 2013) and Gros et al. (2013)	
R06AX13	Loratadine	7/11	3–201.6	(0.3–45.5)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), López-Roldán et al. (2010), López-Serna et al. (2011, 2012), Muñoz et al. (2009), Gros et al. (2006, 2007, 2008, 2013), Martínez Bueno et al. (2010), and Valcárcel et al. (2011a)	3/3	nd	Valcárcel et al. (2011a, 2013) and Gros et al. (2013)	
R03AC02	Salbutamol	7/10	1–28	(0.03–4.9)	Köck-Schulmeyer et al. (2011), Huerta-Fontela et al. (2011), López-Serna et al. (2011, 2012), Ferreira da Silva et al. (2011), Gros et al. (2008), Martínez Bueno et al. (2010), Valcárcel et al. (2011a, 2013), and Rodil et al. (2012)	5/5	nd	Huerta-Fontela et al. (2011), Valcárcel et al. (2011a, 2013), Rodil et al. (2012), and Gros et al. (2013)	Zuccato et al. (2000) and Togola and Budzinski (2008)
X-ray contrast media (V08)									
V08AA01	Diatrizoic acid	2/2	58.8–84		Boleda et al. (2011, 2013)	2/2	nd	Boleda et al. (2011, 2013)	Temes (2001), Bruchet et al. (2005), Wenzel et al. (2003), Hirsch et al. (2000), and Seitz et al. (2006)
V08AB02	Iohexol	2/2	71.4–341		Boleda et al. (2011, 2013)	2/2	nd	Boleda et al. (2011, 2013)	Kormos et al. (2011), Versteegh et al. (2007), Bruchet et al. (2005), Seitz et al. (2006), and Kormos et al. (2009)
V08AB10	Iomeprol	–				0/4	12–92		Kormos et al. (2011), Wenzel et al. (2003), Seitz et al. (2006), and Kormos et al. (2009)
V08AB04	Iopamidol	0/1	nd		Martínez Bueno et al. (2010)	0/7	60–270		Kormos et al. (2011), Temes (2001), Bruchet et al. (2005), Wenzel et al. (2003), Hirsch et al. (2000), Seitz et al. (2006), and Kormos et al. (2009)
V08AB05	Iopromide	3/3	58–505		Boleda et al. (2011), Martínez Bueno et al. (2010), and Gros et al. (2013)	1/3	17.2–84	Boleda et al. (2011, 2013) and Gros et al. (2013)	Kormos et al. (2011), Versteegh et al. (2007), Temes (2001), Bruchet et al. (2005), Wenzel et al. (2003), Hirsch et al. (2000), and Seitz et al. (2006)

Table 1 (continued)

Spain rivers	Spain FDW				Europe FDW				
	TC code	Compound	Presence/ publ. ^a	Max ^b ranges	(Mean) and/or [median] ^c ranges	References	Absence/ publ.	Max ^b ranges	References
	V08AB05	Iopromide (tp's) ^a	–	–	–	–	0/1	260	Kormos et al. (2011)
	V08AA04	Iothalamic acid	–	–	–	–	1/2	10	Bruchet et al. (2005) and Hirsch et al. (2000)
	V08AA05	Ioxitalamic acid	–	–	–	–	1/2	1.2	Bruchet et al. (2005) and Wenzel et al. (2003)

(tp's)^d transformation products, *mlt* metabolite

^a Absence/no. of publications is referred to the frequency of absence of a determined pharmaceutical respect to the number of publications revised

^b Maximum is referred to the range of the maximum values reported by all references for each pharmaceutical

^c Mean and/or median is referred to the range of mean or median values (if available) reported by all references for each pharmaceutical

Data compiled in North America FDW which are included in Table S1 (Electronic supplementary material) show that ibuprofen (1,350 ng/L) and its methyl ester (4,950 ng/L), carbamazepine (258 ng/L), erythromycin (155 ng/L), meprobamate (43 ng/L), which has not been studied in Europe, roxithromycin (41 ng/L), phenytoin (32 ng/L), and sulfamethoxazole (20 ng/L) are among the most studied refractory compounds (see Table S1 and references cited herein). Among them, only ibuprofen and carbamazepine have been frequently studied and found in Spain and the rest of Europe.

The aim of this paper is to evaluate the occurrence of pharmaceuticals in tap waters from Spain in a national survey. The compounds to be studied were selected among the most commonly consumed pharmaceuticals, and other pharmaceuticals much less frequently studied in the literature have also been added. These last compounds were included with the objective of expanding the knowledge, to cover a high number of pharmaceutical classes and to assess the potential of these compounds to survive potabilization processes. As indicated by Daughton (2003), the compilation of potential negative data and a more comprehensive characterization of those pharmaceuticals not currently monitored are essential for ensuring a holistic assessment of risk. Data obtained from the national survey in a country with high consumption levels for most of the therapeutic classes and national FDW average concentrations above the global values can provide a better understanding of the presence and behavior of pharmaceuticals in drinking water treatment plants. Analyses were carried out using ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) whereas high-resolution mass spectrometry (HRMS) with an Orbitrap analyzer, which has been proved to be suitable for trace detection (Fedorova et al. 2013), has been used to evaluate false positives.

Material and methods

The group of pharmaceuticals analyzed comprises compounds from the following therapeutic classes: stomatological (ATC code, A01); acid-related disorders (A02); antiarrhythmals (A07); lipid-modifying agents (C10); antifungals (D01); anti-septics (D08); urological (G04), antibacterials (J01); anti-inflammatory and antirheumatic (M01); psycholeptics (N05); antibacterials for systemic use (QJ01), X-ray contrast media (V08); and several metabolites. Figure S1 (Electronic supplementary material) displays the chemical structures of the individual compounds of each group.

Standards and reagents

Individual standard solutions of target compounds and selected deuterated compounds were obtained from Cerilliant

(Austin, TX, USA), LGC Standards (Middlesex, UK), Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA), and Toronto Research Chemicals (North York, Canada).

Analytical-grade ammonium acetate, ammonium formate, and formic acid used for the LC mobile phase were obtained from Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA). HPLC-grade methanol and acetonitrile were provided by Aldrich Chemical. Methanol Purge&Trap grade used for the preparation of standard working solutions was obtained from Riedel-de-Haën (Germany). Water was purified in an Elix-MilliQ system (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Mobile phases were filtered through a 0.22- μm nylon filter (Whatman, England).

Sample collection

FDW samples from 43 Spanish cities (total 50 samples) were collected directly from the tap between fall 2008 and summer 2009. One-liter propylene bottles containing sodium thiosulfate, wrapped in aluminum foil and kept refrigerated (4 °C) until analysis were used. Stability of the samples was checked in order to ensure the reliability of the results.

Analytical methodology

The studied pharmaceuticals were analyzed using a previously reported SPE-LC-MS/MS method (Boleda et al. 2013). Briefly, 200 mL of water (1 % methanol) were enriched by SPE on Oasis-HLB cartridges (200 mg, 6 mL, Waters, Milford, MA, USA) at a flow rate of 10 mL/min. The cartridges were washed with 3 mL of water with 5 % aqueous MeOH and dried with nitrogen (5 min). Analytes were eluted using 8 mL of methanol, and the extract was evaporated to dryness and reconstituted in 500 μL of methanol/water solution (20:80). The final extract was filtered through 0.2 μm and was spiked with 10 μL of the mixed deuterated compounds solution (10 ng/ μL). Quantitation was performed by external calibration using these deuterated compounds as internal standards and applying the recoveries obtained during method validation (Boleda et al. 2013).

LC-MS/MS procedure

Compounds were analyzed by UHPLC-MS/MS with a Waters Acquity ultra-performance™ liquid chromatograph system (Waters Corp. USA), coupled to a Quattro Micro™ triple quadrupole mass spectrometer (Micromass, Waters Corp., USA) with an electrospray ionization source Z-spray™ working in positive or in negative ionization mode, as described in the previously reported SPE-LC-MS/MS method (Boleda et al. 2013). Briefly, an Acquity BEH C18 column (100 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μm particle size; Waters Corp. USA) was used; the sample volume injected was 10 μL , and

the acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode, using the Quanlynx™ software.

For those compounds analyzed in positive ESI mode, the separation was performed with a ternary mobile phase at a flow rate of 0.4 mL/min. Solvent A, acetonitrile/methanol (2:1); solvent B, 6.5 mM ammonium acetate/acetic acid (pH 5.2). For compounds analyzed in negative ESI mode, a binary mobile phase, solvent A, methanol and solvent B, 6.5 mM ammonium acetate/acetic acid (pH 5.2) at a flow rate of 0.4 mL/min was used (Boleda et al. 2013). Transitions, optimized MS/MS conditions, and allowed tolerances are summarized in Table S3 of the Electronic supplementary material.

UHPLC-HRMS procedure

Samples analyzed according to the procedure described above exhibiting presence of pharmaceuticals were subjected to liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS) analysis using an Accela 1000 UHPLC pump (Thermo Fisher Scientific, CA, US) coupled to a Q-Exactive quadrupole-Orbitrap mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, US) equipped with a heated electrospray (H-ESI II) source working in positive and negative modes. Analytical column and mobile phase used in this system were the same as indicated above. Chromatographic separation was performed at a flow rate of 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ with the following gradient elution: 0 min, 20 % A; 0–2.0 min, 20–50 % A; 2.0–6.67 min, 50–60 % A; 6.67–8.0 min, 60–90 % A; 8.0–10.67 min, 90–100 % A; 10.67–12.0 min, 100 % A and then returning to initial conditions.

Targeted-SIM (t-SIM) and targeted-MS/MS (t-MS2) modes were used for the acquisition of samples. In t-SIM mode, a quadrupole isolation width of 4 m/z and a scanning range from m/z 100 to m/z 1,000 at a mass resolving power of 70,000 FWHM (at m/z 200) were used. In t-MS2, ions selected (1 m/z window) were sent to the high-collision dissociation (HCD) cell for their fragmentation, and product ions were scanned in the Orbitrap at a mass resolving power of 17,500 FWHM (at m/z 200) in the range of 100 to 1,000 m/z . H-ESI II source conditions in positive mode were fixed as follows: spray voltage at +3.0 kV, sheath gas flow at 40 arbitrary units (au), auxiliary gas flow at 10 au, ion sweep gas at 0 au, heated capillary temperature at 320 °C, vaporizer temperature at 400 °C, S-lens frequency of 50 %. For H-ESI II in negative mode, the conditions were fixed as follows: spray voltage at –3.0 kV, sheath gas flow at 50 au, auxiliary gas flow at 0 au, ion sweep gas flow at 0 au, heated capillary temperature at 320 °C, vaporizer temperature at 400 °C, and S-lens frequency of 40 %. Nitrogen (>99.8 %) was used as desolvation and nebulization gas, as well as collision gas. The optimal HCD-normalized collision energies were: ibuprofen, 25 %; sulfamethoxazole, 38 %; clarithromycin, 16 %; azithromycin,

30 %; and erythromycin, 22 %. Data were acquired and processed using the Xcalibur v 2.1 software package and Exact Finder v 2.0 for isotopic pattern score calculation, both from Thermo Fisher Scientific (CA, USA).

Validation and uncertainty estimation

A full validation of the method and an estimation of measurement uncertainty associated with quantitative results is given elsewhere (Boleda et al. 2013). Briefly, recoveries at a concentration of 100 ng/L were >80 % for 79 % of the studied compounds and the expanded relative uncertainties ranged from 6 to 23 % being the uncertainty associated with reproducibility in the main contribution. Limits of quantification for the studied pharmaceuticals were determined as described elsewhere (Boleda et al. 2013) and ranged from 0.2 to 30 ng/L (see Table S3).

Results and discussion

Analysis of pharmaceuticals in FDW from Spanish cities

In Spain, 66 % of the distributed water comes from surface waters and 34 % from groundwater. However, several cities along the Mediterranean coast are water deficient and use brackish or seawater as the main raw water source for potabilization processes. Spanish DWTPs employ a wide array of combinations of treatment steps but the most common consists of preoxidation with chlorine followed by coagulation, flocculation, and sedimentation; sand filtration; and post-chlorination. This is the process followed by 15 DWTPs which FDW have been analyzed. Alternative disinfectants (ClO_2) are still scarcely used as well as granular-activated carbon (GAC) or ozonation treatments which are restricted to those locations with low raw water quality. In our study, 14 DWTPs used some of the following potabilization processes: (a) Pre-oxidation (mainly Cl_2 ; ClO_2), coagulation, flocculation and sedimentation, sand filtration, O_3 (and/or) GAC, and post-chlorination, (b) pre-ozonation, coagulation, flocculation and sedimentation, ozonation, sand filtration, and post-chlorination. For brackish waters or seawater (3 DWTPs), the most common treatment applied consists of optional pre-oxidation (Cl_2), coagulation, flocculation and sedimentation, ultrafiltration (UF), desalination by reverse osmosis (RO), and final post-chlorination. For eight samples, no information about DWTP treatment was available.

FDW from the most important and populated Spanish cities which represent more than 12 million inhabitants were monitored at least once. For those larger cities which were monitored several times, results were averaged.

A summary of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish FDW is shown in Table 2. Only five compounds out of 54

targeted (Fig. S1) were detected at measurable levels by LC-MS/MS (triple quadrupole system).

Pharmaceuticals of the alimentary tract and metabolism (ATC code: A)

This is one of the classes of pharmaceutical ingredients compiled by Daughton (2010) not reported to occur in drinking water. Nine compounds and two metabolites pertaining to three different ATC A classes (stomatological, acid-related disorders, and antidiarrheals) were monitored. None of them were found in FDW above their LOQs. Among them, miconazole, prednisone, chlorhexidine, and 5-desmethyl omeprazole are seldom studied and even less reported in Spanish rivers or FDWs (see Tables S1 and S2). Some representative compounds of this group such as ranitidine, famotidine, cimetidine, omeprazole, 4-hydroxy-omeprazole, and lansoprazole are currently monitored and identified in Spanish rivers (see Table S2 and references cited herein). However, they have been scarcely studied in Spanish (Boleda et al. 2011, 2013; Pedrouzo et al. 2008; Valcárcel et al. 2011a, 2013), European and American FDW (Stackelberg et al. 2004; Zuccato et al. 2000). In fact, of all compounds monitored in this group, only ranitidine has been identified once, at 0.6 ng/L, in finished waters of Spain (Gros et al. 2013). The absence of the targeted pharmaceuticals in the FDW studied in this survey can be attributed to that some of them contain primary and secondary amines in their chemical structures (ranitidine, famotidine, cimetidine, and chlorhexidine), which are prone to easily react with chlorine by electrophilic substitution (Deborde and von Gunten 2008) leading to the formation of nitrosamines and with ozone (e.g., omeprazole and metabolites and lansoprazole) to yield different disinfection by-products (von Gunten 2003; Boix et al. 2013). Carbadox, another compound of this group, which was neither identified in North-American (Kleywegt et al. 2011; Stackelberg et al. 2004) nor Spanish FDWs (Boleda et al. 2011, 2013), reacts with aqueous chlorine under typical drinking water treatment conditions to yield non-chlorinated, hydroxylated, and larger molecular weight by-products (Shah et al. 2006), which can preclude its presence in final treated water.

Pharmaceuticals of the cardiovascular system (ATC code: C)

Eight compounds of this group (bezafibrate, clofibrac acid, fenofibrate, gemfibrozil, mevastatin, pravastatin, atorvastatin, and simvastatin) were analyzed. All FDW of this study presented concentration levels below the LOQ for the targeted pharmaceuticals of the cardiovascular system, although the studied compounds except mevastatin are currently found in Spanish rivers (see Table 1; Table S2) and worldwide (Hughes et al. 2013).

Table 2 Pharmaceuticals in Spanish finished drinking water ($n=50$)

ATC code	Pharmaceutical	LOQ	%U ^a	$N>LOQ^b$	Max	Mean	90 % percentile ^c	HRMS confirmation
M01AE01	Ibuprofen	10	8.1	6	18.5	<LOQ	11.3	6/6
J01FA10	Azithromycin	0.9	10.9	5	9.5	0.9	2.2	3/5
J01FA09	Clarithromycin	0.2	8.8	5	2.2	0.2	0.7	0/5
J01FA01	Erythromycin	0.2	8.8	8	1.5	0.2	1.1	0/8
J01EC01	Sulfamethoxazole	1	9.8	1	1.4	<LOQ	<LOQ	0/1

Summary of rates of detection; maximum level, mean, 90th percentiles, and number of samples confirmed by HRMS. All values are expressed in nanograms per liter. *Pharmaceuticals not identified in any sample*: acetaminophen, amobarbital, amoxicillin, bezafibrate, butalbital, carbadox, chlorhexidine, chlorotetracycline, cimetidine, clofibrac acid, diatrizoic acid, diclofenac, famotidine, fenofibrate, fenoprofen, gemfibrozil, hexobarbital, indomethacine, iopromide, iohexol, ketoprofen, lansoprazole, lincomycin, mefenamic acid, mevastatin, miconazole, naproxen, ofloxacin, olaquinox, omeprazole, oxytetracycline, pentobarbital, phenobarbital, pravastatin, prednisone, ranitidin, roxithromycin, salicylic acid, secobarbital, sildenafil, simvastatin, sulfadimethoxine, sulfamethazine, sulfamethoxazole, tetracycline, triclosan, trimethoprim, tylosin, 4-hydroxy omeprazole, 5-*O*-desmethyl omeprazole, and *N*-desmethyl sildenafil. Mean, and percentile are based on all samples analyzed and calculated using LOD/2 for < LOD values and LOQ/2 for < LOQ values

^a%U expanded uncertainty in drinking water (Boleda et al. 2013)

^bNumber of samples with concentration levels > LOQ

^cPercentile calculation according to NIST

Some compounds from this group, bezafibrate, clofibrac acid, and gemfibrozil have been extensively found in FDW (Daughton 2010; Mompelat et al. 2009; Monteiro and Boxall 2010), but only the latter two compounds have been sporadically identified in Spanish-treated waters at maximum concentrations of 40 and 8 ng/L, respectively (Gros et al. 2013; Rodil et al. 2012). Other less studied compounds, atorvastatin and mevastatin have not been reported to occur in any FDW but fenofibrate was found in Dutch FDWs (see Table S1) (Versteegh et al. 2007). Clofibrac acid does not react with chlorine (Quintana et al. 2010) although reactivity with chlorine dioxide (Huber et al. 2005) has been reported; it is poorly reduced (<40 %) with ozone and has a low adsorption capacity in carbon filters (Ternes et al. 2002) that makes it a recalcitrant compound and the most reported compound of this group in drinking waters (Daughton 2010). Maximum concentration ranges from 32 to 170 ng/L, in European FDW, and median values of 0.9–1.1 ng/L in American FDW, have been reported (see Table 1 and references cited herein). However, we were unable to find it at concentrations above its LOQ in line with the usual absence of clofibrac acid in Spanish FDW (see Table 1). The high reactivity of gemfibrozil with chlorine (Bullock et al. 2012; Krkosek et al. 2011; Westerhoff et al. 2005) and also its moderate reactivity with chlorine dioxide (Boleda et al. 2011) can explain their absence in the drinking waters analyzed. Bezafibrate, also not detected, reacts with ozone (Huber et al. 2003; Westerhoff et al. 2005), although it does not react with chlorine dioxide (Huber et al. 2005). It has been reported that pravastatin and simvastatin are eliminated by dioxychlorination in DWTPs (Boleda et al. 2011); both compounds have not been identified neither in Spain and Europe (see Table 1; Table S1) nor in USA drinking waters (Benotti et al. 2009).

Pharmaceuticals of the dermatological and genito-urinary system (ATC codes: D and G)

Two dermatological compounds, salicylic acid, triclosan, and sildenafil and its main metabolite *N*-desmethyl sildenafil of the urological ATC code G04 group were monitored. None of the four compounds was identified in the studied FDW. Salicylic acid is consistently found in Spanish river waters, but it has been scarcely found in FDWs (see Table 1), which can be related to the formation of mono- and dichloroderivatives of salicylic acid under chlorination conditions (Quintana et al. 2010). In Europe, maximum values of 122 ng/L in the Netherlands (Versteegh et al. 2007) and 19 ng/L in a French national survey (Vulliet et al. 2011) have been reported. Triclosan which is significantly oxidized by chlorine and ozone (Giri et al. 2010; McAvoy et al. 2002; Snyder 2008) has been frequently reported at concentrations below the LOQ in Spanish and European FDWs (see Table 1). Sildenafil which has been identified in wastewaters (Nieto et al. 2010) and surface waters is substantially removed by dioxychlorination (78 %) and fully eliminated after ozonation (Boleda et al. 2011). No previous data is available for its metabolite in the aquatic environment.

Pharmaceuticals of the anti-infectives for systemic use group (ATC codes: J and QJ)

The presence of pharmaceuticals of the J and QJ (for veterinary use) ATC codes has been extensively reported in Spanish (see Table 1; Table S2 and references cited herein) and worldwide rivers (Hughes et al. 2013) and in the aquatic environment (Kümmerer 2009a, b). Erythromycin, with maximum concentrations of 2 ng/L in Spanish (Boleda et al. 2011) and

155 ng/L in North-American FDW (Kleywegt et al. 2011) and sulfamethoxazole with maximum levels of 0.5 ng/L (Gros et al. 2013), 25 ng/L (Versteegh et al. 2007), and 20 ng/L (Snyder et al. 2007) in Spanish, European, and North-American FDW, respectively, are among the compounds of this group most frequently reported to occur worldwide in FDWs (Daughton 2010). On the contrary, amoxicillin, azithromycin, lincomycin, roxithromycin, sulfadimethoxine, tetracycline, trimethoprim, and tylosin, which are extensively studied in rivers (see Table 1) were not found in Spanish FDWs, and they are very rarely reported in American (i.e., roxithromycin and trimethoprim) and European FDWs (see Table 1; Table S1).

Azithromycin, clarithromycin, erythromycin, and sulfamethoxazole out of 14 targeted compounds of the J group and 2 of the QJ group were tentatively identified and confirmed (two SRM transitions and ion ratios tolerances) by UHPLC-MS/MS (triple quadrupole system) in five, five, eight, and one samples, respectively. Maximum concentrations ranged from 1.4 ng/L, for sulfamethoxazole to 9.5 ng/L, for azithromycin. Erythromycin was the pharmaceutical most frequently identified; 8 positive samples out of the 50 studied although with a low maximum level, 1.5 ng/L. To obtain alternative confirmation of the presence of the detected compounds, the positive samples were analyzed by UHPLC-HRMS using a quadrupole-Orbitrap instrument. t-SIM mode with a quadrupole isolation width able to include information from the isotopic cluster was used. Three of the five samples that resulted positive in azytromycin with the triple quarupole instrument could be confirmed with the quadrupole-Orbitrap t-SIM mode, obtaining mass accuracies ranging from -0.75 to -1.1 ppm for the protonated molecule. The fit for the isotopic pattern was scored in those positive samples and all of them were higher than 82 %. These results allowed confirming the presence of azytromycin in the three samples although the sensitivity of the MS/MS (t-MS2) mode was not enough for additional confirmation. The samples containing clarythromycin, erythromycin and sulfamethoxazole could not be confirmed by UHPLC-HRMS because of the low concentration level of these compounds in the samples.

The behavior of sulfamethoxazole and erythromycin in simulated drinking water treatments indicated that they are removed (>90 %) when chlorination and/or ozonation takes place (Westerhoff et al. 2005). Moreover, for those drinking water treatments using chlorine dioxide and/or ozone, the former reacts faster than chlorine with sulfonamide (i.e., sulfamethoxazole) and macrolide antibiotics (i.e., reacts at the tertiary amino group of roxithromycin) (Deborde and von Gunten 2008) and ozone has proved to be effective to oxidize a wide variety of antibiotics (Dodd et al. 2006; Huber et al. 2003). On the contrary, olaquinox did not react with chlorine (Shah et al. 2006).

Although the removal of antibiotics in conventional water treatment processes has been described (Adams et al. 2002), the data compilation of occurrence in worldwide FDW shows that the anti-infectives for systemic use are the second largest group of pharmaceuticals most frequently reported in FDW after those belonging to the nervous system (Daughton 2010).

Pharmaceuticals of the musculo-skeletal and nervous system (ATC codes: M and N)

Seven anti-inflammatory and antirheumatic (M01), one analgesic (N02) and six psycholeptic (N05) compounds were analyzed (see Fig. S2). Whereas compounds from the M01 and N02 groups are by far the most worldwide analyzed group of pharmaceuticals in FDWs and rivers (Daughton 2010; Hughes et al. 2013), much less information is reported about the presence of the barbiturate N05 compounds in the aquatic environment (Boleda et al. 2011; Peschka et al. 2006; Phillips et al. 2010) despite of their wide prescription. From the M01 group, ibuprofen has been the most profusely pharmaceutical determined in Spanish (max. 54 ng/L), European (max. 28 ng/L), and North-American (max. 1,350 ng/L) FDWs (Loraine and Pettigrove 2006; Boleda et al. 2013; Versteegh et al. 2007). This is in agreement with its low reactivity; ibuprofen reacts with chlorine and ozone in a moderate extent (<60 and 80 %) (Giri et al. 2010; Westerhoff et al. 2005), and no reactivity has been observed with chlorine dioxide (Huber et al. 2005; Von Gunten et al. 2006).

Ibuprofen was detected in six samples by UHPLC-MS/MS (triple quadrupole system) with a concentration range from 12 to 17 ng/L. However, the identification of this compound presented some problems since only one abundant ion (m/z 161) was observed in the triple quadrupole product ion mass spectrum (Fig. 1a) reducing the number of identification points needed for a suitable confirmation in UHPLC-MS/MS at low mass resolution. To confirm the presence of ibuprofen in these samples, UHPLC-MS/HRMS (quadrupole-Orbitrap) was used. When the triple-quadrupole-positive samples were analyzed by the t-SIM mode, good mass accuracies ranging from -0.65 to 0.67 ppm for the deprotonated molecule of ibuprofen were obtained and the fit for the isotopic pattern scores were always above 97 %. However, when acquiring the product ion mass spectrum, for the precursor ion m/z 205 (Fig. 1b), two product ions were obtained. The base peak was the ion at m/z 159 while the ion at m/z 161 showed only a relative abundance of 51 %. Both ions have been described in the literature as product ions of ibuprofen. In general, product ion at m/z 161 is generated in triple-quadrupole instruments (Gracia-Lor et al. 2010; Gros et al. 2006; Marchese et al. 2003; Nebot et al. 2007), whereas in ion trap analyzers, the main product ion is that at m/z 159 (Bandu et al. 2004; Grujić et al. 2009), suggesting that tandem in time, trapping, and storing the ions, favors the loss of 46 U (CH_2O_2)

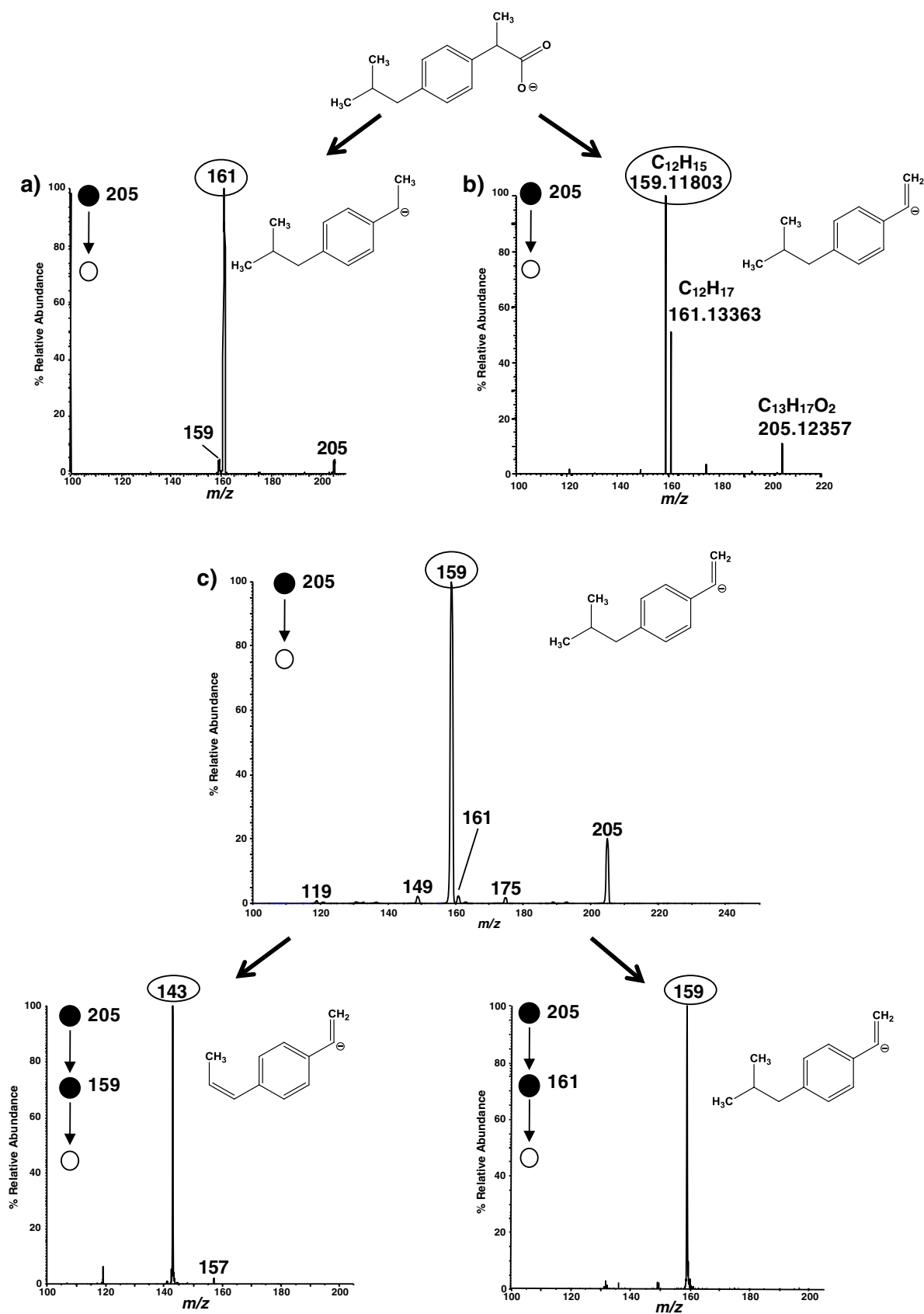


Fig. 1 Product ion mass spectra of ibuprofen: **a** triple quadrupole, **b** quadrupole-orbitrap, and **c** QTRAP instruments

instead of 44 U (CO₂), which is observed in the tandem in space of triple-quadrupole systems. The presence of the product ion at m/z 159 in the product ion spectrum of ibuprofen has also been observed when using hybrid instruments that allow trapping product ions before being released into the second mass analyzer (Marchese et al. 2003; Martínez Bueno et al. 2007). As an example in Fig. 1c, the product ion spectrum obtained in a triple-quadrupole-linear ion trap mass spectrometer (QTRAP Applied Biosystems, USA) is depicted to be working in enhanced product ion mode (EPI) (product ions are accumulated in the ion trap before the final m/z scan) where the ion at m/z 159 is the base peak of the mass spectrum. The MS³ spectra obtained in the ion trap for both MS/MS product ions (Fig. 1c) showed that the ion at m/z 159 could originate from the product ion m/z 161 by the loss of two H. The formation of an additional double bond conjugated with the benzene ring (Fig. 1) could generate a product ion of high stability. The formation of the ion at m/z 159 in instruments with ion storage technology can be explained if it is regarded as a multistep process that involves the consecutive losses of CO₂ and 2H with a second step so slow that the ion can only be observed in instruments where the time to detect ions is long enough to allow this loss to take place. When working in tandem at HRMS, mass accuracies ranging from -0.15 to 0.35 ppm were obtained for the ibuprofen product ion at m/z 159 in the positive samples. The results obtained in HRMS in both acquisition modes (t-SIM and t-MS2) allowed to confirm the presence of this compound in these samples.

Diclofenac, naproxen, and indomethacin have not been found at measurable levels in the studied samples. The oxidation of these acidic pharmaceuticals with chlorine (Acero et al. 2010; Boyd et al. 2005; Deborde and von Gunten 2008; Quintana et al. 2010; Simazaki et al. 2008); chlorine dioxide (Hey et al. 2012; Huber et al. 2005) and ozone (Benitez et al. 2009; Giri et al. 2010; Vogna et al. 2004) has been already reported. These reactivities can explain their absence in the analyzed samples and the usual negative report data encountered in Spanish, American and also, although at much less frequently, in European FDWs (see Table 1). On the contrary, fenoprofen does not show significant elimination during chlorination (Quintana et al. 2010; Simazaki et al. 2008), dioxychlorination (Huber et al. 2005), or ozonation practices (Giri et al. 2010; Nakada et al. 2007). Ketoprofen and mefenamic acid react too slowly with chlorine to be significantly transformed during potabilization processes (Pinkston and Sedlak 2004; Quintana et al. 2010) and also exhibited either moderate removal or recalcitrance towards ozone degradation (Antonioni et al. 2013; Nakada et al. 2007). These three compounds which are often present in Spanish River waters were not identified in this survey but they are also seldom reported to occur globally in FDW (see Table 1). Another compound not identified was acetaminophen, an analgesic from the NO₂ group, which is easily oxidized with

ozone (Rosal et al. 2010) and reacts extensively with chlorine to yield several transformation products, such as *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine and 1,4-benzoquinone (Bedner and MacCrehan 2006). Therefore, its presence in worldwide FDW is scarce (Table 1; Table S1), for instance, acetaminophen was only identified in one sample out of 44 corresponding to 22 European DWTPs monitored over 2 years (Versteegh et al. 2007). Among the psycholeptic compounds (NO₅ group), barbiturates are seldom monitored in FDW (see Table 1). Chlorination and recalcitrance to ozonation of phenobarbital have been described (Giri et al. 2010; Swindyard et al. 1963). Barbitol, pentobarbital, and phenobarbital have been reported to occur more frequently in Dutch FDWs produced from bank filtrate than in those produced from surface water (Van der Aa et al. 2010). Full removal of phenobarbital was observed in a Spanish DWTP after ozonation in a conventional treatment line and also after reverse osmosis in an advanced parallel treatment line (Boleda et al. 2011).

Pharmaceuticals of the various group (ATC code: V)

Three compounds of the X-ray contrast media (group V08), diatrizoic acid, iohexol, and iopromide, were monitored. In Spanish rivers, only diatrizoic acid (max. 84 ng/L) and iohexol (max. 341 ng/L) have been reported (Boleda et al. 2011, 2013). Few studies about the presence of these compounds in FDWs have been carried out in Spain (Boleda et al. 2011, 2013) and North America (Snyder et al. 2007; Trenholm et al. 2006). Iopromide is the sole compound identified in both Spanish and North-American FDW with maximum concentrations of 84 and 31 ng/L, respectively (Boleda et al. 2011, 2013; Snyder et al. 2007). By contrast, at the European FDW level, X-ray contrast media compounds and their transformation products have been extensively monitored and are frequently encountered in FDW (Bruchet et al. 2005; Hirsch et al. 2000; Kormos et al. 2009, 2011; Seitz et al. 2006; Ternes 2001; Wenzel et al. 2003). For instance, transformation products of iomeprol and iopromide reached maximum values of 500 and 260 ng/L, respectively (Kormos et al. 2011) whereas monitored maximum concentrations of their parent compounds were 92 and 86 ng/L (Seitz et al. 2006; Ternes 2001). Iodinated X-ray compounds exhibited removals (<60 %) during chlorination, 64 % after ozonation, and 30 % elimination by powdered activated carbon in simulated DWTP conditions (Westerhoff et al. 2005), which is in agreement with the average removal of 70 % of nonionic X-ray found in a German DWTP (Seitz et al. 2006). Despite these antecedents and the relatively poor behavior of these compounds with the most common oxidants used in DWTPs, no X-ray compounds were identified in our survey, suggesting their absence in the raw waters used for potabilization

Conclusions

Fifty-three pharmaceuticals pertaining to 12 different ATC codes were analyzed by LC-MS/MS in 50 FDW samples from a national survey in Spain. The presence of the selected compounds in FDW was very scarce. Only few pharmaceuticals, one anti-inflammatory, ibuprofen, in 12 % of the samples and four anti-infectives, azithromycin, and clarithromycin in 10 % of the samples, erythromycin in 16 % of the samples, and sulfamethoxazole in 2 % of the samples, were detected at low concentration levels. To confirm the presence of these compounds, positive samples were tested by LC-HRMS using a quadrupole-Orbitrap instrument. Among the four anti-infectives detected by LC-MS/MS, only azithromycin could be confirmed by LC-HRMS, which was confirmed in three samples at concentration levels of 5 to 9.5 ng/L. The presence of ibuprofen with concentration ranges from 12 to 17 ng/L was confirmed by LC-HRMS in all positive samples. As regards the MS fragmentation patterns of the compounds studied, it was demonstrated that the most intense product ions of ibuprofen are dependent of instrument configuration: m/z 159 is mainly detected in instruments with ion storage capabilities while m/z 161 is observed in triple quadrupole instruments.

Acknowledgments This work was supported financially 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) by the Generalitat de Catalunya (2009SGR 1325) and by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (UNBA 10-4E-441).

References

- Acero JL, Benitez FJ, Real FJ, Roldan G (2010) Kinetics of aqueous chlorination of some pharmaceuticals and their elimination from water matrices. *Water Res* 44:4158–4170
- Adams C, Wang Y, Loftin K, Meyer M (2002) Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes. *J Environ Eng* 128:253–260
- Antoniou MG, Hey G, Rodriguez Vega S, Spiliotopoulou A, Fick J, Tysklind M, la Cour JJ, Andersen HR (2013) Required ozone doses for removing pharmaceuticals from wastewater effluents. *Sci Total Environ* 456–457:42–49
- Bandu ML, Watkins KR, Bretthauer ML, Moore CA, Desaire H (2004) Prediction of MS/MS Data. 1. A Focus on Pharmaceuticals Containing Carboxylic Acids. *Anal Chem* 76:1746–1753
- Bedner M, MacCrehan WA (2006) Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and *N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine. *Environ Sci Technol* 40:516–522
- Benitez FJ, Acero J.L., Real FJ, Roldan G (2009) Ozonation of pharmaceutical compounds: Rate constants and elimination in various water matrices. *Chemosphere* 77
- Benotti MJ, Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Standford BD, Snyder SA (2009) Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environ Sci Technol* 43:597–603
- Besse JP, Garric J (2008) Human pharmaceuticals in surface waters. Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicol Lett* 176:104–123
- Boix C, Ibañez M, Sancho JV, Niessen WMA, Hernandez F (2013) Investigating the presence of omeprazole in waters by liquid chromatography coupled to low and high resolution mass spectrometry: degradation experiments. *J Mass Spectrom* 48:1091–1100
- Boleda MR, Galceran MT, Ventura F (2011) 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. *Environ Pollut* 159:1584–1591
- Boleda MR, Galceran MT, Ventura F (2013) Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1286:146–158
- Boxall ABA, Monteiro SC, Fussell R, Williams RJ, Bruemer J, Greenwood R, Bersuder P (2011) Targeted monitoring for human pharmaceuticals in vulnerable source and final waters Drinking Water Inspectorate (DWI). Project n° WD0805 (ref DWI 70/2/231)
- Boyd GR, Zhang S, Grimm DA (2005) Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes. *Water Res* 39:668–676
- Bruchet A, Hochereau C, Picard C, Decottignies V, Rodrigues JM, Janex-Habibi ML (2005) Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking waters: the analytical challenge and examples of application. *Water Sci Technol* 52:53–61
- Bulloch DN, Lavado R, Forsgren KL, Beni S, Schlenk D, Larive CK (2012) Analytical and biological characterization of halogenated gemfibrozil produced through chlorination of wastewater. *Environ Sci Technol* 46:5583–5589
- Daughton CG (2003) Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rational for and avenues toward a green pharmacy. *Environ Health Perspect* 111:757–774
- Daughton CG (2010) Pharmaceutical ingredients in drinking water: Overview of occurrence and significance of human exposure. In: Holden R (ed) *Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations*. ACS Symposium Series 1048. American Chemical Society: Washington, D.C., Chapter 2. pp 9–68, 2 November 2010
- Daughton CG, Ruhoy IS (2009) Environmental footprint of pharmaceuticals: the significance of factors beyond direct excretion to sewers. *Environ Toxicol Chem* 28:2495–2521
- Daughton CG, Scuderi MST (2013) *Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs): Relevant Literature*, U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV (a comprehensive database of literature references; first implemented 19 February 2008). Available from <http://www.epa.gov/ppcp/lit.html>
- De Voogt P, Janex-Habibi ML, Sacher F, Puijker L, Mons M (2009) Development of a common priority list of pharmaceuticals relevant for the water cycle. *Water Sci Technol* 59:39–49
- 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* 42:13–51
- Dodd MC, Buffle MO, von Gunten U (2006) Oxidation of antibacterial molecules by aqueous ozone: moiety-specific reaction kinetics and application to ozone-based wastewater treatment. *Environ Sci Technol* 40:1969–1977
- Esteban S, Valcárcel Y, Catalá M, González-Castromil M (2012) Psychoactive pharmaceutical residues in the watersheds of Galicia (Spain). *Gac Sanit* 26:457–459
- Farre M, Ferrer I, Ginebreda A, Figueras M, Olivella L, Tirapu L, Vilanova M, Barceló D (2001) Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass

- spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *J Chromatogr A* 938:187–197
- Fedorova G, Randak T, Lindberg RH, 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 Commun Mass Spectrom* 27:1751–1762
- Fernández C, González-Doncel M, Pro J, Carbonell G, Tarazona JV (2010) Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo river system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *Sci Total Environ* 408:543–551
- Ferreira da Silva B, Jelic A, López-Serna R, Mozeto AA, Petrovic M, Barceló D (2011) Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85:1331–1339
- García-Galán MJ, Villagrasa M, Díaz-Cruz MS, Barceló D (2010) LC-QqLIT MS análisis of nine sulfonamides and one of their acetylated metabolites in the Llobregat river basin. Quantitative determination and qualitative evaluation by IDA experiments. *Anal Bioanal Chem* 397:1325–1334
- García-Galán MJ, Díaz-Cruz MS, Barceló D (2011) Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin. Removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environ Int* 37:462–473
- Giri RR, Ozaki H, Ota S, Takanami R, Taniguchi S (2010) Degradation of common pharmaceuticals and personal care products in mixed solutions by advanced oxidation techniques. *Int J Environ Sci Technol* 7:251–260
- Gonçalves C, Perez S, Osorio V, Petrovic M, Alpendurada MF, Barceló D (2011) Photofate of oseltamivir (tamiflu) and oseltamivir carboxylate under natural and simulated solar irradiation: kinetics, identification of the transformation products, and environmental occurrence. *Environ Sci Technol* 45:4307–4314
- González-Alonso S, Catalá M, Romo-Maroto R, Rodríguez-Gil JL, Gilde Miguel A, Valcárcel Y (2010) Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environ Int* 36:195–201
- Gracia-Lor E, Sancho JV, Hernández F (2010) Simultaneous determination of acidic, neutral and basic pharmaceuticals in urban wastewater by ultra high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1217:622–632
- Gros M, Petrović M, Barceló D (2006) Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70:678–690
- Gros M, Petrović M, Barceló D (2007) Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (Northeast Spain). *Environ Toxicol Chem* 26:1553–1562
- Gros M, Petrović M, Barceló D (2008) Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. *Anal Chem* 81:898–912
- Gros M, Rodríguez-Mozaz S, Barceló D (2013) 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. *J Chromatogr A* 1248:104–121
- Grujić S, Vasiljević T, Laušević M (2009) Determination of multiple pharmaceutical classes in surface and ground waters by liquid chromatography–ion trap–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1216:4989–5000
- Hey G, Grabic R, Ledin A, la Cour Jansen J, Andersen HR (2012) Oxidation of pharmaceuticals by chlorine dioxide in biologically treated wastewater. *Chem Eng J* 185–186:236–242
- Hirsch RT, Temes TA, Lindart A, Haberer K, Wilken RD (2000) A sensitive method for the determination of iodine containing diagnostic agents in aqueous matrices using LC-electrospray-tandem-MS detection Fresenius'. *J Anal Chem* 366:835–841
- Huber M, Canonica S, Park G-Y, von Gunten U (2003) Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environ Sci Technol* 37:1016–1024
- Huber M, Korhonen S, Temes TA, von Gunten U (2005) Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res* 39:3607–3617
- Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F (2011) Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Res* 45:1432–1442
- Hughes SR, Kay P, Brown LE (2013) Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. *Environ Sci Technol* 47:661–677
- Iglesias A, Nebot C, Miranda JM, Vazquez BI, Cepeda A (2012) Detection and quantitative analysis of 21 veterinary drugs in river water using high-pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Environ Sci Pollut Res* 19:3235–3249
- Jones OA, Lester JN, Voulvoulis N (2005) Pharmaceuticals: a threat to drinking water? *Trends Biotechnol* 23:163–167
- Khetan SK, Collins TJ (2007) Human Pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. *Chem Rev* 107:2319–2364
- Kleywegt S, Pileggi V, Yang P, Hao C, Zhao X, Rocks C, Thach S, Cheung P, Whitehead B (2011) Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished water in Ontario, Canada-Occurrence and treatment efficiency. *Sci Total Environ* 409:1481–1488
- Köck-Schulmeyer M, Ginebreda A, Postigo C, López-Serna R, Pérez S, Brix R, Llorca M, López de Alda M, Petrovic M, Munné A, Tirapu L, Barceló D (2011) Wastewater reuse in Mediterranean semi-arid areas: the impact of discharges of tertiary treated sewage on the load of polar micro pollutants in the Llobregat river (NE Spain). *Chemosphere* 82:670–678
- Kormos JL, Schulz M, Wagner M, Temes TA (2009) Multistep approach for the structural identification of biotransformation products of iodinated X-ray contrast media by liquid chromatography/hybrid triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry and ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance. *Anal Chem* 81:9216–9224
- Kormos JL, Schulz M, Temes TA (2011) Occurrence of iodinated X-ray contrast media and their biotransformation products in the urban water cycle. *Environ Sci Technol* 45:8723–8732
- Krkosek WH, Koziar SA, White RL, Gagnon GA (2011) Identification of reaction products from reactions of free chlorine with the lipid-regulator gemfibrozil. *Water Res* 45:1414–1422
- Kümmerer K (2009a) Antibiotics in the aquatic environment. Part I. *Chemosphere* 75:417–434
- Kümmerer K (2009b) Antibiotics in the aquatic environment. Part II. *Chemosphere* 75:435–441
- Kuster M, López de Alda MJ, Hernando MD, Petrovic M, Martín-Alonso J, Barceló 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). *J Hydrol* 358:112–123
- Lapworth DJ, Baran N, Stuart ME, Ward RS (2012) Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. *Environ Pollut* 163:287–303
- Loos R, Locoro G, Comero S, Contini S, Schwesig D, Werres F, Balsaa P, Gans O, Weiss S, Blaha L, Bolchi M, Gawlik BM (2010) Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res* 44:4115–4126
- López-Roldán R, López de Alda MJ, Gros M, Petrovic M, Martín-Alonso J, Barceló D (2010) Advanced monitoring of pharmaceuticals and estrogens in the Llobregat river basin (Spain) by liquid

- chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry in combination with ultra performance liquid chromatography-time of flight mass spectrometry. *Chemosphere* 80:1337–1344
- López-Serna R, Petrovic M, Barceló D (2011) Development of a fast instrumental method for the analysis of pharmaceuticals in environmental and wastewaters based on ultra high performance liquid chromatography (UHPLC)-tandem mass spectrometry (MS/MS). *Chemosphere* 85:1390–1399
- López-Serna RPC, Blanco J, Pérez S, Ginebreda A, López de Alda M, Petrovic M, Munné A, Barceló D (2012) Assessing the effects of tertiary treated wastewater reuse on the presence emerging contaminants in a Mediterranean river (Llobregat, NE Spain). *Environ Sci Pollut Res* 19:1000–1012
- Loraine GA, Pettigrove ME (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
- Marchese S, Gentili A, Perret D, Ascenzo GD, Pastori F (2003) Quadrupole time-of-flight versus triple-quadrupole mass spectrometry for the determination of non-steroidal antiinflammatory drugs in surface water by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 17:879–886
- Martin J, Camacho-Muñoz D, Santos JL, Aparicio I, Alonso E (2011) Monitoring of pharmaceutically active compounds on the Guadalquivir River basin (Spain): occurrence and risk assessment. *J Environ Monit* 13:2042–2050
- Martínez Bueno MJ, Agüera A, Gómez MJ, Hemando MD, García-Reyes JF, Fernández-Alba AR (2007) Application of liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry to the determination of pharmaceuticals and related contaminants in wastewater. *Anal Chem* 79:9372–9384
- Martínez Bueno MJ, Hernando MD, Herrera S, Gómez MJ, Fernández-Alba AR, Bustamante I, García-Calvo E (2010) Pilot survey of chemical contaminants from industrial and human activities in river waters of Spain. *Int J Environ Anal Chem* 90:321–343
- McAvoy DC, Schatowitz B, Jacob M, Hauk A, Eckhoff WS (2002) Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environ Toxicol Chem* 21:1323–1329
- Mompelat S, Le Bot B, Thomas O (2009) Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ Int* 35:803–814
- Monteiro SC, Boxall ABA (2010) Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment. *Rev Environ Contam Toxicol* 202:53–153
- Muñoz I, López-Doval J, Ricart M, Villagrasa M, Brix R, Geislinger A, Ginebreda A, Guasch H, López de Alda MJ, Romani AM, Sabater S, Barceló D (2009) Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river (Northeast Spain). *Environ Toxicol Chem* 28:2706–2714
- Nakada N, Shinohara H, Murata A, Kiri K, Managaki S, Sato N, Takada H (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
- Nebot C, Gibb SW, Boyd KG (2007) Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 598:87–94
- Nieto A, Peschka M, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM, Knepper TP (2010) Phosphodiesterase type V inhibitors: occurrence and fate of wastewater and sewage sludge. *Water Res* 44:1607–1615
- Ontario MOE Survey of the Occurrence of Pharmaceuticals and Other Emerging Contaminants in Untreated Source and Finished Drinking Water in Ontario. Ontario Ministry of the Environment (MOE), Canada, 2010, 31 pp. Available from <http://www.ene.gov.on.ca/publications/7269e.pdf>
- Pedrouzo N, Reverté S, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM (2007) Pharmaceutical determination in surface and wastewaters using high-performance liquid chromatography-(electrospray)-mass spectrometry. *J Sep Sci* 30:297–303
- Pedrouzo N, Borrull F, Pocurull E, Marcé RM (2008) Simultaneous determination of macrolide sulfonamides, and other pharmaceuticals in water samples by solid-phase extraction and LC-(ESI) MS. *J Sep Sci* 31:2182–2188
- Peschka M, Eubeler JP, Knepper TP (2006) Occurrence and fate of barbiturates in the aquatic environment. *Environ Sci Technol* 40:7200–7206
- Phillips PJ, Smith SG, Kolpin DW, Zaugg SD, Buxton HT, Furlong ET, Esposito K, Stinson B (2010) Pharmaceutical formulation facilities as sources of opioids and other pharmaceuticals to wastewater treatment plant effluents. *Environ Sci Technol* 44:4910–4916
- Pinkston KE, Sedlak DL (2004) Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. *Environ Sci Technol* 38:4019–4025
- Quintana JB, Rodil R, Lopez-Mahia P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D (2010) Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-product formation aided by an experimental design methodology. *Water Res* 44:243–255
- Rodil R, Quintana JB, Concha-Graña E, Lopez-Mahia P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D (2012) Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 86:1040–1049
- Rodríguez-Mozaz S, López de Alda MJ, Barceló D (2004a) Picogram per liter level determination of estrogens in natural waters and waterworks by a fully automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method. *Anal Chem* 76:6998–7006
- Rodríguez-Mozaz S, López de Alda MJ, Barceló D (2004b) Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1045:85–92
- Rosal R, Rodríguez A, Perdigón-Melón JA, Petre A, García-Calvo E, Gómez MJ, Agüera A, Fernández-Alba A (2010) Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res* 44:578–588
- Seitz W, Jiang JQ, Weber WH, Lloyd BJ, Maier M, Maier D (2006) Removal of iodinated X-ray contrast media during drinking water treatment. *Environ Chem Lett* 3:35–39
- Shah AD, Kim J-H, Huang C-H (2006) Reaction kinetics and transformation of carbadox and structurally related compounds with aqueous chlorine. *Environ Sci Technol* 40:7228–7235
- Simazaki D, Fujiwara J, Manabe S, Matsuda M, Asami M, Kunikane S (2008) Removal of selected pharmaceuticals by chlorination coagulation-sedimentation and powdered activated carbon treatment. *Water Sci Technol* 58:1129–1135
- Snyder SA (2008) Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in water. *Ozone Sci Eng* 30:65–69
- Snyder SA, Lei H, Wert EC (2007) In: Aga DS (ed) Fate of pharmaceuticals in the environment and in water treatment systems. CRC Press, Boca Raton, pp 229–260
- Stackelberg PE, Furlong ET, Meyer MT, Zaugg DD, Henderson AK, Reismann DB (2004) Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking water treatment plant. *Sci Total Environ* 329:99–113
- Swinyard EA, Miyahara JT, Goodman LS (1963) Effect of chlorination on the anticonvulsant activity of phenobarbital. *J Pharm Sci* 52:463–465
- Ternes T (2001) In: Daughton CG, Jones-Lepp TL (eds) Pharmaceuticals and personal care products in the environment: scientific and regulatory issues. American Chemical Society, Washington, DC, pp 39–54

- Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher F, Brauch HJ, Gulde BH, Preuss G, Wilme U, Seibert NZ (2002) Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ Sci Technol* 36: 3855–3863
- Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Rexing DJ, Snyder SA (2006) Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 65:1990–1998
- Valcárcel Y, González-Alonso S, Rodríguez-Gil JL, Gil A, Catalá M (2011a) Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere* 86:1336–1348
- Valcárcel Y, González-Alonso S, Rodríguez-Gil JL, Romo-Maroto R, Gil A, Catalá M (2011b) Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere* 82:1062–1071
- Valcárcel Y, González-Alonso S, Rodríguez-Gil JL, Castaño A, Montero JC, Criado-Alvarez JJ, Mirón JJ, Catalá M (2013) Seasonal variation of pharmaceutically active compounds in surface (Tagus River) and tap water (Central Spain). *Environ Sci Pollut Res* 20:1396–1412
- Van der Aa NGFM, Dijkman E, Bijlsma L, Emke E, van de Ven BM, van Nuijs ALN, de Voogt P (2010) Drugs of abuse and tranquilizers in Dutch surface waters, drinking waters and wastewater. RIVM Report 703719064/2010
- Versteegh JFM, van der Aa NGFM, Dijkman E (2007) Pharmaceuticals in drinking water and resources for drinking water: Results of the measurement program 2005/2006, 2007, RIVM report 703719016/2007, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu RIVM, Bilthoven, The Netherlands, pp 1–53. Available from <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/703719016.html>
- Vogna D, Marotta R, Napolitano A, Andreozzi R, d'Ischia M (2004) Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. *Water Res* 38:414–422
- Von Gunten U (2003) Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res* 37:1443–1467
- Von Gunten U, Janex-Habibi ML, Ternes TA, Weber L (2006) Removal of PPCP during drinking water treatment. In: Ternes TA, Joss A (eds) *Human pharmaceuticals, hormones and fragrances*. IWA Publishing, London, pp 293–322
- Vulliet E, Cren-Olive C, Grenier-Loustalot M-F (2011) Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. *Environ Chem Lett* 9:103–114
- Wenzel AM, J., Ternes T (2003) Study of endocrine disruptors in drinking water. Final Report ENV.D.1/ETU/2000/0083, Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology, Schmallenberg, Germany. Available from http://ec.europa.eu/research/endocrine/pdf/drinking_water_en.pdf
- 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* 39:6649–6663
- Zuccato E, Calamari D, Natangelo M, Fanelli R (2000) Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* 355:1789–1790

SUPPORTING INFORMATION**SURVEY OF THE OCCURRENCE OF PHARMACEUTICALS IN SPANISH FINISHED DRINKING WATERS.**

M.Rosa Boleda^a, Élide Alechaga^b, Encarnación Moyano^b, M.Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,c}

^aAGBAR, Aigües de Barcelona, Gral.Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

^bUniversity of Barcelona, Department of Analytical Chemistry, Av. Diagonal, 647, 08028 Barcelona, Spain

^cIDAEA-CSIC, Department of Environmental Chemistry, J. Girona 18, 08034 Barcelona, Spain.

Legends and Captions

Table S1: Summary of pharmaceuticals (in ng/L) analyzed in drinking water in Spain, rest of Europe and N. America

Table S2: Summary of pharmaceuticals (in ng/L) analyzed in Spanish rivers

Table S3: LC-MS/MS parameters established for the SRM quantification mode of target pharmaceuticals (from Boleda et al, 2013).

Material and methods

Standard and reagents

Acetaminophen, Acetaminophen-d₄, Amobarbital, Butalbital, Butalbital-d₅, Hexobarbital, Ibuprofen, Naproxen, Omeprazole, Pentobarbital, Pentobarbital-d₅, Phenobarbital, Phenobarbital-d₅, Ranitidin, Secobarbital, Secobarbital-d₅, were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA); Bezafibrate, Chlorotetracycline, Diatrizoic acid, Fenoprofen, Indomethacine, Iopromide, Iohexol, Ketoprofen, Lincomycin, Oxytetracycline, Prednisone, Sildenafil, Triclosan, Trimethoprim and Tylosin were purchased from LGC Standards (Middlesex, UK); Amoxicillin, Azithromycin, Carbadox, Chlorhexidine, Cimetidine, Clarithromycin, Clofibric acid, Diclofenac, Erythromycin, Famotidine, Fenofibrate, Gemfibrozil, Lansoprazole, Mefenamic acid, Mevastatin, Miconazole, Ofloxacin, Olaquinox, Pravastatin, Roxithromycin, Salicylic acid, Simvastatin, Sulfadimethoxine, Sulfamethazine and Tetracycline were purchased from Aldrich Chemical (St.Louis, MO, USA); and Bezafibrate-d₄, Clofibric acid-d₄, Diclofenac-d₄, Gemfibrozil-d₆, Ibuprofen-d₃, Omeprazole-d₃, Salicylic acid-d₄, Sildenafil-d₃, Sulfamethoxazole, Sulfamethoxazole-d₄, 4-hidroxy omeprazole, 5-o-desmethyl omeprazole, N-desmethyl sildenafil, N-desmethyl sildenafil-d₈, were obtained from Toronto Research Chemicals (North York, Canada).

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate and formic acid used for mobile phase optimization were obtained from Sigma Chemical (St.Louis, MO, USA). HPLC-grade methanol and acetonitrile were provided by Aldrich Chemical

(St.Louis, MO, USA). Methanol Purge&Trap grade used for the preparation of standard working solutions was obtained from Riedel-de-Haën (Germany). Water was purified in an Elix-MilliQ system (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Mobile phases were filtered through a 0.22µm nylon filter (Whatman, England).

Samples and standards preparation

Individual stock standard solutions of each target compound were prepared on a weight basis in methanol at 1mg/ml and kept frozen at -20°C. A mixture of all target pharmaceuticals was prepared by appropriate dilution of individual stock solutions with methanol. The same procedure was used to prepare the stock solutions of internal standards and their mixture.

Calibration standard solutions were prepared by appropriate dilution in methanol-water (20:80, v/v) of the stock solution of target pharmaceuticals.

Special care was taken to avoid contamination, and specific tests to check the chromatographic separation, the sensitivity and calibration were carried out daily. Instrumental blanks were performed injecting mobile phase from a blank vial into the UPLC instrument coupled to the mass spectrometer. To prevent interferences, all glassware, chemicals, solvents, and equipment used for sampling and SPE extraction were routinely checked. Moreover, each batch of six samples included a quality control water sample (Milli-Q water) spiked at 50 or 100 ng L⁻¹ with the target compounds to ensure the quality of the results and water blanks (Milli-Q water) extracted as described in the text to monitor background levels and possible carryover between samples. Furthermore, commercial bottled drinking water was transferred to propylene bottles and was analyzed as field blanks following the same protocol than for the samples.

Table S1: Summary of pharmaceuticals analyzed in drinking water in Spain, rest of Europe and N. America (in ng/L)

ATC Code	Compound	SPAIN			EUROPE			N.AMERICA						
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	
Alimentary tract and metabolism														
<i>Stomatological (A01), Acid related disorders (A02), Antidiarrheals (A07) and Antidiabetics (A10)</i>														
A07EC04	Carbadox	1/1	nd		17					2/2	nd			34,37
A01AB03 (mlt)	Chlorhexidine	1/1	nd		17									
A02BA01	Cimetidine	2/2	nd		17,22					1/1	nd			34
A01AC02 (mlt)	Dexamethasone		nd											
A02BA03	Famotidine	4/4	nd		17, 22,30, 32									
A10BB01	Glibenclamide	1/1	nd		22									
A02BC03	Lansoprazole	3/3	nd		17, 30, 32									
A01AB09 (mlt)	Miconazole	1/1	nd		17					1/1	nd			34
A02BC01 (mlt)	5-desMe omeprazole	1/1	nd		17									
A02BC01 (mlt)	4-OH-omeprazole	2/2	nd		16, 17									
A07EA03	Prednisone	1/1	nd		17									
A07AB03	Sulfaguanidine									1/1	nd			39

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
A02BA02	Ramitidine	6/7	0.6		4, 16, 17, 22, 30, 32	1/1	nd		54	1/1	nd		34
Blood and blood forming organs													
<i>Antithrombotic agents (B01)</i>													
B01AC04	Clopidogrel	2/2	nd		12, 22								
B01AA03	Warfarin	1/1	nd		12	2/2	nd		34,37				
Cardiovascular system													
<i>Cardiac (C01), Diuretics (C03), Calcium channel blockers (C08) and Agents acting on the renin-angiotensin System (C09)</i>													
C08CA01	Amlodipine	2/2	nd		12, 22								
C08DB01	Diltiazem	2/2	nd		12, 22					2/2	nd		34,40
C01AA05 (mlt)	Digoxigenin									1/1	nd		34
C09AA02	Enalapril									2/2	nd		33,43
C03CA01	Furosemide	4/4	nd		12,22, 31,32	1/1	nd		54	1/1	nd		34
C03AA03	Hydrochlorothiazide	3/5	7	(3)	12, 22, 31, 32								
C09CA04	Irbesartan	2/2	nd		12, 22								
C09CA01	Losartan	1/2	5		12, 22								
C08CA05	Nifedipine									1/1	nd		40
C08CA05 (mlt)	Nifedipine dehydro-									1/2	4		34,35

ATC Code	Compound	SPAIN					EUROPE					N.AMERICA				
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs			
C08DA01 (mlt)	Norverapamil	1/1	nd		22											
C04AD03	Pentoxyfylline									2/2	nd				39,41	
C03CA04	Torasemide	1/1	1		22											
C09CA03	Valsartan	1/2	13		12, 22											
C08DA01	Verapamil	1/1	nd		22											
<i>β-blocking agents (C07)</i>																
C07AB04	Acebutolol	1/1	nd		12											
C07AB03	Atenolol	2/5	6-23	(12)	12, 22, 31, 32, 70	2/3	2			4/4	18-26	[1.2-2.8]	54, 78, 81	33, 42, 43, 50		
C07AB05	Betaxolol	1/1	nd		12											
C07AB07	Bisoprolol	1/1	nd		12	1/1	nd		60							
QC07A90	Carazolol	1/1	nd		22											
C02CA04	Doxasozin	1/1	nd		12											
C07AG01	Labetalol	1/1	nd		12											
C07AB02	Metoprolol	4/4	nd		12, 22, 31, 32	2/4	14-26	[20]	55, 60, 78, 81							
C07AA12	Nadolol	2/3	0.4		22, 31, 32											
C07AA03	Pindolol															
C07AA05	Propranolol	5/5	nd		12, 22, 31, 32, 70	1/1	nd		81	1/1	nd		81	40		

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
C07AA07	Sotalol	3/4	3	(2)	12, 22, 31, 32	1/1	nd		78				
<i>Lipid Modifying Agents (C10)</i>													
C10AA05	Atorvastatin	1/1	1		22					2/2	nd		33, 43
C10AA05 met	Atorvastatin o-hydroxy									1/1	nd		33
C10AA05 met	Atorvastatin p-hydroxy-									2/2	nd		33, 43
C10AB02	Bezafibrate	6/6	nd		16,17, 22, 31, 32, 70	4/8	1.9-32	(0.7)/[17]	54,55,58,60, 63,67,78,81	1/2	1		37, 39
C10AB01	Clofibrate									1/1	nd		44
C10AB01 met	Clofibric acid	6/7	40		3,16,17,23, 31, 32, 70	0/7	32-170	[59]	54, 55,56,57,58, 59,60	3/4		[0.9-1.1]	36, 39,44,45
C10AB04	Gemfibrozil	4/5	8		16,17, 22, 31, 32	1/2	0.8	(0.4)	61,63	2/10	0.6-10.6	(2.4)/[0.5 -1.0]	33,34,37,39,40,41,42, 43,46,47
C10AB05	Fenofibrate	3/3	nd		17, 31, 32	1/2	14-21	[18]	55, 60				
C10AB05 met	Fenofibric acid					0/2	1.0-42		57,81				
C10AA04	Fluvastatin	1/1	nd		22								
C10AA03	Mevastatin	3/3	nd		17, 31, 32								
C10AA03	Pravastatin	4/4	nd		17, 22, 31, 32	0/1	0.2		81				
C10AA01	Simvastatin	3/3	nd		17, 31, 32					2/2	nd		33,43

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA							
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs				
C10AA01 met	Simvastatin β -hydroxy acid												2/2	nd			33, 43
Dermatologicals																	
<i>Antifungals (D01), Antipruritics (D04), Antibiotics (D06), Corticosteroids (C07) and Antiseptics (D08)</i>																	
D06AX02 (mlt)	Chloramphenicol					1/2	12-13	[13]	55,62	1/1	nd						37
D04AA32	Diphenhydramine									2/2	nd						34,35
D01AE12, S01BC08	Salicylic acid	4/5	2		17, 22, 31, 32,70	0/2	19-122	[39]	55, 81	0/1	4.2						40
D01Ac06 (mlt)	Thiabendazole	1/1	nd		22					2/2	nd						34,36
D08AE04	Triclosan	3/3	nd		3, 17,70	1/1	nd		63	3/7	1.2-734	[1.1-49]					40,41,42, 43,44,48, 52
Genito-urinary system and sex hormones																	
<i>Sex hormones and modulators of the genital system (G03) and Urologicals (G04)</i>																	
none	Androstenedione					0/1	2.8		81								
none	Androsterone					0/1	1.0		81								
G03CB02 (mlt)	Diethylstilbestrol	3/3	nd		3,71,72					1/1	nd						37
G03CA03	17 β -Estradiol	3/3	nd		3, 71,72	1/2	0.2-2.1	(0.70)[0.30]	63,64	3/3	nd						36, 37,41
	Estradiol-17-glucuronide	3/3	nd		3, 71,72												
	Estradiol-17-acetate	2/2	nd		71,72												

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA				
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	
G03CA04	Estriol	3/4	11.6		3,12, 71,72					1/1	nd			37
	Estriol-3-sulfate													
G03CA07	Estrone	5/5	nd		3,5,12,71,72	1/4	0.2-1.0	(0.40)/[0, 40]	63,64,66,81	1/3	1.7-2.3			37,40,41
	Estrone 3-sulfate	2/3	0.5		3, 71,72									
G03CA01	17 α -ethinyl estradiol	4/4	nd		3, 12, 71,72	1/2	0.15-0.50	(0.35)/[0, 35]	64,65	3/3	nd			37, 40,41
G03AC03	Levonorgestrel	1/1	nd		3	0/1	10		81					
G03FA10	Norethindrone	1/1	nd		3	1/2	6.8		65, 81					
G03DA04	Progesterone	0/1	0.93		3	0/1	5.5		81	1/2	1.1			37,41
G04BE03	Sildenafil	2/2	nd		16, 17									
G04BE03 (mlt)	Sildenafil des-methyl	1/1	nd		17									
G04CA02	Tamsulosin	1/1	nd		22									
Antimicrobials for systemic use														
<i>Antibacterials (J01) and Antivirals (J05)</i>														
J01CA04	Amoxicillin	1/1	nd		17									
J01FA10	Azithromycin	5/5	nd		16, 17,22,30,32									
J01DB01	Cefalexin	1/1	nd		22									
J01DD04	Ceftriaxone													

ATC Code	Compound	SPAIN					EUROPE					N.AMERICA					
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
J01AA03	Chlorotetracycline													4/4	nd;		34, 37,39,49
J01MA02 (mlt)	Ciprofloxacin	3/3	nd		22, 30,32	1/1	nd		54	3/3	nd			nd	nd		34, 37, 49
J01FA09	Clarithromycin	5/5	nd		16, 17, 22, 30,32		nd		62								
J01FF01	Clindamycin					1/1	nd		78								
J01AA01	Demeclocycline					1/1								2/2	nd		34, 49
J01AA02	Doxycycline													3/3	nd		34, 39, 49
J01MA04	Enoxacin																
J01FA01	Erythromycin	4/6	2.0		4, 16, 17, 22, 30,32	4/4	nd		54,60, 62, 78	2/5	nd			1.3-155		[0.03]	34,35, 37,41, 49
J01FA07	Josamycin					1/1	nd		62								
J01FF02	Lincomycin	2/2	nd		16, 17	2/2	nd		54, 62	4/5	1413						34,35, 37, 49,52
J01XD01 (mlt)	Metronidazole	2/2	nd;		22,32	2/2	nd		62, 81								
J01XD01 (mlt)	Metronidazole-OH	1/1	nd		22												
J01AA08	Minocycline													2/2	nd		34, 49
J01MA06	Norfloxacin	2/2	nd		30,32		nd							nd	nd		34,39, 49
J01MA01	Ofloxacin	3/3	nd		22, 30,32		nd			1/2						(0.7-1.6)	39,45
J01FA05	Oleandomycin					1/1	nd		54								

ATC Code	Compound	SPAIN					EUROPE					N.AMERICA		
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	
J01MB05	Oxolinic acid									1/2	2.9-4;			39,49
J01AA06	Oxytetracycline	1/1	nd		17					3/3	nd			34,39,49
J01MB04	Pipemidic acid									2/2	nd			39, 49
	Roxarsone									1/1	nd			34
J01FA06	Roxithromycin	2/2	nd		4, 17	2/2	nd		62,81	2/4	1.4-41	[0.12]		34,37, 39, 49
none	Sarafloxacin									2/2	nd			34, 49
J01FA02	Spyramicin					1/1	nd		54					
J01EB	Sulfabenzamide													
S01AB04	Sulfacetamine									1/1	nd			39
J01EC02	Sulfadiazine	1/1	nd		4					1/1	nd			39
J01ED01	Sulfadimethoxime	2/2	nd		16, 17					5/6	7			34,35, 37, 39, 47, 49
J01ED07	Sulfamerazine									4/4	nd			34, 37, 39,49
J01EB03	Sulfamethazine	3/3	nd		4, 16, 17	1/1	nd		62	4/4	nd			34,35, 39, 49
J01EB02	Sulfamethizole	1/1	nd		17					4/4	nd			34, 37, 39, 49
J01EC01	Sulfamethoxazole	5/6	0.5		4, 16,17,22,30, 32	2/6	0.8-25	[22]	55, 59,60,62,63, 81	4/12	2-20	(0.3-0.5)/[0.39-1.0]		33,34, 35,37, 39,41,42, 43, 45, 47, 49, 52

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
J01ED04	Sulfametoxydiazine					1/1	nd		62	1/1	nd		39
J01ED05	Sulfamethoxyipyridazine									1/1	nd		39
J01EC03	Sulfamoxole									1/1	nd		39
J01EB04	Sulfapyridine	1/1	nd		4					1/1	nd		39
J01EB07	Sulfathiazole	1/1	nd		4					3/4	10		34, 35,39, 49
J01EB05 (mlt)	Sulfisoxazole					1/1	nd		62	1/1	nd		39
J01AA07	Tetracycline	3/3	nd		22, 30,32					3/4	15	[5.93]	34, 37, 39, 49
J01EA01	Trimethoprim	5/5	nd		4, 17,22, 30,32	0/1	1.0		81	6/8	1.3-15		33,34, 37,40, 41,43,50,52
Antineoplastic and immunomodulating agents													
<i>Antineoplastic agents (L01) and Endocrine therapy (L02)</i>													
L01AB01	Ciclophosphamide	2/2	nd		30,32	1/1	nd		54	1/1	nd		39
L01AA06	Ifosfamide	2/2	nd		30,32								
L01BA01	Methotrexate									1/1	nd		34
L02BA01	Tamoxifen	1/1	nd		12								
Musculo-skeletal system													
<i>Antiinflammatory and antirheumatic products (M01)</i>													

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
M01AB05	Diclofenac	8/8	nd		3,16,17,22,23,31,32,70	3/8	0.2-18	[16]	55,57,58,60,61,63,67,81	4/4	nd		33,39,40,41,43
M01AE04	Fenoprofen	2/2	nd		17, 70					1/1	nd		39
M01AE01	Ibuprofen	5/8	5-54		3, 16, 17, 22, 23, 31, 32, 70	3/9	0.6-28		54, 55, 57, 58, 60, 61, 63, 67, 81	3/10	1-1350	(930)/[0.21]	34, 36, 37, 39, 40, 41, 44, 46, 48, 52
M01AE01 (mlt)	Ibuprofen methyl ester									0/1	4950		44
M01AB01	Indomethacin	4/5	6		17, 22, 31, 32, 70					2/2	nd		37, 39
M01AE03	Ketoprofen	5/6	3		17, 22, 23, 31, 32, 70	1/3	0.9-3		61, 67, 81	0/1	3		39
M01AC06	Meloxicam	1/1	nd		22								
M01AG01	Mefenamic acid	2/2	nd nd		17, 31, 32								
M01AE02	Naproxen	6/6	nd		16, 17, 22, 23, 31, 70	1/3	0.2-0.5		61, 67, 81	5/7	1-8		33,36, 40, 41, 43,47,48
M01AC01	Piroxicam	1/1	nd		22								
M01AC02	Tenoxicam	1/1	nd		22								
Nervous System													
<i>Anesthetics (N01) and Analgesics (N02)</i>													
N02BE01	Acetaminophen**	3/5	3-4-23		16, 17, 22, 31, 32	1/4	33-210.1		55, 60, 61, 81	3/4	17		34,35,37,52

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence/publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence/publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence/publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
N02BA01	Acetylsalicylic acid	1/1	nd		3	0/2	>50;		59, 60				
N02AA05	Oxycodone	1/1	nd		22								
N01BB03	Mepivacaine	2/2	nd		30, 32								
N02BB01	Phenazone (antypirine)	3/3	nd		22, 32, 70	0/5	20-400	[20-21]	55, 57, 76, 77, 78				
N02BB1 (ml)	Phenazone dimethylamino-					3/3	nd		76, 77, 78				
N02BB1 (ml)	AMPH (1-acetyl-1-methyl-2-phenylhydrazide)					0/2	30	[10]	76, 78				
N02BB04	Propyphenazone	4/4	nd		22, 31, 32, 70	1/3	80-120		76, 77, 78				
<i>Antiepileptics (N03), psycholeptics (N05) and psychoanaesthetics (N06)</i>													
N05BA12	Alprazolam	1/2	11		13, 22								
N06AA09	Amitriptyline hydrochloride	3/3	nd		13, 30, 32	1/1	nd		61				
N05CA02	Amobarbital	1/1	nd		17								
N05CA04	Barbital					0/1	9		82				
N05BA08	Bromazepam	1/1	nd		12	1/1	nd		68				
N06AX12	Bupropion									0/1	3		53
N05CA	Butalbital	1/1	nd		17								
N03AF01	Carbamazepine	3/6	<1- <10		12, 13, 22, 30, 32,	2/9	9.1-43	(5.0)/[17]	55, 57, 59, 60, 61, 63,	2/14	258	(0.8-135)/[0.2	33, 34, 35, 37

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
					70				68,78,81			1-5,4]	39,40,41,42
N03AF01 (mlt).	Carbamazepine 10,11-dihydro-					1/1	nd		68				
N03AF01 (mlt)	Carbamazepine 10,11-dihydroxy-10,11-dihydro					1/1	nd		68				43,45,47,50,51,52
N03AF01 (mlt)	Carbamazepine epoxide	3/4	2	(1)	12,22, 30,32	1/1	nd		78				
N03AF01 (mlt)	Carbamazepine 2-hydroxy	1/1	nd		22								
N06AB04	Citalopram	4/4	nd		13, 22, 30,32	4/4	nd						53
N06AA04	Clomipramine	2/3	27		13, 30,32								
N05BA02	Chlordiazepoxide	1/1	nd		12								
N05AA01	Chlorpromazine	1/1	nd		12								
N05BA01	Diazepam	4/4	nd		12, 22, 30,32	3/4	19.3-23.5		54, 61, 68,79	2/3	0.33		33, 41, 43
N06AA12	Doxepin					2/2	nd		61, 68				
N06AB03	Fluoxetine	4/4	nd		13, 22, 30,32	0/1	10		55	7/9	0.82-1		33, 34, 35,36, 39, 41, 43, 47,53
N05CA16	Hexobarbital	1/1	nd		17								
N06AA02	Imipramine					1/1	nd		61				

ATC Code	Compound	SPAIN					EUROPE					N.AMERICA		
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	
N05BA06	Lorazepam	1/2	562		13, 22	1/1	nd		81					
N05BA03	Medazepam					1/1	nd		68					
N05BC01	Meprobamate					1/1	nd		79	0/6	8-43	[5.9-9.2]	33, 41, 42, 43,46,50	
N05BA16	Nordiazepam	1/1	nd		13	2/2	nd		61, 68					
N06AB03 (mlt)	Norfluoxetine	1/1	nd		22					3/4	0.77		33, 39, 43,53	
N06AA10	Nortriptyline	1/1	nd		13									
N05AH03	Olanzapine	1/1	nd		22									
N05BA04	Oxazepam	2/2	nd		12,13	2/3	2.5		68,79,81					
N03AF02	Oxcarbazepine					1/1	nd		78					
N06AB05	Paroxetine	3/3	nd		22,30,32					1/1	nd		53	
N05CA01	Pentobarbital	1/1	nd		17	0/1	6		82					
N05CA24	Phenobarbital	1/1	nd		17	1/2	12		79,82					
N03AB02	Phenytoin (Dilantin)	0/1	10	(9)	12					0/6	1.2-32	[1.3-9.4]	33,41,42,43,46,50	
N03AA03	Primidone	3/3	nd		12,30,32	0/2	16	[40]	68,79	0/1	1.3		50	
N05AX08	Risperidone									1/2	2.9		33,43	
N05CA06	Secobarbital	1/1	nd		17									
N06AB06	Setraline	3/3	nd		12,13, 22					1/1	nd		53	

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA				
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	
N05CD07	Temazepam					1/1	nd		68					
M03BX07	Tetrazepam	1/1	nd		13									
N02AX02	Tramadol					1/1	nd		78					
N02AX02 (mlt)	Tramadol O-desmethyl-					1/1	nd		78					
N06AX05	Trazodone	1/1	nd		22									
N06AX16	Venlafaxine	3/5	9-44		12,13, 22,30,32	1/1	nd		78	1/1	nd		53	
N06AX16 (mlt)	Venlafaxine desmethyl-	1/1	nd		12	1/1	nd		78	1/1	nd		53	
N05CF02	Zolpidem	1/1	nd		12	1/1	nd		78	1/1	nd			
Antiparasitic products, insecticides and repellents														
<i>Anthelmintics (P02) and Antiprotozoals (P51)</i>														
P02CA03	Albendazole	1/1	nd		22									
P02CE01	Levamisole	1/1	nd		22									
<i>Veterinary: Antibacterials for systemic use (QJ01), Anesthetics (QN01) and Antiprotozoals (QP51)</i>														
QN01AX91 (mlt)	Azaperol	1/1	nd		22									
QN01AX91	Azaperone	1/1	nd		22									
QP51AA07	Dimetridazole	1/1	nd		22									
QJ01MA90	Enrofloxacin									2/3	13	[0..30]	34,37,49	

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
QJ01BA90	Florfenicol					1/1	nd		62				
QP51AH02	Lasalocid					1/1				1/1	nd		37
QP51AH03	Monensin									0/2	2.8-76	[0.84]	37,47
QJ01XX95	Novobiocin									1/1	nd		39
QJ01MQ01	Olaquinox	2/2	nd		16,17								
QP51AA09	Ronidazole	1/1	nd		22								
QJ01EQ12	Sulfachloropyridazine									2/2	nd		39,49
Respiratory System													
<i>Obstructive airway disease (R03), Cough (R05) and Antihistaminic (R06)</i>													
R03AC13	Clenbuterol					1/1	nd		61				
R05DA04	Codeine	3/3	nd		22,31,32					1/2	30		34,35
R06AX27	Desloratadine	1/1	nd		22								
R06AX13	Loratadine	3/3	nd		22,30,32								
R03AC02	Salbutamol	5/5	nd		12,22,30,32,70	2/2	nd		54,61	1/1	nd		34
R03AC03	Terbutaline	3/3	nd			1/1	nd		61				
Various													
<i>X-ray contrast media (V08)</i>													

ATC Code	Compound	SPAIN				EUROPE				N.AMERICA			
		Absence /publ. ¹	Max ²	(Mean) and/or [median] ³	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs	Absence /publ.	Max	(Mean) and/or [median]	Refs
V08AA01	Diatrizoic acid	2/2	nd		16,17	0/5	32-149;	[21]	57,62,66,73,74				
V08AB02	Iohexol	2/2	nd		16,17	0/5	5-57		55,62,74,75,80				
V08AB02 (mlt)	Iohexol (tp's) ^a					0/2	34-83		75,80				
V08AB10	Iomeprol					0/4	12-92		66,74,75,80				
V08AB10 (mlt)	Iomeprol (tp's) ^a					0/2	18-500		75,80				
V08AB04	Iopamidol					0/7	60-270		57,62,66,73,74,75,80				
V08AB04	Iopamidol (tp's) ^a					0/1	29		80				
V08AB05	Iopromide	1/3	17.2-84		16,17,22	1/7	21-86		55,57,62,66,73,74,80	0/2	4.6-31		41,46
V08AB05 (mlt)	Iopromide (tp's) ^a					0/1	260		80				
V08AA04	Iothalamic acid					1/2	10		62,73				
V08AA05	Ioxitalamic acid					1/2	12		62,66				

¹Absence/n° publications is referred to the frequency of absence of a determined pharmaceutical respect to the number of publications revised

²Maximum is referred to the range of the maximum values reported by all references for each pharmaceutical

³ mean and/or median is referred to the range of mean or median values (if available) reported by all references for each pharmaceutical (tp's)^a transformation products; (mlt) multiple; (met) metabolite.

ATC codes (first level): A: Alimentary tract and metabolism; B: Blood and blood forming organs; C: Cardiovascular System; D: Dermatologicals; G: Genito-urinary system and sex hormones; H: Systemic hormonal preparations, excluding sex hormones and insulins; J: Antinfectives for systemic use; L: Antineoplastic and immunomodulating agents; M: Musculo-skeletal System; N: Nervous System; P: Antiparasitic products, insecticides and repellents; R: Respiratory System; S: Sensory organs; V: Various.

Table S2: Summary of pharmaceuticals (in ng/L) studied in Spanish Rivers.

ATC Codes	Pharmaceuticals Spanish rivers	Occurrence/ N° Publicat.	Max ranges	Ranges of (Mean) and/or [Median]	References
Alimentary tract and metabolism					
Stomatological (A01), Acid related disorders (A02), Antidiarrheals (A07) and Antidiabetics (A10)					
A07EA04	Betamethasone	0/1	nd		69
A07EC04	Carbadox	0/2	nd		16, 17
A01AB03 mlt.	Chlorhexidine	1/1	78.1		17
A02BA01	Cimetidine	4/6	10.7-12	(0.1-10.7)	9,17,20,22, 25, 27
A01AB18 mlt.	Clotrimazole	0/2	nd		16, 29
A01AC02	Dexamethasone	0/2	nd		22, 69
A02BA03	Famotidine	6/13	8.6-349	(0.1-14)	1,5,8,9,10,14,17,20, 25, 27, 29, 30,32
A10BB01	Glibenclamide	2/6	3.70	(1.70-3.4)	9,14,20, 22, 25, 27
A02BC93	Lansoprazole	3/7	76.7-349	(59.3)	1,5,8,10,17,29, 30
A01AB09 mlt.	Miconazole	0/2	nd		16, 17
A07AX03	Nifuroxazide	1/4	0.2		9,14,25, 27
A02BC01 mlt.	5-desMe omeprazole	0/2	nd		16, 17
A02BC01 mlt.	4-OH-omeprazole	2/2	59.5-60		16, 17
A02BC01	Omeprazole	4/4	1.6-222		16, 17,29, 30,
A07EA01	Prednisolone	0/1	nd		69
A07EA03	Prednisone	0/1	nd		17
A02BA02	Ranitidine	15/15	4.9-570	(0.8-142)	1,4,5,8,9,10,14,16,17,20,22, 25, 27,29,30
Blood and blood forming organs					
Antithrombotic agents (B01)					
B01AC04	Clopidogrel	1/2	5	(2)	12,22
B01AA03	Warfarin	1/2	nd-3	(1)	12,22
Cardiovascular system					
Cardiac (C01), Diuretics (C03), Calcium channel blockers (C08) and Agents acting on the renin-angiotensin System (C09)					
C08CA01	Amlodipine	1/2	3	(1)	12,22
C08DB01	Diltiazem	2/2	13	(4)	12,22
C09AA02	Enalapril	4/5	3.10-6.84	(1.50-4.18)	9,14,20,25, 27
C03CA01	Furosemide	10/10	40-3228	(9.2-174)	9,12,14,20,22, 25, 27,29,31,32
C03AA03	Hydrochlorothiazide	11/11	11.9-17589	(20-670)	9, 12, 14,19,20,22, 25, 27,29,31,32
C09CA04	Irbesartan	2/2	139-830	(330)	12,22
C09AA03	Lisinopril	1/4	40.6	(6.80)	9,14,25, 27
C09CA01	Losartan	2/2	34-620	(260)	12,22
C08DA01 mlt.	Norverapamil	0/1	nd		22
C03CA04	Torasemide	1/1	12		22
C09CA03	Valsartan	2/2	734-1300	(685)	12,22
C08DA01	Verapamil	0/1	nd		22
β-blocking agents (C07)					
C07AB04	Acetobutolol	1/1	170	(44)	12
C07AB03	Atenolol	17/17	26-11020	(7.4-2789)	1,3,5,8, 9, 10,12, 14, 19,20,22, 25, 27,29, 31, 32,70
C07AB05	Betaxolol	1/5	13	(5)	9, 12,14,25, 27
C07AB07	Bisoprolol	1/1	250	(57)	12

C02CA04	Doxasozin	1/1	10	(4)	12
C07AG01	Labetalol	1/1	16	(6)	12
C07AB02	Metoprolol	14/15	5-1600	(1-327)	1,2,8,9,10, 12, 14, 19,20,22, 25, 27, 29, 31,32
C07AA12	Nadolol	3/8	2-62	(0.3-1)	9,14,20,22, 25, 27,29,31
C07AA03	Pindolol	0/4	nd		9,14,25, 27
C07AA05	Propranolol	12/16	5-270	(2-54)	1,2,8, 9,10,12,14,19, 22,25, 27, 28,29, 31, 32,70
C07AA07	Sotalol	14/14	13-1820	(2.9-570)	1,5,8,9,10,12,14, 20,22, 25, 27,29, 31,32
C07AA06	Timolol	1/5	1		9,14,20,25, 27
Lipid Modifying Agents (C10)					
C10AA05	Atorvastatin	5/6	3-53.72	(0.9-28.9)	9,14,20,22, 25, 27
C10AB02	Bezafibrate	17/18	10-15060	(6-1020)	1,2,5,8,9,10, 14,16,17,19,20,22, 25, 27,29,31, 32,70
C10AB01 mlt.	Clofibrac acid	18/20	4.9-7910	(2-2280)	1,2,3, 5,8,9, 10,14,16,17,19,20, 23,25, 27, 28,29,31,32,70
C10AB04	Gemfibrozil	17/17	3.80-7780	(2.1-1420)	1,5,8,9, 10,14, 16,17,18,20,22, 25, 27, 28,29,31, 32
C10AB05	Fenofibrate	6/10	1.23-127	(0.2-82.1)	9, 14,16,17,20, 25, 27,29,31, 32
C10AB05 mlt.	Fenofibrac acid	1/1	38		29
C10AA04	Fluvastatin	0/1	nd		22
C10AA03	Mevastatin	0/13	nd		1,5,8,9,10,14,16,17,20, 25, 27,29, 31
C10AA03	Pravastatin	7/14	14.5-378	(8.57-65.1)	1,5,8,9,10,14,17,20,22, 25, 27,29, 31, 32
C10AA01	Simvastatin	1/3	7.5		17,29, 31
Dermatologicals					
Antifungals (D01), Antipruritics (D04), Antibiotics (D06), Corticosteroids (D07) and Antiseptics (D08)					
D07AB03	Flumethasone	1/1	85.1	(77.9)	69
D01AA08	Griseofulvin	0/1	nd		69
D07AA01 mlt.	Methylprednisolone	0/2	nd		29, 69
D01AE12	Salicylic acid	12/14	7-8800	(1.8-333.2)	2,9, 14,16,17 ,18,19,22, 25, 27, 28, 31,32,70
D01AC06 mlt.	Thiabendazole	1/1	1		22
D08AE04	Triclosan	1/4	40		3,16,17 ,70
Genito-urinary system and sex hormones					
Sex hormones and modulators of the genital system (G03) and Urologicals (G04)					
G03CB02 mlt.	Diethylstilbestrol	2/6	0.49-12.2	(4.50)	3,5,14,25,71,72
G03CA03	Estradiol	0/7	nd		3,5,14,25, 28, 71,72
	Estradiol-3-glucuronide	0/1	nd		14
	Estradiol-17-glucuronide	0/5	nd		3,5,14,71,72
	Estradiol-17-acetate	0/2	nd		71,72
G03CA04	Estríol	2/6	72-100	(26)	5, 12,14,28,71,72
	Estríol-16-glucuronide	0/3	nd		5,14,25
	Estríol-3-sulfate	0/1	nd		14
G03CA07	Estrone	7/8	0.68-22	(0.3-1.80)	3,5,12,14,25, 28,71,72
	Estrone-3-glucuronide	0/2	nd		5,14
	Estrone 3-sulfate	4/6	0.33-7		3,5,14,25,71,72
G03CA01	17-ethinyl estradiol	1/7	3.4	(2.5)	3,5,12,14,28,71,72

G03DA04	Progesterone	1/1	1.39			3
G03AC03	Levonorgestrel	0/1	nd			3
G03AC01	Norethindrone	0/1	nd			3
G04BE03	Sildenafil	2/2	2.4-29			6,17
G04BE03 mlt..	Sildenafil des-methyl	0/1	nd			17
G04CA02	Tamsulosin	0/1	nd			22
Antifungals for systemic use						
Antibacterials (J01) and Antivirals (J05)						
J01CA04	Amoxicillin	0/2	nd			17, 29
J01FA10	Azithromycin	11/12	17.6-569	(1.7-71.7)		1,8,9,10,14,16,17, 22,25,27,29,30
J01DB01	Cefalexin	0/1	nd			22
J01DD01	Cefotaxime	0/1	nd			29
J01BA01	Chloramphenicol	3/5	0.4	(0.2-0.4)		9,14,20, 25, 27
J01AA03	Chlorotetracycline	1/5	59.3	(18.1)		9,14, 16, 25, 27
J01MA02	Ciprofloxacin	7/8	23-224	(3.3-93)		9,14,22, 25, 27,29,30,69
J01FA09	Clarithromycin	11/11	36.9-1727	(8.76-88.8)		9, 14, 16,17,20,22, 25, 27, 29,30, 32
J01AA02	Doxycycline	1/4	47.7	(20.7)		9,14,25, 27
J01MA04	Enoxacin	3/4	7-140	(4.7-27.3)		9,14,25, 27
J01FA01	Erythromycin	13/16	30-3847	(1.2-175)		1,4,5,8, 9,10,14,16,17,20,22, 25, 27,29, 30, 32
J01MB07	Flumequine	1/2	30.29	(18.87)		14,27
J01FA07	Josamycin	4/5	0.52-2.60	(0.50-1.80)		9,14,20, 25, 27
J01FF02	Lincomycin	3/3	17.9-644			16, 17, 29
J01XD01 mlt.	Metronidazole	8/9	19-1834	(0.4-44.9)		9,14, 20, 22, 25, 27,29,30, 32
J01XD01	Metronidazole-OH	0/1	nd			22
J01MA06	Norfloxacin	3/7	30.9-89.8	(15.2-25.52)		9,14,16, 25, 27,29,30
J01MA01	Ofloxacin	11/12	20-8770	(7.3-2110)		1,5,8,9,10,14,22, 25, 27,29, 30, 32
J05AH02	Oseltamivir	1/1	100			21
J05AH02 mlt..	Oseltamivir carboxylate	1/1	50			21
J01AA06	Oxytetracycline	1/5	37.1	(26.5)		9, 17,14,25, 27
J01FA06	Roxithromycin	2/6		(0.32-0.5)		4,9, 14,17,25, 27
J01FA02	Spyramicin	4/4	38-488	(8-129.7)		9,14,25, 27
J01EB	Sulfabenzamide	1/1	14.6			15
J01EC02	Sulfadiazine	8/10	6.4-2978	(1.8-708.8)		4,7,9,14,15,20, 25, 27,29,69
J01ED01	Sulfadimethoxine	5/5	7-43			7,15, 16,17,19
J01ED07	Sulfamerazine	1/1	42.2			15
J01EB03	Sulfamethazine	8/12	5-2481.8	(2.6-112)		4,7, 9,14, 15,16,17, 20, 25, 27, 29,69
J01EB03 mlt..	N-acetyl sulfamethazine	2/2	20.2-695.1			7,15
J01EB02	Sulfamethizole	2/3	4.6-10.3			7, 15,69
J01EC01	Sulfamethoxazole	17/19	23.7-11920	(11-11110)		1,4,5,7,8,9,10,14,15,16,17, 19,22, 25, 27, 28,29, 30,32
J01ED05	Sulfamethoxyipyridazine	3/3	18.1-164.9	(81.9)		7,15, 69
?	Sulfanitran	1/1	127			15
J01EB04	Sulfapyridine	4/5	42.5-177.8	(55.7)		4,7,15,29, 69

J01EB07	Sulfathiazole	2/4	9.6-960.6	4,7,15,69
J01EB07 mlt...	Succinil-sulfathiazole	1/1	37	15
J01EB01	Sulfisomidine	1/1	40.4	15
J01EB05 mlt..	Sulfisoxazole	2/2	12.5-24.7	7,15
J01AA07	Tetracycline	3/8	63.4-228	9, 14,16, 22, 25, 27, 29, 30
J01EA01	Trimethoprim	17/19	9-690	1,4,5,8,9,10,14,16,17,19,20,22, 25, 27, 28, 29, 30,32,69
Antineoplastic and immunomodulating agents				
Antineoplastic agents (L01) and Endocrine therapy (L02)				
L01AB01	Ciclofosfamida	0/2	nd	29, 30
L01AA06	Ifosfamida	1/2	41	29, 30
L02BA01	Tamoxifen	2/6	19.57	9,12,14,25, 27, 29
Musculo-skeletal system				
Antiinflammatory and antirheumatic products (M01)				
M01AB05	Diclofenac	19/21	35-18740	1,2,3,5,8,9,10,14,16,17,19,20,22,23,25, 27, 28,29, 31,32,70
M01AE04	Fenoprofen	0/4	nd	16,17,29,70
M01AE01	Ibuprofen	20/22	44-16886	1,2,3,5,8,9,10,14,16,17,18,19,20,22,23,25, 27, 28,29, 31,32,70
M01AB01	Indometacin	11/14	10-380	1,5,8,10,14,17,20,22, 25, 27,29, 31,32,70
M01AE03	Ketoprofen	11/19	10.4-2710	1,5,8,9,10,14,16,17,18, 19,20, 23,25,27, 28,29,31,32,70
M01AB15	Ketorolac	0/1	nd	29
M01AC06	Meloxicam	1/2	74	22, 25
M01AG01	Mefenamic acid	11/13	2.4-104	1,5,6,8,10,14,17, 20, 25, 27,29, 31,32
M01AE02	Naproxen	19/21	50-3140	1,2,5,8,9,10,14,16,17,18,19,20,22, 23, 25, 27,28,29, 31,32,70
M01AA01	Phenylbutazone	0/4	nd	9,14,25, 27
M01AC01	Piroxicam	1/1	11	22
M01AC02	Tenoxicam	0/1	nd	22
Nervous system				
Anesthetics (N01) and Analgesics (N02)				
N02BE01	Acetaminophen	17/17	30-2813	2,5,8,9,10,14,16,17,18,19,20,22,25, 27,29, 31,32
N02BA01	Acetylsalicylic acid	0/1	nd	3
N02AA79	Codeine	7/7	19-3141	9,14,22, 25, 27,29, 31
N02BB03 mlt..	4-Me-aminoantipirine 4MAA	1/1	28	29
N02BB03 mlt..	4-Aaa	1/1	1572	29
N02BB03 mlt..	4-Faa	1/1	1043	29
N02BB03 mlt..	4-Aa	1/1	35	29
N01BB03	Mepivacaine	3/3	7-346	29, 30,32
N02AA05	Oxycodone	0/1	nd	22
N02BB01	Phenazone (antipirine)	8/9	10.2-752	14,20,22, 25, 27, 29, 31,32,70
N02BB04	Propyphenazone	10/12	10-180	1,5,8,9,10,14,25, 27,29, 31,32,70
Antiepileptics (N03), psycholeptics (N05)and psychoanaesthetics (N06)				
N05CD03 mlt..	7-aminoflunitrazepam	1/1	55	6
				[55]

N05BA12	Alprazolam	0/2	nd		6,22
N05BA12 mlt..	Alprazolam α -hydroxy	0/1	nd		6
N06AA09	Amiripryline hydrochloride	1/4	4		6,29, 30
N05CA02	Amobarbital	0/1	nd		17
N05BA08	Bromazepam	1/1	14	(7)	12
none	Butalbital	0/6	nd		9,14,16, 17,25, 27
N03AF01	Carbamazepine	19/19	6-67715	(13-1070)/[82]	1,2,5,6,8,9,10,12,14,19,20,22,25,27, 28,29,30,32,70
N03AF01 mlt..	Carbamazepine epoxide	5/5	14-282	(10.5-54)	12,22,29, 30,32
N03AF01 mlt..	Carbamazepine 2-hidroxy	1/1	52	(2.2)/[43]	22
N06AB04	Citalopram	5/5	10-160		6,22, 29, 30,32
N06AA04	Clomipramine	3/3	nd		6,29, 30
N05BA02	Chlordiazepoxide	1/1	265	(54)	12
N05AA01	Chlorpromazine	2/2	2.6-7	(5)	12,19
N05BA01	Diazepam	8/10	2.68-90	(2.68-14.9)	9, 12,14, 20,22, 25, 27,29, 30,32
N06AB03	Fluoxetine	6/13	3-66.1	(2-10.87)/[14]	1,5,6,8,9,10,14,19,22, 25, 27,29, 30
N05AB02	Fluphenazine	1/1	4.5		19
N05CA16	Hexobarbital	0/2	nd		16, 17
N05BA06	Lorazepam	6/7	19-53.1	(11-41.3)	6,9,14,20, 22, 25, 27
N05CD06	Lormetazepam	0/1	nd		6
N05CD08	Midazolam	0/1	nd		6
N06AA04 mlt..	Norclonipramine	0/1	nd		6
N05BA16	Nordiazepam	1/2	76	(26)	6
N06AB03 mlt..	Norfluoxetine	0/2	nd		6,22
N06AA10	Nortriptiline	0/1	nd		6
N05AH03	Olanzapine	0/1	nd		22
N05BA04	Oxazepam	2/3	129	(30)/[40]	6, 12
N06AB05	Paroxetine	3/12	40-225	(0.4-212.5)	1,5,6,8,9,10,14,22, 25, 27,29, 30
N05CA01	Pentobarbital	0/6	nd		9,14,16,17, 25,27
N05CA24	Phenobarbital	1/5	29.7		9, 14,17, 25,27
N03AB02	Phenytoin(Dilantin)	2/2	107.4-140	(56)	12,19
N03AA03	Primidone	4/4	67-687	(39-47.9)	12,29, 30,32
N05CA06	Secobarbital	0/2	nd		16, 17
N06AB06	Sertraline	1/3	12	(11)	6, 12,22
M03BX07	Tetrazepam	0/1	nd		6
N06AX05	Trazodone	1/1	4		22
N05CD05 mlt...	Triazolam α -hydroxy	1/1	nd		22
N06AX16	Venlafaxine	6/6	45-1003	(12-26.6)/[57]	6, 12,22,29, 30, 32
N06AX16 mlt..	Venlafaxine des-methyl	1/1	22	(5)	12
N05CF02	Zolpidem	1/1	6	(2)	12
Antiparasitic products, insecticides and repellents					
Anthelmintics (P02) and Antiprotozoals (P51)					
P02CA03	Albendazole	0/1	nd		22

P02CE01	Levamisole	1/1	6	22
Veterinary: Antibacterials for systemic use (QJ01), Anesthetics (QN01) and Antiprotozoals (QP51)				
QN01AX91	mlt., Azaperol	0/1	nd	22
QN01AX91	Azaperone	0/1	nd	22
QC07AA90	Carazolol	2/5	0.03-4.2	9,14,22, 25,27
QJ01MA92	Danofloxacin	2/3	11.8-207	9,14,27
QP51AX14	Decoquinat	1/1	40	69
QP51AJ03	Diclazuril	0/1	nd	69
QP51AA07	Dimetridazole	0/1	nd	22
QJ01MA90	Enrofloxacin	3/5	108-178	9,14,25,27 ,69
QP51AH02	Lasalocid	0/1	nd	69
QP51AX10	Maduramycin	1/1	23	69
QP51AH03	Monepsin	1/1	16.7	69
QP51AH04	Narasin	0/1	nd	69
QP51AE03	Nicarbazin	0/1	nd	69
QJ01MQ01	Olaquinox	0/2	nd	16,17
QP51AX13	Robenidine	0/1	nd	69
QP51AA08	Ronidazole	0/1	nd	22
QP51AH01	Salinomycin	1/1	17.4	69
QJ01EQ12	Sulfachloropyridazine	0/1	nd	69
QJ01EQ13	Sulfadoxine	1/1	43.3	15
QP51AG03	Sulfaquinoxaline	2/2	40.4-40.8	15,69
QJ01FA91	Tilmicosin	1/4	227	9,14,25,27
QJ01FA90	Tylosin	4/7	0.77-1.6	4,9,14,17,20, 25,27
QN05CM92	Xylazine	1/1	20	22
Respiratory System				
Obstructive airway disease (R03), Cough (R05) and Antihistaminic (R06)				
R03AC13	Clenbuterol	3/4	1-3.42	9,14,20, 27
R06AX27	Desloratadine	0/1	nd	22
R06AX13	Loratadine	7/11	3-201.6	1, 5,8,9,10,14, 22, 25,27,29, 30
R03AC02	Salbutamol	7/10	1-28	9, 12,14,20, 25, 27, 29,30,32,70
R03AC03	Terbutaline	0/1	nd	29
Various				
X-ray contrast media (V08)				
V08AA01	Diatrizoic acid	2/2	58.8-84	16,17
V08AB02	Iohexol	2/2	71.4-341	16,17
V08AB10	Iomeprol			
V08AB04	Iopamidol			29
V08AB05	Iopromide	0/1	nd	17,22, 29

References (for Tables S1 and S2)

1. Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2007). Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (Northeast Spain). *Environ. Toxicol. Chem.* 26(8): 1553-1562.
2. Pedrouzo, N., Reverté, S., Borrull, F., Pocurull, E., Marcé, R.M. (2007). Pharmaceutical determination in surface and wastewaters using high-performance liquid chromatography-(electrospray)-mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* 30: 297-303.
3. Kuster M., López de Alda, M.J., Hernando, M.D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., Barceló, 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). *J. Hydrol.* 358: 112-123.
4. Pedrouzo, N., Borrull, F., Pocurull, E., Marcé, R.M. (2008). Simultaneous determination of macrolide sulfonamides, and other pharmaceuticals in water samples by solid-phase extraction and LC-(ESI) MS. *J. Sep. Sci.* 31: 2182-2188.
5. López-Roldan, R., López de Alda, M.J., Gros, M., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., Barceló, D.(2010). Advanced monitoring of pharmaceuticals and estrogens in the Llobregat river basin (Spain) by liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry in combination with ultra performance liquid chromatography-time of flight mass spectrometry. *Chemosphere* 80, 1337-1344.
6. González-Alonso, S., Catalá, M., Romo-Maroto, R., Rodríguez-Gil, J.L., Gil-de Miguel, A., Valcárcel, Y. (2010). Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environ. Internat.* 36: 195-201.
7. García-Galan, M.J., Villagrasa, M., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. (2010). LC-QqLIT MS análisis of nine sulfonamides and one of their acetylated metabolites in the Llobregat river basin. Quantitative determination and qualitative evaluation by IDA experiments. *Anal. Bioanal. Chem.* 397: 1325-1334.
8. Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2006) Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70: 678-690.
9. Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2009). Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. *Anal. Chem.* 81: 898-912.
10. Muñoz, I., López-Doval, J., Ricart, M., Villagrasa, M., Brix, R., Geiszinger, A., Ginebreda, A., Guasch, H., López de Alda, M.J., Romani, A.M., Sabater, S., Barceló, D. (2009). Bridging levels of pharmaceuticals in river water with biological community structure in the Llobregat river (Northeast Spain). *Environ. Toxicol. Chem.* 28(12): 2706-2714.
11. Ginebreda, A., Muñoz, I., López de Alda, M.J., Brix, R., López-Doval, J., Barceló, D. (2010). Environmental risk assessment of pharmaceuticals in Rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat river (NE Spain). *Environ. Internat.* 36: 153-162.
12. Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Res.* 45: 1432-1442.
13. Esteban S., Valcárcel, Y., Catalá M., González-Castromil M. (2012) Psychoactive pharmaceutical residues in the watersheds of Galicia (Spain). *Gac. Sanit.* 26: 457-459.
14. López-Serna R., Postigo C., Blanco J., Pérez S., Ginebreda A., López de Alda M., Petrovic M., Munné A., Barceló D. (2012). Assessing the effects of tertiary treated wastewater reuse on the presence emerging contaminants in a Mediterranean river (Llobregat , NE Spain). *Environ Sci. Pollut. Res.* 19: 1000-1012.

15. García-Galán, M.J., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D. (2011). Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin. Removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environ. Int.* 37: 462-473.
16. Boleda M.R., Galceran, M.T., Ventura, F. (2013). Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1286: 146-158.
17. Boleda M.R., Galceran, M.T., Ventura, F. (2011). 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: 1584-1591.
18. Farre, M., Ferrer, I., Ginebreda, A., Figueras, M., Olivella, L., Tirapu, Ll., Vilanova, M., Barceló, D. (2001). Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *J. Chromatogr. A* 938: 187-197.
19. Fernández, C., González-Doncel, M., Pro, J., Carbonell, G., Tarazona, J.V. (2010). Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo river system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *Sci. Total Environ.* 408: 543-551.
20. Ferreira da Silva B., Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A.A., Petrovic, M., Barceló, D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere* 85: 1331-1339
21. Gonçalves, C., Perez, S., Osorio, V., Petrovic, M., Alpendurada, M.F., Barceló D. (2011). Photofate of Oseltamivir (Tamiflu) and Oseltamivir Carboxylate under Natural and Simulated Solar Irradiation: Kinetics, Identification of the Transformation Products, and Environmental Occurrence. *Environ. Sci. Technol.* 45: 4307-4314.
22. Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Barceló, D. (2013). 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. *J. of Chromatogr. A.* 1248: 104-121.
23. Hernando, M.D., Heath, E., Petrovic, M., Barceló, D. (2006). Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. *Anal Bioanal Chem* 385: 985-991
24. Jurado A., Vázquez-Suñé E., Carrera J., López de Alda M., Pujades E., Barceló D. (2012) Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in a European context. *Sci. Total Environ.* 440: 82-94.
25. Köck-Schulmeyer, M., Ginebreda, A., Postigo, C., López-Serna, R., Pérez, S., Brix, R., Llorca, M., López de Alda, M., Petrovic, M., Munné, A., Tirapu, Ll., Barceló, D. (2011). Wastewater reuse in Mediterranean semi-arid areas: The impact of discharges of tertiary treated sewage on the load of polar micro pollutants in the Llobregat river (NE Spain). *Chemosphere* 82: 670-678.
26. Loos, R., Gawlik, B.M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., Bidoglio G. (2009). EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environ. Pollut.* 157: 561-568.
27. López-Serna, R., Petrovic M., Barceló, D. (2011). Development of a fast instrumental method for the analysis of pharmaceuticals in environmental and wastewaters based on ultra high performance liquid chromatography (UHPLC)-tandem mass spectrometry (MS/MS). *Chemosphere* 85: 1390-1399.
28. Martín, J., Camacho-Muñoz, D., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E. (2011) Monitoring of pharmaceutically active compounds on the Guadalquivir River basin (Spain): occurrence and risk assessment. *J. Environ. Monit.*, 13: 2042-2050
29. Martínez Bueno, M.J., Hernando, M.D., Herrera S., Gómez, M.J., Fernández-Alba, A.R., Bustamante I., Garcia-Calvo E. (2010) Pilot survey of chemical contaminants

- from industrial and human activities in river waters of Spain. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 90: 321-343.
30. Valcarcel Y., González-Alonso S., Rodríguez-Gil, J.L., Gil A., Catalá M. (2011a) Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere* 84:1336-1348.
 31. Valcarcel Y., González-Alonso S., Rodríguez-Gil, J.L., Romo-Maroto, R., Gil A., Catalá M. (2011b). Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antypiretic pharmaceuticals in river- and drinking water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere* 82: 1062-1071.
 32. Valcarcel Y., González-Alonso S., Rodríguez-Gil, J.L., Castaño, A., Montero, J.C., Criado-Alvarez, J.J., Mirón, I.J., Catalá M. (2013). Seasonal variation of pharmaceutically active compounds in surface (Tagus River) and tap water (Central Spain). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20: 1396-1412.
 33. Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Standford, B.D., Snyder, S.A. (2009) Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 43: 597-603.
 34. Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, D.D., Henderson, A.K., Reisman, 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.
 35. Stackelberg, P.E., Gibs, J., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Lee Lippincott, R. (2007) Efficiency of conventional drinking-water treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds
 36. 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. 311: 135-149.
 37. Kleywegt, S., Pileggi, V., Yang, P., Hao, C., Zhao, X., Rocks, C., Thach, S., Cheung, P., Whitehead, B. (2011) Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished water in Ontario, Canada-Occurrence and treatment efficiency. *Sci. Total Environ.* 409: 1481-1488
 38. Daughton, C.G. (2010) Pharmaceutical ingredients in drinking water: Overview of occurrence and significance of human exposure.
<http://www.epa.gov/esd/bios/daughton/ACS-SS1048-2010.pdf>
 39. Tauber, R. (2003). Quantitative analysis of pharmaceuticals in drinking water from ten Canadian cities. *Enviro-Test Laboratories/Xenos Division, Ontario, Canada*, pp-16,
http://www.ctv.ca/servlet/ArticleNews/story/CTVNews/20030209/drugs_water030209/.
 40. Yu, Z., Peldszus, S., Huck, P.M. (2007). Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *J. Chromatogr. A.* 1148: 65-77.
 41. Snyder, S.A., Lei, H., Wert, E.C. (2007). In *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*. Aga, D.S., Ed. CRC Press: Boca Raton, FL, pp 229-260.
 42. Snyder, S.A. (2008). Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in water. *Ozone: Sci. Eng.* 30: 65-69.
 43. 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.
 44. Loraine, G.A., Pettigrove, M.E., (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.
 45. Chen, M., Ohman, K., Metcalfe, C., Ikonou, M.G., Amatya, P.L., Wilson, J. (2006). Pharmaceuticals and endocrine disruptors in wastewater treatment effluents and in the water supply system of Calgary, Alberta, Canada. *Water Qual Res. J. Can.* 41:351-364.

46. Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Rexing, D.J., Snyder, S.A., (2006). Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 65: 1990-1998.
47. Illinois EPA Report on Pharmaceuticals and Personal Care Products in Illinois Drinking Water Bureau of Water, Illinois EPA, June 2008, 2008, Bureau of Water, Illinois, <http://www.epa.state.il.us/water/pharmaceuticals-in-drinking-water.pdf>.
48. Servos, M. R.; Smith, M.; McInnis, R.; Burnison, K.; Lee, B.-H.; Seto, P.; Backus, S. (2007). The presence of selected pharmaceuticals and the antimicrobial triclosan in drinking water in Ontario, Canada. *Water Qual. Res. J. Can.* 42: 130-137.
49. Ye, Z.; Weinberg, H. S.; Meyer, M. T. (2007). Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 79:1135-1144.
50. Trenholm, R. A.; Vanderford, B. J.; Snyder, S. A. (2009). On-line solid phase extraction LC-MS/MS analysis of pharmaceutical indicators in water: A green alternative to conventional methods. *Talanta* 79: 1425-1432.
51. Hua, W.; Bennett, E. R.; Letcher, R. J. (2006). Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicide in drinking water sourced from the upper Detroit River, Ontario, Canada. *Water Res.* 40: 2259-2266.
52. Wang, C., Shi, H., Adams, C.D., Gamagedara, S., Stayton, I., Timmons, T., Maa, Y. (2011). Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Water Res.* 45:1818-1828.
53. Metcalfe, C.D., Chu, S., Judt, C., Li, H., Oakes, K.D., Servos, M.R., Andrews, D.M. (2010). Antidepressants and their metabolites in municipal wastewater and downstream in an urban watershed. *Environ. Toxicol. Chem.* 29:79-89.
54. Zuccato, E.; Calamari, D.; Natangelo, M.; Fanelli, R. (2000). Presence of therapeutic drugs in the environment. *The Lancet* 355:1789-1790.
55. Versteegh, J. F. M.; van der Aa, N. G. F. M.; Dijkman, E. (2007). Pharmaceuticals in drinking water and resources for drinking water: Results of the measurement program 2005/2006, 2007, RIVM report 703719016/2007, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu RIVM, Bilthoven, The Netherlands, pp 1-53, <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/703719016.html>.
56. Heberer, T.; Stan, H. J. (1997). Determination of clofibric acid and N-(Phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage, river and drinking water. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 67: 113-124.
57. Ternes, T. In *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Scientific and regulatory issues*; Daughton, C. G., Jones-Lepp, T. L., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, 2001, p 39-54.
58. Stumpf, M.; Ternes, T. A.; Haberer, K.; Seel, P.; Baumann, W. (1996). Determination of pharmaceuticals in sewage plants and river water. *Vom Wasser*, 86:291-303.
59. Versteegh, J. F. M.; Stolker, A. A. M.; Niesing, W.; Muller, J. J. A. (2003). Pharmaceuticals in drinking water and sources for drinking water, RIVM rapport 703719004, pp 1-45, <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/703719004.html>.
60. Stolker, A. A. M.; Niesing, W.; Hogendoorn, E. A.; Versteegh, J. F. M.; Fuchs, R.; Brinkman, U. A. T. (2004). Liquid chromatography with triple-quadrupole or quadrupole-time of flight mass spectrometry for screening and confirmation of residues of pharmaceuticals in water. *Anal. Bioanal. Chem.* 378: 955-963.
61. Togola, A.; Budzinski, H. (2008). Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A*, 1177:150-158.
62. Bruchet, A.; Hochereau, C.; Picard, C.; Decottignies, V.; Rodrigues, J. M.; Janex-Habibi, M. L. (2005). Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking waters: the analytical challenge and examples of application. *Water Sci. Technol.* 52 (8):53-61.

63. 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.* 387:1469-78.
64. Kuch, H. M.; Ballschmiter, K. (2001). Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range. *Environ. Sci. Technol.* 35: 3201-3206
65. Aherne, G. W.; Briggs, R. (1989). The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 41: 735-736.
66. Wenzel, A.; Müller, J.; Ternes, T. Study of endocrine disrupters in drinking water, 2003, Final Report ENV.D.1/ETU/2000/0083, Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology, Schmallenberg, Germany, http://ec.europa.eu/research/endocrine/pdf/drinking_water_en.pdf.
67. 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.
68. 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.* 40:7321-7328.
69. Iglesias, A., Nebot C., Miranda, J.M., Vazquez, B.I., Cepeda, A. (2012). Detection and quantitative analysis of 21 veterinary drugs in river water using high-pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19: 3235-3249.
70. Rodil R, Quintana JB, Concha-Graña E, Lopez-Mahia P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodriguez D. (2012). Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 86: 1040-1049.
71. Rodriguez-Mozaz, S., López de Alda, M.J., Barceló, D. (2004a). Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1045 (1-2): 85-92.
72. Rodriguez-Mozaz, S., López de Alda, M.J., Barceló, D. (2004b). Picogram per Liter Level Determination of Estrogens in Natural Waters and Waterworks by a Fully Automated On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry Method. *Anal. Chem.* 76 (23): 6998-7006.
73. Hirsch, R.; Ternes, T. A.; Lindart, A.; Haberer, K.; Wilken, R. D. (2000). A sensitive method for the determination of iodine containing diagnostic agents in aqueous matrices using LC-electrospray-tandem-MS detection. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366:835-841.
74. Seitz, W.; Jiang, J. Q.; Weber, W. H.; Lloyd, B. J.; Maier, M.; Maier, D. (2006). Removal of iodinated X-ray contrast media during drinking water treatment. *Environ. Chem.* 3: 35-39.
75. Kormos, J. L.; Schulz, M.; Wagner, M.; Ternes, T. A. (2009). Multistep approach for the structural identification of biotransformation products of iodinated X-ray contrast media by liquid chromatography/hybrid triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry and ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance. *Anal. Chem.* 81: 9216-9224.
76. Reddersen, K.; Heberer, T.; Dunnbier, U. (2002). Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground- and drinking water. *Chemosphere* 49: 539-544.
77. Zuhlke, S.; Dunnbier, U.; Heberer, T. (2004). Detection and identification of phenazone-type drugs and their microbial metabolites in ground and drinking water applying solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* 1050: 201-209.
78. De Jongh, C., Kooij, P.J.F., de Voogt, P., ter Laak, T.L. (2012) Screening and human health risk assessment of pharmaceuticals and their transformation products in Dutch surface waters and drinking water. *Sci. Total Environ.* 427-428:70-77.

79. Hass, U., Duennbier, U., Massmann, G. (2012). Occurrence and distribution of psychoactive compounds and their metabolites in the urban water cycle of Berlin (Germany). *Water Res.* 46:6013-6022.
80. Kormos, J.L., Schulz, M., Ternes, T.A. (2011). Occurrence of iodinated X-ray contrast media and their biotransformation products in the urban water cycle. *Environ. Sci. Technol.* 45:8723-8732.
81. Vulliet, E., Cren-Olive, C., Grenier-Loustalot, M-F. (2011). Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. *Environ Chem Lett.* 9:103–114
82. Van der Aa, N.G.F.M., Dijkman, E., Bijlsma, L., Emke, E., van de Ven, B.M., van Nuijs, A.L.N., de Voogt, P. (2010). Drugs of abuse and tranquilizers in Dutch surface waters, drinking waters and wastewater. RIVM Report 703719064/2010.
83. Radjenovic, J., Petrovic, M., Ventura, F., Barceló, D. (2008) Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. *Water Res* 42: 3601-3610.

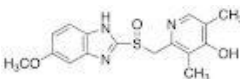
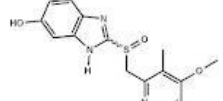
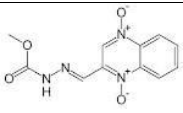
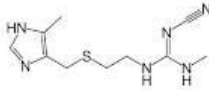
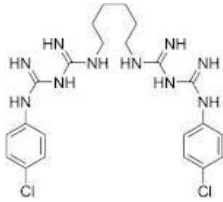
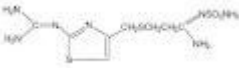
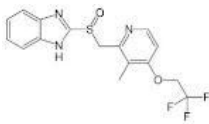
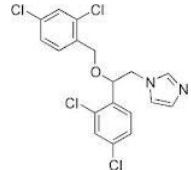
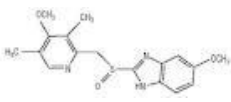
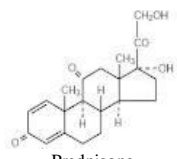
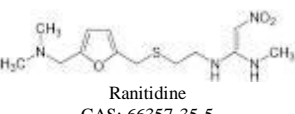
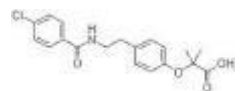
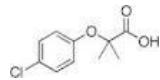
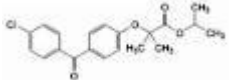
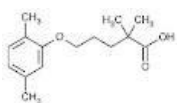
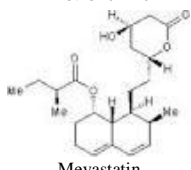
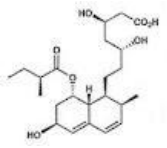
Table S3: LC-MS/MS parameters established for the SRM acquisition mode of target pharmaceuticals [18].

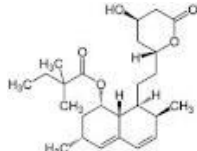
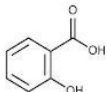
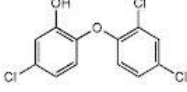
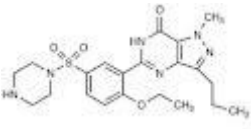
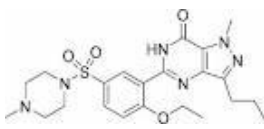
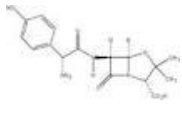
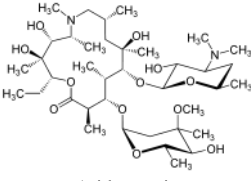
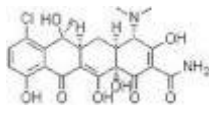
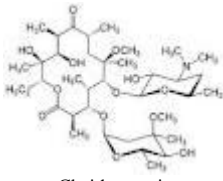
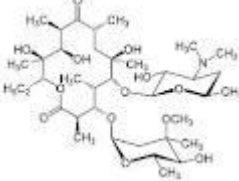
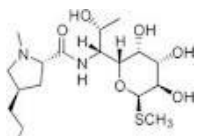
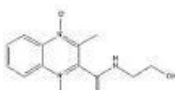
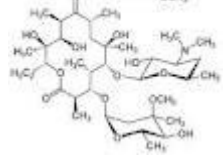
ATC Codes	ESI mode (+/-)	Precursor ion (m/z)	CV ^a (V)	Product ion (m/z)	C.E. ^b (V)	Product ion (m/z)	C.E. ^b (V)	Ion ratio ^c (%)	Permitted tolerances	LOQ ^e (ng/L)
Alimentary tract and metabolism: Stomatological (A01), Antiinfectives and antiseptics for local oral treatment (A01AB), Acid related disorders (A02), Antidiarrheals and Anti-ulcer (A07), and Corticosteroids acting locally (A07EA)										
A02BC01 mlt	+	330.2	45	120.1	30	149.9	20	60.3±10	±20	5.0
A02BC01 mlt	+	348.2	35	150.2	25	120.1	35	78.6±3.2	±20	1.2
A07EC04	+	263.2	35	231.1	10	129.5	25	52.9±3.5	±20	4.6
A02BA01	+	253.2	30	159.1	15	117.1	15	50.4±2.9	±20	0.4
A01AB03 mlt.	+	505.2	40	335.9	20	184.0	30	58.6±1.0	±20	8.6
A02BA03	+	338.2	25	189.2	20	259.2	10	66.6±4.7	±20	6.2
A02BC93	+	370.2	25	252.1	10	119.1	25	25.5±9.9	±25	1.6
A01AB09 mlt.	+	417.1	55	161.3	35	123.3	70	30.1±2.2	±25	15
A02BC01	+	346.3	20	198.1	10	151.0	20	32.8±3.5	±25	0.4
A07EA03	-	357.1	30	327.1	20	149.0	40	20.6±2.1	±25	8.0
A02BA02	+	315.3	30	176.2	15	130.1	25	65.2±3.8	±20	1.5
Cardiovascular system: Lipid Modifying Agents (C10)										
C10AB02	-	360.2	20	274.2	20	154.1	10	12.4±1.3	±30	4.0
C10AB01	-	213.2	20	127.0	10	84.9	15	15.9±5.1	±30	5.0
C10AB05	+	361.3	35	233.2	15	139.1	25	74.3±3.9	±20	2.0
C10AB04	-	249.3	25	121.1	15	127.1	10	8.5±0.5	±50	3.0
C10AA03	+	391.3	25	185.2	10	159.2	25	64.5±8.0	±20	5.8
C10AA03	+	447.3	45	327.2	30					30
C10AA01	+	419.4	30	199.3	10	285.3	10	97.1±2.4	±20	0.4
Dermatologicals: Antifungals (D01), Antiseptics (D08)										
D01AE12	-	137.1	30	93.0	15	64.8	30	8.5±0.3	±50	40
D08AE04	-	287.1	20	35.0	10	289>35	10	60.6±7.7	±20	4.0
Genito-urinary system and sex hormones: Urologicals (G04)										
G04BE03	+	475.3	55	99.9	40	283.2	40	15.2±1.9	±30	0.9
G04BE03 mlt	+	461.3	60	85.2	30	283.2	35	80.1±4.9	±20	1.4
Antiinfectives for systemic use: Antibacterials (J01) Veterinary: Antibacterials for systemic use (QJ01)										
J01CA04	+	366.3	20	349.1	10	114.0	20	0.11±0.03	±50	115
J01FA10	+	749.7	55	158.2	45	591.5	30	63.5±6.0	±20	1.0
J01FA09	+	748.7	35	158.2	30	590.4	20	13.9±1.3	±30	0.2
J01AA04	+	479.2	40	462.3	20	444	20	62.4±6.3	±20	240
J01FA01	+	734.7	35	158.1	30	576.4	20	21.5±1.2	±25	0.2
J01FF02	+	407.3	40	126.1	25	359.2	20	5.5±0.4	±50	0.9
QJ01MQ01	+	264.2	30	143.1	30	221.2	15	51.2±7.5	±20	3.6
J01FA06	+	873.7	40	158.2	35	679.5	25	21.5±9.1	±25	0.2
J01ED01	+	311.2	40	156.1	20	92.0	30	35.5±0.9	±25	0.8
J01EB03	+	279.2	40	186.1	15	124.1	25	55.8±10.0	±20	0.7
J01EC01	+	254.2	30	156.1	15	92.0	25	70.2±7.0	±20	1.1
J01AA07	+	445.3	30	428.0	15					110
J01EA01	+	291.3	50	230.2	20	123.0	30	90.6±12.0	±20	1.1
QJ01FA90	+	916.7	65	174.2	40	772.5	40	1.6±0.4	±50	0.4

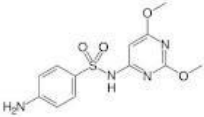
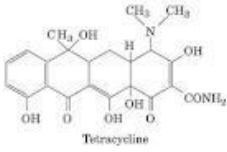
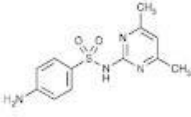
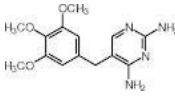
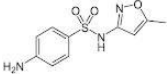
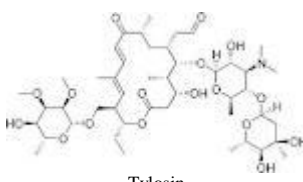
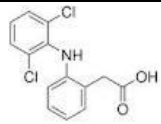
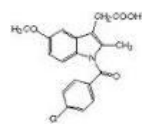
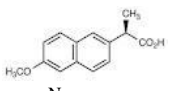
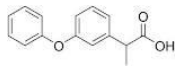
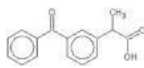
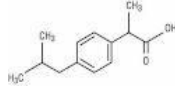
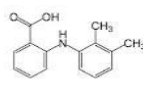
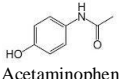
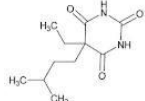
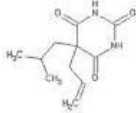
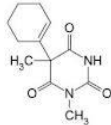
Musculo-skeletal system: Antiinflammatory and antirheumatic products (M01)											
M01AB05	Diclofenac	-	294.1	20	250.1	10	214.0	20	6.1±1.7	±50	4.0
M01AE04	Fenoprofen	-	241.2	20	197.2	10	93.0	25	16.9±1.7	±30	12
M01AE01	Ibuprofen	-	205.2	25	161.2	10					
M01AB01	Indomethacin	-	356.2	20	312.1	10	270.0	15	22.2±1.5	±25	10
M01AE03	Ketoprofen	-	253.2	30	209.2	10	197.0	10	21.3±1.4	±25	30
M01AG01	Mefenamic acid	-	240.2	35	196.2	15	180.0	25	11.2±1.6	±30	5.0
M01AE02	Naproxen	-	229.2	20	170.1	15	185.2	10	75.5±12.7	±20	8.0
Nervous system: Analgesics (N02, psycholeptics (N05)											
N02BE01	Acetaminophen	+	152.2	30	110.1	15	92.9	25	5.9±2.1	±50	1.4
N05CA02	Amobarbital	-	225.2	30	84	15	138.1	15	22.4±7.5	±25	8.0
none	Butalbital	-	223.2	25	42	10	180.2	10	78.4±9.5	±20	15
N05CA16	Hexobarbital	-	235.2	25	42	20	159.0	15	17.8±0.4	±30	20
N05CA01	Pentobarbital	-	225.2	25	42	20	182.2	10	81.9±7.4	±20	8.0
N05CA24	Phenobarbital	-	231.1	20	42	20	188.2	10	41.2±3.0	±25	15
N05CA06	Secobarbital	-	237.2	25	42	20	194.2	10	84.1±2.3	±20	9.0
X-ray contrast media: (V08)											
V08AA01	Diatrizoic acid	+	614.9	40	361.0	20	233.2	40	3.4±0.3	±50	17
V08AB02	Iohexol	+	822.0	45	803.9	20	448.0	30	10.3±4.3	±30	30
V08AB05	Iopronide	+	792.0	45	300.0	55	572.9	25	80.0±8.8	±20	17

^a C.V. Cone voltatge; ^b C.E.: collision energy; ^c% Relative intensity between confirmation and quantification transitions; ^d Permitted tolerances on the basis of relative intensity to accomplish with EU guidelines [European Union decision 2002/657/EC];

Figure S1. Chemical structures, CAS numbers, Molecular weight (MW), Log Kow and ATC codes of selected compounds.

<p><i>Alimentary tract and metabolism (ATC code: A): Stomatological (A01), Antiinfectives and antiseptics for local oral treatment (A01AB), Acid related disorders (A02), Antidiarrheals and Anti-ulcer (A07), and Corticosteroids acting locally (A07EA)</i></p>	 <p>4-OH-omeprazole CAS: 30166-82-9 MW: 331.09 LogKow: 1.52 ATC: A02BC01 met.</p>	 <p>5-O-desmethyl omeprazole CAS: 151602-49-2 MW: 331.09 LogKow: 1.52 ATC: A02BC01 met.</p>	 <p>Carbadox CAS: 6804-07-5 MW: 262.07 LogKow: -1.22 ATC: A07EC04</p>	
	 <p>Cimetidine CAS: 51481-61-9 MW: 252.11 LogKow: 0.07 ATC: A02BA01</p>	 <p>Chlorhexidine CAS: 55-56-1 MW: 504.20 LogKow: 4.58 ATC: A01AB03 (mlt)</p>	 <p>Famotidine CAS: 76824-35-6 MW: 337.04 LogKow: -1.43 ATC: A02BA03</p>	
	 <p>Lansoprazole CAS: 103577-45-3 MW: 369.07 LogKow: 3.68 ATC: A02BC9</p>	 <p>Miconazole CAS: 22916-47-8 MW: 413.98 LogKow: 5.93 ATC: A01AB09 (mlt)</p>	 <p>Omeprazole CAS: 73590-58-6 MW: 345.11 LogKow: 3.40 ATC: A02BC013</p>	
	 <p>Prednisone CAS: 53-03-2 MW: 358.18 LogKow: 1.57 ATC: A07EA03</p>	 <p>Ranitidine CAS: 66357-35-5 MW: 314.14 LogKow: 1.23 ATC: A02BA02</p>		
	<p><i>Cardiovascular system (ATC code: C): Lipid Modifying Agents (C10)</i></p>	 <p>Bezafibrate CAS: 41859-67-0 MW: 361.11 LogKow: 3.46 ATC: C10AB02</p>	 <p>Clofibrac acid CAS: 882-09-7 MW: 214.04 LogKow: 2.72 ATC: C10AB01</p>	 <p>Fenofibrate CAS: 49562-28-9 MW: 360.11 LogKow: 4.80 ATC: C10AB05</p>
		 <p>Gemfibrozil CAS: 25812-30-0 MW: 250.16 LogKow: 4.39 ATC: C10AB04</p>	 <p>Mevastatin CAS: 73573-88-3 MW: 390.24 LogKow: 3.57 ATC: C10AA03</p>	 <p>Pravastatin CAS: 81131-70-6 MW: 424.24 LogKow: 1.35 ATC: C10AA03</p>

	 <p>Simvastatin CAS: 79902-63-9 MW: 418.27 LogKow:4.41 ATC: C10AA01</p>
<p>Dermatologicals (ATC code:D): Antifungals (D01), Antiseptics (D08)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="523 398 639 600">  <p>Salicylic acid CAS: 50-78-2 MW: 138.03 LogKow: 2.06 ATC: D01AE12</p> </div> <div data-bbox="794 398 981 613">  <p>Triclosan CAS: 3380-34-5 MW: 287.95 LogKow: 5.17 ATC: D08AE04</p> </div> </div>
<p>Genito-urinary System (ATC code:G): Urologicals (G04)</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="448 629 699 869">  <p>N-desmethyl sildenafil CAS: 139755-82-1 MW: 460.19 LogKow: 1.88 ATC: G04BE03 met.</p> </div> <div data-bbox="754 629 1018 869">  <p>Sildenafil CAS: 139755-83-2 MW: 474.20 LogKow: 2.27 ATC: G04BE03</p> </div> </div>
<p>Antiinfectives for systemic use (ATC code:J): Antibacterials (J01) and Antivirals (J05)</p>	<div style="display: flex; flex-wrap: wrap;"> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="486 907 667 1160">  <p>Amoxicillin CAS: 26787-78-0 MW: 365.10 LogKow: 0.61 ATC: J01CA04</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="762 884 1013 1160">  <p>Azithromycin CAS: 117772-70-0 MW: 748.50 LogKow: 3.33 ATC: J01FA10</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="470 1176 678 1451">  <p>Chlorotetracycline CAS: 64-72-2 MW: 514.09 LogKow: - ATC: J01AA04</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="774 1176 997 1451">  <p>Clarithromycin CAS: 81103-11-9 MW: 747.47 LogKow: 3.16 ATC: J01FA09</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="1093 1176 1332 1467">  <p>Erythromycin CAS: 114-07-8 MW: 733.46 LogKow: 2.83 ATC: J01FA01</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="478 1489 678 1742">  <p>Lincomycin CAS: 859-18-7 MW: 406.21 LogKow: 0.91 ATC: J01FF02</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="798 1512 973 1749">  <p>Olaquinox CAS: 23696-28-8 MW: 267.12 LogKow: -0.52 ATCvet: QJ01MQ01</p> </div> </div> <div style="width: 33%;"> <div data-bbox="1101 1489 1324 1749">  <p>Roxithromycin CAS: 80214-83-1 MW: 836.52 LogKow: 3.73 ATC: J01FA06</p> </div> </div> </div>

	 <p>Sulfadimethoxine CAS: 122-11-2 MW: 310.07 LogKow: 1.48 ATC: J01ED01</p>  <p>Tetracycline CAS: 64-75-5 MW: 444.15 LogKow: -1.47 ATC: J01AA07</p>	 <p>Sulfamethazine CAS: 57-68-1 MW: 278.08 LogKow: 0.81 ATC: J01EB03</p>  <p>Trimethoprim CAS: 738-70-5 MW: 290.13 LogKow: 0.79 ATC: J01EA01</p>	 <p>Sulfamethoxazole CAS: 723-46-6 MW: 253.05 LogKow: 0.89 ATC: J01EC01</p>  <p>Tylosin CAS: 1405-54-5 MW: 915.52 LogKow: 3.27 ATCvet: QJ01FA90</p>
<p>Musculo-skeletal system (ATC code:M): Antiinflammatory and antirheumatic products (M01)</p>	 <p>Diclofenac CAS: 15307-86-5 MW: 295.01 LogKow: 4.51 ATC: M01AB05</p>  <p>Indomethacin CAS: 91853-74-6 MW: 357.78 LogKow: 3.11 ATC: M01AB01</p>  <p>Naproxen CAS: 22204-53-1 MW: 230.09 LogKow: 2.8 ATC: M01AE02</p>	 <p>Fenopropfen CAS:53746-45-5 MW: 242.09 LogKow: 4.51 ATC: M01AE04</p>  <p>Ketoprofen CAS:22071-15-4 MW: 254.09 LogKow: 2.81 ATC: M01AE03</p>	 <p>Ibuprofen CAS: 15687-27-1 MW: 206.29 LogKow:3.7 ATC: M01AE01</p>  <p>Mefenamic acid CAS: 61-68-7 MW: 241.11 LogKow: 5.33 ATC: M01AG01</p>
<p>Nervous system (ATC code:N): Anesthetics (N01) and Analgesics (N02) psycholeptics (N05)</p>	 <p>Acetaminophen CAS: 103-90-2 MW: 151.06 LogKow: 0.34 ATC: N02BE01</p>  <p>Amobarbital CAS: 57-43-2 MW: 226.13 LogKow:2.05 ATC: N05CA02</p>	 <p>Butalbital CAS: 77-26-9 MW: 224.11 LogKow: 1.65 ATC: N05CA</p>	 <p>Hexobarbital CAS: 56-29-1 MW: 236.12 LogKow: 1.59 ATC: N05CA16</p>

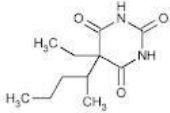
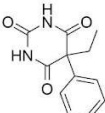
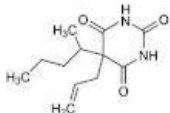
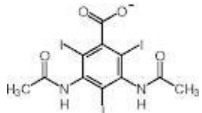
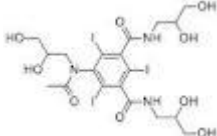
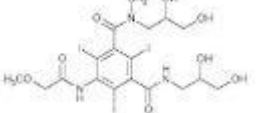
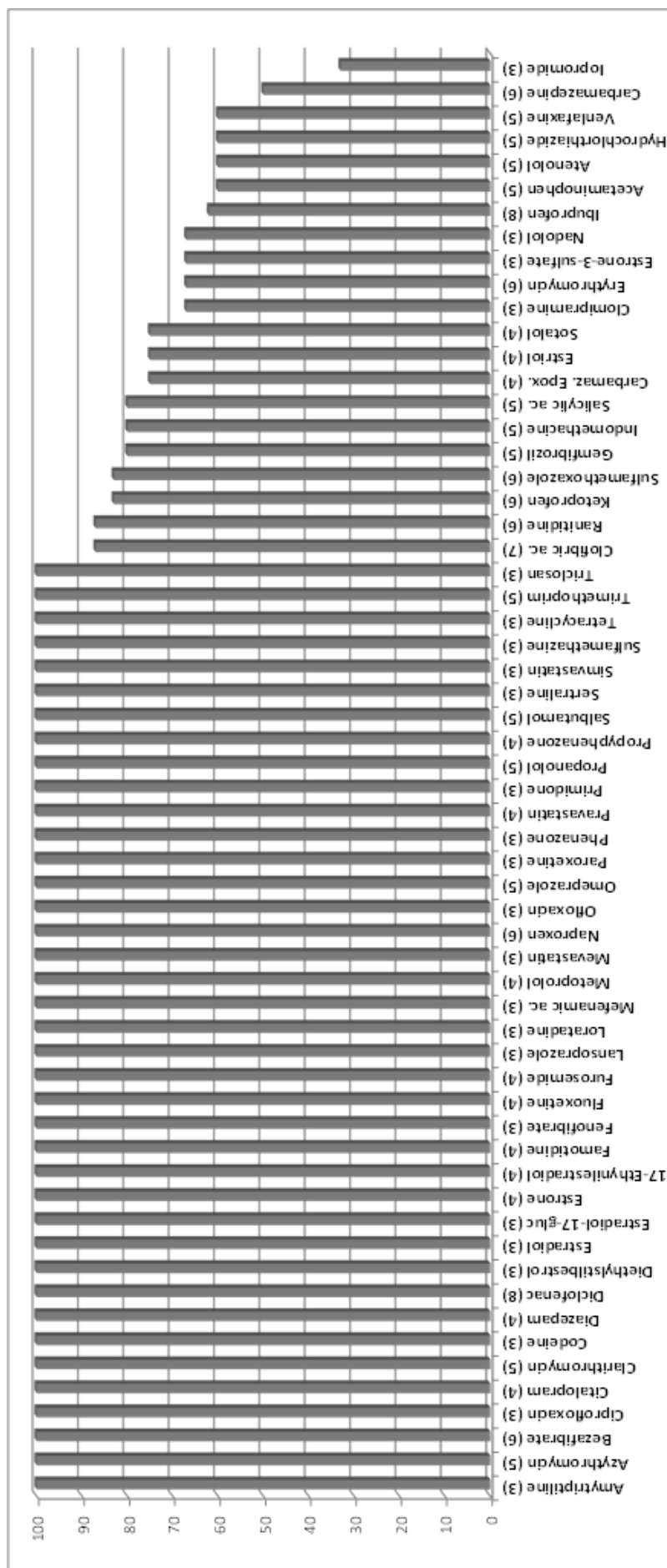
	 <p>Pentobarbital CAS: 76-74-4 MW: 226.13 LogKow: 2.05 ATC: N05CA01</p>	 <p>Phenobarbital CAS: 50-06-6 MW: 232.08 LogKow: 1.67 ATC: N05CA24</p>	 <p>Secobarbital CAS: 29071-21-4 MW: 238.13 LogKow: 2.18 ATC: N05CA06</p>
<i>X-ray contrast media</i> (ATC code: V):	 <p>Diatrizoic acid CAS: 117-96-4 MW: 613.77 LogKow: 0.45 ATC: V08AA01</p>	 <p>Iohexol CAS: 66108-95-0 MW: 820.88 LogKow: -4.16 ATC: V08AB02</p>	 <p>Iopromide CAS: 73334-07-3 MW: 790.87 LogKow: -2.95 ATC: V08AB05</p>

Figure S2: Percentage of absence of pharmaceuticals in Spanish tap waters (for n≥3). Values given in parentheses indicate the number of analyzed publications.



Pharmaceuticals in tap waters but with n=0-2: Alprazolam (2); Amlodipine; Cimetidine; Clopidogrel; Cyclophosphamide; Diatrizoic acid; Diltiazem; Estradiol-17-acetate; Fenoprofen; Ifosfamide; Iohexol; Irbesartan; Lorazepam; Losartan; Mepivacaine; Metronidazole; Norfloxacin; Olaquinox; Omeprazole 4-hydroxy-; Oxazepam; Roxithromycin; Sildenafil; Sulfadimethoxine; Valsartan; Tylosin; Acetabutolol (1); Acetyl salicylic; Albendazole; Amobarbital; Amoxicillin; Atorvastatin; Azaperol; Azaperone; Betaxolol; Bromazepam; Butalbital; Carazolol; Carbadox; Carbamazepine 2-hydroxy; Cefalexin; Chloridiazepoxide; Chlorhexidine; Chlorpromazine; Clotrimazole; Desloratadine; Dexamethasone; Dimedrazol; Doxazosin; Fluvastatin; Glibenclamide; Hexobarbital; Labetalol; Levamisole; Levonorgestrel; Lincocmycin; Meloxicam; Metronidazole hydroxy-; Miconazole; Nordiazepam; Norethindrone; Norfluoxetine; Norverapamil; Olanzapine; Omeprazole 5-desmethyl-; Oxycodone; Oxytetracycline; Pentobarbital; Phenobarbital; Phenytoin; Piroxicam; Prednisone; Progesterone; Ronidazole; Secobarbital; Sildenafil desmethyl-; Sulfadiazine; Sulfapyridine; Sulfathiazole; Tamoxifen; Tamsulosin; Tenoxicam; Thiabendazole; Torasemide; Trazodone; Venlafaxine desmethyl-; Verapamil; Warfarin; Xylazine; Zolpidem; Enalapril (0); Doxycycline; Metformin; Simvastatin β-hydroxy acid; Valproic acid;

2.1. Introducció.

Com s'ha comentat al capítol anterior, les drogues d'abús i els seus metabòlits, es troben presents en les aigües residuals i superficials a uns nivells de concentració de l'ordre de ng/L o pocs µg/L; per tant, la seva determinació requereix l'ús de tècniques analítiques que siguin capaces d'arribar a detectar aquests baixos nivells i que siguin suficientment específiques.

Des que *Jones-Lepp et al., 2004*, van publicar un treball sobre la presència de metanfetamina i MDMA en aigües residuals dels USA, i *Zuccato et al., 2005*, un altre sobre la presència de cocaïna en el riu Po a Itàlia, la presència d'aquestes i d'altres drogues en aigües ha estat objecte d'estudi i s'han proposat mètodes per a la seva determinació. A la literatura hom hi pot trobar diversos treballs que recopilen els mètodes d'anàlisi més emprats entre els que cal citar els publicats per *Castiglioni et al. 2008*; *Baker and Kasprzyk-Hordern 2011 b*; *van Nuijs et al., 2011*; i *Pal et al., 2013* on es posa de manifest que per a l'anàlisi d'aquests compostos, hi ha una tendència generalitzada a utilitzar extracció en fase sòlida (SPE) i cromatografia de líquids acoblada a espectrometria de masses en mode tàndem.

Tanmateix, pocs articles parlen de la importància del primer pas, la presa i preservació de la mostra. La majoria es limiten a indicar el procediment utilitzat sense justificar ni entrar en detalls del perquè ho fan d'una determinada manera. Així per exemple, per analitzar aigües residuals en general es prenen mostres composades i recol·lectades durant 24h (*van Nuijs et al., 2011*) amb l'objectiu d'aconseguir mostres representatives de la quantitat total de substàncies que arriben a la depuradora durant un dia. Ara bé, en algunes ocasions es duen a terme preses de mostra puntual (*Hummel et al., 2006*, i *González-Mariño et al., 2012*), però tenint sempre en compte el temps de retenció de l'aigua a l'EDAR. Una altra alternativa es emprar mostrejadors passius (*polar organic Integrative samplers* (POCIS)) que ofereixen la possibilitat de mostrejar durant diversos dies una mateixa aigua i aconseguir així una major preconcentració. Per exemple, *Jones-Lepp et al., 2004* han

utilitzat aquests mostrejadors per analitzar metamfetamina i MDMA i *Yargeau et al., 2014*, l'han emprat per a l'estudi de la presència de drogues d'abús (cocaínics, amfetamines i opioides) en aigües residuals de dues depuradores canadenques.

En relació amb la presa de mostra es interessant comentar l'article publicat per *Ort et al, 2010*, on es fa una discussió molt completa de la importància i el disseny de la presa de mostra, on s'han de prendre en consideració tant la concentració de l'analit com els fluxos d'aigua. Així, aquests autors proposen tenir en compte les variacions en les concentracions dels analits en les mostres a analitzar per establir la freqüència del mostreig encara que això impliqui dur a terme un estudi previ per avaluar aquestes concentracions. Per altra banda, els fluxos de l'aigua determinen el tipus de mostreig. A més, proposen tenir en compte una sèrie de consideracions a l'hora de dissenyar una presa de mostra representativa entre les quals cal esmentar: (i) decidir el tipus de mostra (puntual o composta) en funció dels cabals, (ii) mesurar acuradament els cabals tant de l'aigua com a l'entrada del mostrejador, i que aquests siguin proporcionals; (iii) determinar la freqüència del mostreig en base a experiments previs. També cal (iv) triar la localització de la presa de mostra encara que normalment no es pot triar gaire i s'ha d'agafar la mostra on física i legalment es pot. De totes maneres cal trobar un lloc representatiu on es pugui instal·lar el mesurador del cabal i tenir present què és el que es vol mostrejar, per exemple, en el cas de depuradores i en funció de la informació desitjada, pot ser aconsellable mostrejar no a la entrada sinó després de la primera etapa de filtració, on la mostra contindrà menys fase particulada. Cal també (v), determinar la freqüència de la presa de mostra i la relació entre les mostres, que depenen del tipus d'estudi. Per exemple, si es volen comparar els valors a l'entrada i a la sortida d'una determinada depuradora, cal tenir en compte el temps de retenció del tractament que s'aplica. Si el que es vol es estudiar l'afectació d'un determinat desguàs (d'hospital o indústria, per exemple), a l'entrada d'una depuradora, es pot fer una mostra puntual. El que és sempre aconsellable, sigui quin sigui el cas, és repetir el mateix mostreig en diferents dies de la setmana, o diferents mesos, o estacions de l'any per veure quines són les variacions. A més (vi) sempre s'hauria d'incloure, en l'estudi final, un càlcul de la incertesa associada a la presa de mostra i (vii) s'ha de decidir si es vol mostrejar també la matèria particulada i els sòlids en suspensió. En molts estudis es filtra l'aigua abans de començar l'anàlisi, però si es vol tenir en compte la matèria particulada cal tenir-ho present en el mostreig. Finalment; (viii) cal avaluar si pot ser adequat utilitzar altres alternatives tecnològiques en el mostreig com per exemple mostrejadors passius (amb limitacions degudes als cabals), sensors en línia (de moment no n'existeixen de selectius per a compostos individuals) o d'altres.

En concret en el cas d'aigües residuals, es recomana prendre mostres composades de 24h ja que permeten avaluar la concentració mitjana diària i a més, expressar els resultats en quantitats totals per habitant (*loads*) en lloc de concentracions. En els estudis duts a terme amb aigües superficials (rius, llacs) o bé amb mostres d'aigua recollides durant o bé al final del tractament en les potabilitzadores (ETAPs), l'objectiu és estudiar la presència dels compostos i avaluar els percentatges d'eliminació. En aquest darrer cas, cal prendre les mostres puntuals, però respectant el temps de retenció de l'aigua a la planta per garantir que s'analitza la mateixa aigua, ja que la composició de l'aigua a l'entrada de la planta pot variar amb el temps. Això és el que han fet per exemple, *Huerta-Fontela et al, 2008*, en l'estudi de la presència de drogues d'abús (nicotina, cafeïna, cocaïnics i amfetamínics) a l'entrada d'una planta de potabilització i en totes les etapes del tractament aplicat en aquesta.

D'altra banda i una vegada presa la mostra s'han de prendre mesures per a la seva preservació. En aquest context, alguns autors (*Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011* i *Van Nuijs et al 2012*), han fet una avaluació crítica de la preservació de la mostra i de l'estabilitat d'algunes de les drogues estudiades en aquesta tesi, bàsicament com afecta la presència de sòlids, el temps, la temperatura i el pH. Aquests estudis han posat de manifest que el comportament varia considerablement segons els compostos i que per tant, convé avaluar l'estabilitat dels compostos a estudiar per establir les condicions de preservació de la mostra. Per exemple, la concentració d'heroïna i del seu metabòlit, 6-acetilmorfina entre d'altres, disminueixen en aigües residuals a pH=7 i en presència de sòlids. Per aquesta raó la major part dels autors recomanen filtrar l'aigua per eliminar els sòlids en suspensió. Per altra banda, dels estudis d'estabilitat en el temps (12h, 24h i 72h) i la temperatura (2°C, 4°C, 20°C) duts a terme per *Castiglioni et al 2006*, *Gonzalez-Mariño et al 2010*, *van Nuijs et al 2012* i *Baker et al 2012, 2014*, s'observa (veure taula 2.1) que la concentració de morfina, normorfina, codeïna i norcodeïna, augmenten al cap de 12h a una temperatura de 2°C (*Baker et al 2012, 2014^a*), i en canvi heroïna i 6-acetilmorfina disminueixen de concentració a les mateixes condicions. Tanmateix els resultats d'aquests estudis d'estabilitat varien d'uns autors a uns altres (taula 2.1), per exemple, per a la metadona alguns autors detecten un lleuger augment (72h 4°C, *Castiglioni et al 2006*; 12h 20°C, *van Nuijs et al 2012*), mentre que d'altres observen una disminució que pot arribar al 20%, (24h 4°C, *Gonzalez-Mariño et al 2010*). El que se'n treu d'aquests estudis es que en general, cal emmagatzemar a temperatura baixa i el menys temps possible, o si es pot fer un estudi d'estabilitat en cada cas, i en el cas d'aigües residuals amb alt contingut de sòlids en suspensió, filtrar la mostra.

Taula 2.1 Estabilitat de les drogues d'abús en aigua residual

Droga	Referència	estabilitat
morfina	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	+48.9%
normorfina	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	+4.3%
codeïna	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	+12.4%
norcodeïna	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	+4.5%
heroïna	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	-79.4%
6-acetilmorfina	<i>Castiglioni et al 2006^b</i>	-14%
	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	-12.0%
	<i>van Nuijs et al 2012^d</i>	-20%
metadona	<i>Castiglioni et al 2006^b</i>	+5%
	<i>Gonzalez-Mariño et al 2010^c</i>	-20%
	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	-6.7%
	<i>van Nuijs et al 2012^d</i>	+9%
EDDP	<i>Castiglioni et al 2006^b</i>	+2%
	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	-12.8%
	<i>van Nuijs et al 2012^d</i>	-5%
fentanil	<i>Baker et al 2012, 2014^a</i>	-8.3%
THC-COOH	<i>Castiglioni et al 2006^b</i>	-8%
	<i>Gonzalez-Mariño et al 2010^c</i>	+2%

^a %Estabilitat a les 12h a 2°C. ^b 72h 4°C pH 7.5. ^c 24h 4°C pH 7.5. ^d 12h 20°C pH 7.5

A la literatura es proposen diferents filtres per fer aquest pretractament. Els més usats per aigües residuals són els filtres amb microfibra de vidre (*Castiglioni et al. 2006; Hummel et al. 2006; Huerta-Fontela et al 2007; Mari et al. 2009; Van Nuijs et al. 2009; Berset et al., 2010; González-Mariño et al. 2010; Terzic et al.,2010; Vázquez-Roig et al. 2010; Baker et al. 2011; Martínez-Bueno et al. 2011;Nefau et al. 2013; Repice et al. 2013; Senta et al. 2013*), els filtres de membrana de niló (*Postigo et al.,2008b; Valcárcel et al. 2012; Mendoza et al. 2014*) o els filtres amb membrana de cel·lulosa (*González-Mariño et al 2010, Fedorova et al. 2013*). Altres autors, en comptes de filtrar centrifuguen la mostra (*Chiaia et al 2008; Bijlsma et al., 2009; Hernández et al.2011*). Ara bé, en general, cap autor explica el perquè d'utilitzar un o altre filtre, i es limiten a indicar quin utilitzen o si n'utilitzen algun. Pel que fa al filtre més emprat, el de microfibra de vidre, és el més comú, econòmic i de porus més gran, la qual cosa permet filtrar bé mostres brutes, com les d'entrada a depuradores. Si es requereix filtrar amb filtres de porus més petit, cal fer-ho en diverses

etapes (primer porus gros i anar disminuint). En general però, atès que la majoria dels autors utilitzen SPE per a la extracció i preconcentració en tenen suficient amb una filtració amb microfibra de vidre. Una etapa addicional de pretractament de mostra que es requereix en el cas d'emprar sorbents d'intercanvi iònic per a l'extracció, és l'acidificació de l'aigua normalment fins a un valor de pH de 2 (Castiglioni et al. 2006; Bijlsma et al., 2009; Van Nuijs et al. 2009; González-Mariño et al 2012; Baker et al. 2011; Hernández et al.2011; Senta et al. 2013). Aquesta acidificació és necessària per garantir que els analits es trobin en forma iònica.

La tècnica d'anàlisi emprada amb més freqüència a la literatura per a l'anàlisi de les drogues d'abús en aigües és la cromatografia de líquids acoblada a l'espectrometria de masses (LC-MS i LC-MS/MS). Tanmateix, alguns estudis especialment orientats a l'anàlisi forense utilitzen la cromatografia de gasos acoblada a l'espectrometria de masses (GC-MS) (Mari et al., 2009; González-Mariño et al., 2010). A les taules 2.2, 2.3 i 2.4, s'inclou informació sobre els mètodes d'anàlisi descrits a la literatura per a la determinació de les drogues d'abús estudiades en aquesta tesi en diferents tipus d'aigua (aigües residuals, aigües superficials i aigües potables o subterrànies) on es detalla el mètode d'extracció i informació sobre les condicions cromatogràfiques i d'espectrometria de masses.

L'anàlisi de les drogues en les mostres d'aigua requereix una etapa prèvia d'extracció, preconcentració i neteja de l'extracte (*clean-up*), necessària per minimitzar els efectes de la matriu i prevenir problemes cromatogràfics. La metodologia més emprada segons els reculls bibliogràfics és l'extracció en fase sòlida (SPE) (Castiglioni et al. 2008; Pal et al.,2013). Avui dia, la major part de les metodologies utilitzen *off-line* SPE, encara que alguns autors proposen l'extracció *on-line* SPE (Postigo et al., 2008b; Valcárcel et al.,2012; Repice et al., 2013) que presenta l'avantatge de permetre una elevada automatització del procés amb molt poca manipulació de la mostra, la disminució del volum de mostra inicial i dels dissolvents i redueix el temps d'anàlisi obtenint una bona reproductibilitat. Ara bé, també té desavantatges, entre els que cal destacar el no disposar de l'extracte (per si es vol re-analitzar). Fedorova et al., 2013, proposen emprar SPE en línia amb la cromatografia de líquids (*in-line* SPE-LC), fent la preconcentració dels analits en un columna de fase invertida, però de diàmetre de partícula gran (12 µm) prèvia a la columna de separació cromatogràfica. En aquest cas cal optimitzar bé les condicions d'elució dels analits en cada una d'elles per permetre la preconcentració i anàlisi en un sol pas. La diferència principal entre els sistemes *on-line* SPE i *in-line* SPE és que, en el primer cas, la SPE es considera una etapa prèvia, és a dir cal condicionar el cartutx, introduir la mostra i eluir els analits, en canvi l'*in-line* SPE-LC, és més una cromatografia de líquids d'injecció de grans volums amb dues columnes, la

primera de diàmetre de partícula gran (p. ex: 12 µm) i la segona l'analítica. El principal avantatge és que el temps total de l'anàlisi en *in-line* SPE-LC és inferior, degut precisament a que no cal condicionament i elució, però en contra no es neteja l'extracte (“*clean-up*”).

Els adsorbents més emprats en *off-line* SPE són els basats en fases polimèriques. I d'aquests, el que s'utilitza amb més freqüència és l'Oasis HLB (Waters), (Taules 2.1, 2.2 i 2.3, al final d'aquest apartat), o també les fases mixtes, polimèriques amb intercanvi iònic, com l'Oasis MCX (Waters). Alguns autors (*Senta et al. 2013*) utilitzen una combinació de dues fases Oasis MCX i Strata NH2 (Phenomenex), per a l'extracció dels cannabinoides i justifiquen l'ús d'un segon cartutx de SPE per eliminar les interferències (*clean-up*) degudes als compostos aniònics (com per exemple alquil benzens sulfonats lineals) que provoquen un augment de la supressió iònica. Quan es treballa en *on-line* l'adsorbent més emprat és el PLRP-S (Spark Holland) (*Postigo et al., 2008b, Valcárcel et al., 2012, Jurado et al., 2012*), que és molt semblant a l'Oasis HLB, segons les especificacions del producte.

En general, el criteri per escollir els adsorbents a utilitzar en SPE, es basa en les recuperacions obtingudes per als analits a estudiar i la simplicitat del mètode. Així per exemple, *Postigo et al., 2008b*, en l'establiment d'un mètode *on-line* SPE proven tres tipus de cartutxos (Oasis HLB, PLRP-s, Hysphere C18 EC), i trien PLRP-s, en base a les recuperacions obtingudes. *Van Nuijs et al 2009*, van avaluar dos tipus de cartutxos, Oasis HLB i MCX i van escollir l'Oasis MCX, ja que en les condicions emprades, tenien una recuperació millor que amb Oasis HLB per l'EDDP, i a més, per la resta de compostos les recuperacions eren acceptables (>85%). Aquest cartutx també va ser l'escollit per *Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011*, però en aquest cas va ser perquè obtenien millors recuperacions per l'ecgonidina (que analitzaven també junt a opioides i cannabinoides en un mètode multiresidu), i sobretot perquè amb Oasis MCX en treballar a pH àcid (aprox. 2), van trobar millora en l'estabilitat dels compostos en la mostra, i perquè en l'etapa de neteja del cartutx es poden eliminar fàcilment les interferències dels compostos àcids i neutres. En canvi, *Vázquez-Roig et al., 2010*, proposen emprar Oasis HLB ja que obtenen una bona recuperació per a l'ester metílic de l'ecgonina i perquè el mètode és més simple (no cal acidificar) encara que per alguns compostos (6-acetilmorfina, morfina, THC i THC-COOH) no van obtenir bones recuperacions.

Encara que la major part dels autors empenen una etapa de preconcentració, alguns (*Martínez Bueno et al, 2011*) proposen injectar directament l'aigua després de filtrar-la. Amb això aconseguen reduir molt el temps d'anàlisi i el consum de dissolvents, encara que cal tenir equips molt sensibles ja que els límits de detecció augmenten considerablement. Per

exemple si hom compara els mètodes que fan preconcentració amb Oasis HLB o MCX, els LOQs es troben entre els 0.6 i els 40 ng/L mentre que en eliminar aquesta etapa *Martínez Bueno et al, 2011* troben LOQs entre 60 i 90 ng/L, és a dir més alts, per als mateixos compostos. Aquests autors, utilitzen un espectròmetre de masses híbrid quadrupol-trampa iònica lineal (QqQ-LIT), que els permet utilitzar mètodes avançats d'adquisició de dades en funció de la informació obtinguda (IDA “*information-dependent acquisition*”). Els LOQs calculats amb Aquest mode d'adquisició eren un ordre de magnitud menor que l'obtingut per SRM, i això els va permetre millorar els LOQs .

Pel que fa referència a les recuperacions, aquestes depenen de l'adsorbent utilitzat i del tipus d'aigua a analitzar. A mode d'exemple, a la figura 2.1. es mostren els intervals entre les mitjanes i els 75% percentil dels percentatges de recuperacions obtingudes en aigües residuals, recollides a l'entrada i sortida de depuradores, d'algunes drogues d'abús estudiades en aquesta tesi (taula 2.2. al final d'aquest apartat), i els valors màxims i mínims d'aquestes. El parèntesi al costat del nom, indica el nombre de referències que s'han tingut en compte a l'hora de fer els càlculs a l'entrada – sortida de les EDARs. Així per exemple, en el cas de la morfina a l'entrada de les EDARs la mitjana de recuperació és del 74% (10 referències), mentre que el percentil al 75% és de 98%, la qual cosa ens indica que hi ha un 25% de les referències que donen unes recuperacions més baixes que la resta.. La mitjana de les recuperacions es troba entre el 74% (morfina) i el 94% (6-ACM) i el 75% percentil entre el 45% (heroïna) i el 106%(6-ACM) a les entrades d'EDARs, la qual cosa ens indica que la majoria dels autors donen unes recuperacions acceptables a excepció de l'heroïna que presenta una major dispersió de dades. Això podria ser degut a la transformació de l'heroïna en 6-ACM, durant el procés d'extracció. Precisament per l'heroïna, *Baker and Kasprzyk-Hordern, 2011*, indiquen que es descomposa en medi bàsic durant l'etapa de evaporació i això podria justificar les baixes recuperacions d'aquesta droga. Com és d'esperar per tractar-se d'una matriu més neta, les recuperacions en les aigües residuals a les sortida de les EDARs són en general més elevades (82-105%).

En el cas d'aigües superficials (taula 2.3), l'interval global de recuperacions està entre 22% i 138%. Tot i que sembla també molt ampli, quan es mira droga per droga es veu que els intervals de recuperacions són menors que en el cas de les aigües residuals. Per exemple: morfina 75-95% (*Vàzquez-Roig et al, 2010 - Berset et al 2010 i Baker et al, 2011*), codeïna 76-113% (*Hummel et al, 2006 - Vàzquez-Roig et al, 2010*), metadona 63-122% (*Valcárcel et al, 2012;- Berset et al 2010*); EDDP 38-138% (*Baker et al, 2011 - Berset et al 2010*); o THC-COOH 57-91% (*Valcárcel et al, 2012 – Bijlsma et al 2009*). Aquest fet es

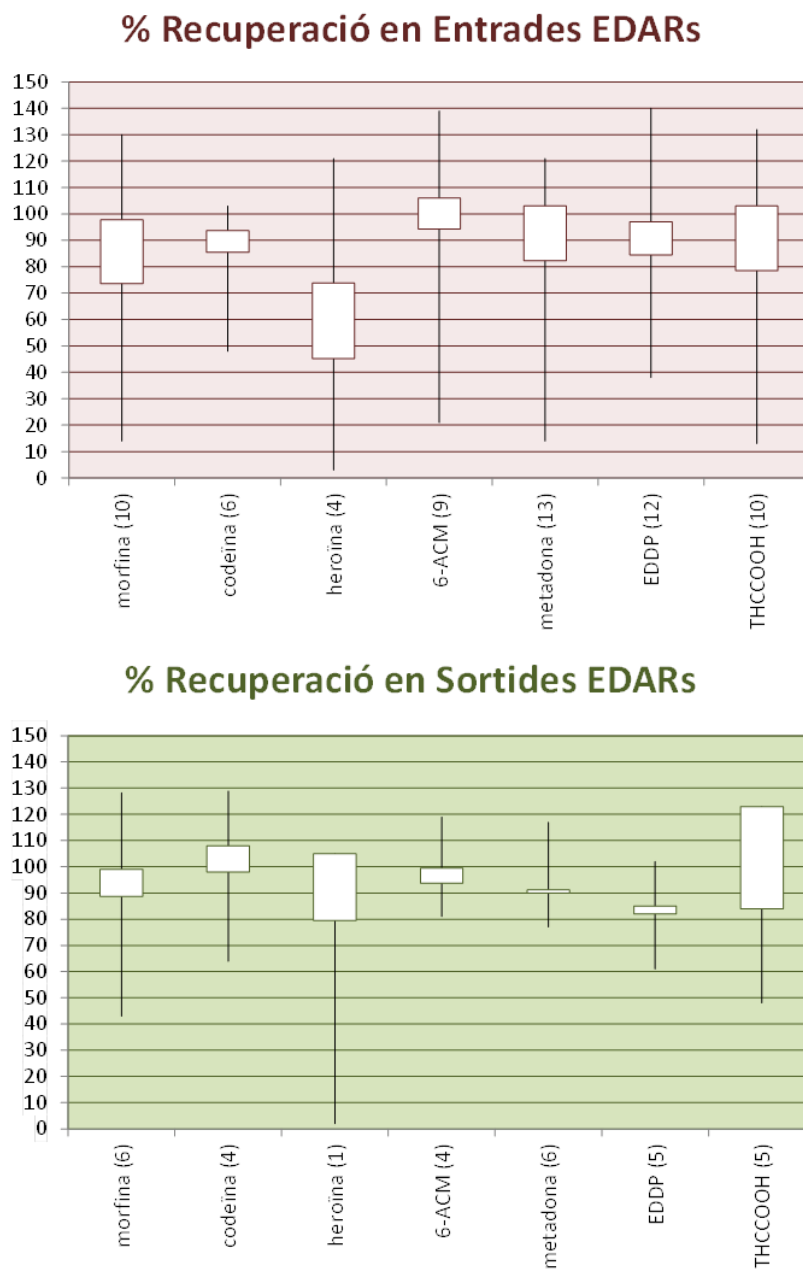


Figura 2.1. Interval·s entre mitjana i 75% percentil, màxims i mínims de les recuperacions (%R) a l'entrada i sortida d'EDARs (dades taula 2.2.)

compreensible ja que en les aigües residuals, molt més brutes i molt més variables pel que fa a presència d'altres contaminants, es poden donar més interferències i més competència entre compostos a l'hora de ser adsorbits/desadsorbits en els rebliments de la SPE. Tanmateix, l'obtenció de bones recuperacions en aquest tipus d'aigües, ens indica que en general es fa una bona neteja de l'extracte. En relació a les recuperacions obtingudes en l'extracció de les drogues estudiades en aquesta tesi d'aigües potables (a la sortida de

potabilitzadores i aixetes) i subterrànies, només es tenen dades per un nombre reduït de compostos (taula 2.4.).

En general, els autors calculen les recuperacions dels analits, independentment de si utilitzen o no patrons interns marcats isotòpicament per a la quantificació, per tal d'avaluar la robustesa del mètode, i si cal, establir estratègies per millorar-lo. Així per exemple, busquen el millor cartutx per la SPE, la temperatura òptima d'evaporació per minimitzar pèrdues, el solvent adequat d'elució que permet una millor neteja de l'extracte (sobretot en cas de matrius més brutes com les d'aigües residuals), tot això en base als valors obtinguts de recuperacions per cada analit en cada prova.

Pel que fa referència a la separació cromatogràfica de les drogues d'abús estudiades en aquesta tesi, aquesta es duu a terme molt majoritàriament per cromatografia de líquids emprant columnes de fase invertida de C₁₈ amb rebliments de diàmetre de partícula de 2.5 a 5 µm (taules 2.2., 2.3. i 2.4.) encara que cada cop més s'utilitza la UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) amb columnes de diàmetre de partícula de rebliment menor de 2 µm (*Bijlsma et al., 2009; 2011 Baker et al., 2011; Hernández et al., 2011*). La separació es duu a terme normalment en mode gradient i amb fases mòbils, que utilitzen com a component orgànic, acetonitril o metanol a vegades amb un petit percentatge d'àcid (0.05-0.1% d'àcid acètic o fòrmic), i com a fase aquosa tampó àcid fòrmic/formiat amònic o àcid acètic/acetat amònic (1-50 mM) o aigua acidificada amb àcid fòrmic o acètic (0,05-0,1%), per afavorir la ionització dels compostos en mode de ionització positiva (Taulas 2.1; 2.2 i 2.3). No obstant, *Castiglioni et al, 2006 i Gonzalez-Mariño et al., 2012*, proposen fases mòbils amb característiques més bàsiques per millorar la separació entre opioides i cannabinoides, i afavorir la ionització d'aquests darrers.

En general, en l'acoblament LC-MS, la ionització dels analits es duu a terme amb electrospai (ESI), i normalment en mode positiu (ESI+), encara que els cannabinoides tenen bona resposta en ambdós modes de ionització. Ara bé, es conegut que un dels problemes que presenta la ionització en electrospai, és que és molt susceptible als efectes matriu, quan l'analit coelueix amb d'altres components de la matriu, i pot ocasionar un augment o una disminució del senyal de l'analit, sobretot en matrius brutes com les d'aigua a l'entrada de depuradores. Així, per exemple, *Hummel et al 2006*, van trobar una disminució del senyal de la metadona del 80% i del 40% per la morfina, quan van estudiar els efectes de la matriu en mostres d'aigua residual a l'entrada d'una depuradora. Així mateix, *Postigo et al 2008*, en estudiar els efectes sobre les resposta de drogues d'abús i els respectius patrons interns deuterats, en aigües d'entrada de depuradores van trobar que per tots els opioides i

cannabinoides estudiats, hi havia una disminució del senyal d'entre un 47% (THC-OH) i un 86% (morfina) .

Pel que fa referència als espectròmetres de masses utilitzats en l'anàlisi de les drogues d'abús, la major part dels autors utilitzen un triple quadrupol (Taules 2.1,2.2 i 2.3) encara que també s'han utilitzat instruments híbrids quadrupol-trampa iònica (QLIT) (*Postigo et al., 2008b; Martínez Bueno et al., 2011; Valcárcel et al., 2012*), quadrupol-temps de vol (QTOF) (*Hernández et al., 2011; Gonzalez-Mariño et al., 2012*), i més recentment, quadrupol-Orbitrap (*Fedorova et al., 2013*) treballant tots en tàndem i SRM (*Selected reaction monitoring*). Amb aquest mode d'adquisició, s'obté una bona sensibilitat i selectivitat i es garanteix l'acompliment de la norma europea per mètodes analítics basats en LC-MS/MS (2002/657/EC), ja que monitoritzant dues transicions, una per quantificar i l'altre per confirmar l'analit, s'obtenen els quatre punts d'identificació (IP), que demana aquesta norma per poder identificar els compostos per aquesta tècnica.

Pel que fa als ions monitoritzats en les SRM, aquests depenen de l'estructura de la molècula, de l'espectròmetre de masses que s'utilitza, de l'energia de col·lisió aplicada, de la fase mòbil, de la font de ionització i del mode de ionització. Això, es posa clarament de manifest en aquells compostos amb un espectre amb molta fragmentació. Aquest és el cas de la morfina (figura 2.2), que alguns autors quantifiquen seguint la transició m/z 286>201 ($[M+H]^+ > [M+H-85]^+$) (*Castiglioni et al., 2006; Hummel et al., 2006; Martínez Bueno et al., 2011; Gonzalez-Mariño et al., 2012; Repice et al., 2013*), d'altres la m/z 286>152 ($[M+H]^+ > [M+H-134]^+$) (*Postigo et al., 2008b; Berset et al., 2010; Baker et al., 2011; Valcárcel et al., 2012; Nefau et al., 2013*), o la m/z 286>165 ($[M+H]^+ > [M+H-121]^+$) (*Terzic et al., 2010; Vázquez-Roig et al., 2010; Senta et al., 2013*), i d'altres la m/z 286>268 ($[M+H]^+ > [M+H-18]^+$) (*Bones et al., 2007*). Segons *Castiglioni et al., 2008*, l'ió m/z 201 és majoritari quan s'utilitzen trampes iòniques i s'explica per pèrdua de CH_2CHNCH_3 i CO, en canvi l'ió m/z 165 és majoritari en els triples quadrupols i s'explica per les pèrdues consecutives de dues molècules d'aigua, CO i CH_2CHNCH_3 . L'ió m/z 268, és genera per la pèrdua d'aigua i aquest ió en dues etapes pot perdre CH_2CHNCH_3 , aigua i CO passant a donar l'ió m/z 165 Els altres opioides d'estructura semblant a la morfina. (normorfina, codeïna, norcodeïna, heroïna, 6-acetilmorfina) presenten també un comportament semblant.

En canvi d'altres compostos, com la metadona o el seu metabòlit EDDP, mostren un espectre amb pocs ions fragment i molt intensos, la qual cosa fa que la major part dels autors quantifiquin seguint la mateixa transició, m/z 310> 265, que prové de la pèrdua de

$N(CH_3)_2$ en el cas de la metadona, i la m/z 278>234, a partir de pèrdues consecutives d'un metil i un etil (figura 2.3).

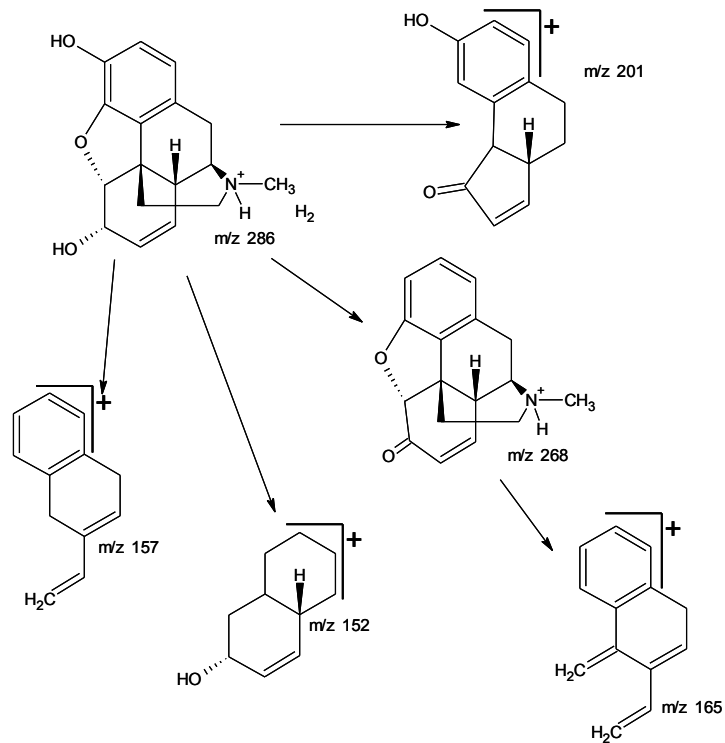


Figura 2.2 Principals ions producte de l'espectre de la morfina

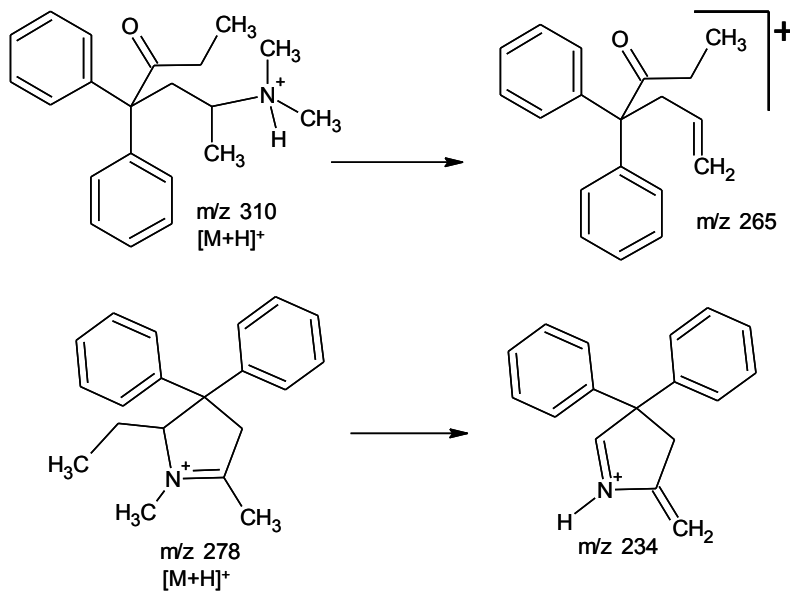
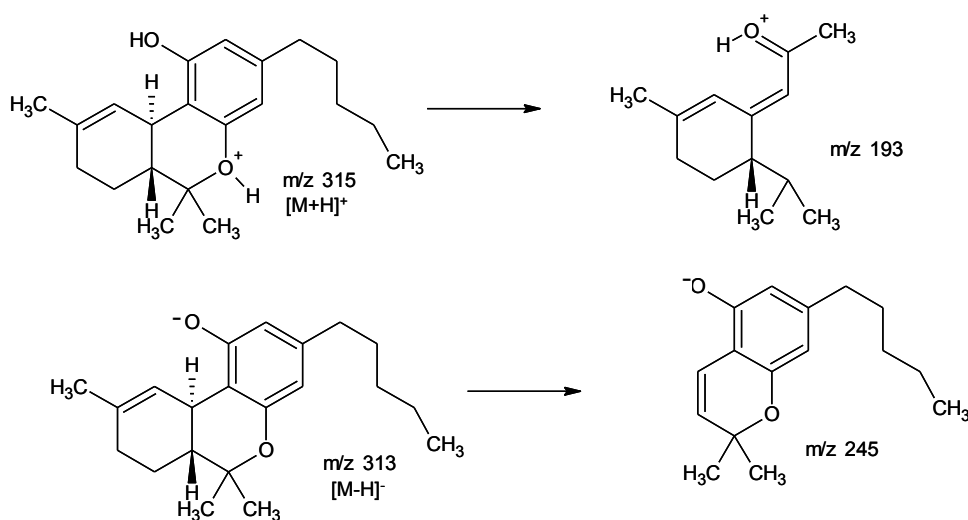


Figura 2.3. Principals ions producte de l'espectre de la metadona i EDDP

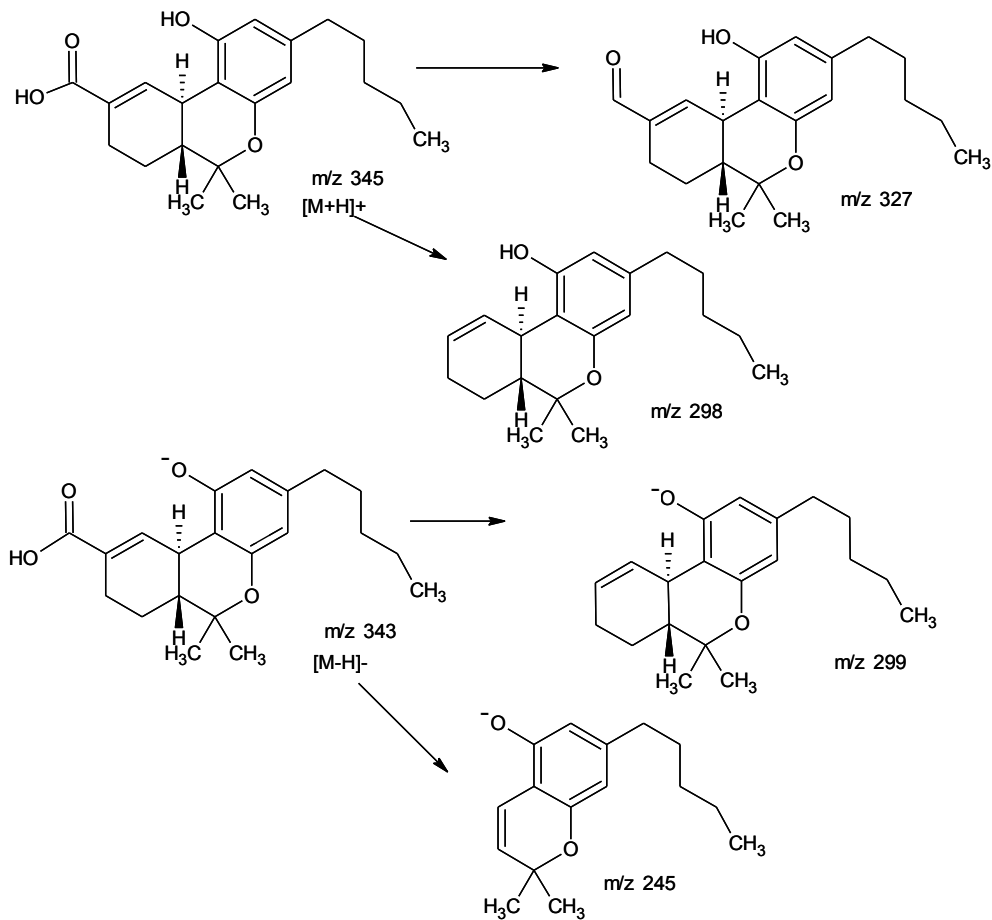
Pel que fa referència als cannabinoides, com s'ha comentat abans, alguns autors utilitzen ionització en mode positiu i d'altres en mode negatiu, però en general entre autors que ionitzen amb el mateix mode hi ha unanimitat. Així, pel THC els autors que ionitzen en mode positiu monitoritzen per quantificar la transició m/z 315>193 (Vázquez-Roig et al.,

2010) on l'ió producte s'obté a partir de l'ió $[M+H]^+$ per pèrdua de $C_8H_{18}O$ amb diversos passos intermedis que impliquen l'obertura de l'anell fenòlic i pirànic, (veure figura 2.4). En mode negatiu es monitoritza la transició m/z 313>245 (Postigo et al., 2008b; Valcárcel et al., 2012; Gonzalez-Mariño et al., 2012), on l'ió producte prové de la pèrdua del mateix grup a partir de l'ió precursor $[M-H]^-$ i obertura del ciclohexè (figura 2.4.). En el cas del THC-COOH, els autors que treballen en mode positiu segueixen la transició m/z 345>327 que correspon a una pèrdua d'aigua (Bijlsma et al., 2009; Berset et al., 2010; Terzic et al., 2010; Vázquez-Roig et al., 2010), a excepció de Fedorova et al., 2013, que proposen la transició m/z 345>298 $[M-COOH]^+$ (veure figura 2.4). Pel THC-COOH en mode negatiu normalment es monitoritza la transició m/z 343>299 que correspon a la pèrdua del grup àcid a excepció de Senta et al., 2013 que utilitzen la transició m/z 343>245 $[M-C_5H_6O_2]^-$. Pel que fa al THC-OH en mode negatiu s'utilitza la transició m/z 329>311 (Postigo et al., 2008b; Valcárcel et al., 2012; Senta et al., 2013), que correspon a la pèrdua d'aigua a partir de la molècula desprotonada (veure figura 2.4). En general els LOQs del THC-COOH (taules 2.2, 2.3. i 2.4) obtinguts amb instrument de triple quadrupol en ESI- més baixos (1.2-4.9 ng/L) que en mode ESI+, és a dir que la pèrdua del grup COO^- sembla estar afavorida davant de la pèrdua d'aigua (molècula neutra) en mode positiu.

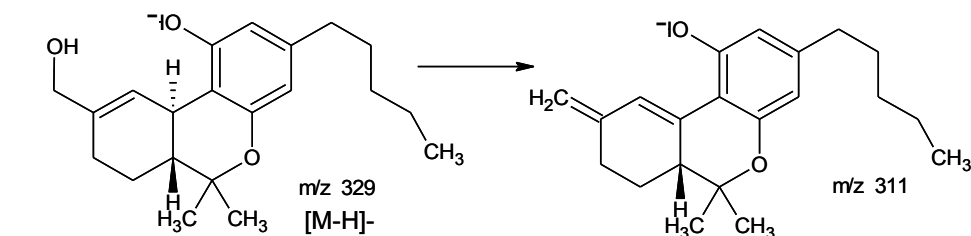
Actualment, l'ús d'espectròmetres de masses d'alta resolució que permeten la mesura de la massa exacta, està adquirint importància ja sigui per la possibilitat d'augmentar les garanties en la identificació dels compostos, com perquè facilita la identificació de compostos desconeguts, tot i que per quantificar les mostres, els analitzadors de triple quadrupol treballant en mode SRM és la tècnica més utilitzada (taules 2.2, 2.3. i 2.4). Per



THC ionització en positiu i en negatiu



THC-COOH ionització en positiu i en negatiu



THC-OH ionització en negatiu

Figura 2.4 .Principals ions producte de l'espectre dels cannabinoides

exemple. *Boix et al., 2014*, han utilitzat un Q-TOF per estudiar els productes de degradació del cannabinoides THC-COOH i han identificat 19 subproductes de degradació (1 d'hidròlisi, 8 de cloració, 3 de exposició a radiació ultravioleta (UV) i 7 de fotodegradació solar). Posteriorment, però, per analitzar aquests compostos de degradació en mostres provinents de depuradores van utilitzar un triple quadrupol. Els resultats obtinguts, els va permetre proposar el tractament amb radiació UV com a mètode més eficaç per eliminar el THC-COOH. També *Fedorova et al., 2013*, comparen les dades obtingudes (LOQs, recuperacions

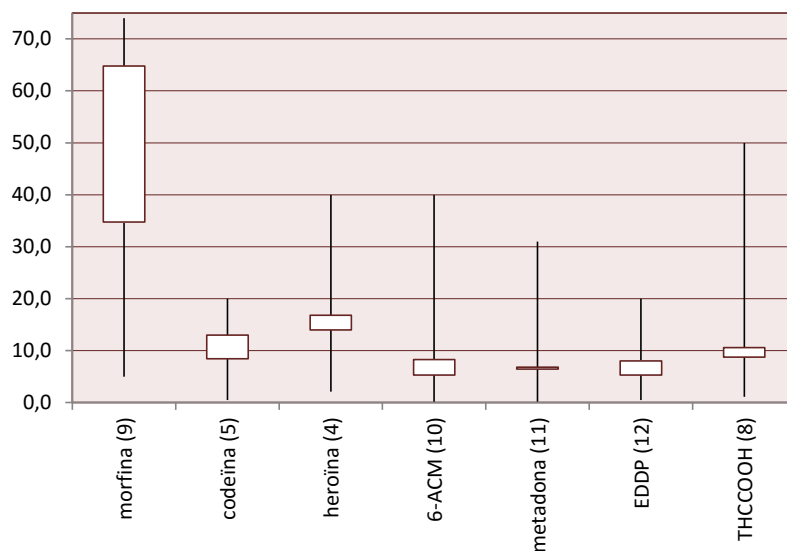
i efecte matriu) en un triple quadrupol (MS/MS) i en un quadrupol-Orbitrap (utilitzat en dos modes d'adquisició: *full scan (HRFS)* i *targeted* o *product scan (HRPS)*). Els resultats que van obtenir, varien molt segons la molècula. Per exemple per la codeïna, els autors observen disminució de senyal per efecte matriu en els dos instruments, però aquesta és més acusada en el triple quadrupol que en l'Orbitrap i per tant el LOQ del triple quadrupol és superior. Però en el cas de la metadona, aquesta experimenta un comportament mixte amb un augment de senyal amb el triple quadrupol i una disminució en els dos modes de treball bastant similar en l'Orbitrap; mentre que el seu metabòlit EDDP segueix el mateix comportament d'augment de senyal amb els dos instruments.

Per a la quantificació i per compensar els efectes de la matriu i controlar les recuperacions dels analits en l'etapa de SPE, la majoria de metodologies introdueixen homòlegs marcats isotòpicament com a patró intern abans de l'extracció ("*surrogate*"). D'aquesta manera quantifiquen per dilució isotòpica, és a dir que s'aprofita que l'efecte matriu del compost nadiu i el marcat és el mateix i per tant la quantificació queda automàticament corregida.

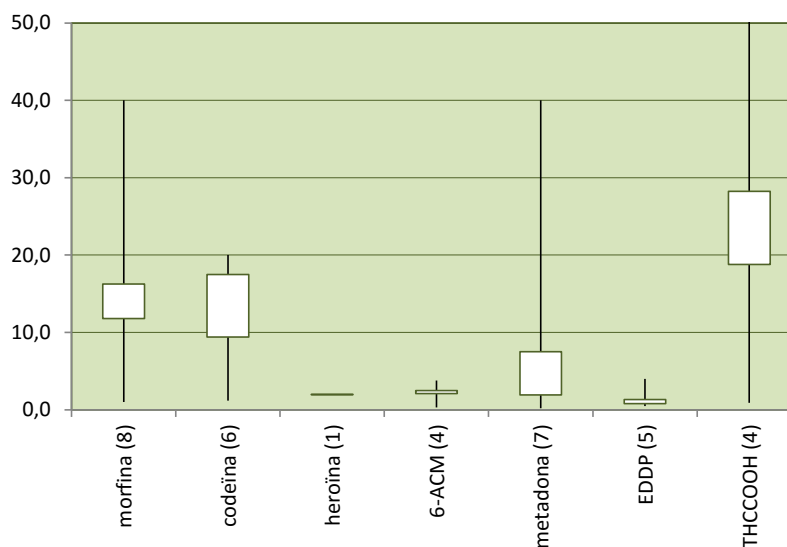
A les taules 2.2, 2.3. i 2.4 s'inclouen també els límits de quantificació (LOQs) dels mètodes descrits a la literatura i a la figura 2.5 es mostren a tall de resum, l'interval entre la mitjana i el 75% percentil dels LOQs en aigües a l'entrada i la sortida d'EDARs per a diversos compostos dels estudiats en aquesta tesi, així com els corresponents màxims i mínims trobats a la bibliografia. No s'han considerat els resultats de *Martínez Bueno et al., 2011*, que utilitzen injecció directa sense preconcentració, ja que els seus valors són considerablement superiors per totes les drogues que analitzen als obtinguts pels altres autors (50 cops per sobre, per exemple per la metadona respecte al valor trobat per *Senta et al., 2013*). Tampoc s'han tingut en compte els valors de LOQs publicats per *Bijlsma et al., 2009* (4000-800 ng/L) i *Berset et al 2010* (100 ng/L), pel THC-COOH, per desviar-se molt de la resta. Aquesta figura posa de manifest que en general s'observa un interval relativament ampli de LOQs tot i la semblança del mètodes utilitzats. Per exemple per la morfina es troben valors de mitjana de 35 ng/L i per al 75% percentil de 65 ng/L a entrada d'EDARs. Això probablement es pot explicar per la diferent naturalesa de les aigües tot i que en aquest cas semblen ser els valors trobats per *Bones et al., 2007* (74 ng/L) i *Baker et al., 2011* (64,8 ng/L), que fan augmentar la diferència entre la mitjana i el 75% percentil. Pel que fa referència a les variacions en els LOQs per cada una de les drogues estudiades, en aigües superficials, subterrànies o potables, aquestes són menors, com és d'esperar degut principalment a les menors interferències de les matrius. En particular i a tall de comparació, els valors de LOQs, en aigües superficials més baixos són els que van trobar *Vázquez-Roig*

et al., 2010 entre 0.03 i 5.13 ng/L, així per exemple per la codeïna (0,03ng/L) és 16 cops més baix que el LOQ més baix trobat en aigües residuals per aquesta mateixa droga (0,5 ng/L *Senta et al.*, 2013).

LOQs en Entrada EDARs



LOQs en Sortides EDARs



En parèntesi al costat del nom, el nombre de referències utilitzades en el càlcul

Figura 2.5. Interval·s entre mitjana i 75% percentil, màxims i mínims del LOQs a l'entrada i sortida d'EDARs (dades taula 2.2.)

En relació amb la incertesa dels mètodes publicats, tan sols hi ha un article que hi faci referència i és el de *Castiglioni et al 2013*, en el que es fa una avaluació integral de la

incertesa associada a la determinació de drogues en tot el procés metodològic utilitzat per calcular el consum de drogues d'abús a partir de les concentracions obtingudes en aigües residuals, considerant cinc etapes:

Mostreig: incertesa entre 5-10%, depenent de si en el moment de fer el mostreig s'ha tingut en compte la proporcionalitat en el cabal, volum o el temps, la freqüència de l'anàlisi (depenent de les fluctuacions de cada droga), i altres característiques del mostreig com per exemple, filtrar la mostra.

Anàlisi: Pel que fa a la qualitat analítica incerteses entre 1% i 34%, depenent de si la metodologia utilitza patrons interns marcats, controls interns de la qualitat, estimacions de LODs i LOQs, i confirmació de positius. D'altra banda la incertesa en l'anàlisi calculada a partir de les dades obtingudes en un exercici interlaboratori, utilitzant els mateixos patrons i mostres, és d'entre el 6% i el 26%.

Estabilitat de les drogues: la incertesa associada <10%, quan es té en compte el temps de residència de l'aigua en el sistema de sanejament a l'hora de prendre la mostra composta de 24H , és a dir que l'aigua a l'entrada és la mateixa que la presa a la sortida, i a més s'hagi emmagatzemat després d'acidificar a pH de 2 i s'hagi guardat la mostra o bé els cartutxos just després de passar-hi la mostra a -20°C.

Càlculs del consum: per exemple en el cas de la cocaïna la incertesa és 26%, tenint en compte que els percentatges d'excreció depenen de la ruta d'administració, del nombre de subjectes i de la freqüència d'ús.

Estimació de la població: incertesa entre 7% i 55%, depenent si s'han tingut en compte les característiques hidroquímiques, el cens de la població, etc.

En resum, la incertesa pot arribar a ser del 55% en el cas de la estimació del consum per part de la població si no es tenen en compte aquests requeriments.

Taula 2.2. Mètodes d'anàlisi per cannabinoides i opioides en aigües residuals.

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
Castiglioni et al., 2006	Morfina 6-Acetil morfina Metadona EDDP	SPE: Oasis MCX, 60 mg	Xterra MS C18, 100x2.1mm, 3.5µm	A: àc acètic 0.05% B: AcN 200 µl/min.	QqQ ESI + MS/MS	88±6.6% 106±4.5% 105±3.1% 88±3.2%	75±3.4% 93±7.6% 90±2.0% 85±4.3%	3.95 5.3 1.14 1.64	3.2 3.8 1.75 0.6
	THC-COOH								
Hummel et al., 2006	Morfina Codeïna Metadona	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Synergi Polar- 80Å 150x3 mm 4µm	A: AcN B: 10 mM formiat amònic / àc. fòrmic pH 4 0.5 ml/min.	QqQ ESI + MS/MS	29±1% 48±2% 44±2%	43±8% 64±6% 77±2%	10 20 -	5 10 -
Bones et al., 2007	Morfina Heroïna Metadona EDDP	SPE: Strata-XC 200 mg	Onyx monolític C-18 200 x 3mm 2µm						

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
Chiaia et al., 2008	Metadona	Centrifugació 7100 rpm	Atlantis T3 C18 150x4.6mm5µm	A: àc acètic 0.1% en 5% MeOH B: AcN	QqQ ESI+ MS/MS	-		2.5	
Postigo et al., 2008b	Morfina Heroïna 6-acetil- morfina	On-line SPE: PLRP-S	Purospher StarRP-18 end- capped 125x2.0mm 5µm	A: H ₂ O B:AcN 0.3 ml/min.	QTrap ESI + MS/MS	14% 22% 21%	- - -	5.97 2.07 5.17	- - -
	THC THC-COOH THC-OH	On-line SPE: Oasis HLB			QTrap ESI - MS/MS	9% 13% 37%	- - -	3.37 1.13 1.45	- - -
Bijlsma et al., 2009	THC-COOH	SPE: Oasis MCX, 150 mg	Aquity BEHC18 50x2.1 mm, 1.7µm	A: MeOH B: 5mM acetat amònic 0.1% àc. Fòrmic 0.3 mL/min.	QqQ MS/MS ESI+	72%	48%	4000	800
Van Nuijs et al., 2009	6-acetil- morfina Metadona EDDP	SPE: Oasis MCX, 60 mg	Luna HILIC 150x3 mm 5µm	A: 5 mM acetat amònic B: AcN 0.4 mL/min.	QqQ ESI+ MS/MS	92±4% 103±3% 61±8%	- - -	2 1 1	- - -

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columnna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
<i>Berset et al., 2010</i>	Morfina	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Hydro RP C18 150x2 mm 2.5µm	A: 2mM formiat amònic / 0.2% àc. Fòrmic B: Acetonitril 0.3 ml/min.	QqQ ESI+ MS/MS	99%	-	20	-
	Codeïna					86%	-	20	-
	6-acetil- morfina					118%	-	20	-
	Metadona					98%	-	20	-
	EDDP					79%	-	20	-
	THC-COOH					92%	-	100	-
<i>Terzic et al., 2010</i>	Morfina	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Synergi Polar- 80Å 150x3 mm 4µm	A: H ₂ O àc acètic 0.1% B: MeOH àc acètic 0.1% 0.4 ml/min.	QqQ ESI+ MS/MS	102%	100%	4.1	2
	6-acetil- morfina					91%	96%	2.0	0.2
	Metadona					81%	87%	0.8	0.7
	EDDP					95%	79%	1.1	0.5
	THC-COOH					81%	123%	20	53
<i>Baker et al., 2011</i>	Morfina	SPE: Oasis MCX, 60 mg	Aqurity BEH C18 150x1 mm, 1.7µm	A: 79.7% H ₂ O, 20% MeOH 0.3% àc.Ac.(pH 2.9) B: 99.7% MeOH, 0.3% àc.Ac.(pH 3.3) 0.04 mL/min.	QqQ ESI+ MS/MS	75±6%	90±2%	64.8	12.5
	Normorfina					92±6%	103±17%	32.6	11.1
	Codeïna					103±4%	98±10%	3.7	3.2
	Norcodeïna					91±3%	91±5%	3.4	3.0
	Heroïna					3±0%	2±0%	139.9	154.2
	6-acetil- morfina					139±16%	119±5%	2.6	2.1
	Metadona					97±6%	90±2%	0.8	0.7
	EDDP					34±4%	83±16%	2.0	0.7
	Fentanil					96±7%	95±5%	0.8	0.6

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columnna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
<i>Hernández et al., 2011</i>	Morfina	SPE: Oasis MCX, 150 mg	Aquity BEH C18 150x2.1 mm, 1.7µm	A: H ₂ O 0.01% àc. Fòrmic B: MeOH 0.01% àc. Fòrmic 0.3 mL/min.	Q-TOF MS/MS ESI+	-	-	-	-
	Normorfina								
<i>Martínez Bueno et al., 2011</i>	Morfina-3-glucuronid	Filtració 0.7 µm pH 3 injecció directa	Zorbax Eclipse XDB 150x4.6 mm 5 µm	A: AcN B: H ₂ O 0.1% àc. Fòrmic 0.6 mL/min.	QTrap ESI+ MS/MS	-	-	60 40 90 75 10 40	50 40 80 65 10 30
	Codeïna								
<i>González-Mariño et al., 2012</i>	Norcodeïna	SPE: Oasis MCX, 150 mg	Nucleosil 100-3 C18 HD 125x2 mm 3 µm	A: 5mM acetat amònic /NH ₃ (pH 8.5) B: 5mM acetat amònic en MeOH (pH 4.5) 0.2mL/min.	QTOF MS/MS ESI+	-	-	5 5 5 5 5 10 10	2 2 2 2 2 4 4
	THC-COOH								
<i>Fedorova et al., 2013</i>	THC	<i>In-line</i> SPE-LC Hypersil Gold	Cogent bidentate 50 x 2.1mm	A: H ₂ O 0.1% àc. fòrmic	QTOF MS/MS ESI-	105.4% 107.4%	114.7% 123.8%	50 50	20 20
	THC-COOH								
<i>Fedorova et al., 2013</i>	Codeïna	<i>In-line</i> SPE-LC Hypersil Gold	Cogent bidentate 50 x 2.1mm	A: H ₂ O 0.1% àc. fòrmic	QqQ ESI+ MS/MS	89% 89%	-	13 5.8	-
	Metadona								

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columnna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
	EDDP THC-COOH	20x2.2mm 12µm A: H ₂ O 0.1% àc. fòrmic B: MeOH 0.1% àc. fòrmic	3µm	C: AcN 0.1% àc. fòrmic 0.3 – 0.4 ml/min.	300.1>214.8	93%	-	5.3	-
						98%	-	20	-
					MS HRFS	110%	-	5.6	-
						14%	-	0.9	-
						14%	-	0.46	-
						132%	-	2.5	-
<i>Nefau et al., 2013</i>	Morfina Heroïna 6-acetil- morfina Metadona EDDP THC-COOH	SPE: Oasis HLB, 500 mg	Xbridge Phenyl 150x3 mm 3.5µm	A: AcN B: 5mM formiat amònic (pH 4) 0.4 mL/min.	MS HRPS (targeted) Mode+	134%	-	2.7	-
						121%	-	7.1	-
						122%	-	7.7	-
						107%	-	1.7	-
					QqQ MS/MS ESI+	79%	-	40	-
					QqQ MS/MS ESI-	121%	-	40	-
	124%	-	40	-					
	92%	-	40	-					
	103%	-	5	-					
						61%	-	1.2	-
<i>Repice et al., 2013</i>	Morfina Codeïna 6-acetil- morfina	On-line SPE Pursuit C18 20x2.0 mm 10µm	Pursuit C18 150x2.0 mm 4.6µm	A: H ₂ O 0.1% àc. Fòrmic B: MeOH 0.1% àc. Fòrmic 0.2mL/min.	QqQ	-	-	20	-
					ESI+	-	-	20	-
					MS/MS	-	-	20	-

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R Entrada EDAR	%R Sortida EDAR	LOQ (ng/L) Entrada EDAR	LOQ (ng/L) Sortida EDAR
Senta et al., 2013	Morfina Morfina-3-glucurònid Codeïna 6-acetil-morfina Metadona EDDP	SPE: Oasis MCX, 150 mg	Synergi 4µmPolar-80Å 150x3 mm	A: H ₂ O 0.1% àc acètic B: MeOH 0.1% àc acètic 0.4 ml/min.	QqQ ESI+ MS/MS	94% 60% 92% 86% 75% 62%	96% 32% 101% 81% 76% 61%	0.8 0.9 0.5 0.4 0.2 0.6	1.0 0.6 1.2 0.3 0.2 0.8
	THC-COOH THC-OH	SPE: Oasis MCX, 150 mg + Strata NH ₂ , 200 mg	Kinetex PFP 100 Å 100x2.1 mm 2.6 µm	A: H ₂ O B: MeOH 0.2 ml/min.	QqQ ESI- MS/MS	69% 70%	65% 63%	2.5 1.8	1.2 1.2

%R Recuperació; LOQ Límit de quantificació del mètode; - Dada no disponible.

Taula 2.3. Mètodes d'anàlisi per cannabinoides i opioides en aigües superficials

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R ^c	LOQ ^d (ng/L)
<i>Hummel et al., 2006</i>	Morfina Codeïna Metadona	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Synergi Polar-80Å 150x3 mm 4µm	A: AcN B: 10 mM format amònic / àc. fòrmic pH 4 0.5 ml/min.	QqQ ESI + MS/MS	86±8% 76±5% 83±7%	1 2 -
<i>Bijlsma et al., 2009</i>	THC-COOH	SPE: Oasis MCX, 150 mg	Aquity BEH C18 50x2.1 mm, 1.7µm	A: MeOH B: 5mM acetat amònic 0.1% àc. Fòrmic 0.3 mL/min.	QqQ MS/MS ESI+	91%	300
<i>Berset et al., 2010</i>	Morfina Codeïna 6-acetil- morfina Metadona THC-COOH	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Hydro RP C18 150x2 mm 2.5µm	A: 2mM format amònic / 0.2% àc. Fòrmic B: Acetonitril 0.3 ml/min.	QqQ ESI + MS/MS	95% 93% 105% 122% 138%	- 1 - 0.2 0.2
<i>Vázquez-Roig et al., 2010</i>	Morfina Codeïna Heroïna 6-acetil- morfina Metadona THC THC-COOH	SPE: Oasis HLB, 200 mg	Sunfire C18 4.6x150mm 3.5µm	A: MeOH 0.1% àc. Fòrmic B: H ₂ O10mM format amònic 0.2 ml/min.	QqQ ESI+ MS/MS	75±10% 113±8% 100±12% 85±14% 100±9% 60±11% 67±13%	0.13 0.03 0.17 0.3 0.03 4.07 5.13

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R ^c	LOQ ^d (ng/L)					
Baker et al., 2011	Morfina	SPE: Oasis MCX, 60 mg	Aquity BEH C18 150x1 mm, 1.7µm	A: 79.7% H ₂ O, 20% MeOH 0.3% àc.Ac.(pH 2.9) B: 99.7% MeOH, 0.3% àc.Ac.(pH 3.3) 0.04 mL/min.	QqQ ESI+ MS/MS	95±5% 68±6% 92±2% 84±2% 1±0% 102±7% 89±4% 38±5% 87±1%	1.00 5.00 0.5 4.00 10 0.5 0.5 0.5 0.5					
	Normorfina											
	Codeïna											
	Norcodeïna											
	Heroïna											
	6-acetil- morfina											
	Metadona											
	EDDP											
	Fentanil											
	Morfina							Filtració 0.7 µm pH 3 injecció directa	Zorbax Eclipse XDB 150x4.6 mm 5 µm	A: AcN B: H ₂ O 0.1% àc. Fòrmic 0.6 mL/min.	QTrap ESI+ MS/MS	-
Codeïna												
Heroïna												
6-acetil- morfina												
Metadona												
EDDP												
Morfina	On-line SPE: PLRP-S	Purospher StarRP-18 end-capped 125x2.0mm, 5µm	A: H ₂ O B:AcN 0.3 ml/min.	QTrap ESI + MS/MS	78% 73% 105% 63% 93%	1.45 1.66 0.64 0.62 0.57						
Heroïna												
6-acetil- morfina												
Metadona												
EDDP												
THC							On-line SPE: Oasis HLB			QTrap ESI - MS/MS	22% 57% 59%	6.81 4.19 1.26
THC-COOH												
THC-OH												

%R Recuperació; LOQ Límit de quantificació del mètode; - Dada no disponible.

Taula 2.4. Mètodes d'anàlisi per cannabinoides i opioides en aigües subterrànies i potables.

Ref.	Compost	Pre-Conc.	Columna	Fase Mòbil	MS	%R	LOQ (ng/L)
Hummel et al., 2006	Morfina Codeïna Metadona	Oasis HLB, 200 mg	Synergi Polar-80Å 150x3 mm 4µm	A: AcN B: 10 mM format amònic / àc. Fòrmic (pH 4) 0.5 ml/min.	QqQ ESI+ MS/MS	25%(P)- 83%(S) 70%(P)- 90%(S) 87%(P)- 92%(S)	-
Hogenboom et al., 2009	Metadona THC THC-COOH THC-OH	Oasis HLB 500 mg	Omnishere C18 100x2 mm 3 µm	A: AcN B: H2O 0.05% àc. Fòrmic 0.3 ml/min.	Orbitrap MS ESI+/- HRMS	-	-
Jurado et al 2012	Morfina Heroïna 6-acetil morf. Metadona EDDP THC THC-COOH THC-OH	On-line SPE: PLRP-S	Purospher StarRP-18 end- capped 125x2.0mm, 5µm	A: H ₂ O B: AcN 0.3 ml/min.	QTrap ESI+ MS/MS	-	-
Valcárcel et al., 2012	Morfina Heroïna 6-acetil morf. Metadona EDDP	On-line SPE: PLRP-S	Purospher StarRP-18 end- capped 125x2.0mm, 5µm	A: H ₂ O B: AcN 0.3 ml/min.	QTrap ESI+ MS/MS	78%	1.45
	THC THC-COOH THC-OH	On-line SPE: Oasis HLB				73%	1.66
						105%	0.64
						63%	0.62
						93%	0.57
						22%	6.81
						57%	4.19
						59%	1.26

%R Recuperació; LOQ Límit de quantificació del mètode; - Dada no disponible. (P) potable, (S) subterrània

2.2. Treball experimental.

En aquest apartat s'inclou el treball experimental realitzat en aquesta tesi que fa referència al desenvolupament de mètodes d'anàlisi per a la determinació de drogues d'abús en aigües. S'han seguit les pautes per la identificació i quantificació indicades en la Decisió de la Comissió Europea "European Commission Decision 2002/657/EC" i de validació de la ISO 17025. Cal esmentar que en el moment d'iniciar aquesta tesi tan sols hi havien dos articles publicats que feien referència a l'anàlisi de les drogues d'abús estudiades en aquesta memòria en aigües, els de *Castiglioni et al. 2006* i *Hummel et al. 2006*. La metodologia desenvolupada s'ha aplicat a l'anàlisi d'aquests compostos en aigües residuals, superficials i potables.

L'apartat està dividit en tres blocs corresponents a tres articles científics. El primer, (apartat 2.2.1) fa referència al desenvolupament d'un mètode per a l'anàlisi per LC-MS/MS d'opiodes i cannabinoides. Aquest treball s'intitula ***Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry*** i ha estat publicat a la revista ***Journal of Chromatography A 2007, 1175(1):38-48***. En aquesta publicació, es detalla l'optimització de la metodologia analítica i s'inclouen els resultats de la validació així com les primeres dades de presència dels d'opiodes i cannabinoides en aigües residuals i superficials d'Espanya. L'apartat 2.2.2 conté l'article ***Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain*** publicat a la revista ***Water Research 2009, 43(4):1126-1136***. En aquesta publicació, s'inclouen i es comenten els resultats obtinguts en l'anàlisi dels opiodes i cannabinoides emprant la metodologia desenvolupada i validada a l'apartat anterior, en un ampli nombre de mostres d'aigües residuals (entrades i sortides en 15 EDARs de Catalunya), d'aigües superficials (16 punts de mostreig en la conca del riu Llobregat, i en mostres d'aigües potables, així com en cada una de les etapes del tractament en la planta potabilitzadora de Sant Joan Despí. S'inclouen unes primeres dades de consum de les drogues estudiades a partir de les concentracions a l'entrada d'una planta de tractament d'aigües residuals i un estudi sobre la variabilitat de les

concentracions en el riu Llobregat en funció de les diferents condicions climatològiques de cada estació de l'any.

El tercer apartat (2.2.3) està dedicat a l'estudi de la presència de drogues d'abús en aigües potables. En aquest treball es va ampliar la llista de drogues estudiades. En primer lloc, es van incloure els metabòlits morfina-3-glucurònid i THC-OH, atès que s'havien publicat dades sobre la seva presència en aigües residuals i superficials. A més, paral·lelament al desenvolupament d'aquesta tesi, en el mateix grup de treball d'Aigües de Barcelona, s'havia posat a punt un mètode d'anàlisi per amfetamines, compostos cocaínics i d'altres drogues d'abús com la cafeïna, la nicotina i el seu metabòlit la cotinina, el PCP, el LSD, i la ketamina i s'havia demostrat la presència d'aquests compostos en aigües residuals i superficials. En conseqüència, es va creure convenient adaptar la metodologia i ampliar-la amb totes aquestes drogues d'abús i estudiar la seva presència en un ampli ventall d'aigües distribuïdes als consumidors. El treball s'ha publicat amb el títol ***Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters*** a la revista ***Chemosphere 2011, 84(11):1601-1607***. En aquesta publicació es discuteixen els resultats obtinguts en l'anàlisi de drogues d'abús en mostres d'aigua potable de distribució en diverses ciutats espanyoles, de la Unió Europea i d'altres continents.

2.2.1. Article científic:

TRACE DETERMINATION OF CANNABINOIDS AND OPIATES IN WASTEWATER AND SURFACE WATERS BY ULTRA-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM MASS SPECTROMETRY.

M. Rosa Boleda^a, M. Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^a.

^aAigües de Barcelona, S.A. General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

Journal of Chromatography A. 2007, 1175(1):38-48.



Trace determination of cannabinoids and opiates in wastewater and surface waters by ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry

M^a. Rosa Boleda^a, M^a. Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,*}

^a AGBAR, Aigües de Barcelona, Avinguda Diagonal 211, 08018 Barcelona, Spain

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

Received 30 July 2007; received in revised form 2 October 2007; accepted 3 October 2007

Available online 17 October 2007

Abstract

A fast and reliable method using solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UPLC–MS/MS) has been developed for the simultaneous detection, identification and quantification of several central nervous system depressor drugs of abuse such as cannabinoids (Δ^9 -tetrahydrocannabinol, THC) and opiates (morphine, codeine, heroin, methadone, fentanyl) and their metabolites in water samples. Compounds were extracted from water by using Oasis HLB cartridges. After SPE enrichment, the selected depressor drugs, under UPLC optimized conditions, were separated in less than 8 min. Electrospray (ESI) tandem MS in positive ion mode and selected reaction monitoring was used for quantification. ESI–MS/MS conditions such as capillary and cone voltages, source and desolvation temperatures and cone and desolvation gas flow rates have been optimized and MS and MS/MS spectra of the studied compounds were obtained. At the working conditions four identification points were obtained as required by European Union guidelines for analysis by LC–MS/MS. Quality parameters (intra-day and inter-day precisions) for each analyte have been established in three different matrixes (purified, surface and waste waters). Recoveries were generally higher than 70% and instrumental quantification limits and limits of quantification were in the low pg and ng/l range, respectively. Finally, the method has been applied to the analysis of influent and effluents wastewaters and natural water samples from Catalonia (NE Spain) where the presence of several opiates such as morphine, codeine, norcodeine 2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine and methadone and cannabinoids such as THC and 11-nor-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol has been demonstrated.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Illicit drugs; Cannabinoids; Opiates; Liquid chromatography–tandem mass spectrometry; Water resources

1. Introduction

In recent years, the presence of endocrine disruptors and pharmaceuticals among other emerging contaminants in waters is continuously reported in the scientific literature [1–5]. Pharmaceuticals are excreted unchanged or as metabolites and eventually reach wastewater plants (WWTPs). Treatment of raw wastewaters may remove a portion of these compounds, but there is a potential for residues to be released into the aquatic environment such as surface waters and drinking water [1–3,5].

Recently, a growing concern is related to the presence of illicit drugs and their metabolites in some European rivers [6–10]. In

this context, the new World Drug Report 2007 [11] from United Nations Office on Drugs and Crime (UNDOC) has stated that the global abuse of opiates remains essentially stable and continues to be the main problem drug worldwide. Opiates that can enter into the environment from both clinical and illicit uses, account around 60% of treatment demand in Europe being Spain the fifth major opiate market in Western Europe. Among them, heroin still accounts for more than 70% of opiates abuse according to the UNDOC report. Morphine is commonly detected in urine but codeine may also be present after relatively recent heroin consumption. Codeine, the most widely used natural occurring narcotic in medical treatment in the world has increased its use as a pharmaceutical of abuse [12]. Morphine, is the most abundant of 24 alkaloids of opium and its concentration can range from 4 to 21%. Only a small percentage of the morphine obtained from opium is used directly and the remaining is converted to

* Corresponding author. Tel.: +34 933422715; fax: +34 933422666.
E-mail address: fventura@agbar.es (F. Ventura).

codeine and other derivatives. Methadone, a synthetic opioid is used medically as an analgesic and in the treatment of narcotic addiction. Although chemically unlike morphine or heroin, methadone produces similar effects. Fentanyl is a synthetic opioid analgesic, with an analgesic potency of about 80 times that of morphine and 50 times more potent than heroin.

On the other hand, cannabinoids remain by far the most commonly used drug in the world. Almost 160 million people, equivalent to 3.8% of the global population aged 15–64, consumed cannabis in 2005 [11]. However, the cannabis market is now either stabilized or started to decline in Europe although in Spain, one of Europe's largest markets is still reported an increase in use during 2005. The most active cannabinoid, Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) and its metabolites (i.e. THC-COOH) can still be found in the urine weeks after use [13].

Different analytical methods have been developed for the determination of psychoactive drugs and metabolites in biological matrixes such as urine, blood, plasma or hair and at present, the technique of choice for the determination of psychoactive compounds in clinical and forensic fields is liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC–MS and LC–MS/MS) [14–23]. A detailed international guideline for confirmation of veterinary drugs by LC–MS/MS has been established by the EU [24]. In addition, a review article [25], has been published summarizing rules and quality assurance criteria for the identification of compounds by LC–MS/MS in forensic toxicology and doping analysis. The general criteria for the analytical procedure require that the method has to be able to distinguish between the analyte and all known interfering substances that may possibly occur in the matrix.

Recently, a new technology, with trade name ultra-performance liquid chromatography (UPLC) [26] has been developed to shorter analysis time and to gain in separation efficiency, resolution and sensitivity. Due to its recent development, very few applications have been reported until now, but an increase in the near future is predictable, because of its advantages over conventional HPLC. Several articles on the application of UPLC to the analysis of pharmaceuticals, [27] and drugs of abuse [28–30] in biological matrixes have been published but few in environmental analysis, among them, pesticides [31], pharmaceuticals [32,33] and drugs of abuse [8]. The latter deals with the determination of amphetamine type stimulants and alkaloids (cocaine and benzoylecgonine) in wastewater and surface waters.

The aim of this study is to develop a fast and sensitive method using solid-phase extraction (SPE) as a preconcentration step followed by UPLC–MS/MS detection for the analysis of several central nervous system (CNS) depressor drugs of abuse. Cannabinoids and opiates (morphine, codeine, heroin, methadone, fentanyl) and their metabolites (THC-COOH, normorphine, norcodeine, 6-acetylmorphine, 2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine) have been determined in water samples. The method complies with respect to current recommendations and EU guidelines [24] and was validated for natural waters and waste waters. Finally, the developed method has been applied to the analysis of influent and effluent wastewaters and natural water samples from Catalonia (NE Spain).

2. Experimental

2.1. Chemicals and materials

The illicit drugs and metabolites studied were normorphine, morphine, norcodeine, codeine, 6-acetylmorphine (6-AM), heroin, fentanyl, 2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine (EDDP), methadone, 11-nor-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH) and THC. Standard solutions of each reference compound at a concentration of 1 mg/ml in methanol were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA). Their molecular structures, origins, classifications, molecular weights and CAS numbers are given in Table 1. The surrogate labeled standards, [²H₆]morphine, [²H₆]codeine, [²H₆]6-acetylmorphine, [²H₉]heroin, [²H₅]fentanyl, [²H₃]EDDP, [²H₃]methadone, [²H₆]THC-COOH and, [²H₆]THC, were also purchased from Cerilliant at a concentration of 1 mg/ml in methanol.

Working solutions containing all the reference substances to be analyzed were prepared at concentrations of 0.2 and 2 ng/ μ l in methanol depending on the compound, for tuning studies, and stored at -20°C in the dark. Working solutions of these compounds at 5 ng/ μ l in methanol were used for the preparation of calibrators. Calibration standards were prepared once a month by serial dilution of the mixed working solution resulting in individual concentrations from 1 to 1300 pg/ μ l in methanol or water, for cannabinoids and opiates respectively, in addition, mixed labeled standard working solutions at a concentration of 5 ng/ μ l in methanol were also prepared.

Analytical grade ammonium acetate, acetic acid, ammonium formate and formic acid were obtained from Sigma (St. Louis, MO, USA). HPLC-grade methanol and acetonitrile were provided by J.T. Baker (Deventer, The Netherlands). Methanol purge&trap grade used for the preparation of standard working solutions was obtained from Riedel-de Haën (Seelze, Germany). Water was purified in an Elix-Milli-Q system (Millipore., Bedford, MA, USA). Mobile phases were filtered through a 0.22 μm poly(vinylidene difluoride (PVDF) filter (Pall, MI, USA).

2.2. Sample collection

Composite water samples (24 h) were collected from influents and effluents of WWTPs in northeast Spain from March to May 2007. These WWTPs treat wastewaters (urban or mixed urban and industrial) that came from small (2800 population equivalents) to medium size cities (230,000 population equivalents) with flows varying from 35 to 1600 m³/h. All plants cited above, use activated sludge treatment. Some characteristics (i.e. wastewater origin, flow rate and equivalent inhabitants) of each WWTP are given in Table 5. Surface water samples from Llobregat River (NE Spain) were collected at the intake of a drinking water treatment plant (DWTP). All the samples (250 ml each) were stored in dark bottles at 4 $^{\circ}\text{C}$ for a maximum of 3 days, then extracted and analyzed. Samples were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, Maidstone, UK) prior to extraction.

Table 1
Structure, origin, molecular weight and CAS numbers of the selected depressor drugs

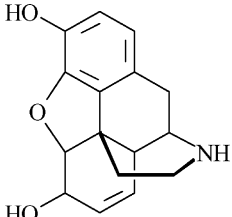
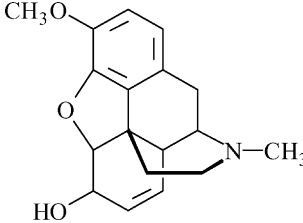
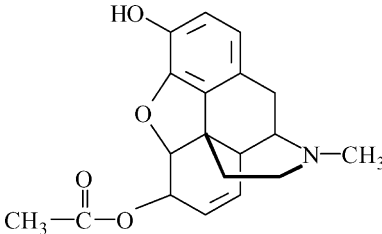
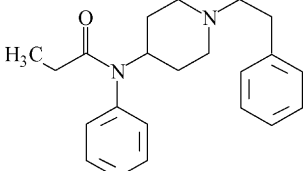
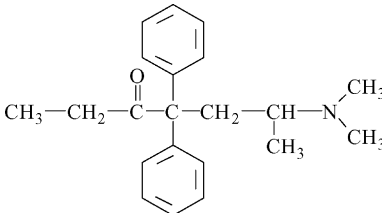
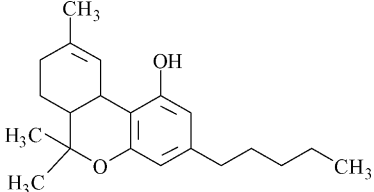
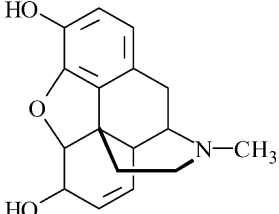
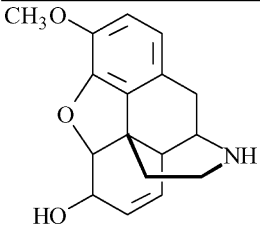
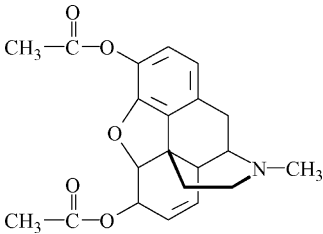
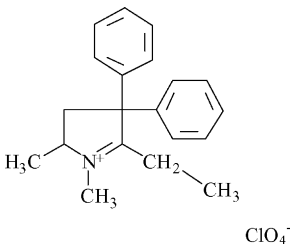
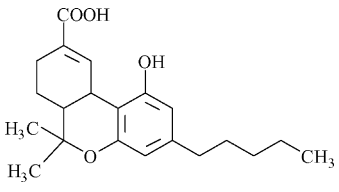
Structure	Compound, classification, molecular weight, CAS number
	Normorphine opiate metabolite 271.32 CAS: 466-97-7
	Codeine opiate 299.37 CAS: 76-57-3
	6-Acetylmorphine (6-AM) opiate metabolite 327.38 CAS: 2784-73-8
	Fentanyl opiate (synthetic) 336.48 CAS: 437-38-7
	Methadone opiate (synthetic) 309.45 CAS: 79-99-3
	THC cannabinoid 314.45 CAS: 1972-08-3
	Morphine opiate 258.34 CAS: 57-27-2

Table 1 (Continued)

Structure	Compound, classification, molecular weight, CAS number
	Norcodeine opiate metabolite 285.34 CAS: 467-15-02
	Heroin opiate 369.42 CAS: 561-27-3
	EDDP opiate metabolite 377.87 (278.87) CAS: 466-97-7
	THCCOOH cannabinoid metabolite 344.45 CAS: 56354-06-4

2.3. Solid-phase extraction

SPE was performed using Oasis HLB SPE cartridges (6 ml, 200 mg, Waters, Milford, MA, USA) on a Zymark Rapid Trace SPE Workstation from Zymark (Hopkinton, MA, USA). Prior to extraction, deuterated compounds were added to 200 ml of water sample (1% methanol) at a concentration of 50 ng/l for each labeled compound. After successively preconditioning the cartridges with 5 ml of methanol and 5 ml of water, samples were percolated through the cartridge at a flow rate of 10 ml/min. Then, the cartridge was washed with 3 ml of water and dried with nitrogen for 5 min. Analytes were eluted from the cartridge using 8 ml of methanol and the extract was evaporated at 40 °C under a stream of nitrogen in a Zymark TurboVap LV evaporator to 500 µl. Then, the extract was split in two aliquots. One aliquot (250 µl) was filtered through 0.2 µm (13 mm GHP 0.2 µm, Waters) before injection to the LC-MS/MS system for the analysis of cannabinoids, and the other aliquot (250 µl) was evaporated and reconstituted in water. This aqueous extract was also filtered through 0.2 µm prior the injection to the LC-MS/MS system for the analysis of opiates.

2.4. Ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry

A Waters Acquity ultra-performance liquid chromatograph system, equipped with a quaternary pump system coupled to a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer (Micromass, Waters) with an electrospray ionization source Z-spray was used.

Chromatographic separation was performed at 40 °C using an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 µm particle size) (Waters). The following gradient was used: solvent A: methanol; solvent B: 50 mM ammonium formate/formic acid buffer (pH 3.8). The gradient elution was: 0 min, 5% A; 0–2 min: linear from 5 to 15% A; 2–3 min: linear from 15 to 35% A; 3–4 min: linear from 35 to 50% A; 4–5 min: linear from 50 to 60% A; 5–6 min: linear from 60 to 65% A; 6–7 min: linear from 65 to 100% A; 7–9 min: 100% A and return to initial conditions and equilibration of the column. The flow rate was kept constant at 0.4 ml/min during the analysis and the sample volume injected was 7.5 µl.

The tandem mass spectrometer was operated in positive ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and the protonated molecular ion of

Table 2
LC–MS/MS parameters for the SRM acquisition mode (quantitation and confirmation)

Depressor drugs	Retention time windows (in min)		SRM transitions										% relative intensity ^d	Permitted tolerances ^e (%)
	SRM transitions		Confirmation I					Confirmation II ^c						
	(m/z)	C.V. ^a (V)	C.E. ^b (eV)	(m/z)	C.E. ^b (eV)	(m/z)	C.E. ^b (eV)	(m/z)	C.E. ^b (eV)	(m/z)	C.E. ^b (eV)			
Normorphine	1–2.5	272 → 272	45	5	272 → 165	35	272 → 121	30	272 → 121	30	2.6 ± 0.04	±50		
Morphine		286 → 286	45	5	286 → 165	40	286 → 152	45	286 → 152	45	2.7 ± 0.1	±50		
[² H ₆]Morphine		292 → 292	45	5										
Codeine	2.5–3.3	300 → 300	47	5	300 → 165	43	300 → 152	65	300 → 152	65	2.8 ± 0.1	±50		
Norcodeine		286 → 286	40	5	286 → 165	50	286 → 152	50	286 → 152	50	2.4 ± 0.1	±50		
[² H ₆]Codeine		306 → 306	45	5										
6-AM	3.3–4.6	328 → 328	35	5	328 → 165	35	328 → 152	60	328 → 152	60	6.8 ± 2.0	±50		
[² H ₆]6-AM		334 → 334	46	5										
Heroin		370 → 370	45	5	370 → 165	50	370 → 268	25	370 → 268	25	4.8 ± 0.1	±50		
[² H ₆]Heroin		379 → 379	45	5										
Fentanyl	4.6–6.5	337 → 105	25	35	337 → 188	20					103.9 ± 1.1	±20		
[² H ₅]Fentanyl		342 → 105	35	35										
EDDP		278 → 234	50	25	278 → 186	35					44.2 ± 0.8	±25		
[² H ₃]EDDP		281 → 234	45	30										
Methadone		310 → 105	20	25	310 → 265	15					42.7 ± 0.4	±25		
[² H ₃]Methadone		319 → 268	20	15										
THCCOOH	7.0–9.0	345 → 327	30	16	345 → 193	28					18.4 ± 1.8	±30		
[² H ₆]THC-CCOOH		358 → 330	30	16										
THC		315 → 193	30	22	315 → 123	30					82.4 ± 2.2	±20		
[² H ₆]THC		318 → 196	30	22										

^a C.V.: cone voltage.

^b C.E.: collision energy.

^c Confirmation II is used when the pseudotransition is employed for quantitation.

^d % relative intensity between confirmation I and quantification transitions.

^e Permitted tolerances on the basis of relative intensity to accomplish with EU guidelines [24].

each compound was chosen as precursor ion. Parameters were: capillary voltage, 3 kV; lens voltage 0.3 V; source temperature, 130 °C; desolvation temperature, 500 °C; cone gas flow rate, 30 l/h; desolvation gas flow rate, 800 l/h. Dry nitrogen ($\geq 99.5\%$) was used as desolvation and nebulization gas and argon ($>99.999\%$, Praxair, Spain) was used as collision gas. MS/MS compound dependant parameters were optimized by direct infusion at 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Cone energy voltages, SRM transitions, and collision energy voltages were established for each analyte and the values are listed in Table 2. Data acquisition was carried out using different retention time windows (Table 2), dwell times and an interscan delay time of 10 ms were used. All data were acquired and processed using MassLynx v 4.1 software.

2.5. Quantification and method validation

Each compound was quantified by isotope dilution using its corresponding deuterated analogue, except normorphine and norcodeine, which were quantified using [$^2\text{H}_6$]morphine, and [$^2\text{H}_6$]codeine, respectively.

Two calibration curves, one for cannabinoids in methanol and the other for opiates in water (eight points each), were prepared by serial dilution of the corresponding mixed working solution, resulting in individual concentrations ranging from 1 to 1300 $\text{pg}/\mu\text{l}$, which corresponds in both cases to 0–500 ng/l in the original water samples. A mixed solution of labeled standards was added to all the calibration points at a fixed concentration of 20 $\text{pg}/\mu\text{l}$ as internal standards. The repeatability and precision of the calibration curves were determined by injecting the solutions three times during the same day and on six different days. The correlation factors r^2 of the calibration curves were then calculated.

Instrumental detection limits (IDLs) and instrumental quantification limits (IQLs), were determined by direct injection of decreasing amounts of each compound and were calculated as the concentration giving peaks for which the signal-to-noise ratio was 3 and 10, respectively.

The performance of the SPE-UPLC-MS/MS method for the analysis of water samples, limits of detection and quantification, intra-day and inter-day precisions, accuracies and recoveries was evaluated in purified water, surface water and wastewater matrixes. Limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the method for each matrix were determined by spiking water samples with mixtures of standard compounds at low concentrations (10 or 50 ng/l depending on the compound), extracted by the described SPE method and calculated as the concentration giving peaks for which the signal-to-noise ratio was 3 and 10, respectively.

Precision and accuracy of the developed method were evaluated by spiking samples of purified water, surface water and wastewater, with target analytes standards at 50 ng/l . In intra-day experiments, eight replicates were spiked, extracted and analyzed in the same day, whereas for inter-day assays, the extraction and analysis were performed in six different days ($n = 12$). Individual recoveries for the entire method were determined by spiking samples of purified water, surface water and

wastewater with analyte standards at 50 ng/l . The absolute recoveries were calculated quantifying by external calibration and comparing the responses when the labeled analytes (50 ng/l) were added after complete extraction just before injection.

3. Results and discussion

3.1. Ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry

Several mobile phases have been tested for the separation of opiates and cannabinoids [14–23]. Mobile phases, based on acetonitrile or methanol (solvent A) and ammonium acetate buffer (10, 30 mM), acidified water or ammonium formate buffer (1–50 mM) (solvent B) as proposed in the literature were initially tested [18,20,21,34]. In all cases, instead of acetonitrile peak areas were markedly higher when methanol was used, an improvement in resolution and peak shapes was observed when an ammonium formate buffer solution (50 mM, pH 3,8) and methanol, as mobile phase was used. Column temperature was also investigated to improve sensitivity and to reduce analysis time. Temperatures from 25 to 60 °C were tested, being 40 °C the temperature that provided the best peak shapes and resolution. Four columns of 1.7 μm particle size and different stationary phase: Shield RP-18, Phenyl, C₁₈ and C₈ (Acquity, Waters) were tested. The C₁₈ column provided the best separation of target compounds.

In order to obtain sharp peaks and good resolution for opiates that eluted at the beginning of the chromatogram when the gradient has a high percentage of water, standards and samples must be in water. However, for cannabinoids, an important loss in resolution and sensitivity was observed at these conditions. Different proportions of water, methanol and mobile phase were tested as a final solvent extract, in order to analyze one extract per sample using a single calibration curve. However, sharper peaks and good resolution and sensitivity were only achieved when methanol extracts were analyzed for cannabinoids and aqueous extracts were used for opiates.

So, as described above, the final SPE extract was split in two aliquots. The extract in methanol was directly injected into the chromatographic system and the other aliquot was concentrated and reconstituted in purified water. The two cannabinoid compounds, [THC-COOH and THC] were analyzed by injecting the methanolic extracts obtained from SPE and quantified using a calibration curve performed with standards in methanol. For opiates, [normorphine, morphine, norcodeine, codeine, 6-AM, heroin, fentanyl, EDDP and methadone], the aqueous extracts from SPE was analyzed using standards prepared in water.

Electrospray ionization working parameters were optimized by using individual standard solutions at a concentration of 0.2 and 2 $\text{ng}/\mu\text{l}$ in methanol; 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 temperatures were set up to 500 and 130 °C, respectively. An elevated desolvation temperature was necessary due to the high aqueous content of the mobile phase. Cone voltage was optimized for all the com-

pounds in order to obtain a maximum response for the protonated molecular ion $[M + H]^+$. Data acquisition was performed in SRM mode and collision energies were studied in order to select two (or three transitions) per compound (quantification and confirmation). Different collision energies were tested to obtain the optimum response for each transition. The most prominent SRM transitions were used for quantification and the other ones for confirmation [20]. For some opioids, such as normorphine, morphine, norcodeine, codeine, 6-AM, and heroin, the unfragmented precursor ions were used for quantification, because of the low intensities of the two SRM transitions, which in turn were used for confirmation. The pseudo-SRM transition was optimized by testing several collision energies and choosing that produced less chemical background [20,35]. Description of the extensive fragmentation in the collision cell of opiates and derivatives has been described elsewhere [20,36]. Fig. 1 shows as an example, the extracted ion chromatogram of a solution

of opiates (in purified water) and cannabinoids (in methanol) (0.02 ng/ μ l) in the SRM mode. The chromatogram obtained under these optimized conditions allowed the separation of the selected compounds in less than 8 min.

Under these conditions, four identification points were achieved fulfilling the European Council Directives regarding to mass spectrometric detection [24]. The performance of analytical these methods and the interpretation of results for LC–MS procedures, requires that the relative intensities of the detected ions, expressed as a percentage of the intensity of the most intense ion or transition, shall correspond to those of the calibration standard, either from solutions or from spiked samples, at comparable concentrations and measured under the same conditions. Tolerances indicated in Table 2 fulfil these requirements.

The use of deuterated analogues, which are chemically equivalent, and with retention times differing only minimally from target compounds, was helpful to minimize matrix effects and

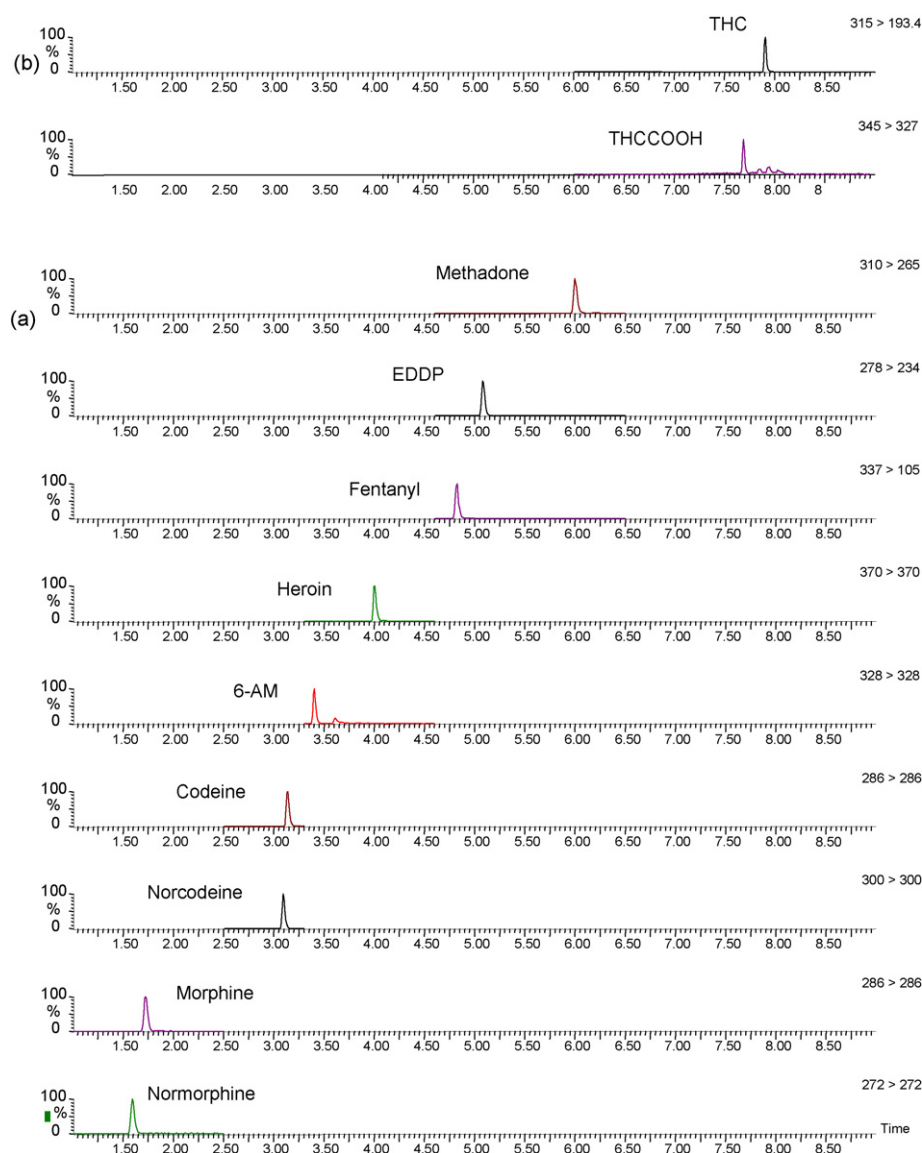


Fig. 1. Extracted ion chromatograms of a drugs standard solution in SRM acquisition mode. Chromatographic conditions given in Section 2. (a) Opiates 20 pg/ μ l in water; (b) cannabinoids 20 pg/ μ l in methanol.

Table 3
Instrumental quality parameters of the UPLC-ESI-MS/MS method

Depressor drugs	Linearity range, pg injected	Inter-day correlation factor (r^2) \pm SD	IDL (S/N = 3) ^a , pg injected	IQL (S/N = 10) ^a , pg injected
Normorphine	3–1000	0.999672 \pm 0.000446	0.90	3.0
Morphine	0.75–1000	0.999751 \pm 0.000224	0.22	0.75
Codeine	0.2–1000	0.999501 \pm 0.000305	0.06	0.2
Norcodeine	0.6–1000	0.999460 \pm 0.000294	0.21	0.6
6-AM	1.5–1000	0.999455 \pm 0.000365	0.45	1.5
Heroin	0.7–1000	0.999605 \pm 0.000372	0.21	0.7
Fentanyl	0.1–1000	0.999550 \pm 0.000374	0.03	0.1
EDDP	0.1–1000	0.999567 \pm 0.000277	0.03	0.1
Methadone	0.1–1000	0.999497 \pm 0.000301	0.03	0.1
THC-COOH	3–1000	0.999558 \pm 0.000271	0.90	3.0
THC	1.5–1000	0.999482 \pm 0.000430	0.45	1.5

^a IDL and IQL for cannabinoids were tested with standards prepared in methanol and for opiates in water.

allowed to compensate ion suppression or ion enhancement leading to a correct quantitation.

3.2. Method validation and quality parameters

The repeatability of the calibration curves were determined by injecting the solutions three times during the same day ($n = 3$) and different days ($n = 6$). The inter-day correlation factors (r^2) of the calibration curves, their corresponding standard deviations and the linearity range are reported in Table 3. All the depressor drugs tested have inter-day correlation factors $r^2 > 0.999$ with $SD < 0.0005$.

Instrumental detection and quantification limits, are reported in Table 3. The IQLs of cannabinoids in methanol (3 and 1.5 pg for THC-COOH and THC, respectively) are much better than those obtained for these compounds in water (200 and 60 pg, respectively). The IQLs of opiates, such as heroin, fentanyl, EDDP and methadone are similar in methanol and water, but the IQLs of other opiates such as 6-AM, norcodeine, codeine, morphine and normorphine in water are much better than in methanol. The IQL values are between 100 and 1200 times lower

than those obtained with triple quadrupole instruments using a conventional narrow-bore column [6].

In order to evaluate the performance of the SPE-UPLC-MS/MS method for the analysis of water samples, LODs and LOQs, intra-day and inter-day precisions, accuracies and recoveries were studied in three matrixes: purified water, surface water and wastewater. Table 4 displays the results obtained. A similar trend that in IQLs, was observed for LODs and LOQs in purified water. The obtained LOQs were lower than 12.2 ng/l for all target compounds being six of them lower than 1 ng/l. Precision, accuracy and the recovery of target compounds were evaluated by spiking samples of purified water with analytes and labeled standards at a low concentration (50 ng/l) and extracted by the described SPE method. The intra-day precisions ($n = 8$) were $RSD \leq 7.2\%$ for all target compounds. For inter-day assays, the extraction and analysis were performed in 6 different days ($n = 12$) and the results (%RSD) were lower than 8.8 for all the analytes. Recoveries were satisfactory for most of the target compounds ($\geq 75\%$) except for EDDP and THC with absolute recovery values of 60% and 43%, respectively.

Table 4
Limits of quantitation, precision and absolute recoveries in purified water, surface water and wastewater matrixes

Depressor drugs	Purified water			Surface water			Wastewater		
	LOQ (ng/l)	Inter-day ^a RSD (%)	Recovery ^b (%)	LOQ (ng/l)	Inter-day ^a RSD (%)	Recovery ^b (%)	LOQ (ng/l)	Inter-day ^a RSD (%)	Recovery ^b (%)
Normorphine	12.2	8.8	90	12.5	4.7	86	25.0	1.5	95
Morphine	2.5	4.4	100	2.9	3.7	99	7.1	3.5	83
Codeine	0.4	6.4	92	0.5	1.7	85	2.5	5.2	94
Norcodeine	1.3	8.8	99	1.6	5.9	94	5.0	7.8	89
6-AM	0.9	6.5	106	0.9	3.4	95	3.1	6.9	90
Heroin	1.1	2.9	86	1.5	3.6	75	20.0	6.5	65
Fentanyl	0.4	5.4	77	0.4	2.0	95	1.7	4.6	72
EDDP	0.2	7.2	60	0.4	6.5	69	0.7	6.1	68
Methadone	0.1	5.2	93	0.1	2.7	97	0.3	3.8	75
THC-COOH	10.5	7.8	92	10.0	4.4	86	12.5	3.5	96
THC	6.7	7.4	43	7.0	5.2	44	8.3	6.8	42

Purified water, surface water and wastewater spiked at 50 ng/l. Extracts in methanol; WW blank matrix: COD, 2.3 mg O₂/l; N-Kjeldahl, 4 mg/l; P total, 3.35 mg/l; pH, 8.2; conductivity, 560 μ S/cm. RSD: relative standard deviation.

^a $n = 6$ days \times 2.

^b $n = 8$.

Table 5
Concentration levels (in ng/l) of opiates and cannabinoids in WWTPs samples from Catalonia (NE Spain)

Depressor drugs	Wastewater samples ^a									
	WW-A		WW-B		WW-C		WW-D		WW-E	
	Influent	Effluent	Influent	Effluent	Influent	Effluent	Influent	Effluent	Influent	Effluent
Normorphine	<LOQ	30.7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Morphine	96.7	81.1	<LOQ	<LOQ	48.8	20.9	45.1	<LOQ	25.9	<LOQ
Codeine	119.7	397	18.1	3.1	61.6	102.5	35.2	35.1	40	15.5
Norcodeine	6.8	22.9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5	<LOQ	<LOQ	5	<LOQ
6-AM	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Heroin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fentanyl	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
EDDP	41.3	56.7	4.5	4.9	7.9	7.2	38.3	37.6	6.7	5.7
Methadone	23.9	24.7	4	10.9	10.2	7.9	20.3	9.4	5.3	4
THC-COOH	<LOQ	48.1	37.8	71.7	96.2	27.7	<LOQ	14.8	57.5	33.7
THC	31.5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	11.3	<LOQ	24.3	<LOQ	<LOQ	<LOQ

WW-A: urban + industrial; flow rate (21.8 m³/day); equivalent inhabitants: 230,000. WW-B: urban; flow rate (1.4 m³/day); equivalent inhabitants: 2800. WW-C: urban; flow rate (10.1 m³/day); equivalent inhabitants: 30,000. WW-D: industrial + urban; flow rate (18.8 m³/day); equivalent inhabitants: 64,000. WW-E: urban + industrial; flow rate (18.9 m³/day); equivalent inhabitants: 53,000.

^a Sampling: march–may, 2007 (m³/day).

The same procedure of method validation as described for purified water was applied to surface water and wastewater. Pristine river water and a wastewater sample which receives mainly industrial wastewaters were used. Four samples of this pristine river water and four samples of selected wastewater were analyzed to ensure that they were free of target compounds and therefore could be used as blank matrixes. Quality parameters of the method for surface waters were evaluated by spiking both water samples with target and labeled analytes (50 ng/l). LOQs in surface water were comparable to those obtained in purified water with five compounds having LOQs < 1 ng/l. For wastewater LOQs ranged from 0.3 ng/l (methadone) to 25 ng/l (normorphine), but only heroin (20 ng/l) was highly different from the two others matrixes. The intra-day precisions were RSD ≤ 3.9% for all target compounds in surface water matrix and RSD ≤ 7.5% for all target compounds in wastewater matrix. Inter-day precisions (RSD) were lower than 8% for both water samples and absolute recoveries were satisfactory for all compounds (≥70%) except for THC (42–44%).

3.3. Analysis of wastewater and surface water

The developed analytical method was used to measure cannabinoids, opiates and their metabolites in WWTPs in Catalonia (NE Spain). Composite water samples (24 h) of influent and effluent wastewaters were collected the same day (not sequentially) and analyzed. The results are given in Table 5.

Morphine (<LOQ = 96.7 ng/l), codeine (18.1–119.7 ng/l), norcodeine (<LOQ = 6.8 ng/l), methadone (4–23.9 ng/l) and EDDP (4.5–41.3 ng/l) concentration ranges were detected in the influents of the selected WWTPs. On the other hand, normorphine, 6-acetylmorphine, heroin and fentanyl were not detected in any influent. As an example, Fig. 2 shows two extracted chromatograms obtained from a WWTP influent and a surface water. The concentrations of morphine, methadone and its metabolite

EDDP and THC-COOH reported here are lower than the levels found by Castiglioni et al. [6] in the influent of a Swiss plant but slightly higher than the influent of an Italian WWTP. On the other hand, the concentration of codeine is much lower and that of morphine much higher than the average concentration in German influent wastewaters analyzed by Hummel et al. [7]. The presence of methadone and its metabolite EDDP is related to its wide use in heroin detoxification and maintenance programs. Morphine, the principal constituent of opium may come from different origins: its clinical use, from codeine and also from heroin *via* its metabolite 6-acetylmorphine, but the absence of these last two compounds suggests the two former origins.

In the effluents some compounds (i.e. codeine, norcodeine, THCCOOH) were found at higher concentrations than in the influent. Bones et al. [10] also found that concentration levels of morphine and EDPP were higher in Irish wastewater effluents. Opiates are excreted in urine mainly as glucuronide metabolites (i.e. morphine-3-glucuronide, morphine-6-glucuronide, codeine glucuronide). These compounds were not analyzed in this study, but probably contribute to the high amounts detected in effluents due to the cleavage of the conjugated molecule in wastewater [37,38]. The presence of glucuronide metabolites of morphine in influents and their absence in wastewater effluents has been recently reported [6].

Cannabinoids were present in influents at the following concentration ranges: THC (<LOQ = 31.5 ng/l) and its main metabolite THC-COOH (<LOQ = 96.2 ng/L) but only this last compound (<LOQ = 71.7 ng/l) was found in the effluents. These last values are significantly higher than those detected by Castiglioni [6] and may reflect an inefficient wastewater treatment. The presence of THC and THC-COOH in the studied samples suggests a widespread consumption of cannabinoids.

The optimized method was also applied to the analysis of surface waters from Llobregat River (NE Spain). The results of six samples collected at the intake of a DWTP are given in Table 6 and Fig. 2 displays an example of the extracted ion chromatograms where some selected drugs were identified.

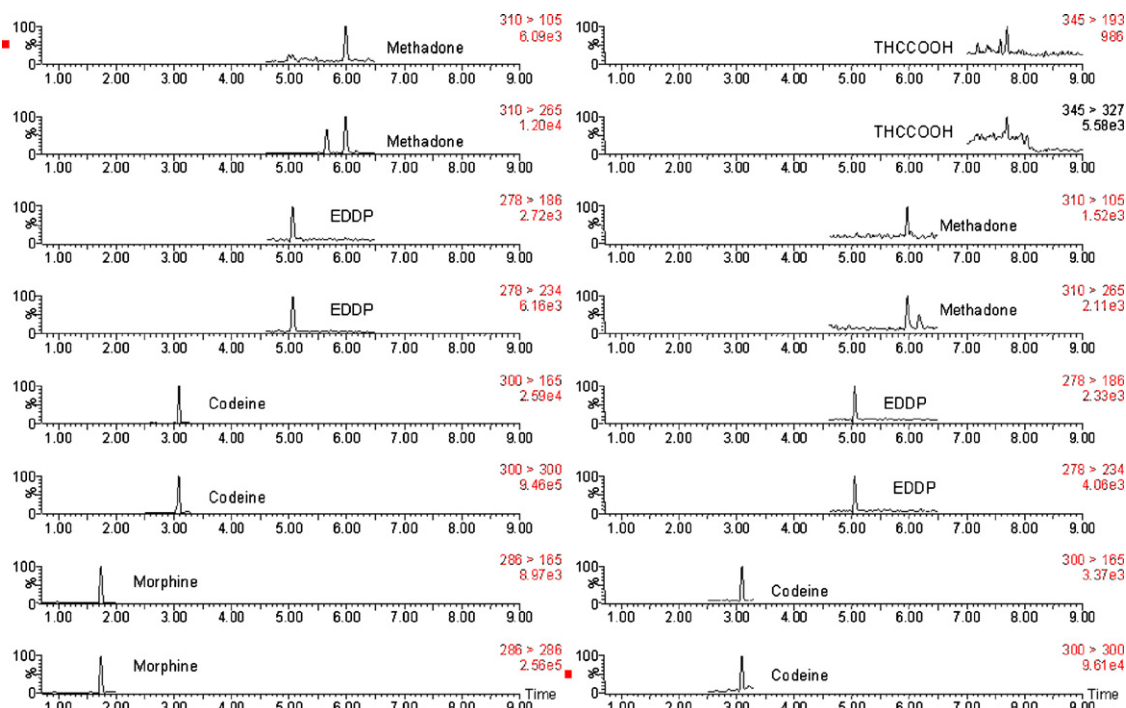


Fig. 2. Extracted ion chromatograms from the WW-C influent (left) and SW-3 river raw water (right).

Morphine and codeine among the natural opiates and methadone and its metabolite EDDP among the synthetic ones were found in all samples analyzed. The concentrations detected were always quite similar during the studied period with maximum concentrations up to 6.3 ng/l (morphine); 26.7 ng/l (codeine); 8.5 ng/l (norcodeine); 10.1 ng/l (methadone) and 17.5 ng/l (EDDP). Normorphine, 6-acetylmorphine, heroin and fentanyl were never detected. These levels are close to those found in German surface waters [7]. For cannabinoids, THC was identified just in one sample (13.6 ng/l) whereas its main metabolite THC-COOH was detected in all samples analyzed at concentrations up to 34.1 ng/l.

The presence of several opiates and cannabinoids in wastewaters and surface waters confirm that illicit drugs can be considered as widespread contaminants at trace levels.

4. Conclusions

A new analytical method was developed that allows the simultaneous determination of opiates and cannabinoids (total 11 compounds) in wastewater and surface waters fulfilling the requirements of the EU guidelines. The method consists on SPE extraction and further detection of the analytes by UPLC–MS/MS with electrospray in the positive ionization mode. With a few exceptions, recoveries of the target compounds exceeded 70% in all matrixes except for cannabinoids such as THC that showed recoveries around 40%. LOQs ranged from 0.1 ng/l (methadone) to 12.5 ng/l (normorphine) in surface waters whereas in wastewaters varied from 0.3 to 25 ng/l for the same compounds. Several opiates (morphine, codeine, norcodeine, EDDP, methadone) and cannabinoids (THC, THC-

Table 6

Occurrence of opiates and cannabinoids in surface waters from Llobregat river (NE Spain), in ng/l

Depressor drugs	Surface water samples ^a					
	SW-1	SW-2	SW-3	SW-4	SW-5	SW-6
Normorphine	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Morphine	6.3	6.1	4.8	5.5	5	5
Codeine	25.3	21.2	18.5	21.7	24.5	26.7
Norcodeine	<LOQ	2.9	<LOQ	3.5	5.5	8.5
6-AM	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.4
Heroin	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Fentanyl	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
EDDP	10.4	17.5	9.61	11.7	11.4	12.9
Methadone	10.1	7.6	5.1	4.9	5.8	4.9
THC-COOH	25.1	27.4	34.1	19	22	16.4
THC	<LOQ	<LOQ	13.6	<LOQ	<LOQ	<LOQ

^a SW1 to SW3 were collected in April 2007 and SW4 to SW6 in May 2007.

COOH) has been found in wastewaters at nanogram per liter level both in influents and effluents. The same compounds were also found in surface water at lower nanogram per liter level. On the contrary, fentanyl, heroin and 6-acetylmorphine were not detected in any sample. The results obtained prove the suitability of the developed method and the presence of several opiates and cannabinoids in waters.

Acknowledgements

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).

References

- [1] T.A. Ternes, *Water Res.* 32 (1998) 3245.
- [2] T.A. Ternes, *Trends Anal. Chem.* 20 (2001) 419.
- [3] D. Calamari, E. Zuccato, S. Castiglioni, R. Bagnati, R. Fanelli, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 1241.
- [4] S. Rodriguez-Mozaz, M.J. Lopes de Alda, D. Barceló, *Anal. Chem.* 76 (2004) 6998.
- [5] T.A. Ternes, A. Joss (Eds.), *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances*, IWA Publ, London, UK, 2006.
- [6] S. Castiglioni, E. Zuccato, E. Crisci, Ch. Chiabrando, R. Fanelli, R. Bagnati, *Anal. Chem.* 78 (2006) 8421.
- [7] D. Hummel, D. Löffler, G. Fink, T.A. Ternes, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 7321.
- [8] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran, F. Ventura, *Anal. Chem.* 79 (2007) 3821.
- [9] E. Zuccato, C. Chiabrando, S. Castiglioni, D. Calamari, R. Bagnati, S. Schiarea, R. Fanelli, *Environ. Health* 4 (2005) 1.
- [10] J. Bones, K.V. Thomas, B. Paull, *J. Environ. Monit.* 9 (2007) 701.
- [11] World Drug Report 2007, United Nations, Office of Drugs and Crime, 2007; <http://www.unodc.org/unodc/index.html>.
- [12] Drugs of Abuse, Regional Laboratory for Toxicology <http://www.toxlab.co.uk/dasguide.htm#OPIATES>.
- [13] Drugs of Abuse, Regional Laboratory for Toxicology <http://www.toxlab.co.uk/dasguide.htm#CANNABIS>.
- [14] M. Gergov, I. Ojanperä, E. Vuori, *J. Chromatogr. B* 795 (2003) 41.
- [15] W. Weinmann, M. Goerner, S. Vogt, R. Goerke, S. Pollak, *Foren. Sci. Int.* 121 (2001) 103.
- [16] M. Concheiro, A. de Castro, O. Quintela, A. Cruz, M. Lopez-Rivadulla, *J. Chromatogr. B* 810 (2004) 319.
- [17] H. Teixeira, P. Proença, A. Verstraete, F. Corte-Real, D.N. Vieira, *Foren. Sci. Int.* 150 (2005) 205.
- [18] M. Laloup, M. Ramirez Fernandez, M. Wood, G. De Boeck, C. Henquet, V. Maes, N. Samyn, *J. Chromatogr. A* 1082 (2005) 15.
- [19] B. Maralikova, W. Weinmann, *J. Mass Spectrom.* 39 (2004) 526.
- [20] W. Maralikova, Weinmann, *J. Chromatogr. B* 811 (2004) 21.
- [21] R.E. Choo, C.M. Murphy, H.E. Jones, M.A. Huestis, *J. Chromatogr. B* 814 (2005) 369.
- [22] M. Wood, M. Laloup, MdelM. Ramirez Fernandez, K.M. Jenkins, M.S. Young, J.G. Ramaekers, G. DEBoeck, N. Samyn, *Forens. Sci. Int.* 150 (2005) 227.
- [23] M. Wood, M. Laloup, MdelM. Ramirez Fernandez, E.A. Bruijijn, R. Maes, G. De Boeck, *J. Chromatogr. A* 1130 (2006) 3.
- [24] European Union Decision 2002/657/EC (August 17, 2002), *Off. J. Eur. Commun.* 221 (2002) 8.
- [25] L. Rivier, *Anal. Chim. Acta* 492 (2003) 69.
- [26] M.E. Swartz, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 28 (2005) 1253.
- [27] K. Yu, L. Di, E. Kerns, S.Q. Li, P. Alden, R.S. Plumb, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 21 (2007) 893.
- [28] I.S. Lurie, *J. Chromatogr. A* 1100 (2006) 168.
- [29] J. Castro-Perez, R. Plumb, J.H. Granger, I. Beattie, K. Joncour, A. Wright, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19 (2005) 843.
- [30] G.J. Dear, A.D. James, S. Sarda, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (2006) 1351.
- [31] M. Mezcuca, A. Aguera, J.L. Lliberia, M.A. Cortes, B. Bago, A.R. Fernandez-Alba, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006) 222.
- [32] M. Petrovic, M. Gros, D. Barceló, *J. Chromatogr. A* 1124 (2006) 68.
- [33] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A.J. Guwy, *J. Chromatogr. A* 1161 (2007) 132.
- [34] M.C. Zumvrait, C. Moore, *Téc. Lab.* 310 (2006) 252.
- [35] R. Rodil, J.B. Quintana, T. Reemtsma, *Anal. Chem.* 77 (2005) 3083.
- [36] K. Raith, R. Neubert, Ch. Poeaknapo, C. Boettcher, M.H. Zenk, J. Schmidt, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14 (2003) 1262.
- [37] M.J. Bousz, R. Maier, M. Erkens, S. Driessen, *J. Chromatogr. B* 703 (1997) 115.
- [38] C.M. Murphy, M.A. Huestis, *J. Mass Spectrom.* 40 (2005) 1412.

2.2.2. Article científic:

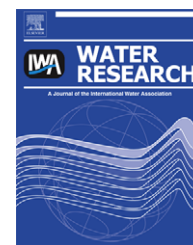
MONITORING OF OPIATES, CANNABINOIDS AND THEIR METABOLITES IN WASTEWATER, SURFACE WATER AND FINISHED WATER IN CATALONIA, SPAIN.

M. Rosa Boleda^a, M. Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^a.

^aAigües de Barcelona, S.A. General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

Water Research 2009, 43(4):1126-1136

Available at www.sciencedirect.comjournal homepage: www.elsevier.com/locate/watres

Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain

M^a Rosa Boleda^a, M^a Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,*}

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

^bUniversity of Barcelona, Department of Analytical Chemistry, Avinguda Diagonal, 647, 08028 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 September 2008

Received in revised form

27 November 2008

Accepted 28 November 2008

Published online 30 December 2008

Keywords:

Consumption drugs

Opiates

Cannabinoids

Drug metabolites

Wastewater

Surface water

Treated water

ABSTRACT

The occurrence of several opiates and cannabinoids in wastewaters and surface waters has been investigated. Most of the compounds (8 out of 11) were identified in both influent and effluents of fifteen wastewater treatment plants (WWTPs). Codeine, morphine, EDDP and methadone were detected in almost all samples with median values of 69 ng/L; 63 ng/L; 28 ng/L and 18 ng/L, respectively, whereas the main cannabinoid metabolite THC-COOH presented a median value of 57 ng/L in influents. A rough estimate of heroin and cannabis consumption was performed from the analysis of target urinary metabolites in wastewater influents. Data obtained from influents of rural and urban WWTPs gave 0.07% of heroin consumption (0.67% for the largest urban WWTP) and 4% consumption of cannabinoids, respectively for the population aged between 15 and 64 years old. The presence of opiates and cannabinoids in surface waters used for drinking water production showed the presence of the same compounds identified in wastewater effluents at concentrations up to 76 ng/L for codeine; 31 ng/L for EDDP; 12 ng/L for morphine and 9 ng/L for methadone at the intake of the DWTP. A complete removal of all studied drugs present in surface water was achieved during the potabilization process except for methadone and EDDP (91% and 87% removal, respectively).

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Illicit drugs are the latest group of emerging compounds identified in the aquatic environment which are receiving much attention. These compounds as already stated for pharmaceuticals (Daughton, 2001), reach surface waters unaltered or slightly transformed via wastewater effluents from wastewater plants (WWTPs). Since most of these surface waters may be used for drinking water purposes, the presence of illicit drugs is a matter of concern.

Although the occurrence of illicit drugs (metamphetamine) was reported in effluents from three WWTPs in the USA in 2004 (Jones-Lepp et al., 2004), the first comprehensive work on the presence of illicit drugs –cocaine and its metabolite benzoylecgonine– in wastewaters and surface waters was performed in Italy (Zuccato et al., 2005) and recent reports on the presence of illicit drugs in waste, surface and finished water come from different European countries (i.e. Germany, Italy, Ireland, Spain, Wales and Belgium). Thus, cocaine and its metabolite and amphetamine-type compounds (ATS) have

* Corresponding author. Tel.: +34 933422715.

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

0043-1354/\$ – see front matter © 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.watres.2008.11.056

been identified in wastewaters and surface waters (Hummel et al., 2006; Castiglioni et al., 2006; Bones et al., 2007; Zuccato et al., 2008a,b; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Postigo et al., 2008; Kasprzyk-Hordern et al., 2008; Gheorge et al., 2008; Van Nuijs et al., 2009) whereas the only work dealing with removal of these illicit drugs in drinking water treatment plants (DWTPs) proved that benzoylecgonine can partially survive the potabilization process (Huerta-Fontela et al., 2008b). Opioids and cannabinoids have also been found in wastewaters and/or surface waters (Hummel et al., 2006; Bones et al., 2007; Boleda et al., 2007; Postigo et al., 2008; Zuccato et al., 2008a,b) but at present there is little information dealing with their behavior in DWTPs. The amount of drug residues entering a WWTP reflects the bulk excreted in urine and therefore, it can be used to estimate levels of community consumption of illicit drugs (Daughton, 2001; Zuccato et al., 2005, 2008a,b; Bones et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008a). Using this approach Zuccato et al. (2008b) calculated the consumption rates (mg/day/1000 people) of cocaine, amphetamine-type compounds, heroin and cannabinoids from concentrations measured in influents of Milan, Lugano and London WWTPs whereas Bones et al. (2007), Huerta-Fontela et al. (2008a) and Van Nuijs et al. (2009) have estimated the consumption rates of cocaine in Dublin, NE-Spain and Belgium respectively.

The analytical methods described in the literature for the determination of illicit drugs in the aquatic environment are mainly based on off-line solid-phase extraction (SPE) followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) (Zuccato et al., 2005, 2008a,b; Castiglioni et al., 2006; Bones et al., 2007; Hummel et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Boleda et al., 2007; Gheorge et al., 2008) or by on-line SPE-LC/MS/MS (Postigo et al., 2008). The limits of quantification of the different analytical methods cited above were from the sub-ng/L to few ng/L depending on the compound.

The purpose of the present work is to determine the occurrence of several drugs of abuse in wastewaters, surface waters and treated water using an analytical method previously developed (Boleda et al., 2007). The compounds selected for this study are as follows: 1) the opioids and opioid pharmaceuticals heroin and its metabolite 6-acetylmorphine (6-AM), morphine (analgesic and also metabolite from heroin), codeine (analgesic), their metabolites normorphine and norcodeine; the synthetic opioids fentanyl and methadone and its metabolite 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine (EDDP) and 2) the cannabinoids tetrahydrocannabinol (THC), the primary active constituent of cannabis and its main urinary metabolite 11-nor-9-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC-COOH) (Baselt, 2004).

To provide a broad overview of the occurrence of these drugs of abuse in waste, surface and treated waters, different types of WWTPs located in Catalonia (NE-Spain) covering small, medium and large size plants were studied. Moreover consumption rates have been estimated from the influent of a large WWTP. Once proved the presence of the illicit drugs in the effluents of wastewaters, we studied their presence in the river Llobregat and its tributaries. This river receives effluents from several WWTPs and also serves as raw water for drinking water production. The behavior of the target compounds in one of these drinking water treatment plants (DWTPs) and its

ability to remove them in a conventional potabilization process (prechlorination, coagulation/flocculation, sand filtration, ozonation, granular activated carbon (GAC) filtration and postchlorination) was evaluated.

2. Experimental section

2.1. Chemicals and reagents

Normorphine, morphine, norcodeine, codeine, 6-acetylmorphine (6-AM), heroin, fentanyl, 2-ethylene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine (EDDP), methadone, 11-nor-carboxy- Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THCCOOH) and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA). Deuterated standards morphine- d_6 , codeine- d_6 , 6-acetylmorphine- d_6 , heroin- d_9 , fentanyl- d_5 , EDDP- d_3 , methadone- d_9 , THCCOOH- d_3 and THC- d_3 , were also purchased from Cerilliant (USA). Molecular structure, CAS number and molecular weight are shown in Fig. 1.

Analytical grade ammonium acetate, acetic acid, ammonium formate and formic acid were obtained from Sigma Chemical (St.Louis, MO, USA). HPLC-grade methanol and acetonitrile were provided by J.T.Baker (Deventer, The Netherlands). Methanol purge&trap grade was obtained from Riedel-de-Haën (Seelze, Germany). Water was purified in an Elix-MilliQ system (Millipore., Bedford, MA, USA). Mobile phases were filtered through a 0.22 μm PVDF filter (Pall, MI, USA).

2.2. Sample collection

Samples (250 mL each) were collected and stored in dark bottles at 4 °C for a maximum of 3 days, then extracted and analyzed. Samples were filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, Maidstone, UK) prior to extraction. For chlorinated samples, sodium thiosulfate was added to prevent degradation of target compounds with chlorine.

2.2.1. Wastewater samples

Samples from influents and effluents of wastewater treatment plants (WWTPs) which were located in the following river basins: 2 (Ebro); 4 (Segre); 5 (Besós); 2 (Llobregat) and one in the Foix river (see Fig. 2) were collected from March to May 2007. Table 1 displays the characteristics of the studied WWTPs which treat wastewaters (urban or mixed urban and industrial) coming from very small (200 population equivalents) to medium size cities (266,500 population equivalents) and flows varying from 600 to 40,500 m³/day. Most of the plants cited above operate with secondary treatment using activated sludge. Composite samples (24 h) were obtained by pooling water every hour using an automatic sampling system (ISCO 3700 composite sampler, Teledyne ISCO, USA).

Additionally, influent grab samples from an additional WWTP with a tertiary treatment (flow 420,000 m³/day and around 2 million equivalent inhabitants serviced) and located in the mouth of the river Llobregat were analyzed daily during one week.

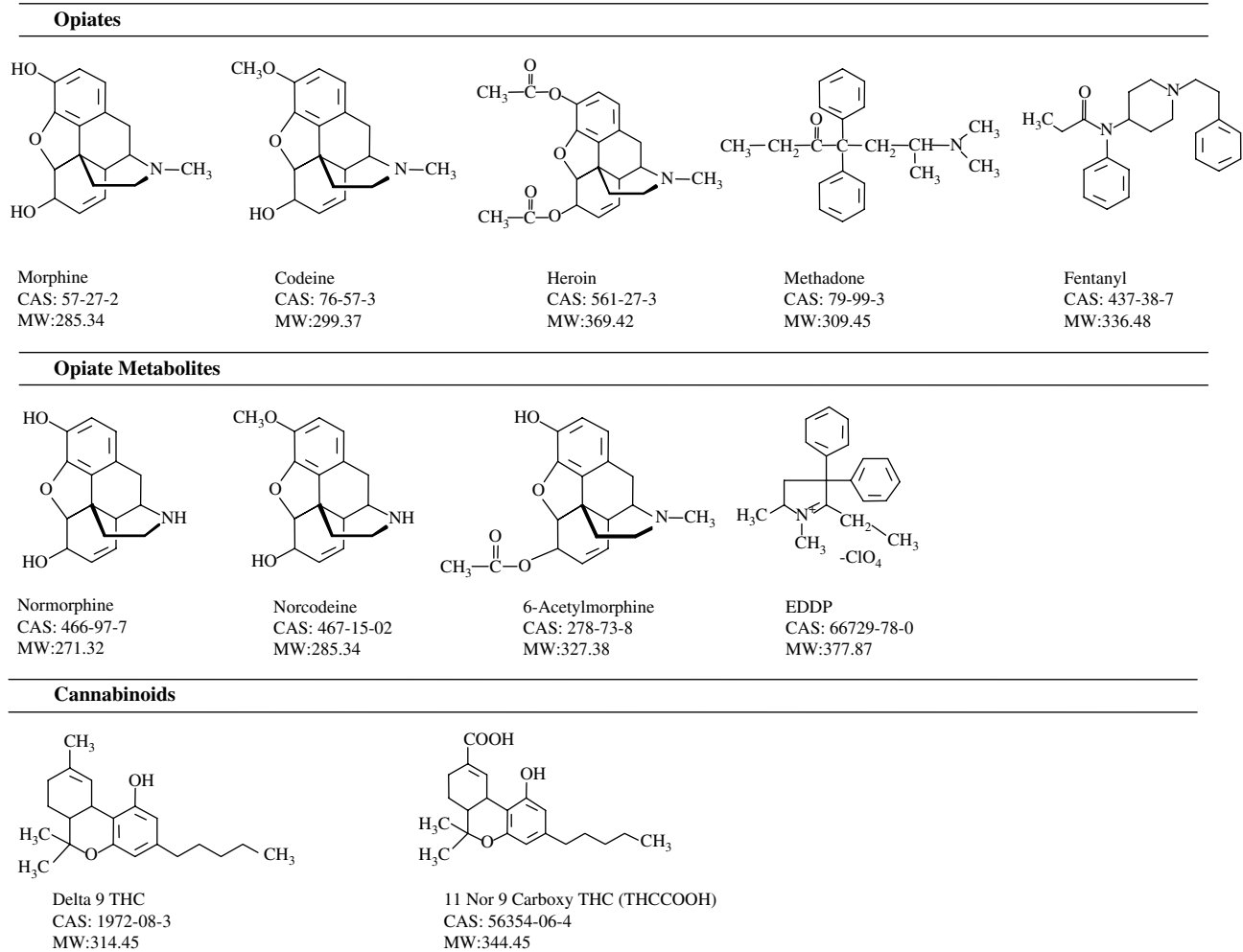


Fig. 1 – Structures, CAS number and molecular weight of the studied drugs.

2.2.2. Surface waters

A total of fifteen surface water sampling points from the river Llobregat, the main river supplying raw water to Barcelona and its surroundings and its tributaries (Cardener, Anoia and Rubí) were collected as grab samples in spring and fall 2007 (Fig. 2). The sampling points were selected to verify changes in the concentrations of the target compounds and the following were monitored: Sampling points 1 and 2 have no significant contributions from WWTPs; 3 where 30% of river flow is diverted for irrigation and drinking water purposes is situated downstream of a populated area. Important contributions of wastewater effluents to the river flow occur from sampling points 4–7. The impact of tributaries into the main river can be measured in sampling points 4 and 5 (up and downstream) of the confluence with the river Cardener (sampling points 10–12) and 6 and 7 (up and downstream) of the confluence with the river Anoia (sampling points 13–15). The major drinking treatment plant in this area is influenced by the quality of the river raw water which is monitored in 8 and 9 (intake of a DWTP). It must be mentioned that Rubí creek (sampling point 16) is fully diverted and that only 10% of the river Anoia

discharges into the main river (90% diverted) because of their high levels of pollution.

2.2.3. Drinking water samples

The drinking water treatment plant (DWTP) selected for this study is able to potabilize 5×10^8 m³/day and to supply finished water to a population above one million inhabitants. The DWTP treats raw water from river Llobregat (sampling point 9) which the quality as a Mediterranean river is highly variable due to its irregular flow and extremely changing physico-chemical characteristics. The treatment consists of a conventional prechlorination to break-point, addition of coagulants and flocculants, sand filtration, dilution with groundwater in variable amounts to improve water quality, ozonation, granular activated carbon filtration and a final postchlorination to ensure chlorine residual. The efficiency of the different steps of the treatment was evaluated by analyzing samples before and after each process. Grab samples were collected taking into account the hydraulic retention times (HRT's) which are extremely variable (i.e. 5–10 h) depending on the amount of water treated,

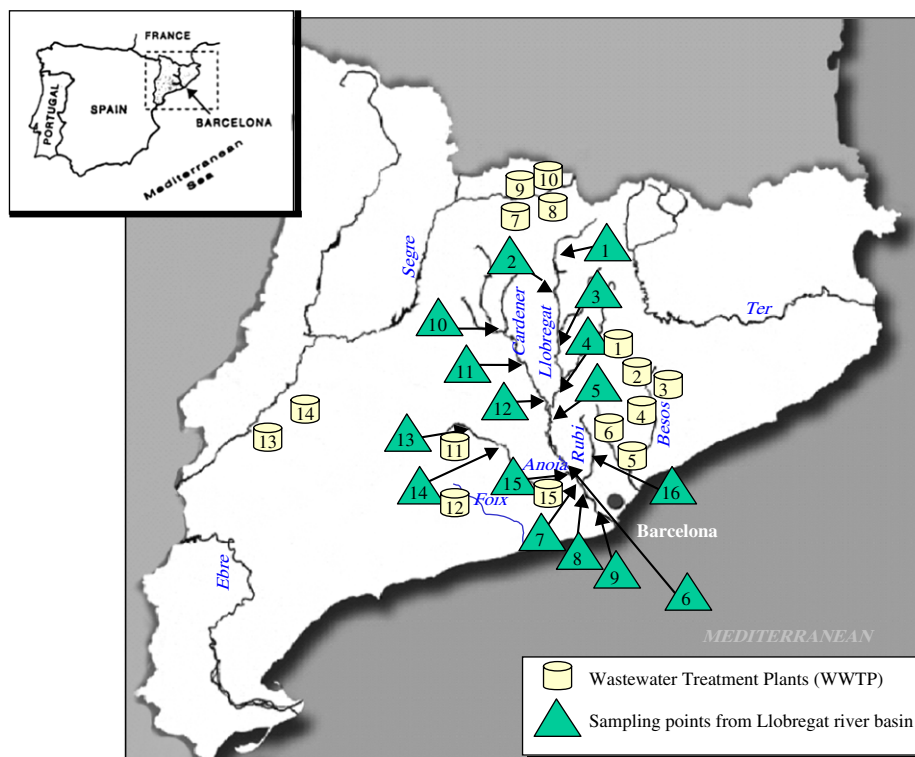


Fig. 2 – Geographical situation of the WWTPs and surface water sampling points analyzed.

groundwater dilution, the impulsion flow rates and the number of operative ozone generators. The sampling survey was carried out daily during one week in June and October 2007 and in February 2008.

Table 1 – Characteristics of the wastewater treatment plants sampled to study the presence of cannabinoids and opiates.

Identification	River Basin	Q (m ³ /d)	Inhabitants serviced
WW1	Besos	3600	24,400
WW2	Besos	4800	22,100
WW3	Besos	36,000	230,000
WW4	Besos	3552	174,000
WW5	Besos	40,464	266,500
WW6	Besos	3912	20,200
WW7	Ebro	600	2800
WW8	Ebro	970	990
WW9	Ebro	708	200
WW10	Ebro	9480	30,100
WW11	Llobregat	19,824	64,000
WW12	Foix	7776	104,800
WW13	Ebro	20,328	53,000
WW14	Ebro	3024	17,400
WW15	Llobregat	1620	16,200

The treatments applied are biologic and activated sludge for WW1 to WW13, and biologic and aerated lagoon for WW14 and 15. WW 7,8 and 9 are exclusively urban wastewaters. The rest are blends of urban and industrial wastewaters in variable proportions.

2.3. Analytical methodology

The studied drugs of abuse were analyzed using a previously reported SPE-UPLC-MS/MS method (Boleda et al., 2007). Briefly, 200 mL of water (1% methanol) spiked with 50 ng/L of each labeled standard were enriched by SPE on Oasis-HLB cartridges (200 mg, 6 mL, Waters, Milford, USA) at a flow rate of 10 mL/min. The cartridges were washed with 3 mL of water and dried with nitrogen (5 min.). Analytes were eluted from the cartridge using 8 mL of methanol and the extract was evaporated to 500 µL under a stream of nitrogen. Then, the extract was split into two aliquots. One aliquot (250 µL) was used for the analysis of cannabinoids, and the other (250 µL) evaporated and further reconstituted in water was used for the analysis of opiates.

Compounds were analyzed by ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The chromatographic separation was performed at 40 °C on a 100 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 µm particle size Acquity BEH C₁₈ column (Waters.) The following gradient was used: Solvent A: Methanol; solvent B: 50 mM ammonium formate/formic acid buffer (pH 3.8) at a flow rate of 0.4 mL/min (Boleda et al., 2007). The triple quadrupole mass spectrometer, Quattro Micro (Waters) was operated in electrospray positive ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and the protonated molecular ion of each compound was chosen as precursor ion. A minimum of two transitions per compound were used (4 identification points) as required by the European Council Directive (96/23/EC) (Commission of the European Communities, 2002). For some compounds a second confirmation

transition was needed when the pseudotransition was employed for quantitation. Thus, the following quantification and confirmation transitions of target compounds were: Normorphine (272 → 272; 272 → 165; 272 → 121); morphine (286 → 286; 286 → 165; 286 → 152); codeine (300 → 300; 300 → 165; 300 → 152); norcodeine (286 → 286; 286 → 165; 286 → 152), 6-acetylmorphine (328 → 328; 328 → 165; 328 → 152); heroin (370 → 370; 370 → 165; 370 → 268); fentanyl (337 → 105; 337 → 188), EDDP (278 → 234; 278 → 186); methadone (310 → 105; 310 → 265), THC (315 → 193; 315 → 123) and THC-COOH (345 → 327; 345 → 193).

Optimized cone voltages and collision energies as well as a detailed description of the calibration and of the quality parameters validation are reported elsewhere (Boleda et al., 2007). Isotope dilution was used for quantitation by adding deuterated analogues to each sample prior extraction. For normorphine and norcodeine, quantitation was performed using the deuterated analogues of morphine and codeine, respectively. Quality parameters (intra-day and inter-day precisions) for each analyte were established in ultrapure water, surface and wastewaters. Recoveries were usually higher than 70% and quantification limits of the method were in the low ng/L level (Boleda et al., 2007).

2.4. Loads calculation

Influent concentrations of wastewaters were multiplied by the measured flow rates and also by the number of inhabitants served in order to normalize the obtained values. On the other hand, loads in surface waters were calculated from the drug concentrations in water and the water flow rate at each point. It must take into account that river Llobregat as a Mediterranean River shows important fluctuations in flow rates and therefore only estimated loads can be considered because errors associated with measured flow rates are ~20% in the river basin and ~5–10% at the DWTP intake, respectively.

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of drugs of abuse in wastewaters

Table 2 summarizes the results achieved in fifteen influent and effluent samples from WWTPs in NE Spain covering mainly rural and small-medium urban environments. It includes the number of positive samples (>LOQ), median concentrations (in ng/L) and 90th percentiles for each compound in both influents and effluents.

Most of the opiates were found in the majority of the influent samples. For instance methadone and its main metabolite EDDP were identified in all the samples (Table 2) at concentration levels ranging from 3 to >1000 ng/L depending on the sample site. Concentrations of morphine which was present in 87% of the influents were more resembling (from 25 to 278 ng/L). This compound can be excreted free or as morphine-3β-D- and morphine-6β-D-glucuronides (Baselt, 2004). Glucuronide conjugates of target drugs have not been included in this study because of the unavailability of most standards but it is known that glucuronides are

Table 2 – Drug concentrations (ng/L) and estimated loads (mg/day 1000 inh) in influent and effluent samples from 15 WWTPs (Catalonia, NE Spain) (April–May 2007).

	Influent (ng/L)				Effluent (ng/L)					
	Samples ^a	Range ^b	Median ^c	90% percentile ^d	Estimated loads ^e (mg/day 1000 inh)	Samples ^a	Range ^b	Median ^c	90% percentile ^d	Estimated loads ^e (mg/day 1000 inh)
Normorphine	2	12.5–30.3	12.5	30.3	0.3–44	2	30.7–107	12.5	107	0.3–44
Morphine	13	25.5–278	59.3	208	0.8–54	7	12.0–81.1	3.6	81.1	0.5–13
Codeine	15	5.7–120	69.3	106	1.4–95	14	3.1–397	38.7	354	0.7–62
Norcodeine	10	5.0–46.1	6.0	28.1	0.1–10	5	5.2–40.3	2.5	40.3	0.1–8.9
EDDP	15	3.3–1029	28.1	471	0.6–199	15	2.7–1150	28.9	676	1.1–223
Methadone	15	3.4–1531	18.3	868	0.3–232	15	3.4–732	9.4	450	0.2–111
Heroin	0	–	–	–	–	0	–	–	–	–
6-Acetylmorphine	0	–	–	–	–	0	–	–	–	–
Fentanyl	0	–	–	–	–	0	–	–	–	–
THC-COOH	8	23.5–402	23.5	402	0.9–87	12	14.8–71.7	27.8	64.6	0.4–136
THC	5	11.3–127	4.2	127	0.1–19	1	20.5	4.2	20.5	0.1–15

^a Number of samples with concentrations >LOQ (LOQs: normorphine 25 ng/L; morphine 7.1 ng/L; codeine 2.5 ng/L; norcodeine 5 ng/L; EDDP 0.7 ng/L; methadone 0.3 ng/L; heroin 20 ng/L; 6-acetylmorphine 3.1 ng/L; fentanyl 1.7 ng/L; THC-COOH 12.5 ng/L; THC 8.3 ng/L).

^b Range of concentrations for samples >LOQ.

^c Median of all WWTP analyzed. For negative samples half value of LOQ has been considered.

^d Percentile calculation according to NIST (2006).

^e Load ranges for all WWTP analyzed. For negative samples half value of LOQ has been considered.

readily hydrolyzed in untreated wastewater and during wastewater treatment as has been described for estrogens (D'Ascenzo et al., 2003; Ternes et al., 1999). So, it is feasible that the detected morphine in the influents came from intake of morphine itself but also from its conjugates, from 6-acetylmorphine (metabolite of heroin) and also from partial transformation of codeine (5–10%) (Baselt, 2004). Normorphine was only found in the influents of the two WWTPs with higher levels of morphine. Codeine was also detected in all influent samples with levels up to 120 ng/L. Codeine is excreted free, conjugated as codeine-6-glucuronide (~70%) or converted to norcodeine (~10%) (Baselt, 2004). The latter was present in 10 out of 15 WWTPs reaching a maximum concentration of 46 ng/L whereas codeine-6-glucuronide which was not analyzed would be hydrolyzed as previously described for morphine.

The cannabinoids were also detected in several of the WWTP samples being the concentration of the main metabolite, THC-COOH, higher than that of THC (Table 2). THC is extensively metabolized and as a result it is present in urine and therefore in wastewater at relatively low amounts.

Fentanyl, heroin and its metabolite 6-acetylmorphine were not detected in any of the influent and effluent samples above their LOQs (1.7 ng/L, 20 ng/L and 3.1 ng/L, respectively). Several factors can explain the absence of these compounds; fentanyl is mainly excreted as norfentanyl (26–55%) which was not included in this study whereas the unchanged drug accounts only for 0.4–6% (Baselt, 2004). Heroin is rapidly deacetylated in blood to 6-acetylmorphine which is further hydrolyzed to morphine. Thus, traces of heroin in aquatic samples (Postigo et al., 2008) should probably come from direct dumpings.

Concentrations of analytes in effluent samples showed limited removal and in some cases concentration values were higher than those found in influents. For instance, the average values of methadone in effluents are ~37% lower than those measured in influents, but for EDDP no apparent removal as a whole was observed in agreement with the results reported by Castiglioni et al. (2006) in Italian and Swiss WWTPs. For morphine, an average of 73% removal was obtained taking into account the influent and effluent value of each WWTP. As discussed previously, the cleavage of morphine glucuronide conjugates to free morphine during wastewater treatment can contribute to the presence of this last compound in the effluent. In addition, the N-demethylation of morphine during wastewater treatment can explain the higher concentration levels of its metabolite normorphine in the two effluents. A similar behavior was reported for amphetamine-type compounds such as MDMA to yield MDA (Castiglioni et al., 2006; Huerta-Fontela et al., 2008a).

Poor elimination was observed for codeine with an average removal of only ~33% that can be explained as above by the cleavage of codeine-6-glucuronide to free codeine during wastewater treatment. Moreover, some values of norcodeine in effluents higher than those measured in influents are probably due to partial transformation of codeine into norcodeine via N-demethylation. The main metabolite of tetrahydrocannabinol, THC-COOH was found in many effluent samples (12 out of 15 WWTPs) with average removals of 31% whereas the parent compound THC was efficiently eliminated (~97%).

In order to normalize the results, loads in both influent and effluent samples were estimated (see Table 2). For this purpose, concentrations were multiplied by the flow rate of each WWTP and the number of inhabitants served. Maximum loads in both influents and effluents were obtained for methadone, EDDP, codeine, THC-COOH and morphine with levels in influents between 54 and 232 mg/(day 1000 inh.) and lower values in effluents, from 13 to 223 mg/(day 1000 inh.). EDDP, the metabolite of methadone, showed higher levels in effluents (maximum 223 mg/(day 1000 inh.)) than in influents (maximum 199 mg/(day 1000 inh.)) which is probably due to the transformation of methadone during wastewater treatment as explained above. Among the studied compounds, normorphine, norcodeine and THC were those compounds with lower loads in influents (≤ 44 mg/(day 1000 inh.)).

Zuccato et al. (2008b) suggested that it is possible to have an estimation of drug consumption rates from the measured loads on the WWTP influents which reflect the direct excretion of drug residues by consumers in the population served by these WWTPs. For this estimation, the amount of each urinary metabolite is corrected by a factor that takes into account the known fraction of the consumed parent drug normally excreted as a metabolite in urine and the parent drug-to-metabolite molar ratio.

In order to have a rough estimation of consumption of the selected drugs in the studied area, a very large WWTP located at the mouth of the river Llobregat and serving around two million equivalent inhabitants was considered. In this case, the WWTP was monitored daily during one week and the results expressed as concentrations and estimated loads are displayed in Table 3. Morphine (356 ng/L), codeine (314 ng/L), THC-COOH (152 ng/L); EDDP (132 ng/L) and methadone (55.3 ng/L) were the main detected compounds. The metabolites normorphine (28.3 ng/L) and norcodeine (7.8 ng/L) were also identified. Using these results and the same approach given by Zuccato et al. (2008b) we have roughly calculated heroin consumption based on wastewater morphine results, subtracting the average consumption of therapeutic morphine 10 mg/(day 1000 inh.) in Spain (Zuccaro et al., 2006)

Table 3 – Average drug concentrations and estimated loads in influents samples from a large WWTP sampled during one week.

	Influent (ng/L) \pm SD	Estimated loads (mg/day 1000 inh.) \pm SD
Normorphine	28.3 \pm 12.8	4.2 \pm 1.9
Morphine	356 \pm 90.1	53.5 \pm 13.5
Codeine	314 \pm 90.6	47.0 \pm 13.6
Norcodeine	7.8 \pm 6.1	1.2 \pm 0.9
EDDP	132 \pm 36.0	19.8 \pm 5.4
Methadone	55.3 \pm 14.3	8.3 \pm 2.1
Heroin	–	–
6-acetylmorphine	–	–
Fentanyl	–	–
THC-COOH	152 \pm 105	22.8 \pm 0.6
THC	6.9 \pm 2.5	0.9 \pm 0.6

Table 4 - Concentration levels (ng/L) at sampling points from the river Llobregat (1-9) and its tributaries river Cardener (10-12), river Anoia (13-15) and Rubí creek (16) during two campaigns performed in spring/fall 2007.

LOQs (ng/L)	Llobregat									Cardener			Anoia			Rubí
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Normorphine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphine	-	-	-	-3.2	6.0/-	-3.1	-	7.0/2.6 ^a	-2.8	-	-	-	-	-	-10.7	27.0/30.9
Codeine	-2.0	2.0/-	3.0/7.2	7.0/15.8	7.0/14.9	16.0/32.2	13.0/3.6	30.0/28.0	26.0/39.5	-	5.0/-	12.0/13.5	5.0/1.6	46.0/67.9	17.0/23.3	251.0/212.5
Norcodeine	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-10.1
EDDP	2.0/2.5	2.0/2.6	3.0/2.7	3.1/4.6	4.0/5.7	6.0/6.7	8.1/6.1	8.0/16.6	8.0/16.0	3.0/3.5	4.0/3.4	7.0/6.6	3.0/2.5	42.0/40.2	54.0/42.6	64.0/53.6
Methadone	1.0	0.8/-	1.0/0.8	0.9/0.5	2.0/1.0	3.8/0.8	3.0/1.2	2.1/3.4	2.2/4.4	2.1/4.8	2.0/1.0	2.9/1.6	2.0/-	7.9/9.8	18.1/16.2	15.0/15.0
Heroin	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-Ac. morphine	0.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fentanyl	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-2.3
THC-COOH	-79.5	-72.0	-39.1	-23.2	-7.1	-5.3	-6.4	-4.7	-4.9	-42.6	-28.2	-7.3	-3.8	-3.1	-3.3	-5.7
THC	7.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- , not detected.

^a In italics, estimated concentrations from values between LOD and LOQ.

and assuming that the contribution of morphine as a metabolite of codeine is negligible (Baselt, 2004). Thus, the therapeutic morphine excreted (85% derived from morphine) is 8.5 mg/(day 1000 inh.) in Spain and therefore the amount of morphine in the influent of the WWTP coming from heroin consumption and not from its therapeutic use can be calculated. It was estimated in 45 mg/(day 1000 inh.) as a result of subtracting the total load (53.5) from the therapeutic use (8.5). The percentage of heroin excreted as morphine (~42% average) and the molar ratio heroin/morphine (1.29) give a correlation factor (3.07) that allows us to estimate an heroin consumption of 138 mg/(day 1000 inh.) that is equivalent to 4.6 doses/(day 1000inh) considering 30 mg of intravenous heroin as one dose (Zuccato et al., 2008b). This value represents a 0.67% of the population aged between 15 and 64 years (69% of total inhabitants) and it is similar to those obtained by Zuccato et al. (2008b) in Lugano and London. This value represents the estimated number of urban consumers since it was obtained from data of a WWTP serving fully urban inhabitants. The number of consumers can be reduced if mixed rural and urban environments are considered. For instance, the average value of the 15 WWTPs included in Table 2 was 11 mg/(day 1000inh.) for morphine, which represents an estimated consumption of 0.25 doses/(day 1000inh) equivalent to 0.04% of population aged between 15 and 64 years.

For cannabis, THC-COOH the major metabolite of THC was selected. The correction factor used was 152 (Zuccato et al., 2008b) that takes into account the percentage of parent drug excreted as THC-COOH (0.6%) and the molar mass ratio between THC/THC-COOH (0.91). The estimated load of THC-COOH was 22.8 mg/(day 1000 inh.) that represents an estimated drug consumption of 3466 mg/(day 1000 inh.) or 27 doses/(day 1000 inh.) considering one dose as 125 mg for smoked THC (UNODC, 2004) which is equivalent to 4% of population aged 15-64 years.

The weekly estimated number of consumers obtained in this study for heroin (0.67%, urban inhabitants) and cannabis (4%) can be roughly compared with official data. Daily (1.5%), monthly (7.1%) and annual prevalence (10.1%) for cannabis and (0.1%) annual prevalence for heroin have been recently reported from Spain (UNODC, 2008; <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanitat/pdf/lilibreblanc.pdf>; EMCDDA, 2008). Although our data for heroin is significantly different in rural and urban environments, when all data is pooled together the estimated consumption is restricted to 0.07% of the population aged 15-64 years. This value is in agreement with the annual prevalence for heroin in Spain. For cannabis, our value lies between the daily and monthly prevalence which can be acceptable. Nevertheless, values found for cannabis can be over or underestimated mainly because of the high value of the correction factor used, 152 in front of 1.5-3.3 for the other compounds (Zuccato et al., 2008b), which is related to the low percentage (0.6%) of the metabolite excreted. Small variations on this percentage can lead to significant different values of consumption.

Methadone is excreted unchanged in variable amounts (5-50%) and its metabolite EDDP represents 3-25% (Baselt, 2004). Assuming the maximum excretion value as EDDP and a correction factor of 3.28 (molar ratio methadone/EDDP of

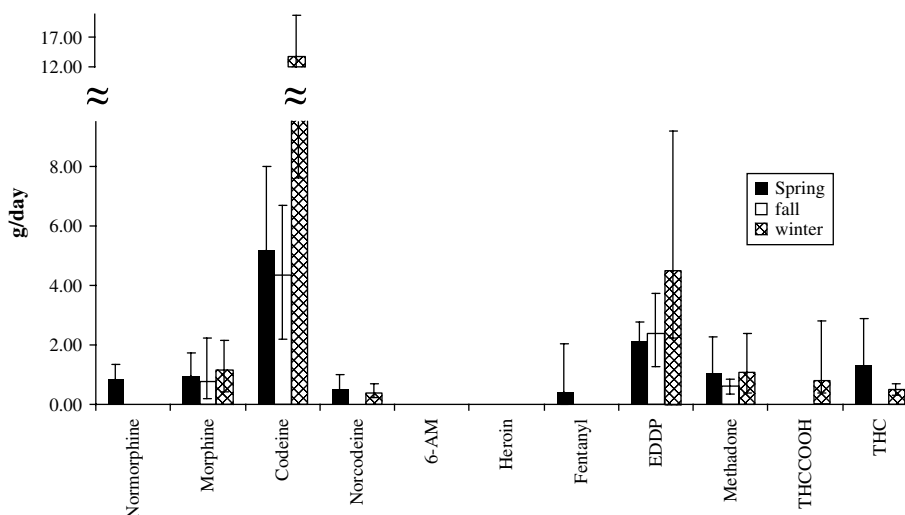


Fig. 3 – Seasonal variations of opiates and cannabinoids in the river Llobregat at the intake of a conventional DWTP. Samples collected daily during one week. Spring (June 2007). River flow: 3100 ± 1227 L/s; TOC: 5.8 ± 0.4 (mg C/L); ammonia: 0.33 ± 0.30 (mg NH_3/L); turbidity: 106 ± 11 (NTU); conductivity: 1900 ± 75 (20°C $\mu\text{S}/\text{cm}$). Fall (October 2007). River flow: 2430 ± 979 L/s; TOC: 6.1 ± 0.7 (mg C/L); ammonia: 0.30 ± 0.40 (mg NH_3/L); turbidity: 207 ± 90 (NTU); conductivity: 1525 ± 394 (20°C $\mu\text{S}/\text{cm}$). Winter (February 2008): River flow: 2325 ± 582 L/s; TOC: 6.8 ± 0.5 (mg C/L); ammonia: 2.7 ± 0.8 (mg NH_3/L); turbidity: 33 ± 9 (NTU); conductivity: 1775 ± 67 (20°C $\mu\text{S}/\text{cm}$).

0.82), the roughly estimated consumption of methadone was around 65 mg/(day 1000 inh.) that corresponds to 1.1 doses/day 1000 inh. (considering as unit dose, 60 mg). However, the high variability of excretion of its metabolite precludes an accurate estimation of consumption.

3.2. Occurrence of drugs of abuse in surface waters

River Llobregat, which supplies raw water for drinking water production to Barcelona and its metropolitan area, was selected to study the presence of illicit drugs in surface waters. The Llobregat basin covers large industrialized and densely populated (>2 million inhabitants) areas and as a consequence many small to medium size WWTPs discharge their effluents into the river. The torrential regime of this Mediterranean river leads to large variation in flow and therefore contribution of effluent wastewaters to the total flow of the river can be substantial. The presence of drugs of abuse was investigated along the river Llobregat course, its two major tributaries (Cardener and Anoia rivers) and Rubi creek located not far from a drinking water treatment plant (DWTP). A sequential survey of 15 sampling points was carried out in spring and fall 2007 taking into account the flow rates and the distance between sampling points.

Table 4 displays the results obtained. Five out of 11 compounds were frequently found along the rivers. Codeine, morphine, THC-COOH, EDDP and its parent compound methadone were the main compounds identified. On the other hand, neither normorphine, 6-acetylmorphine and heroin nor fentanyl were identified in any sample. The remaining compounds norcodeine or THC, were sporadically found. Concentrations tend to be higher along the course to the mouth as expected due to the increasing population living near the coast.

Codeine was ubiquitously found in almost all samples of river Llobregat showing the highest concentration in sampling points 8 and 9 (intake of a DWTP). Levels up to 30 ng/L and 39.5 ng/L, were measured at these points corresponding to loads around 7.8 g/day and 6.2 g/day, respectively. Methadone and its metabolite EDDP were also found in all sampling points on the main river showing an increasing concentration when moving downstream that represents estimated loads of 0.7 g/day for methadone and 2.5 g/day for EDDP entering to the DWTP. Morphine was only detected in some sampling points of the lower part of the river with maximum concentration values in points 5 and 8 that represent loads of 2.6 g/day and 1.8 g/day, respectively. The high values at these points can be explained as they are affected by the discharge of several WWTP effluents. Cannabinoids and specially THC-COOH were sporadically detected on the upper part of the river course with values up to 79 ng/L.

Regarding the two main tributaries (Cardener and Anoia), methadone, EDDP, codeine and less frequently THC-COOH were detected. In general, higher concentrations were measured just before the confluence of both tributaries and river Llobregat. Thus, estimated loads up to 2.6 g/day (codeine); 1.5 g/day (EDDP) and 0.6 g/day (methadone) were dumped into the main river from Cardener, whereas an estimated 10% of the total load, 0.9 g/day (codeine); 1.9 g/day (EDDP) and 0.6 g/day (methadone), of the river Anoia empties in the main river. In this case, the 90% is diverted thus preventing the dumping of high amounts into the main river. Very high concentrations of codeine up to 251 ng/L and also relatively high values (from 10 to 64 ng/L) for EDDP, morphine, methadone and norcodeine were found in the Rubi creek (700 L/s) which flows through high densely populated and industrialized areas but it is fully diverted due its severe pollution.

Table 5 – Opiates and cannabinoids concentrations (ng/L) and elimination percentages through potabilization process (n = 18; June and October 2007, February 2008).

	Raw water			Prechlor. + Sand filtered			Ozonated			GAC filtered			Postchlorinated water			Total elimin. (%)
	Samples ^a >LOQ	Conc. range ng/L	Elimin. ^b (%)	Samples >LOQ	Conc. range ng/L	Elimin. (%)	Samples >LOQ	Conc. range ng/L	Elimin. (%)	Samples >LOQ	Conc. range ng/L	Elimin. (%)	Samples >LOQ	Conc. range ng/L	Elimin. (%)	
Normorphine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphine	18	1.5-12.2	96 ± 18	1	<LOD-3.7	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
Codeine	18	14.0-75.7	88 ± 13	12	1.5-10.0	56 ± 20	4	1.5-4.5	100	-	-	-	-	-	-	>99
Norcodeine	10	<LOD-7.9	91 ± 28	1	<LOD-3.7	12	1	3.0	100	-	-	-	-	-	-	>99
EDDP	18	5.2-31.4	28 ± 17	18	2.5-19.1	37 ± 17	18	1.7-9.9	52 ± 17	18	1.7-4.7	29 ± 33	14	0.2-2.9	29 ± 33	88 ± 10
Methadone	18	1.9-9.4	54 ± 20	18	0.6-7.1	44 ± 20	18	0.2-6.2	59 ± 32	16	0.1-2.6	60 ± 32	11	0.1-1.7	60 ± 32	91 ± 11
Heroin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-acetylmorphine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fentanyl	1	<LOD-8.5	39	1	5.2	-	1	5.2	100	-	-	-	-	-	-	>99
THC-COOH	1	<LOD-14.7	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
THC	1	<LOD-12.0	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99

(LODs: normorphine 3.8 ng/L; morphine 0.9 ng/L; codeine 0.2 ng/L; norcodeine 0.5 ng/L; EDDP 0.1 ng/L; methadone 0.04 ng/L; heroin 0.4 ng/L; 6-acetyl morphine 0.3 ng/L; fentanyl 0.1 ng/L; THC-COOH 3.0 ng/L; THC 2.3 ng/L).

In italics calculated as the half of the LOQ.

Raw water characteristics (see footnote Fig. 3).

Spring (June 2007): Prechlorination dose: 7.4 ± 1.1(mg/L); % groundwater dilution of sand filtered water: 26 ± 22.

Fall (October 2007): Prechlorination dose: 7.4 ± 4.8 (mg/L); % groundwater dilution: 21 ± 14.

Winter (February 2008): Prechlorination dose: 22.1 ± 6.8 (mg/L); % groundwater dilution: 59 ± 6.5.

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

^b Elimination percentage for each treatment step ±SD.

3.3. Behavior of drugs of abuse through drinking water processes

The effectiveness of a conventional DWTP located in the river Llobregat to eliminate target compounds was investigated. Several factors, such as the physico-chemical properties of the studied compounds, the high variability of the raw water quality, the concentration of drugs of abuse entering the DWTP and also the treatment applied will account for their removal.

Previously, a study of seasonal variations of target drugs at the intake of the DWTP was carried out during one week in spring, fall and winter in order to know their concentration levels and variability. The main characteristics of the river raw water during the three different weeks and seasons when the study was performed are displayed as a footnote in Fig. 3 where high fluctuations of ammonia, turbidity and TOC can be observed.

Fig. 3 summarizes the results obtained. Relatively important variations were observed among seasons which are partially due to the higher flow in spring (~25%) than in the other seasons. As a general trend, higher concentrations were found on target compounds during winter in agreement with a previous study on stimulatory drugs in this river (Huerta-Fontela et al., 2008b). Codeine was the most prominent compound with maximum loads up to 13.7 g/day in winter (76 ng/L) when its major use as therapeutic drug is reported. Moreover important variations during the same week in all three seasons studied were observed. EDDP was the second largest compound identified with maximum loads up to 4.5 g/day in winter (31 ng/L) that represents an amount 50% higher than that measured in spring. Methadone and morphine enter the DWTP at quantities estimated around 1 g/day (8 ng/L, each) with no apparent significant variations in the three periods studied. The other compounds except norcodeine (up to 0.5 g/day) were irregularly identified.

Once proved the regular presence of opiates and cannabinoids at the intake of the DWTP, their behavior through the potabilization process was studied. The treatment applied in this DWTP is described in the experimental section. Samples of each step (raw, prechlorinated + sand filtered, ozonated, GAC filtered and postchlorinated) and one additional sample of groundwater (used to dilute sand filtered water) were collected taking into account the HRTs. The removal of morphine, codeine, norcodeine, EDDP, methadone was studied (see Table 5). The other target compounds, cannabinoids and fentanyl were not evaluated since they were found in only one sample.

The effectiveness of the first steps of the treatment, prechlorination, addition of flocculants/coagulants and sand filtration, were evaluated together due to the specific location of the first sampling point in the DWTP. Morphine, codeine, norcodeine and both cannabinoids were largely eliminated (~90% or higher) in this step. Recently, it has been reported that degradation of model tertiary alkylamines during chlorination occurs nearly instantaneously to form aldehydes and secondary amines (Mitch and Schreiber, 2008). Codeine and morphine could follow this pathway to give the N-demethylated derivatives (norcodeine and normorphine) which can also be eliminated in this step (91% norcodeine). In contrast, methadone and its metabolite EDDP showed a poor removal (54% and 28% %, respectively). Transformation products of

both compounds during potabilization processes have not been reported in the literature to our knowledge but chlorination of morphine with thionyl chloride has been described (Batterham and Weiss, 1965) whereas compounds having secondary amines such as methadone could lead to the formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) in a similar way than on the chlorination of aqueous diuron solutions (Chen and Young, 2008).

The following step after sand filtration was the addition of groundwater to improve the quality of water and further ozonation. Groundwater samples only showed minute amounts of methadone (max 0.5 ng/L) and EDDP (max. 2.3 ng/L). Therefore, the contribution of groundwater to the bulk of target compounds is negligible taking into account that dilution during the studied period ranged from 21% to 59%.

The compounds surviving the previous steps except morphine which was not detected were also found in the ozonated water indicating limited removals. Thus, methadone and EDDP were eliminated in percentages around 37-44% whereas codeine exhibited a removal of 56% as average value. Once ozonated, water passed through granular activated carbon filters (GAC) which were efficient enough to remove the trace levels of codeine, norcodeine and fentanyl. Methadone and EDDP were still found in almost all GAC filtered samples analyzed at concentrations up to 2.6 ng/L and 4.7 ng/L, respectively, showing that removals of both compounds by GAC filters are situated in the range 52-59%. Taking into account the physico-chemical properties of both compounds one would expect that they were adsorbed onto the GAC filters. However, it must be considered that the age of carbon filters, its regeneration frequency (9-12 months in this DWTP); variability of the water quality and desorption from GAC due to competition with other pollutants among other factors can play an important role in the elimination percentages. In our case, a 6 month average life for all GAC filters ($n = 20$) of the DWTP can be assumed.

Finally, the postchlorination step reduced the concentration levels of methadone and EDDP to values <3 ng/L for both compounds with elimination percentages following a similar trend than that observed in the prechlorination step. Thus, the water treatment performed is able to eliminate completely 6 out of 8 target compounds identified at the intake of the DWTP and only methadone and EDDP with removals of 91 and 88% respectively, were identified in the finished water.

4. Conclusions

The presence of opiates and cannabinoids in wastewaters and surface waters in NE Spain has been demonstrated. Codeine, morphine, EDDP and methadone were the most abundant target compounds. Drug consumption was estimated from influent loads in the largest urban wastewater treatment plant and values of 0.67% for heroin and 4% for cannabis were obtained. However, the percentage of heroin consumers was lowered to 0.07% when both rural and urban influent WWTPs were considered. The incomplete elimination of these compounds in wastewater treatment plants leads to their identification in surface waters. Concentration levels of identified compounds increased when moving downstream

the studied main river, that corresponds to the most densely populated area. The study of the removal of illicit drugs during drinking water treatment practices for those compounds identified at the intake of the DWTP (codeine, morphine, EDDP and methadone) showed that the potabilization process is able to completely eliminate almost all compounds. Only methadone and its metabolite EDDP survived the treatment, but in treated water concentrations lower than 3 ng/L were measured.

Acknowledgements

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).

REFERENCES

- Batterham, T.J., Weiss, U., 1965. The structure of trichloriodide. *Aust. J. Chem.* 18, 1863-1864.
- Baselt, R.C., 2004. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, seventh ed. Biomedical Publications, California, USA.
- 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, 38-48.
- 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. Monitor.* 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, 8421-8429.
- Chen, W.-H., Young, T.M., 2008. NDMA formation during chlorination and chloramination of aqueous diuron solutions. *Environ. Sci. Technol.* 42, 1072-1077.
- Commission of the European Communities, 2002. *Off. J. Eur. Communities* L221, 8-36.
- D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A., Mancini, R., Mastropasqua, R., Samperi, R., 2003. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ.* 302, 199-209.
- Daughton, C.G., 2001. Illicit drugs in municipal sewage. In: *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues*. ACS Symposium Series. The American Chemical Society, p. 348.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), 2008. *Annual Report. The State of the Drug Problem in Europe*. November 2008. Available from: EMCDDA, Lisbon, Portugal <<http://www.emcdda.europa.eu/events/2008/annual-report>>.
- Gheorge, A., van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, G.P., 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 mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 1309-1319.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2007. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters. *Anal. Chem.* 79, 3821-3829.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2008a. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 397, 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, 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. *Environ. Sci. Technol.* 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. *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 on South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498-3518.
- Mitch, W.A., Schreiber, I.M., 2008. Degradation of tertiary alkylamines during chlorination/chloramination: implications for formation of aldehydes, nitriles, halonitroalkanes and nitrosamines. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4811-4817.
- NIST.NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods, 2006. <<http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/>>.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M.J., Barceló, 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. *Anal. Chem.* 80, 3123-3134.
- Ternes, T.A., Kreckel, P., Mueller, J., 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-II. Aerobic batch experiments with activated sludge. *Sci. Total Environ.* 225, 91-99.
- UNODC (United Nations Office of Drugs and Crime), 2004. *Drug Report*. In: *Statistics*, vol. 2. <<http://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2004.html>>.
- UNODC (United Nations Office of Drugs and Crime), 2008. *World Drug Report*. <<http://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2008.html>>.
- Van Nuijs, A.L.N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2009. Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. 157, 123-129. doi:10.1016/j.envpol.2008.07.020.
- Zuccaro, P., Palmi, I., Pacifici, R., Da Cas, R., Raschetti, R., 2006. L'utilizzo dei farmaci analgesici nella terapia del dolore. *La Rivista Italiana di Cure Palliative* 1, 41-45.
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., Fanelli, R., 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ. Health Global Access Sci. Source* 4, 1-7.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Chiabrando, C., Grassi, P., Fanelli, R., 2008a. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.* 42, 961-968.
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., 2008b. Estimating community drug abuse by wastewater analysis. *Environ. Health Perspect.* 116, 1027-1032.

2.2.3. Article científic:

EVALUATION OF THE PRESENCE OF DRUGS OF ABUSE IN TAP WATERS.

M. Rosa Boleda^a, Maria Huerta-Fontela^{ab}, Francesc Ventura^a, M. Teresa Galceran^b.

^aAGBAR. General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

Chemosphere 2011, 84(11):1601-1607



Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere

Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters

M. Rosa Boleda^a, Maria Huerta-Fontela^{a,b}, Francesc Ventura^a, M. Teresa Galceran^{b,*}

^a AGBAR, Gral, Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 February 2011

Received in revised form 10 May 2011

Accepted 17 May 2011

Available online 12 June 2011

Keywords:

Tap water

Drugs of abuse

Cocainics

Opiates

Amphetamines

ABSTRACT

A total of seventy samples of drinking water were tested for non-controlled and illicit drugs. Of these, 43 were from Spanish cities, 15 from seven other European countries, three from Japan and nine from seven different Latin American countries. The most frequently detected compounds were caffeine, nicotine, cotinine, cocaine and its metabolite benzoylecgonine, methadone and its metabolite EDDP. The mean concentrations of non-controlled drugs were: for caffeine 50 and 19 ng L⁻¹, in Spanish and worldwide drinking water respectively and for nicotine 13 and 19 ng L⁻¹. Illicit drugs were sparsely present and usually at ultratrace level (<1 ng L⁻¹). For example, cocaine has mean values of 0.4 (Spain) and 0.3 ng L⁻¹ (worldwide), whereas for benzoylecgonine, these mean values were 0.4 and 1.8 ng L⁻¹, respectively. Higher concentrations of benzoylecgonine were found in Latin American samples (up to 15 ng L⁻¹). No opiates were identified in any sample but the presence of methadone and EDDP was frequently detected. Total mean values for EDDP were 0.4 ng L⁻¹ (Spain) and 0.3 ng L⁻¹ (worldwide). Very few samples tested positive for amphetamines, in line with the reactivity of chlorine with these compounds. No cannabinoids, LSD, ketamine, fentanyl and PCP were detected.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Illicit drugs are among the newest groups of emerging compounds identified in wastewater and surface waters (Daughton, 2011). Initially it may seem surprising that these compounds are found in water, but it should be remembered that the amounts of drugs of abuse consumed worldwide are similar to those of pharmaceuticals and therefore we should expect their concentrations in the aquatic environment to be similar too. United Nations estimates that between 129 and 250 million people aged between 15 and 64 years consumed illicit drugs at least once in 2008 (UNODC, 2010). Among them, amphetamine-type substances (ATS), cannabis, cocaine and opiates – heroin – with 25, 166, 16 and 12 million estimated consumers, respectively, are the main groups of illicit drugs. Human consumption and excretion lead to parent compounds and/or their metabolites reaching wastewater treatment plants (WWTPs). Incomplete removal of such substances, either altered or unaltered represents their major source in surface waters (Boleda et al., 2007, 2009; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Chiaia et al., 2008; Huerta-Fontela and Ventura, 2008; Van Nuijs et al., 2008, 2009; Zuccato et al., 2008; Loganathan et al., 2009; Zuccato and Castiglioni, 2009; Postigo et al., 2010).

Since most surface waters may be used as drinking water, the presence of illicit drugs is a matter of concern.

The occurrence of illicit drugs (specifically, metamphetamine) was already reported in 2004 in effluents from three WWTPs in the USA (Jones-Lepp et al., 2004). The first comprehensive work on the presence of illicit drugs – cocaine and its metabolite benzoylecgonine – in both wastewaters and surface waters was performed in Italy (Zuccato et al., 2005). Recently, reports have been published on their presence in wastewaters and surface waters from several European countries and the USA (Castiglioni et al., 2006; Hummel et al., 2006; Boleda et al., 2007, 2009; Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Chiaia et al., 2008; Huerta-Fontela and Ventura, 2008; Kasprzyk-Hordern et al., 2008, 2009; Postigo et al., 2008a, 2010; Van Nuijs et al., 2008, 2009; Zuccato et al., 2008; Zuccato and Castiglioni, 2009; Terzic et al., 2010). The removal of illicit drugs from municipal wastewater using advanced treatments such as reverse osmosis membranes (Boleda et al., 2010) and their behavior in a conventional drinking water treatment plant (DWTP) (Huerta-Fontela et al., 2007; Boleda et al., 2009) have also been evaluated. In these particular cases, benzoylecgonine (a metabolite of cocaine) as well as both methadone and its metabolite EDDP (2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine) survived the treatment.

The analytical methods described in the literature for the determination of illicit drugs in the aquatic environment are mainly based on either: off-line solid-phase extraction (SPE) or on-line

* Corresponding author. Tel.: +34 93 402 1275; fax: +34 93 402 1233.

E-mail address: mtgalceran@ub.edu (M.T. Galceran).

SPE followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). Limits of quantification of the different analytical methods cited above are from sub-ng L⁻¹ to a few ng L⁻¹, depending on the compound. A review of analytical methods for the determination of drugs of abuse in water is given elsewhere (Postigo et al., 2008b).

Trace levels of emerging contaminants (such as, e.g., pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds) have been reported in drinking water from different countries (Stackelberg et al., 2004, 2007; Hua et al., 2006; Gibs et al., 2007; Loos et al., 2007; Togola

and Budzinski, 2008; Viglino et al., 2008; Benotti et al., 2009; Calisto and Esteves, 2009; Kümmerer, 2009a,b). However, to the best of our knowledge very few papers have been published on the presence of illicit drugs in treated water (Huerta-Fontela et al., 2008b; Boleda et al., 2009).

The aim of this study was to evaluate the occurrence of 27 non-controlled and illicit drugs in tap waters collected in Spain. Fig. 1 displays the chemical structures and several physicochemical properties of the selected compounds. The study was extended analyzing some samples collected from other countries too.

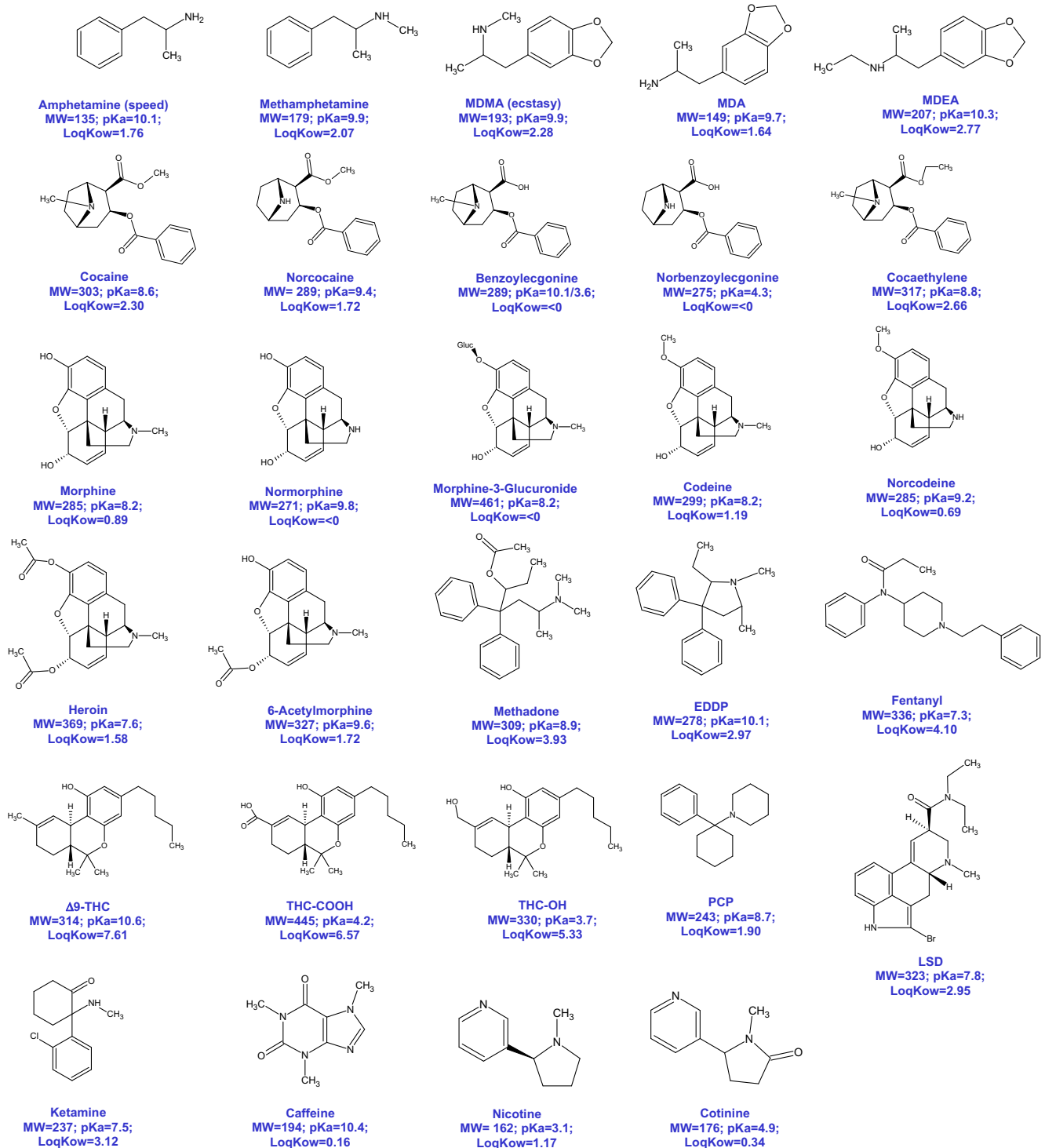


Fig. 1. Structures and some physicochemical characteristics of the studied drugs.

2. Material and methods

2.1. Standards and reagents

Individual standard solutions of each target compound and deuterated standards were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA).

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate and formic acid were obtained from Sigma–Aldrich (MO, USA). LC–MS grade acetonitrile; methanol and water were from Merck (Darmstadt, Germany).

2.2. Sample collection

Drinking water samples from 43 Spanish cities (total 50 samples) were collected directly from the tap between fall 2008 and summer 2009. Fifteen tap water samples from large cities in Austria (1), France (4), Germany (3), Iceland (2), Slovakia (1), Switzerland (2) and United Kingdom (2); as well as nine from Latin America (Argentina, Brazil, Chile (2), Colombia, Panama, Peru (2) and Uruguay); and three from Japan, were also collected and analyzed (Fig. 2). The samples were collected in 1-L propylene bottles containing sodium thiosulfate, wrapped in aluminum foil and kept refrigerated (4 °C) until analysis. Stability of the samples was checked in order to ensure the reliability of the results (see Supplementary material).

2.3. Analytical method

The analytical method employed was a modification of methods published previously (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008a). A detailed description and validation parameters are included in the Supplementary material.

2.4. Chromatographic and mass spectrometric conditions

Chromatographic separations were carried out in a Waters Acquity ultra-performance™ liquid chromatography system 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 (see Supplementary material) were achieved with solvent (A) acetonitrile with 0.1% formic acid and solvent (B) 30 mM formic acid/ammonium formate (pH 3.5).

The SPE extracts were analyzed as follows: The UPLC instrument was coupled to a Quattro Micro™ triple quadrupole mass

spectrometer (Micromass, Waters) working in ESI (+) mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode and the [M+H]⁺ of each compound was chosen as the precursor ion. Two transitions per compound (quantification and confirmation) were used as required by the European Council Directive (96/23/EC) regarding mass spectrometric detection (CEE, 2002) and the general criteria for forensic analysis (Rivier, 2003). Transitions and optimized MS/MS conditions are given in Supplementary material.

2.5. Quality control

Specific tests to check the chromatographic separation, the sensitivity and calibration were carried out daily. Information concerning quality control samples, recoveries, quality parameters of the method such as precisions at different concentration levels, LODs and LOQs are included in the Supplementary material (Table S2).

3. Results and discussion

3.1. Analysis of non-controlled and illicit drugs in tap waters from Spanish cities

Tap water from several large Spanish cities (Fig. 2) that are home to more than 12 million people were monitored at least once during 2009 for drugs of abuse. For those cities where several samples were collected, results were averaged.

Spanish DWTPs employ different combinations of primary disinfection, coagulation, flocculation, sedimentation, filtration and secondary disinfection. Chlorine is the most widely used primary disinfectant, whereas chlorine dioxide and ozone are scarcely applied. The main source of raw water for treatment in Spain is surface waters; groundwater is scarcely used. In several cities located along the coast that are deficient in surface waters, brackish water or seawater is the main source. The most common drinking water treatment process consists of preoxidation with chlorine followed by coagulation, flocculation and sedimentation; sand filtration and final postchlorination. The use of granular activated carbon (GAC) filtration and ozonation is very limited and restricted to those cities with poor quality raw water. For those cities using brackish water or seawater, the treatment most commonly applied consists of optional preoxidation (chlorine), coagulation, flocculation and sedimentation, desalination through reverse osmosis (RO) and final disinfection with chlorine. Table S3 (Supplementary material)



Fig. 2. Geographical position of sampling locations of tap water in Europe, Latin America and Japan.

Table 1
Non-controlled and illicit drugs in Spanish tap water ($n = 50$). Summary of rates of detection; mean, median and maximum levels, as well as the 75th and 95th percentiles. All values are expressed in ng L^{-1} .

Name	No. >LOQ ^a	%Freq.	Mean	Median	Max	75th percentile ^b	95th percentile ^b	LOQs	%RSD ^c day to day
<i>Non-controlled</i>									
Caffeine	50	100	50	24	392	56	212	2	5
Nicotine	50	100	13	6.0	141	11	48	1	2
Cotinine	45	90	3.4	2.8	9.8	4.5	9.2	0.3	12
<i>Cocainics</i>									
Cocaine	33	66	0.4	0.2	2.3	0.4	1.7	0.1	9
Cocaethylene	14	28	0.2	<LOQ	0.9	0.2	0.6	0.1	5
Benzoyllecgonine	17	34	0.4	<LOQ	3.1	0.9	1.5	0.2	7
<i>Opiates</i>									
Methadone	9	18	0.2	<LOQ	2.7	<LOQ	0.3	0.1	6
EDDP	43	86	0.4	0.1	3.5	0.2	1.9	0.1	6
Fentanyl	1	2	<LOQ	–	1.4	<LOQ	<LOQ	1	9
<i>Amphetamines</i>									
AMP	1	2	<LOQ	<LOQ	1.7	<LOQ	<LOQ	1	8
MDA	1	2	<LOQ	<LOQ	0.9	<LOQ	<LOQ	0.8	9
METH	2	4	<LOQ	<LOQ	1.4	<LOQ	0.6	0.5	7
MDMA (ecstasy)	0	0	<LOQ	<LOQ	–	<LOQ	<LOQ	0.2	8
MDEA	2	4	<LOQ	<LOQ	0.6	<LOQ	0.3	0.2	7

Compounds not identified in any sample: Opiates – morphine, morphine glucuronide, normorphine, codeine, norcodeine, heroin and 6-acetylmorphine. Cannabinoids – THC-COOH, THC and THC-OH. Miscellaneous – LSD, ketamine and PCP.

Note: Mean and median are based on all samples analyzed and calculated using LOD/2 for “–” values and LOQ/2 for <LOQ values.

^a Number of samples with concentration levels >LOQ.

^b Percentile calculation according to NIST; “–” are samples with conc. <LOD; <LOQ (for those levels >LOD).

^c Precision value at 10 ng L^{-1} level in tap water.

summarizes the treatment characteristics of the Spanish DWTPs studied.

A total of 12 compounds out of 27 were detected at concentrations above the LOQs in the Spanish tap water samples ($n = 50$). Table 1 summarizes the number of samples with concentrations higher than the LOQs, percent frequency of detection, mean, median and maximum levels as well as the 75th and 95th percentiles for all the Spanish tap waters analyzed. In Table S3 (Supplementary material), these values have been grouped according to three categories of treatment process.

3.1.1. Non-controlled drugs

Caffeine and nicotine were found in 100% of the samples where as cotinine was found in most of the samples (90%). Median values of 24 ng L^{-1} ; 6.0 ng L^{-1} and 2.8 ng L^{-1} were measured for caffeine, nicotine and cotinine, respectively with maximum values of 392 ng L^{-1} (caffeine); 141 ng L^{-1} (nicotine) and 9.8 ng L^{-1} (cotinine). These results are in agreement with recent reports (Huerta-Fontela et al., 2008b; Boleda et al., 2010b) which noted the incomplete elimination (79–99%) of these compounds in a Spanish drinking water treatment plant. The concentrations of caffeine found in the samples are similar to those in drinking water of different countries; up to 60–119 ng L^{-1} in USA (Stackelberg et al., 2004, 2007; Gibs et al., 2007), 40 ng L^{-1} in Canada (Hua et al., 2006; Viglino et al., 2008), 10–53 ng L^{-1} in Italy (Loos et al., 2007) or 6 ng L^{-1} in France (Togola and Budzinski, 2008). Cotinine, the main metabolite of nicotine has also been found in drinking waters reaching maximum concentrations of 20–25 ng L^{-1} in USA (Stackelberg et al., 2004; Gibs et al., 2007) and 1.4 ng L^{-1} in Canada (Hua et al., 2006) but nicotine is not currently reported. In Spanish tap water similar frequencies of detection of these compounds were found independently of the treatment applied (Table S3, Supplementary material). The presence of caffeine and cotinine which are substantially removed using RO membranes (Kimura et al., 2004; Boleda et al., 2010) in cities using brackish water or seawater as raw water can be explained because the treated water is usually blended with variable amounts of groundwater or treated surface water that can contain the above mentioned compounds.

3.1.2. Cocaine and related substances

The presence of cocaine and related compounds in Spanish effluent wastewaters and surface waters has been already demonstrated (Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Huerta-Fontela and Ventura, 2008; Postigo et al., 2008a, 2010; Bijlsma et al., 2009; González-Mariño et al., 2010; Vazquez-Roig et al., 2010). In this study, cocaine and related compounds were found in tap water at ultratrace levels. Cocaine itself was positively identified in 66% of the samples analyzed but at levels close to its LOQ with median and maximum values of 0.2 and 2.3 ng L^{-1} , respectively. Benzoyllecgonine was present in 34% of tap water samples with median concentrations of <0.2 ng L^{-1} and a maximum concentration of 3.1 ng L^{-1} . Drinking water treatment processes that include chlorination (pre/post), ozonation and GAC filtration have proved to eliminate cocaine but not benzoyllecgonine which survived the treatment (~90% removal) (Huerta-Fontela et al., 2008b; Boleda et al., 2011). No data is available for less advanced potabilization processes that could explain the values found in this study.

Cocaethylene, a substance formed when cocaine and ethanol are simultaneously consumed, was present in 28% of the drinking water samples analyzed, with mean and median concentrations of 0.2 and <0.1 ng L^{-1} . Cocaine and benzoyllecgonine were less frequently detected and with lower median values in those cities using desalination processes.

3.1.3. Opiates

Opiates have been found in Spanish wastewaters and surface waters (Boleda et al., 2007, 2009; Postigo et al., 2008a, 2010; González-Mariño et al., 2010; Vazquez-Roig et al., 2010). For instance, median values of 9.4 and 9.8 ng L^{-1} for methadone (Boleda et al., 2009) and morphine (Postigo et al., 2010), respectively have been reported in surface waters. Morphine, morphine glucuronide, normorphine, codeine, norcodeine, heroin and its metabolite 6-acetylmorphine were absent from all the tap water samples analysed. In contrast, synthetic methadone and its metabolite EDDP were present in 18% and 86% of the samples with mean values of 0.2 and 0.4 ng L^{-1} for methadone and EDDP respectively where as fentanyl was only found in one sample (2%) These results are in agreement

with those found in a previous paper where the behavior of several opiates during drinking water treatment was studied (Boleda et al., 2009). It was shown that most of these compounds were substantially eliminated (>99%), the two parent compounds, morphine and codeine during prechlorination and normorphine and norcodeine after several treatment steps. Only methadone and EDDP survived the drinking water treatment process to some extent (Boleda et al., 2009). In this study, maximum levels of 2.7 and 3.5 ng L⁻¹ were found for methadone and EDDP respectively. No trend was observed for the different treatment processes.

3.1.4. Amphetamines

Amphetamine type substances in Spanish wastewaters and surface waters have been reported (Huerta-Fontela et al., 2007, 2008a,b; Huerta-Fontela and Ventura, 2008; Postigo et al., 2008a, 2010; Bijlsma et al., 2009; Vazquez-Roig et al., 2010) with concentrations lying in the few ng L⁻¹ range in surface waters. In this study, the presence of ATS in tap water samples was very scarce ($\leq 4\%$). This is consistent with the high reactivity of chlorine with primary and secondary amines (Abbia et al., 1998) and with the results of a recent study showing that only MDMA survive the treatment process until the postchlorination step (Huerta-Fontela et al., 2008b). Median values were <LOQ for all the amphetamines studied.

3.1.5. Cannabinoids and miscellaneous compounds

None of the three compounds studied were found in the tap water samples. THC and THC-COOH have been previously analyzed in wastewaters and surface waters from NE Spain (Boleda et al., 2009; González-Mariño et al., 2010) where median values of 4.2 and 28 ng L⁻¹ respectively in the effluents of WWTPs and concentrations up to 12 ng L⁻¹ for THC and 15 ng L⁻¹ for THC-COOH in surface water entering a DWTP located in the same area were found. The prechlorination step used in this DWTP plant was efficient enough to fully eliminate both compounds (Boleda et al., 2009). In NW Spain, THC-COOH was found in wastewater effluents at concentration ranges from <1 to 49 ng L⁻¹ and

31 ng L⁻¹ in river water (González-Mariño et al., 2010). In regards to ketamine, LSD and PCP, none were detected in any sample. These results are consistent with the low levels of these compounds found in Spanish wastewaters and surface waters (Postigo et al., 2008a, 2010; Bijlsma et al., 2009; Boleda et al., 2009; Vazquez-Roig et al., 2010).

3.2. Analysis of non-controlled and illicit drugs in tap waters from cities of other several countries

In order to compare the results obtained for Spanish tap waters with other cities, we extended our study to include other countries (Fig. 2). Table 2 summarizes the results obtained in 15 samples collected from Europe, nine samples obtained from Latin America and three samples from Japan tap waters.

3.2.1. Non-controlled drugs

Caffeine and nicotine were found in 81% and 88% of the samples analyzed, whereas cotinine was only found in 54% of the samples. These frequencies are lower than those encountered for Spanish tap water which is probably due to the absence of these compounds in some European samples, mainly Iceland and to a lesser extent, Germany, Switzerland and United Kingdom. Global median values of 8.9, 4.4 and 0.8 ng L⁻¹ were measured for caffeine, nicotine and cotinine, respectively which are remarkably lower than the Spanish ones. We found that maximum values of 146 ng L⁻¹ (caffeine), 305 ng L⁻¹ (nicotine) and 14 ng L⁻¹ (cotinine) were detected in the same city, a Latin American one. In regards to the mean concentrations in tap water, those for caffeine were quite similar in Spain (50 ng L⁻¹), Latin-America (38 ng L⁻¹) and Japan (33 ng L⁻¹), but remarkably lower in (non-Spanish) European tap water (7.0 ng L⁻¹). For nicotine, similar mean values were observed in Europe (5.9 ng L⁻¹) and Japan (7.0 ng L⁻¹) whereas for Spanish and Latin-American samples this value was significantly higher (13 and 40 ng L⁻¹ respectively). Cotinine, the main metabolite of nicotine, was found at a mean concentration of 0.4 ng L⁻¹ in Europe which is significantly lower than that found in the other regions of

Table 2
Non-controlled and illicit drugs in tap water from cities of other countries ($n = 26$). Summary of the rate of detection; mean, median and maximum levels as well as the 75th and 95th percentiles. All values are expressed in ng L⁻¹.

Name	No. >LOQ ^a	%Freq.	Mean				Median				Max.	75% percentile ^b	95% percentile ^b
			Global ^c	Europe	Japan	Lat.Am.	Global	Europe	Japan	Lat.Am.			
<i>Non-controlled</i>													
Caffeine	21	81	19	7.0	33	38	8.9	4.1	37	28	146	25	55
Nicotina	23	88	18	5.9	7.0	40	4.4	4.1	7.1	5.7	305	7.1	27
Cotinine	14	54	2.2	0.4	4.5	4.0	0.8	<LOQ	4.6	2.1	14	2.2	7.2
<i>Cocainics</i>													
Cocaine	12	46	0.3	0.1	<LOQ	0.6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.1	2.9	0.2	1.2
Cocaethylene	3	11	–	<LOQ	–	<LOQ	<LOQ	<LOQ	–	<LOQ	0.4	<LOQ	0.3
Benzoylcegonine	9	35	1.8	0.2	–	4.5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.9	15	0.8	10
<i>Opiates</i>													
Methadone	5	19	0.1	0.1	–	0.2	<LOQ	<LOQ	–	<LOQ	1.2	<LOQ	0.8
EDDP	15	58	0.3	0.4	0.1	0.4	0.2	0.1	<LOQ	0.3	3.3	0.3	1.5
Fentanyl	0	0	–	–	–	–	–	–	–	–	<LOQ	–	–
<i>Amphetamines</i>													
AMP	0	0	–	–	–	–	–	–	–	–	<LOQ	<LOQ	<LOQ
MDA	4	15	<LOQ	–	–	<LOQ	<LOQ	–	–	<LOQ	1.3	<LOQ	0.8
METH	1	4	<LOQ	–	–	<LOQ	<LOQ	–	–	<LOQ	0.6	<LOQ	<LOQ
MDMA (ecstasy)	4	15	<LOQ	–	–	<LOQ	<LOQ	–	–	<LOQ	0.4	<LOQ	0.3
MDEA	2	8	<LOQ	–	–	<LOQ	<LOQ	–	–	<LOQ	0.4	<LOQ	0.2

Compounds not identified in any sample: Opiates – morphine, morphine glucuronide, normorphine, codeine, norcodeine, heroin and 6-acetylmorphine. Cannabinoids – THC-COOH, THC and THC-OH. Miscellaneous – LSD, ketamine and PCP.

Note: Mean and median are based on all samples analyzed and calculated using LOD/2 for “–” values and LOQ/2 for <value.

^a Number of samples with concentration levels >LOQ.

^b Percentile calculation according to NIST; “–” means < <LOQ (for those levels >LOD).

^c Global includes all data from Europe (excluding Spain), Latin America and Japan.

the world studied here (3.4–4.5 ng L⁻¹) and also lower than that found in Canada: 1.4 ng L⁻¹ (Hua et al., 2006).

3.2.2. Cocaine and related substances

Cocaine, benzoylecgonine and cocaethylene were found in 46%, 35% and 11%, respectively of the tap waters analyzed. Cocaine presented global median and maximum values of <0.1 (<LOQ) and 2.9 ng L⁻¹, respectively. The metabolites benzoylecgonine and cocaethylene showed median concentrations of <0.1 and <0.1 ng L⁻¹, with maximum concentrations of 15 and 0.4 ng L⁻¹, respectively coming from Latin American samples. The major difference observed between the regions, was the mean concentrations of cocaine and its metabolite benzoylecgonine. Thus, cocaine has mean values of <0.1 ng L⁻¹ (Europe and Japan), 0.4 ng L⁻¹ (Spain) and 0.6 ng L⁻¹ (Latin America). The same trend was found for benzoylecgonine with the following mean values: 0.2 ng L⁻¹ Europe, <0.1 ng L⁻¹ Japan, 0.4 ng L⁻¹ Spain and 4.5 ng L⁻¹ Latin America. As the global annual prevalence of cocaine is fairly stable, 26% of the world's total consumers are in Western and Central Europe, 20% in Latin America and 3% in Asia (UNODC, 2010), we should expect higher amounts of illicit drugs in raw waters in those regions with higher prevalences.

3.2.3. Opiates

None of the most common opiates and their metabolites (morphine, morphine glucuronide, normorphine, codeine, norcodeine, heroin and its metabolite 6-acetylmorphine) were identified in any sample, as in Spanish drinking water samples. In contrast, the synthetic opiate methadone and its metabolite EDDP were present in 19% and 58% of the total samples analyzed. Total median values of <0.1 (<LOQ) and 0.2 ng L⁻¹ were found for these compounds, whereas the maximum values were 1.2 (for methadone) and 3.3 ng L⁻¹ (for EDDP). Different trends were observed for the different regions studied. Mean values of methadone were similar in Spain and Latin America (0.2 ng L⁻¹) and lower in Europe and Japan (0.1 and <0.1 ng L⁻¹ respectively). The metabolite EDDP showed almost identical mean values for Europe, Latin-America and Spain (0.4 ng L⁻¹) whereas they were 0.1 ng L⁻¹ in Japan. Such pattern could be related to the widespread use of methadone in Europe where it is used as an alternative to heroin for cases of addiction, whereas in Japan, the low levels could reflect the low percentage of heroin addiction (0.2%) compared to Europeans (~0.6%) according to the UNODC 2010 World Report (UNODC, 2010).

3.2.4. Amphetamines, cannabinoids and miscellaneous compounds

MDA and MDEA, both with a 15% frequency of detection, were the two compounds most commonly identified. However, for all compounds in this group, median values were <LOQ with a maximum value of 1.3 ng L⁻¹ for MDA. The few positive results obtained for amphetamines are similar to the values found in Spain and it can be explained by the high rates of elimination by chlorine. Regarding cannabinoids and the other compounds included in this study, none of them were positively identified in any sample, as also occurred in the Spanish drinking water samples.

4. Conclusions

In conclusion, tap water has very low concentrations of some drugs (caffeine, nicotine, cotinine, cocaine and related compounds, methadone, EDDP and very few amphetamines). All these compounds, except the non-controlled drugs, were found at sub-ng level. For non-controlled drugs the levels of caffeine are remarkably low in European samples. For cocaine and related compounds, Latin-American levels are substantially higher than those found in other regions of the world which could be related to the use of less efficient water treatment in these countries. For opiates, only syn-

thetic compounds were detected with a slightly higher prevalence in European samples.

This work has demonstrated the presence of some of the drugs of abuse injection in tap water although at ultratrace levels around the LOQs of the method. To evaluate the real effects associated to continuous exposure at these low concentrations levels, risk assessment studies must be performed.

Acknowledgements

This work was supported financially by: R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of research, development and innovation projects of common interest to the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water Limited and Suez Environment, as the program Water and Health Project HE0607; and by the Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnología (CTQ 2009-09253).

Appendix A. Supplementary material

A summary of the analytical method, quality parameters (such as run-to-run and day-to-day-precision), LOQs, instrument parameters, quality control and stability studies, is included. Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.chemosphere.2011.05.033.

References

- Abbia, L., Armesto, X.L., Canle, M.L., García, M.V., Santaballa, J.A., 1998. Oxidation of aliphatic amines by aqueous chlorine. *Tetrahedron* 54, 521–530.
- Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., Snyder, S.A., 2009. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597–603.
- Bijlsma, L., Sancho, J.V., Pitarch, E., Ibañez, M., 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, 3078–3089.
- 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, 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, 1126–1136.
- Boleda, M.R., Majamaa, K., Aerts, P., Gómez, V., Galceran, M.T., Ventura, F., 2010. Removal of drugs of abuse from municipal waste water using reverse osmosis membranes. *Desalination* 21, 122–130.
- Boleda, M.R., Galceran, M.T., Ventura, F., 2011. 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. *Environ. Pollut.* 159, 1584–1589.
- Calisto, V., Esteves, V.I., 2009. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. *Chemosphere* 77, 1257–1274.
- 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, 8421–8429.
- Commission of the European Communities, 2002. Official J. Eur. Commun. 221.
- Chiaia, A.C., Banta-Green, C., Field, J., 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, 8841–8848.
- Daughton, C.G., 2011. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 210, 59–110.
- Gibs, J., Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M., Zaugg, S.D., Lippincot, R.L., 2007. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in chlorinated drinking water as a function of time. *Sci. Total Environ.* 373, 240–249.
- González-Mariño, I., Quintana, J.B., Rodríguez, I., Cela, R., 2010. Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction derivatization and gas chromatography–ion trap–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr., A* 1217, 1748–1760.
- Hua, W., Bennet, E.R., Letcher, R., 2006. Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicides in drinking water sourced from the Detroit River, Ontario, Canada. *Water Res.* 40, 2259–2266.
- 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, Germany, pp. 143–168.

- 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, 3821–3829.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Martin-Alonso, J., Ventura, F., 2008a. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 397, 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, 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, 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 on South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498–3518.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2009. Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment-forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. *Environ. Pollut.* 157, 1773–1777.
- Kimura, K., Toshima, S., Amy, G., Watanabe, Y., 2004. Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PHACs) by RO membranes. *J. Membr. Sci.* 245, 71–78.
- Kümmerer, K., 2009a. Antibiotics in the aquatic environment – a review – part I. *Chemosphere* 75, 417–434.
- Kümmerer, K., 2009b. Antibiotics in the aquatic environment – a review – part II. *Chemosphere* 75, 435–441.
- Loganathan, B., Phillips, M., Mowery, H., 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, 70–77.
- Loos, R., Wollgast, J., Huber, T., Hanke, G., 2007. Polar herbicides, pharmaceuticals, perfluorooctansulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1469–1478.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M.J., Barcelo, D., 2008a. 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. *Anal. Chem.* 80, 3123–3134.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M.J., Barcelo, D., 2008b. Analysis of drugs of abuse and their human metabolites in water by LC–MS²: a non-intrusive tool for drug abuse estimation at the community level. *Trends Anal. Chem.* 27, 1053–1069.
- Postigo, C., Lopez de Alda, M.J., 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. Pollut.* 36, 75–84.
- Rivier, L., 2003. Criteria for the identification of compounds by liquid chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–multiple mass spectrometry in forensic toxicology and doping analysis. *Anal. Chim. Acta* 493, 69–82.
- 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.
- Terzic, S., Senta, I., Ahel, M., 2010. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia). Estimation of drug abuse in a transition country. *Environ. Pollut.* 158, 2686–2693.
- Togola, A., Budzinski, H., 2008. Multiresidue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr., A* 1177, 150–158.
- UNODC, 2010. World Drug Report <http://www.unodc.org/documents/wdr/WDR_2010/World_Drug_Report_2010_lo-res.pdf>.
- 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, 123–129.
- Van Nuijs, A.L.N., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., Blust, R., Neels, H., Covaci, A., 2009. Spatial and temporal variations in the occurrence of cocaine and benzoylecgonine in waste- and surface water from Belgium and removal during wastewater treatment. *Water Res.* 43, 1341–1349.
- Vazquez-Roig, P., Andrei, V., Blasco, C., 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). *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 2851–2864.
- Vigilino, L., Aboulfadl, K., Mahvelat, A.D., Prevost, M., Sauve, S., 2008. On-line solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry to quantify pharmaceuticals, pesticides and some metabolites in wastewaters, drinking and surface waters. *J. Environ. Monit.* 10, 482–489.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., 2009. Illicit drugs in the environment. *Philos. Trans. R. Soc. London, A* 367, 3965–3978.
- Zuccato, E., Chiabrando, C., Castiglioni, S., Calamari, D., Bagnati, R., Schiarea, S., Fanelli, R., 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ. Health* 4, 1–7.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Chiabrando, C., Grassi, P., Fanelli, R., 2008. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.* 42, 961–968.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

EVALUATION OF THE PRESENCE OF DRUGS OF ABUSE IN TAP WATERS

M^a Rosa Boleda¹, Maria Huerta-Fontela^{1,2}, Francesc Ventura¹ and M^a Teresa Galceran^{2*}

¹AGBAR. Gral. Batet 5-7. 08028 Barcelona (Spain)

²University of Barcelona. Department of Analytical Chemistry. Avinguda Diagonal 647. 08028 Barcelona (Spain).

* Corresponding author.: Tel. (+34) 93 402 1275 Fax. (+34) 93 402 1233; e-mail: mtgalceran@ub.edu

LEGENDS AND CAPTIONS

Table S1. LC-MS/MS parameters established for the SRM acquisition mode [quantitation (confirmation)].

Table S2. Method limits of quantification, recoveries and precision values at two concentration levels in water.

Table S3. Percent frequency of detection and levels of main identified non-controlled and illicit drugs in Spanish tap waters (in ng L⁻¹) according to their different treatments.

Figure S1. Total ion chromatogram obtained for the 27 illicit drugs under SRM acquisition mode. Standard solution of 100 µg L⁻¹. 1: morphine-3β-glucuronide, 2: Nicotine, 3: Normorphine, 4: Morphine, 5: Cotinine, 6: Norcodeine, 7: Codeine, 8: Caffeine, 9: Amphetamine, 10: MDA, 11: 6-AM; 12: Methamphetamine, 13: MDMA, 14: Benzoylcegonine, 15: MDEA, 16: Ketamine, 17: Heroin, 18: Cocaine, 19: LSD; 20: PCP, 21: Cocaethylene, 22: Fentanyl, 23: EDDP, 24: Methadone, 25: THC-OH, 26: THC-COOH; 27: THC.

Material and methods

Standards and reagents

Individual standard solutions of each target compound at a concentration of 1 mg mL^{-1} in methanol were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA). The chemical structures of the compounds studied are given in Figure S1. For tuning and stability studies, working solutions of the standards at a concentration of 0.2 mg L^{-1} in methanol were prepared except for morphine-3 β -glucuronide which was prepared in water. A mixed working solution of these compounds at 5 mg L^{-1} 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 of from 2 to 4000 ng L^{-1} .

Deuterated standards (1 mg mL^{-1} in methanol) –nicotine-d₄, cotinine-d₃, amphetamine-d₈, methamphetamine-d₉, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₅, cocaine-d₃, benzoylecgonine-d₈, cocaethylene-d₈, LSD-d₃, ketamine-d₄, PCP-d₅, fentanyl-d₅, morphine-d₆, 6-acetylmorphine-d₆, morphine-3 β -glucuronide-d₃, heroin-d₉, codeine-d₆, methadone-d₃, EDDP-d₃ THC-d₃, THC-COOH-d₃ and THC-OH-d₃– were purchased from Cerilliant (Austin, TX, USA)) and ¹³C₃-caffeine isotope was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Isotope dilution was used for quantitation by adding deuterated standards to samples prior to SPE enrichment, but normorphine and norcodeine without deuterated analogues were quantified as their parent compound equivalents. A mixed internal standard working solution at 2 mg L^{-1} was prepared. All working solutions were prepared twice a month and stored at $-20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate and formic acid were obtained from Sigma-Aldrich (MO, USA). LC-MS grade acetonitrile; methanol and water were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Purge-and-trap grade methanol was obtained from Riedel-de-Haën (Buchs, Switzerland).

Sample collection: Stability studies

Samples were usually collected in 0.5-1 liter sterilized polypropylene bottles containing sodium thiosulfate, wrapped in aluminium foil, transported and stored at 4°C and analyzed within 48 hours after arriving to the laboratory. However, some samples were collected by non-professionals as many samples from worldwide origin were involved. For this reason, the stability of target compounds in water was studied. The effect of the addition of thiosulfate and other factors such as i.e. temperature and time on the results were evaluated in order to

prevent sources of error and remove those samples that did not present enough guarantee of stability.

The results obtained proved that the addition of sodium thiosulfate (and probably other preservatives) is critical to avoid degradation of many compounds. Non-controlled drugs such as i.e. nicotine showed a significant degradation percentage (~25%) after three days but caffeine and cotinine remained stable during the period of study (8 days) in samples containing thiosulfate. For cocaine, relevant percentages of degradation (~25%) were observed for cocaine after five days or more but benzoylecgonine remained fairly stable. Most of the opiates and amphetamines studied in this work react with chlorine leading to a fast degradation when no sodium thiosulfate was added but remain stable when this preservative was present.

As many international samples were analyzed, another key parameter considered was the effect of temperature on the degradation of the drugs of abuse. It was observed that cocaine was significantly degraded at room temperature after three days whereas they remained fairly stable for five days at 4°C. For opiates, amphetamines and non-controlled drugs apparently no degradation was observed.

As a result, all samples containing sodium thiosulfate and transported at 4°C were considered suitable for analysis. Those few samples that did not fulfil these premises, only were analyzed if they arrived at the laboratory a) at room temperature after two days of collection and b) before 24 h of collection if they did not contain sodium thiosulfate.

Analytical method

The analytical method employed for the simultaneous determination of twenty-nine non-controlled and illicit drugs was a modification of those previously published (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008). All compounds were extracted in batches of six samples using Oasis[®] HLB cartridges (6 mL, 200 mg) from Waters Corp. (Millford, MA, USA). Sample enrichment was performed using a Rapid Trace SPE Workstation from Zymark (Hopkinton, MA, USA). The SPE cartridges were sequentially preconditioned with 10 mL of methanol and 10 mL of Milli-Q water. Samples (200 mL) were spiked with a solution of labeled standards (final concentration: 100 ng L⁻¹) and loaded into the cartridges at 10 mL min⁻¹, rinsed with 5 mL of a 5% methanol aqueous solution, dried with nitrogen gas for 10 minutes and eluted using 6 mL of methanol. All the extracts were evaporated to dryness under a stream of nitrogen in a TurboVap LV evaporator (Zymark) at 40°C. Samples were

reconstituted in 500 μL of a 20% methanol aqueous solution and filtered through a 0.2- μm filter prior to injection.

HPLC and MS/MS conditions

Chromatographic separations were carried out in a Waters Acquity ultra-performanceTM liquid chromatography system equipped with a quaternary pump system using an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μm particle size) (Waters, Milford, MA, USA). Separation was performed with a binary mobile phase at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. 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: 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 return to initial conditions; 9-10 min, equilibration of the column. The sample volume injected was 5 μL .

The SPE extracts were analyzed as follows: The UPLC instrument was coupled to a Quattro MicroTM triple quadrupole mass spectrometer (Micromass, Waters, Milford, MA, USA) with an electrospray ionization source Z-sprayTM 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 (quantification and confirmation) were used as required by the European Council Directive (96/23/EC) regarding mass spectrometric detection (CEE, 2002) and the general criteria for forensic analysis (Rivier, 2003). 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⁻¹; desolvation gas flow rate, 800 L h⁻¹. High-purity nitrogen (>99.999%, Carbueros Metalicos, Spain) was used as desolvation and argon nebulizer gas (>99.999%, Carbueros Metalicos, Spain) was used as collision gas. MS/MS parameters were optimized by direct infusion at 10 μLmin^{-1} of 0.5 mg L⁻¹ 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 S1. Data acquisition was carried out using different retention time windows; dwell times of 50 ms and an interscan delay time of 30 ms were used. All data was acquired and processed using MassLynx 4.0 software. A total ion chromatogram obtained for a standard solution of the studied drugs, in SRM acquisition mode, is shown in Figure S2 as an example.

Quality control

Specific tests to check the chromatographic separation, the sensitivity and calibration were carried out daily. Instrumental blanks were performed injecting mobile phase from a blank vial into the UPLC instrument coupled to the mass spectrometer. Due to the low levels expected in the samples, special care was taken to avoid contamination. To prevent interferences, all glassware, chemicals, solvents, and equipment used for sampling and SPE extraction were routinely checked.

Each batch of six samples included a quality control water sample (Milli-Q water) spiked at 50 ng L⁻¹ with the target compounds to ensure the quality of the results and water blanks (Milli-Q water) extracted as described previously to monitor background levels and possible carryover between samples. In addition, commercial bottled drinking water was transferred to propylene bottles and were analyzed as field blanks following the same protocol as for the samples.

Satisfactory run-to-run and day-to-day precisions were achieved when analyzing spiked (10 and 100 ng L⁻¹) water samples, with relative standard deviations (RSDs) below 7% and 11%, respectively. Information concerning recoveries, quality parameters of the method such as precisions at different concentration levels, LODs and LOQs are included in Table S2.

References

- 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, 38-48.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Martin-Alonso, J., Ventura, F. 2008. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Sci. Total Environ.* 397, 31-40.
- Commission of the European Communities. Official. *J. Eur. Communities* 2002; 221.
- Rivier, L. 2003. Criteria for the identification of compounds by liquid chromatography –mass spectrometry and liquid chromatography-multiple mass spectrometry in forensic toxicology and doping analysis. *Anal. Chim. Acta* 493, 69-82.

Table S1. LC-MS/MS parameters established for the MRM acquisition mode (quantitation (confirmation))

Time (min)	Compound	Precursor ion (m/z) [M+H] ⁺	C.V. (V)	Quantitation		Confirmation		Ion ratios
				Product ion (m/z)	C.E. (V)	Product ion (m/z)	C.E. (V)	
0.5-1.5	Morphine Glucur.	462	40	268	35	286	25	3.16±0.6
	Nicotine	163	20	117	23	130	17	1.08±0.21
	Normorphine	272	45	165	35	121	30	1.05±0.01
	Morphine	286	45	165	40	152	40	2.26±0.04
	Cotinine	177	30	80	31	98	27	1.83±0.13
1.6-2.40	Norcodeine	286	40	165	38	152	40	2.46±0.02
	Codeine	300	45	165	38	198	34	4.88±0.08
	Caffeine	195	30	138	20	110	25	3.66±0.15
2.40-3.10	Amphetamine	136	15	119	8	91	10	1.12±0.01
	MDA	180	20	163	12	105	20	2.45±0.04
	6-Acetylmorphine	328	40	165	38	152	45	7.28±0.14
	Methamphetamine	150	15	91	14	119	12	2.34±0.05
	MDMA	194	20	163	12	105	31	4.76±0.03
3.10-4.30	Benzoylcegonine	290	25	169	16	150	20	1.31±0.01
	MDEA	208	15	163	12	133	18	2.78±0.01
	Ketamine	238	25	125	18	220	16	2.39±0.01
4.30-4.95	Heroin	370	45	165	40	268	40	4.06±0.02
	Cocaine	304	25	182	17	105	25	6.52±0.05
	LSD	324	25	223	25	208	30	2.28±0.02
4.95-6.50	Cocaethylene	318	29	196	22	82	24	1.79±0.07
	PCP	244	10	85	17	159	7	1.07±0.05
	Fentanyl	337	25	188	22	105	26	1.64±0.02
	EDDP	278	45	234	30	187	35	3.85±0.02
	Methadone	310	20	265	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
	Δ ⁹ -THC	315	35	193	30	123	30	1.10±0.02

Table S2. Method limits of quantification, recoveries and precision values at two concentration levels in water

Compound	R (RSD (%))	LOQ (ng L ⁻¹)	10 ng L ⁻¹		100 ng L ⁻¹	
			Run-to-Run (%RSD)	Day-to-Day (%RSD)	Run-to-Run (%RSD)	Day-to-Day (%RSD)
Caffeine	85 (5)	2.0	2	5	4	5
Nicotine	82 (3)	1.0	3	2	6	10
Cotinine	81(4)	0.3	9	12	4	7
Amphetamine	92 (2)	1.0	5	8	4	6
Methamphetamine	75 (3)	0.5	5	7	1	6
MDA	95 (5)	0.8	6	9	6	8
MDMA	98 (4)	0.2	7	8	3	5
MDEA	85 (3)	0.2	5	7	3	4
Cocaine	91 (4)	0.1	6	9	5	5
Cocaethylene	89 (5)	0.1	5	5	3	4
Benzoylcegonine	93 (5)	0.2	4	7	3	5
Ketamine	93 (1)	1.5	6	9	2	3
LSD	93 (4)	0.2	6	10	3	5
PCP	89 (2)	1.5	6	9	2	8
Fentanyl	103 (8)	1.0	7	9	5	6
Heroin	92 (2)	1.5	4	5	4	6
Codeine	96 (4)	0.5	4	8	4	7
Morphine	82 (6)	3.0	6	9	6	7
Normorphine	75 (1)	12	7	9	4	6
6-Acetylmorphine	94 (7)	0.9	6	8	3	5
Morphine Glucuronide	70 (8)	1.0	9	11	8	10
Norcodeine	69 (7)	1.5	6	9	3	8
Methadone	88 (8)	0.1	3	6	3	6
EDDP	74 (6)	0.1	4	6	4	4
Δ9-THC	65 (8)	20	5	10	4	10
THC-COOH	73 (8)	50	5	11	1	4
THC OH	70 (6)	10	6	8	3	6

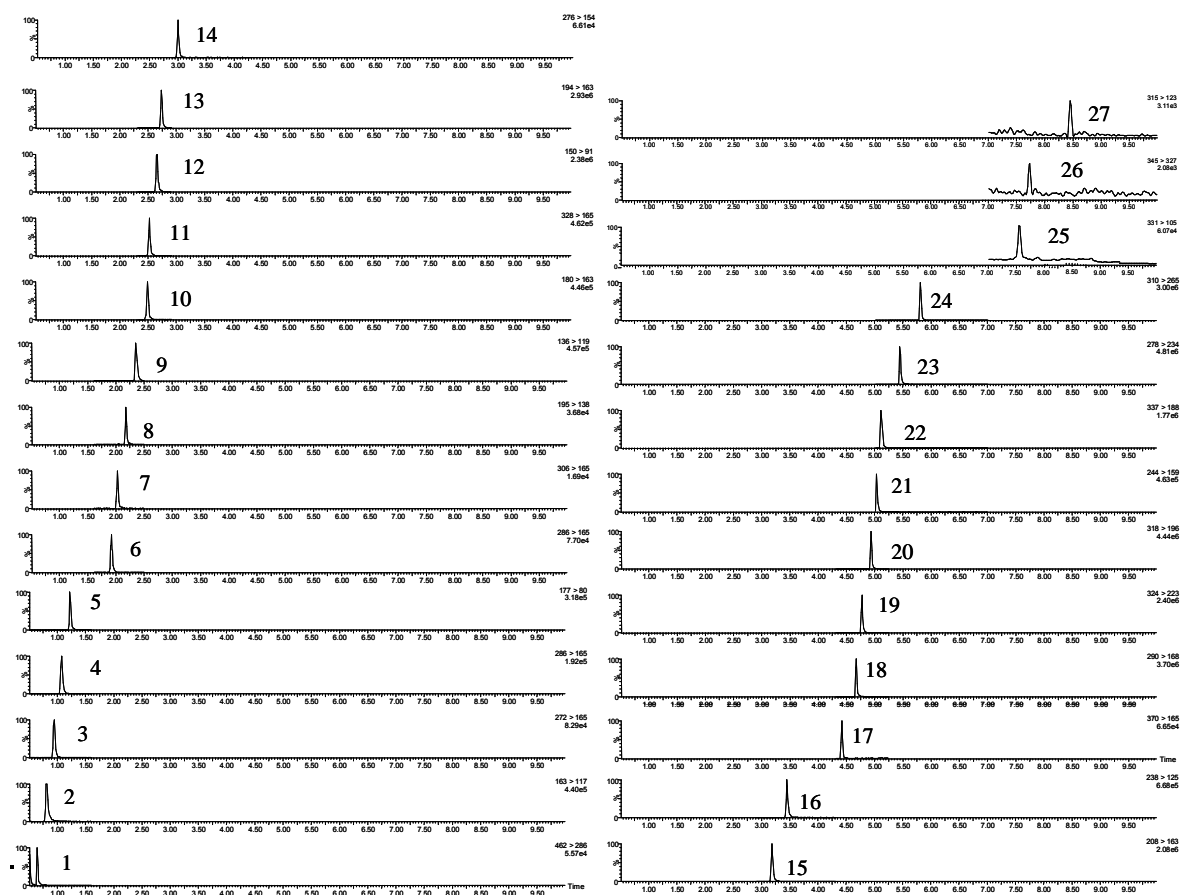
R: recovery; RSD: relative standard deviation; LOQ: limit of quantification; For recovery and LOQ determination samples were spiked at 80 ng L⁻¹ (n=6).

Table S3. Percent frequency of detection and levels of main identified non-controlled and illicit drugs in Spanish tap waters (in ng L⁻¹) according to their different treatments.

	N>LOQs (in %)			Mean			Median			Maximum			75th percentile			95th percentile		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
NON-CONTROLLED																		
Caffeine	100	100	100	53	34	19	48	24	20	202	93	56	62	52	22	136	80	46
Nicotine	100	100	100	16	18	7.8	6.5	7.5	4.7	90	141	34	9.7	12	6.1	70	68	23
Cotinine	86	93	82	3.5	4.8	2.6	2.7	3.9	2.2	9.8	9.6	7.8	4.4	7.8	3.5	9.2	9.6	7.2
COCAINICS																		
Cocaine	71	73	55	0.3	0.4	0.5	0.2	0.3	0.1	0.8	2.3	1.9	0.3	0.4	0.4	0.6	1.4	1.9
Cocacetylène	14	47	18	-	0.2	0.1	-	-	-	0.3	0.9	0.8	-	0.2	-	0.2	0.5	0.5
Benzoyllecgonine	57	47	18	0.5	0.6	0.5	0.3	-	-	1.8	1.6	3.1	1.0	1.1	0.1	1.5	1.4	2.2
OPIATES																		
Methadone	7	27	18	-	-	0.3	-	-	-	0.2	0.2	2.7	-	-	-	-	0.2	1.6
EDDP	93	93	82	0.4	0.1	0.5	0.1	0.1	0.2	2.1	0.3	3.5	0.3	0.2	0.3	1.9	0.3	2.2

Drinking water treatment: **A:** Surface waters: Cl₂ (preox.) → C/F → sed. → sand filter → Cl₂ (15DWTPs) . **B:** Surface waters: Cl₂ (preox.) → C/F → sed. → sand filter → Cl₂/ClO₂ (preox.) → C/F → sed. → sand filter → O₃ → CAG → Cl₂ or O₃ → C/F → sed. → O₃ → sand filter → Cl₂ (14DWTPs). **C:** Brackish water or Seawater → Cl₂ (preox.) → C/F → sed. → (UF) → RO → Cl₂ (3DWTPs). Information for 8DWTPs was not available.
 C: coagulation; F: Filtration; Sed: sedimentation; Sand filter: sand filtration; GAC: granular activated carbon filtration; UF: ultrafiltration; RO: reverse osmosis.

Figure S1



2.3. Discussió dels resultats.

2.3.1. Metodologia d'anàlisi

En aquesta memòria s'ha desenvolupat una metodologia per a l'extracció i preconcentració de drogues en diversos tipus d'aigua, residual, superficial i tractada. La metodologia desenvolupada es basa en una extracció en fase sòlida seguida de l'anàlisi per UPLC-MS/MS. En una primera fase es van considerar tan sols els cannabinoides i opioides (apartats 2.2.1 i 2.2.2) ara bé a l'apartat 2.2.3 d'aquest capítol en el qual s'estudia la presència de drogues d'abús en aigües potables, i amb la finalitat de tenir una representació més completa i acurada del grau de contaminació deguda a aquestes drogues es van incloure en la metodologia desenvolupada a més dels compostos de les famílies de cannabinoides, dos metabòlits, la morfina-3-glucurònid i el THC-OH; cinc amfetamines (amfetamina (AMP), metamfetamina (METH), 3,4-metilendioxiamfetamina (MDA), 3,4-metilendioximetametamina (MDMA) i 3,4-metilendioxietametamina (MDEA)); diversos compostos del grup dels cocaínics (cocaïna, benzoilecgonina, norcocaïna, norbenzococaïna, cocaetilè) i també algunes altres drogues d'abús com la fenciclidina (PCP), l'àcid lisèrgic dietilamida (LSD) i la ketamina. Finalment, també s'incloueren diverses drogues no regulades com la cafeïna, la nicotina i el seu metabòlit cotinina. Aquest fet ha comportat que s'hagin utilitzat dos mètodes diferents tant per al tractament de la mostra com per la separació cromatogràfica.

A la figura 2.6. s'inclou un resum de la metodologia emprada on s'especifiquen les diferències entre la utilitzada en els dos primers estudis (M-I) i la del tercer (M-II, amb més compostos de diferents famílies). Ara bé, en les dues metodologies es duu a terme una extracció en fase sòlida emprant un cartutx Oasis HLB, que es va escollir perquè va donar millors recuperacions per la majoria dels opioides i pel THC.

Entre les diferències a remarcar entre els dos mètodes emprats en aquesta tesi (figura 2.6.) es pot esmentar el canvi en la solució de rentat que en el primer mètode (M-I) és

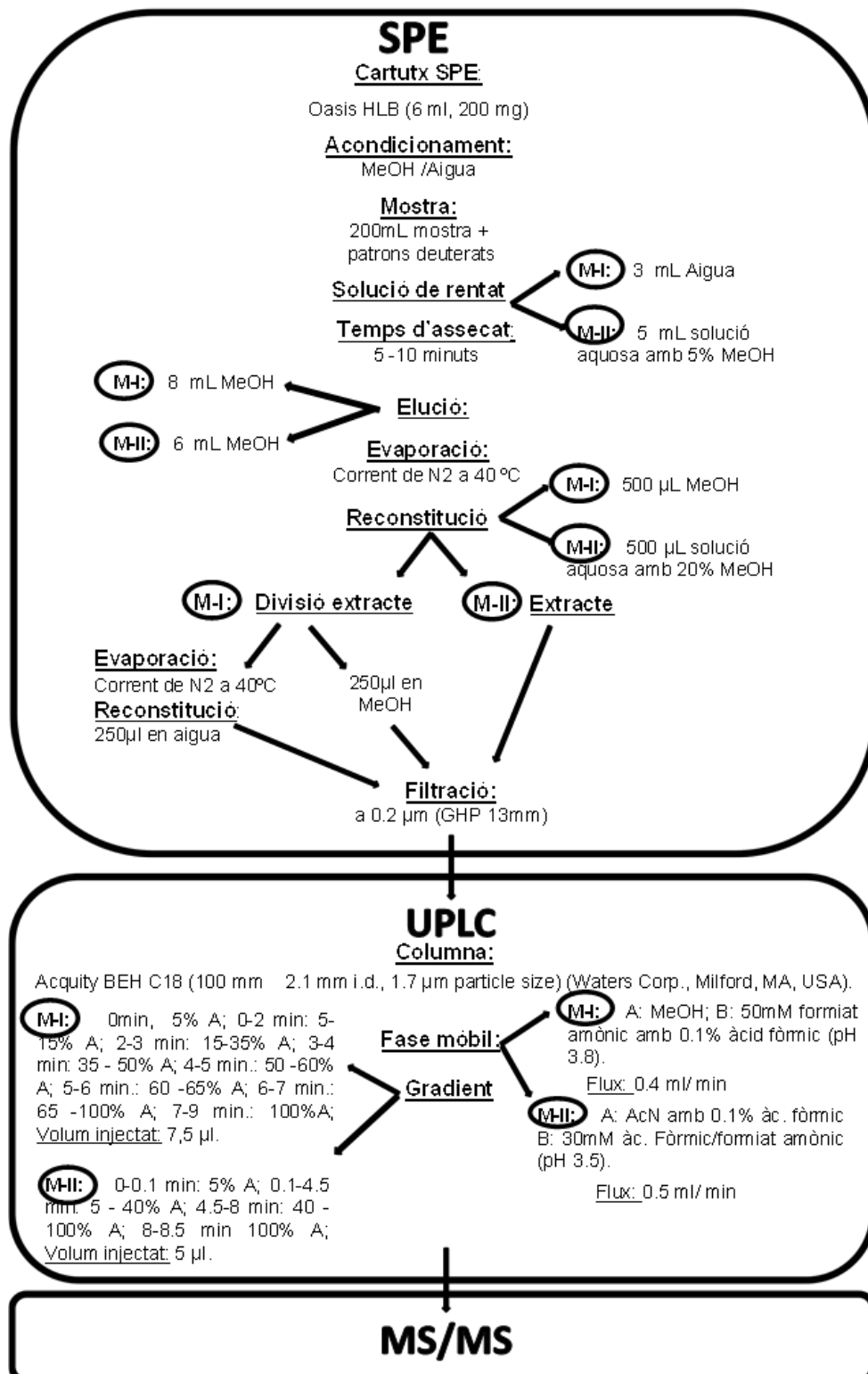


Figura 2.6. Protocol d'anàlisi de les drogues d'abús en aigües

aigua mentre que en el segon (M-II) s'utilitza aigua amb un 5% MeOH (5 mL). Ara bé, és en la reconstitució de l'extracte on hi ha més diferències i això és degut a que la solució de l'extracte final ve condicionada per la composició inicial de la fase mòbil. En els dos primers estudis (apartats 2.2.1 i 2.2.2) l'objectiu principal era optimitzar un mètode que permetés una òptima separació cromatogràfica dels opioïdes i cannabinoides i uns límits de detecció el més baixos possible. Per aconseguir-ho hom va haver d'emprar un gradient que s'inicia amb una proporció elevada d'aigua la qual cosa va condicionar la composició de la mostra a injectar. Els opioïdes, s'elueixen amb una fase mòbil majoritàriament aquosa, i per tant, la forma dels pics d'aquests compostos és molt millor quan s'introdueix l'extracte dissolt en aigua. Ara bé, els cannabinoides elueixen més tard, quan la composició de la fase mòbil conté una proporció elevada de dissolvent orgànic i s'observa una important millora de la forma dels pics si l'extracte a injectar conté majoritàriament dissolvent orgànic. Per treballar en les condicions òptimes per a les dos famílies de compostos, es va optar per subdividir l'extracte en dos, un en MeOH i l'altre reconstituït amb aigua després d'evaporar a sequedat. A la figura 2.7., es pot observar com incideix la composició del solvent en la forma dels pics. Tanmateix també incideix en els límits de quantificació instrumentals (IQLs), que són de l'ordre dels 0,1-3 pg pels opioïdes però de 60 a 200 pg pels cannabinoides en aigua mentre que en metanol per a aquests últims compostos són molt més baixos (1.5-3 pg).

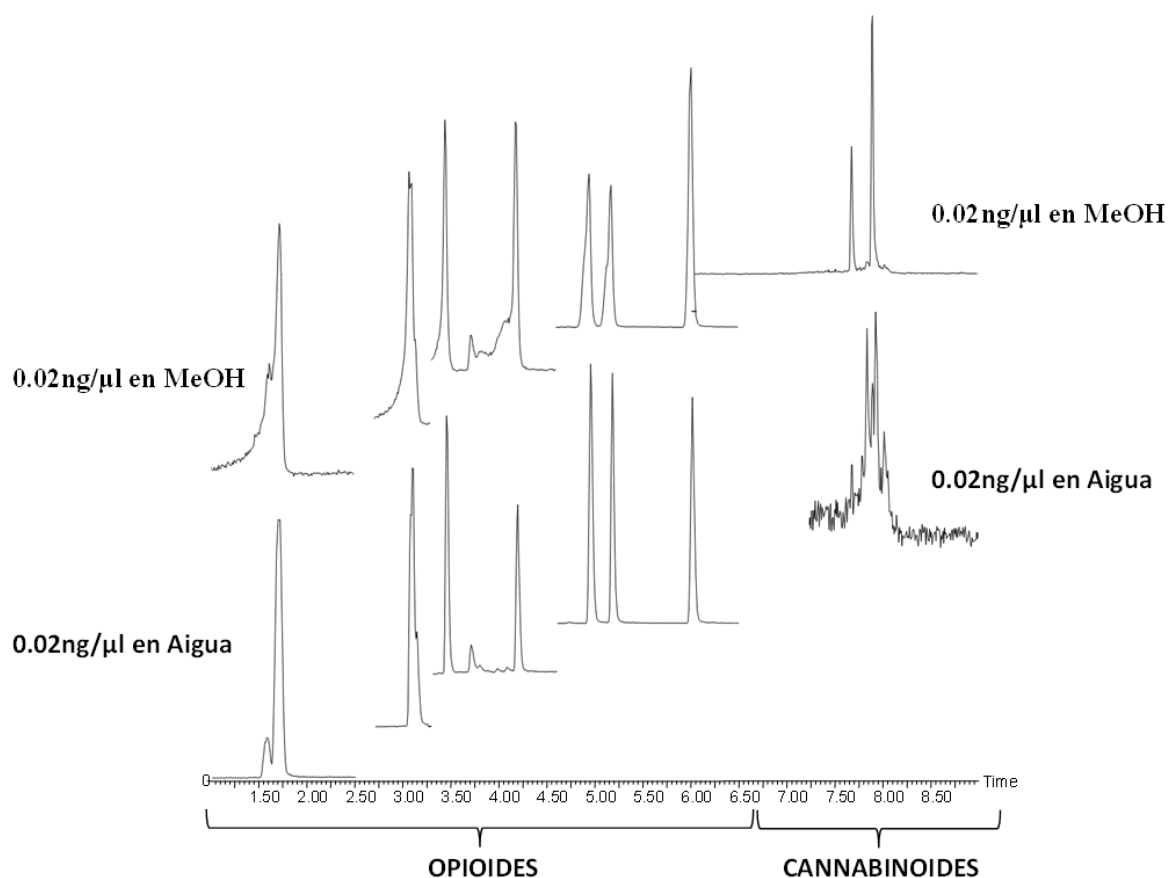


Figura 2.7. Efecte de la composició del solvent utilitzat en la reconstitució de l'extracte

En el mètode M-II, l'objectiu era establir un procediment que permetés l'anàlisi d'un nombre molt més elevat de compostos i a més de famílies molt diferents (amfetamines, cocaínics, LSD, PCP i ketamina), encara que no es treballi en les condicions òptimes per als opioides i és per aquesta raó per la qual l'extracte es dissol en aigua amb 20% de MeOH .

La separació cromatogràfica s'ha dut a terme en columnes de fase invertida (C_{18}) de diàmetre de partícula reduït (1,7 μm). Les diferències en les fases mòbils emprades per a la separació dels opioides i cannabinoides, (A: metanol i B: 50 Mm formiat amònic/àcid fòrmic (pH=3.8) i per a la separació de les 29 drogues d'abús de l'apartat 2.2.3 (A: acetonitril amb 0,1% àcid fòrmic i B: 30 Mm formiat amònic/àcid fòrmic (pH=3.5), són degudes a necessitat d'adaptar la separació cromatogràfica en introduir les drogues d'abús esmentades. Així, en optimitzar el mètode per als cannabinoides i opioides (M-I), després de provar diferents composicions de la fase mòbil (ACN o MeOH, acidificats o no), es va observar que calia inicial el gradient en unes proporcions molt baixes de dissolvent orgànic, les àrees dels opioides i cannabinoides augmentaven si s'emprava MeOH en comptes d'ACN com a component orgànic, aspecte que també es destaca en altres publicacions (*Maralíkova et al, 2004; Laloup et al, 2005; Choo et al, 2005*). De fet, hi ha forces publicacions en les que es proposa utilitzar metanol com a component orgànic de la fase mòbil per aquests compostos (*Bones et al, 2007; Terzic et al 2010; Baker et al, 2011; Herández et al., 2011; González-Mariño et al, 2012; Repice et al 2013*). A més, es van millorar les resolucions i les formes dels pics en utilitzar en el component aquós un tampó a un pH de 3,8. Ara bé, en l'optimització de la separació cromatogràfica de les 29 drogues es va posar de manifest que la disminució del contingut en MeOH de la fase mòbil (a ~5%), necessària per poder retenir els opioides i separar les altres drogues, produïa una dràstica disminució de senyal i resolució dels pics cromatogràfics dels cannabinoides. És per això que es va optar per emprar ACN en lloc de MeOH. L'acidificació de l'ACN (0,1% d'àcid fòrmic) i l'addició de formiat amònic a la fase aquosa (30 mM) va permetre aconseguir la separació de tots els compostos.

Per a la detecció i quantificació dels analits per espectrometria de masses s'ha treballat en electrosprai en mode positiu i en monitorització de reaccions seleccionades (SRM). Ara bé, per a 5 dels opioides, (normorfina, morfina, codeïna, norcodeïna i 6-acetil morfina), es proposa utilitzar per a la quantificació la pseudo transició de l'ió precursor, degut a que els ions producte en les condicions de treball presenten una baixa intensitat. Aquesta estratègia s'empra amb freqüència quan la fragmentació és poc representativa, ja sigui perquè els ions producte són poc intensos o perquè l'ió molecular no es fragmenta. Per

exemple, *Sancho et al, 2000*, l'utilitzen per analitzar un metabòlit del chlorpirifos, o *Rodil et al, 2005*, per analitzar una molècula molt estable com és el bis (difenil fosfat) de resorcinol. Pel que fa referència als opioides, *Maralikova et al, 2004*, analitzen codeïna, morfina, M3G (β -3-glucurònid de la morfina) i normorfina en plasma i orina, utilitzant pseudo transicions. Ara bé, per tal de complir amb els criteris de la Comunitat Europea per la identificació de compostos (*European Commission Decision 2002/657/EC*) que requereixen 4 punts d'identificació per tècniques basades en LC-MS/MS, s'han emprat dues transicions per a la confirmació. A tall d'exemple, a la figura 2.8. es mostren les transicions emprades a les drogues morfina i codeïna amb pseudo transició per la quantificació (286>286 i 300>300, respectivament) i dues transicions de confirmació (286>165 i 286>152 per la morfina; 300>165 i 300>152 per la codeïna), i a la figura 2.9., les de la metadona i el THC amb una transició de quantificació (310>265 i 315>193, respectivament) i una de qualificació (310>106 per la metadona i 315>123 pel THC). Es conegut que quan en una mateixa finestra d'adquisició hi ha molts compostos, la sensibilitat pot disminuir degut a que en el mateix interval de temps es monitoritzen totes les transicions. És per aquesta raó, que en l'anàlisi de la llista ampliada de drogues (M-II), no es van utilitzar les pseudo-transicions per als opioides i cannabinoides. És a dir, a l'augmentar el nombre de compostos en la llista a

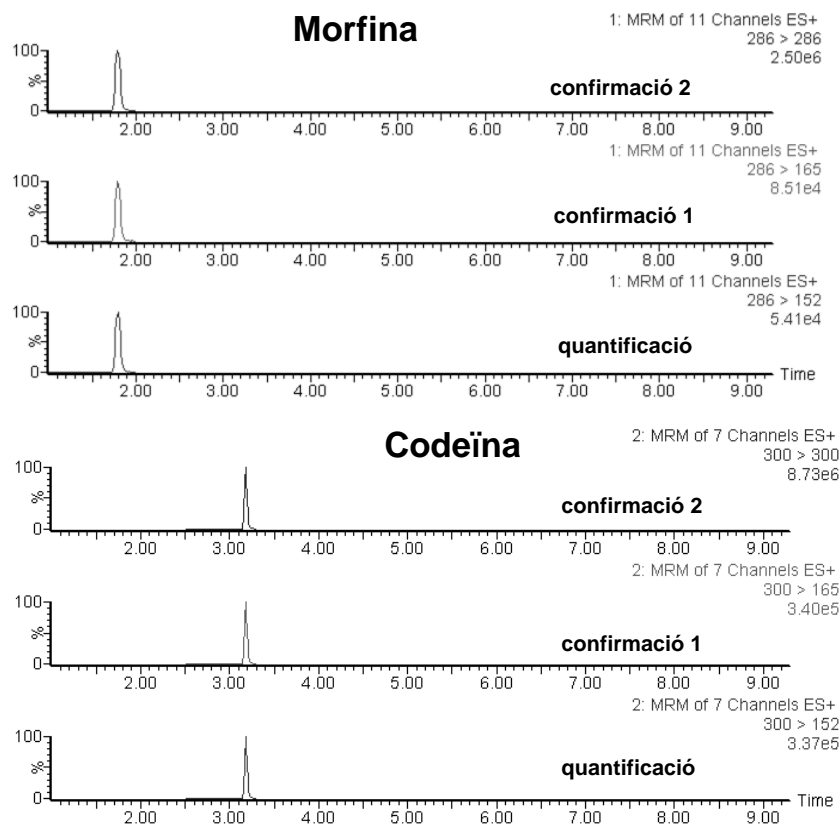


Figura 2.8. Transicions de quantificació i confirmació per la morfina i codeïna

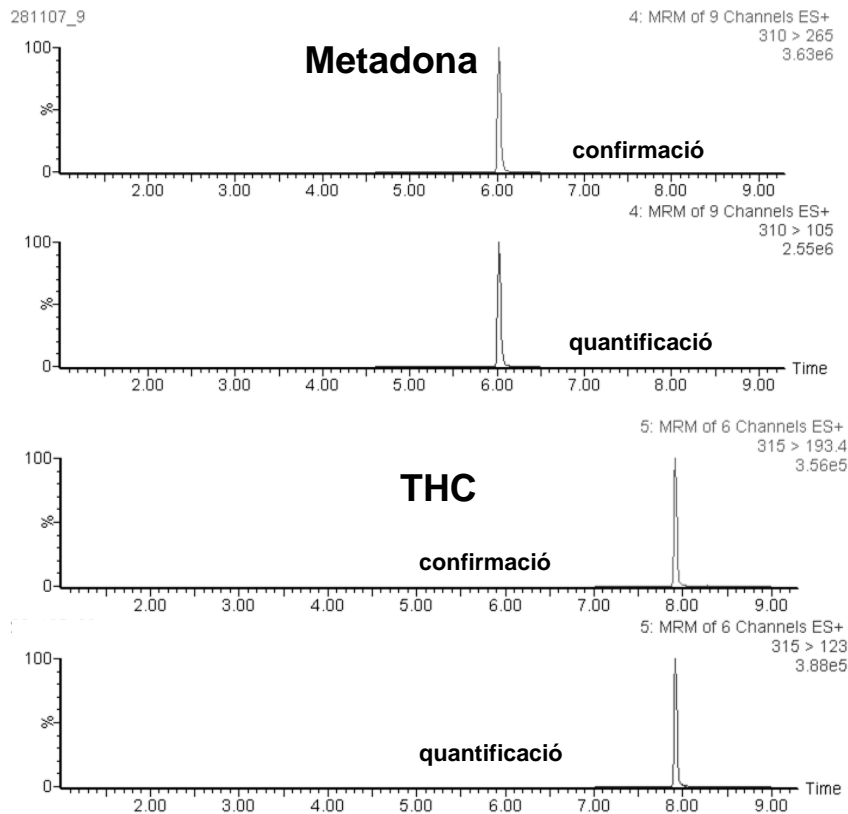


Figura 2.9. Transicions de quantificació i confirmació per la metadona i THC.

analitzar, també va augmentar el nombre de transicions a ser monitoritzades en cada finestra d'adquisició, i per no comprometre la resposta dels diferents compostos, es va optar per monitoritzar només dues transicions per compost (una per quantificar i l'altre per confirmar), en comptes de tres com en el M-I (una pseudo-transició per quantificar i dues per confirmar).

A la taula 2.5, on es comparen els límits de quantificació en cadascun dels dos mètodes, pels compostos en comú, es pot observar que són molt similars excepte per als cannabinoides. Aquesta diferència es pot atribuir, a que com ja s'ha comentat, per poder tenir una bona separació cromatogràfica entre tots els pics, enlloc de MeOH es va emprar ACN amb 1% d'àcid fòrmic com a component orgànic de la fase mòbil. Això ha comportat que l'àrea dels pics dels cannabinoides disminueixi i que en conseqüència augmentin els límits de detecció.

Taula 2.5. Comparació entre LOQs en aigua potable, en M-I i M-II

Compound	LOQ (ng L ⁻¹) M-I	LOQ (ng L ⁻¹) M-II
Fentanyl	0.4	1.0
Heroin	1.1	1.5
Codeine	0.4	0.5
Morphine	2.5	3.0
Normorphine	12.2	12
6-Acetylmorphine	0.9	0.9
Norcodeine	1.3	1.5
Methadone	0.1	0.1
EDDP	0.2	0.1
Δ9-THC	6.7	20
THC-COOH	10.5	50

Els dos mètodes, es van validar seguint les pautes de la *ISO 17025*, i en les diferents matrius a les que posteriorment es van aplicar. En general, es van obtenir recuperacions per sobre del 75% en tots els casos, excepte per l'EDDP, el THC, el morfina-3-glucurònid, la norcodeïna, el THC-COOH i el THC-OH en aigua potable (veure taula 2.6.). Les dades de recuperacions de la literatura publicades amb posterioritat als nostres estudis i amb mètodes on s'utilitza el mateix tipus de cartutxos de SPE (Oasis HLB), també es troben en general per sobre del 75%, a excepció dels cannabinoides (THC, THC-COOH, THC-OH) tant en aigües residuals (9-37%; *Postigo et al, 2008b*) i superficials (22-67%; *Vàzquez-Roig et al, 2010; Valcárcel et al., 2012*) com en aigües potables i subterrànies (22-59%; *Valcárcel et al., 2012*).

Cal destacar, que per a la majoria de les drogues, el mètode de quantificació emprat ha estat la dilució isotòpica. Només per la normorfina, norcodeïna i morfina-3-glucurònid, compostos per als quals no es disposava de l'homòleg marcat, s'ha utilitzat el compost marcat més semblant, la codeïna per la norcodeïna, i la morfina per la normorfina i el morfina-3-glucurònid. El fet de no disposar de l'homòleg marcat, pot haver influït en els LOQs que són més elevats que per a les altres drogues de la família, atès que l'efecte matriu no és corregit directament, sobretot si, com és el cas, l'efecte matriu provoca supressió del senyal. Per l'heroïna, crida l'atenció el valor relativament elevat del LOQ en aigües residuals (20 ng/L) comparat amb el LOQ en aigües superficials i potables (1.5 ng/L), que es pot explicar per una major supressió iònica en aigües residuals. Tot i així, tan sols dos autors donen un LOQ més baix que el nostre en aigües residuals: *Postigo et al. (2008)*

Taula 2.6. Paràmetres de validació en diferents matrius (ng/L)

	Aigua residual			Aigua superficial			Aigua potable		
	LOQ (ng/L)	Repro. 50 ng/L	%Rec 50 ng/L	LOQ (ng/L)	Repro. 50 ng/L	%Rec 50 ng/L	LOQ (ng/L)	Repro. 100 ng/L	%Rec 100 ng/L
Cafeïna							2.0	5	85
Nicotina							1.0	10	82
Cotinina							0.3	7	81
Amfetamina							1.0	6	92
Metamfetamina							0.5	6	75
MDA							0.8	8	95
MDMA							0.2	5	98
MDEA							0.2	4	85
Cocaïna							0.1	5	91
Cocaetilè							0.1	4	89
Benzoilecgonina							0.2	5	93
Ketamina							1.5	3	93
LSD							0.2	5	93
PCP							1.5	8	89
Fentanil	1.7	4.6	72	0.4	2.0	95	1.0	6	103
Heroïna	20.0	6.5	65	1.5	3.6	75	1.5	6	92
Codeïna	2.5	5.2	94	0.5	1.7	85	0.5	7	96
Morfina	7.1	3.5	83	2.9	3.7	99	3.0	7	82
Normorfina	25.0	1.5	95	12.5	4.7	86	12	6	75
6-Acetimorfina	3.1	6.9	90	0.9	3.4	95	0.9	5	94
Morfina 3 β -Glucurònid							1.0	10	70
Norcodeïna	5.0	7.8	89	1.6	5.9	94	1.5	8	69
Metadona	0.3	3.8	75	0.1	2.7	97	0.1	6	88
EDDP	0.7	6.1	68	0.4	6.5	69	0.1	4	74
Δ^9 -THC	8.3	6.8	42	7.0	5.2	44	20	10	65
THC-COOH	12.5	3.5	96	10.0	4.4	86	50	4	73
THC OH							10	6	70

Repro. reproducibilitat (inter-dia); % Rec % recuperació

que troba un valor de 2.07 ng/L emprant un espectròmetre de masses 4000Qtrap i un mètode d'anàlisi exclusiu per uns quants analits de característiques similars (és a dir analitzen els opioïdes amb un mètode diferent que el que empen per als els cannabinoides la qual cosa els hi pot permetre optimitzar més les condicions); i *Gonzalez-Mariño et al. (2012)* amb un LOQ de 5 ng/L que utilitzen un espectròmetre de masses QTOF i treballen en alta resolució. Altres autors, han publicat valors de LOQ per l'heroïna en aigües residuals encara més alts (139.9 ng/L *Baker et al., 2011*; 90 ng/L *Martínez-Bueno et al., 2011*; 40 ng/L *Nefau et al. 2013*).

Pel que fa als cannabinoides, els LOQs obtinguts en aigües residuals i superficials han estat més baixos que en aigües potables. Aquest fet crida l'atenció però es pot explicar per la diferent metodologia analítica i separació cromatogràfica utilitzada en l'anàlisi conjunta per tots els compostos de la llista ampliada (mètode aplicat a aigües potables), que no es correspon amb la metodologia optimitzada per a l'anàlisi exclusiva dels opioïdes i cannabinoides (on s'injecta l'extracte en aigua o en metanol depenent de la família), mètode emprat en l'anàlisi d'aigües residuals i superficials. Altres autors han publicat LOQs semblants pels cannabinoides (veure taula 2.7.). Així per exemple, per a aigües residuals, *Postigo et al., 2008b*, ha trobat valors de LOQ per sota dels que s'han

Taula 2.7. LOQs dels cannabinoides (en ng/L)

Compost	Referència	aigües residuals	aigües superficials	aigües potables
THC	Apartat 2.2.1 i 2.2.3.	8,3	7	20
	<i>Postigo et al., 2008b</i>	3,37		
	<i>Vázquez-Roig et al 2010</i>		4,07	
	<i>González-Mariño et al, 2012</i>	50		
	<i>Valcárcel et al. 2012</i>		6,81	6,81
THC-COOH	<i>Castiglioni et al, 2006</i>	1,64		
	Apartat 2.2.1 i 2.2.3.	12,5	10	50
	<i>Postigo et al., 2008b</i>	1,23		
	<i>Bijlsma et al. 2009</i>	4000	300	
	<i>Berset et al. 2010</i>	100		
	<i>Terzic et al., 2010</i>	20		
	<i>Vázquez-Roig et al., 2010</i>		5,13	
	<i>Valcárcel et al. 2012</i>		4,19	4,19
	<i>González-Mariño et al, 2012</i>	50		
	<i>Fedorova et al. 2013</i>	20		
	<i>Nefau et al., 2013</i>	1,2		
	<i>Senta et al., 2013</i>	2,5		
	THC-OH	<i>Postigo et al., 2008b</i>	1,45	
Apartat 2.2.3.				10
<i>Valcárcel et al. 2012</i>			1,26	1,26
<i>Senta et al., 2013</i>		1,8		

obtingut en aquesta memòria, però cal recordar que aquests autors utilitzen dos mètodes cromatogràfics diferents, un per l'anàlisi dels cannabinoides i l'altre per a la resta dels compostos. En tots els altres treballs publicats a la literatura, els valors de LOQs són superiors als nostres i en aquest sentit destaquen els valors de *Bijlsma et al., 2009* i *Berset*

et al 2010 pel THCCOOH, que com hem vist en l'apartat 2.1. d'aquest capítol, atribuïen aquests valors al caràcter hidrofòbic d'aquest metabòlit, la qual cosa no sembla ser la raó principal vist els valors obtinguts en aquesta tesi i per altres autors. Els valors obtinguts en aigües superficials són en alguns casos molt més similars als nostres, a excepció de *Bijlsma et al. 2009* que de nou troben un LOQ per al THC-COOH considerablement elevat (300 ng/L). En el cas dels LOQs del cannabinoides en aigües potables, només hi ha publicat un treball (*Valcárcel et al. 2012*) posterior al nostre, on obtenen valors per sota dels que nosaltres vam trobar, i que utilitzen el mètode de *Postigo et al., 2008b*, amb petites modificacions, però continuen emprant mètodes cromatogràfics diferents pels opioides i pels cannabinoides.

2.3.2. Presència en aigües residuals.

Els resultats obtinguts en l'anàlisi de cannabinoides i opioides en aigües residuals (2007, 2009), s'han inclòs en els articles dels apartats 2.2.1 i 2.2.2 d'aquesta memòria. Cal remarcar que aquestes dades són les primeres que es van publicar sobre la presència de drogues en aigües a Espanya. De fet, tan sols el mateix any, *Huerta-Fontela et al 2007* havien comprovat l'existència de compostos cocaínics i amfetamínics en aigües residuals i posteriorment *Postigo et al, 2008b*, van reportar la presència de 19 drogues, d'entre les quals hi havien cocaínics, anfetamines, opioides i cannabinoides, tant a l'entrada com a la sortida de la depuradora del Prat de Llobregat (Barcelona). Tanmateix, a la mateixa època es publiquen dades sobre la presència dels compostos estudiats en aquesta memòria en EDARs de l'estranger: *Castiglioni et al 2006, 2007* (EDARs d'Itàlia i Suïssa), *Hummel et al., 2006* (EDARs d'Alemanya) i *Bones et al., 2007b* (EDARs d'Irlanda).

En els dos estudis d'aquesta tesi, s'ha detectat la presència de la majoria dels opioides i dels cannabinoides estudiats en les aigües d'entrada a les depuradores (en total s'han estudiat unes 20 EDARs repartides per Catalunya), a excepció de l'heroïna, la 6-acetil morfina i el fentanil que no s'han trobat mai en cap mostra. Els nivells a l'entrada de les depuradores, varia molt i pels opioides es troben entre els pocs ng/L (3.3 ng/L EDDP) als 1531 ng/L de la metadona. Pels cannabinoides, a l'entrada de les depuradores el ventall de concentracions varia significativament amb màxims de 11.3 ng/L pel THC i de 402 ng/L pel

THC-COOH. A les sortides de les depuradores, es manté la dispersió de valors entre 2.7 i 1150 ng/L pel EDDP que corresponen als valors mínim i màxim trobats. El fet de no trobar heroïna, 6-acetil morfina i fentanil a les depuradores, es pot explicar si es tenen en compte les seves rutes metabòliques. Per exemple, l'heroïna, es desacetil·la ràpidament donant lloc al seu metabòlit principal 6-acetil morfina, la qual és ràpidament hidrolitzada donant morfina com s'ha comentat a la introducció d'aquesta memòria, per tant no és d'estranyar no trobar cap d'aquest dos compostos.

Amb posterioritat a les publicacions incloses en aquest capítol, diversos autors han publicat dades de presència de drogues d'abús en aigües residuals. Pel que fa referència a les tres drogues que en els nostres estudis no s'han trobat mai, l'heroïna només s'ha trobat a l'entrada d'una depuradora de València i en una de Benicàssim (durant un festival de música) a unes concentracions properes al límit de quantificació (2.3 i 2.4 ng/L respectivament; LOQ de 2.07 ng/L) (*Postigo et al., 2008b*). Aquestes traces trobades només poden provenir (degut al metabolisme de l'heroïna) d'abocaments directes d'aquesta droga a la claveguera, i per tant no metabolitzada pel cos humà. Cal destacar però, que en cap de les depuradores de Catalunya (*Postigo et al., 2008, 2010, 2011*) s'ha trobat heroïna, confirmant les nostres dades. En canvi, el metabòlit 6-acetil morfina, ha estat detectat en diverses ocasions en aigües d'entrada de depuradores a Suïssa (*Berset et al., 2010*), Espanya (*Postigo et al., 2010*); Croàcia (*Terzic et al., 2010*); Anglaterra (*Baker et al., 2011; 2014*); Itàlia (*Castiglioni et al., 2011*); Catalunya (*Postigo et al., 2011*); Bèlgica (*Van Nuijs et al., 2011b*), a nivells entre 2.65 i 63 ng/L. El fet que després de consumir heroïna, aquesta es metabolitzi molt ràpidament, i s'excreti com 6-acetil morfina en un 1,3%, podria explicar la presència d'aquesta darrera droga a l'entrada d'algunes depuradores. El fentanil tampoc s'ha trobat ni a les entrades ni sortides d'EDARS, tot i que, cal tenir present, que és una droga que no ha estat gaire estudiada (*Baker et al., 2011; Hapeshi et al., 2015*).

A la figura 2.10, es mostren les concentracions a l'entrada i a la sortida de depuradores, de les drogues publicades a la literatura i es comparen amb els valors obtinguts en aquesta memòria per als mateixos compostos (apartat 2.2.2). Pel que fa a la morfina, aquesta droga s'ha trobat amb força freqüència, a l'entrada de les depuradores i sovint a uns nivells de concentració (21-1600 ng/L) per sobre dels nostres valors (25.5- 278 ng/L). Per exemple destaquen els valors de Suïssa (1007 ng/L, *Berset et al., 2010*), Holanda (1600 ng/L, *De Voogt, et al 2011*) i Itàlia (1261 ng/L, *Castiglioni et al, 2011*) (Fig. 2.10). Alguns autors, (*Berset et al., 2010*), sostenen que la presència de morfina en les aigües d'entrada a les depuradores es pot deure a diverses fonts, consum de heroïna i medicaments (analgèsics, calmants de la tos, anestèsies o per pal·liar el dolor en

tractaments del càncer). Ara bé cal tenir present que una part de la morfina prové de l'heroïna la qual cosa es posa de manifest per la presència del metabòlit 6-acetilmorfina. Pel que fa a l'estudi de *Postigo et al., 2011*, que troba també concentracions elevades de morfina (1346 ng/L) es tracta d'un cas diferent, ja que aquests autors pretenen calcular el consum de drogues en una presó i en aquest cas sí que la major contribució a la concentració de la morfina, és l'heroïna.

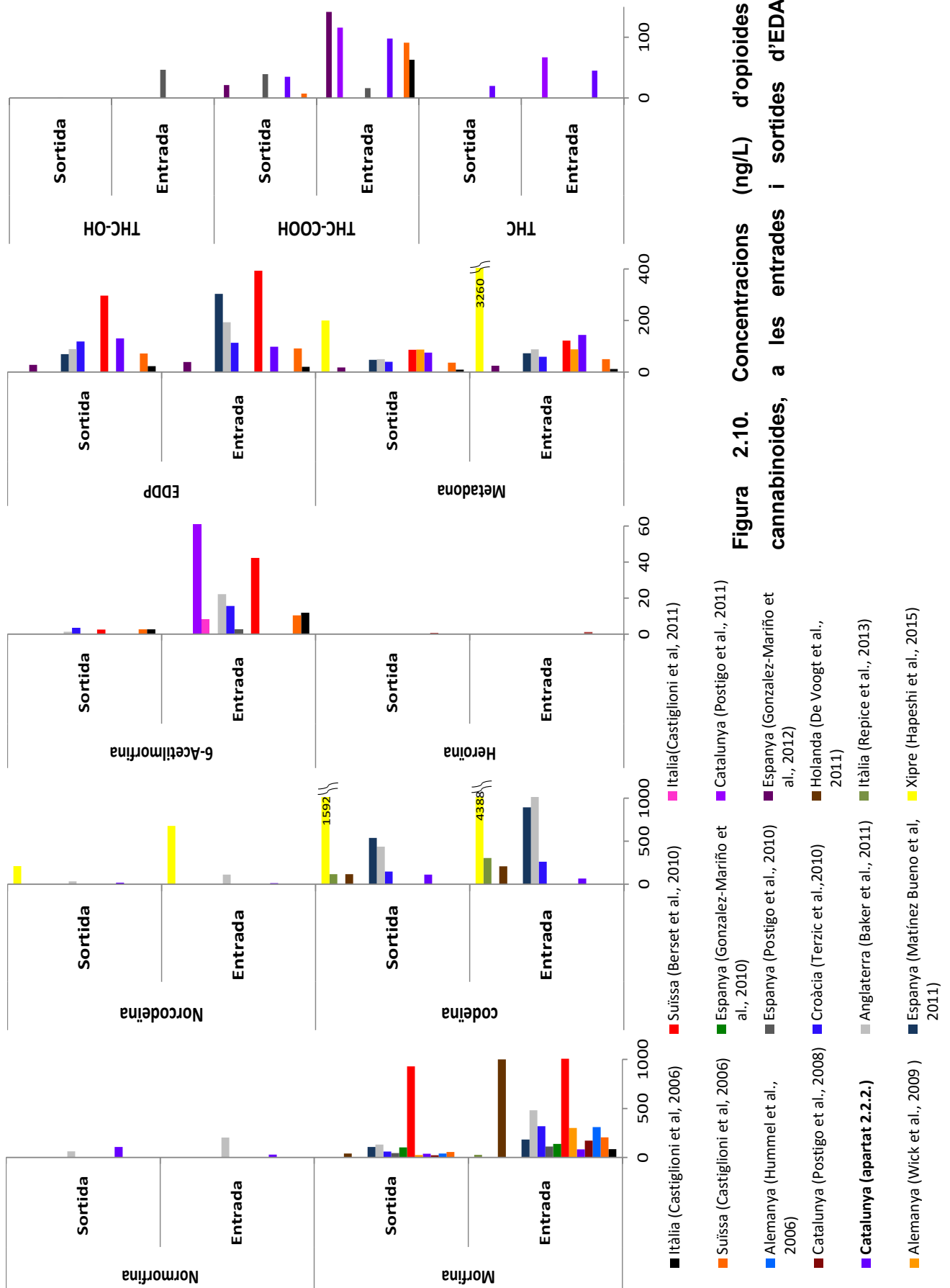
La normorfina, que nosaltres vam detectar a l'entrada de dues de les depuradores estudiades és un compost molt poc estudiat; de fet tan sols ho ha estat un cop (*Baker et al. 2011*). El mateix passa amb la norcodeïna. En canvi, la codeïna, és un dels compostos que s'ha detectat amb més freqüència i s'ha trobat a l'entrada de totes les depuradores estudiades en aquesta memòria (entre 25.5 a 120 ng/L). Aquests resultats estan d'acord amb les dades de la literatura que indiquen que aquesta droga és una de les que s'ha detectat amb més freqüència a les a les entrades de depuradores (taula 1.3) i a més, junt amb la morfina, es troba a concentracions elevades (Fig. 2.10) que han arribat a ser de 2121 ng/L a Anglaterra (*Baker et al. 2011*) i més recentment fins a 6460 ng/L (*Hapeshi et al., 2015*). Cal recordar, que la codeïna que es pot trobar al medi, pot provenir de l'excreció directa del compost, però també dels seus conjugats o de la norcodeïna (Fig. 1.5 del capítol 1), i cal tenir en compte el seu estès us terapèutic. Pel que fa referència a la metadona i el seu metabòlit EDDP, aquestes dues drogues han estat detectades en totes les depuradores estudiades en aquesta memòria, a unes concentracions a les entrades (3.4-1531ng/L metadona, i 3.3-1029 ng/L EDDP), semblants als trobats a la bibliografia (12-202 ng/L per la metadona i 3-634 ng/L pel EDDP) si no es tenen en compte les dades (4704 i 9262 ng/L respectivament, *Postigo et al., 2011* sortida referents a una presó on, precisament, es duen a terme plans de desintoxicació d'heroïna, ni més recentment, les de *Hapeshi et al., 2015*, que van trobar fins a 6071 ng/l de metadona a l'entrada de d'una depuradora urbana de Xipre mostrejada durant els mesos d'estiu on rep un gran augment de població. A més, aquestes dues drogues s'han trobat a totes les sortides de les EDARs estudiades en aquesta tesi d'acord amb les dades de la literatura que posen de manifest que els tractaments utilitzats normalment en les EDARs no són efectius per a la seva eliminació.

Les concentracions de cannabinoides trobades a les entrades de les depuradores estudiades en aquesta memòria van ser sempre superiors pel metabòlit THC-COOH (23.5-402 ng/L) que pel THC (11.3-127 ng/L). Aquests resultats estan d'acord amb el fet que el THC es metabolitza ràpidament i és majoritàriament excretat com el metabòlit àcid (un 70% (*Castiglioni et al. 2006*) i és justament per aquest motiu, que el THC-COOH, és utilitzat com a marcador del cànnabis en els protocols d'anàlisi de drogues. Altres autors també han

trobat aquests compostos, i sempre la presència i concentració del metabòlit àcid ha estat superior al THC (Fig. 2.10).

La presència de concentracions més elevades a la sortida de les depuradores que a l'entrada, dels metabòlits normorfina (eliminació < -150%) i norcodeïna, que hem trobat en l'estudi de l'apartat 2.2.2. d'aquesta memòria, es pot explicar per una N-desmetilació mentre que l'augment de la concentració de la codeïna pot ser deguda a la hidròlisi del glucurònid. En ambdós casos la transformació té lloc durant el tractament en la depuradora. Per al THC-COOH, alguns autors (*Postigo et al. 2010*) també troben eliminacions negatives (-142%), encara que els nostres resultats indiquen per aquest compost una eliminació parcial en concordància amb la majoria del autors. En canvi pel EDDP, igual que *Castiglioni et al, 2006 i Terzic et al.,2010*; també hem trobat eliminacions negatives. Per entendre l'augment d'aquest metabòlit al llarg del tractament, cal recordar que també pot provenir dels glucurònids i compostos p-hidroxilats del mateix EDDP (*Baselt, 2004*).

La depuradora del Prat de Llobregat, on es va estudiar durant una setmana seguida el comportament de diverses drogues en el procés de depuració (veure article científic de l'apartat 2.2.2, d'aquesta memòria), també ha estat monitoritzada per *Postigo et al., 2008b* encara que només algunes de les drogues estudiades coincideixen (THC, THC-COOH, heroïna, morfina i 6-acetilmorfina). En cap dels dos estudis es va trobar heroïna, encara que, *Postigo et al., 2008b* sí que va detectar 6-acetil morfina a nivells baixos (12.8 ng/L), compost que no ha estat detectat en el nostre estudi. La poca estabilitat d'aquestes dues drogues (*Castiglioni et al 2006, van Nuijs et al 2012, Baker et al 2012, 2014 a*), pot explicar les baixes o nul·les quantitats trobades. Pel que fa a la morfina, el nostre valor mitjà setmanal (356 ng/L) és superior al de l'altre estudi (162.9 ng/L). Una possible explicació d'aquesta diferència pot ser l'època del mostreig. En el nostre cas es va mostrejar durant una setmana a principis de primavera del 2007 (abril) mentre que en l'estudi de *Postigo et al., 2008b* el mostreig es va dur a terme durant una setmana a l'estiu del 2007 (juliol). Cal esmentar, com després es comentarà en parlar de les aigües superficials, que sempre s'han trobat concentracions més altes a l'hivern que a l'estiu, probablement degut a que a l'estiu, en ser la temperatura més alta, hi ha més activitat biològica que ajuda a la degradació dels contaminants presents. Respecte als cannabinoides, el THC o bé no es detecta o es troba esporàdicament en alguna mostra a valors propers al LOQ. Pel que fa al metabòlit THC-COOH els nostres valors (152 ng/L) són superiors als de l'altre estudi (4.3 ng/L) i novament aquesta diferència es podria explicar per l'activitat biològica en l'època d'estiu.



Les concentracions obtingudes per a les drogues d'abús a l'entrada d'aquesta depuradora (el Prat de Llobregat, mostrejada durant una setmana), es van utilitzar per fer un càlcul aproximat del consum de drogues per part de la població, seguint el model i pautes descrits per *Zuccato et al. 2008b*, i considerant que les drogues que arriben a la depuradora, reflecteixen el que excreta la població. Els resultats es troben inclosos a l'article de l'apartat 2.2.2. d'aquesta memòria. Per tal de fer aquests càlculs, a partir del valor mitjà de les concentracions (ng/L) trobades, es va normalitzar a la càrrega (*load*) de cada droga que arriba a la depuradora en un dia, i es va considerar que la depuradora rebia l'aportació de 2 milions d'habitants al dia. A partir d'aquest valors, tenint en compte el percentatge d'excreció de la droga o del metabòlit, i els mg de droga que corresponen, com a valor mitjà, a una dosi, s'obtenen les dosis per dia i per 1000 habitants (mg/dia per 1000 habitants). El percentatge d'excreció, raó màssica i el factor de correcció, emprats en aquesta tesi han estat els proposats per *Zuccato et al., 2008b*, i també recollits posteriorment per *Zuccato and Castiglioni. 2011*, per intentar homogeneïtzar aquests càlculs (veure taula 2.8). En el cas d'emprar metabòlits per al càlcul, com per exemple, pel cànnabis per al qual s'ha utilitzat el THC-COOH, cal considerar a més un factor de correcció que té en compte el percentatge de droga que s'excreta com a metabòlit. Per al cànnabis vàrem estimar un consum de

Taula 2.8. metabòlit, percentatge d'excreció, raó màssica, factor de correcció i dosi mitja, proposats per *Zuccato and Castiglioni 2011*, pels càlculs de consums.

Droga	heroïna	THC
Principal metabòlit	morfina	THC-COOH
Percentatge de la dosi excretada	42%	0.6%
Raó de massa molar (droga/metabòlit)	1.29	0.91
Factor de correcció	3.07	152
Dosi mitja (mg)	30	125

3466 mg / (dia*1.000 hab.) o el que és el mateix, 27 dosi / dia/ 1.000 hab.) tenint en compte una dosi de 125 mg de THC fumat (*UNDOC 2004*). En el cas que el compost pugui provenir de diferents fonts, aquest fet també s'ha pres en consideració. Per exemple, en el càlcul de consum d'heroïna, a partir de les dades de presència de morfina en aigües residuals s'ha restat el consum de morfina terapèutica ((10 mg/dia/1000hab), *Zuccato et al 2006*) i s'ha tingut en compte la quantitat de morfina que prové de l'heroïna, el percentatge d'excreció d'aquesta última i la raó molar heroïna/morfina (taula 2.8) i s'ha assumit que la contribució

de la morfina com a metabòlit de la codeïna és negligible. Prenent en consideració tots aquests factors s'ha estimat un consum d'heroïna de 3375 mg/ dia*1000hab que correspon a 4.6 dosis/dia*1000 hab acceptant que la dosi habitual d'heroïna intravenosa és 30 mg (Zuccato et al., 2008b). És a dir: heroïna (mg/dia) = [(concentració de morfina (ng/L) * cabal (L/dia)) – morfina terapèutica (mg/dia)] * 3.07.

A la taula 2.9., s'inclouen les dades de consum per l'heroïna i el cànnabis obtingudes

Taula 2.9. Consum d'heroïna i cànnabis calculats a partir de dades de presència dels seus principals metabòlits en aigües residuals

Droga	País	Població	dosi/ dia*1000hab	mg/ dia*1000hab	Referència
Heroïna	Milà	1.250.000	2,3	69	Zuccato et al 2008a
	Lugano	120.000	3,3	99	Zuccato et al 2008a
	Londres	5.500.000	7	210	Zuccato et al 2008a
	Catalunya (Llobregat)	2.000.000	4,6	138	Apartat 2.2.2.
	Catalunya (Ebre)	1.400.000	1,4	42	Postigo et al 2010
Cànnabis	Milà	1.250.000	24	3000	Zuccato et al 2008a
	Lugano	120.000	53	6625	Zuccato et al 2008a
	Londres	5.500.000	61	7625	Zuccato et al 2008a
	Catalunya (Llobregat)	2.000.000	27	3375	Apartat 2.2.2.
	Catalunya (Ebre)	1.400.000	4	500	Postigo et al 2010
	Austràlia	300000	5-10,9	625-1370	Lai et al 2014
	Eslovàquia (8 EDARs)	1.110.000	0,14-0,29	2736-5320	Mackulak et al 2014
	Umeå (Suècia)	115.800	0	0	Ort et al 2014
	Milà	1.250.000	0,20	3891	Ort et al 2014
	Zagreb (Croàcia)	650.000	0,37	7038	Ort et al 2014
	Budweis (rep. Txeca)	112.000	0,48	9074	Ort et al 2014
	Barcelona	1.162.000	0,84	15899	Ort et al 2014
	Castelló	204.878	0,73	1100	Ort et al 2014
	Santiago	136.500	0,67	654	Ort et al 2014
	París	674.700	0,75	14182	Ort et al 2014

en aquesta tesi i les de la literatura, incloent el treball publicat per *Ort et al 2014*, que van fer els càlculs a partir de les dades d'un exercici interlaboratori on van participar diversos països europeus. De les dades d'heroïna, destaquen les de Londres i Barcelona, però justament aquestes ciutats són les que tenen un nombre d'habitants més gran, així doncs, proporcionalment, van trobar uns valors més elevats de consum d'heroïna a Lugano (*Zuccato et al 2008a*). D'altra banda, pel cànnabis, destaquen dues dades de del treball publicat per Ort et al., 2014, per una banda que no s'ha trobat en Umeå (Suècia) i per altra que la ciutat on s'ha trobar nivell proporcional més elevat de consum és Budweis (rep. Txeca), doncs cal tenir en compte que de les ciutats mostrejades és la que té menys habitants.

2.3.3. Presència en aigües superficials.

Les dades obtingudes en aquesta tesi sobre la presència de drogues d'abús en aigües superficials es troben incloses en els apartats 2.2.1 i 2.2.2. d'aquesta memòria. En el primer treball, es va estudiar la presència de cannabinoides a l'aigua del riu Llobregat, a l'entrada de la planta potabilitzadora de Sant Joan Despí (ETAP-SJD), agafant mostres puntuals entre abril i maig de l'any 2007 (punt 15 de la figura 2.11). En el segon treball un cop demostrada la presència d'aquests compostos a l'aigua del riu es duu a terme un estudi més complet que correspon a dues campanyes en les que s'han pres mostres d'aigua superficial en 16 punts al llarg del riu Llobregat i els seus afluents, el Cardener, l'Anoia i la riera de Rubí (Fig. 2.12). En aquest segon estudi, també es van analitzar mostres diàries de l'aigua del riu Llobregat a l'entrada de l'ETAP-SJD durant una setmana i en diverses èpoques de l'any (juny i octubre 2007 i febrer 2009).

L'interès en mostrejar aigua del riu Llobregat per avaluar la presència dels compostos en estudi, és deu a que es tracta de la principal aportació d'aigua a l'ETAP-SJD que està situada a pocs kilòmetres de la desembocadura del riu i que subministra aigua potable a la ciutat de Barcelona. El riu Llobregat, considerat un dels rius més contaminats d'Europa està subjecte a condicions del clima mediterrani, caracteritzades sobretot per escasses precipitacions, períodes de sequera i tempestes concentrades en pocs dies, que poden provocar inundacions. És a dir es tracta d'un riu que pot patir canvis bruscos de cabal. A

més, el riu Llobregat travessa zones molt industrialitzades, urbanitzades i/o cultivades i més de 50 plantes de tractament d'aigua residuals aboquen al riu Llobregat, a l'Anoia i la riera de Rubí, dos dels seus principals afluents que estan considerats els trams del Llobregat més contaminats. De fet, per tal que la captació d'aigua per part de la ETAP de SJD no estigui deteriorada per aquestes aportacions, l'aigua de la riera de Rubí i bona part de la riera d'Anoia es desvia de manera que no s'aboca a la llera principal del Llobregat. En períodes de sequera, es pot arribar a donar el cas que les descàrregues de sortida de depuradores formin el cabal majoritari del riu. Aquests fets comporten que en aquest riu es trobi una gran variabilitat en les concentracions de les drogues d'abús i els seus metabòlits (*Huerta-Fontela et al., 2009; Postigo et al., 2010*) i ha estat, i segueix essent, objecte d'estudi.

En el mapa de la figura 2.11, s'indiquen els punts de mostreig estudiats, al llarg del riu Llobregat i els seus principals afluents. La majoria dels punts estan situats a la part baixa del riu, ja que són més propers a la captació d'aquesta ETAP (punt nº 15), i perquè és on conflueixen les aportacions dels afluents principals. En totes les campanyes de mostreig dutes a terme durant aquests estudis, la presa de mostra es va realitzar tenint en compte el cabal del riu i la distància entre cada punt, per facilitar la comparació de les concentracions al llarg del riu. Els resultats de l'estudi de la presència d'aquests compostos a l'entrada a la ETAP de Sant Joan Despí, es troben a l'apartat 2.2.1 mentre que els corresponents a la presència al llarg de la conca del riu es recullen a l'apartat 2.2.2.

En els dos estudis esmentats, els compostos més freqüentment detectats han estat la codeïna, l'EDDP i la metadona. L' EDDP s'ha trobat a totes les mostres mentre que la codeïna i la metadona es van trobar en totes excepte en dues recollides a la part alta del riu (punt 1 figura 2.11) . La presència d'aquests compostos en el riu concorda amb els resultats dels estudis d'aigües residuals comentats a l'apartat anterior ja que la codeïna, l'EDDP i la metadona que són els compostos que més sovint s'han detectat a les sortides d'EDARS estudiades també són els que s'han trobat a concentracions més altes en el riu. La morfina també s'ha detectat, però amb menor freqüència i en zones del riu (punts 3, 7, 14 i 15, figura 2.11) on el Llobregat ja ha rebut l'aportació de rieres i depuradores grans, la qual cosa posa de manifest que aquestes són les aportacions principals. Per exemple, el riu Anoia i la riera de Rubí presentaren una concentració de 10.7 ng/L i 30.9 ng/L respectivament, per aquest analit, i si es té en compte que la riera està quasi totalment desviada i que el riu Anoia ho està aproximadament en un 75%, les concentracions de morfina trobades, entre 2.8 i 7 ng/L, en els punts de mostreig 12 i 14 posen de manifest la influència d'aquests dos afluents. Valors del mateix ordre de magnitud (4.8-6.3 ng/L), s'han detectat per la morfina durant

l'estudi de la primavera de 2007, en mostrejant aigua del riu Llobregat just a l'entrada de la ETAP (apartat 2.2.1).

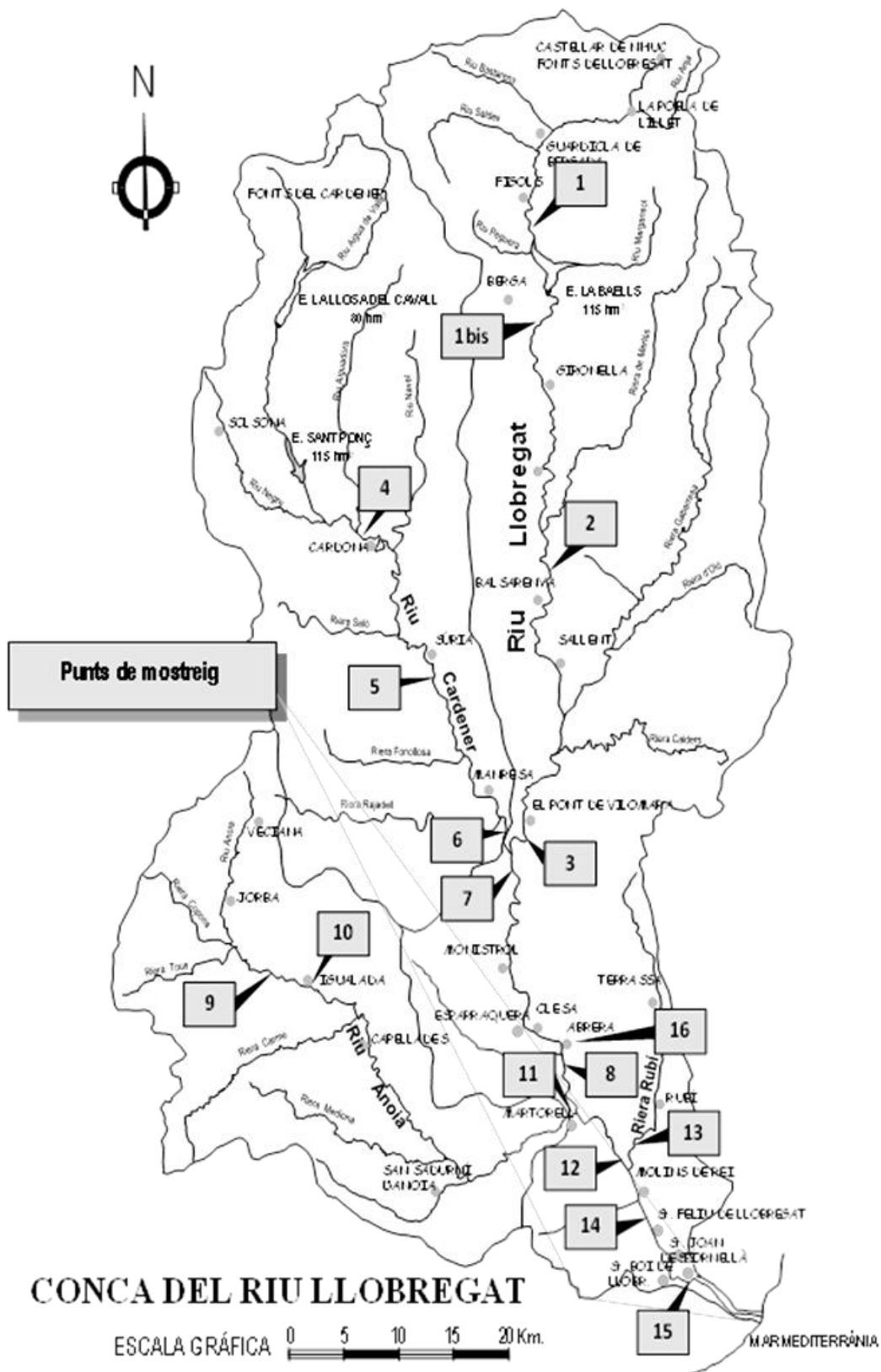


Figura 2.11. Punts de mostreig d'aigua superficial

Pel que fa referència al metabòlit del cànnabis, THC-COOH, aquest es va detectar en totes les mostres mostrejades a la tardor (apartat 2.2.2.) i en totes les mostres de l'aigua del riu a l'entrada de l'ETAP (apartat 2.2.1.), però en canvi no es va detectar en cap de les mostres recollides durant la campanya de la primavera (apartat 2.2.2). Pel que fa a les concentracions, els valors més alts corresponen als punts aigües amunt del riu Llobregat (1, 1bis i 2) i del riu Cardener (4 i 5). Aquests valors més elevats (amb un màxim de 79 ng/L pel THC-COOH), es van detectar a la tardor del 2007, quan en aquests punts ja hi feia fred amb temperatures de l'aigua relativament baixes. És conegut que a l'hivern, sobretot les EDARs que tracten les aigües residuals només fins al tractament secundari, no funcionen tant bé i les eliminacions són inferiors a les de l'estiu. Això, a més de què a l'estiu l'activitat bacteriana en el riu és més alta, pot explicar que es trobin valors més alts quan fa fred, a l'hivern o bé en llocs de muntanya a la tardor. L'estudi estacional (apartat 2.2.2.) dut a terme en el punt de captació d'aigua de la ETAP-SJD (figura 2.12.) corrobora aquest fet ja que en general, els valors més alts es troben a l'hivern, quan les temperatures són més baixes. Aquest efecte també es va observar per la morfina, codeïna, metadona i EDDP i ha estat descrit per altres autors. Per exemple, *Mendoza et al, 2014b*, van mostrejar els rius Jarama i Manzanares en quatre campanyes durant l'hivern i l'estiu del 2012, i van trobar el mateix comportament estacional que nosaltres, encara que amb variacions de concentració entre estacions menors. Podria ser que en el nostre cas, les variacions en les concentracions de l'hivern a la primavera (pel EDDP és quasi un 50% més alta a l'hivern) es deguin a la diferència de temperatures però també a les grans variacions de cabal que presenta el riu Llobregat.

Cal remarcar que per totes les drogues estudiades, excepte la normorfina, l'heroïna, la 6-acetilmorfina i el THC que no es van detectar en cap dels punts mostrejats de la conca del riu Llobregat, els màxims de concentració es van trobar a la riera de Rubí (punt 13, de la figura 2.11), on a més, es van detectar la norcodeïna i el fentanil. Ja s'ha comentat al principi d'aquest apartat, que la riera de Rubí està considerada l'afluent més contaminat del Llobregat, i és per aquest motiu que la seva aigua és desviada per evitar que contamine l'aigua en el punt del riu de captació de la potabilitzadora. En resum i pel que fa referència a les drogues que es troben en l'aigua d'entrada a l'ETAP-SJD (apartats: 2.2.1 i 2.2.2.), són: morfina, codeïna, metadona i EDDP, i en algunes ocasions (apartat 2.2.1) el THC-COOH. Els quatre primers compostos, són també els majoritaris en tota la conca i el fet que sempre hi siguin, independentment de l'època de l'any, els confirma com compostos de contaminació difusa o silenciosa.

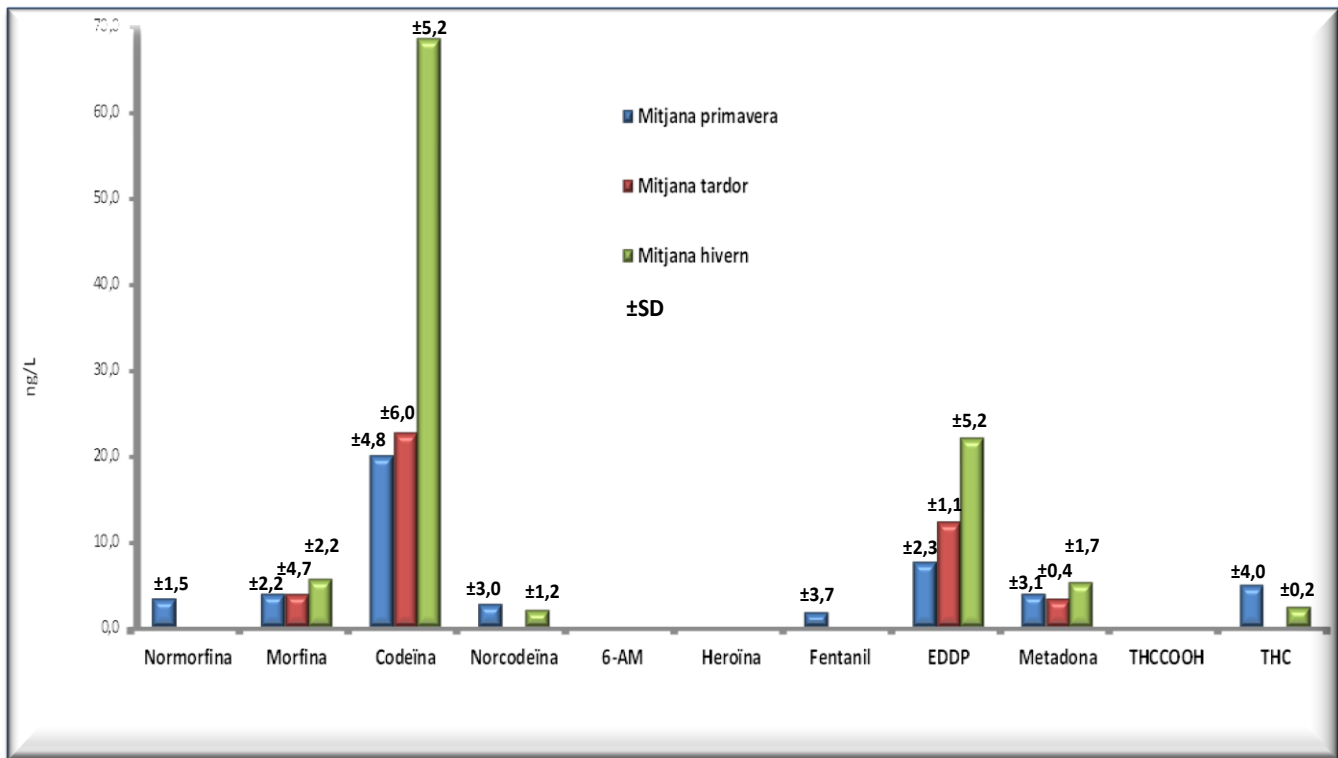


Figura 2.12. Mitjana estacional d'algunes drogues d'abús en el punt de captació d'aigua de la ETAP de Sant Joan Despí.

La comparació de les concentracions de les drogues d'abús obtingudes en aquesta memòria (rius Llobregat, Cardener, Anoia i riera de Rubí) dels apartats 2.2.1. (article científic 2007) i 2.2.2. (article científic 2009), amb les publicades a la literatura referents a aigües superficials de rius de diversos països (Fig. 2.13) posa de manifest que els resultats concorden pel que fa als compostos més abundants i més freqüents. A la figura 2.13, no s'han inclòs el THC, l'heroïna, la normorfina i el fentanil, ja que les concentracions es troben normalment al nivell dels LOQs. Tampoc s'han considerat ni la norcodeïna ni la 6-acetilmorfina ja que la seva presència tant en les mostres analitzades en aquesta tesi com a la literatura és esporàdica. De fet, la norcodeïna només s'ha detectat en el riu Llobregat a l'entrada de l'ETAP a una concentració mitjana de 3,6 ng/L i no en totes les mostres analitzades, en una mostra de la riera de Rubí (10.1 ng/L) i en l'Albufera de València (4,7 ng/L; *Vázquez-Roig et al 2010*), mentre que per la 6-acetilmorfina, només s'han publicat dues dades positives en rius, una en el riu Llobregat a l'entrada de l'ETAP (3,4 ng/L (LOQ 0.9 ng/L; apartat 2.2.1), i l'altre en un 25% dels rius mostrejats a Suïssa per *Berset et al 2010*, (<LOQ i 1.2 ng/L).

Pel que fa a les substàncies trobades a concentracions més elevades, en els rius són: morfina, codeïna, metadona i EDDP, i els rius que presenten una major contaminació per morfina són: l'Olona a Itàlia (*Zuccato et al 2008*); la riera de Rubí (apartat 2.2.2.), el Sar (*González-Mariño et al 2010*) i el Manzanares (*Mendoza et al 2014*) a Espanya. Entre elles destaca el valor del riu Manzanares (21.1-148.0 ng/L), sobretot si es compara amb el de la riera de Rubí (30.9 ng/L), el més alt per la morfina en aigües superficials que hem trobat en els nostres estudis. Aquestes altes concentracions es poden deure al punt de mostreig en el riu Manzanares, que estava situat tant sols a uns 100 metres de la sortida d'una de les depuradores més grans i properes a la zona més poblada de Madrid. En el nostre estudi, la codeïna, és la droga que ha estat detectada a una concentració més alta (fig 2.14) per exemple 251 ng/L a la riera de Rubí (apartat 2.2.2.), valors similars als trobats al riu Calder (màx. 341.7 ng/L, *Baker et al 2011*), i al riu Sar la concentració és de 149 ng/L. Un cop més, les concentracions màximes trobades, coincideixen en punts dels rius propers a les depuradores que reben l'aportació d'un nombre d'habitants més gran. Pel que fa referència a la concentració de metadona i d'EDDP destaca la de la riera de Rubí (15 ng/L metadona i 64 EDDP, apartat 2.2.2), encara que són més baixes que les trobades en el riu Manzanares (54.8 ng/L metadona i 151 ng/L EDDP, *Mendoza et al 2014*). En canvi els valors trobats en el riu Llobregat a l'entrada de l'ETAP-SJD, es troben en l'interval de 4.4 - 10.1 ng/L per la metadona, i de 9.6 – 17.5 ng/L pel EDDP. Aquests valors són semblants als trobats en el riu Tajo 9.01 ng/L per la metadona i 13.8 ng/L pel EDDP, *Valcárcel et al , 2012*), i en el riu Calder (10 ng/L per la metadona i 19.1 ng/L pel EDDP, *Baker et al , 2011*).

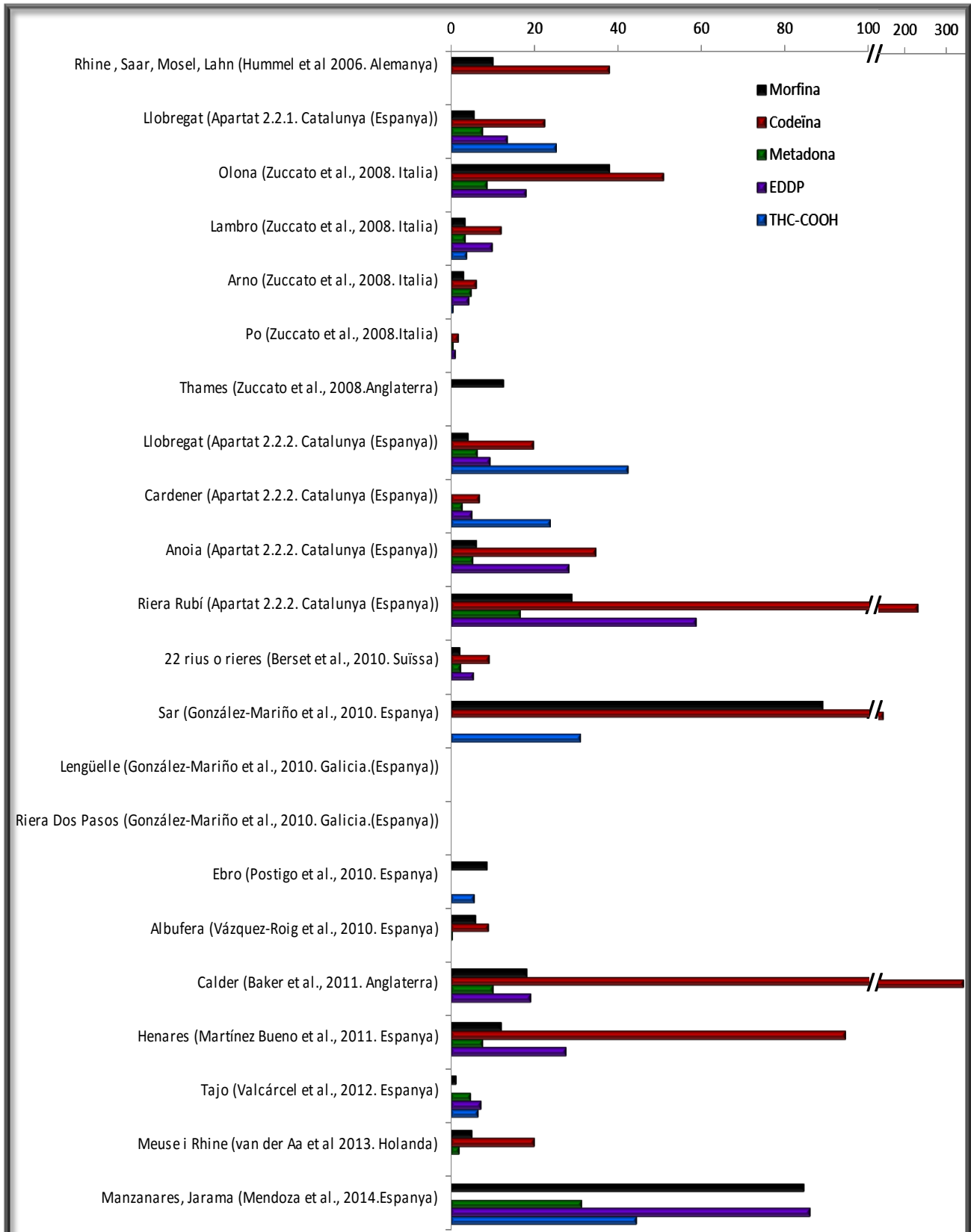


Figura 2.13 Opioides i cannabinoides (ng/L) en aigües superficials

2.3.4. Presència en aigües potables.

Un dels objectius d'aquesta memòria ha estat estudiar el comportament de les drogues d'abús en les plantes de tractament d'aigües potables i avaluar la possible presència d'aquests compostos en l'aigua de l'aixeta. El comportament durant el tractament i l'eficàcia d'aquest per tal d'eliminar les drogues, serà discutit en el capítol 3 d'aquesta memòria "*Comportament de les drogues i els fàrmacs en nous tractaments d'aigües*". Pel que fa referència a la presència de drogues en aigües potables, els resultats s'han inclòs a l'article de l'apartat 2.2.3 i es discuteixen a continuació. Aquest estudi presenta unes diferències importants en relació amb els dos anteriors. Per una banda, com ja s'ha comentat, a més dels cannabinoides i els opioides s'han analitzat altres drogues d'abús. Per altra banda, i atès que es van analitzar mostres d'aigua de l'aixeta recollides en diverses ciutats espanyoles, d'Europa i d'altres països llunyans i no sempre per personal expert d'empreses potabilitzadores, va caldre adoptar mesures de presa de mostra per evitar possibles errors. Així, en els casos que les mostres van estar preses per persones alienes a empreses de tractament de l'aigua, se'ls va proporcionar ampolles per la presa de mostra amb el reactiu adient i si no era possible fer-los arribar les ampolles (Sud-Amèrica o Japó), se'ls va indicar el tipus d'ampolla que podien comprar en qualsevol farmàcia. A fi i efecte d'evitar possibles degradacions, es van dur a terme estudis d'estabilitat utilitzant aigües potables, que van posar de manifest que l'addició del tiosulfat de sodi és crítica, per evitar la degradació d'algunes de les drogues, tenint en compte que aquestes es troben en una aigua que conté una certa quantitat de clor lliure. Només es va estudiar el tiosulfat de sodi com estabilitzant, atès que és el que per defecte posen en les ampolles comprades a les farmàcies per mostrejar l'aigua, i per tant, es va decidir afegir-lo a totes les mostres. Entre els compostos per als quals convé addicionar tiosulfat sòdic s'han d'esmentar les amfetamines i, la nicotina (aproximadament un 25% de disminució després de dos dies sense el tiosulfat sòdic. Pel que fa a la família dels cocaínics, no es veuen afectats per l'addició del tiosulfat de sodi però en canvi són molt sensibles a la temperatura i convé guardar-les a temperatura baixa. A la literatura hi ha dades que confirmen aquests resultats. Per exemple, *Castiglioni et al 2006*, i *Postigo et al. 2008*, van observar en aigües residuals el mateix efecte de la temperatura per a la família del cocaínics i *George et al 2008*, proposa pH àcid per conservar la cocaïna i la benzoïlecgonina. En el nostre cas es va addicionar a totes les mostres tiosulfat de sodi i van estar transportades i emmagatzemades en neveres (4°C).

A la figura 2.14, es mostra la freqüència en que s'han detectat les diferents drogues d'abús estudiades en les mostres d'aigua d'aixeta, les mitjanes i els 95% percentil. En general, les concentracions han estat molt baixes, mitjanes $<0.5\text{ng/L}$, amb alguna excepció puntual que es posa de manifest si es considera el 95% percentil, per exemple pel EDDP la mitjana és de 0.4 ng/L i el 95% percentil és 1.93 ng/L . Pel que fa a les freqüències en les aigües d'aixeta espanyoles, les drogues no controlades com la nicotina i la cafeïna, s'han detectat a totes les mostres, entre els cocaínics la cocaïna es va trobar en el 66% de les mostres mentre que el cocaetilè es trobà present en el 28%. Les amfetamines, s'han trobat amb una freqüència més baixa, entre el 2-4% de les mostres, i dels opioides, només es va detectar la metadona i el seu metabòlit principal en un 18% i 86% respectivament. El fentanil i la ketamina es van detectar esporàdicament a concentracions properes als LOQs mentre que la resta no han estat detectats cap vegada. Els resultats de les mostres procedents de les ciutats no espanyoles (internacionals), són semblants (figura 2.16), encara que cal destacar que la cafeïna es troba a concentracions més baixes en les mostres de ciutats europees que en les espanyoles, i que els cocaínics a concentracions més elevades a les ciutats dels països sud-americans. En general, les drogues no controlades, la metadona i el seu metabòlit EDDP, van mostrar un 10% menys de presència i concentracions semblants. En canvi, la norbenzoilecgonina i les amfetamines METH i AMP, es van trobat amb una freqüència lleugerament més elevada (15% , 11% i 8% respectivament) en les mostres internacionals. Pel que fa referència a les concentracions mitjanes de les mostres preses en països estrangers, aquestes van ser més elevades que en les mostres espanyoles, per la norcocaïna (0.29 ng/L), benzoilecgonina (1.83 ng/L), MDA (0.37ng/L) i MDMA (0.08 ng/L). Encara que totes les concentracions, espanyoles i internacionals, són baixes, (la mitjana no supera els 0.5 ng/L), els valors de 95% percentil més alts van ser pel EDDP de $1,93\text{ ng/L}$ en les mostres espanyoles, i per la benzoilecgonina (de 10 ng/L) en les mostres internacionals, degut sobretot a les mostres de Sud-Amèrica, on per cert, els cocaínics es roben a concentracions elevades (Benzoilecgonina entre 0.9 i $15,2\text{ ng/L}$ i màxims de cocaïna 2.95 ng/L , de norcocaïna 2.61 ng/L). A la resta de països les concentracions d'aquestes drogues va ser semblant a la de les mostres espanyoles.

Es va intentar correlacionar les dades obtingudes amb els tractaments utilitzats en les diferents ciutats per potabilitzar l'aigua. Ara bé, la informació que es va aconseguir va ser poc concreta i amb poques referències als tipus de tractaments utilitzats en cada país i en la zona en que s'havia pres la mostra i a més, no es van trobar diferències significatives. Només el fet de trobar nivells de productes cocaínics més elevats en ciutats sud-americanes

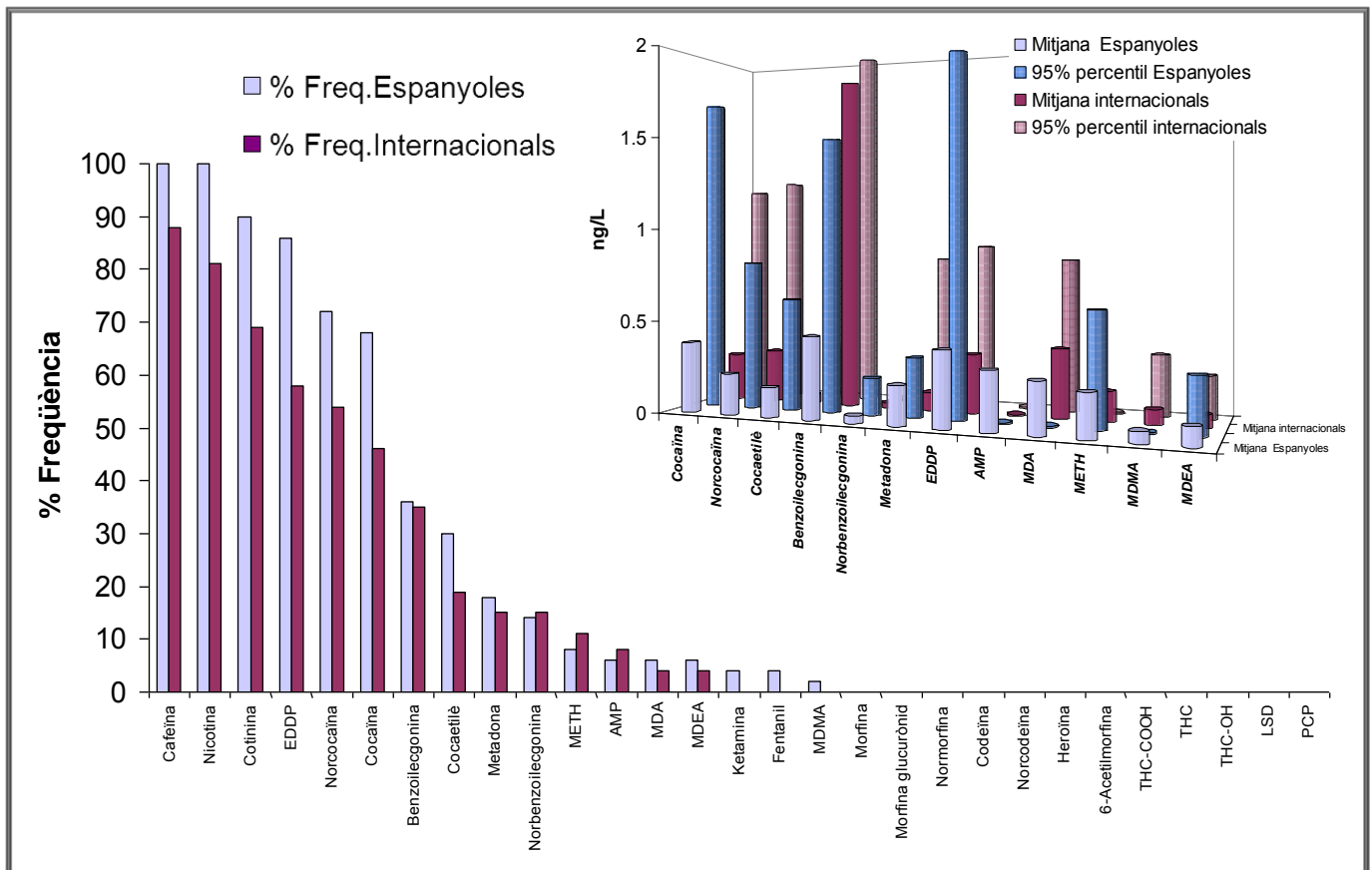


Figura 2.14. Percentatge de freqüència de detecció i concentració de les drogues d'abús en aigües potables

i encara que concorda amb l'elevat us en aquests països, es podria pensar que potser els tractaments podrien ser menys eficients. *Pal et al 2013*, en el seu recull sobre la presència de drogues d'abús en aigua potable comenta que es tenen molt poques dades al respecte. De fet cita els estudis d'aigua tractada a la sortida de la potabilitzadora de Sant Joan Despí (*Huerta-Fontela et al.2008b*; i el de l'apartat 2.2.2. d'aquesta memòria), un d'aigua subterrània (*Jurado et al 2012*), un altre sobre aigües de fonts públiques (*Valcárcel et al 2012*), i el treball que estem comentant referent a aigües d'aixeta (apartat 2.2.3). *Valcárcel et al 2012*, en el seu estudi sobre l'aigua de rius de la conca del Tajo van analitzar a més, tres mostres d'aigua d'aixeta en llocs públics de la zona, en els que van trobar cocaïna, benzoilecgonina i metadona a unes concentracions de 2.11, 2.47, 0.99 ng/L respectivament que són lleugerament superiors als trobats per nosaltres com a mitjana de totes les mostres espanyoles (0.4; 0.4 i 0.2 ng/L respectivament). Darrerament, *Mendoza et al 2014b*, han mostrejat aigües d'aixetes en cases particulars de la comunitat de Madrid, i només han

trobat cocaïna en una de les mostres de la localitat d'Alcorcón a una concentració de 1,61 ng/L. D'aquestes publicacions es desprèn que els nivells continuen essent molt baixos (pocs ng/L o per sota), tot i que, cal destacar que en aigües subterrànies els valors són relativament més elevats, cocaïna (3.8 ng/L), metadona (7.4 ng/L) i MDMA, i (3.9 ng/L) (*Jurado et al 2012*).

2.4. Conclusions.

Els estudis sobre drogues d'abús que s'han dut a terme inclosos en aquest apartat, permeten concloure que:

Respecte a la metodologia d'anàlisi:

- Les metodologies multiresidu desenvolupades en aquesta tesi basades en una extracció en fase sòlida seguida de l'anàlisi per UPLC-MS/MS han permès l'extracció, preconcentració i determinació de drogues d'abús, cannabinoides i opioides, en aigües residuals, superficials i potables. La metodologia és ampliable per la determinació conjunta dels cannabinoides, opioides i altres drogues d'abús (morfina-3-glucurònid, THC-OH, cocaínics, amfetamines, PCP, LSD, ketamina, cafeïna, nicotina i cotinina). El mètode de cromatografia de líquids desenvolupat és capaç de separar 29 drogues en menys de 9 minuts.
- Els paràmetres de qualitat del mètode obtinguts, han demostrat que la metodologia és robusta, precisa i sensible. Les altes recuperacions obtingudes, entre 65% (THC) i 103% (fentanil) en aigua potable, les baixes desviacions estàndard relatives <10% per a tots els compostos i els baixos límits de detecció, de l'ordre de 0,1-12 ng/L, excepte pels cannabinoides (50 ng/L en el mètode conjunt), permeten proposar el mètode per a l'anàlisi d'aquestes drogues en les tres matrius d'aigües estudiades.

Respecte a la presència de drogues d'abús en les aigües residuals:

- El mètode d'anàlisi de drogues d'abús, cannabinoides i opioides, desenvolupat en aquesta tesi ha permès detectar per primer cop a Espanya aquests compostos en aigües residuals, superficials i potables.

- S'ha detectat la presència de la majoria dels opioïdes i dels cannabinoides estudiats en aquesta memòria, en les aigües residuals a l'entrada de les depuradores. Tan sols l'heroïna, la 6-acetil morfina i el fentanil no han estat mai detectats. Els nivells de concentració són molt variables, especialment els dels opioïdes que oscil·len entre els 3.3 ng/L de l'EDDP als 1531 ng/L de la metadona. Pels cannabinoides, el ventall de concentracions és menor encara que varia des de 11.3 ng/L (THC) als 402 ng/L (THC-COOH).
- Les eliminacions en les depuradores estudiades, són limitades depenen del compost, doncs es troben presents a les sortides, en general, tots els compostos detectats a l'entrada. En alguns casos (codeïna, normorfina, EDDP, etc.) fins i tot es produeix un increment degut a la desmetilació i/o des-conjugació dels metabòlits.
- La concordança entre els valors de consum de drogues per la població, calculats a partir de les concentracions de les drogues d'abús a l'entrada de la depuradora del Prat de Llobregat, i les dades oficials publicades per UNDOC (2008), posa de manifest la utilitat d'aquesta aproximació.

Respecte a la presència de les drogues d'abús en les aigües superficials:

- Pràcticament totes les drogues que estan presents a les sortides de les depuradores es troben a les aigües superficials estudiades, encara que a concentracions més baixes, i en general, més altes a l'hivern que a l'estiu.
- Els principals compostos identificats en la conca del riu Llobregat són: la codeïna, la morfina, el THC-COOH, la EDDP i la metadona. Mai s'ha detectat la presència de normorfina, 6-acetilmorfina i l'heroïna, i tan sols esporàdicament el fentanil, la norcodeïna i el THC.
- Els valors màxims trobats en la conca del riu Llobregat, són els de la riera de Rubí (afluent més contaminat del Llobregat), on s'han arribat a detectar fins a 251 ng/L de codeïna.
- L'aigua a l'entrada de la potabilitzadora de Sant Joan Despí conté les drogues d'abús estudiades a concentracions entre 1.8 ng/L (fentanil) a 68.6 ng/L (codeïna), i per tant, cal avaluar l'eficiència del tractament de potabilització en la seva eliminació.

Respecte a la presència de les drogues d'abús en les aigües potables:

- S'ha demostrat que algunes de les drogues d'abús poden arribar a les aixetes dels consumidors espanyols, encara que, en general les concentracions de les drogues en aquestes aigües són molt baixes (mitjanes <0.5 ng/L). Tan sols les drogues no controlades, cafeïna, nicotina i cotinina es troben a nivells més elevats (mitjanes entre 3,4 ng/L i 50 ng/L), essent la nicotina i la cafeïna, les úniques detectades en totes les mostres espanyoles estudiades mentre que la cotinina ho ha estat en 90%. La resta es van detectar esporàdicament (freqüències de 2 a 66%).
- Els resultats, tant de presència com de concentració, en les mostres internacionals (diverses ciutats europees i d'algunes ciutats d'Amèrica del Sud i del Japó), han estat molt semblants als de les mostres espanyoles (també <0.5 ng/L), a excepció de les mostres dels països sud-americans, on s'han trobat els màxims en compostos cocaïnics (15 ng/L de benzoilecgonina).

**COMPORTAMENT DE LES DROGUES
D'ABÚS I ELS FÀRMACS EN NOUS
TRACTAMENTS D'AIGÜES.**

3.1. - Tractaments per aigües residuals i potables.

3.1.1. Tractaments aplicats a les aigües residuals

La depuració de les aigües residuals és un punt clau per al manteniment dels ecosistemes aquàtics i a més, permet assegurar la qualitat de l'aigua per a pròximes generacions. La natura té mecanismes propis d'autodepuració per lluitar contra la contaminació de les aigües. En la autodepuració es produeixen processos físics, químics i biològics de manera alternant o simultània i el tractament de les aigües residuals combina aquests processos en les estacions depuradores. El disseny de cadascuna d'aquestes operacions depèn del tipus d'aigua, de les seves característiques, del volum que s'ha de tractar i de la qualitat de l'aigua que es vol obtenir, així com del lloc on s'hagi de construir la depuradora, atès que la climatologia juga un paper important en el disseny.

Un **tractament convencional d'aigües residuals** inclou dues o tres etapes (veure figura 3.1). La primera, anomenada pretractament, elimina els sòlids més grossos arrossegats per l'aigua residual que arriba del col·lector emprant reixes i desarenadors-desgreixadors. La finalitat d'aquest tractament és evitar possibles obturacions posteriors, així com eliminar l'efecte abrasiu d'aquests materials sobre les bombes i vàlvules dels sistemes

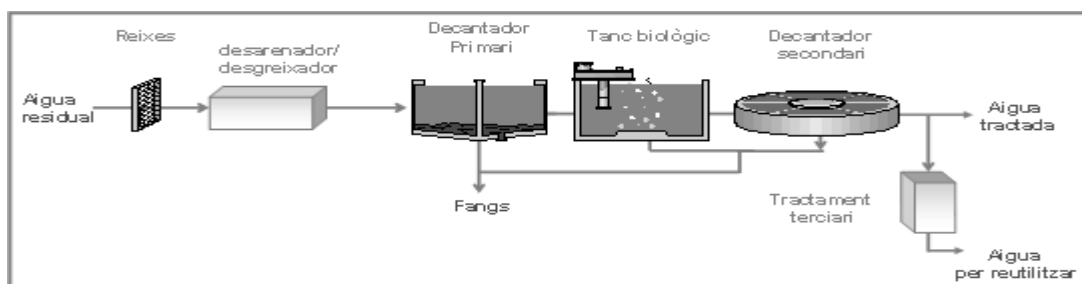


Figura 3.1. Esquema general del tractament d'aigües residuals urbanes (Adaptat d'Alemanya et al., 2007)

En l'etapa següent anomenada tractament primari, l'aigua passa lentament a un tanc de sedimentació on decanta la matèria orgànica sedimentable, degut a la baixa velocitat ascensional, així com la resta de sorres i partícules inorgàniques que no han quedat retingudes en el pretractament. Posteriorment té lloc el tractament secundari. La funció d'aquesta etapa no és altre que accelerar el procés biològic per eliminar la matèria orgànica mitjançant l'acció de microorganismes. Aquest procés té lloc en uns bioreactors fortament airejats en cas que el procés sigui aerobi. El disseny i les condicions d'aquests reactors biològics afavoreixen el creixement dels microorganismes els quals de manera natural no es troben en una proporció tant elevada en els fangs actius que s'utilitzen habitualment en aquesta etapa. Un sedimentador secundari permet separar l'aigua tractada de la biomassa. El sobrenedant, ben clarificat, sol ser abocat directament cap al llit receptor sovint un riu, on segueix el seu cicle natural. Ara bé, depenent de les depuradores, aquest sobrenedant pot ésser sotmès a un tractament terciari per disminuir els nivells dels contaminants encara presents a l'aigua. Aquests tractaments més avançats consisteixen en una cloració, filtració amb llits de sorra, adsorció en carbó actiu o l'osmosi inversa. L'eliminació de nutrients (nitrogen i fòsfor) es considera un tractament terciari, però físicament sol produir-se en el decantador secundari, inclús en alguns casos es construeixen decantadors amb unitats especials per eliminar el nitrogen i el fòsfor (una zona aeròbia i una altra anaeròbia/anòxica). Les dues fases de decantació generen una elevada quantitat de sòlids, anomenats fangs o llots, que necessiten un tractament específic per reduir-ne el volum, el pes i les característiques. Aquesta nova seqüència de processos s'engloba en una altra línia de tractament, la línia de fangs, que sol constar d'un espessiment, una estabilització i una deshidratació final.

Actualment s'estan aplicant a les aigües residuals, noves tecnologies que es basen en l' **oxidació** i l'ús de **membranes**. Entre les noves tecnologies basades en l'oxidació cal esmentar per una banda els *processos d'oxidació química*: incineració (aplicable als fangs que es generen), oxidació humida no catalítica (amb oxigen), oxidació humida catalítica (amb catalitzadors) i supercrítica (amb condicions de temperatura extremes); i per l'altra els *processos d'oxidació avançada*, on es generen radicals hidroxil que interaccionen amb els compostos orgànics que hi ha en el medi. D'aquests darrers, existeixen tants processos diferents com maneres d'introduir els radicals. Els més comuns utilitzen combinacions d'ozó, peròxid d'hidrogen, radiació ultraviolada (UV) i fotocatalisi. El més gran avantatge dels nous tractaments amb oxidació, és l'augment de la degradació i la rapidesa amb que té lloc encara que es poden generar nombrosos i diversos productes de transformació. Aquests processos d'oxidació, s'apliquen sobretot quan la depuradora rep aportacions importants d'aigües residuals industrials, i no només residuals urbanes.

Actualment, per minimitzar la generació de productes de transformació durant els tractaments, tant d'aigües residuals com potables, ha augmentat la tendència d'utilitzar **nous tractaments basats en tecnologies de membrana**. En aquests processos s'utilitzen membranes permeables selectives. Els processos de membranes més utilitzats en el tractament d'aigües són l'*osmosi inversa*, l'*electrodiàlisi* i la *microfiltració*, la *ultrafiltració* i la *nanofiltració*. A la figura 3.2 es mostren els intervals efectius de separació dels processos de membrana i es comparen amb altres tècniques de separació. Així, depenent de la tecnologia, es poden separar des de sòlids fins a compostos solubles. La diferència principal entre les tecnologies de membrana és la força impulsora que provoca la transferència de massa i la grandària del porus. Aquesta força impulsora, per a l'electrodiàlisi és el potencial elèctric i per a l'osmosi inversa és la diferència de pressió osmòtica, i també la pressió que s'aplica que ha de ser més gran que la pressió osmòtica, mentre que per a la microfiltració, la ultrafiltració i la nanofiltració és la diferència de pressions.

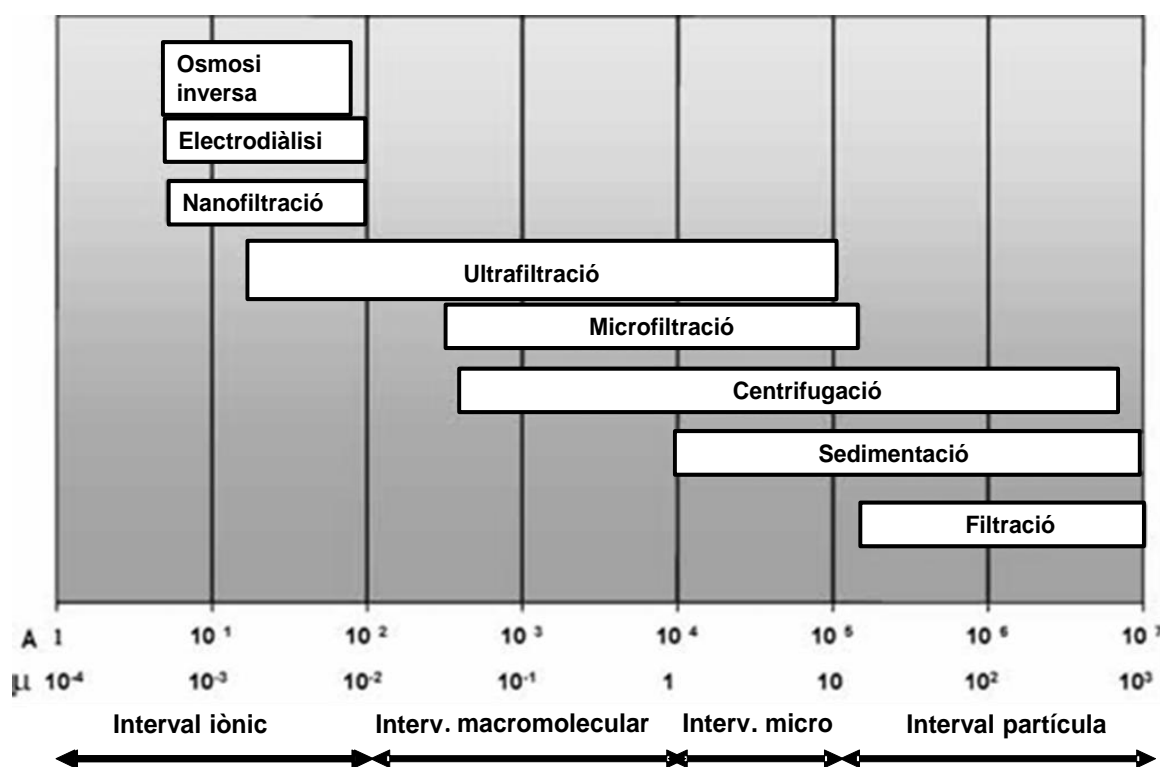


Figura 3.2: Intervals efectius de separació (Adaptat d'Aleman et al., 2007)

Les membranes que s'utilitzen en tractaments d'aigües estan formades de capes primes de materials capaços de separar els contaminants en base a les seves propietats, com ara la mida o càrrega. Hi ha diversos dissenys, però per al tractament d'aigua, el disseny més emprat és un cilindre format per moltes làmines enrotllades al voltant d'un tub

central (veure figura 3.3.) pel qual l'aigua circula per pressió. Les membranes es basen en general, en un tractament físic, i com a tal estan subjectes a limitacions físiques, partícules o determinats materials orgànics poden obstruir-les i per això, segons quina sigui la qualitat de l'aigua d'entrada pot ser necessari un tractament previ.

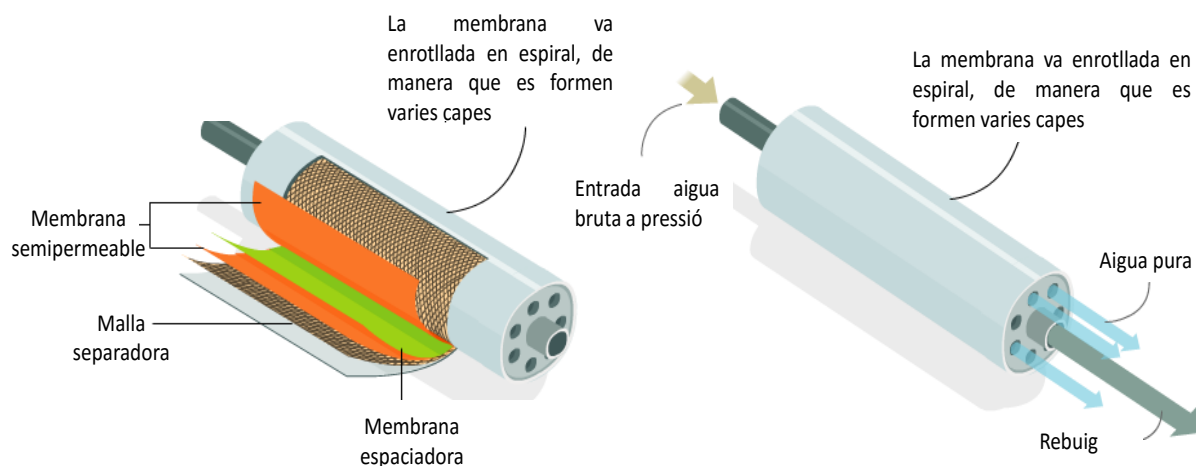


Figura 3.3. Membrana en format cilindre per al tractament d'aigua (adaptació font: <http://aquamarket.pe/wp-content/uploads/2015/01/Membrana-de-osmosis.png>)

Els **processos de membrana de microfiltració, ultrafiltració i nanofiltració**, permeten separar matèria particulada i col·loides segons la mida dels porus, aplicant una pressió elevada. La diferència essencial entre les tres tècniques rau en la mida dels porus de les membranes. Així, les membranes utilitzades en **microfiltració** tenen una estructura macroporosa ($> 50 \mu\text{m}$) i permeten separar partícules d'entre $0,03$ i $1,2 \mu\text{m}$. És una barrera eficaç per a partícules, bacteris i protozous. La pressió de treball és d'entre $0,4$ i 2 atm . L'**ultrafiltració** utilitza membranes mesoporoses ($2\text{-}50 \text{ nm}$), treballa a pressions més elevades (entre $0,8$ i $3,5 \text{ atm}$) i permet eliminar virus i molècules orgàniques d'alt pes molecular a més de bacteris i protozous. Per retenir compostos d'una mida menor, entre $0,001$ i $0,01 \mu\text{m}$, com dissolvents orgànics i cations i anions multivalents i alguns dels monovalents cal emprar la **nanofiltració** amb membranes microporoses ($< 2 \text{ nm}$) que requereixen pressions d'operació entre $3,5$ i 10 atm . En aquest cas, el mecanisme que controla la separació, a més del tamís, com en les dues tecnologies anteriors, és la difusió a través de la membrana.

En el **procés d'osmosi inversa** es bombeja aigua a pressió mitjana o elevada cap a una membrana de manera que la major part de l'aigua que es difon a través de la membrana dóna lloc al *permeat*, mentre que el *rebuig* conté els soluts i el solvent que no han travessat

la membrana. Les membranes consisteixen en una fina pel·lícula de material polimèric que està dipositada o integrada sobre una capa de suport, i han de ser estables en un ampli interval de pH i temperatura, i tenir la suficient resistència mecànica per suportar l'elevada pressió aplicada. Els materials més habituals d'aquestes membranes són l'acetat de cel·lulosa i la poliamida, tot i que avui en dia la majoria són de poliamida.

De les quatre tecnologies de membrana, són l'osmosi inversa i la nanofiltració les que permeten eliminar més contaminants. I d'aquestes dues, **l'osmosi inversa**, permet eliminar inclús compostos solubilitzats com ions i d'altres, que no s'eliminen totalment amb la nanofiltració. Tanmateix, totes dues requereixen de pretractaments, sovint una etapa prèvia d'ultrafiltració, per eliminar partícules que podrien obturar les membranes. Això fa que siguin processos molt cars i que només s'apliquen en casos molt especials d'aigües residuals.

L'electrodiàlisi procés de separació electrolític que consisteix en el transport d'ions a través d'una sèrie de membranes permeables aniòniques i catiòniques com a conseqüència d'aplicar un camp elèctric, s'utilitza molt més en aigües salades que en aigües residuals. En aquest cas, les membranes es disposen en sèrie de manera alterna (aniònica-catiònica) i s'aplica un potencial elèctric que és la força impulsora de la migració dels ions. D'aquesta manera, les membranes catiòniques només permeten el pas dels ions carregats positivament, i les aniòniques dels ions negatius. Les membranes solen ser de poliestirè amb grups sulfonats (en les membranes catiòniques) i grups amino (en les membranes catiòniques). Altres processos que actualment s'apliquen a aigües residuals, són combinacions de mètodes tradicionals amb membranes. Un exemple són els **reactors biològics de membrana** (en anglès: membrane bio-reactor, **MBR**), que utilitzen un reactor biològic i una membrana de microfiltració o ultrafiltració, integrant així la degradació biològica de l'efluent amb la filtració d'aquest a través d'una membrana.

També darrerament, s'han publicat alguns estudis científics sobre diferents combinacions de membranes, i sobre el problema de les incrustacions que es formen sobre les membranes (fouling) i les neteges necessàries (*Regula et al 2014; Shi et al., 2014; Mohammad et al., 2015*). En aquest sentit, han augmentat el nombre d'estudis relacionats amb l'ús de **membranes FO "Forward Osmosis"** i combinacions d'aquest tipus de membranes amb les de osmosi inversa (FO-OI o OI-FO), com a complement d'aquesta, i amb la finalitat de reduir l'energia emprada i les incrustacions (*Hancock et al., 2011; Valladares-Linares et al., 2011; Coday et al., 2014; Lutchmiah et al., 2014; Shaffer et al., 2015*).

3.1.2. Tractaments aplicats a les aigües superficials i potables.

Els processos de tractament que s'apliquen per potabilitzar l'aigua, depenen de l'origen d'aquesta, normalment aigua superficial (llacs o rius), subterrània (pous) o de mar (en poblacions arran de costa). A la figura 3.4., es mostra un esquema d'un tractament convencional de potabilització que bàsicament consisteix en la captació, sedimentació i/o eliminació sorres, dosificació de reactius (coagulació, floculació), filtració, desinfecció i emmagatzematge, i finalment distribució. Si la qualitat de l'aigua de partida es baixa, cal aplicar altres tractaments per aconseguir eliminar els contaminants i fer-la apta per ser beguda, i al contrari si és de molt bona qualitat es poden eliminar algunes etapes (la d'eliminació de sorres per exemple).

La captació normalment es du a terme a través de reixes, que impedeixen que entrin rocs i altres materials grossos. Després de la captació, sobretot si aquesta prové d'una aigua superficial de característiques poc constants com les d'un riu, es comú que es dugui a terme una sedimentació o eliminació de sorres. Normalment aquest procés té lloc en reduir la velocitat de l'aigua per l'augment de la secció de pas, de manera que les sorres sedimenten i són extretes mitjançant una draga. El següent pas en el tractament, és la dosificació de reactius: Oxidants-desinfectants, coagulants i floculants. Els oxidants-desinfectants tenen la funció d'oxidar i eliminar la matèria orgànica, eliminar l'amoníac present (en cas de afegir clor), eliminar bacteries i altres éssers vius. Els més utilitzats són: Clor, hipoclorit sòdic o càlcic, diòxid de clor, ozó, permanganat potàssic. Els coagulants, són afegits amb la finalitat de precipitar els sòlids en suspensió presents a l'aigua, i neutralitzar la càrrega dels col·loides per aconseguir també la seva precipitació. Els coagulants més usats són: sulfat d'alumini, clorur fèrric, o coagulants minerals. Finalment, sovint s'afegeixen també floculants,

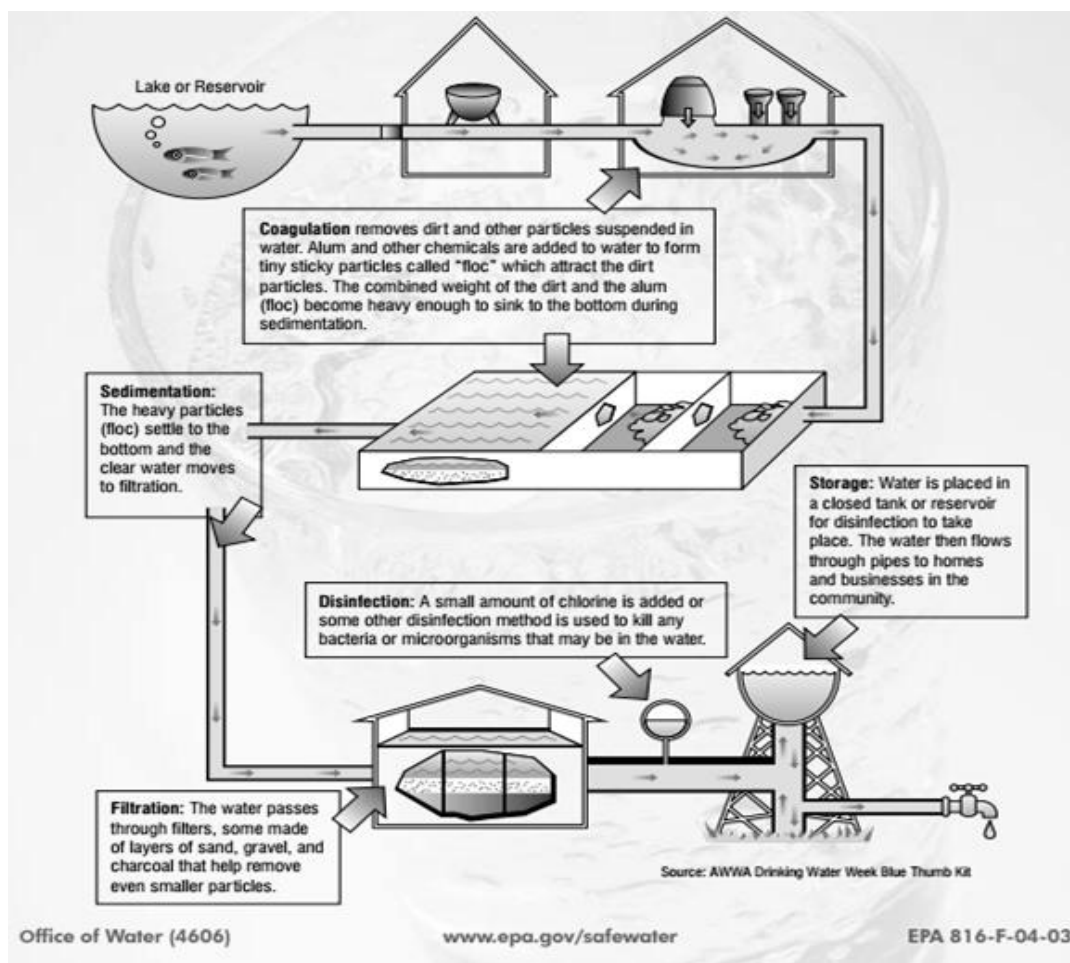


Figura 3.4. Tractament bàsic per a la potabilització de l'aigua

(Font: http://water.epa.gov/lawsregs/guidance/sdwa/upload/2009_08_28_sdwa_fs_30ann_treatment_web.pdf)

que provoquen el creixement dels flocs per facilitar la sedimentació. Normalment es tracta de polielectròlits de tipus catiònic, aniònic o no iònics. Tanmateix, en molts llocs, si l'aigua de partida no presenta gaire terbolesa, només afegeixen els coagulants. L'etapa següent consisteix en la decantació dels flocs formats i les matèries en suspensió. Per eliminar altre material en suspensió es duu a terme una filtració. El filtres poden ser oberts (menys capacitat i velocitat de filtrat) o tancats (més capacitat i velocitat de filtrat), i els més comuns són de sorra o carbó. Finalment, abans d'enviar l'aigua a emmagatzemar i/o distribuir, hi ha una etapa de desinfecció per eliminar els patògens presents en l'aigua. Per garantir que l'aigua arribarà lliure d'aquests patògens a les cases es deixa un mínim de desinfectant residual. El desinfectant més comú en aquesta etapa, és hipoclorit de sodi ("lleixiu"), tot i que algunes estacions de tractament d'aigües potables (ETAPs), utilitzen clor (líquid o gas), cloramines i sals de plata.

A més, existeixen altres tractaments, que es poden emmarcar dins la línia de tractaments convencionals, que són complementaris als anteriors i que s'apliquen per solucionar problemàtiques que no es resolen amb un tractament convencional bàsic. Els més destacats són *l'ús de adsorbents, l'ozonització i el bescanvi iònic*, sobretot les dues primeres. A la pràctica, els adsorbents més comunament utilitzats són els carbons actius (granulars o extorsionats) i els carbons en pols. Aquests adsorbents es poden posar com un llit en un filtre o bé dosificar-los com a reactiu, i la seva característica principal és la superfície específica que condiciona l'eliminació dels compostos orgànics dissolts en l'aigua. L'ozonització, és un procés d'oxidació fort mitjançant ozó, que permet modificar químicament algunes substàncies presents en l'aigua, facilitant d'aquesta manera, la seva eliminació en les etapes posteriors. L'ozó és inestable i molt reactiu i per això, es genera in situ i és immediatament dosificat en fase gas en càmeres especialment dissenyades, i posteriorment s'elimina el sobrant. Pel que fa al bescanvi iònic, s'utilitza per eliminar determinats ions presents en l'aigua, mitjançant resines de bescanvi. S'utilitzen per disminuir la duresa de determinades aigües i desmineralitzar les aigües en processos industrials, però rarament en grans plantes potabilitzadores.

Avui dia, la major part dels nous tractaments i tractaments avançats que s'apliquen a les aigües superficials i potables, es basen en tecnologies de membrana. Els sistemes de tractament d'aigua per membranes, van ser utilitzats originàriament en projectes de dessalinització, és a dir per obtenir aigua potable a partir d'aigua de mar. Ara bé, les millores en aquest tipus de tecnologia han permès que cada vegada sigui més l'opció triada per a l'eliminació de microorganismes, partícules, matèria orgànica natural i fins i tot contaminants dissolts en l'aigua. L'ús de membranes en l'obtenció d'aigua potable, es considera un tractament avançat. Segons l'EUREAU (Federació d'associacions nacionals de l'aigua i sanejament europea), un 29% de l'aigua potable de distribució a Europa, es tracta amb tecnologies avançades o bé amb combinacions de tractaments convencionals i avançats. (*van der Hoek et al., 2013*). Els processos de membrana més emprats en tractaments d'aigües potables, són la nanofiltració i l'osmosi inversa. Ara bé, aquests processos, encara que són els que permeten eliminar amb més garanties els contaminants de l'aigua, requereixen un gran manteniment tant de les instal·lacions com de les membranes, així com una elevada despesa en electricitat. En general, en un tractament avançat de l'aigua s'empren configuracions amb una etapa de pretractament que utilitza microfiltració o ultrafiltració, que permet allargar la vida de les membranes de osmosi inversa o nanofiltració, processos que s'apliquen a continuació. Normalment les companyies distribuïdores de l'aigua, fan una sèrie de proves pilot abans de triar la configuració idònia per tractar l'aigua.

3.1.3. Planta de tractament d'aigua potable de Sant Joan Despí

Des de l'any 1955, en què es va inaugurar l'ETAP de Sant Joan Despí, aquesta ha sofert una sèrie de modificacions estructurals, les quals s'han portat a terme principalment per augmentar la capacitat i sobretot per aconseguir millores en la qualitat de l'aigua tractada. Amb anterioritat a la inauguració de la Planta de tractament, Barcelona i voltants s'abastaven exclusivament amb aigües subterrànies, majoritàriament dels pous situats al Llobregat i el Besòs i, en menor grau, d'antigues captacions en galeria de Dosrius i del Vallès que arribaven a Barcelona mitjançant aqüeductes. Però cap als anys quaranta la demanda va començar a augmentar de manera accelerada i constant ja que la forta industrialització de l'àrea i la concentració demogràfica als nuclis urbans requerien més aigua de la disponible en el subsòl. Per poder atendre aquesta necessitat, va ser indispensable recórrer a l'aprofitament dels cabals superficials del riu Llobregat. (*Monografia. Planta de Tractament del riu Llobregat a Sant Joan Despí. Aigües de Barcelona*).

En un inici, l'any 1955, l'ETAP de Sant Joan Despí, utilitzava un tractament convencional bàsic per potabilitzar l'aigua del riu Llobregat, que constava de: captació, precloració, coagulació/floculació, sedimentació, filtre de sorra i post cloració abans d'enviar a distribució (vegeu figura 3.5).

En l'ETAP de Sant Joan Despí, l'aigua superficial és captada a través d'unes reixes. Sota les reixes hi ha unes galeries excavades de secció variable que condueixen l'aigua captada a l'interior de l'ETAP fins a l'etapa d'eliminació d'arenas on, l'eixamplament de la secció del canal de conducció permet la sedimentació de les sorres en suspensió, que s'acumulen i s'eliminen mitjançant unes dragues. Just després d'aquesta etapa, l'aigua és elevada fins a les cambres de mescla, on es dosifiquen el coagulant i els floculants, que facilitaran la sedimentació de partícules. Actualment també s'hi afegeix CO_2 per tal de baixar el pH i així optimitzar la coagulació. La mescla homogènia passa a uns vessadors on es subministra el desinfectant/oxidant (clor fins la darrera modificació de l'ETAP l'any 2009, i a partir de llavors diòxid de clor que es genera in situ). L'aigua amb tots aquests reactius passa a uns canals de distribució i va a parar als decantadors on es produeix la

sedimentació i la decantació de l'aigua clarificada. En aquests decantadors, l'aigua fa un recorregut vertical ascendent i la presència d'un llit de fangs estabilitzat a una certa alçada permet que els petits flocs nous xoquin i s'aglomerin amb els preexistents, mentre que aquells que han assolit una determinada grandària i pes sedimenten al fons. Per assegurar l'evacuació de fangs i el manteniment del llit de fangs, es realitzen purgues periòdiques. A fi d'eliminar les restes de flocs que no han sedimentat en l'etapa anterior, es fa passar l'aigua a través de filtres de sorra oberts. El llit filtrant està format des de l'any 2013, per un fons de filtres de plàstic i sorra homogènia al damunt. De l'any 1959 al 1977, l'aigua després dels filtres de sorra, que eren els filtres tradicionals amb capes de sorres de granulometria diversa, era desinfectada (amb clor) i enviada a distribució. Ara bé, l'any 1977 (vegeu figura 3.5.), per tal d'eliminar matèria orgànica residual dissolta a l'aigua, es van substituir els filtres de sorra (procés únicament físic) per filtres de carbó, que combinen el procés físic amb l'adsorció química. Els compostos orgànics i els òxids metàl·lics (ferro, manganès, níquel, etc.) queden adsorbits en el si dels grans de carbó actiu granular (CAG). Part de la capacitat d'adsorció del filtre de carbó es perd a mesura que s'utilitza, i per tant, cal realitzar un seguiment de la seva capacitat per assegurar una adequada eliminació dels contaminants. Quan el carbó actiu està saturat de matèria orgànica i perd la seva capacitat adsorbent, es duu a terme una regeneració mitjançant forns específics. Els filtres de carbó actiu granular, com els filtres de sorra, requereixen rentats a contracorrent quan el llit filtrant se satura. Més endavant, l'any 1991, es van tornar a posar filtres de sorra, i darrera d'aquests, es va incloure una entrada per a la incorporació al tractament de l'aigua subterrània provinent de l'aqüífer del riu Llobregat, aquest muntatge permet eliminar els contaminants que pugui contenir l'aigua subterrània, sobretot els solvents clorats, i per tant es pot aprofitar en cas de necessitat. També en la modificació de l'any 1991, es va incloure una etapa d'ozonització prèvia als filtres de carbó (vegeu figura 3.5.), que facilita la desinfecció i l'oxidació de determinades substàncies orgàniques ja que els productes generats són més fàcilment adsorbides pels filtres de carbó, millorant així les qualitats organolèptiques de l'aigua.

Fins l'any 2009 l'aigua filtrada per carbó, era desinfectada amb clor abans de la seva distribució. Ara bé, en aquesta data es va introduir una altra millora que va consistir en incorporar al tractament d'una part de l'aigua tractada en la ETAP, membranes d'ultrafiltració i osmosi inversa (vegeu figura 3.5.). Paral·lelament a aquesta incorporació en el tractament, es va substituir el clor de l'etapa de pretractament per diòxid de clor. Aquests canvis, es van incorporar bàsicament amb l'objectiu d'assolir l'acompliment del límit sanitari fixat per als trihalometans (subproductes de la desinfecció), que es va aconseguir gràcies a l'eliminació dels precursors orgànics i inorgànics durant els processos amb membranes. D'altra banda, aquesta incorporació de membranes va permetre també reduir altres contaminants, que

persistien en el tractament utilitzat fins l'any 2009, com es discutirà en els apartats 3.2 i 3.3. d'aquesta memòria.

Així doncs actualment una part de l'aigua, una vegada que ha passat pel filtre de sorra i que pot haver estat barrejada amb aigua de pous, és tractada mitjançant tecnologia de membranes. El fet que només es tracti una part de l'aigua per membranes es deu principalment a motius econòmics. En ser una tecnologia molt més cara, s'ha optat per tractar el percentatge d'aigua necessari per garantir la salubritat al final de tot el procés de potabilització, quan les aigües dels dos tipus de tractament s'ajunten. El percentatge que es tracta en procés convencional o en l'avançat, depèn de la qualitat de l'aigua d'entrada a l'inici del tractament. Cal esmentar que l'aigua tractada mitjançant tecnologia de membranes, requereix una acidificació prèvia amb àcid sulfúric, per tal d'ajustar el pH de manera que la retenció de l'alumini residual en la primera etapa de membranes d'ultrafiltració (UF) sigui prou elevada. Les membranes d'UF treballen submergides i funcionen per aspiració de l'aigua, per la seva grandària de porus representen una barrera total contra bacteris, però no contra els virus i també eliminen la matèria en suspensió fins al nivell requerit per al correcte funcionament de les membranes d'osmosi inversa (OI). Ara bé, per mantenir l'eficàcia de les membranes de UF, cal netejar periòdicament la seva superfície fent passar aigua a contracorrent. Abans de passar a l'etapa d'osmosi inversa, l'aigua provinent de la ultrafiltració, és sotmesa a un pretractament consistent en radiació ultraviolada (per desinfectar), addició de reactius (s'afegeix bisulfit sòdic per tal d'ajustar el pH i d'un dispersant per tal d'evitar possibles cristallitzacions de sals), filtració per cartutx (de grandària de porus superior al de la UF, dissenyat per protegir les membranes OI en cas de fuita en l'etapa de UF) i finalment un altre cop radiació ultraviolada (per eliminar bacteris i virus que hagin pogut créixer en els filtres de cartutx). Aleshores, l'aigua es bombejada a alta pressió, a les membranes d'OI. Pròpiament la OI, suposa una barrera total a virus i bacteris i elimina, quasi en la seva totalitat, compostos orgànics i inorgànics, assolint valors de conductivitat i carboni total a la sortida molt baixos. Com que després de l'OI s'han eliminat pràcticament totes les sals minerals, cal aplicar una etapa de re-mineralització. Aquesta es du a terme fent passar l'aigua osmotitzada a través d'uns filtres de calcita. Finalment, l'aigua del tractament amb membranes es barreja amb l'aigua provinent del tractament amb ozó i filtres de carbó, en una càmera de mescla, i es post-clora per garantir una desinfecció total a la sortida de la planta i durant la distribució. Aquest és el tractament que s'aplica avui dia a la Planta de Sant Joan Despí al qual es va incorporar, en l'any 2013 l'addició de CO₂ a l'aigua crua d'entrada. En els apartats 3.2 i 3.3 d'aquesta memòria s'exposen i es discuteixen les diferències en l'eficàcia de l'eliminació de les drogues d'abús i fàrmacs estudiats en el

tractament convencional (el de la línia d'ozó i filtres de carbó) i en el tractament avançat (el de la línia de membranes UF i OI).

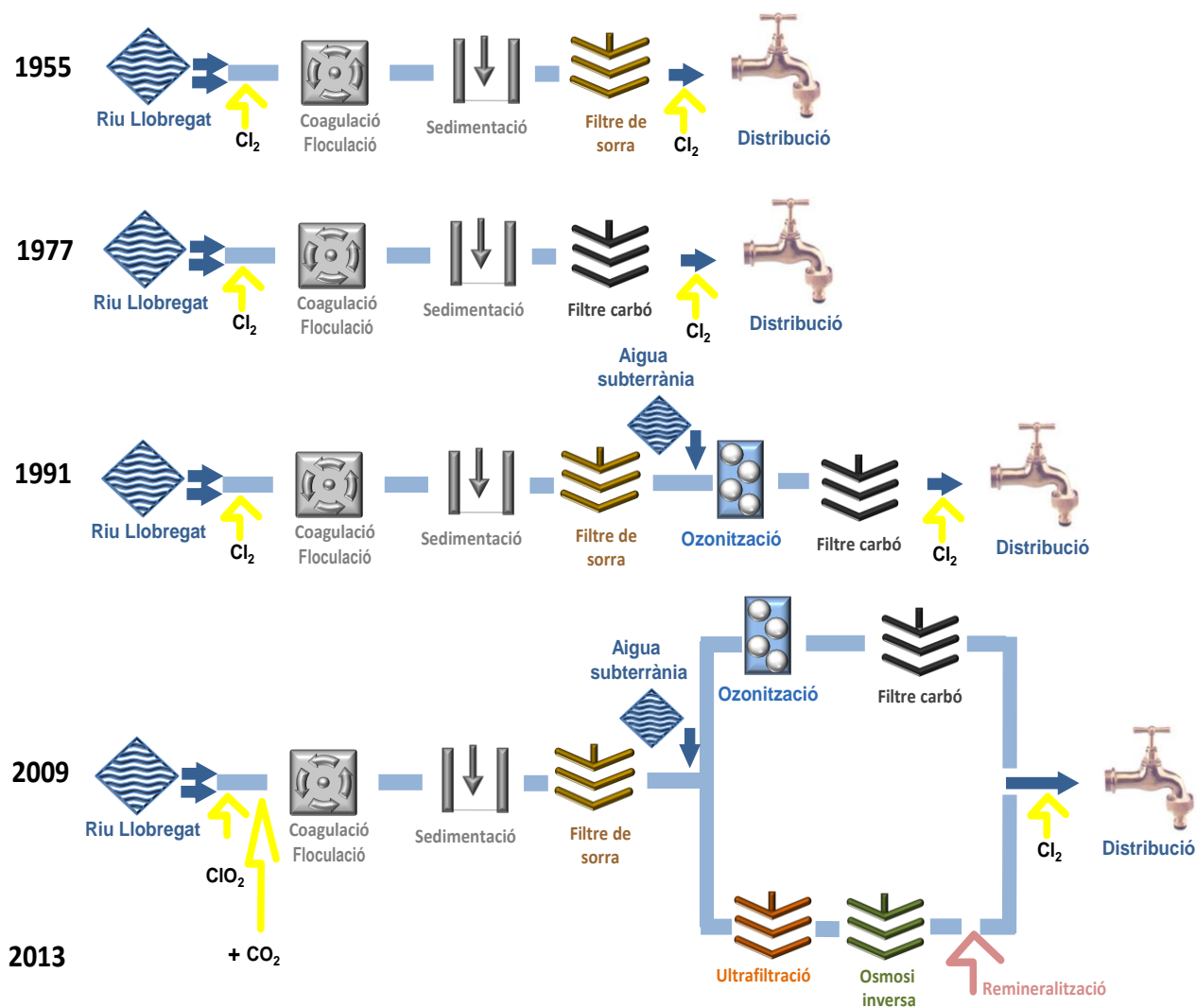


Figura 3.5. Esquemes dels diferents tractaments aplicats en la ETAP de Sant Joan Despí.

3.2. Treball experimental.

En els apartats anteriors d'aquesta memòria, ha quedat demostrada la presència de drogues d'abús i fàrmacs en les aigües residuals i que tan sols s'eliminen parcialment en les depuradores convencionals. Aquest fet comporta que arribin a les aigües superficials, que sovint són emprades per obtenir aigua potable per la població, i entrin a les plantes potabilitzadores, on depenent del tractament aplicat, són més o menys eliminats.

En aquest apartat s'inclou el treball experimental realitzat en aquesta tesi que fa referència a l'estudi de l'eficàcia dels nous tractaments o tractaments avançats, per eliminar les drogues d'abús i els fàrmacs en plantes depuradores i potabilitzadores. Atès que en l'estudi també s'han inclòs els fàrmacs, que són uns compostos la presència dels quals en el medi preocupa cada vegada més (CEC's "compounds with emerging concern"), es va validar una metodologia per la seva anàlisi en aigües.

L'apartat està dividit en tres blocs corresponents a tres articles científics. El primer, (apartat 3.2.1.) porta per títol ***Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography-tandem spectrometry***, està publicat a la revista ***Journal of Chromatography A 2013, 1286:146-158*** i descriu la metodologia desenvolupada i validada per l'anàlisi de 53 fàrmacs en aigües. Una característica que distingeix aquest article d'altres publicats a la literatura sobre mètodes d'anàlisi de fàrmacs en el medi aquàtic, és el càlcul de la incertesa associada a la mesura de la concentració per cada un dels fàrmacs. Aquesta metodologia es va aplicar a l'anàlisi de mostres del riu Llobregat i en l'aigua a la sortida de la planta de tractament de Sant Joan Despí, al llarg d'un estudi estacional d'un any. Aquesta metodologia també va ser la que es va utilitzar en l'article científic inclòs a l'apartat 1.4.3. d'aquesta memòria, que porta per títol ***Survey of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish finished drinking waters(Environmental Science and Pollution Research 2014, 21: 10917-10939)***, del qual es discuteixen els resultats que fan referència a les concentracions trobades (apartat 3.3.).

L'apartat 3.2.2., conté l'article ***Removal of drugs of abuse from municipal wastewater using reverse osmosis membranes*** i ha estat publicat a la revista ***Desalination and Water Treatment 2010, 21: 122-130***. En aquesta publicació, es discuteixen els resultats d'eliminació obtinguts per a una selecció de drogues d'abús i els seus metabòlits, en una planta pilot on s'apliquen tres tipus diferents de membranes d'osmosi inversa, a l'aigua que prové del tractament secundari d'una depuradora municipal.

El tercer apartat, 3.2.3., està dedicat a l'estudi de l'eliminació de drogues d'abús i fàrmacs al llarg dels tractaments, convencional i avançat, que s'apliquen en la potabilitzadora de Sant Joan Despí. El treball corresponent ha estat publicat a la revista ***Environmental Pollution, 2011, 159: 1584-1591***, amb el títol ***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***.

3.2.1. Article científic:

**VALIDATION AND UNCERTAINTY ESTIMATION OF A
MULTIRESIDUE METHOD FOR PHARMACEUTICALS IN
SURFACE AND TREATED WATERS BY LIQUID
CHROMATOGRAPHY-TANDEM SPECTROMETRY.**

M. Rosa Boleda^a, M. Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,c}.

^aAigües de Barcelona, S.A. General Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

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

^cIDAEA-CSIC, Department of Environmental Chemistry. J.Girona 18, 08034 Barcelona,
Spain.

Journal of Chromatography A 2013, 1286:146-158.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Chromatography A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma

Validation and uncertainty estimation of a multiresidue method for pharmaceuticals in surface and treated waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry[☆]

M^a Rosa Boleda^a, M^a Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,c,*}^a AGBAR, Aigües de Barcelona, Gral. Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain^b University of Barcelona, Department of Analytical Chemistry, Av. Diagonal, 647, 08028 Barcelona, Spain^c IDAEA-CSIC, Department of Environmental Chemistry, J. Girona 18, 08034 Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 January 2013

Received in revised form 21 February 2013

Accepted 22 February 2013

Available online 7 March 2013

Keywords:

Uncertainty

Pharmaceuticals

Surface waters

Treated waters

Drinking waters

ABSTRACT

The estimation of measurement uncertainty associated with quantitative results is essential to assure the reliability of analytical methods and mandatory when a laboratory implements ISO standard 17025. In this work, a quantitative multi-residue method based on solid-phase extraction (SPE) and ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry detection (LC–MS/MS) has been developed and validated for the analysis of 53 pharmaceuticals (analgesics, anti-inflammatories, antibiotics, lipid regulating agents, cholesterol lowering stating agents, gastric drugs, X-ray, and miscellaneous compounds such as sildenafil, prednisone, triclosan, chlorhexidine and miconazole) in surface and drinking waters. A full validation of the method, according to ISO standard 17025 procedure, was performed. Linearity (0.01–250 ng/L range), intra-day precision (3–19%RSD in surface water and 2–19%RSD in drinking water) and inter-day precision (3–16%RSD in surface water and 1–18%RSD in drinking water), matrix effects (low matrix effects were observed for 50% of compounds in both matrices), limits of quantification (0.2–40 ng/L in surface water and 0.2–30 ng/L in drinking water) were calculated. The recoveries at 100 ng/L were >80% for 72% and 79% of the target compounds in surface and drinking waters, respectively. The information obtained from the full method validation has been used to estimate the expanded uncertainty and the uncertainties contributions of the different individual steps of the method for the determination of pharmaceuticals at trace levels in waters. Expanded relative uncertainties ranged from 6% to 23% being the uncertainty associated with reproducibility the main contribution.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Pharmaceuticals are one of the most important new classes of environmental pollutants analyzed the last decade. These compounds are released into the aquatic environment either as non-metabolized parent or as metabolites and can eventually reach drinking water if they are not biodegraded or eliminated during sewage treatment or potabilization processes. Their occurrence in the aquatic environment has been widely reported [1–6] and their behavior in waste water treatment plants and drinking waters treatment plants using different treatments has been studied [7–10].

In 2009, a World Health Organization (WHO) working group that comprised experts in toxicology, water chemistry, water quality and health, water treatment, pharmacology and drinking water regulations and policy, elaborated a report [11] in which the need for more systematic studies to help a better understanding of the transport, occurrence and fate of pharmaceuticals in the environment, especially in drinking water sources, and the standardization of protocols for sampling and analysing pharmaceuticals to facility the comparison of data were among the main conclusions.

Different multi-residue analytical methods have been proposed to analyze pharmaceuticals in water samples [12–16] including the EPA Method 1694 [17]. The protocols are mainly based on on-line/off-line SPE followed by the analysis of the extracts by tandem mass spectrometry using mostly selected reaction monitoring (SRM) and either two transitions to identify the compounds as recommended by EU (2002) [18] or one transition as in the EPA Method 1694 [19]. However, among the myriad of papers reporting the presence of emerging pollutants in the aquatic environment, very few deal with an estimation of the uncertainty of the analytical

[☆] Presented at the XII Scientific Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques, Tarragona, Spain, 14–16 November 2012.

* Corresponding author at: IDAEA-CSIC, Department of Environmental Chemistry, J. Girona 18, 08034 Barcelona, Spain. Tel.: +34 934006100.

E-mail address: fvaqam@cid.csic.es (F. Ventura).

procedure which gives a clear evidence of the robustness and quality of the proposed methodology. Those related to pesticide analysis [20–23], nonylphenol [24], dioxins [25] or counterfeit antibiotics [26] are some of the examples found in the literature.

Moreover, laboratories must demonstrate that their results, provided by their reliable analytical methods, are suitable for the purpose or purposes pursued [27], since many of the decisions made are based on these results. The knowledge of the uncertainty of a result allows comparing other laboratories and other methods results. The reliability of the results is demonstrated verifying the traceability of the analytical method and checking it periodically using quality control charts. However, it is also necessary to know the degree of confidence of the result, which reflects how much you can get away from the analytical value considered true. Consequently, analysts must provide traceable results with an associated uncertainty. The uncertainty estimation of an analytical method, gives information about the quality of the result since it shows an interval around the estimated value within which the value is considered true. It is therefore very important that all possible sources of error involved in a final result are included in the calculation of the uncertainty.

The aim of this work was to develop and validate a multi-residue method based on SPE preconcentration followed by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry detection (LC–MS/MS) for the screening and quantification of 53 pharmaceuticals in surface and drinking waters, and based on this full validation, estimate the uncertainty of the analytical procedure for each pharmaceutical. The developed method was applied to the determination of these contaminants in surface water samples and treated waters from a drinking water treatment plant (DWTP) from the Llobregat River (Catalonia, NE Spain).

2. Experimental

2.1. Chemicals and reagents

The group of pharmaceuticals analyzed comprises analgesics, anti-inflammatory, antibiotics, lipid regulators, gastric, X-ray, barbiturates and miscellaneous pharmaceuticals. The individual compounds of each group are listed in Table 1.

Amobarbital, butalbital, butalbital-*d*₅, hexobarbital, ibuprofen, naproxen, omeprazole, paracetamol, paracetamol-*d*₄, pentobarbital, pentobarbital-*d*₅, phenobarbital, phenobarbital-*d*₅, ranitidine, secobarbital, secobarbital-*d*₅, were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA); bezafibrate, chlorotetracycline, diatrizoic acid, fenopropfen, indomethacine, iohexol, iopromide, ketoprofen, lincomycin, oxytetracycline, prednisone, sildenafil, triclosan, trimethoprim, tylosin, were purchased from LGC Standards (Middlesex, UK); amoxicilin, azythromycin, carbadox, cimetidine, clarithromycin, clofibrac acid, chlorhexidine, diclofenac, erythromycin, famotidine, fenofibrate, gemfibrozil, lansoprazole, mefenamic acid, mevastatin, miconazole, ofloxacin, olaquinox, pravastatin, roxithromycin, salicylic acid, simvastatin, sulfadimethoxine, sulfamethazine, tetracycline were purchased from Aldrich Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA); bezafibrate-*d*₄, clofibrac acid-*d*₄, 5-*o*-desmethyl omeprazole, N-desmethylsildenafil, N-desmethylsildenafil-*d*₈, diclofenac-*d*₄, gemfibrozil-*d*₆, 4-hidroxy omeprazole, ibuprofen-*d*₃, omeprazole-*d*₃, salicylic acid-*d*₄, sildenafil-*d*₃, sulfamethoxazole and sulfamethoxazole-*d*₄, were obtained from Toronto Research Chemicals (North York, Canada).

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate and formic acid used for mobile phase optimization were obtained from Sigma Chemical. HPLC-grade methanol and acetonitrile were provided by Aldrich Chemical. Methanol purge & trap grade used for the preparation of standard working solutions was obtained from

Riedel-de-Haën (Selze, Germany). Water was purified in an Elix-MilliQ system (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Mobile phases were filtered through a 0.22 µm nylon filter (Whatman, England).

2.2. Standard solutions

Working solutions of the standards at concentrations of 1 mg/L in methanol were prepared for tuning and selectivity studies. To develop and optimize the analytical method, solutions of the original standards were prepared at a concentration of 10 mg/L in methanol. Calibration was performed by using these standard solutions and deuterated standard solutions as internal standards. Calibration curves (*n*=6) were prepared by serial dilution of the mixed working solution in methanol:water (20:80) resulting in individual concentrations ranging from 0.01 to 250 ng/L (0.01; 0.3; 12; 25; 125 and 250 ng/L). A mixed solution of deuterated standards was added to all the calibration points at a fixed concentration of 0.2 ng/µL.

2.3. Sample collection

Samples (500 mL each) were collected [sodium thiosulfate (2 mL, 1 N) was added to drinking water samples] taking into account the hydraulic retention time (HRT) and stored in amber glass bottles at 4 °C for a maximum of 3 days, then extracted and analyzed with the developed methodology.

Surface water samples from Llobregat River (NE Spain) at the intake of a drinking water treatment plant and drinking water samples from this DWTP were analyzed. A daily grab sampling for a week in each season during one year was performed.

The characteristics of the treatment carried out in the selected DWTP are commented below: The first step consists on a pre-oxidation with chlorine dioxide and the addition of several alum-coagulants such as aluminum sulfate (Al₂(SO₄)₃), aluminum polychloride (AlxCl₃), aluminum oxide (Al₂O₃) and flocculants (poly-DADMAC). 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. Next, water is 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 to a residual concentration of 0.2 mg/L. This treatment lasts above 15–20 min depending on the treated water volume. Next, water is passed through granular activated carbon (GAC) filters (10 m/h) during at least 15 min for 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.

2.4. Solid-phase extraction procedure

Solid phase extraction was carried out on a Zymark Rapid Trace SPE Workstation from Zymark (Hopkinton, MA, USA) using Oasis HLB SPE cartridges (6 mL, 200 mg) from Waters (Milford, MA, USA). SPE cartridges were successively preconditioned with 5 mL of methanol followed by 5 mL of ultrapure water. A volume of 200 mL of water sample (enriched with 1% methanol) was percolated through the cartridge at a flow rate of 10 mL/min. Then, the cartridge was washed with 3 mL of water with 5% aqueous MeOH and dried with nitrogen gas for 5 min. Analytes were eluted using 8 mL of methanol and the extract was evaporated to dryness at 40 °C under a stream of nitrogen in a TurboVap LV evaporator. Samples were reconstituted in 500 µL of methanol:water solution (20:80). The final extract was filtered through 0.2 µm and was spiked with 10 µL of the mixed deuterated solution (10 ng/µL) as internal standards, before injection to the LC–MS/MS system.

Table 1
 Studied compounds, CAS number, molecular weight and excretion rates.

Therapeutics	Compound	CAS #	M_w	Excretion unchanged
Analgesic/antiinflammatory	Diclofenac	15307-86-5	296.15	35–65%
	Fenoprofen	53746-45-5	242.27	1%
	Ibuprofen	15687-27-1	206.28	>9%
	Indomethacine	91853-74-6	357.80	100%
	Ketoprofen	22071-15-4	254.29	1%
	Mefenamic acid	61-68-7	241.29	14%
	Naproxen	22204-53-1	230.26	10%
	Paracetamol	103-90-2	151.16	>2%
	Salicylic acid	69-72-7	138.12	5%
Antibiotics	Amoxicillin	26787-78-0	365.40	49%
	Azythromycin	117772-70-0	748.99	6%
	Carbadox	6804-07-5	262.22	
	Chlorotetracycline	64-72-2	478.87	
	Clarithromycin	81103-11-9	747.45	25%
	Erythromycin	114-07-8	733.93	5–15%
	Lincomycin	859-18-7	406.53	~50%
	Olaquinox	23696-28-8	263.24	
	Roxithromycin	80214-83-1	837.04	85%
	Sulfadimethoxine	122-11-2	310.33	
	Sulfamethazine	57-68-1	278.33	
	Sulfamethoxazole	723-46-6	253.28	5%
	Tetracycline	64-75-5	444.43	60%
	Trimethoprim	738-70-5	290.32	10–20%
Tylosin	1405-54-5	916.10		
Lipid regulator/cholesterol drugs	Bezafibrate	41859-67-0	361.82	
	Clofibrac acid	882-09-7	214.65	
	Fenofibrate	49562-28-9	360.83	
	Gemfibrozil	25812-30-0	250.34	
	Mevastatin	73573-88-3	390.51	
	Pravastatin	81131-70-6	446	6%
	Simvastatin	79902-63-9	418.57	<1%
Antihistaminic/gastric	4-OH-omeprazole	30166-82-9	331.39	
	5-O-desmethyl omeprazole	151602-49-2	331.39	
	Cimetidine	51481-61-9	252.34	35–58%
	Famotidine	76824-35-6	337.43	25–70%
	Lansoprazole	103577-45-3	369.36	<2%
	Omeprazole	73590-58-6	345.42	<0.1%
	Ranitidine	66357-35-5	314.41	40%
X-ray	Diatrizoic acid	117-96-4	613.92	
	Iohexol	66108-95-0	821.15	
	Iopromide	73334-07-3	791.12	94%
Barbiturates	Amobarbital	57-43-2	226.27	1–3%
	Butalbital	77-26-9	224.26	3%
	Hexobarbital	56-29-1	236.27	
	Pentobarbital	76-74-4	226.27	1%
	Phenobarbital	50-06-6	232.24	25%
	Secobarbital	29071-21-4	283.29	5%
Miscellaneous	Chlorhexidine	55-56-1	505.46	
	Miconazole	22916-47-8	416.14	
	N-desmethyl sildenafil	139755-82-1	460.55	13%
	Prednisone	53-03-2	358.40	
	Sildenafil	139755-83-2	474.58	
	Triclosan	3380-34-5	289.55	

2.5. Instrumentation and LC–MS/MS procedures

A Waters Acquity ultra-performance™ liquid chromatograph system, equipped with a quaternary pump system using an Acquity BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm i.d., 1.7 μm particle size) (Waters Corp., USA) was used for chromatographic separation.

For those compounds analyzed in positive ESI mode, the separation was performed with a binary mobile phase at a flow rate of 0.4 mL/min. Solvent A: acetonitrile/methanol (2:1); solvent B: 6.5 mM ammonium acetate/acetic acid (pH 5.2). The gradient elution was: 0 min, 20% A; 0–1.5 min, 20–50% A; 1.5–5.0 min, 50–60% A; 5.0–6.0 min, 60–90% A; 6.0–8.0 min, 45–80% A; 90–100% A; 8.0–9.0 min, 100% A and return to initial conditions. The sample volume injected was 10 μL.

For those compounds analyzed in negative ESI mode, the separation was performed with a binary mobile phase at a flow rate of 0.4 mL/min. Solvent A: methanol and solvent B: 6.5 mM ammonium acetate/acetic acid (pH 5.2) as in positive mode. The gradient elution was: 0 min, 20% A; 0–3.0 min, 20–50% A; 3.0–8.0 min, 50–80% A; 8.0–10 min, 80–90% A; 10.0–11.0 min, 90–100% A and return to initial conditions. The sample volume injected was 10 μL.

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 or in negative ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode, using the Quanlynx™ software.

Source conditions, in positive mode, were fixed as follows: capillary voltage, 3.4 kV; lens voltage 0.1 V; source temperature, 130 °C;

desolvation temperature, 500 °C; cone gas flow rate, 30 L/h; desolvation gas flow rate, 800 L/h. Dry nitrogen ($\geq 99.5\%$) was used as desolvation and nebulization gas and argon ($>99.999\%$) was used as collision gas. MS/MS compound dependant parameters were optimized by direct infusion at 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ of 0.5 ng/ μL and 1 ng/ μL individual standard solutions. Cone energy voltages, SRM transitions, and collision energy voltages were established for each analyte.

Source conditions, in negative mode, were: capillary voltage, 3.0 kV; lens voltage 0.5 V; source temperature, 130 °C; desolvation temperature, 350 °C; cone gas flow rate, 40 L/h; desolvation gas flow rate, 700 L/h. Dry nitrogen ($\geq 99.5\%$) was used as desolvation and nebulization gas and argon ($>99.999\%$) was used as collision gas. MS/MS compound dependent parameters were also optimized by direct infusion at 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ of 0.5 ng/ μL and 1 ng/ μL individual standard solutions. Optimized cone energy voltages, SRM transitions, and collision energy voltages values were also established for each pharmaceutical studied.

Table 2 summarizes the LC–MS/MS parameters used for each pharmaceutical which include quantitation and confirmation transitions, relative intensities of detected ions and the permitted tolerances. The table also includes the optimized values for deuterated analogs (in italics). Some compounds such as pravastatin, tetracycline and ibuprofen showed only one fragment ion and therefore a single SMR transition could be monitored. SRM transitions were divided in five overlapping elution time windows for compounds determined under ESI(+) and in six windows for ESI(–), in order to acquire at least ten points per peak and to ensure enough time to avoid losing data for each transition.

2.6. Quantification and method validation

Two SRM transitions as required by the 2002/657/EC European Union Decision [18] were selected per compound. The most prominent transition was used for quantification and the other one was used for confirmation (qualifier). These conditions represent four identification points, fulfilling the European Union Guidelines [18] regarding to mass spectrometric detection. Also to comply with this directive, the maximum allowed tolerances for relative ion intensities using LC/MS/MS, expressed as a percentage of the intensity of the most intense transition were considered for a positive identification.

The repeatability and precision of the six point calibration curves in the range 0.01–250 ng/L was determined by injecting the solutions three times in the same day and for six different days. The correlation factors (r^2) of the calibration curves were then calculated (Table 2).

Instrumental detection limits (IDLs) and instrumental quantification limits (IQLs) were calculated, by direct injection of standard solutions with decreasing amounts of each compound, as the concentration giving peaks for which the signal-to-noise ratio was 3 and 10 respectively. The performance of the SPE-UPLC–MS/MS method for the analysis of water samples, limits of detection and quantification, intra-day and inter-day precisions, accuracies and recoveries was evaluated in both surface water (Riera de Merlés: a pristine creek water) and drinking water (commercial bottled) matrices. Limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the method for each matrix were determined by spiking these water samples with mixtures of standard compounds at low concentrations (0.5–10 ng/L), extracted by the described SPE method and calculated as the concentration giving peaks for which the signal-to-noise ratio was 3 and 10 respectively.

For intra-day experiments, five replicates were spiked, extracted and analyzed in the same day, whereas for inter-day assays, the extraction and analysis were performed for one sample, in five different days. Individual recoveries for the entire method were

determined by spiking surface and drinking water samples with analyte standards at 100 ng/L.

Signal suppression was evaluated for each pharmaceutical as the percentage decrease in signal intensity in the sample matrix (surface or drinking), versus ultrapure water. The following equation was used for the signal suppression calculation:

$$\text{Signal suppression (\%)} = \left(1 - \frac{I_s - I_0}{I_{MQ}} \right) \times 100$$

where I_s was the compound peak intensity in the blank matrix extract spiked after extraction with a mixture of pharmaceuticals (500 ng/L); I_0 was the compound peak intensity in the non-spiked blank matrix extract, and I_{MQ} was the compound peak intensity in ultrapure water extract spiked after extraction with the same mixture.

2.7. Evaluation of measurement uncertainty

The aim of this study was the estimation of the uncertainty for the measurements performed in the developed SPE–LC–MS/MS method. Uncertainties associated with the concentrations of pharmaceuticals in water were evaluated using quality assurance/quality control data. The concentration of the analytes in water (ng/L), was calculated taking into account the chromatographic mass (m , ng), the injected volume (V_{inj} , μL), the extract volume (V_{ext} , μL), the sample volume (V_{sample} , L) and the recovery obtained during method validation (Rec) as indicated in Eq. (1):

$$C_{std} = \frac{mV_{ext}Rec}{V_{inj}V_{sample}100} \quad (1)$$

Two main procedures, bottom-up and top-down, are recommended by ISO and currently used to evaluate the measurement uncertainty [27–29,34]. Using the bottom-up approach, the uncertainty is obtained by individually calculating all sources of uncertainty. In contrast, the top-down procedure is a black-box approach, where all uncertainty components are included. Both procedures present some drawbacks. The former is time consuming and not straightforward and for the latter a certified reference material not always available is needed.

To overcome these problems in this work, the information obtained during the method validation (i.e. bias, repeatability, reproducibility, etc.) has been used for the estimation of uncertainty as recommended Eurolab in the single laboratory validation approach [30]. So, the procedure used in this paper is based on the estimation of the uncertainty from precision and bias. Thus, the uncertainty's measurement of the concentration of the analyte is estimated as a root sum of squares of the standard deviation characterizing the (im)precision of the measurement (u_s) and an estimation accounting from uncertainty on bias (u_b). The combined standard uncertainty (u) of the concentration (ng/L) is given (30) from the following equation:

$$u = \sqrt{u_s^2 + u_b^2} \quad (2)$$

The precision of a measurement is evaluated from the standard deviations of the concentrations obtained from replicate measurements. The validation study provided standard deviations for both repeatability (one day) and reproducibility (several days). The precision term was calculated from:

$$u_s = \frac{SDr}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

where SDr is the within-laboratory repeatability standard deviation of the mean concentration (ng/L) from repeated measurements, and n is the number of replicates. In our method, $n=5$

Table 2
 LC–MS/MS parameters established for the SRM acquisition mode of target pharmaceuticals.

	ESI mode	Tr (min)	[M±H] ^{± a}	CV ^b (V)	Product ion (m/z)	C.E ^c (V)	Product ion (m/z)	C.E ^c (V)	Ion ratio ^d (%)	Permitted ^e tolerances	Linearity (r ²)
Iohexol	+	0.79	822.0	45	803.9	20	448.0	30	10.3 ± 4.3	±30	0.9999
Diatrizoic acid	+	0.82	614.9	40	361.0	20	233.2	40	3.4 ± 0.3	±50	0.9992
Iopromide	+	0.84	792.0	45	300.0	55	572.9	25	80.0 ± 8.8	±20	0.9995
Famotidine	+	0.87	338.2	25	189.2	20	259.2	10	66.6 ± 4.7	±20	0.9997
Olaquinox	+	0.87	264.2	30	143.1	30	221.2	15	51.2 ± 7.5	±20	0.9999
Ranitidine	+	0.89	315.3	30	176.2	15	130.1	25	65.2 ± 3.8	±20	0.9992
Cimetidine	+	0.94	253.2	30	159.1	15	117.1	15	50.4 ± 2.9	±20	0.9976
Paracetamol	+	0.99	152.2	30	110.1	15	92.9	25	5.9 ± 2.1	±50	0.9997
Paracetamol-d4	+	0.99	156.2	30	114.1	15					
Carbadox	+	1.52	263.2	35	231.1	10	129.5	25	52.9 ± 3.5	±20	0.9997
Trimethoprim	+	1.78	291.3	50	230.2	20	123.0	30	90.6 ± 12.0	±20	0.9993
Lincomycin	+	1.8	407.3	40	126.1	25	359.2	20	5.5 ± 0.4	±50	0.9990
Sulfamethazine	+	1.91	279.2	40	186.1	15	124.1	25	55.8 ± 10.0	±20	0.9999
Sulfamethoxazole-d4	+	2.17	258.2	30	160.1	15					
Sulfamethoxazole	+	2.17	254.2	30	156.1	15	92.0	25	70.2 ± 7.0	±20	0.9990
5-o-desmethyl omeprazole	+	2.38	348.2	35	150.2	25	120.1	35	78.6 ± 3.2	±20	0.9990
Azithromycin	+	2.41	749.7	55	158.2	45	591.5	30	63.5 ± 6.0	±20	0.9998
Pravastatin	+	2.41	447.3	45	327.2	30					0.9995
Sulfadimethoxine	+	2.43	311.2	40	156.1	20	92.0	30	35.5 ± 0.9	±25	0.9993
Omeprazole-d3	+	2.71	349.3	20	198.1	10					
Omeprazole	+	2.73	346.3	20	198.1	10	151.0	20	32.8 ± 3.5	±25	0.9990
Desmethyl sildenafil-d8	+	2.86	469.3	55	283.2	35					
Desmethyl sildenafil	+	2.89	461.3	60	85.2	30	283.2	35	80.1 ± 4.9	±20	0.9999
Erythromycin	+	2.94	734.7	35	158.1	30	576.4	20	21.5 ± 1.2	±25	0.9994
Lansoprazole	+	3.15	370.2	25	252.1	10	119.1	25	25.5 ± 9.9	±25	0.9993
4-hydroxy omeprazole	+	3.51	330.2	45	120.1	30	149.9	20	60.3 ± 10.0	±20	0.9991
Tylosin	+	3.66	916.7	65	174.2	40	772.5	40	1.6 ± 0.4	±50	0.9983
Sildenafil-d3	+	4.01	478.3	55	102.9	30					
Sildenafil	+	4.1	475.3	55	99.9	40	283.2	40	15.2 ± 1.9	±30	0.9998
Clarithromycin	+	4.16	748.7	35	158.2	30	590.4	20	13.9 ± 1.3	±30	0.9995
Roxithromycin	+	4.46	873.7	40	158.2	35	679.5	25	21.5 ± 9.1	±25	0.9998
Mevastatin	+	6.95	391.3	25	185.2	10	159.2	25	64.5 ± 8.0	±20	0.9994
Tetracycline	+	7.14	445.3	30	428	15					0.9994
Fenofibrate	+	7.15	361.3	35	233.2	15	139.1	25	74.3 ± 3.9	±20	0.9977
Simvastatin	+	7.17	419.4	30	199.3	10	285.3	10	97.1 ± 2.4	±20	0.9974
Chlortetracycline	+	7.19	479.2	40	462.3	20	444	20	62.4 ± 6.3	±20	0.9995
Miconazole	+	7.21	417.1	55	161.3	35	123.3	70	30.1 ± 2.2	±25	0.9985
Amoxicillin	+	7.3	366.3	20	349.1	10	114.0	20	0.11 ± 0.03	±50	0.9995
Chlorhexidine	+	9.98	505.2	40	335.9	20	184.0	30	58.6 ± 1.0	±20	0.9983
Salicylic acid-d4	–	1.63	141.1	20	97.0	15					
Salicylic acid	–	1.65	137.1	30	93.0	15	64.8	30	8.5 ± 0.3	±50	0.9990
Phenobarbital-d5	–	3.25	236.2	25	42	20					
Phenobarbital	–	3.29	231.1	20	42	20	188.2	10	41.2 ± 3.0	±25	0.9991
Clofibrac acid-d4	–	3.75	217.2	20	131.0	15					
Clofibrac acid	–	3.78	213.2	20	127.0	10	84.9	15	15.9 ± 5.1	±30	0.9995
Butalbital-d5	–	3.99	228.2	25	42	20					
Butalbital	–	4.01	223.2	25	42	10	180.2	10	78.4 ± 9.5	±20	0.9996
Hexobarbital	–	4.28	235.2	25	42	20	159	15	17.8 ± 0.4	±30	0.9998
Prednisone	–	4.32	357.1	30	327.1	20	149.0	40	20.6 ± 2.1	±25	0.9992
Ketoprofen	–	4.4	253.2	30	209.2	10	197	10	21.3 ± 14	±25	0.9999
Bezafibrate-d4	–	4.61	364.2	30	278.3	20					
Naproxen	–	4.62	229.2	20	170.1	15	185.2	10	75.5 ± 12.7	±20	0.9994
Bezafibrate	–	4.63	360.2	20	274.2	20	154.1	10	12.4 ± 1.3	±30	0.9994
Pentobarbital-d5	–	4.66	230.2	25	42	20					
Pentobarbital	–	4.67	225.2	25	42	20	182.2	10	81.9 ± 7.4	±20	0.9999
Amobarbital	–	4.67	225.2	30	84	15	138.1	15	22.4 ±	±25	0.9991
Secobarbital-d5	–	5.05	242.3	25	42	20					
Secobarbital	–	5.05	237.2	25	42	20	194.2	10	84.1 ± 2.3	±20	0.9991
Fenoprofen	–	5.53	241.2	20	197.2	10	93.0	25	16.9 ± 1.7	±30	0.9997
Diclofenac	–	5.81	294.1	20	250.1	10	214	20	6.1 ± 1.7	±50	0.9993
Diclofenac-d4	–	5.83	299.1	20	254	10					
Indomethacin	–	6.19	356.2	20	312.1	10	270.0	15	22.2 ± 1.5	±25	0.9999
Ibuprofen-d3	–	6.5	208.2	20	164.3	10					
Ibuprofen	–	6.5	205.2	25	161.2	10					0.9994
Mefenamic acid	–	6.8	240.2	35	196.2	15	180.0	25	11.2 ± 1.6	±30	0.9993
Gemfibrozil-d6	–	8.1	255.3	20	121.0	20					
Gemfibrozil	–	8.1	249.3	25	121.1	15	127.1	10	8.5 ± 0.5	±50	0.9991
Triclosan	–	8.6	287.1	20	35.0	10	289 > 35	10	60.6 ± 7.7	±20	0.9990

^a Precursor ion.

^b Cone voltage.

^c Collision energy.

^d Relative intensity between confirmation and quantification transitions.

^e Permitted tolerances on the basis of relative intensity to accomplish with EU guidelines [European Union decision 2002/657/EC].

(5 samples spiked at 100 ng/L analyzed the same day for the repeatability study).

On the other hand, the bias contribution to measurement uncertainty was investigated during method validation quantified by deviations of the measurement results to the “real concentration” and calculated using (Eq. (4)).

$$u_b = \sqrt{u_{RV}^2 + u_{SD}^2 + u_{corr}^2} \quad (4)$$

where: u_{RV} is the uncertainty estimate for the reference value used (concentration (ng/L) of the analyte in the fortified sample); u_{SD} is the uncertainty obtained from the (im)precision of the mean value of replicate measurements and u_{corr} is the uncertainty of the corrected analyte content (related to recovery).

The uncertainty u_{RV} , was calculated from:

$$u_{RV} = \frac{u_{assoc}}{k} \quad (5)$$

where u_{assoc} is the expanded uncertainty of the spiked concentration of the analyte (ng/L), and k is the coverage factor (usually $k=2$). When a commercial standard is used, u_{assoc} is given in the supplier certificate; and when prepared in the laboratory, u_{assoc} is calculated taking into account the uncertainties associated with the purity of the standard, the balance calibration and weighting and dilution factors according to the following Eq. (6):

$$C_{std} = \frac{m_{std}P}{V_{dil}}$$

where m_{std} is the weight of the pharmaceutical standard (mg); V_{dil} is the dilution volume (mL) and P is the purity of standard. From this expression, the uncertainties associated with each component, u_m , $u_{V_{dil}}$ and u_p are combined as follows:

$$u_{assoc} = \sqrt{u_m^2 \left(\frac{P}{V_{dil}}\right)^2 + u_{V_{dil}}^2 \left(m \frac{P}{V_{dil}^2}\right)^2 + u_p^2 \left(\frac{m}{V_{dil}}\right)^2} \quad (6)$$

The equation to calculate u_{SD} was:

$$u_{SD} = \frac{SD_R}{\sqrt{N}} \quad (7)$$

where SD_R is the standard deviation of the mean concentrations (ng/L) from repeated measurements, under reproducibility conditions, and N is the number of measurements. In our case, $N=5$.

It should be noted that the standard deviation in Eq. (7), accounting for the variability of measurements performed to calculate bias, was obtained from reproducibility studies and is not the same as the standard deviation in equation Eq. (3), accounting for the variability of measurements performed to calculate precision under within-laboratory repeatability conditions.

Finally, a coverage index (CI) for u_{corr} was calculated using:

$$CI = \frac{|C_{RV} - C_{SD}|}{\sqrt{u_{RV}^2 + u_{SD}^2}} \quad (8)$$

where C_{RV} is the real concentration value, in this case the spiked concentration, and C_{SD} is the mean concentration value obtained from reproducibility.

For $CI \leq 2$; $u_{corr} = 0$, whereas for $CI > 2$

$$u_{corr} = |C_{RV} - C_{SD}| \quad (9)$$

when C_{SD} is close to C_{RV} , then $CI \leq 2$ and it is not necessary to perform the correction of the value, i.e. the contribution of the recovery to the final value of the uncertainty is negligible.

The final equation for expanded uncertainty (U) developed to cover all significant effects impacting the measure in our analysis has four principal terms:

$$U = ku \quad U = k \times \sqrt{u_s^2 + u_{RV}^2 + u_{SD}^2 + u_{corr}^2} \quad (\text{ng/L}) \quad (10)$$

which are related to the main components that can influence the reliability and robustness of the developed analytical method.

3. Results and discussion

3.1. Method optimization

The two cartridges most frequently used in the analysis of pharmaceuticals in water, Oasis[®] HLB a universal polymeric reversed-phase sorbent and MCX a mixed-mode polymeric sorbent [31,33], were tested and recoveries were calculated using spiked deionised water. Once selected the most suitable cartridge, validation was performed for both surface water and drinking water.

The SPE procedure for Oasis[®] HLB has been described in Section 2. For Oasis[®] MCX (6 mL, 200 mg), the SPE cartridges were conditioned with 5 mL of methanol followed by 5 mL of Milli-Q water. Then 200 mL of sample enriched with 1% of methanol and spiked with a mix of standard compounds at 100 ng/L was loaded at pH=2. Next, the cartridges were rinsed with 3 mL of 2% formic acid aqueous solution and then by 3 mL of methanol, dried and eluted with 8 mL of methanol (2% ammonium hydroxide). All the extracts were evaporated to dryness, reconstituted and analyzed by UPLC–MS/MS.

In general, better recoveries were obtained for Oasis[®] HLB, although for a small group of compounds such as, famotidine, ranitidine, trimethoprim, azithromycin, sildenafil and iohexol, the Oasis[®] MCX gave better results (from 10% to 60% better). These results are in agreement with those obtained by other authors [31,33]. For example, Garcia-Lor et al. [33] tested these sorbents to extract 11 out of 53 pharmaceuticals that we tested and satisfactory results were obtained using Oasis[®] HLB working at pH 7. Also Gros et al. [31] who tested 20 of the pharmaceuticals studied here found good recoveries for most of the compounds using Oasis[®] HLB although for basic compounds Oasis[®] MCX cartridges were also suitable. According to our results, further analysis and method validation was carried out using Oasis[®] HLB as selected cartridge. Preconcentration was performed at the natural pH of the sample, as one of the objectives in this work is to develop a single extraction step method for all pharmaceuticals studied.

Several mobile phases based on ammonium acetate and ammonium formate buffers at different pH's and methanol and/or acetonitrile were tested for the separation of target pharmaceuticals. The use of an acetonitrile/methanol mixture proved to be the most suitable for most of the compounds analyzed using ESI(+), whereas methanol provided the best results for those pharmaceuticals analyzed in ESI(–). As regards the buffers, the chromatographic separation was improved by using ammonium acetate/acetic acid (pH: 5.2) and a reduction of peak tailing was observed, especially for the first peaks of the chromatogram working in ESI(+). In fact, the use of acidic mobile phases for the analysis of these compounds, is commonly found in the literature [9,12,31–33]. In ESI(–), the same buffer at pH 5.2 was used allowing to obtain acceptable retention times for the acidic compounds. Several linear and non-linear gradients were tested, in order to obtain the best separation, and the optimized conditions are summarized in Section 2. The temperature, was set at 40 °C, either for ESI(+) or ESI(–) modes, which allowed to slightly improve the peak shape and the separation.

Fig. 1, shows as an example, the extracted ion chromatogram of a pharmaceutical standard (0.1 ng/μL) containing the compounds



Fig. 1. UPLC-MS/MS extracted ion chromatogram of target pharmaceuticals in ESI positive (A) and negative (B) modes.

studied in SMR acquisition in ESI(+) and ESI(–) modes. A complete separation of the selected compounds in 10 min in ESI(+) and in less than 9 min in ESI(–) was achieved.

3.2. Method validation

Several parameters such as linearity, instrumental detection limit (IDL), method limits of quantification (LOQ), intra-day and inter-day precisions and signal suppression in surface and drinking water matrices were calculated to evaluate the performance of the SPE-UPLC–MS/MS method.

Linearity was examined over the range 0.01–250 ng/L. For the six-point calibration curves, only the most intense SRM transition (quantification) was employed. Calibration curves were linear in the range studied with values of correlation coefficients $r^2 > 0.999$ for 48 out of 53 compounds analyzed (Table 2). Other method validation parameters are given in Table 3. Instrumental detection limits (IDLs) for pharmaceuticals detected in positive mode, from 0.2 to 30 pg injected, are in general, lower than in negative mode where values ranged from 5 to 80 pg. However, in positive mode there are few compounds with high values of IDLs such as chlorotetracycline (200 pg injected), tetracycline and amoxicillin (both 100 pg injected). Method quantitation limits (LOQs) determined in both surface water and drinking water, are given in Table and as expected lower values for drinking water were obtained. A 24% and 34% of the compounds gave LOQs < 1 ng/L in surface and drinking water respectively and this percentage reached 52% of the compounds for the range 1–10 ng/L in both matrices. For three antibiotics, amoxicillin, tetracycline and chlortetracycline high LOQ values (110–240 ng/L) were obtained.

Intra-day precision of the developed method, calculated as relative standard deviation (%RSD) ranged from 2% to 18% in surface water and from 1% to 16% in drinking water (see Table 3). Similar values, 2–19% (surface) and from 2% to 18% (drinking) were obtained for inter-day precision. Ion suppression due to the matrix was observed for all compounds (Table 3). Low ($< 25\%$), medium (25–50%) and strong ($> 50\%$) effects, were obtained for 50%, 38% and 12% of the studied compounds in drinking water, whereas these percentages were 38%, 42% and 20% in surface waters. These effects must be evaluated and corrected in order to avoid inaccurate quantification when real samples are analyzed. In this study, since no isotopically labeled standards were available for all the compounds, representative internal standards were selected for each group (Table 2), depending on their similarity chemical structure, chromatographic retention time and mass spectrometric response, to reduce matrix effects.

As regard to recoveries, values higher than 80% for 38 compounds (72%) and 42 compounds (79%) in surface and drinking waters, respectively, were obtained (Table 3). Pharmaceuticals with recoveries in the 60–80% range were 26% (14 compounds) and 19% (10 compounds) in the two matrices studied whereas only one compound, diatrizoic acid, presented a recovery $< 60\%$

3.3. Evaluation of measurement uncertainty

The estimation of the uncertainty of the pharmaceutical concentration has been carried out applying the final equation (Eq. (10)) included in the experimental (Section 2.7) and using the data obtained from the validation of the method in surface and drinking water matrices. A coverage factor $k = 2$ was used to evaluate the expanded uncertainty at a confidence level of 95%. Fig. 2 summarizes the main contributions of the different terms to the global uncertainty in the analysis of pharmaceuticals in both drinking water and surface water.

The first term of the expanded uncertainty in the Eq. (10), is the precision term (u_s). Precision refers to the repeatability of the

measurement and it does not require to know the correct or true value. Therefore, u_s was calculated from the standard deviation obtained during the repeatability study (intra-day precision). Values ranging from 0.9 ng/L for azythromycin, erythromycin and gemfibrozil to 5.8 ng/L for mefenamic acid in surface water and from 0.4 ng/L for tylosin to 5.8 ng/L for carbadox and tetracycline in drinking water, were obtained, indicating a reasonably precise data. Higher values (6.7 ng/L) were measured for tetracycline in surface water and chlorotetracycline in drinking water, probably because the concentration of these compounds in the spiked samples was close to the their high LOQ.

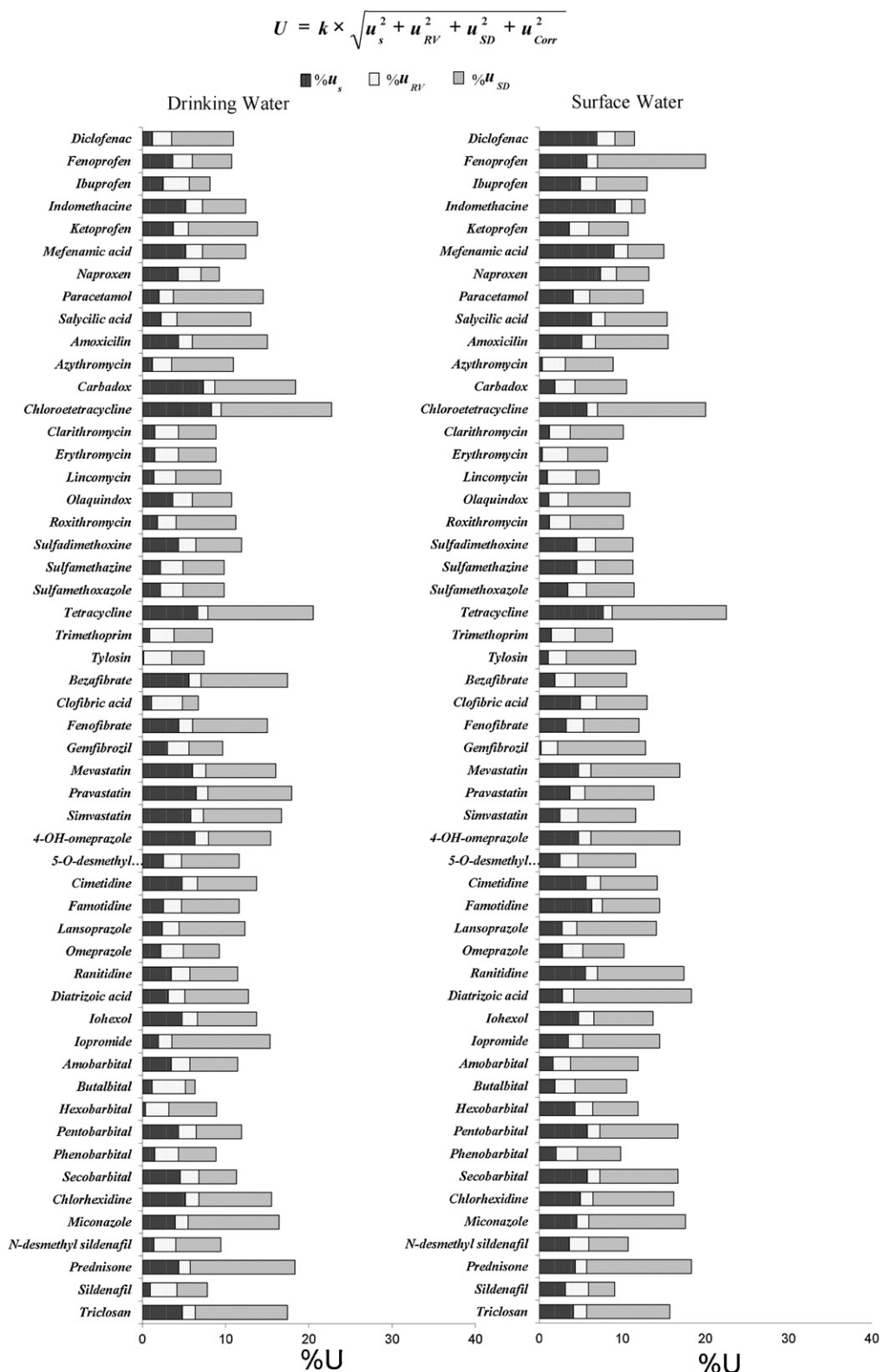
The other three terms of Eq. (10), give a measure of the bias (Eq. (4)). The first term in Eq. (4), the uncertainty estimate for the reference value used u_{RV} (Eq. (5)), is referred, in our case, to the standard solution prepared from solid standards. The purity of the standards used in this work ranged from 98% to $> 99\%$, then u_{assoc} , varied from 4.5 to 5 ng/L, and we had assumed a global value of 5 ng/L for all compounds to simplify the calculations. So, the contribution of u_{RV} in the final values of the expanded uncertainty was 2.5 ng/L for all pharmaceuticals considering the worst scenario and applying Eq. (6).

For the uncertainty associated with the number of measurements in terms of method reproducibility, u_{SD} (Eq. (7)), values ranging from 2.2 (lincomycin and indomethacine) to 6.7 ng/L (mevastatin, 4-OH-omeprazole and ranitidine) were obtained for most of the pharmaceuticals in surface water, and from 1.3 (butalbital) to 6.7 ng/L (carbadox, bezafibrate, pravastatin, iopromide, triclosan and miconazole) in drinking water. However, few higher values of u_{SD} were obtained: miconazole (7.2 ng/L), prednisone (7.6 ng/L), diatrizoic acid (8.1 ng/L), fenoprofen (8.1 ng/L), chlorotetracycline (8.1 ng/L) and tetracycline (8.9 ng/L) in surface water and prednisone (7.6 ng/L), tetracycline (8.1 ng/L) and chlorotetracycline (8.5 ng/L) in drinking water. For these two last compounds, both u_s and u_{SD} , contributed significantly to their final expanded uncertainty value, probably for the same reason, the concentration value of the spiked samples.

In general, the largest contribution to the final expanded uncertainty (Eq. (10), Fig. 2), was for that associated with the number of measurements (u_{SD}) for both, drinking water (DW) and surface water (SW). These results can be explained because a higher number of variables are taken into account in u_{SD} than in u_s . For instance, the different standard solutions (freshly prepared); the different instrument calibrations or the different day of measurements, among others, are examples of uncertainty contributions that are covered by u_{SD} . However, we found some exceptions like butalbital (DW), clofibrac acid (DW) and lincomycin (SW), where the highest component contribution to the final value was the uncertainty associated to the theoretical value (u_{RV}) which can be explained because both, reproducibility and repetitivity (u_{SD} and u_s), were very good for these compounds.

Finally, the last term (u_{corr}) that is considered in the equation of expanded uncertainty (Eq. (10)), is the uncertainty associated with the measurement correction which is directly related to the recovery (R) of the compound. As a first approach, we assumed that a correction was not needed for those compounds with $R > 80\%$, but compounds with similar recoveries gave very different expanded uncertainties. For instance, for indometacine ($R = 79\%$) an expanded uncertainty of 12.4% was obtained while for fenoprofen with a quite similar but a better recovery ($R = 83\%$), the expanded uncertainty was much higher, 35.7%. This leads us to recommend always correcting the concentrations for recovery. So in our case, the final concentration of target compounds was corrected by the recovery, then in Eq. (7), C_{RV} and C_{SD} were the same, and therefore u_{corr} was zero for all pharmaceuticals.

Among the compounds studied in this work, seventeen (see Fig. 2) had an expanded uncertainty $< 10\%$ in drinking water,



u_s : uncertainty of (im)precision of the measurement in terms of repeatability; u_{RV} : uncertainty estimate for the reference value; u_{SD} : uncertainty of (im)precision of the mean value of replicate measurements in terms of reproducibility and u_{corr} : uncertainty of the corrected analyte content. u_{corr} = zero for all pharmaceuticals.

Fig. 2. Estimation of total uncertainty (in %) and visualization of their principal contributions for each studied pharmaceutical in surface and drinking water (spiked level 100 ng/L).

Table 3
Method validation parameters calculated in surface and drinking water.

	Surface water					Drinking water					
	IDLs (pg)	LOQ (ng/L)	Recovery (%)	Intra-day %RSD	Inter-day %RSD	Signal suppression (%)	LOQ (ng/L)	Recovery (%)	Intra-day %RSD	Inter-day %RSD	Signal suppression (%)
Iohexol	30	30	91	11	12	45	27	93	7	11	21
Diatrizoic acid	10	17	50	13	15	70	17	49	14	10	21
Iopromide	20	17	106	6	2	50	17	101	6	15	16
Famotidine	0.5	6.2	75	14	10	63	5.3	79	7	8	55
Olaquinox	4.0	3.6	93	7	4	32	3.4	98	9	7	40
Ranitidine	0.5	1.5	80	15	14	50	1.0	83	5	9	38
Cimetidine	0.5	0.4	80	12	14	58	0.2	80	4	7	46
Paracetamol	1.5	1.4	90	10	14	57	1.3	96	8	14	16
Carbadox	5.0	4.6	90	5	10	37	4.8	87	14	18	41
Trimethoprim	1.0	1.1	73	3	5	34	0.9	92	3	8	23
Lincomycin	1.0	0.9	93	2	5	15	0.9	93	4	9	12
Sulfamethazine	0.8	0.7	92	10	8	14	0.7	89	9	6	15
Sulfamethoxazole	1.2	1.1	90	11	8	13	1.0	96	7	9	13
5-o-desmethyl omeprazole	1.5	1.2	107	4	9	12	1.2	105	8	5	7
Azythromycin	1.0	1	87	2	9	31	0.9	91	3	11	30
Pravastatin	30	30	85	12	9	61	27	92	10	13	29
Sulfadimethoxine	1.0	0.8	108	8	7	7	0.8	103	10	8	13
Omeprazole	0.5	0.4	101	6	7	16	0.4	98	5	8	12
Desmethyl sildenafil	1.0	1.4	60	14	12	20	1.3	66	9	12	21
Erythromycin	0.2	0.2	98	1	7	38	0.2	100	4	7	27
Lansoprazole	1.5	1.6	78	7	9	11	1.2	106	6	10	13
4-hydroxy omeprazole	5	5.9	71	5	14	39	5.9	71	8	16	62
Tylosin	0.5	0.4	114	4	9	18	0.4	100	4	1	18
Sildenafil	1.0	0.9	94	6	7	8	0.8	100	3	6	7
Clarithromycin	0.2	0.2	106	4	9	17	0.2	94	5	7	16
Roxithromycin	0.2	0.2	94	4	9	13	0.2	108	6	17	10
Mevastatin	1.0	5.8	74	15	14	14	4.7	89	10	13	18
Tetracycline	100	110	70	18	17	89	105	71	15	16	56
Fenofibrate	1.5	2.0	86	10	8	14	1.0	85	8	10	13
Simvastatin	0.5	0.4	85	8	7	18	0.2	88	10	13	6
Chlorotetracycline	200	240	65	19	18	55	230	63	15	16	32
Miconazole	0.5	15	70	15	14	13	12	72	10	12	14
Amoxicillin	100	115	65	17	16	84	110	68	12	15	80
Chlorhexidine	10	8.6	97	5	9	56	0.6	86	14	12	65
Salicylic acid	50	40	76	11	6	33	30	86	8	14	22
Phenobarbital	75	15	97	6	5	73	10	100	7	4	33
Clofibrac acid	10	5	93	9	11	24	3	102	4	3	37
Butalbital	60	15	103	9	5	55	10	102	3	3	53
Hexobarbital	80	20	99	12	9	41	15	102	8	2	52
Prednisone	10	8	99	6	6	31	5	101	10	16	33
Ketoprofen	40	30	79	14	10	40	25	69	9	17	44
Naproxen	10	8	98	15	8	31	6	87	8	6	32
Bezafibrate	5	4	98	5	9	36	4	83	16	13	28
Pentobarbital	10	8	99	13	14	40	7	97	13	9	34
Amobarbital	10	8	101	11	5	42	7	98	10	7	43
Secobarbital	10	9	94	13	12	44	9	97	9	8	26
Fenoprofen	15	12	98	14	19	48	10	83	11	10	41
Diclofenac	10	4	93	10	6	52	3	87	4	11	32
Indomethacine	20	10	61	14	9	23	8	79	12	12	16
Ibuprofen	20	15	92	10	11	40	10	86	6	6	34
Mefenamic acid	5	5	61	17	14	32	3	79	12	12	8
Gemfibrozil	5	3	99	4	2	33	2	93	7	7	17
Triclosan	5	4	86	15	16	22	2	88	14	13	15

showing good repeatability, good reproducibility and good recoveries (around 100%). However, when surface water was tested, only a limited number of pharmaceuticals ($n = 6$) had an expanded uncertainty $< 10\%$ (Fig. 2). This is in agreement with signal suppression values (Table 2), which in general were higher in surface water than in drinking water. Higher values of expanded uncertainty between 10% and 20% were obtained for most of the compounds, 34 in drinking water and 44 in surface water. Finally, only 2 compounds in drinking water (chlorotetracycline and tetracycline) and 3 in surface water (fenoprofen, chlorotetracycline and tetracycline) had an expanded uncertainty $\geq 20\%$ (20–22%) and the higher u_{SD} . These values are similar or even better than those found in the literature for different types of organic contaminants in water using preconcentration by SPE and chromatographic (gas or liquid) techniques.

For instance, values in the 10–40% range for pesticides [20] and nonylphenol [24] have been published being the extraction step the main contributor to the uncertainty. In other matrices such as fly ashes [25] or food [22,23], the range of uncertainties was similar with estimated values of 10–31% for emissions and 20–30% for pesticides in food, respectively.

3.4. Analysis of water samples

The methodology developed was applied to analyze surface and drinking water samples from Llobregat River (Catalonia, NE Spain) and a DWTP respectively. Samples were collected daily during a week in each season of a year. Seventeen out of fifty three compounds were not detected in surface water

Table 4
Seasonal occurrence of pharmaceuticals in raw water samples (ng/L) from Llobregat River at the intake of a DWTP and of treated water.

Therapeutics	Compound	Surface water ^a						Drinking water ^a						% Elim.										
		Winter			Summer			Fall			% U (SW)				Spring			Summer			Fall			% U (DW)
		Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max		Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max	Min-max		
Analgesic/antiinflammatory	Diclofenac	65–208	15–44	<LOQ-33	174–292	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Ibuprofen	103–1440	44–73	19–313	81–230	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96±2
	Naproxen	59–226	<LOQ-37	10–101	99–152	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Paracetamol	129–1289	207–426	116–562	163–260	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96±2
Antibiotics	Azythromycin	-	<LOQ-5	<LOQ-3	8–18	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Clarithromycin	6–19	10–16	2–5	40–54	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Erythromycin	40–47	4–6	0.8–5	21–33	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98±3
	Lincomycin	44–171	4–16	<LOQ-8	13–18	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Olaquinox	<LOQ-53	<LOQ-16	<LOQ-5	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Sulfamethoxine	38–43	-	<LOQ-8	<LOQ-8	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Sulfamethazine	<LOQ-89	<LOQ-5	-	<LOQ-113	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Sulfamethoxazole	13–55	17–52	22–50	58–149	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Trimethoprim	48–64	10–81	-	10–23	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Tylosin	16–16	<LOQ-2	-	0.5–2	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
Lipid regulator/cholesterol drugs	Bezafibrate	38–77	-	-	27–78	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Clofibrac acid	13–16	-	-	12–20	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Gemfibrozil	58–239	29–55	42–105	187–326	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
Gastric/antihistaminic	4-OH-omeprazole	10–16	-	<LOQ-16	12–60	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Omeprazole	29–35	-	-	<LOQ-2	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Ranitidine	-	3–8	<LOQ-2	2–5	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
X-ray	Diatrizoic acid	45–84	-	-	<LOQ-59	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Iohexol	56–147	<LOQ-341	-	<LOQ-71	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99
	Iopromide	<LOQ-967	19–328	155–859	74–505	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93±6
Miscellaneous	Sildenafil	24–29	-	-	<LOQ-3	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	>99

Not found: fenoprofen, ketoprofen, salicylic acid, amoxicillin, carbadox, chlorotetracycline, tetracycline, fenofibrate, fenofibrate, 5-O-desmethyl omeprazole, famotidine, butalbital, hexobarbital, pentobarbital, secobarbital, miconazole, triclosan. Mean values during sampling (2009) for winter, spring, summer and fall. Flows: (24 m³/s; 21 m³/s; 8 m³/s and 4 m³/s); conductivity: (965 µS/cm; 1467 µS/cm and 1580 µS/cm); temperatures: (8.9 °C; 18.0 °C; 25.1 °C and 12.0 °C); turbidity: (121 UNF; 70 UNF; 94 UNF and 31 UNF); TOC: (4.9 mgC/L; 3.6 mgC/L; 5.9 mgC/L and 4.1 mgC/L).

^a Collected daily (n = 7).

samples at the entrance of the drinking water treatment plant during the four campaigns: three analgesic/antiinflammatories (fenopropfen, ketopropfen and salicylic acid), four antibiotics (amoxicillin, carbadox, chlorotetracycline and tetracycline), two lipid regulator/cholesterol drugs (fenofibrate and mevastatin), two gastric/antihistaminic (5-O-desmethyl omeprazole and famotidine), four barbiturates (butalbital, hexobarbital, pentobarbital and secobarbital) and miconazole and triclosan from the miscellaneous group.

Compounds that were not found in surface waters, often have small percentages of excretion as displayed in Table 1 [35]. This fact, and their relatively high LOQs, could explain that salicylic acid, fenopropfen and ketopropfen among NSAIDs have not been found in surface waters. On the contrary, paracetamol that has a small excretion rate but a low LOQ and wide usage was ubiquitously found in all seasons. In the antibiotics group, the high LOQs of amoxicillin and tetracycline preclude their determination at low levels in spite of their high excretion levels as parent compounds (49% and 60%, respectively) whereas clarithromycin and erythromycin with lower excretion rates (25% and 5–15%, respectively) but very low LOQs (0.2 ng/L) were usually found. From the antihistaminic/gastric group of pharmaceuticals studied, famotidine was not identified in surface waters in spite of its moderate LOQ (6.2 ng/L) and extraction rate, 25–70%, as parent compound. This antiulcer agent is hardly identified in Spanish waters compared to the widespread presence of omeprazole (LOQ 0.4 ng/L) and ranitidine (40% excretion as parent compound). The high usage and unchanged excretion (94% for iopromide) can explain the presence of the three X-ray studied in spite of their relatively high LOQs. Finally, the unique barbiturate that was found was phenobarbital, and this is precisely the barbiturate with the highest percentage of extraction as parent compound.

In surface waters, seven pharmaceuticals were only detected in one of the seasons tested: indometacine (58–116 ng/L), mefenamic acid (37–192 ng/L), roxithromycin (<LOQ–21 ng/L) and lansoprazole (48–53 ng/L), in winter, cimetidine (48–53 ng/L) in spring, and pravastatin (<LOQ–40 ng/L) and simvastatin (<LOQ–8 ng/L) in fall. Table 4 displays the 24 pharmaceuticals that were detected in more than two out of four seasons in surface water: twenty three compounds were found during fall, twenty two in winter and seventeen and fourteen in spring and summer respectively. A higher number of pharmaceuticals were found during winter and fall, when the temperatures are cooler and the biological activity in the river is lower. Although some compounds have high concentrations in summer (paracetamol, iopromide), which could be due to the lower river flow at that time, most of the highest concentrations were found in the winter or fall.

Results for treated water showed very few positives samples and a reduced number of compounds, ibuprofen, paracetamol, erythromycin and iopromide, were detected at very low concentration levels (Table 4). Removal rates were calculated by comparing concentrations of target compounds at the intake and after the final treatment and included in Table 4. When values of the outflow were below the limit of detection, the LOD/2 value was used for calculation.

In surface waters, concentrations higher than 200 ng/L were found for some compounds such as paracetamol, ibuprofen, diclofenac, naproxen, gemfibrozil and iopromide which are in line with those found in the literature [5]. Among these compounds the three non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – diclofenac, ibuprofen and naproxen – have been recently considered as high priority pharmaceuticals to be monitored in waters [36] and diclofenac is included in the proposal of the Directive of the European Parliament and of the Council [37], as regards priority substances in the field of water policy. Among the Inflammatory/analgesics that were found in the intake water, diclofenac

and naproxen were not found in treated water in agreement with the results of a previous work [10]. Diclofenac is oxidized by chlorine dioxide [10,38,39], whereas naproxen survived the first oxidation with chlorine dioxide but is removed after ozonation step [10]. Ibuprofen and paracetamol were both found in treated water although they were eliminated in a 96% after treatment in the DWTP. Removals of 14% in the first step with chlorine dioxide and, 68% and 59% respectively, after ozonation have been reported [10]. It must be mentioned that NSAIDs have been found in drinking waters of many European countries [4].

As regards to antibiotics, ten compounds were found in surface water and only erythromycin survived the treatment in one campaign (fall) with a 98% of total elimination. Antibiotics are not currently found in drinking water [2,10,40,41], although they have been detected in wastewater and surface water [4,31] and some of them included in the priority list of the ten drugs to be monitored in water [36]. Studies of the removal of antibiotics by dichlorination or chlorination as a first oxidation step in drinking water treatments have indicated that they are removed by more than 90–95% [10,38,42].

Only three out of seven lipid regulator/cholesterol drugs were found in surface water: bezafibrate and clofibrac acid in winter and fall and gemfibrozil in all seasons. These three compounds have been already found in tap waters [4,31]. Bezafibrate, gemfibrozil and clofibrac acid are included in the high priority pharmaceuticals list [36]. None of them were found in the output of DWTP and other pharmaceuticals of this group have not been found during this study.

Only 4-OH-omeprazole, omeprazole and ranitidine, from gastric/antihistaminic group, were found in the intake water in two (omeprazole) and three seasons (4-OH-omeprazole and ranitidine) out of the four monitored, and none of them were found in the treated water during this study. Among these compounds, only ranitidine is included in the list of priority pharmaceuticals [36], and it has been found in a tap water at very low concentration (0.6 ng/L) [31].

The three X-ray contrast media studied, have also been included into the list of 44 priority pharmaceuticals [36] and were found in surface water during our study: diatrizoic acid in winter and fall campaigns, iohexol in winter, spring and fall and iopromide in all the seasons and moreover at high concentrations (max. 967 ng/L). This last compound was also found in treated water and their elimination was calculated as $93 \pm 6\%$ (Table 4). This is consistent with studies on the behavior of these compounds under several treatments that had demonstrated relatively poor elimination and consequently found in tap waters [10,38,43,44]. Finally, sildenafil was the only compound from miscellaneous group that was found in surface water, in winter and fall, but it was removed after treatment and it was absent in drinking water.

4. Conclusions

A multiresidue SPE-LC-MS/MS method to analyze pharmaceuticals in water samples at trace levels was developed and validated. Few exceptions (chlorotetracycline, tetracycline and amoxicillin) presented sensitivity problems with high instrumental detection limits. High >80% recoveries were obtained for most of the compounds (72% and 79% in surface and drinking waters respectively), although they were slightly lower 60–80% for some of them (26% and 19% in the two matrices studied).

The expanded relative uncertainty of the pharmaceutical concentration calculated from the data obtained in the validation study for each pharmaceutical using the method developed for surface and drinking waters, ranged from 6.3% (butalbital) to 22.7% (chlorotetracycline) in drinking water and from 7.2% (lincomycin)

to 22.5% (tetracycline) in surface water. These values are good for a multiresidue method that simultaneously analyzes 53 compounds and lower than those found in the literature. For example, in drinking water only two compounds had an expanded uncertainty $\geq 20\%$ (20–22%); 34 showed values between 10% and 20% and 17 compounds had an expanded uncertainty $< 10\%$ and which guarantee the results of the analysis of the final treated water.

The method has been applied to analyze intake surface and treated water samples from a DWTP located in the Llobregat River (Catalonia, NE Spain) in a complete seasonal study. A total of 24 pharmaceuticals out of 53 were detected in more than two out of four seasons tested, with more pharmaceuticals found during winter and fall. Very few positive samples were found in drinking water at low ng/L levels (4 compounds). Removal rates were $> 99\%$ for all compounds except for ibuprofen (96%), paracetamol (96%), erythromycin (98%) and iopromide (93%), so these results proving the suitability of the treatment applied in the drinking water treatment plant.

Acknowledgments

This work was supported financially 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 Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnología (CTQ 2009-09253). We also gratefully acknowledge the assistance in uncertainty measurements to Ll. Vázquez and J. Boix (AGBAR).

References

- [1] T.A. Ternes, M. Meisenheimer, D. McDowell, F. Sacher, H.J. Brauch, B. Haist-Gulde, G. Preuss, U. Wilme, N. Zulei-Seibert, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 3855.
- [2] P.E. Stackelberg, E.T. Furlong, M. Meyer, S.D. Zaugg, A.K. Henderson, D.B. Reissman, *Sci. Total Environ.* 329 (2004) 99.
- [3] M.J. Focazio, D.W. Kolpin, K.K. Barnes, E.T. Furlong, M.T. Meyer, S.D. Zaugg, L.B. Barber, M.E. Thurman, *Sci. Total Environ.* 402 (2008) 201.
- [4] S. Mompelat, B. Le Bot, O. Thomas, *Environ. Int.* 35 (2009) 803.
- [5] S.C. Monteiro, A.B.A. Boxall, in: D.M. Whitacre (Ed.), *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 202, Springer, New York, 2010, p. 53.
- [6] V. Roos, L. Gunnarson, J. Fick, D.G.J. Larsson, C. Ruden, *Sci. Total Environ.* 421/422 (2012) 102.
- [7] M. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 597.
- [8] A. Jelic, M. Gros, A. Ginebreda, R. Céspedes-Sánchez, F. Ventura, M. Petrovic, D. Barcelo, *Water Res.* 45 (2011) 1165.
- [9] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran, F. Ventura, *Water Res.* 45 (2011) 1432.
- [10] M.R. Boleda, M.T. Galceran, F. Ventura, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 1584.
- [11] World Health Organization (WHO), Report, 2011, *Pharmaceuticals in Drinking Water*, WHO/HSE/WSH/11.05.
- [12] M. Gros, M. Petrovic, D. Barceló, *Anal. Chem.* 81 (2009) 898.
- [13] A.M. Comerton, R.C. Andrews, D.M. Bagley, *Phil. Trans. R. Soc. A* 367 (2009) 3923.
- [14] N.A. Al-Odaini, M.P. Zakaria, M.I. Yaziz, S. Surif, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 6791.
- [15] K. Nödler, T. Licha, K. Bester, M. Sauter, *Chromatogr. A* 1217 (2010) 6511.
- [16] R. López-Serna, S. Pérez, A. Ginebreda, M. Petrović, D. Barceló, *Talanta* 83 (2010) 410.
- [17] I. Ferrer, J.A. Zweigenbaum, E.M. Thurman, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 5674.
- [18] European Union Decision 2002/657/EC, *Off. J. Eur. Commun.* 221 (2002) 8.
- [19] EPA Method 1694, December 2007, EPA-821-R-08-002.
- [20] J. Quintana, I. Martí, F. Ventura, *J. Chromatogr. A* 938 (2001) 3.
- [21] C. Planas, A. Puig, J. Rivera, J. Caixach, *J. Chromatogr. A* 1131 (2006) 242.
- [22] K. Banerjee, D.P. Oulkar, S. Dasgupta, S.B. Patil, S.H. Patil, R. Savant, P.G. Adsule, *J. Chromatogr. A* 1173 (2007) 98.
- [23] B. Kmešlar, P. Fodor, L. Pareja, M.A. Martínez-Uroz, A. Valverde, A.R. Fernández-Alba, *J. Chromatogr. A* 1215 (2008) 37.
- [24] A. Díaz, Ll. Vázquez, F. Ventura, M.T. Galceran, *Anal. Chim. Acta* 506 (2004) 71.
- [25] K. Martínez, J. Rivera-Austrui, M.A. Adrados, M. Abalos, J.J. Llerena, B. van Bavel, J. Rivera, E. Abad, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 5888.
- [26] M.C. Gaudiano, A. Di Maggio, E. Antoniella, L. Valvo, P. Bertocchi, L. Manna, M. Bartolomei, S. Alimonti, A.L. Rodomonte, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48 (2008) 303.
- [27] ISO/IEC 17025:2005, *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*, ISO, Geneva, 2005.
- [28] NIST, B.N. Taylor, C.E. Kuyatt, *Guidelines for Evaluating and Expressing the Uncertainty of NIST Measurement Results*, NIST Technical note 1297, 1994.
- [29] EURACHEM, *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 3rd ed., Eurachem/CITAC Working Group, Helsinki, 2012.
- [30] EuroLab, *Measurement Uncertainty Revised: alternative approaches to uncertainty evaluation*, Technical Report no 1/2007, 2007.
- [31] M. Gros, S. Rodríguez-Mozaz, D. Barceló, *J. Chromatogr. A* 1248 (2012) 104.
- [32] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale, A. Guwy, *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (2008) 1293.
- [33] E. Garcia-Lor, J.V. Sancho, F.J. Hernández, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 622.
- [34] P. Konieczka, J.J. Namiésnik, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 882.
- [35] R.C. Baselt, *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 7th ed., Biomedical Publications, Foster City, CA, USA, 2004.
- [36] P. de Voogt, M.L. Janex-Habibi, F. Sacher, L. Puijker, M. Mons, *Water Sci. Technol.* 59 (2009) 39.
- [37] European Commission, 2011/0429 (COD), *Proposal for a Directive of European Parliament and of the Council*.
- [38] M.H. Huber, S. Korhonen, T.A. Ternes, U. von Gunten, *Water Res.* 39 (2005) 3607.
- [39] U. von Gunten, M.L. Janex-Habibi, T.A. Ternes, L. Weber, *Removal of PPCP during drinking water treatment*, in: T.A. Ternes, A. Joss (Eds.), *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances*, IWA Publishing, London, U.K., 2006, p. 293.
- [40] Z. Ye, H.S. Weinberg, M.T. Meyer, *Anal. Chem.* 79 (2007) 1135.
- [41] K. Kümmerer, *Chemosphere* 75 (2009) 417.
- [42] P. Westerhoff, Y. Yoon, S. Snyder, E. Wert, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 6649.
- [43] S. Pérez, D. Barceló, *Anal. Bioanal. Chem.* 387 (2007) 1235.
- [44] W. Seitz, J.-Q. Jiang, W. Schulz, W.H. Weber, D. Maier, M. Maier, *Chemosphere* 70 (2008) 1238.

3.2.2. Article científic:

REMOVAL OF DRUGS OF ABUSE FROM MUNICIPAL WASTEWATER USING REVERSE OSMOSIS MEMBRANES.

M^a Rosa Boleda^a, Katariina Majamaa^b, Peter Aerts^b, Verónica Gómez^c
M^a Teresa Galceran^d, Francesc Ventura^a

^aAGBAR-Aigües de Barcelona. Gral. Batet 5-7. 08028, Barcelona, Spain

^bDow Water and Process Solutions, Industriestraße 1, 77836 Rheinmu"nster,
Germany

^cUniversity Rovira i Virgili. Analytical Chemistry and Organic Chemistry Department,
C/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona,
Spain

^dUniversity of Barcelona, Analytical Chemistry Department. Av. Diagonal 647. 08028
Barcelona, Spain

Desalination and Water Treatment 2010, 21: 122-130.

Removal of drugs of abuse from municipal wastewater using reverse osmosis membranes

M^a Rosa Boleda^a, Katariina Majamaa^b, Peter Aerts^b, Verónica Gómez^c
M^a Teresa Galceran^d, Francesc Ventura^{a*}

^aAGBAR-Aigües de Barcelona. Gral. Batet 5-7. 08028, Barcelona, Spain

^bDow Water and Process Solutions, Industriestraße 1, 77836 Rheinmünster, Germany

^cUniversity Rovira i Virgili. Analytical Chemistry and Organic Chemistry Department, C/ Marcel·lí Domingo s/n, 43007 Tarragona, Spain

^dUniversity of Barcelona, Analytical Chemistry Department. Av. Diagonal 647. 08028 Barcelona, Spain
Tel. +34933422715/+497227913765; email: fventura@agbar.es, kmajamaa@dow.com

Received 6 May 2009; accepted 26 March 2010

ABSTRACT

Drugs of abuse are important emerging contaminants due to their presence in water bodies following incomplete removal in wastewater treatment. This poses a threat to drinking water sources and has led to concerns about possible health effects, both to wildlife, ecosystems and humans. In recent years, there has been growing interest in the incorporation of reverse osmosis (RO) and nanofiltration (NF) membrane technologies into existing municipal and industrial wastewater treatment facilities as a quaternary treatment option. By improving effectiveness of wastewater treatment, the exposure of firstly, nature and secondly, humans to these compounds can be minimized. It has been suggested that these membrane techniques are suitable for cost-effective desalination and the removal of a wide range of low-molecular-weight (LMW) trace organic constituents, including drugs of abuse. This paper presents the detailed results of a feasibility assessment study on the removal of selected drugs and metabolites from secondary treated wastewater. The study was carried out at a small scale RO pilot plant. Three different FILMTEC™ brackish water membranes were used; low energy (LE) membrane, high rejection membrane (BW30) and extra fouling resistant membrane (XFR). The results show that RO membranes can reduce the amount of target compounds in the effluent water. The obtained mean rejection values for the three membranes and six monitoring campaigns were as follows: 74–83% (caffeine), 49–63% (nicotine), 94–96% (cotinine), 98–99% (codeine), 98% (norcodeine), 81% (METH), 57–64% (MDA), 93–96% (MDMA) and 47–57% (MDEA). No major differences were observed between the three different membranes. This indicates that the low energy RO membrane provides the same removal efficiency as the other two membranes, thus demonstrating the potential for a less energy intensive RO plant operation.

Keywords: Reverse osmosis (RO); Drugs of abuse rejection; Removal efficiency

1. Introduction

Drugs of abuse constitute a new class of emerging environmental contaminants which has been identified

*Corresponding author

in the aquatic environment, and which has been the subject of increasing interest from water specialists in recent years. The presence of these compounds either in unaltered state or as their main human metabolites in wastewater has been reported in many countries. Moreover, they are often only partially removed by wastewater treatment plants (WWTPs) using conventional treatments [1–6]. This incomplete elimination leads to the release of these compounds in surface receiving waters [3,5,6,9–12], which thus become contaminated. Since these waters can be used for drinking water production [12], it is important that drugs are eliminated through drinking water treatments. The use of reverse osmosis (RO) has proved to be effective at removing emerging contaminants in wastewaters. Several studies and reviews of behavior and factors involving rejection of emerging contaminants such as endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals during nanofiltration (NF), ultrafiltration (UF) and RO treatment processes have been published [13–18]. The majority of these studies report research performed on a laboratory scale using artificially prepared water, whilst studies devoted to evaluating emerging contaminant rejection using real waste water matrix either in pilot or full-scale RO treatments are less frequent [19,20].

The aim of this present study was to examine the ability of different types of reverse osmosis membranes to eliminate drugs of abuse from waste water. Experiments were performed in a small RO pilot plant, situated in a WWTP in NE Spain, which treats only urban waste water. The secondary effluent following biological treatment was used as the RO feed. Feed and permeate samples were studied in order to obtain rejection values. Three types of RO membranes operating in parallel were tested for caffeine, nicotine, its metabolite cotinine, codeine, its metabolite norcodeine and amphetamine type substances (ATS), such as amphetamine (AMP), methamphetamine (METH), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDEA). The presence and rejection of target compounds in the effluent waste water was studied seasonally.

2. Materials and methods

2.1 Studied compounds

The compounds included in this study, their metabolites and some of their chemical characteristics can be found in Table 1. With the exception of caffeine, all of the studied compounds are listed by the U.S. National Institute on Drug Abuse (NIDA) as

commonly abused drugs that can have potential health consequences [21]. Although caffeine could be classified as a stimulant drug, the reason it was included in the study was that it is often considered an anthropogenic tracer for wastewater contamination of surface waters [22]. Nicotine is extensively metabolized in the human body and cotinine is its major urinary metabolite. The half life of nicotine is two hours, whereas for cotinine, it is 20 h. and it is typically detected for several days in blood and urine. For this reason, cotinine, rather than nicotine, was used as indicator to assess exposure to tobacco [23]. Moreover, cotinine is also considered a chemical marker for domestic wastewaters [24].

AMP, METH, MDA, MDMA (ecstasy) and MDEA are stimulant drugs, primarily consumed for their ability to cause euphoria and feelings of exhilaration, although AMP and METH have also been approved for restricted medical use [25]. Codeine is an opiate and narcotic pain medicine, commonly used to treat mild to moderate pain. Following ingestion, codeine metabolizes to norcodeine.

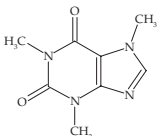
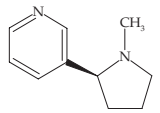
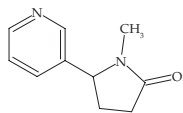
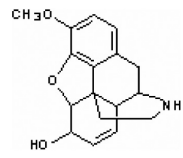
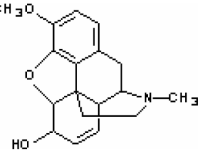
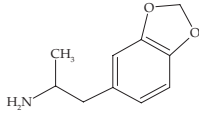
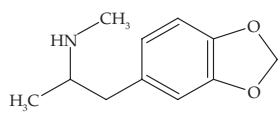
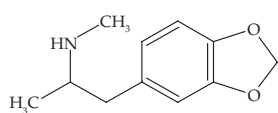
2.2. Membranes

Three different polyamide membranes were used in this study. The LE membrane is a low energy membrane widely employed for industrial and municipal² applications that operate at low pressure. The BW30 membrane is an industrial standard high rejection and high productivity brackish water membrane and XFR is a membrane providing advanced fouling resistance and targeted for use with waste water applications. The size of the elements was 2.5 inches in diameter and 14 inches in length, with an active membrane area of 0.54 m². Some characteristics of the membranes are summarized in Table 2. Molecular weight cut-off (MWCO) for each tested membrane was estimated to be around 100 Da. Three sets of new membranes were used, two sets for summer sampling and one set for the winter sampling.

2.3. Reverse osmosis pilot plant and experimental conditions

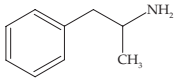
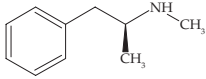
The pilot plant used in this experiment is located in a wastewater treatment plant (NE, Spain) treating municipal wastewater (16,500 m³/d) originating from the nearby villages. The existing treatment scheme consists of a primary treatment, a secondary biological treatment and a tertiary treatment including chlorination, coagulation/flocculation, lamellar clarification and sand filtration. Following tertiary treatment, the purified water is used for rural irrigation purposes (i.e. landscaping, golf courses). In this experiment, the

Table 1
 Properties of the studied compounds

Name	Structure	CAS no.	Molecular weight	pKa	Log K_{ow}
Caffeine		58-08-2	194.2	10.4	0.16
Nicotine		54-11-5	162.23	3.1	1.17
Cotinine		486-56-6	176.22	4.89	0.34
Norcodeine		467-15-02	285.34	9.23	0.69
Codeine		76-57-3	299.37	8.21	1.19
MDA		4764-17-4	179.21	8	1.82
MDMA		42542-10-9	193.24	8-10.5	2.28
MDEA		82801-81-8	207.26	8.5	2.77

(continued)

Table 1 (continued)

Name	Structure	CAS no.	Molecular weight	pKa	Log K_{ow}
AMP		300-62-9	135.1	10	1.76
METH		537-46-2	149.1	9.5	2.22

feed water was collected after secondary treatment and subjected to RO treatment.

The presence and rejection of the studied compounds was assessed seasonally because large variations in the population served occur during summertime. Six sampling campaigns were carried out in June and August 2008, and February, March, June and July 2009. For sample collection, 1,000 mL grab samples from the outlet of the secondary treatment (feed of RO pilot plant) and permeates from each membrane tested (LE; BW30 and XFR) were collected in amber glass bottles. Samples were stored at 4°C, filtered through glass microfiber GF/A filters (Whatman, UK) and analyzed within a week.

2.4. Analytical standards and reagents

Standard solutions (1 mg/mL in methanol) of AMP, METH, MDA, MDMA, MDEA, caffeine, codeine, nor-codeine, nicotine and cotinine were used. Standard solutions of each compound and deuterated analogues, AMP-d₈, METH-d₉, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₅, ¹³C₃-caffeine, codeine-d₆, nicotine-d₄ and cotinine-d₃ were purchased from Cerilliant (Austin, TX, USA).

2.5. Analytical methodology

The target compounds were analyzed following a previously published method [26] based on

solid-phase extraction ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-UPLC/MS/MS). Briefly, 100 mL of water spiked with deuterated standards (100 ng/L) was enriched by SPE on Oasis-HLB cartridges (Waters, Milford, USA). Cartridges were washed with 5% methanol aqueous solution, dried with nitrogen and eluted using methanol.

Compounds were analyzed by UPLC-MS/MS. An Acquity BEH C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) and solvent A: acetonitrile with 0.1% formic acid and solvent B: 30 mM formic acid/ammonium formate (pH 3.5), were used for optimum separation of target compounds. The UPLC was coupled to a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer (Waters) operating in positive electrospray ionization mode. Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode, where the protonated molecular ion of each compound was the precursor ion. Two transitions per compound were employed as required by the EC [27].

The quantification and confirmation transitions have been published elsewhere [26,28]. Run-to-run ($n = 6$ in one day) and day-to-day precisions ($n = 6$ in five days) were evaluated using a drug-free wastewater matrix spiked at 1.5 μg/L for nicotine and cotinine and 80 ng/L for the rest of compounds. The results obtained, calculated as %RSD (relative standard deviation), were lower than 6% and 10%, respectively.

Table 2

Characteristics of the membranes used in this study

Name	Manufacturer	Material	Stabilized NaCl rejection (%) [*]	Permeate Flow rate (m ³ /h) [*]	MWCO (Dalton)
LE	Dow	Polyamide	99.3	0.64	~100
BW30	Dow	Polyamide	99.5	0.58	~100
XFR	Dow	Polyamide	99.65	0.63	~100

^{*}Stabilized salt rejection (NaCl) and permeate flow are specified under the following conditions: 2,000 ppm NaCl, 25°C, 5% recovery and pressures of 10.3 bar (LE) and 15.5 bar (BW30 and XFR).

Table 3
Feed water characteristics and experimental conditions during the sampling campaigns

Parameter	June 08	August 08	February 09	March 09	June 09	July 09
Temperature (°C)	24	28	17	18	26	29
pH	7.3	7.4	7.4	7.1	7.2	7.4
Conductivity (µS/cm)	2160	2042	2515	2041	2105	2260
Permeate flow ^a (L/h)	6.2/6.8/6.5	7.6/8.1/8.1	8.9/9.1/9.1	6.5/6.9/6.7	6.9/9.9/9.5	8.9/7.5/9.3
Recovery ^a (%)	4/4/4	4/5/3	4/5/5	4/4/4	4/5/6	5/5/5
Feed pressure (bar)	8.6	7.4	9.0	9.0	8.0	7.4
Salt rejection ^a (%)	97.5/97.5/98.5	97.5/97.5/98.1	99.2/99.4/99.4	98.4/98.7/98.7	97.9/98.5/98.8	97.7/97.6/98.0

^a LE/BW30/XFR membranes.

Recoveries calculated by spiking a blank wastewater ($n = 6$) with the analytes and the deuterated analogs ranged from 70% (AMP) to 101% (MDEA). Limits of quantification (LOQs) ranged from 0.2 ng/L (MDEA) to 5 ng/L (codeine).

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of studied compounds in the WWTP

Table 4 summarizes the concentration ranges, mean concentrations and LOQs for each compound in both feed and permeates obtained with the three membranes tested during the six monitoring campaigns. All studied compounds except MDEA, AMP and METH were continuously detected in the secondary treated waste water, indicating that the conventional biological process alone is not sufficient to remove them from waste streams. Some of the studied compounds showed a clear increase during the summer season, which can be related to the fact that the region is a tourist destination where the population (and thus the

waste water load) increases significantly during the holiday period.

Caffeine was found in high concentrations in feed samples (following the secondary treatment), with levels ranging from 75 to 4106 ng/L. As with some other compounds, higher concentrations were observed during the summertime. These values are lower than those found in a survey of 42 WWTPs in NE Spain, where median concentrations were 54 and 1.3 µg/L in wastewater influents and effluents respectively, and concentrations ranged from 700 ng/L to 209 µg/L (influent), and 30 ng/L–44 µg/L (effluent) [4]. Caffeine is efficiently removed in conventional WWTPs with values usually higher than 95% [4,22,29].

Nicotine and its metabolite cotinine were found in all campaigns. Concentrations in the feed water ranging from 42 to 203 ng/L for nicotine, and 69 to 239 ng/L for cotinine were measured. Cotinine was found at higher concentrations than nicotine in five of the six campaigns, and their presence in the treated waste water was fairly stable throughout the

Table 4
Concentrations (ng/L) of drugs of abuse (maximum, minimum, mean and median) in the RO feed and permeates of LE, BW30 and XFR membranes ($n=6$)

Compound	LOQs ng/L	Feed	Permeate LE	Permeate BW30	Permeate XFR
		Min-Max (Mean/Median)	Min-Max (Mean/Median)	Min-Max (Mean/Median)	Min-Max (Mean/Median)
Caffeine	2.0	74.7-4106 (1056/569)	13.2-130 (49.1/39.5)	16.7-201 (67.0/47.7)	13.6-132 (56.3/40.5)
Nicotine	1.0	42.5-203 (79.0/57.3)	16.1-35.0 (27.6/31.2)	17.1-30.7 (23.3/22.5)	17.0-47.3 (31.1/33.7)
Cotinine	1.5	69.2-239 (120/105)	1.66-13.5 (6.62/6.12)	1.64-8.74 (4.93/3.54)	2.38-10.3 (6.48/6.51)
Norcodeine	2.1	8.26-79.9 (53.5/65.5)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Codeine	5.0	275-1201 (750/727)	<LOQ-9.30 (<5.0)	<LOQ	<LOQ-5.99 (<5.0)
MDA	0.8	3.33-28.4 (11.3/7.21)	1.23-10.5 (4.71/2.86)	0.88-10.3 (4.41/2.38)	0.76-10.0 (4.52/2.76)
MDMA	0.3	5.51-97.0 (29.8/21.8)	<LOQ-4.32 (1.19/0.74)	<LOQ-2.38 (0.87/0.49)	<LOQ-1.81 (0.72/0.30)
MDEA	0.2	<LOQ-1.10 (0.63/0.70)	<LOQ-1.00 (0.38/0.20)	<LOQ-0.80 (0.28/0.20)	<LOQ-0.90 (0.38/0.20)
AMP	1.0	<LOQ-5.08 (1.31/<1.0)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
METH	0.7	<LOQ-4.15 (1.63/<0.7)	<LOQ	<LOQ	<LOQ

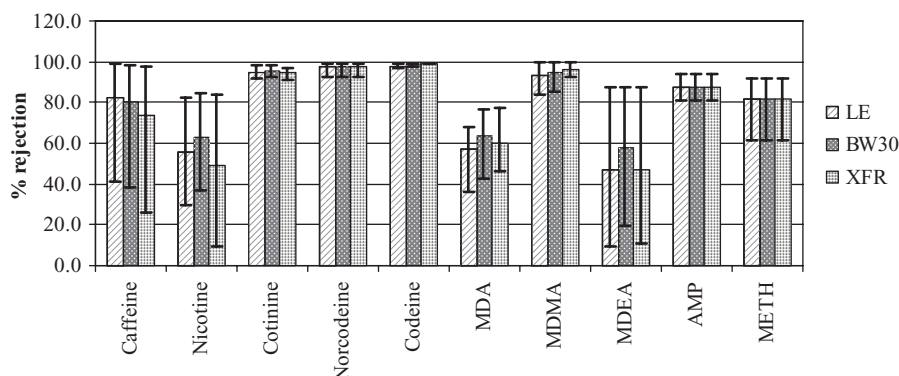


Fig. 1. Rejection efficiencies (%) of drugs of abuse in wastewater by three RO membranes (n=6).

campaigns, with a marked increase in cotinine in August 2008. Significant elimination of cotinine occurs during conventional wastewater treatment. For instance, in the NE of Spain elimination values of between 70% and 99% has been reported [4], and similar efficiencies (90–99%) were achieved in Swiss WWTPs with cotinine concentration ranges in treated wastewater varying from ~10 to 600 ng/L [24].

Codeine and norcodeine were also found in all the six sampling campaigns. Concentrations in feed water ranged from 275 to 1200 ng/L for codeine and 8.3 to 71.2 ng/L for norcodeine. These values are higher than levels measured in a survey of 15 WWTPs in the same region with median values of 69 and 39 ng/L for codeine and 6 and 2.5 ng/L for norcodeine in influents and effluents, respectively [28]. The poor average elimination of codeine (~33%) in conventional WWTPs is explained by the cleavage of codeine conjugates to free codeine during wastewater treatment. Median codeine levels of 40, 54, 193 and 220 ng/L were also measured in WWTPs influents in eastern Spain, in Italy and in Germany [9,30,31], with elimination efficiencies ranging from 12% to 100%.

Amphetamine and methamphetamine were found in only two and three feed samples respectively at very low concentrations of up to 5.1 ng/L for AMP and 4.2 ng/L for METH. In contrast, the other three amphetamine type substances were regularly found in all feed samples with concentration values ranging from 3.3 to 28.4 ng/L for MDA and from 5.5 to 97 ng/L for MDMA. Ecstasy (MDEA) was present in almost all samples at very low concentrations with a maximum value of 1.1 ng/L. In general, the highest concentrations were found during the summer. Concentration levels of ATS in different wastewater influents and effluents have been reviewed recently [32], and amphetamine was the most prevalent, with concentrations of up to

5236 ng/L [33]. The average removal of ATS has been estimated to be in the range of 40–99% in WWTPs from NE Spain [4] and 57% in wastewaters located on the Ebro River (Spain) [34].

3.2. Reverse osmosis rejection efficiencies of drugs of abuse.

Concentrations of the studied compounds in the RO permeate samples during six sampling campaigns are summarized in Table 4. The rejection efficiency was calculated as shown below:

$$\text{Rejection} = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) * 100, \quad (1)$$

where C_p is the concentration in the permeate and C_f is the concentration in the feed.

When the concentrations of the studied compounds in the permeate samples were below the quantification limits (Table 4), rejection was calculated by considering permeate concentration as half the LOQ. Fig. 1 summarizes the rejection efficiencies of the target compounds by each membrane type (LE, BW30 and XFR). The rejection of the different compounds is discussed separately below, but some general trends were observed for all the compounds: (a) In general, the obtained rejection values are high, indicating that reverse osmosis is a suitable technology for removing drug contaminants from waste streams; (b) No major differences between the three membranes were observed, which is important since this implies that low energy membranes can be used for these compounds.

Mean rejection values in the range of 74–83% were found for caffeine in the three tested RO membranes with no apparent significant differences between them. Caffeine was eliminated by RO in four campaigns very well (mean 94%), but in March 09 and June 09

significantly lower rejections were obtained (55–70%). Rejection values for caffeine are in line with previously published values for BW30 membrane [35] and are better than those measured for cellulose acetate membrane SC-3100 (44%) and XLE (70%) [18], when measured in artificial solutions.

Nicotine was the only compound in which a significant rejection difference among the three membranes was observed. Mean nicotine rejection was 49%, 56% and 63% for XFR, LE and BW30, respectively. Moreover, a high variability between different samplings was observed, with rejections varying from 9% to 85%. The lowest rejections were obtained during the winter samplings (mean rejection 32% in February and March), whereas rejection improved significantly (55–85%) in summer campaigns. For cotinine, a very high rejection (~95%) was obtained in all campaigns and for the different membranes tested. These eliminations are similar to, or even better than those measured in conventional wastewater treatments [4,24].

Codeine and norcodeine were not usually detected in the studied permeate samples, even when they were present at high concentrations in the RO inlet water (Table 4), indicating a very high elimination percentage by RO membranes (>98%) for both compounds and all tested membranes during the six campaigns. These rejection values are significantly better than the elimination percentages published in the literature, which ranged from 12% to 100% [9,28,30,31].

The elimination percentages of amphetamine type compounds are shown in Fig. 1. The best results were found for MDMA, for which the rejection efficiency was from 93% to 96% without showing any difference between the observed rejection and the membrane type or season. These values compare favorably with elimination ranges of MDMA in WWTPs in the same region, which ranged from 50% to 99% [4]. In contrast, MDA and MDEA showed lower rejection values. For MDA, rejection was around 57–63% for the six campaigns with no apparent difference between membranes. As the concentration levels in the feed were generally very low (≤ 1.1 ng/l), the rejection values for MDEA can only be roughly estimated (47–57%). Moreover, large variations of between 9% and 88% in rejection values measured in the six campaigns were observed, since low concentrations close to the LOQ affect the accuracy of the results. Methamphetamine (METH) was present in the three feed waters at low concentrations and was not detected in any of the tested permeate samples. AMP was only present in two feeds (February 09 and July 09) but, as with METH, was not detected in any of the tested permeate samples. For both compounds, relatively high rejection efficiencies (80–85%) were calculated.

3.3. Relationship between rejection and physical/chemical properties of target compounds.

Several factors can affect the solute rejection of a RO membrane. The three most important ones are the membrane properties (separation layer, pore size, topology, membrane surface charge, hydrophilicity), the characteristics of the feed water (chemical composition, concentration, pH, charge, molecular size, polarity and salt diffusivity) and operation conditions (temperature, pressure, recovery and flux). In practice, rejection always depends on all these factors. Whereas the rejection of inorganic ions can be well modeled and simulated with commercial simulation programs, the rejection of organic compounds is more difficult to model. Membrane manufacturers often use stabilized salt rejection to predict solute passage, but this cannot be directly related to rejection of organic molecules. Kimura et al. concluded in their research that salt passage could only be used as a rough estimation [18].

For organic molecules, especially uncharged compounds, the characteristic term most commonly used is their molecular weight, which can be related to transport through the membrane if it is assumed that this is mainly due to size exclusion. In our case, the molecular weight cut off (MWCO) of the tested membranes was approximately 100. Although all studied compounds in this study are larger than 100, rejection efficiencies higher than 90% were only observed for caffeine, cotinine, norcodeine, codeine and MDMA. Moreover, no relationship between mean rejection values and the three membranes or the molecular weight of the compounds, as previously observed by other authors, was obtained [18,36], indicating that other compound characteristics are more significant. Some researchers have used the polarity of the organic compounds to predict rejection [16,18], assuming that when hydrophobicity ($\log K_{ow}$) increases, rejection also increases [37]. In our case, no significant correlation between them was observed.

It should be borne in mind that some of these compounds are ionized at the working pH (7.1–7.4). For charged compounds, the electrostatic and repulsive forces between the compound and the membrane surface must be considered, since these are the decisive factor affecting rejection. Therefore, all the properties mentioned above must be taken into account in order to explain the rejection of the compounds by RO membranes. In this context, Verliefe et al. [16] proposed eight categories to qualitatively predict the rejection of organic pollutants based on a scheme previously proposed by Bellona et al. [14] but using hydrophobicity as the primary solute parameter and also including molecular weight (MW) and pK_a values. According to

this scheme, caffeine, norcodeine, codeine, amphetamine and MDA belong to category 2 ($\log K_{ow} < 2$; $MW > MWCO$; $pK_a > pH$), which comprises compounds with a steric hindrance effect as the rejection mechanism and a qualitative rejection prediction ranging from moderate to high. The obtained rejection values from ($\sim 60\%$) for MDA to 98% (norcodeine and codeine) agreed with the qualitative prediction. The group of compounds, MDMA, MDEA and METH belongs to category 4 ($\log K_{ow} > 2$; $MW > MWCO$; $pK_a > pH$) for which hydrophobic interactions are the main rejection mechanisms, providing moderate qualitative rejection prediction values. The obtained values ranged from 47% (MDEA) to 93% (MDMA). The last group of compounds, formed by nicotine and cotinine ($\log K_{ow} < 2$; $MW > MWCO$; $pK_a < pH$), belongs to category 6. For this group of compounds, charge repulsion is the main rejection mechanism and a high qualitative rejection is predicted. The value obtained for cotinine ($\sim 95\%$ rejection) is in agreement with this prediction, although for nicotine a low rejection value was obtained ($\sim 55\%$). Nevertheless the qualitative predictions obtained using this approach are roughly in agreement with the observed values for the compounds studied.

4. Conclusions

This paper presents the results obtained from the study of RO membrane efficacy in removal of selected drugs and their metabolites, including caffeine, nicotine, cotinine, codeine, norcodeine and amphetamine type compounds such as amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDEA) from secondary treated wastewater.

The results show that RO membranes can significantly reduce the amount of the target compounds in the effluent water. The rejection values were as follows: 74–83% (caffeine), 49–63% (nicotine), 94–96% (cotinine), 98–99% (codeine), 98% (norcodeine), 81% (METH), 57–64% (MDA), 93–95% (MDMA) and 47–58% (MDEA). It has been shown that by taking certain physical and chemical properties into account, such as hydrophobicity, size and pK_a values, the removal of organic compounds by RO can be roughly estimated using the models generated with laboratory studies.

The three evaluated membranes (LE, BW30 and XFR) provided similar removal efficiencies, supporting the use of the low energy RO membrane for the elimination of drugs of abuse by reverse osmosis with the advantage of making the operation of a RO plant less energy intensive. By incorporating a reverse osmosis

unit into existing municipal waste water treatment facilities, the exposure of firstly, nature and secondly, humans to drugs of abuse can be minimized.

Notes

1. FILMTEC™ is a trademark of Filmtec.
2. The use of FILMTEC™ membranes for municipal applications is dependent upon local regulations.

Acknowledgements

This study was carried out within the framework of the SOSTAQUA project, led by AGBAR, aimed at developing technologies promoting sustainability of urban water cycle. The authors would like to acknowledge the support and funding received from the Spanish Government through the CDTI (Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial) under the INGENIO 2010 program, and the Ministerio de Ciencia y Tecnología (CTM2006-00753/TECNO). This study was also partially financed by R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of joint research, development and innovation projects carried out by the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR Group, Northumbrian Water and Suez Environment. The authors would also like to acknowledge the staff at Sorea (member of AGBAR group) WWTP for their contribution to the practical execution of the study as well as ACA (Agencia Catalana de l'Aigua) for authorizing the pilot plant installation at their premises.

References

- [1] S. Castiglioni, E. Zuccato, E. Crisci, C. Chiabrando, P. Grassi and R. Fanelli, *Anal. Chem.*, 78 (2006) 8421–8429.
- [2] J. Bones, K.V. Thomas and P. Brett, *J. Environ. Monitor.*, 9 (2007) 701–707.
- [3] M.R. Boleda, M.T. Galceran and F. Ventura, *J. Chromatogr. A*, 1175 (2007) 38–48.
- [4] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran, J. Martin and F. Ventura, *Sci. Total Environ.*, 397 (2008) 31–40.
- [5] A. Gheorghe, A. van Nuijs, B. Pecceu, L. Bervoets, P.G. Jorens and R. Blust, *Anal. Bioanal. Chem.*, 391 (2008) 1309–1319.
- [6] A.L.N. van Nuijs, L. Theunis, N. Dubois, C. Charlier, P.G. Jorens and L. Bervoets, *L. Env. Pollut.*, 157 (2009) 123–129.
- [7] T.L. Jones, D.A. Alvarez, J.D. Petty and J.N. Huckins, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 47 (2004) 427–439.
- [8] E. Zuccato, C. Chiabrando, S. Castiglioni, D. Calamari, R. Bagnati, S. Schiarea and R. Fanelli, *Env. Health: A Global Access Science Source* 4 (2005) 1–7.
- [9] D. Hummel, D. Loeffler, G. Fink and T.A. Ternes, *Environ. Sci. Technol.*, 40 (2006) 7321–7328.
- [10] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale and A.J. Guwy, *Water Res.*, 42 (2008) 3498–3518.
- [11] E. Zuccato, S. Castiglioni, R. Bagnati, C. Chiabrando, P. Grassi and R. Fanelli, *Water Res.*, 42 (2008) 961–968.
- [12] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran, J. Martin, F. Ventura, *Environ. Sci. Technol.*, 42 (2008) 6809–6816.

- [13] T. Heberer, D. Feldmann, K. Redderson, H-J. Altmann and T. Zimmermann, *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 30 (2002) 24–33.
- [14] C. Bellona, J.E. Drewes, P. Xu and G. Amy, *Water Res.*, 38 (2004) 2795–2809.
- [15] Y. Yoon, P. Westerhoff, S. Snyder and E.C. Wert, *J. Membr. Sci.*, 270 (2006) 88–100.
- [16] A. Verliefde, E. Cornelissen, G. Amy, B. Van der Bruggen and H. Van Dijk, *Environ. Pollut.*, 146 (2007) 281–289.
- [17] V. Yangali-Quintanilla, A. Sadmani, M. McConville, M. Kennedy and G. Amy, *Water Res.*, 43 (2009) 2349–2362.
- [18] K. Kimura, S. Toshima, G. Amy and Y. Watanabe, *J. Membr. Sci.*, 245 (2004) 71–78.
- [19] S.A. Snyder, S. Adham, A.M. Redding, F.S. Cannon, J. DeCarolis, J. Oppenheimer, E.C. Wert and Y. Yoon, *Desalination*, 202 (2007) 156–181.
- [20] J. Radjenovic, M. Petrovic, F. Ventura and D. Barceló, *Water Res.*, 42 (2008) 3601–3610.
- [21] U.S. Department of Health and Human Services, The National Institute on Drug Abuse (NIDA), <http://drugabuse.gov/Drug-Pages/DrugsofAbuse.html>, April 2nd 2009.
- [22] I. Buerge, T. Poiger, M.D. Muller and H.R. Buser, *Environ. Sci. Technol.*, 37 (2003) 691–700.
- [23] J. Hukkanen, P. Jacob and N.L. Benowitz, *Pharmacol Rev.*, 57 (2005) 79–115.
- [24] I. Buerge, M. Kahle, H.R. Buser, M.D. Muller and T. Poiger, *Environ. Sci. Technol.*, 42 (2008) 6354–6360.
- [25] R.C. Baselt, In “Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man”. 7th Ed. (2004) Biomed. Publ., Foster City, CA, USA.
- [26] M. Huerta-Fontela, M.T. Galceran and F. Ventura, *Anal. Chem.*, 79 (2007) 3821–3829.
- [27] Commission of the European Communities, *Off. J. Eur. Communities* (2002) L221, 8–36.
- [28] M.R. Boleda, M.T. Galceran, F. Ventura, *Water Res.*, 43 (2009) 1126–1136.
- [29] P.M. Thomas and G.D. Foster, *Environ. Contam. Toxicol.*, 24 (2005) 25–30.
- [30] C. Postigo, M.J. López de Alda and D. Barceló, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 3123–3134.
- [31] S. Castiglioni, E. Zuccato, E. Crisci, C. Chiabrando, R. Fanelli and R. Bagnati, *Anal. Chem.*, 78 (2006) 8421–8429.
- [32] E. Zuccato and S. Castiglioni, *Phil. Trans. R. Soc.*, 367 (2009) 3965–3978.
- [33] B. Kasprzyk-Hordern, R.M. Dinsdale and A.J. Guwy, *Anal. Bional. Chem.*, 391 (2008) 1293–1308.
- [34] C. Postigo, M.J. López de Alda and D. Barceló, *Environ. Internat.*, 36 (2010) 75–84.
- [35] FILMTEC™ Membranes Tech Fact: Estimated Percent Rejection of Various Solutes by FILMTEC membranes, www.filmtec.com.
- [36] K. Kimura, G. Amy, J. E. Drenes, T. Heberer, T-U Kim and Y. Watanabe, *J. Membr. Sci.*, 227 (2003) 113–121.
- [37] Y. Kiso, T. Kon, T. Kitao and K. Nishimura, *J. Membr. Sci.*, 182 (2001) 205–214.

3.2.3. Article científic:

**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.**

M^a Rosa Boleda^a, M^a Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^a

^aAGBAR-Aigües de Barcelona. Gral. Batet 5-7. 08028, Barcelona, Spain

^bUniversity of Barcelona, Analytical Chemistry Department. Av. Diagonal 647. 08028
Barcelona, Spain

Desalination and Water Treatment 2010, 21: 122-130.



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envpol

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

M^a Rosa Boleda^a, M^a Teresa Galceran^b, Francesc Ventura^{a,*}

^aAGBAR-Aigües de Barcelona, Gral Batet 5-7, 08028 Barcelona, Spain

^bUniversity of Barcelona, Department Analytical Chemistry, Av. Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

The efficiency of potabilization processes to eliminate or transform pharmaceuticals and illicit drugs is evaluated.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 October 2010

Received in revised form

15 February 2011

Accepted 27 February 2011

Keywords:

Pharmaceuticals

Illicit drugs

Reverse osmosis

Rejection

Drinking water treatment plant

ABSTRACT

The behavior along the potabilization process of 29 pharmaceuticals and 12 drugs of abuse identified from a total of 81 compounds at the intake of a drinking water treatment plant (DWTP) has been studied. The DWTP has a common treatment consisting of dioxychlorination, coagulation/flocculation and sand filtration and then water is splitted in two parallel treatment lines: conventional (ozonation and carbon filtration) and advanced (ultrafiltration and reverse osmosis) to be further blended, chlorinated and distributed. Full removals were reached for most of the compounds. Iopromide (up to 17.2 ng/L), nicotine (13.7 ng/L), benzoylecgonine (1.9 ng/L), cotinine (3.6 ng/L), acetaminophen (15.6 ng/L), erythromycin (2.0 ng/L) and caffeine (6.0 ng/L) with elimination efficiencies $\geq 94\%$, were the sole compounds found in the treated water. The advanced treatment process showed a slightly better efficiency than the conventional treatment to eliminate pharmaceuticals and drugs of abuse.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The presence of pharmaceuticals, one of the most studied group of emerging contaminants, and drugs of abuse, a novel group, has been widely reported in the aquatic environment at the low ng/L to the $\mu\text{g/L}$ range (Ternes et al., 2002; Mompelat et al., 2009; Zuccato and Castiglioni, 2009; Monteiro and Boxall, 2010; Daughton, 2011). These compounds and their metabolites enter in wastewater treatment plants (WWTPs) where some of them may not be completely eliminated or transformed during wastewater treatment process leading them to surface waters. Domestic, industrial or hospital effluents are the main contributors to the presence of these emerging compounds in surface waters. Recently a common priority list of 44 pharmaceuticals relevant for the water cycle has been developed based on consumption, physicochemical properties, toxicity, occurrence, persistence and resistance to treatment (de Voogt et al., 2009).

Compared to the wide number of reports on the occurrence and removal of pharmaceuticals and drugs of abuse in WWTPs and surface waters, their occurrence in tap water has been sparsely

studied. The presence of clofibric acid (Heberer and Stan, 1996), X-ray contrast media (Bruchet et al., 2005; Seitz et al., 2006b), antibiotics (Ye et al., 2007) and different therapeutic groups of pharmaceuticals (Ternes et al., 2002; Stackelberg et al., 2004; Togola and Budzinski, 2008; Benotti et al., 2009) in drinking water has been reported. Recently, an overview of pharmaceuticals detected in worldwide tap water has been published (Mompelat et al., 2009) where it is indicated that non-steroidal anti-inflammatory drugs and in a slight lesser extent anticonvulsants and X-ray contrast media are the main detected pharmaceuticals. Water companies devote time and effort to guarantee the best quality of drinking water. Although these emerging compounds are usually present in surface waters at trace levels, the long-term risk seems to be negligible and although are not still regulated, it is of paramount importance to know if the treatments applied in DWTPs are able to eliminate them and also to provide treatment alternatives for those compounds refractory to elimination. It has been already proved that some pharmaceuticals react with oxidants commonly used in potabilization process. Thus, oxidation of several groups of pharmaceuticals with chlorine dioxide (Huber et al., 2005a), ozonation (Ikehata et al., 2006; Giri et al., 2010) or chlorination (Gibs et al., 2007) have been reported. However, very few reports on the behavior of pharmaceuticals (Ternes et al., 2002; Stackelberg et al., 2004; Westerhoff et al., 2005; Hua et al., 2006) or drugs of

* Corresponding author.

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

abuse (Huerta-Fontela et al., 2008, 2011; Boleda et al., 2009) during conventional drinking water treatment processes have been published. As regards to advanced treatment processes, only the elimination of drugs of abuse in a WWTP employing reverse osmosis (RO) (Boleda et al., 2010a) and the removal of pharmaceuticals in a small DWTP employing nanofiltration and RO have been evaluated (Radjenovic et al., 2008).

In view of this scarce data, the aim of this work is to study and compare the performance of conventional and advanced drinking water treatments to remove different therapeutical classes of pharmaceuticals (anti-inflammatory, antibiotic, antilipidemic, antiacid, X-ray contrast media, barbiturates, antibacterial/antimicrobial and phosphodiesterase V inhibitors) and drugs of abuse (non-controlled, amphetamines, cocaine, opiates, cannabinoids and miscellaneous). For the present study those compounds positively identified at the intake of a DWTP which combines both potabilization processes were considered.

2. Materials and methods

2.1. Studied compounds

The individual compounds included in this study, their metabolites and some of their chemical characteristics are given in Table S1 (see Supporting Information section, SI).

Individual standard solutions of each drug of abuse, pharmaceuticals and available deuterated analogs (see Table S1) were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA); LGC Standards (Middlesex, UK) or Toronto Research Chemicals (North York, Canada). Deuterated standards (1 mg/mL in methanol) were used. Isotope dilution was used for quantitation of drugs of abuse but norcocaine, norbenzoyllecgonine, normorphine and norcodeine were quantified as their parent compound equivalents. All working solutions were prepared twice a month and stored at -20°C .

Analytical grade ammonium acetate, ammonium formate and formic acid were obtained from Sigma–Aldrich (MO, USA). LC–MS grade acetonitrile, methanol and water were obtained from Merck (Darmstadt, Germany).

2.2. Drinking water treatment plant

The study was carried out in a drinking water treatment plant (DWTP) located in NE, Spain that treats about $5\text{ m}^3/\text{sec}$ of water from the Llobregat River and supplies a population above one million people. The raw water quality is affected by salt mine exploitations located in the upper course of the river and intense industrial and agricultural activities along the river. The potabilization process is displayed in Fig. 1 and consists of dichlorination, coagulation, flocculation, settling, sand filtration and groundwater dilution to improve raw water quality. Then, the water is splitted in two parallel treatment lines following: a) conventional treatment ($\sim 70\%$): ozonation and granular activated carbon (GAC) filtration (20 filters F-400 type, 150 m^3 each, Chemviron, USA) and b) advanced treatment ($\sim 30\%$): ultrafiltration (UF) followed by ultraviolet disinfection (UV), reverse osmosis (RO) with $\sim 11,000$ membranes Filmtec LE440i (Dow Chemical, USA) and remineralization with calcite. The GAC filtered water from the conventional treatment and the permeated one are then blended, subjected to a final postchlorination and distributed.

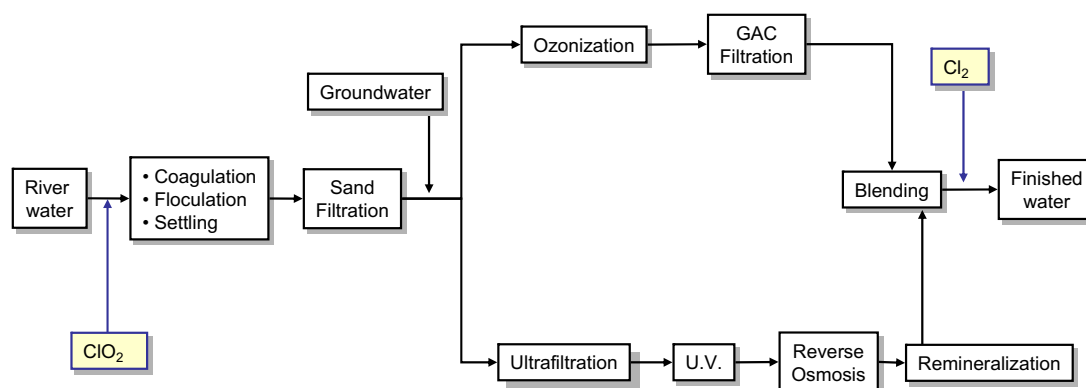


Fig. 1. Treatment scheme in the DWTP studied.

Grab samples from each treatment step were collected in 1 L amber glass bottles containing sodium thiosulfate taking into account the hydraulic retention time (HRT) to assess the efficiency of each step. Samples were collected daily during five consecutive days; kept refrigerated and analyzed within 48 h.

2.3. Analytical methodology

2.3.1. Drugs of abuse

The target compounds were analyzed following a previously published method (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008) based on solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UPLC/MS/MS). Briefly, 100 mL of water spiked with deuterated standards (100 ng/L) was enriched by SPE on Oasis-HLB cartridges (Waters, Milford, USA). Cartridges were washed with 5% methanol aqueous solution, dried with nitrogen and eluted using methanol.

2.3.2. Pharmaceuticals

A similar analytical procedure was used. Briefly, 200 mL of water samples (enriched with 1% methanol) were passed through Oasis-HLB. Cartridges were then washed with methanol, dried with nitrogen, eluted with methanol, evaporated to dryness and reconstituted in methanol:water (20:80). The organic extracts (500 μL) were spiked with 10 μL of a mixed deuterated solution (10 ng/ μL) as internal standards. The final extract was filtered through 0.2 μm before injection to the LC–MS/MS system (Boleda et al., 2010b). Quality parameters of the analytical method are given in the SI section.

Compounds were analyzed by UPLC–MS/MS using an Acquity BEH C_{18} column (100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm). Solvent A: acetonitrile/MeOH (2:1) and solvent B: 5 mM ammonium acetate with 0.01% acetic acid (pH 5.2) were employed as mobile phase for the analysis of compounds by ESI(+). For those chemicals analyzed in the negative mode the mobile phase was: A: methanol and B: 5 mM ammonium acetate with 0.01% acetic acid (pH 5.2). The UPLC was coupled to a Quattro Micro triple quadrupole mass spectrometer (Waters). Acquisition was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode. Two transitions per compound as required by the 2002/657EC decision (2002) were employed for drugs of abuse as proposed in previous papers (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008). For pharmaceuticals, the transitions used for quantification and confirmation are shown in the SI section (see Table S3). LOQs of the methods are displayed in Table S1.

3. Results and discussion

3.1. Occurrence of pharmaceuticals and drugs of abuse at the intake of the DWTP

Raw water was collected in November 2009 at the intake of the DWTP facility and showed the occurrence of some illicit drugs and pharmaceuticals. In the present monitoring campaign, 16 out of 29 drugs of abuse and 26 out of 52 pharmaceuticals (see Table 1 footnote) were not found above their LOQ at the entrance of the DWTP.

The presence and seasonal variations of several drugs of abuse in the Llobregat river have been reported (Boleda et al., 2007; Huerta-Fontela et al., 2008). Among the non-controlled drugs of abuse studied here, caffeine, nicotine and cotinine were the most abundant compounds at the entrance of the DWTP. Concentration

Table 1
Behavior of target pharmaceuticals and drugs of abuse in a DWTP using conventional and advanced potabilization processes (November 2009).

Name ^b	Raw water Conc. range ng/L (%CV)	Conventional treatment				Advanced treatment				Blending Conc. range ng/L	
		Conc. range ng/L	Conc. range ng/L	Conc. range ng/L	Conc. range ng/L	%Elimin. ^a	Ultrafiltration Conc. range ng/L	Reverse osmosis Conc. range ng/L	Remineralization Conc. range ng/L		% Elimin. Advanced treatment (raw water to blending)
<i>Drugs of abuse</i>											
Benzoylcegonine	14.6–20.1 (12)	12.7–20.9	2.1–9.0	0.3–1.9	96 ± 5	12.1–14.3	<LOD–0.9	–	99 ± 0.7	<LOD–1.5	
Caffeine	291–526 (24)	255–378	10.7–81.5	<LOD–27.7	97 ± 4	254–350	<LOQ–28.4	<LOD–9.5	>99	<LOD–6.0	
Cocaine	0.4–1.6 (44)	0.4–2.6	<LOQ–0.1	–	99 ± 0.7	0.8–1.4	–	–	>99	–	
Codeine	29.9–43.9 (15)	5.0–16.0	–	–	>99	2.2–12.3	–	–	>99	–	
Cotinine	32.1–37.2 (7)	31.3–37.9	17.5–24.1	4.9–6.4	94 ± 3	31.8–41.9	–	–	99 ± 0.3	1.7–3.6	
EDDP	7.2–11.8 (21)	6.9–10.5	1.0–2.2	–	>99	8.2–13.5	–	–	>99	–	
Ketamine	1.6–3.3 (28)	1.6–3.0	–	–	92 ± 3	<LOQ–2.8	–	–	98 ± 0.4	–	
MDMA	0.4–1.3 (57)	–	–	–	96 ± 2	–	–	–	99 ± 0.7	–	
Methadone	1.7–3.0 (24)	0.4–0.5	–	–	99 ± 0.2	0.3–0.5	–	–	>99	–	
Nicotine	21.2–29.7 (15)	5.5–15.5	2.6–10.2	2.5–9.2	79 ± 13	5.2–8.6	1.5–5.3	<LOD–6.3	94 ± 7	3.6–5.0	
Norbenzoylcegonine	<LOD–0.7 (156)	–	–	–	96 ± 3	–	–	–	99 ± 0.5	–	
Norcodeine	3.1–6.0 (28)	11.9–29.8	–	–	89 ± 9	14.2–30.5	–	–	97 ± 4	–	
<i>Pharmaceuticals</i>											
Acetaminophen	163–260 (22)	140–232	42.8–82.0	10.7–22.0	96 ± 2	147–230	1.6–12.8	1.3–3.8	99 ± 1	3.4–15.6	
Azithromycin	8.0–17.6 (29)	<LOD–1.9	–	–	99 ± 0.4	<LOD–1.6	–	–	99 ± 0.1	–	
Bezafibrate	26.7–78.4 (52)	9.7–68.7	<LOD–21.8	–	98 ± 0.8	14.8–48.2	–	–	>99	–	
Chlorhexidine	46.1–78.1 (21)	<LOD–1.8	–	–	>99	–	–	–	>99	–	
Clarithromycin	40.1–54.4 (12)	1.3–6.5	–	–	>99	1.6–6.9	–	–	>99	–	
Clofibric ac.	11.5–20.0 (24)	<LOD–14.3	–	–	87 ± 3	<LOD–12.7	–	–	97 ± 2	–	
Diatrizoic acid	<LOD–58.8 (111)	–	–	–	90 ± 12	–	–	–	89 ± 13	–	
Diclofenac	175–292 (24)	<LOD–3.3	–	–	99 ± 0.2	–	–	–	>99	–	
Erythromycin	21.4–33.0 (17)	3.6–4.8	1.3–2.0	0.8–1.4	95 ± 1	3.1–4.0	1.0–2.0	1.1–2.0	99 ± 1	1.3–2.0	
Gemfibrozil	187–326 (22)	170–306	7.2–15.6	–	>99	151–255	–	–	>99	–	
Ibuprofen	81.4–230 (44)	70.9–216	28.3–58.2	–	98 ± 0.9	78.8–202	–	–	>99	–	
Iohexol	<LOD–71.4 (124)	–	–	–	94 ± 2	–	–	–	88 ± 11	–	
Iopromide	74.4–505 (67)	60.9–454	49.7–248	<LOD–24.0	95 ± 3	87.2–417	<LOD–17.1	<LOQ	99 ± 0.4	<LOD–17.2	
Lincomycin	13.4–17.9 (14)	–	–	–	99 ± 0.1	–	–	–	>99	–	
Naproxen	99.0–152 (16)	49.6–91.6	–	–	99 ± 0.2	34.5–90.5	–	–	>99	–	
OH-omeprazole	11.8–59.5 (50)	<LOD–36.0	–	–	97 ± 2	<LOD–18.3	–	–	99 ± 0.3	–	
Omeprazole	<LOD–1.6 (77)	<LOD–0.4	–	–	93 ± 4	<LOD–0.4	–	–	95 ± 6	–	
Phenobarbital	25.6–29.7 (7)	<LOD–25.1	–	–	96 ± 0.5	<LOD–14.3	–	–	99 ± 0.4	–	
Pravastatin	<LOD–40.4 (71)	–	–	–	91 ± 0.8	–	–	–	91 ± 11	–	
Ranitidine	1.8–4.9 (44)	–	–	–	95 ± 2	–	–	–	99 ± 0.2	–	
Salicylic ac.	<LOD–31.8 (86)	–	–	–	84 ± 0.1	–	–	–	85 ± 9	–	
Sildenafil	<LOD–2.4 (48)	<LOD–1.3	–	–	90 ± 9	<LOD–1.2	–	–	98 ± 2	–	
Simvastatin	<LOD–7.5 (62)	–	–	–	>99	–	–	–	97 ± 5	–	
Sulfadimetoxine	<LOD–8.3 (166)	–	–	–	97 ± 2	–	–	–	91 ± 7	–	
Sulfamethazine	<LOD–113 (192)	<LOD–2.5	–	–	99 ± 1	<LOD–1.47	–	–	91 ± 12	–	
Sulfamethoxazole	57.7–149 (45)	<LOD–7.0	–	–	>99	<LOD–2.80	–	–	>99	–	
Trimethoprim	9.5–22.8 (41)	5.3–12.5	–	–	99 ± 0.2	5.57–13.0	–	–	>99	–	
Tylosin	0.5–1.6 (45)	–	–	–	94 ± 3	–	–	–	99 ± 0.8	–	

“–” means <LOD.

^a Elimination percentage for each treatment calculated from samples with concentrations higher than LOQ ± relative standard deviation. For outflows below the limit of detection, the LOD/2 value was used for comparison to the corresponding influent concentration.

^b The following compounds were absent at the DWTP intake: *Drugs of abuse*: 6-acetyl morphine; Amphetamine; Cocaethylene; Fentanyl; Heroin; LSD; MDA; MDEA; Methamphetamine; Morphine; Morphine-3β-glucuronide; Norcocaine; Normorphine; PCP; THC; THC–COOH and THC–OH. *Pharmaceuticals*: Amobarbital; Amoxicillin; Butalbital; Carbadox; Cimetidine; des-methyl Omeprazole; des-methyl Sildenafil; Famotidine; Fenofibrate; Fenopropfen; Hexobarbital; Indomethacin; Ketoprofen; Lansoprazole; Mefenamic acid; Mevastatin, Miconazole; Olaquinox; Oxytetracycline; Pentobarbital; Prednisone; Roxithromycin; Secobarbital; Triclosan.

ranges of 291 ng/L–526 ng/L (caffeine); 21.2 ng/L–29.7 ng/L (nicotine) and 32.1 ng/L–37.2 ng/L (cotinine) were measured. These values are lower than those previously reported (Huerta-Fontela et al., 2008) which reflects the high variability of rivers having a torrential regime. However, the values measured are in agreement with those found in the literature. For instance, an average value of 963 ng/L for caffeine in a wide survey of over 100 European rivers has been reported (Loos et al., 2009). From the amphetamine-type stimulants group, only MDMA was identified in raw waters at levels ranging from 0.4 to 1.3 ng/L whereas the concentrations of opioids ranged from 29.9 ng/L to 43.9 ng/L (codeine) and 3.1 ng/L to 6.0 ng/L (norcodeine) in line with previous results for these compounds in the same river (Boleda et al., 2007; Huerta-

Fontela et al., 2008) and similar to other European rivers (Zuccato et al., 2008). Among the synthetic opiates, both methadone and its metabolite EDDP could be identified with levels up to 3.0 ng/L and 11.8 ng/L, respectively. Cocaine (0.44–1.58 ng/L) and its metabolites benzoylcegonine (14.6–20.1 ng/L) and norbenzoylcegonine (3.1 ng/L–6.0 ng/L) were the main identified compounds from the cocainics group at similar concentration ranges found in European rivers (Zuccato and Castiglioni, 2009; van Nuijs et al., 2009) with maximum values found in Belgium, 115 ng/L (cocaine) and 520 ng/L (benzoylcegonine) (van Nuijs et al., 2009). Ketamine, which is used both medicinally and recreationally was found in all samples at concentrations up to 3.3 ng/L far below than the 50 ng/L median values found in Taiwanese rivers (Lin et al., 2010).

The non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are currently found in surface waters (Kolpin et al., 2002; Tixier et al., 2001; Mompelat et al., 2009; Kasprzyk-Hordern et al., 2009b). Among them, acetaminophen has been proposed as raw wastewater indicator (Benotti and Bronawell, 2007) whereas ibuprofen, naproxen, ketoprofen and fenoprofen can be considered as labile tracers since they are removed from the environment as a result of microbial degradation (Nakada et al., 2008). NSAIDs were the most abundant drugs at the intake of the DWTP and their presence (i.e. diclofenac, naproxen and ibuprofen) in the Llobregat River basin has already been reported (Kuster et al., 2008; Ginebreda et al., 2010). Diclofenac, acetaminophen, ibuprofen, naproxen and salicylic acid at concentrations up to 292 ng/L; 260 ng/L; 230 ng/L; 152 ng/L and 31.8 ng/L, respectively were the most abundant. These values are in the high range of concentrations reported in the literature for European rivers (Loos et al., 2009) although levels up to 15 µg/L for diclofenac have been found in Germany (Jux et al., 2002).

Antibiotics are usually found in surface waters (Kolpin et al., 2002; Bruchet et al., 2005; Kümmerer, 2009a,b; Watkinson et al., 2009; Mompelat et al., 2009; Kasprzyk-Hordern et al., 2009a). In our case, nine out of 15 antibiotics were identified being sulfonamides (i.e. sulfamethoxazole, sulfamethazine) and macrolides (i.e. erythromycin and clarithromycin) the most abundant with levels ranging from 113 ng/L to 149 ng/L for the former group, and 33.0 ng/L–54 ng/L for the latter. An average value of 76 ng/L for sulfamethoxazole in European rivers has been measured (Loos et al., 2009). The presence of several sulfonamides (mainly sulfamethoxazole, sulfamethazine and sulfapyridine) in the Llobregat river basin has also been reported recently with concentrations for the above mentioned compounds ranging from low ng/L to few µg/L in river water samples collected near the mouth (García-Galan et al., 2010). Tylosin, a macrolide antibiotic and trimethoprim a bacteriostatic antibiotic which is usually combined with sulfamethoxazole, were also identified with maximum concentrations of 1.6 ng/L and 22.8 ng/L, respectively. Trimethoprim has been frequently detected in surface waters in Europe, Canada and USA with a maximum measured concentration of 0.71 µg/L (Monteiro and Boxall, 2010).

Six compounds (bezafibrate, clofibrac acid, gemfibrozil, mevastatin, pravastatin and simvastatin) from the anti-cholesterol group were measured. The concentration levels of this therapeutical class in different environmental compartments have been reviewed (Hernando et al., 2007) showing a higher presence of the fibrate class compared to the statin group specially in surface waters (Miao and Metcalfe, 2003). The highest concentration levels at the intake of the DWTP corresponded to gemfibrozil (up to 326 ng/L) and bezafibrate (up to 78.4 ng/L) in line with the maximum concentrations of 790 ng/L reported for gemfibrozil in US (Kolpin et al., 2002) and in European rivers (970 ng/L) (Loos et al., 2009) and the average values (32 ng/L) for bezafibrate (Loos et al., 2009). Among statins, only simvastatin (up to 7.5 ng/L) and pravastatin (up to 40.4 ng/L) were identified in the raw water being these concentrations substantially higher than those found in the literature, 1 ng/L for pravastatin (Miao and Metcalfe, 2003) and 1.4 ng/L for atorvastatin and 1.0 ng/L for its metabolites *o*- and *p*-hydroxy atorvastatin in surface waters (Benotti et al., 2009).

Ranitidine (1.8 ng/L–4.9 ng/L), hydroxy-omeprazole (11.9 ng/L–59.5 ng/L) and omeprazole (up to 1.6 ng/L) were the three antiacids found at the intake of the DWTP. In previous reports about this class of compounds in the Llobregat river basin, ranitidine with a mean concentration value of 0.11 µg/L (Ginebreda et al., 2010) was detected while the other two compounds studied here were not considered. This family of compounds has also been found in surface water of over the world. For instance, cimetidine (up to 0.58 µg/L)

and ranitidine (0.01 µg/L), have been detected in USA surface water (Kolpin et al., 2002). Cimetidine has also been found in Korean surface waters reaching 281 ng/L (Choi et al., 2008) and in River Ely (UK) at 48 ng/L (Kasprzyk-Hordern et al., 2009a). Ranitidine was also measured in the Po river at a median level of 1.3 ng/L (Zuccato et al., 2005). On the other hand, omeprazole is sparsely found in surface water probably because it is labile and sensitive to light (della Greca et al., 2006) and the presence of unchanged drug in urine corresponded at a very low percentage (<0.1%) (Baselt, 2004).

The three X-ray contrast media monitored were also present at concentrations similar to those found in other surface waters (Bruchet et al., 2005; Seitz et al., 2006a; Pérez and Barceló, 2007; Putschew et al., 2000). Iopromide was the most abundant compound with levels up to 505 ng/L whereas significantly lower concentrations were found for diatrizoic and iohexol, maximum values of 58.8 ng/L and 71.4 ng/L, respectively.

Barbiturates are scarcely reported to occur in the aquatic environment although pentobarbital has been detected in groundwater (Eckel et al., 1993) and in a German river water (Peschka et al., 2006) where the maximum value was 5.4 µg/L. In this river, an average concentration of 0.53 µg/L for barbiturates was measured. Phenobarbital, a compound relatively widely used in Spain as antiepileptic and to treat insomnia (de la Fuente et al., 2007), was the sole compound out of the six studied that was found at the intake of the DWTP with levels in the range of 25.6 ng/L–29.7 ng/L.

Phosphodiesterase type V inhibitors such as sildenafil, the active ingredient of Viagra[®] and other related compounds have been recently determined in wastewater (Nieto et al., 2010). This compound was identified at the entrance of the DWTP at concentration levels up to 2.5 ng/L. This is the first time that sildenafil is determined in surface waters. Its plasma metabolite N-desmethylsildenafil was not identified in any sample and hydroxysildenafil, its main urinary metabolite (Strano-Rossi et al., 2010) was not included in this study.

3.2. Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in the DWTP

The role of DWTPs in the removal of pharmaceuticals and drugs of abuse was investigated. Removal rates were calculated by comparing concentrations of target compounds before and after each treatment step. When values of the outflow were below the limit of detection, the LOD/2 value was used for comparison with the corresponding influent concentration.

3.2.1. Drugs of abuse

The most abundant compounds at the entrance of the DWTP were the non-controlled ones, caffeine, nicotine and its metabolite cotinine. These compounds have also been found in tap waters worldwide (Stackelberg et al., 2004; Hua et al., 2006; Gibs et al., 2007; Viglino et al., 2008; Loos et al., 2007; Togola and Budzinski, 2008) indicating that probably they are not completely removed in drinking water systems. In our study, caffeine seems to be quite efficiently removed in both, the conventional potabilization (97%) and the advanced treatment (99%) yielding to a maximum concentration in the final water of 6 ng/L. It must be mentioned that this removal is slightly better than previous results (93%) obtained for this compound in this plant although in that case caffeine concentrations up to 5.5 µg/L (Huerta-Fontela et al., 2008) considerably higher than the values (291 ng/L–526 ng/L) measured in this study. The other two compounds cotinine and nicotine showed a different behavior. The first was eliminated in the conventional treatment after ozonation and further GAC filtration up to ~94%, elimination percentage that was even improved using the advanced process (99%). Its parent compound nicotine, survived both treatments although higher removal for advanced treatment

(94%) than for the conventional (79%) one was observed yielding to maximum concentration of 13.7 ng/L in the water after blending.

The behavior of the other drugs of abuse present in the water entering the DWTP when subjected to the first oxidation step and sand filtration was also studied. MDMA, the sole amphetamine-type substance identified in the raw water was eliminated (>99%) after dioxychlorination which is consistent with its high reactivity with primary and secondary amines. The two opioids, codeine and norcodeine, were not removed during the first oxidation step although the formation of chlorinated opium alkaloid derivatives through electrophilic aromatic substitution with chlorine has been reported (Casale et al., 2009). The different percentage reduction of both compounds in this step could be explained by N-demethylation of codeine to yield norcodeine as reported during wastewater treatment (Castiglioni et al., 2006; Boleda et al., 2009) although this behavior has not been described under potabilization processes. Methadone was removed up to 80% but its metabolite, EDDP is more persistent to the treatment (11% elimination) as already reported (Huerta-Fontela et al., 2008; Boleda et al., 2009). Regarding cocaine related compounds, different behaviors were found depending on the compounds and the concentration levels. For instance, norbenzoyllecgonine seems to be removed (>99%) during the first treatment step although its extremely low concentration in the raw water precludes any conclusion. Regarding cocaine and benzoyllecgonine, these compounds were poorly removed during dioxychlorination and sand filtration (5 and 11%, respectively) as has been previously reported (Huerta-Fontela et al., 2008).

In the conventional treatment, those drugs of abuse surviving the common oxidation step were fully removed either during the

ozonation process (i.e. codeine, norcodeine, ketamine, methadone) or after GAC filtration (cocaine, EDDP). Eliminations of 97% for EDDP and 93% for methadone in a DWTP have been reported (Boleda et al., 2009). In contrast, benzoyllecgonine survived the conventional treatment even after GAC filtration, where an average of 93% elimination was observed in agreement with previous studies (Huerta-Fontela et al., 2008). Fig. 2 summarizes the behavior of drugs of abuse in each step of the conventional treatment. In the advanced treatment, major elimination percentages were observed after RO whereas ultrafiltration and UV step seems not to be effective for a significant removal. Codeine, norcodeine, ketamine, methadone, EDDP and cocaine were removed after RO treatment (>99%) whereas benzoyllecgonine with a 97% elimination efficiency was further fully removed after the remineralization step with calcite.

These results showed that conventional drinking water treatment has been effective at removing 8 out of the 12 target drugs of abuse found in raw water. This number increased to 9 out of 12 compounds when using the UF/RO treatment which in addition seems to improve elimination percentages. Nicotine was the sole compound with an average removal <80% in the conventional process.

3.2.2. Pharmaceuticals

The three non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) – diclofenac, ibuprofen and naproxen – have been recently considered as high priority pharmaceuticals to be monitored in waters (de Voogt et al., 2009). Among them, diclofenac, naproxen and also acetaminophen have proved to react extensively with chlorine and ozone while ibuprofen reacts moderately (<60% and ~80%,

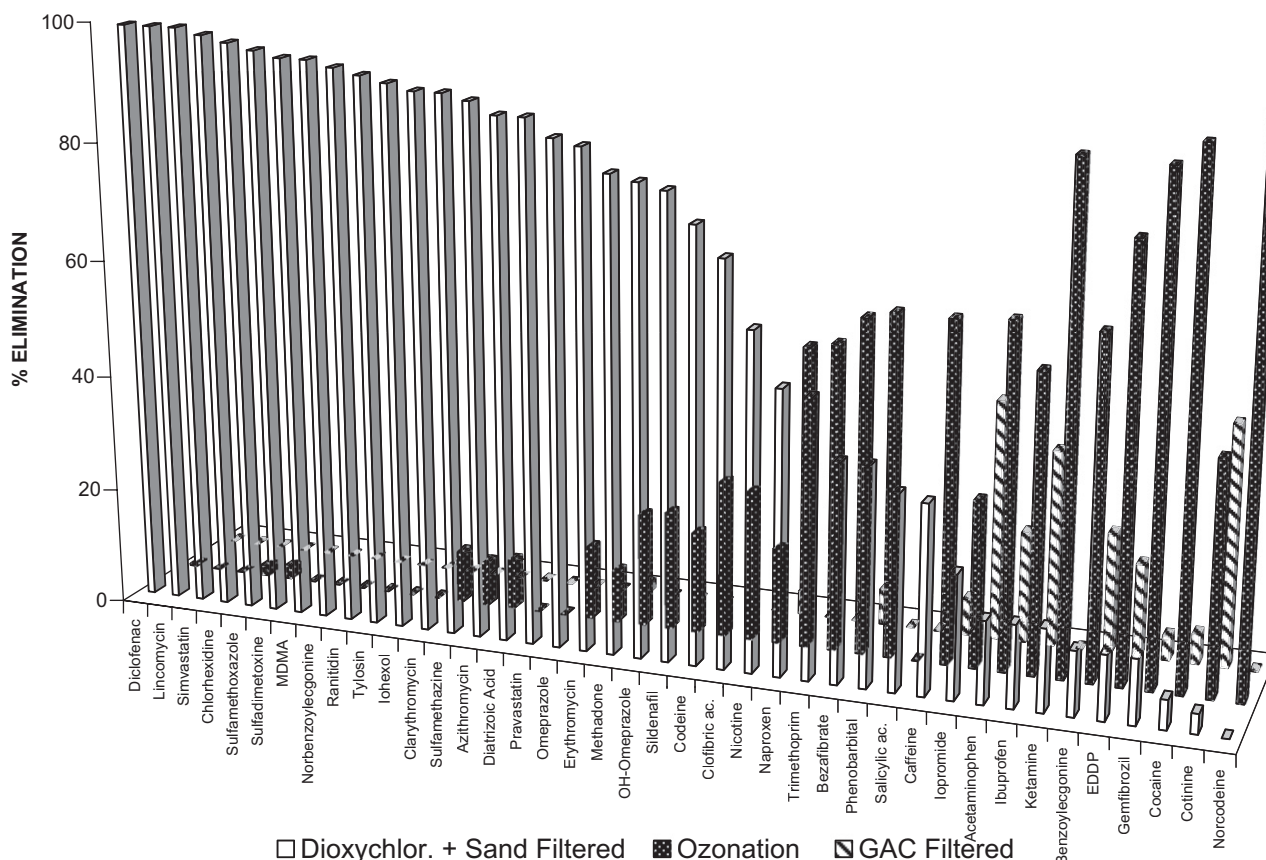


Fig. 2. Removal of pharmaceuticals and drugs of abuse along the conventional treatment.

respectively) (Westerhoff et al., 2005). On the other hand, it has been reported no reactivity with chlorine dioxide for ibuprofen, medium reactivity for naproxen, whereas diclofenac is readily oxidized (Huber et al., 2005a; von Gunten et al., 2006). The behavior of NSAIDs in the studied DWTP can be related to this reactivity since acetaminophen, ibuprofen and naproxen survived the first oxidation step with chlorine dioxide (14%, 14% and 48% removals, respectively) whereas diclofenac and salicylic acid were highly removed (>99%). These results are in agreement with the observed eliminations in model solutions (Huber et al., 2005a). In the conventional treatment line, acetaminophen, ibuprofen and naproxen were removed after ozonation with a varying efficiency (~68%, 59% and 99%) and only acetaminophen survived GAC filtration (69% removal) in agreement with reported values (72%) (Westerhoff et al., 2005). It has been reported that diclofenac and naproxen are efficiently removed (90–99%) when ozone doses ≥ 2 mg/L are applied (Huber et al., 2005b). In the advanced treatment line, only acetaminophen could be identified after the RO process and remineralization (99% removal). As a result, blended waters contained a maximum concentration level of 15.6 ng/L of acetaminophen being its elimination percentage of 96% and 99% in the conventional and advanced treatments respectively. An overview of NSAIDs in drinking waters has been recently published (Mompelat et al., 2009) showing that these compounds are present in many European countries although they were not found in a nationwide USA study (Benotti et al., 2009).

Antibiotics are scarcely found in drinking water (Stackelberg et al., 2004; Ye et al., 2007; Kümmerer, 2009a) although sulfamethoxazole, ciprofloxacin and erythromycin are among the ten high priority pharmaceuticals in waters (de Voogt et al., 2009) and sulfamethoxazole has been found in US tap waters with a maximum concentration value of 3.0 ng/L (Benotti et al., 2009). In our study all antibiotics identified at the entrance of the DWTP were substantially removed after the dioxychlorination step (>84%). This behavior is in agreement with the results reported in the literature for sulfonamides such as, sulfamethoxazole, sulfamethazine and sulfadimetoxine which are oxidized with efficiencies (>95%) after 30 min of contact time (Huber et al., 2005a) or for macrolides (azithromycin, erythromycin or clarithromycin) with percentages of oxidation >80% after 180 min of contact time (Huber et al., 2005a). Studies on the behavior of trimethoprim, sulfamethoxazole and erythromycin in simulated drinking water treatment processes indicate that they are removed >90% when chlorinated (Westerhoff et al., 2005) values similar to those found in this study except for trimethoprim. The moderate concentration reduction of this compound (47%) which exhibits two reactive amino groups in its chemical structure is unexpected. Regarding ozonation and RO, these treatments allowed eliminating the traces surviving the first oxidation step. Only erythromycin (max 2.0 ng/L) was found in finished water with a ~95% removal in conventional and 99% in advanced treatment, respectively.

The presence of lipid regulators in drinking water has been sparsely reported and only clofibrac acid, bezafibrate and gemfibrozil have been found in tap water worldwide (Mompelat et al., 2009). However, clofibrac acid was one of the first pharmaceuticals detected in drinking water, with maximum concentration levels of 270 ng/L in Berlin (Heberer and Stan, 1996) and bezafibrate and gemfibrozil are included in the list of high priority pharmaceuticals (de Voogt et al., 2009). The last compound, gemfibrozil is the sole antilipidemic compound found (up to 3 ng/L) in a USA survey of 18 DWTPs whereas atorvastatin, simvastatin and their metabolites, the other studied compounds, were absent (Benotti et al., 2009). In our study, the two statins identified at the intake of the DWTP were eliminated by dioxychlorination (>99%) whereas bezafibrate, clofibrac acid and gemfibrozil were only moderately

removed with percentages of 37%, 68% and 11%, respectively although it has been reported that gemfibrozil and clofibrac acid are readily oxidized with chlorine dioxide in spiked drinking water whereas bezafibrate remains unchanged (Huber et al., 2005a). These compounds were removed in the ozonation step of the conventional process at percentages of 90% (bezafibrate), >99% (clofibrac acid) and 95% (gemfibrozil), respectively, values that are in agreement with those reported for gemfibrozil (98%) and for bezafibrate (Westerhoff et al., 2005), when using ozone doses ≥ 2 mg/L (Huber et al., 2005b). The removal of these compounds was completed by GAC filtration (Table 1). In the UF/RO line, all three compounds surviving the first oxidation process were fully eliminated after the RO step. Thus, for all studied anti-cholesterol compounds, a complete removal (>99%) in the two treatment lines was observed.

Ranitidine, a priority antiacid (de Voogt et al., 2009) which contains a secondary amine in its chemical structure, was fully eliminated after dioxychlorination (>99%) probably leading to the formation of nitrosamines among other disinfection by-products. Other antiacids such as omeprazole and its metabolite hydroxyl-omeprazole were substantially removed after the dioxychlorination step (85% and 79%, respectively) and both were fully oxidized by ozone in the conventional treatment and totally removed after RO passage in the advanced one. It has been reported the complete ozonation of omeprazole with ozone doses <130 μ M (Rosal et al., 2010).

Four iodinated X-ray contrast media (diatrizoic acid, iopromide, iomeprol and iopamidol) have been included into the list of 44 priority pharmaceuticals (de Voogt et al., 2009). Studies on the behavior of these compounds under several treatments have been published. For instance, poor removal of diatrizoate and a substantial elimination of iopromide during bank filtration (Putschew et al., 2000). Removals (<60%) during chlorination, ~64% after ozonation and 30% elimination by powdered activated carbon (PAC) filtration were found in simulated DWTP conditions (Westerhoff et al., 2005). These values are in agreement with the average removal of ~70% for the non-ionic compounds found in a German drinking water treatment, which employs coagulation/filtration, ozonation and GAC filtration. In this process, ozonation eliminated 30% (average) of the non-ionic compounds and the GAC filters achieved an additional elimination of 50% for non-ionics while no removal was observed for the ionic X-ray compounds (Seitz et al., 2006b). In our studied DWTP, iopromide was the sole compound surviving the first oxidation step in agreement with its reported poor oxidation with chlorine dioxide (Huber et al., 2005a) whereas the ionic diatrizoic acid and the non-ionic iohexol were fully eliminated. Ozonation and GAC filtration in the conventional treatment line eliminated 36% and 81%, respectively of iopromide which substantially agrees with published results (Huber et al., 2005b; Seitz et al., 2006b) and with the generation of oxidation by-products of iodinated X-ray compounds during ozonation (Seitz et al., 2008). On the other hand, the RO process was able to remove 94% of iopromide giving a total elimination percentage of 98% for the advanced treatment and a maximum concentration level of 17 ng/L in finished water. The presence of high levels of iodinated X-ray compounds in drinking water has been reported (Bruchet et al., 2005; Seitz et al., 2006b) and reviewed (Pérez and Barceló, 2007).

Phenobarbital, the sole barbiturate found in the raw river water was partially removed after dioxychlorination (~37%) and fully eliminated after ozonation in the conventional treatment and after RO passage in the advanced one although it has been reported to be resistant to degradation by different advanced oxidation processes (Giri et al., 2010). Regarding the phosphodiesterase V inhibitor sildenafil, it was substantially removed after dioxychlorination (~78%) and fully eliminated after ozonation. The trace levels of

sildenafil from the ultrafiltration step were fully removed after the RO process.

4. Conclusions

The presence and behavior of 28 pharmaceuticals and 12 drugs of abuse along the different potabilization steps in a DWTP employing both conventional and advanced treatments have been evaluated. Both treatments efficiently removed the studied compounds although the advanced treatment presented a slightly better behavior.

Dioxychlorination and ozonation were able to remove or transform 28 out of 40 pharmaceuticals and drugs of abuse whereas GAC filtration still eliminated five additional compounds that survived the two oxidation processes. In the advanced treatment, reverse osmosis proved to be the most efficient way to eliminate the compounds surviving the dioxychlorination step. In spite of the high efficiency of potabilization process, iopromide, nicotine, benzoylecgonine, cotinine, caffeine, acetaminophen and erythromycin were detected in finished water at very low trace levels.

Although to date, no evidence has been found of human health effects from pharmaceuticals and drugs of abuse in the environment, their presence at such low levels and that of their transformation products in finished water deserve much more information and research.

Acknowledgments

This work was supported financially by: R+i Alliance, a company established in France to select, fund and coordinate the execution of research, development and innovation projects of common interest to the companies Lyonnaise des Eaux, United Water, AGBAR, Northumbrian Water Limited and Suez Environment, as Project HE0607; and by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (CTQ 2009-09253).

Appendix. Supplementary information

Supplementary information related to this article can be found online at [doi:10.1016/j.envpol.2011.02.051](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.051).

References

- Baselt, R.C., 2004. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, seventh ed. Biomedical Publications, Foster City, CA (USA).
- Benotti, M.J., Bronawell, B.J., 2007. Distribution of pharmaceuticals in an urban estuary during both dry and wet weather conditions. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5795–5802.
- Benotti, M., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Standford, B.D., Snyder, S.A., 2009. Pharmaceuticals and endocrine disruptors in U.S. drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597–603.
- 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, 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, 1126–1136.
- Boleda, M.R., Majamaa, K., Aerts, P., Gómez, V., Galceran, M.T., Ventura, F., 2010a. Removal of drugs of abuse from municipal wastewater using reverse osmosis membranes. *Desalination* 21, 122–130.
- Boleda, M.R., Galceran, M.T., Ventura, F., 2010b. Pharmaceuticals in N.E. Spain: Occurrence in Wastewater, Surface, Treated and Tap Waters. AGBAR. Internal report.
- Bruchet, A., Hochereau, C., Picard, C., Decottignies, V., Rodrigues, J.M., Janex-Habibi, M.L., 2005. Analysis of drugs and personal care products in French source and drinking waters: the analytical challenge and examples of application. *Water Sci. Technol.* 52, 53–61.
- Casale, J.F., Toske, S.G., Hays, P.A., 2009. Chlorinated opium alkaloid derivatives produced by the use of aqueous sodium hypochlorite during the clandestine manufacture of heroin. *J. Forensic Sci.* 54, 359–364.
- 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, 8421–8429.
- Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C.K., Kim, M., Kim, H.S., Kim, P., 2008. Seasonal variations of several pharmaceutical classes in surface waters and sewage treatment plants of Han River, Korea. *Sci. Total Environ.* 405, 120–128.
- Daughton, C.G., 2011. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 210, 59–110.
- de la Fuente, C., García-del Pozo, J., de Abajo, F.J., 2007. Utilización de antiepilépticos en España (1992–2006). Ministerio de Sanidad y Política Social, Spain.
- de Voogt, P., Janex-Habibi, M.L., Sacher, F., Puijker, L., Mons, M., 2009. Development of a common priority list of pharmaceuticals relevant for the water cycle. *Water Sci. Technol.* 59, 39–45.
- della Greca, M., Iesce, M.R., Previtera, L., Rubino, M., Temussi, F., Brigante, M., 2006. Degradation of lansoprazole and omeprazole in the aquatic environment. *Chemosphere* 63, 1087–1093.
- Eckel, B.P., Ross, B., Esensee, R.K., 1993. Pentobarbital found in ground water. *Ground Water* 31, 801–804.
- European Union Decision 2002/657/EC, 2002. *Off. J. Eur. Commun.* 221, 8–36.
- García-Galan, M.J., Villagrasa, M., Diaz-Cruz, S., Barceló, D., 2010. LC-QqLIT MS analysis of nine sulfonamides and one of their acetylated metabolites in the Llobregat River basin. Quantitative determination and qualitative evaluation by IDA experiments. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 1325–1334.
- Gibs, J., Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M., 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.
- Ginebreda, A., Muñoz, I., López de Alda, M., Brix, R., López-Doval, J., Barceló, D., 2010. Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat River (NE Spain). *Environ. Int.* 36, 153–162.
- Giri, R.R., Ozaki, H., Ota, S., Takamami, R., Taniguchi, S., 2010. Degradation of common pharmaceuticals and personal care products in mixed solutions by advanced oxidation techniques. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 7, 251–260.
- Heberer, T., Stan, H.J., 1996. Occurrence of polar contaminants in Berlin drinking water. *Vom Wasser* 86, 19–31.
- Hernando, M.D., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R., 2007. LC-MS analysis and environmental risk of lipid regulators. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1269–1285.
- Hua, W., Bennet, E.R., Letcher, R., 2006. Ozone treatment and the depletion of detectable pharmaceuticals and atrazine herbicide in drinking water sourced from the upper Detroit River, Ontario, Canada. *Water Res.* 40, 2259–2266.
- Huber, M., Korhonen, S., Ternes, T.A., von Gunten, U., 2005a. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res.* 39, 3607–3617.
- Huber, M.C., Göbel, A., Joss, A., Hermann, N., Löffler, D., Mcardell, C.S., Ried, A., Siegrist, H., Ternes, T.A., von Gunten, U., 2005b. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study. *Environ. Sci. Technol.* 39, 4290–4299.
- 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. *Environ. Sci. Technol.* 42, 6809–6816.
- Huerta-Fontela, M., Galceran, M.T., Ventura, F., 2011. Presence and removal of illicit drugs in conventional drinking water treatment plants. In: Castiglioni, S., Zuccato, E., Fanelli, R. (Eds.), *Illicit Drugs in the Environment: Occurrence and Fate Using Mass Spectrometry*. J. Wiley & Sons, Inc, USA, pp. 205–222.
- Ikehata, K., Naghashkar, N.J., Gamal El-Din, M., 2006. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. *Ozone Sci. Eng.* 28, 353–414.
- Jux, U., Baginski, R.M., Arnold, H.G., Krönke, M., Seng, P.N., 2002. Detection of pharmaceutical contaminations of river, pond, and tap water from Cologne (Germany) and surroundings. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 205, 393–398.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2009a. 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., 2009b. Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment: forensic applications of environmental data. Part 2: pharmaceuticals as chemical markers of faecal water contaminants. *Environ. Pollut.* 157, 1778–1786.
- 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. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202–1211.
- Kümmerer, K., 2009a. Antibiotics in the aquatic environment. A review. Part I. *Chemosphere* 75, 417–434.
- Kümmerer, K., 2009b. Antibiotics in the aquatic environment. A review. Part II. *Chemosphere* 75, 435–441.
- Kuster, M., Lopez de Alda, M.J., Hernando, M.D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., Barceló, D., 2008. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents in river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J. Hydrol.* 358, 112–123.
- Lin, A.Y.-C., Wang, X.-H., Lin, C.-F., 2010. Impact of wastewaters and hospital effluents on the occurrence of controlled substances in surface waters. *Chemosphere* 81, 562–570.

- Loos, R., Wollgast, J., Huber, T., Hanke, G., 2007. Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctansulfonate (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.
- Loos, R., Gawlik, B.M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., Bidoglio, G., 2009. EU-wide survey of polar persistent pollutants in European river waters. *Environ. Pollut.* 157, 561–568.
- Miao, X.S., Metcalfe, C.D., 2003. Determination of cholesterol-lowering statin drugs in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 998, 133–141.
- 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, 803–814.
- Monteiro, S.C., Boxall, A.B.A., 2010. Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the aquatic environment. In: Whitacre, D.M. (Ed.), *Reviews Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 202. Springer, New York, pp. 53–154.
- Nakada, N., Kiri, K., Shinihara, H., Harada, A., Kuroda, K., Takizawa, S., Takada, H., 2008. Evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) as water-soluble molecular markers of sewage. *Environ. Sci. Technol.* 42, 6347–6353.
- Nieto, A., Peschka, M., Borrull, F., Pocurull, E., Marcé, R.M., Knepper, T.P., 2010. Phosphodiesterase type V inhibitors: occurrence and fate of wastewater and sewage sludge. *Water Res.* 44, 1607–1615.
- Pérez, S., Barceló, D., 2007. Fate and occurrence of X-ray contrast media in the environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1235–1246.
- Peschka, M., Eubeler, J.P., Knepper, T.P., 2006. Occurrence and fate of barbiturates in the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7200–7206.
- Putschew, A., Wischnack, S., Jekel, M., 2000. Occurrence of triiodinated X ray contrast agents in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 255, 129–134.
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Ventura, F., Barceló, D., 2008. Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. *Water Res.* 42, 3601–3610.
- Rosal, R., Rodríguez, A., Perdígón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A., Fernández-Alba, A.R., 2010. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water Res.* 44, 578–588.
- Seitz, W., Weber, W.H., Jiang, J.-Q., Lloyd, B.J., Maier, D., Maier, M., Schulz, W., 2006a. Monitoring of iodinated X-ray contrast media in surface water. *Chemosphere* 64, 1318–1324.
- Seitz, W., Jiang, J.-Q., Weber, W.H., Lloyd, B.J., Maier, D., Maier, M., 2006b. Removal of iodinated X-ray contrast media during drinking water treatment. *Environ. Chem.* 3, 35–39.
- Seitz, W., Jiang, J.-Q., Schulz, W., Weber, W.H., Maier, D., Maier, M., 2008. Formation of oxidation by-products of the iodinated X-ray contrast medium iomeprol during ozonation. *Chemosphere* 70, 1238–1246.
- Stackelberg, P.E., Furlong, E.T., Meyer, M., Zaugg, S.D., Henderson, A.K., Reissman, 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.
- Strano-Rossi, S., Anzillotti, L., de la Torre, X., Botré, F., 2010. A gas chromatography/mass spectrometry method for the determination of sildenafil, vardenafil and tadalafil and their metabolites in human urine. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 24, 1697–1706.
- Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N., 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3855–3863.
- Tixier, C., Singer, H., Oellers, S., Müller, S., 2001. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibrac acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface waters. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1061–1068.
- Togola, A., Budzinski, H., 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1177, 150–158.
- Viglino, L., Aboulfadl, K., Mahvelat, A.D., Prevost, M., Sauve, S., 2008. On-line solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry to quantify pharmaceuticals, pesticides and some metabolites in wastewaters, drinking and surface waters. *J. Environ. Monitor* 10, 482–489.
- van Nuijs, A.L.N., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P.G., Bervoets, L., 2009. Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environ. Pollut.* 157, 123–129.
- von Gunten, U., Janex-Habibi, M.L., Ternes, T.A., Weber, L., 2006. Removal of PPCP during drinking water treatment. In: Ternes, T.A., Joss, A. (Eds.), *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances*. IWA Publishing, London U.K., pp. 293–322.
- Watkinson, A.J., Murby, E.J., Kolpin, D.W., Costanzo, S.D., 2009. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: from wastewater to drinking water. *Sci. Total Environ.* 407, 2711–2723.
- 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.* 39, 6649–6663.
- Ye, Z., Weinberg, H.S., Meyer, M.T., 2007. Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 79, 1135–1144.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., 2005. Identification of the pharmaceuticals for the human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 122, 205–209.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Chiabrando, C., Grassi, P., Fanelli, R., 2008. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.* 42, 961–968.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., 2009. Illicit drugs in the environment. *Philos. Trans. R. Soc. A* 367, 3965–3978.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

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.

M^a Rosa Boleda¹, M^a Teresa Galceran², Francesc Ventura^{1*}

¹AGBAR-Aigües de Barcelona. Gral. Batet 5-7. 08028-Barcelona (Spain)

² University of Barcelona. Department Analytical Chemistry. Av. Diagonal 647. 08028-Barcelona (Spain)

* *Corresponding author:* fventura@agbar.es

LEGENDS AND CAPTIONS

Table S1. List of pharmaceuticals and drugs of abuse studied. CAS registry numbers, therapeutical classes and LOQ of the method in treated water (in ng/L).

Table S2. Validation parameters of the analytical method for pharmaceuticals identified at the intake of the DWTP.

Table S3. LC-MS/MS parameters for the detection of pharmaceuticals.

Table S1. List of pharmaceuticals and drugs of abuse studied. CAS registry numbers, therapeutical classes and LOQ of the method in treated water (in ng/L).

Chemical	CAS number	Description	LOQ ng/L	Chemical	CAS number	Description	LOQ ng/L
Pharmaceuticals							
Acetaminophen	103-90-2	Anti-inflammatory	1.3	Butalbital	77-26-9	Barbiturates	10
Diclofenac	15307-86-5	Anti-inflammatory	3.0	Hexobarbital	56-29-1	Barbiturates	15
Fenoprofen	53746-45-5	Anti-inflammatory	10	Pentobarbital	76-74-4	Barbiturates	7.0
Ibuprofen	15687-27-1	Anti-inflammatory	10	Phenobarbital	50-06-6	Barbiturates	10
Indomethacin	91853-74-6	Anti-inflammatory	8.0	Secobarbital	29071-21-4	Barbiturates	9.0
Ketoprofen	22071-15-4	Anti-inflammatory	25	Chlorhexidine	55-56-1	Antibacterial/antimicrob.	0.6
Mefenamic acid	61-68-7	Anti-inflammatory	3.0	Miconazole	22916-47-8	Antibacterial/antimicrob.	12
Naproxen	22204-53-1	Anti-inflammatory	6.0	Prednisone	53-03-2	Antitumor	5.0
Salicylic acid	69-72-7	Anti-inflammatory	30	N-desMe sildenafil	-	Metabolite	1.3
Amoxicillin	26787-78-0	Antibiotic	120	Sildenafil	139755-83-2	Phosphodiesterase inhib.	0.8
Azithromycin	117772-70-0	Antibiotic	0.2	Triclosan	3380-34-5	Antibacterial/antimicrob.	2.0
Carbadox	6804-07-5	Antibiotic	4.8	Drugs of abuse			
Clarithromycin	811103-11-9	Antibiotic	0.2	Caffeine	58-08-2	Stimulatory drug	2.0
Erythromycin	114-07-8	Antibiotic	0.2	Cotinine	486-56-6	Metabolite	0.3
Lincomycin	859-18-7	Antibiotic	0.9	Nicotine	54-11-5	Stimulatory drug	1.0
Olaquinox	23696-28-8	Antibiotic	3.4	Amphetamine	300-62-9	Amphetamine type subst	1.0
Roxithromycin	80214-83-1	Antibiotic	0.2	Methamphetamine	537-46-2	Amphetamine type subst	0.5
Sulfadimethoxine	122-11-2	Antibiotic	0.8	MDA	4764-17-4	Amphetamine type subst	0.8
Sulfamethazine	57-68-1	Antibiotic	0.7	MDEA	82801-81-8	Amphetamine type subst	0.2
Sulfamethoxazole	723-46-6	Antibiotic	1.0	MDMA	42542-10-9	Amphetamine type subst	0.2
Trimethoprim	738-70-5	Antibiotic	0.9	Benzoylcegonine	519-09-5	Metabolite	0.2
Tylosin	1405-54-5	Antibiotic	0.4	Cocaethylene	529-38-4	Metabolite	0.1
Bezafibrate	41859-67-0	Antilipidemic	4.0	Cocaine	50-36-2	Cocainic	0.1
Clofibrac acid	882-09-7	Antilipidemic	3.0	Norbenzoylcegonine	519-09-5	Metabolite	0.1
Fenofibrate	49562-28-9	Antilipidemic	1.0	Norcocaine	18717-72-1	Metabolite	0.1
Gemfibrozil	25812-30-0	Antilipidemic	2.0	6-Acetylmorphine	2784-73-8	Metabolite	0.9
Mevastatin	73573-88-3	Antilipidemic	4.7	Codeine	76-57-3	Opiate	0.5
Pravastatin	81131-70-6	Antilipidemic	27	EDDP	466-97-7	Metabolite	0.1
Simvastatin	79902-63-9	Antilipidemic	0.2	Heroin	561-27-3	Opiate	0.1
Cimetidine	51481-61-9	Antiacid	0.2	Methadone	76-99-3	Opiate	0.1
Famotidine	76824-35-6	Antiacid	5.3	Morphine	57-27-2	Opiate	3.0
Lansoprazole	103577-45-3	Antiacid	1.2	Morphine-3 β -glucur.	-	Metabolite	1.0
5-O-desMe omepr.	151602-49-2	Metabolite	1.2	Norcodeine	467-15-02	Metabolite	1.5
4-OH-omeprazole	-	Metabolite	5.9	Normorphine	466-97-7	Metabolite	12
Omeprazole	73590-58-6	Antiacid	0.4	Δ^9 -THC	1972-08-3	Cannabinoid	20
Ranitidine	66357-35-5	Antiacid	1.0	THC-COOH	56354-06-4	Metabolite	50
Diatrizoate	117-96-4	X-ray cont. media	17	THC-OH	36557-05-8	Metabolite	10
Iohexol	66108-95-0	X-ray cont. media	27	Ketamine	6740-88-1	Stimulatory drug	1.5
Iopromide	73334-07-3	X-ray cont. media	17	Fentanyl	437-38-7	Stimulatory drug	1.5
Amobarbital	57-43-2	Barbiturates	7.0	LSD	50-37-3	Stimulatory drug	1.5
				PCP	77-10-01	Stimulatory drug	1.0

Drugs of abuse deuterated standards: nicotine-d₄, cotinine-d₃, amphetamine-d₈, methamphetamine-d₉, MDA-d₅, MDMA-d₅, MDEA-d₅, cocaine-d₃, benzoylcegonine-d₈, cocaethylene-d₈, LSD-d₃, ketamine-d₄, PCP-d₅, fentanyl-d₅, morphine-d₆, 6-acetylmorphine-d₆, heroin-d₉, codeine-d₆, methadone-d₃, EDDP-d₃, THC-d₃, THC-COOH-d₃ and THC-OH-d₃

Pharmaceuticals deuterated standards: Paracetamol-d₄, Butalbital-d₅, Pentobarbital-d₅, Phenobarbital-d₅, Secobarbital-d₅, Sulfamethoxazole-d₄, N-desmethyl sildenafil-d₈, Ibuprofen-d₃, Omeprazole-d₃, Bezafibrate-d₄, Sildenafil-d₃, Diclofenac-d₄, Salicylic acid-d₄, Clofibrac acid-d₄, Gemfibrozil

Materials and methods.

Chemicals and reagents.

Individual standard solutions of each drug of abuse, pharmaceuticals and available deuterated analogues (see Table S1) were obtained from Cerilliant (Austin, TX, USA); LGC Standards (Middlesex, UK) or Toronto Research Chemicals (North York, Canada). Deuterated standards (1 mg/mL in methanol) were used. Isotope dilution was used for quantitation of drugs of abuse but norcocaine, norbenzoylecgonine, normorphine and norcodeine were quantified as their parent compound equivalents. All working solutions were prepared twice a month and stored at -20 °C.

Working solutions of drugs of abuse (0.2 mg/L in methanol) were prepared for tuning and stability studies. A mixed working solution of these compounds at 5 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 of from 2 to 4000 ng/L.

Working solutions of pharmaceuticals (1 mg/L in methanol) were prepared for tuning and selectivity studies. Calibration was performed by using standard solutions and deuterated standard solutions as internal standards. Calibration curves (n=6) were prepared by serial dilution of the mixed working solution in methanol:water (20:80) resulting in individual concentrations from 0 to 2500 ng/L. A mixed solution of deuterated standards was added to all the calibration points at a fixed concentration of 500 ng/L as internal standards. All working solutions were prepared twice a month and stored at -20°C.

Quality parameters of the analytical method for pharmaceuticals.

To evaluate the UPLC-MS/MS method's performance (Boleda et al., 2010b), instrumental detection limits (IDLs), limits of quantification (LOQ's) and linearity were studied for each compound. Results presented here (see Table S2) are only referred to those pharmaceuticals positively identified at the intake of the DWTP.

Instrumental detection limits were determined by direct injection of standards at low concentrations. In-column injected values ranged from 0.2 pg (i.e. erythromycin, clarithromycin) to 75 pg (i.e. phenobarbital). Linearity of the method was studied over the established working concentration range of 0-2500 ng/L.

Precision of the developed method was evaluated by analyzing pristine surface water (tested free for the compounds of interest) spiked at a concentration of 50 ng/L. For the determination of run-to-run precision, five replicates were extracted and analyzed in one day and the results obtained, calculated as %RSD were mostly <10% with few compounds \leq 15%. For day-to-day precision, the extraction and analysis were performed by triplicate in five consecutive days with maximum %RSD values of 15%.

Recoveries of target compounds were determined by spiking pristine surface water with analyte standards at 50 ng/L. They were calculated as the percentage of the mean peak areas of analytes added after and before SPE extraction.

Evaluation of the ionic suppression or enhancement due to sample matrix or coeluting compounds was performed. Signal suppression or enhancement was evaluated for each pharmaceutical as a percentage decrease in signal intensity in the sample matrix versus ultrapure water. From the results obtained, all compounds showed matrix suppression.

Table S2. Validation parameters of identified pharmaceuticals at the intake of the DWTP in surface waters.

	Surface water					
	IDLs (pg)	LOQ (ng/L)	Recovery (%)	Day-to-day %RSD	Run-to-run %RSD	%Signal suppression
Acetaminophen	1.5	1.4	90±8	10	14	57
Azythromycin	1.0	1	87±2	2	9	31
Bezafibrate	5	4	98±5	5	9	36
Chlorhexidine	10	8.6	97±5	5	9	56
Clarithromycin	0.2	0.2	106±4	4	9	17
Clofibric acid	10	5	93±9	9	11	24
Diatrizoic acid	10	17	50±5	13	15	70
Diclofenac	10	4	93±10	10	6	52
Erythromycin	0.2	0.2	98±2	1	7	38
Gemfibrozil	5	3	99±5	4	2	33
Ibuprofen	20	15	92±9	10	11	40
Iohexol	30	30	91±9	11	12	45
Iopromide	20	17	106±6	6	2	50
Lincomycin	1.0	0.9	93±3	2	5	15
Naproxen	10	8	98±6	15	8	31
4-OHomeprazole	5	5.9	71±3	5	14	39
Omeprazole	0.5	0.4	101±6	6	7	16
Phenobarbital	75	15	97±6	6	5	73
Pravastatin	30	30	85±11	12	9	61
Ranitidine	0.5	1.5	80±6	15	14	50
Salicylic acid	50	40	76±5	11	6	33
Sildenafil	1.0	0.9	94±6	6	7	8
Simvastatin	0.5	0.4	85±4	8	7	18
Sulfadimethoxine	1.0	0.8	108±8	8	7	7
Sulfamethazine	0.8	0.7	92±8	10	8	14
Sulfamethoxazole	1.2	1.1	90±9	11	8	13
Trimethoprim	1.0	1.1	73±2	3	5	34
Tylosin	0.5	0.4	114±4	4	9	18

IDL: Instrument detection limit: For recovery studies samples were spiked at 50 ng/L (n=5). RSD = relative standard deviation. Run-to-run precision calculated for n=5. Day-to-day precision calculated for n=15

Table S3. LC-MS/MS parameters for the detection of pharmaceuticals.

	ESI Mode	[M+/-H] [±]	CV (V)	Quantif. ion (m/z)	C.E. (V)	Confirm. ion (m/z)	C.E. (V)	Relative intensity (%)	Permitted tolerances
Acetaminophen	+	152.2	30	110.1	15	92.9	25	5.9±2.1	±50
<i>Acetaminophen-d4</i>	+	156.2	30	114.1	15				
Azythromycin	+	749.7	55	158.2	45	591.5	30	63.5±6.0	±20
Bezafibrate	-	360.2	20	274.2	20	154.1	10	12.4±1.3	±30
<i>Bezafibrate-d4</i>	-	364.2	30	278.3	20				
Chlorhexidine	+	505.2	40	335.9	20	184.0	30	58.6±1.0	±20
Clarithromycin	+	748.7	35	158.2	30	590.4	20	13.9±1.3	±30
Clofibrac acid	-	213.2	20	127.0	10	84.9	15	15.9±5.1	±30
<i>Clofibrac acid-d4</i>	-	217.2	20	131.0	15				
Diatrizoic acid	+	614.9	40	361.0	20	233.2	40	3.4±0.3	±50
Diclofenac	-	294.1	20	250.1	10	214	20	6.1±1.7	±50
<i>Diclofenac-d4</i>	-	299.1	20	254	10				
Erythromycin	+	734.7	35	158.1	30	576.4	20	21.5±1.2	±25
Gemfibrozil	-	249.3	25	121.1	15	127.1	10	8.5±0.5	±50
<i>Gemfibrozil-d6</i>	-	255.3	20	121.0	20				
Ibuprofen	-	205.2	25	161.2	10				
<i>Ibuprofen-d3</i>	-	208.2	20	164.3	10				
Ioexol	+	822.0	45	803.9	20	448.0	30	10.3±4.3	±30
Iopromide	+	792.0	45	300.0	55	572.9	25	80.0±8.8	±20
Lincomycin	+	407.3	40	126.1	25	359.2	20	5.5±0.4	±50
Naproxen	-	229.2	20	170.1	15	185.2	10	75.5±12.7	±20
4-hydroxy omeprazole	+	330.2	45	120.1	30	149.9	20	60.3±10.0	±20
Omeprazole	+	346.3	20	198.1	10	151.0	20	32.8±3.5	±25
<i>Omeprazole-d3</i>	+	349.3	20	198.1	10				
Phenobarbital	-	231.1	20	42	20	188.2	10	41.2±3.0	±25
<i>Phenobarbital-d5</i>	-	236.2	25	42	20				
Pravastatin	+	447.3	45	327.2	30				
Ranitidine	+	315.3	30	176.2	15	130.1	25	65.2±3.8	±20
Salicylic acid	-	137.1	30	93.0	15	64.8	30	8.5±0.3	±50
<i>Salicylic acid-d4</i>	-	141.1	20	97.0	15				
Sildenafil	+	475.3	55	99.9	40	283.2	40	15.2±1.9	±30
<i>Sildenafil-d3</i>	+	478.3	55	102.9	30				
Simvastatin	+	419.4	30	199.3	10	285.3	10	97.1±2.4	±20
Sulfadimethoxine	+	311.2	40	156.1	20	92.0	30	35.5±0.9	±25
Sulfamethazine	+	279.2	40	186.1	15	124.1	25	55.8±10.0	±20
Sulfamethoxazole	+	254.2	30	156.1	15	92.0	25	70.2±7.0	±20
<i>Sulfamethoxazole-d4</i>	+	258.2	30	160.1	15				
Trimethoprim	+	291.3	50	230.2	20	123.0	30	90.6±12.0	±20
Tylosin	+	916.7	65	174.2	40	772.5	40	1.6±0.4	±50

3.3. Discussió dels resultats

La discussió dels resultats d'aquest capítol s'ha distribuït en dos apartats. En el primer es comenta la metodologia desenvolupada per a l'anàlisi de fàrmacs i els resultats obtinguts en l'anàlisi d'aigües a l'entrada i a la sortida de l'ETAP de Sant Joan Despí (apartat 3.2.1) així com els corresponents a l'estudi de la presència de fàrmacs en aigües potables inclòs a l'apartat 1.4.3 d'aquesta memòria. El segon apartat està dedicat a comentar els resultats obtinguts en emprar nous tractaments tant en aigües residuals com potables (apartats 3.2.2. i 3.2.3.)

3.3.1. Anàlisi de fàrmacs: metodologia i presència.

Tal i com s'ha comentat i amb l'objectiu d'incloure els fàrmacs en els estudis sobre presència en aigües superficials i potables i avaluar el seu comportament en els nous tractaments implementats a la planta de tractament d'aigua potable de Sant Joan Despí, es va desenvolupar una metodologia d'anàlisi per a 53 fàrmacs (apartat 3.2.1.) (Veure llista dels fàrmacs estudiats a la taula 1.2 del capítol 1). La metodologia desenvolupada es basa en una extracció per SPE seguida d'anàlisi per UPLC-MS/MS. El mètode va ser validat segons ISO 17025, i es va calcular la incertesa en el càlcul de la concentració de cada compost. Es tracta d'un mètode multiresidu, i com a tal, té l'avantatge de permetre avaluar la presència d'un gran nombre de contaminants processant una sola mostra. Tanmateix, l'anàlisi simultània de compostos amb propietats fisicoquímiques tant diferents, fa que s'hagi d'arribar a una situació de compromís en la selecció de les condicions experimentals d'anàlisi.

La major part dels mètodes multiresidu publicats recentment a la literatura per a l'anàlisi de fàrmacs en aigües utilitzen SPE-LC-MS/MS (*Fatta-Kassinou et al 2011*) i amb independència dels compostos analitzats, utilitzen normalment el mateix adsorbent que el proposat per nosaltres, l'Oasis HLB (*Ferrer et al., 2010; Nödler et al., 2010; Valcárcel et al., 2011; Gros et al., 2012; Camilleri et al., 2014; Cai et al., 2015; Vergeynst et al., 2015*) encara que alguns autors utilitzen també Strata X (*Carmona et al., 2014*) o bé C18 (*Pinhancos et al., 2011*). Pel que fa al volum de mostra a extreure, en aquesta tesi es proposa emprar 200 ml, valor que permet obtenir unes recuperacions en general superiors al 70% i que coincideix amb el proposat a la literatura que encara que varia segons el tipus de matriu, que per aigües superficials i potables oscil·la entre 1 litre (*Carmona et al., 2014, Cai et al., 2015*) i els 100 ml (*Wode et al., 2012*) amb valor entremitjos de 500, 250 o 200 ml (*Ferrer et al., 2010; Nödler et al., 2010; Valcárcel et al., 2011; Gros et al., 2012*). De totes maneres, cal remarcar que s'han desenvolupat pocs mètodes per l'anàlisi de fàrmacs en aigües potables i, la majoria de les publicacions i articles més recents, fan sobretot referència als riscos ambientals de la presència dels fàrmacs en els diferents compartiments mediambientals i de les sinèrgies que es poden generar degut a la presència de diversos fàrmacs en els rius.

Pel que fa a l'espectrometria de masses, en el nostre treball s'ha emprat un triple quadrupol en mode SRM que és el tipus d'espectròmetre més usat (*Ferrer et al., 2010; Nödler et al., 2010; Carmona et al., 2014; Cai et al., 2015*) i QqLIT (*López-Serna et al., 2010; Valcárcel et al., 2011; Gros et al., 2012; Camilleri et al., 2014*). Tanmateix, es comencen a emprar espectròmetres de masses d'alta resolució que permeten confirmar els fàrmacs en mesclures molt complexes o bé identificar productes de transformació (*Pinhancos et al., 2011; Wode et al., 2012; Hernández et al., 2014; Vergeynst et al., 2015*). De totes maneres, els límits de quantificació són de l'ordre dels ng/L, tant si s'utilitza un o altre espectròmetre de masses. Tanmateix, es fa difícil comparar els LOQs degut a, com s'ha comentat abans, cada mètode ha estat optimitzat per un grup determinat de compostos, i llevat d'algun fàrmac que es repeteix sovint (com per exemple l'acetaminofè o l'àcid salicílic) la resta només es troben en unes poques publicacions. Ara bé, en general, els LOQs en aigües superficials es troben entre els 0,2 ng/L (ranitidina, *Gros et al., 2012*) i els 19 ng/L (iopromide, *Nödler et al., 2010*); i en aigües potables són una mica inferiors, entre els 0,05 ng/L (acetaminofè, *Cai et al., 2015*) i els 13 ng/L (ketoprofè, *Gros et al., 2012*), valors comparables als obtinguts per nosaltres, entre els 1.5 ng/L (ranitidina) i els 17 ng/L per l'iopromide en aigües superficials i entre els 1.3 ng/L (acetaminofè) i 25 ng/L pel ketoprofè en aigua potable. En l'estudi de l'apartat 3.2.1., el grup de fàrmacs que va presentar uns límits de quantificació més alts amb el mètode optimitzat van ser les tetraciclines (aproximadament 100 ng/L). Val a dir que aquests fàrmacs normalment no s'inclouen en els mètodes multiresidu publicats a la

literatura, segurament perquè les seves característiques fisicoquímiques fan que la seva sensibilitat quedi compromesa, ja que cal treballar a unes condicions cromatogràfiques que siguin adequades per a la resta de compostos. De totes maneres, els que inclouen aquests compostos en la llista del seu mètode multiresidu (Gros et al., 2012) també obtenen valors de LOQs elevats, per exemple per la tetraciclina en aigua superficial 41 ng/L, el més alt dels de tots els compostos analitzats per aquests autors.

A l'article de l'apartat 3.2.1., a més de proposar un mètode per a l'anàlisi de fàrmacs en aigües, s'ha calculat la incertesa en el càlcul de la concentració per cada un dels analits i en cada matriu. El càlcul de les incerteses no s'acostuma a dur a terme, però és d'importància cabdal en l'establiment de mètodes per al control, sobretot quan s'esperen trobar concentracions baixes dels analits. L'estudi va posar de manifest que el factor més important en la incertesa del mètode és la recuperació de l'analit, que per tant, sempre s'ha de tenir en compte en el càlcul final de la concentració. En aquestes condicions, les incerteses obtingudes, entre el 6.3% (butalbital) i el 22.7% (clorotetraciclina) en aigua potable i entre el 7.2% (lincomicina) i el 22.5% (tetraciclina) en aigua superficial, són molt acceptables i donen una idea de la robustesa del mètode implementat. En un treball publicat recentment *Vergeynst et al., 2015*, en el que discuteixen els factors més importants que poden fer augmentar la incertesa d'un mètode per a l'anàlisi d'aigües residuals, indiquen que en el seu cas el principal problema va ser en la validació del mètode atès que no van aconseguir matrius lliures dels compostos a estudiar. Això els hi va comportar incerteses elevades i en conseqüència el criteri adoptat fou la precisió (RSD < 20%) i la recuperacions, entre el 60% i 140%.

El mètode optimitzat en aquesta tesi s'ha utilitzat per avaluar la presència de fàrmacs en aigua superficial a l'entrada de la planta potabilitzadora de Sant Joan Despí així com a l'aigua de sortida de la planta (apartat 3.2.1) i per a l'anàlisi d'aigua potable recollida a les aixetes de consumidors d'unes 50 ciutats (article titulat: "*Survey of the occurrence of pharmaceuticals in Spanish finished drinking waters*" inclòs a l'apartat 1.4.3.). En el capítol 1 s'han comentat les dades bibliogràfiques sobre la presència de fàrmacs en aigües potables incloses en aquest article i aquí es discuteixen els resultats experimentals obtinguts. La majoria d'aquestes aigües potables provenen d'aigües superficials i una tercera part d'aigües subterrànies, i a totes elles s'hi ha aplicat tractaments convencionals en diferents combinacions que consten en general d'una etapa d'oxidació, normalment amb Cl₂, coagulació, floculació, sedimentació, filtre de sorra i postcloració, encara que en alguns casos s'han utilitzat filtres de carbó i ozonització. Els procediments emprats es resumeixen a continuació:

Cl_2 (preox.) \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow FS \rightarrow Cl_2 ;
 Cl_2 (preox.) \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow FS \rightarrow FC \rightarrow Cl_2 ;
 Cl_2 (preox.) \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow FS \rightarrow O₃ \rightarrow Cl_2 ;
 Cl_2/CIO_2 (preox.) \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow FS \rightarrow O₃ \rightarrow FC \rightarrow Cl_2
 O_3 \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow O₃ \rightarrow FS \rightarrow Cl_2 ,

on Cl_2 és cloració, CIO_2 dioxiclорació; C Coagulació, F Floculació, Sed. Sedimentació, FS Filtre de sorra, FC filtre de carbó, O₃ ozonització.

Cal dir però, que l'aigua potable d'algunes ciutats costaneres prové de l'aigua de mar i llavors, el tractament que normalment s'aplica consisteix en combinacions que inclouen ultrafiltració (UF) i osmosi inversa (OI), per exemple: Cl_2 (preox.) \rightarrow C/F \rightarrow sed. \rightarrow (UF) \rightarrow OI \rightarrow Cl_2 tot i que alguns cops no s'inclou l'etapa d'ultrafiltració. Ara bé, els resultats obtinguts, no es van poder correlacionar amb els tractaments, primer perquè caldria tenir informació de l'aigua d'entrada a la planta per poder parlar de si un tractament és millor que un altre, i en segon lloc perquè només es van detectar 5 dels 53 fàrmacs analitzats, i a concentracions molt baixes. Dels 53 fàrmacs estudiats en més de 50 mostres de ciutats (43 d'espanyoles), només es van trobar: Ibuprofè (positiu en 6 mostres; màx. 18.5 ng/L; LOQ 10ng/L); azitromicina (positiu en 5 mostres; màx. 9.5 ng/L; LOQ 0.9 ng/L); claritromicina (positiu en 5 mostres; màx. 2.2 ng/L; LOQ 0.2 ng/L); eritromicina (positiu en 8 mostres; màx. 1.5 ng/L; LOQ 0.2 ng/L) i sulfametoxazole (positiu en 1 mostra; màx. 1.4 ng/L; LOQ 1 ng/L). Els valors del percentatge de la incertesa expandida per aquests compostos en aigües potables (calculats en l'article científic de l'apartat 3.2.1. d'aquesta memòria) estan entre 8% i 11%, la qual cosa ens indica que si s'aplica la incertesa en cada cas, continuen essent uns valors per sobre del LOQ. Precisament dos d'aquests fàrmacs (ibuprofè i eritromicina) es van trobar en l'estudi estacional de l'apartat 3.2.1., en el qual s'analitzaven els fàrmacs en les etapes del tractament convencional en la planta de Sant Joan Despí, i dels 24 fàrmacs presents a l'entrada de la planta només quatre es van trobar a l'aigua tractada de sortida i a unes concentracions molt baixes: Ibuprofè (<LOQ-53 ng/L), acetaminofè (<LOQ-23 ng/L), eritromicina (1-2 ng/L) i iopromida (<LOQ-84 ng/L). Tal com s'ha comentat en la introducció d'aquesta memòria (bibliografia i taula 1.11, apartat 1.4.2.), es constata que l'ibuprofè, s'ha trobat en mostres d'aigua potable d'Espanya, Europa i Amèrica. Aquest fet pot estar relacionat amb què està descrit que té una reactivitat limitada davant el clor (<60%) i l'ozó (80%) (*Westerhoff et al., 2005; Giri et al., 2010*) i no presenta reactivitat davant el diòxid de clor (*Huber et al., 2005; Von Guten et al., 2006*). Això, a més de ser un dels compostos que es troba amb més freqüència en aigües superficials, (tot i que és dels que més s'ha estudiat

i del que es tenen més dades), fa pensar que petites quantitats d'aquest poden romandre després del tractament i aparèixer a l'aigua de les aixetes dels consumidors.

Els altre quatre compostos que es van identificar pertanyen al grup J01 antibacterians: Azitromicina, claritromicina, eritromicina i sulfametoxazole. Està descrit a la bibliografia que aquests compostos reaccionen amb l'ozò i el diòxid de clor (*Huber et al., 2005; Deborde and von Guten, 2008*) que s'apliquen en molts dels tractaments, i en el cas de l'eritromicina i el sulfametoxazole, també reaccionen amb el clor (80% d'eliminació, *Westerhoff et al., 2005*). Tot i així, a més dels resultats positius d'aquesta tesi, també precisament per aquests dos, s'han trobat eritromicina i sulfametoxazole en aigües potables d'Espanya i Amèrica, i en el cas del sulfametoxazole també a Europa (*Snyder et al., 2007, 2008; Versteegh et al., 2007; Benotti et al., 2009; Daughton 2010; article apartat 2.2.2; Kleywegt et al 2011; Gros et al., 2013*).

Ara bé, atès que aquests compostos es troben a nivells traça, la identificació pot ser difícil i es poden donar com a resultat falsos positius. Per això es convenient aplicar procediments de confirmació rigorosos. En aquesta línia, cada vegada és més comú utilitzar 3 o més ions de confirmació en SRM o bé recórrer a l'espectrometria de masses d'alta resolució, per fer una confirmació addicional. Amb aquesta finalitat en aquesta tesi es varen re-analitzar els extractes de mostres amb els compostos potencialment identificats (apartat 1.4.3) mitjançant UHPLC-HRMS (quadrupol-Orbitrap). En les 6 mostres en les que s'havia identificat ibuprofè, es va confirmar la seva presència tant per l'exactitud de la massa (-0.65-0.67 ppm d'error) com pel perfil isotòpic (sempre superior al 97% de coincidència). Aquesta confirmació era imprescindible, degut a que és un compost del que només es monitoritza una transició SRM en el triple quadrupol ja que no presenta cap altre ió producte d'intensitat prou elevada per a la seva confirmació. Cal remarcar com a tret important d'aquest estudi, que l'espectre que es va obtenir a partir de l'ió precursor (m/z 205) en HRMS (Orbitrap), va mostrar l'existència de dos ions (m/z 159 amb el 100% d'abundància relativa, i m/z 161 amb el 51% de l'abundància relativa). Aquest fet, va posar de manifest que la fragmentació depèn del tipus d'analitzador, en espectròmetres de masses de triple quadrupol l'ió que normalment es genera és m/z 161, mentre que el instruments de trampa iònica és el m/z 159. En aparells híbrids, com Q-trap o Q-orbitrap, també s'obté el m/z 159 com a ió majoritari. Un experiment de MS³, amb un espectròmetre de masses QTrap, aïllant l'ió producte m/z 161, va generar l'ió m/z 159, que va confirmar que no es tractava de cap interferència, sinó que era el mateix compost.

Pel que fa als fàrmacs d'altres grups, que en els apartats 1.4.2., 1.4.3. i 3.2.1. d'aquesta memòria, s'ha comentat que són dels més freqüentment identificats en aigües superficials, es podria explicar la seva absència o poca presència en aigües potables a partir de les seves capacitats de reacció amb els oxidants emprats en les potabilitzadores. Així per exemple, alguns dels fàrmacs del grup dels reguladors lipídics (C10) com el bezafibrat, l'àcid clofibríc i el gemfibrozil trobats sovint en aigües superficials i també a l'aigua superficial a l'entrada de la potabilitzadora de Sant Joan Despí (Taula 4, apartat 3.2.1.) està descrit que reaccionen amb diversos oxidants. El bezafibrat reacciona amb l'ozó (*Huber et al., 2003; Westerhoff et al., 2005*), l'àcid clofibríc amb el diòxid de clor i moderadament amb l'ozó (*Ternes et al., 2002; Huber et al., 2005*) i el gemfibrozil amb el clor i moderadament amb el diòxid de clor (*Glassmeyer and Shoemaker, 2005; Westerhoff et al. 2005; Krkosek et al. 2011; article apartat 3.2.3.; Bulloch et al. 2012*). Per tant, la presència d'aquests fàrmacs a l'aigua tractada, no hauria de ser freqüent encara que dependrà de la concentració al riu, del tipus de desinfectant/oxidant que s'apliqui i possiblement del tractament de potabilització simple o avançat que es practiqui. El diclofenac, un dels representants del grup d'antiinflamatoris i antireumàtics (M01) que juntament amb l'ibuprofè es freqüentment identificat a les aigües superficials, reacciona (90-100%) amb el clor i l'ozó i parcialment amb el diòxid de clor (*Vogna et al. 2004; Boyd et al. 2005; Huber et al. 2005; Westerhoff et al. 2005; Deborde and von Gunten 2008; Simazaki et al. 2008; Benitez et al. 2009; Acero et al. 2010; Giri et al. 2010; Quintana et al. 2010; Hey et al. 2012*) i per tant no es d'esperar trobar-lo gaire sovint en les aigües tractades. En aquest sentit, els nostres resultats en aigües potables (apartat 1.4.3. i 3.2.1.) estan d'acord amb aquest comportament. D'altra banda, els tres fàrmacs de contrast (X-Ray) que s'han estudiat en aquesta tesi, l'àcid diatrizoic, l'iohexol i la iopromida, reaccionen només parcialment amb el clor i l'ozó (*Westerhoff et al. 2005*), i per tant depenent de si n'hi ha a l'aigua del riu i en quina quantitat, es podria esperar trobar-ne a l'aigua potable després del tractament. De fet la iopromida es va identificar (apartat 3.2.1.) a la sortida de la planta de Sant Joan Despí amb un interval de concentració entre <LOQ i 17.2 ng/L.

3.3.2. Nous tractaments en depuradores i potabilitzadores: Comportament de les drogues d'abús i els fàrmacs.

En aquest apartat es discuteix en primer lloc el comportament de drogues i fàrmacs en els tractaments convencional i avançat aplicats a l'ETAP de Sant Joan Despí i en segon lloc els estudis duts a terme sobre la implementació de sistemes d'osmosi inversa per a l'eliminació de drogues d'abús.

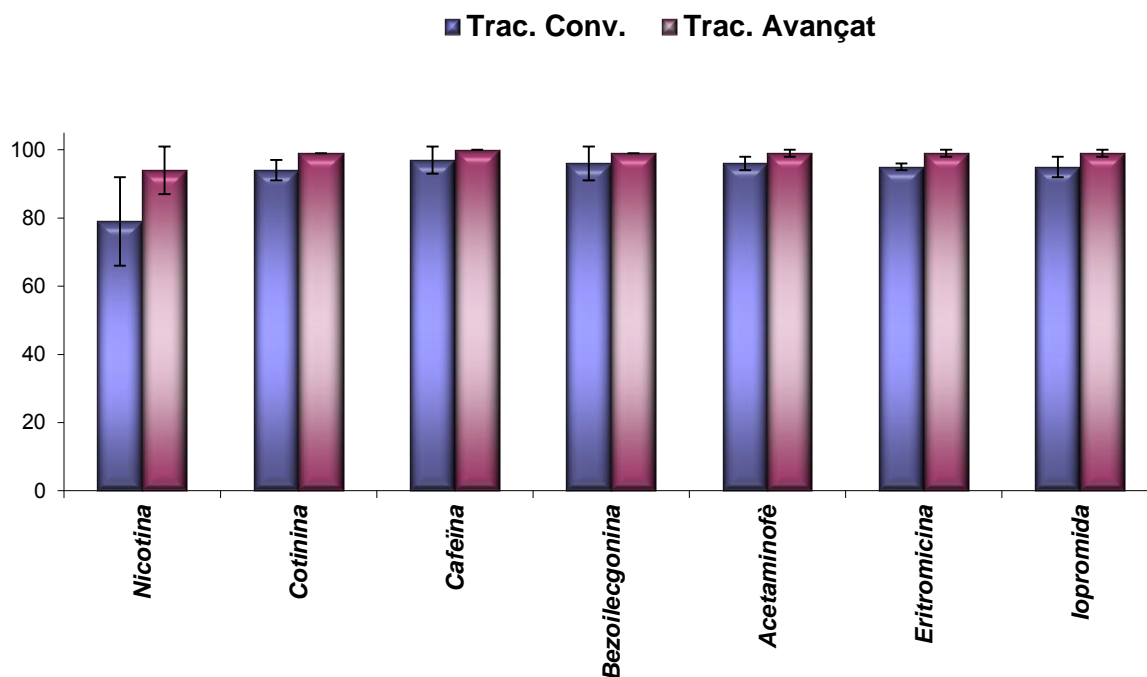
Els primers estudis d'aquesta tesi sobre la capacitat d'eliminació de drogues i fàrmacs en les plantes potabilitzadores es van dur a terme en una planta de tractament convencional (ETAP de Sant Joan Despí). En el primer treball (apartat 2.2.2), es va estudiar la presència de les drogues a les aigües del riu Llobregat a l'entrada i el seu comportament a la planta en diferents èpoques de l'any per tal de tenir en compte les variacions estacionals. Com s'ha comentat, el riu Llobregat és un riu mediterrani sotmès a variacions brusques de cabal, així per exemple en la setmana de la primavera que es va mostrejar, hi havia aproximadament un 25% més de cabal al riu que en la resta d'estacions de l'any. En general les concentracions més elevades es van trobar a l'hivern i a la tardor, per exemple per la codeïna i l'EDDP les concentracions foren un 60% més elevades (figura 3 apartat 2.2.2.). Aquest estudi va posar de manifest que les primeres etapes del tractament (precloració, floculació/sedimentació i decantació) permeten una eliminació pràcticament total dels dos cannabinoides estudiats i al voltant del 90% de la morfina, codeïna i norcodeïna. L'eliminació d'aquests opioides es pot explicar per una N-desmetil·liació en l'etapa de cloració (*Mitch and Schreiber, 2008*), però no és fins després de la ozonització que la morfina disminueix fins a valors de concentració per sota del límit de detecció. En canvi la codeïna, norcodeïna i el fentanil, desapareixen en l'etapa de filtració per carbó actiu. Pel que fa a la metadona i el seu metabòlit EDDP, tot i que la concentració disminueix, encara es detecten després de la postcloració (màxims de 1.7 i 2.9 ng/l respectivament). És a dir, els cannabinoides i opioides s'eliminen en el tractament excepte la metadona i l'EDDP, que tan sols s'eliminen en un 91% i 88% respectivament. Recentment, *Rodayan et al., 2015*, han estudiat l'eliminació d'alguna d'aquestes drogues en una potabilitzadora petita de Canadà (per 1800 persones), que té un tractament convencional bàsic (coagulació-floculació, filtració i desinfecció). En el seu cas no van detectar metadona i EDDP a l'aigua d'entrada a la planta i per tant, no es pot saber si l'haguessin eliminat o no, en canvi van trobar morfina codeïna i fentanil (eliminacions de 2%,

25% i 0% respectivament) a l'aigua tractada. Aquests resultats semblen concordar amb els nostres, doncs aquestes tres drogues no s'eliminaven al 100% fins haver passat per etapes de tractament més avançades (ozó i filtre de carbó). Pel que fa referència als fàrmacs, en el treball de l'apartat 3.2.1. comentat a l'apartat anterior es va posar de manifest que en el tractament convencional dut a terme a planta potabilitzadora, l'etapa de peroxidació amb diòxid de clor permet unes eliminacions elevades, superiors al 93% per als quatre fàrmacs detectats a l'aigua a l'entrada de la planta ibuprofè (96%), acetaminofè (96%), eritromicina (98%) i iopromida (93%). Precisament, dos d'aquests fàrmacs (ibuprofè i eritromicina) són els que es van detectar a les aigües potables espanyoles, com s'ha comentat en l'apartat anterior.

En el treball de l'apartat 3.2.3., s'estudia el comportament de les 12 de les drogues d'abús i dels 28 fàrmacs identificats (taula 1, de l'esmentat apartat) a l'aigua de l'entrada de l'ETAP de Sant Joan Despí en cada una de les etapes dels dos tractaments, el convencional i l'avançat. Després del pretractament i coagulació/floculació, decantació i filtre de sorra, dues de les drogues (MDMA i norbezoilecgonina), i 9 fàrmacs (àcid diatrizoic, iohexol, lincomicina, pravastatina, ranitidina, àcid salicílic, simvastatina, sulfadimetoxina, tilosina) han estat pràcticament eliminats ja que es troben a concentracions per sota dels LODs. A més, en el tractament convencional després de l'etapa d'ozonització ja no es detecten codeïna, ketamina, metadona, i norcodeïna, i dels fàrmacs ja només es detecten 6 compostos (acetaminofen, bezafibrat, eritromicina, gemfibrozil, ibuprofè, iopromide). Finalment després del filtre de carbó, ja només es detecten 4 drogues d'abús (benzoïlecgonina, cafeïna, cotinina i nicotina) i 3 fàrmacs (acetaminofè, eritromicina, iopromida), la qual cosa confirma els resultats dels estudis anteriors (apartat 3.2.1.). Cal esmentar que en aquest cas a diferència de l'estudi anterior (apartat 3.2.1.) tant la metadona com l'EDDP han estat eliminats en una proporció superior al 99%. Una possible explicació d'aquest fet, pot ser en nivell de concentracions a l'aigua a l'entrada de la potabilitzadora que en l'estudi previ era més elevat (1.9-9.4 ng/L metadona; 5.2-31.4 ng/L EDDP) que en l'estudi on es comparen els tractaments (apartat 3.2.3.; 1.7-3.0 ng/l metadona; 7.2-11.8 ng/L EDDP). Pel que fa al tractament avançat amb ultrafiltració i osmosi inversa, cal remarcar que després de la ultrafiltració es continuen trobant els mateixos compostos i a nivells de concentració molt semblants, fet que posa en evidència que la ultrafiltració no és el tractament adequat per l'eliminació d'aquest tipus de contaminants. En canvi, l'osmosi inversa és un procés de gran eficàcia per aquesta eliminació, ja que després d'aquesta etapa tan sols es van detectar cafeïna (<LOQ-9.5 ng/L), nicotina (<LOQ-6.3 ng/L), acetaminofè (1.3-3.8 ng/L) i eritromicina (1.1-2.0 ng/L). També es va detectar iopromida, però per sota del nivell de quantificació. A la figura 3.6. es resumeixen les eliminacions totals obtingudes en cadascun dels tractaments,

el convencional i l'avançat, per aquells compostos que no s'eliminen totalment en algun dels dos tipus de tractament. Només 7 de tots els compostos estudiats es van trobar a l'aigua tractada, en algun dels dos tipus de tractaments. En el convencional: benzoilecgonina, cafeïna, cotinina, nicotina, acetaminofè, eritromicina, iopromida. I en l'avançat, aquests mateixos encara que a concentracions més baixes (<10 ng/L en tots els casos), excepte benzoilecgonina, cotinina i iopromida que van ser totalment eliminats en l'etapa de l'osmosi inversa. A la figura 3.6., queda clar que tots dos tractaments són capaços d'eliminar aquests compostos per sobre de aproximadament un 80%, i que aquestes eliminacions són superiors si s'aplica el tractament avançat i a més, amb desviacions estàndard menors. Cal remarcar que aquests resultats aporten informació nova i molt important en referència al comportament d'aquests contaminants en els tractaments i posa de manifest la importància d'implementar tractaments avançats per tal de millorar l'eliminació de les drogues i els fàrmacs. De fet, la majoria dels treballs publicats a la bibliografia, donen resultats amb tractaments convencionals.

Les dades anteriors posen de manifest la importància del tipus de tractament en l'eliminació dels compostos i en aquest sentit, els estudis que s'estan realitzant sobre cloració o ozonització de drogues i fàrmacs i els productes de transformació generats, poden ajudar a entendre el comportament d'aquests compostos en el procés de potabilització. Per exemple, *Gonzalez –Mariño et al 2015*, han identificat 8 productes de transformació de la metadona i tres de l'EDDP en clorar aigua superficial que contenia aquests analits posant de manifest que la formació d'aquests subproductes pot contribuir a no trobar aquestes drogues en l'aigua tractada. De fet, les reaccions de substitució electrofílica amb clor són freqüents en molècules amb anells aromàtics activats així com la formació de cloramines a partir de molècules amb amines (*Postigo and Richardson, 2014*). La reacció del clor amb l'anell aromàtic dels opioïdes, també pot explicar la ràpida eliminació d'aquests després de la cloració, com per exemple, les elevades eliminacions (>85%) dels opioïdes i cannabinoides en la ETAP de Sant Joan Despí (apartat 2.2.2.) en la primera etapa amb pretractament amb clor i filtre de sorra. La reactivitat dels opioïdes amb el clor ha estat descrita per *Casale et al., 2009*, en un treball on estudiava els productes de transformació de l'heroïna obtinguts en una fabricació clandestina on s'utilitzava hipoclorit de sodi. Pel que fa referència als cannabinoides, *Boix et al., 2014*, han identificat 8 productes de transformació del THCCOOH després d'afegir clor a la concentració típica utilitzada en el tractament terciari d'aigües residuals (0,8 mg/L), 4 eren productes intermedis i els altres quatre eren productes estables i per tant, és plausible que en la potabilitzadora també es formin diversos productes de transformació dels cannabinoides després del pretractament amb clor i/o diòxid de clor.



Les barres d'error mostren les desviacions estàndard de les mitjanes.

Figura 3.6. Percentatge d'eliminació obtingut en tractaments convencionals i avançats.

Pel que fa referència a la família de les amfetamines aquestes reaccionen tant amb el clor com amb l'ozò. Per exemple, *Huerta-Fontela et al., (2012)* va identificar subproductes clorats del MDA, MDEA (3-clorobenzo-1,3-dioxole) i MDMA (3-clorocatecol) i això pot explicar l'eliminació del MDMA en el pretractament amb diòxid de clor, sedimentació i filtre de sorra (apartat 3.2.3). En relació amb la reacció amb l'ozò s'han identificat diversos productes de transformació del MDMA (*Rodayan et al., 2014*). Per tant en el cas de la planta de Sant Joan Despí que inclou una etapa intermèdia d'ozonització i un pretractament amb clor/diòxid de clor es d'esperar que no es trobin a l'aigua tractada. La família dels cocaínics és més difícil d'eliminar i de fet, en el nostre estudi s'ha trobat benzoilecgonina i cocaïna després de la primera etapa, (apartat 3.2.3.), resultats que estan en concordança amb les dades de la literatura (*Huerta-Fontela et al., 2008b*). Pel que fa a l'ozonització, la dosi d'oxidant aplicada o el temps de contacte d'aquest amb l'aigua és important i a més, la reactivitat està lligada amb el pH, de manera que a pH baixos la protonació de les amines evita l'oxidació (*Huber et al., 2005, Dodd and Huang, 2007, Zwiener et al., 2007*). En l'estudi de l'apartat 3.2.3., la cocaïna es va eliminar fins a una concentració màxima de 0,1 ng/l, en canvi la benzoilecgonina es va continuar trobant en totes les mostres (2.1-9.0 ng/L). Aquesta diferent reactivitat de la cocaïna i el seu principal metabòlit davant de l'ozó, es podria explicar per la diferència estructural entre les dues molècules. El grup ester de la cocaïna

s'ha hidrolitzat i el corresponent grup carboxílic de la benzoilecgonina redueix la reactivitat de l'anell amb l'ozó (*Rodayan et al., 2014*). Altres drogues com la nicotina, sobreviuen al tractament a la planta de Sant Joan Despí amb eliminacions que varien des de el 79 al 97% en els tractaments convencional i avançat, respectivament. Aquests resultats estan d'acord amb diversos estudis en els quals s'han identificat subproductes de transformació (halogenats i d'oxidació) de la nicotina (*Zarrelli et al., 2012; Postigo and Richardson, 2014*) i s'ha demostrat que la nicotina en contacte amb excés d'hipoclorit es degrada només en un 60% (*Zarrelli et al., 2012*), la qual cosa pot explicar que es pugui trobar al final del tractament.

En els estudis dels apartats 1.4.3. i 3.2.3. d'aquesta memòria, les reaccions dels fàrmacs amb els oxidants utilitzats en els tractaments, han estat ampliament emprades en la discussió. Per exemple, en els nostres estudis (apartats 3.2.1. i 3.2.3.), els fàrmacs del grup (J01), van ser eliminats totalment després de l'ozonització en el cas del tractament convencional, i després de l'osmosi inversa, en el cas del tractament avançat, a excepció de l'eritromicina que va quedar una concentració molt baixa (1.3-1.9 ng/L) en l'aigua tractada. La reaccionabilitat de l'ozó amb el grup amina terciària dels macròlids, com l'eritromicina (*Lange et al., 2006; Luiz et al., 2010*) permeten explicar aquest comportament. De fet, *Cai et al., 2015*, en un estudi d'una planta amb un tractament convencional com el nostre amb una etapa d'ozonització aconsegueix eliminar l'eritromicina posant de manifest que aquesta és la etapa més efectiva. Molts dels fàrmacs d'aquest grup també reaccionen amb el diòxid de clor (*Deborde and von Gunten, 2008*). Això explicaria eliminacions >90% després de la primera etapa, pretractament amb diòxid de clor seguit de sedimentació i filtre de sorra, amb excepció de l'eritromicina (84%).

Els fàrmacs antiinflamatoris i antireumàtics (M01) i analgèsics (N02) també són oxidats. Així per exemple l'acetaminofè, reacciona amb el clor donant productes clorats i d'oxidació (*Glassmeyer and Shoemaker, 2005; Bedner and MacCrehan, 2006*) i per l'àcid salicílic, s'han identificat productes de cloració i si en el medi hi ha present ió bromur, com és el cas de l'aigua del riu Llobregat, poden generar els homòlegs bromats (*Quintana et al., 2010*). Un comportament semblant està descrit pel naproxè, pel qual també es troben derivats clorats i bromats després d'exposar-lo al clor (*Quintana et al., 2010*). Un dels antiinflamatoris més coneguts, el diclofenac, reacciona tant amb el clor (*Quintana et al., 2010; Soufan et al., 2012*) com amb l'ozó (*Sein et al., 2008; Westerhoff et al., 2005*). Així, la reactivitat d'aquesta família de fàrmacs davant dels oxidants utilitzats en els tractaments explica les eliminacions pràcticament totals del diclofenac, naproxè o àcid salicílic (apartat 3.2.3.).

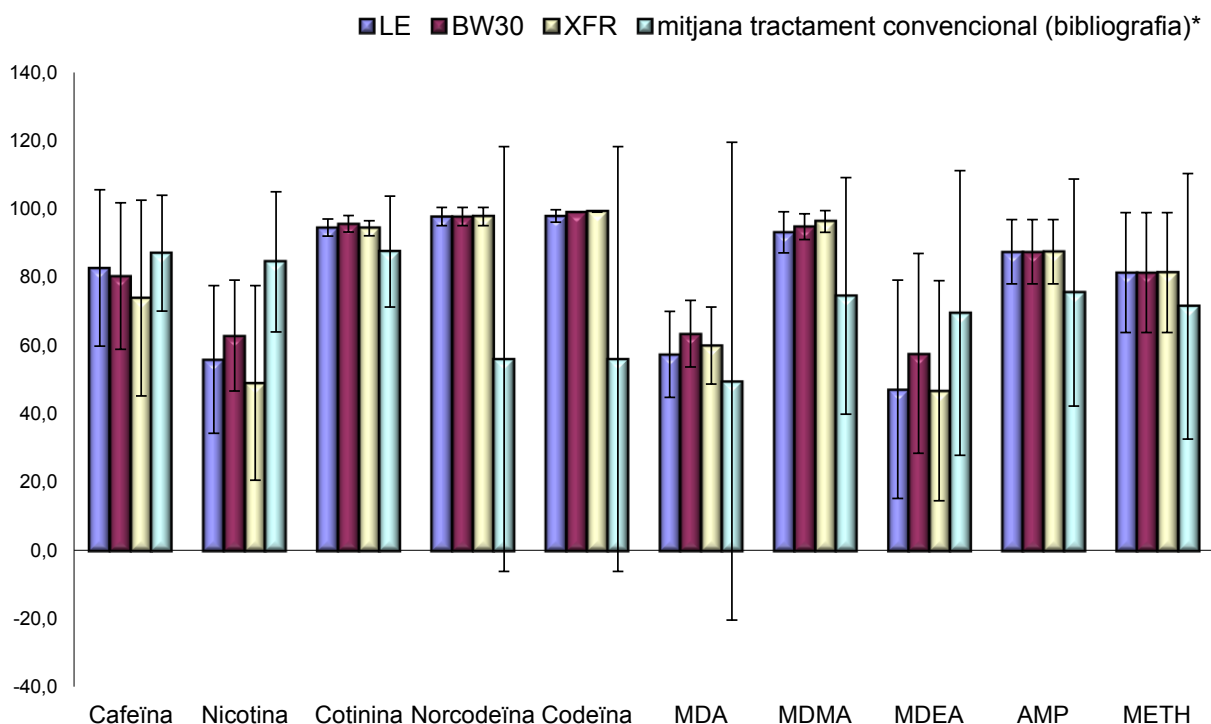
La família d'agents modificadors de lípids (C10), ja s'ha comentat que reaccionen amb el clor mitjançant una substitució electrofílica en l'anell aromàtic. Per exemple el gemfibrozil, un compost representatiu d'aquest grup, dona lloc a quatre productes (*Krkosek et al., 2011; Soufan et al., 2012*), i en tots els nostres estudis (apartat 3.2.1. i 3.2.3.), es va eliminar al 100%, la qual cosa indica que no cal esperar la seva presència en l'aigua tractada. Un compost que no es va eliminar totalment en els nostres estudis es el fàrmac de contrast iopromida. Els compostos d'aquesta família contenen àtoms d'iode i amides units a un anell benzènic, que poden reaccionar amb el clor. De fet està descrit que amb contacte amb aquest oxidant es produeixen productes altament tòxics com els iodo-trihalometans o els àcids iodo-acètics (*Duirk et al., 2011*). Però l'eliminació de iopromida amb contacte amb el clor varia entre el 5% i el 35% depenent de la dosi de clor mentre que amb l'ozó és del 64% (*Westerhoff et al., 2005*). En tots els nostres estudis vàrem trobar que no s'eliminava totalment, encara que es van obtenir eliminacions entre el 93% i el 99%. Tot això ens duu a concloure, que aquesta família de compostos s'ha de controlar i seguir investigant la seva presència i transformació durant els tractaments.

Tanmateix, recentment s'han publicat reculls bibliogràfics i altres estudis que investiguen les reaccions durant els tractaments i els possibles productes de transformació, que complementen i expliquen la presència o absència d'algun dels fàrmacs estudiats en les aigües. (*Hernandez et al., 2014; Postigo and Richardson, 2014; Wang et al 2014*).

En aquesta tesi, i per completar l'estudi dels avantatges que pot comportar la utilització de procediments avançats de tractaments d'aigües, a més d'estudiar l'efecte d'un tractament avançat (ultrafiltració i osmosi inversa) enlloc d'un de convencional (amb ozonització i filtre de carbó) en una planta de tractament d'aigua potable, s'ha avaluat l'aplicació de tècniques de membrana (osmosi inversa) en el tractament d'aigües residuals. Aquest estudi s'ha dut a terme en col·laboració amb l'empresa Dow Chemical interessada en conèixer la capacitat de membranes de diferent tipus per a l'eliminació de drogues d'abús en aigües residuals (apartat 3.2.2). A diferència de la major part dels treballs de la literatura que s'han dut a terme a escala de laboratori i emprant aigua addicionada, l'estudi d'aquesta tesi s'ha realitzat en una planta pilot, que tractava aigua de sortida del tractament secundari d'una depuradora municipal (EDAR Vilaseca-Salou), que consisteix en un pretractament, un tractament primari, un tractament secundari biològic, i de un terciari que inclou cloració. Durant l'estudi l'aigua que resulta del tractament secundari es desviava a una planta pilot en la que es duia a terme l'osmosi inversa. L'objectiu principal del treball era avaluar l'efecte de l'osmosi inversa emprant tres tipus de membranes diferents, que es van situar en paral·lel,

de manera que tenien la mateixa aigua d'entrada. Les tres membranes eren de poliamida i són comunament utilitzades en tractaments d'aigües residuals, però tenen diferències estructurals de fabricació, que comporten que una operi a baixa pressió i per tant és de baixa energia (LE), una altra permet una eliminació elevada i una alta producció i es adequada per al tractament d'aigües d'elevada salinitat (d'alta energia) (BW30) i una tercera d'alta resistència a les incrustacions ("fouling") (XFR). Per dur a terme aquest estudi es van seleccionar 10 drogues d'abús: Cafeïna, nicotina, cotinina, norcodeïna, codeïna, i la família de les amfetamines (amfetamina, MDA,MDMA, MDEA i METH) i es van fer 6 campanyes de mostreig durant un any, d'estiu a estiu. Precisament durant l'època d'estiu, aquesta EDAR experimenta un gran augment d'aportació d'aigües residuals, degut a que està en una zona de la costa catalana molt turística. A la figura 3.7., es mostren els valors dels percentatges d'eliminació de les drogues seleccionades emprant el procediment esmentat amb cadascuna de les membranes i el valor mitjà de les dades de la bibliografia emprant tractaments convencionals d'aigües residuals.

%Eliminació mitjana



* Bibliografia: Buerge et al., 2003; Thomas and Foster, 2005; Castiglioni et al., 2006; Hummel et al.,2006; articles apartats 2.2.1 i 2.2.2.; Huerta-Fontela et al., 2009; Postigo et al., 2010; Zuccato et al., 2010. Les barres d'error mostren les desviacions estàndard de les mitjanes.

Figura 3.7. Percentatge d'eliminació en el tractament convencional i amb les membranes d'OI.

En general, es van detectar concentracions més elevades a l'estiu, i també en aquesta època es van obtenir millors eliminacions. L'estudi de presència estacional de les drogues de l'apartat 2.2.2., es va dur a terme emprant aigua superficial i no en residual, però tot i així la tendència de trobar concentracions més baixes a l'estiu és la mateixa, ja que l'augment de temperatura afavoreix la degradació natural dels compostos en l'aigua. Això, junt amb l'augment d'aportació degut a l'increment de població en aquesta època, ha comportat que en aquest estudi (apartat 3.2.2.) s'observi un increment de concentracions just en l'època de l'estiu.

A la figura 3.7., s'observa que l'eliminació dels compostos amfetamínics en EDARs amb tractaments convencionals obtinguts a partir de les dades de la bibliografia es molt variable (veure barres error figura 3.7.). Tot i així les dades poden servir, per comparar els tractaments convencionals amb els avançats. En general, les eliminacions són superiors si s'empren les membranes d'osmosi inversa la qual cosa posa de manifest l'avantatge d'utilitzar aquesta tècnica per al tractament d'aigües residuals. S'han publicat estudis, (*Bellona et al., 2004; Ng and Elimelech, 2004; Kim et al., 2007; Verliefe et al., 2007*), on es posa de manifest que paràmetres com el pes molecular (>100 per totes les drogues seleccionades), la hidrofobicitat, el pKa, la càrrega, el pH, la concentració, la composició química i el contingut en sals de l'aigua d'entrada així com l'obstrucció de la superfície de la membrana (fouling), juguen un paper important a l'hora de predir i explicar l'eliminació i comportament dels contaminants en les membranes, tot i que el que sí està clar és que millora respecte els tractaments convencionals.

Cal esmentar que les eliminacions obtingudes amb els tres tipus de membranes d'OI emprades en la planta pilot són semblants de manera que es proposa emprar la membrana d'osmosi inversa de baixa energia per a l'eliminació de les drogues d'abús ja que la seva utilització resultarà més econòmica especialment pel que fa referència al consum energètic.

Recentment, *Rodríguez-Mozaz et al., 2015*, han publicat un treball semblant al d'aquesta tesi, en el que estudien el comportament i l'eliminació de fàrmacs i pesticides de l'aigua que prové del tractament secundari en una depuradora en una planta pilot on s'utilitzen membranes de microfiltració seguides de membranes d'osmosi inversa. El tractament previ (primari + secundari), no elimina totalment aquests contaminants, la qual cosa justifica, com és també el cas del nostre estudi, la utilització d'un tractament terciari amb membranes que permet millorar molt l'eliminació de tots els compostos estudiats, ja que troben un màxim de tant sols 16 ng/L d'ibuprofè a la sortida de l'etapa d'osmosi.

D'altra banda, com s'ha comentat a l'apartat 3.1, darrerament ha augmentat el nombre de publicacions on s'apliquen combinacions de membranes (per exemple: FO-OI o OI-FO), i on es discuteixen sobretot els pros i contres d'una o altra combinació i en alguns casos s'estudia l'eliminació de contaminants orgànics, però avui en dia encara no hi ha publicats més treballs on s'estudiï l'eliminació de drogues d'abús emprant a aquest tipus de membranes.

3.4. Conclusions.

Les conclusions dels estudis que han estat exposats en aquest capítol, són les següents:

Respecte a la metodologia d'anàlisi dels fàrmacs

- Es proposa utilitzar una extracció en fase sòlida seguida de l'anàlisi per UPLC-MS/MS per a l'extracció, preconcentració i determinació de 53 fàrmacs en aigua superficial i potable.
- La metodologia optimitzada ha demostrat ser reproducible, precisa i robusta, per aplicar en l'anàlisi de fàrmacs en aigües a nivells de concentració de traça (ppb-ppt). Els límits de quantificació del mètode en ambdós tipus d'aigua es troben entre els 0.2 i els 40 ng/L.
- El valor de la incertesa associada a la mesura de la concentració per cada un dels fàrmacs en aplicar la metodologia desenvolupada,- imprescindible per obtenir una bona interpretació de la mesura - i calculada a partir de les dades de la validació, es situa entre el 6% i el 23% i posa de manifest l'aplicabilitat del mètode. L'etapa del procediment amb una major contribució en la incertesa és la reproductibilitat.

Respecte a la presència dels fàrmacs en aigües potables

- Dels 53 fàrmacs analitzats, només se n'han detectat 5 en aigües potables espanyoles: ibuprofè (màx. 18.5 ng/L); azitromicina (màx. 9.5 ng/L); claritromicina (màx. 2.2 ng/L); eritromicina (màx. 1.5 ng/L) i sulfametoxazole (màx. 1.4 ng/L). Es proposa emprar l'espectrometria de masses d'alta resolució per confirmar la presència de l'ibuprofè atès que tan sols genera un ió de fragmentació en CID.

- La re-anàlisi dels extractes de les mostres positives en ibuprofè emprant espectrometria de masses d'alta resolució (Q-Orbitrap) va posar de manifest que els ions producte més abundants d'aquest compost depenen de la configuració de l'instrument. Els analitzadors amb tecnologia d'emmagatzemament d'ions (tipus trampa d'ions) permeten observar pèrdues addicionals degudes a processos de cinètica lenta i en conseqüència els ions producte són diferents (m/z 159 enlloc de m/z 161).

Respecte al comportament de les drogues d'abús i els fàrmacs en els nous tractaments en aigües superficials i residuals.

- Només 4 drogues (morfina, codeïna, EDDP i metadona) de les 11 estudiades i 10 fàrmacs dels 53 estudiats (4 del grup J01, 4 del M01, 1 del C01 i 1 del V08), s'han detectat a l'aigua superficial a l'entrada de la potabilitzadora de Sant Joan Despí. En general, les concentracions han estat més elevades a l'hivern i a la tardor.
- Els tractaments que es duen a terme a l'ETAP de Sant Joan Despí, permeten l'eliminació de la major part de les drogues d'abús i dels fàrmacs que entren a la planta. Només 7 compostos (benzoïlecgonina, cafeïna, cotinina, nicotina, acetaminofè, eritromicina, iopromida) s'han detectat a la sortida d'alguns dels dos tractaments. L'eliminació, la reactivitat i la transformació dels fàrmacs durant els diferents tractaments, expliquen la baixa presència i concentració d'aquests compostos en les aigües tractades en potabilitzadores.
- El tractament convencional (amb ozonització i filtre de carbó), mostra eliminacions per aquests 7 compostos >94%. El tractament avançat (amb membranes d'ultrafiltració i osmosi inversa), millora aquestes eliminacions fins a 99%, a excepció de la nicotina que en els dos tipus de tractament s'elimina el 79% i 94% respectivament, i per tant, en tots els casos les eliminacions són millors en el tractament avançat.
- Els resultats obtinguts en tots els estudis duts a terme en la planta de Sant Joan Despí posen de manifest que només uns pocs compostos s'han detectat en l'aigua tractada, i que aquests estan a nivells molt baixos, i per tant garanteixen l'eficiència

dels tractaments duts a terme en la potabilitzadora, per aquest tipus de contaminants.

- S'ha demostrat que la utilització de l'osmosi inversa en una planta pilot d'aigües residuals urbanes, ha permès augmentar considerablement l'efectivitat del tractament (rebutjos entre 47% i 99%). Els tres tipus de membranes de poliamida avaluats, han proporcionat eliminacions similars de les drogues d'abús estudiades (cafeïna, nicotina, cotinina, codeïna, norcodeïna, MDA, MDMA, MDEA). En conseqüència es proposa utilitzar la membrana que requereix menys energia a fi de disminuir els costos.

4. CONCLUSIONS FINALS

En aquesta memòria s'ha desenvolupat metodologia analítica per la determinació de drogues d'abús i fàrmacs en aigües residuals, superficials i potables. Això ha permès, avaluar la presència d'aquests contaminants en depuradores de Catalunya, en el riu Llobregat i en aigües de distribució de les principals ciutats espanyoles i d'altres països. A més, s'ha estudiat el seu comportament en els tractaments d'aigües residuals i d'aigües potables, en concret els aplicats en l'estació de tractament de Sant Joan Despí d'Aigües de Barcelona S.A. Les principals conclusions a les que s'ha arribat són les següents:

1. Les **metodologies analítiques** de multiresidu desenvolupades, que es basen en SPE-UPLC-MS/MS, han permès:

- ❖ La determinació conjunta de 29 drogues d'abús en aigües amb una separació cromatogràfica ràpida (cromatogrames complets en menys de 9 min.), sensible (límits de detecció a nivell dels pocs ng/L), precisa (desviació estàndard relativa <10%), selectiva (utilització d'espectrometria de masses en tàndem) i fiable (dos ions producte de confirmació).
- ❖ Disposar d'un mètode per a la determinació conjunta de 53 fàrmacs en aigües, amb uns límits de quantificació baixos (0.2-40 ng/L) per a la major part dels fàrmacs i adequat per detectar aquests compostos en aigües potables. Les incerteses obtingudes per aquest mètode (<23%) avalen la seva utilització en l'anàlisi de mostres amb aquests nivells de concentració.
- ❖ Posar de manifest l'avantatge d'utilitzar l'espectrometria de masses d'alta resolució que, a més de confirmar la presència d'ibuprofè en mostres d'aigua potable, explica el diferent comportament que presenta en analitzadors d'espectrometria de masses de diferent configuració.

2. L'anàlisi de **drogues d'abús en aigües residuals**, ha permès arribar a les conclusions següents:

- ❖ S'ha detectat, per primer cop a Espanya, la presència de drogues d'abús, cannabinoides i opioides, en aigües residuals a les entrades de depuradores catalanes. S'ha demostrat que l'eliminació és incompleta en la majoria de les EDARs, i fins i tot que augmenta la concentració d'alguns metabòlits durant el tractament, la qual cosa comporta que la majoria de les drogues detectades a l'entrada estiguin presents a les sortides de les depuradores.
- ❖ Es confirma que les dades de concentració en les aigües residuals poden ser utilitzades per a calcular el nivell de consum de drogues, ja que el nivell de consum d'heroïna i cànnabis avaluat a partir de les concentracions a l'entrada de la depuradora del Prat de Llobregat (heroïna 0,67% i cànnabis 0.4% de la població), està en concordança amb els nivells publicats per fonts oficials.
- ❖ La utilització d'osmosi inversa permet reduir considerablement (40-99%) la presència de drogues d'abús en aigües residuals. A més, s'ha posat de manifest que l'eliminació de les drogues és independent del tipus de membrana d'osmosi inversa (de baixa energia, d'elevat rebuig i d'elevada resistència a l'obturació) emprada, la qual cosa ha permès proposar la utilització de membranes de baixa energia per a l'eliminació d'aquestes drogues.

3. L'anàlisi de **drogues d'abús i fàrmacs en aigües superficials i potables**, ha permès arribar a les següents conclusions:

- ❖ S'ha detectat la presència de drogues d'abús (morfina, codeïna, norcodeïna, EDDP, metadona i THCCOOH) i fàrmacs (de les famílies d'antiinflamatoris/analgèsics (M01 i N02), antibacterians (J01), agents modificadors de lípids (C10) i fàrmacs de contrast per raig X (V08)) en el riu Llobregat, essent el punt de màxima concentració la riera de Rubí.
- ❖ En general les concentracions, tant de les drogues com dels fàrmacs, en les aigües superficials presenten un comportament estacional, essent en general a l'hivern i a la tardor quan aquestes són més altes. Aquest comportament pot explicar-se per una major degradació a l'estiu i/o un major consum a l'hivern.

- ❖ L'estudi de presència de drogues d'abús en aigües potables de distribució en les principals ciutats espanyoles i en algunes d'altres països, ha demostrat que algun d'aquests contaminants pot arribar a les aixetes dels consumidors, encara que a concentracions mitjanes molt baixes (<0.5 ng/L).
- ❖ Dels 53 fàrmacs analitzats, només se n'han detectat 5 en aigües potables espanyoles (Ibuprofè, azitromicina, claritromicina, eritromicina i sulfametoxazole), i de drogues d'abús s'ha detectat en totes les mostres espanyoles la cafeïna i la nicotina, mentre que en les mostres sud-americanes s'han detectat quantitats destacables de benzoilecgonina (màx. 15 ng/L).

4. Els estudis del **comportament de les drogues d'abús i els fàrmacs al llarg dels tractaments en la ETAP de Sant Joan Despí**, ens han permès concloure:

- ❖ El tractament convencional de l'ETAP de Sant Joan Despí (amb ozonització i filtre de carbó) permet una eliminació completa de totes les drogues i dels fàrmacs, a excepció de la metadona, l'EDDP, l'ibuprofè, l'acetaminofè, l'eritromicina i la iopromida, que romanen en l'aigua encara que s'han eliminat entre el 88% i el 98%.
- ❖ El tractament avançat, amb membranes d'ultrafiltració i osmosi inversa, permet augmentar el percentatge d'eliminació de tots els compostos, que arriba a ser d'un 15% en el cas de la nicotina respecte el tractament convencional.

Finalment hom pot concloure, que les metodologies analítiques desenvolupades, les eines avançades de detecció de les drogues d'abús i els fàrmacs utilitzades, així com els resultats obtinguts en els diferents estudis duts a terme en aquesta tesi, han permès adquirir un ampli coneixement sobre la presència i comportament d'aquests contaminants en les diferents matrius d'aigua, així com demostrar l'elevada eficiència dels tractaments aplicats a la potabilitzadora de Sant Joan Despí.

5. REFERÈNCIES

- Abellan M.N., Gebhardt W., Schroder H.F. 2008. Detection and identification of degradation products of sulfamethoxazole by means of LC/MS-MSⁿ after ozone treatment, *Water Sci. Technol.* 58: 1803–1812.
- Aceró JL, Benítez FJ, Real FJ, Roldán G. 2010. Kinetics of aqueous chlorination of some pharmaceuticals and their elimination from water matrices. *Water Res.* 44, 4158-4170
- Aigües de Barcelona. *Monografia. Planta de Tractament del riu Llobregat a Sant Joan Despí.*
Aigües *de* *Barcelona.*
<http://www.aiguesdebarcelona.cat/documents/10540/21743/monograf%C3%ADa.pdf/cd3f9d97-4d40-4a55-801f-f62695e790b3>
- Andrés-Costa M.J., Rubio-López N., Suarez-Varela M.M., Pico Y. 2014. Occurrence and removal of drugs of abuse in Wastewater Treatment Plants of Valencia (Spain). *Env. Pollut.* 194: 152-162.
- Antoniou MG, Hey G, Rodriguez Vega S, Spiliotopoulou A, Fick J, Tysklind M, la Cour Jansen J, Andersen HR 2013. Required ozone doses for removing pharmaceuticals from wastewater effluents. *Sci. Total Environ.* 456-457, 42-49.
- Alemany J., Balaguer M.D., Bonmatí A., Colprim J., Comas J., Martín M.J., Poch M., Rigola M., Ros A., Turon C., Rodríguez-Roda I., Alcalde L., Folch M., Huertas E., Salgot M., Tàpias M.J., Torrens A., Coscolluela S. 2007. *Tecnologies de tractament. Cap 3. en Gestió i tractament d'aigües residuals.* Ed: Balaguer M.D., Puig M.A., Salgot M., Sánchez-Marrè M., Turon C. Univ. Girona (ISBN: 978-84-8458-260-1)
- Al-Odaini N.A., Zakaria M.P., Yaziz M.I., Surif S. 2010. Multi-residue analytical method for human pharmaceuticals and synthetic hormones in river water and sewage effluents by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1217, 6791-6806.
- Ashton D., Hilton m., Thomas K.H. 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total. Environ.* 333:186-184
- ATC Code: <http://www.atccode.com/>
- Bagnati R., Davoli E. 2011. Analytical methods for the detection of illicit drugs in waste waters and surface waters. Cap. 3 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry.* Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R.©. John Wiley & Sons, Inc.
- Backhaus T, Karlsson M. 2014. Screening level mixture risk assessment of pharmaceuticals in STP effluents. *Water Research* 49: 157-165

- Baker D.R., Kasprzyk-Hordern B. 2011. Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1218(12):1620-1631.
- Baker D.R., Kasprzyk-Hordern B. 2011. 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., Ocenásková V., Kvicálová M., Kasprzyk-Hordern B. 2012. Drugs of abuse in wastewater and suspended particulate matter – Further developments in sewage epidemiology. *Env. Inter.*, 48: 28-38.
- Baker D.R., Barron L., Kasprzyk-Hordern B. 2014. Illicit and pharmaceutical drug consumption estimated via wastewater analysis. Part A: Chemical analysis and drug use estimates. *Sci. of Total Env.*, 487: 629-641.
- Baselt R. C. 2004. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 7th edition.. Biomedical Publications.
- Bedner M, MacCrehan WA. 2006. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine *Environ. Sci. Technol.* 40, 516-522.
- Bellona C., Drewes J.E., Amy P. Xu, G. 2004. Factors affecting the rejection of organic solutes during NF/RO treatment—a literature review. *Water Res.* 38; 2795-2809.
- Benitez FJ, Acero J.L., Real FJ, Roldan G. 2009 Ozonation of pharmaceutical compounds: Rate constants and elimination in various water matrices. *Chemosphere* 77.
- Berset, JD., Brenneisen R., Mathieu C. 2010. Analysis of licit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectroscopy (HPLC-MS/MS). *Chemosphere*, 81: 859-866.
- Bijlsma L, Sancho JV., Pitarch E, Ibáñez M, Hernández 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." *Journal of Chromatography A*, 1216(15):3078-3089.
- Bijlsma L, Sancho JV., Hernández F., Niessen W.M.A. 2011. Fragmentation pathways of drugs of abuse and their metabolites based on QTOF MS/MS and MS^E accurate mass spectra. *J. Mass Spectrom.*, 46: 865-875.

- Boix C, Ibañez, M, Sancho, JV, Niessen WMA, Hernandez, F. 2013. Investigating the presence of omeprazole in waters by liquid chromatography coupled to low and high resolution mass spectrometry: degradation experiments. *J. Mass Spectrom.* 48, 1091-1100.
- Boix C., Ibañez M., Bijlsma L., Sancho JV., 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.
- Bones Jonathan, Macka Mirek, and Paull Brett. 2007a. Evaluation of monolithic and sub 2 µm 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.
- Bones J., Thomas K., Paull B. 2007b. Using environmental analytical data to estimate levels of community consumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J. Environ. Monit.*, 9:701-7.
- Boxall, A.B.A., Monteiro, S.C., Fussell, R., Williams, R.J., Bruemer, J., Greenwood, R., Bersuder, P. 2011. Targeted monitoring for human pharmaceuticals in vulnerable source and final waters. Drinking Water Inspectorate (DWI) project n° WD0805 (ref DWI 70/2/231). pp 107.
- Boyd GR, Zhang S, Grimm DA 2005. Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes *Water Res.* 39, 668-676.
- Bulloch DN, Lavado, R., Forsgren, K.L., Beni, S., Schlenk, D., Larive, C.K. 2012. Analytical and biological characterization of halogenated gemfibrozil produced through chlorination of wastewater *Environmental Science and Technology* 46, 5583-5589.
- Cai M-Q., Wang R., Feng L., Zhang L-Q. 2015. Determination of selected pharmaceuticals in tap water and drinking water treatment plant by high-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometer in Beijing, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 1854-1867.
- Camilleri J., Baudot R., Wiest L., Vulliet E., Cren-Olivé C., Daniele G. 2014. Multiresidue fully automated online SPE-HPLC-MS/MS method for the quantification of endocrine-disrupting and pharmaceutical compounds at trace level in surface water. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 95(1):67-81.
- Carmona E., Andreu V., Picó Y. 2014. Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: From waste to drinking water. *Sci. Total. Env.* 484: 53-63.
- Casale J.F., Toske S:G:, Hays P.A. 2009. Chlorinated Opium Alkaloid Derivatives Produced by the Use of Aqueous Sodium Hypochlorite During the Clandestine Manufacture of Heroin. *J. Forensic Sci.* 54 (2): 359-364.

- 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(24):8421-8429.
- Castiglioni S., Zuccato E., Crisci E., Chiabrando C., Fanelli R., and Bagnati R. 2006b. Oslo. Workshop on the Environmental, 24 November.
- Castiglioni S., Zuccato E. 2011. Occurrence of illicit drugs in wastewater and surface water in Italy. Cap. 7 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R. © 2011. John Wiley & Sons, Inc.
- Castiglioni S., Bijlsma L., Covaci A., Emke E., Hernández F., Reid M., Ort C., Thomas K.V., van Nuijs A.L.N., Voogt P., Zuccati E. 2013. Evaluation of uncertainties associated with the determination of community drug use through the measurement of sewage drug biomarkers. *Env. Sci. & Technol.* , 47 (3), pp 1452–1460.
- Chiaia Aurea C., Banta-Green Caleb, and Field Jennifer. 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 & Technology*, 42(23):8841-8848.
- Choo R.E., Murphy C.M., Jones H.E., Huestis M.A., J. 2005. Determination of methadone, 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine, 2-ethyl-5-methyl-3,3-diphenylpyrrolidine and methadone in meconium by liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* , , 814:369-373.
- Coday BD, Yaffe BGM, Xu P, Cath TY. 2014b. Rejection of Trace Organic Compounds by Forward Osmosis Membranes: A Literature Review. *Environmental Science & Technology* 48, 3612-3624
- Contaminant Candidate List Available: <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/dws/ccl/>
- Contaminants emergents. 2011. Ed. Diputació Barcelona. Documents de treball, sèrie medi ambient n°5. (http://www1.diba.cat/llibreria/lstDetall_Publicacions.asp?Opener=Libreria&ID=49136)
- Coleman, Michael D. Human 2010. *Drug Metabolism. An Introduction*. Second Edition. Wiley-Blackwell.
- De Voogt P., Emke E., Helmus R., Panteliadis P., Van Leerdam JA. 2011. Determination of illicit drugs in the water cycle by LC-Orbitrap MS. Cap. 5 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R. © 2011. John Wiley & Sons, Inc.

- Díaz-Cruz, S and Barceló D. 2004 Occurrence and analysis of selected pharmaceuticals and metabolites as contaminants present in wastewaters, sludge and sediments. *Handb Environ Chem* 5:227–260.
- Daughton, C.G and Ternes, T.A. 1999. "Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?" *Environ. Health Perspect.* 107(suppl6) 907-938.
- 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 consequence. In *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and regulatory issues*. ACS Symposium series 791, American Chemical Society, Washington, DC; capitol 20: 348-364.
- Daughton C.G. 2002. Environmental stewardship and drugs as pollutants, *Lancet*, 360 1035-1036. available: <http://epa.gov/nerlesd1/chemistry/pharma/images/lancet-final.pdf>.
- Daughton, C.G. 2007. Pharmaceuticals in the environment: sources and their management. In: Ch 1. Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle. *Comprehensive Analytical Chemistry Vol 50*. Ed. Petrovic and Barceló. Elsevier.
- Daughton, C.G. 2010. Pharmaceutical ingredients in drinking water: Overview of occurrence and significance of human exposure. pp 1-65. In "Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations". ACS Symposium Series, Vol. 1048. Chapter 2, pp 9–68.
- Daughton, C.G., Scuderi, M.S.T 2013. Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs): Relevant Literature. U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV (a comprehensive database of literature references; first implemented 19 February 2008); available: <http://www.epa.gov/ppcp/lit.html>.
- Daughton, C.G., Scuderi, M.S.T 2015. "Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs): Relevant Literature," U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV (a comprehensive database of literature references; first implemented 19 February 2008); available: <http://www.epa.gov/ppcp/lit.html>.
- 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, 13-51.
- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy.
- Dodd M.C., Huang C.H. 2007. Aqueous chlorination of the antibacterial agent trimethoprim: reaction kinetics and pathways, *Water Res.* 41: 647–655.
- Duirk S.E., Lindell C., Cornelison C.C., Kormos J., Ternes T.A., Attene-Ramos M., Osiol 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: 6845–6854.
- EU, 2013. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. *Off. J. Eur. Commun.* L226/1., 1-17.
- EurEau, 2014. Schmidt C. Outcome of an inquiry on pharmaceutical residues in drinking water resources (European surface waters) among members of the EurEau Commission on Drinking Water. Reference: EU1-140919-7.4
- European Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning analytical methods and interpretation of results. 2002. *Off. J. Eur. Commun.* 221, 8-36.
- European Commission 2012. Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. COM(2011) 876 final.
- European Commission Implementing Decision (EU) 2015/495. Establishing a watch list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council.
- Evgenidou E.N., Konstantinou I.K., Lambropoulou D.A. 2015. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. *Sci. Total. Env.* 505: 905-926.
- Fatta-Kassinos D, Meric S, Nikolaou A. 2011. Pharmaceutical residues in environmental Waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Anal Bioanal Chem* 399:251–275.
- Fedorova G, Randak T, Lindberg R H, Grabic R. 2013. Comparison of quantitative performance of a Q-Exactive high-resolution mass spectrometer for the analysis of illicit drugs in wastewater. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 27: 1751-1762.
- Gaffney V de J., Almeida C.M.M., Rodrigues A., Ferreira E., Benoliel M.J., Cardoso V.V. 2015. Occurrence of pharmaceuticals in water supply system and related human risk assessment. *Water Res.* 72:199-208.
- Gardner M., Comber S., Scrimshaw M.D., Cartmell E., Lester J., Ellor B. 2012 The significance of hazardous chemicals in wastewater treatment works effluents. *Sci. Total Environ.* 437: 363-372.
- Gardner M., Jones V., Comber S., Scrimshaw M.D., Coello-Garcia T., Cartmell E., Lester J., Ellor B. 2013 Performance of UK wastewater treatment works with respect to trace contaminants. *Sci. Total Environ.* 456-457: 359-369.
- Garrison, AW, Pope, JD, Allen, Fr. In Keith 1976. CH ed. Identification and Analysis of Organic Pollutants in Water. Ann Arbor Sci. Ann Arbor. USA.

- Georghe A., van Nuijs A., Pecceu B., L., Jorens P. G., Blust R., H., 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.
- Giri RR, Ozaki, H., Ota, S., Takanami, R., Taniguchi, S. 2010. Degradation of common pharmaceuticals and personal care products in mixed solutions by advanced oxidation techniques *International Journal Environmental Science and Technology* 7, 251-260.
- Glassmeyer, S. T., Shoemaker J. A. 2005. Effects of Chlorination on the Persistence of Pharmaceuticals in the Environment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 74:24–1
- Gomez V., Majamaa K., Pocurull E., Borrull F. 2012 Determination of organic micropollutants in reverse osmosis treatment for advanced water reuse. *Wat. Sci. and Technol.* 66:1: 61-71.
- González-Mariño, I., Quintana, J.B., Rodríguez, I., Cela, R. 2010. Determination of drugs of abuse in water by solid-phase extraction derivatisation and gas chromatography-ion trap-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* , 1217: 1748-1760.
- González-Mariño, I., Quintana, J.B., Rodríguez, I., González-Díez M., Cela, R. 2012. Screening and selective quantification of illicit drugs in wastewater by mixed mode solid phase extraction and quadrupole time-of-flight liquid chromatography mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 84:1708:1717.
- González-Mariño I, Quintana JB, Rodríguez I, Cores M, Cela R 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.
- Gracia-Lor E., Ibáñez M., Zamora T., Sancho LV., Hernández F. 2014. Investigation of pharmaceutical metabolites in environmental waters by LC-MS/MS. *Environ. Sci. Poll. Res.* 21(8):5496-5510.
- Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D. 2006. Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70: 678-690.
- Gros, M., Rodríguez-Mozaz, S., Barceló, D. 2013. 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. *J. of Chromatogr. A.* 1248: 104-121.
- Hancock NT, Xu P, Heil DM, Bellona C, Cath TY 2011. Comprehensive Bench- and Pilot- Scale Investigation of Trace Organic Compounds Rejection by Forward Osmosis. *Environmental Science & Technology* 45, 8483-8490.

- Hapeshi E., Gros M., Lopez-Serna R., Boleda M.R., Ventura F., Petrovic M., Fatta-Kassinos D. 2015. Licit and illicit drugs in urban wastewater in Cyprus. Accepted Article doi: 10.1002/clen.201400483
- Hernández F., Bijlsma L., Sancho J.V., Díaz R., Ibáñez M. 2011. Rapid wide-scope screening of drugs of abuse, prescription drugs with potential for abuse and their metabolites in influent and effluent urban wastewater by ultrahigh pressure liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 684: 96-106.
- Hernández F., Sancho J.V., Bijlsma L. Wide-scope screening of illicit drugs in urban wastewater by UPLC-QTOF MS. Cap. 4 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R. © 2011. John Wiley & Sons, Inc.
- Hernández F., Ibáñez M., Bade R., Bijlsma L., 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.
- Hey G, Grabic, R., Iedín, A., la Cour Jansen, J., Andersen, H.R. (2012): Oxidation of pharmaceuticals by chlorine dioxide in biologically treated wastewater *Chemical Engineering Journal* 185– 186, 236– 242.
- Hignite, C, Azarnoff, DL. 1977. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. *Life Sci.* 20: 337-341.
- Hogenboom A.C., van Leerdam J.A., de Voogt P. 2009. Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(3):510-9.
- Huang C.H., Dodd M.C., Shah A.D. 2008. Reaction and transformation of antibacterial agents with aqueous chlorine under relevant water treatment conditions, in: Aga D.S. (Ed.), *Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems*, CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, 2008, pp.261–290.
- Huber M, Canonica, S., Park, G-Y., von Gunten, U. 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes *Environmental Science and Technology*. 37, 1016-1024.
- Huber M, Korhonen, S., Ternes, T.A., von Gunten, U. 2005. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide *Water Research* 39, 3607-3617.
- 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(10):3821-3829.

- Huerta-Fontela M., Galceran M. T., Martin-Alonso J., Ventura F. 2008a. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Science of the Total Environment*, 397(1-3):31-40.
- Huerta-Fontela M., Galceran M.T., Ventura F. 2008b. Stimulator y Drugs of Abuse in Surface Waters and Their Removal in a Conventional Drinking Water Treatment Plant. *Environmental Science & Technology*, 42(18):6809-6816.
- Huerta-Fontela M., Galceran M.T., Ventura F. 2011. Presence and removal of illicit drugs in conventional drinking water treatment plants, In: *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R.© 2011. John Wiley & Sons, Inc. pp. 205–222.
- Huerta-Fontela M., Pineda O., Ventura F., Galceran M.T. 2012. New chlorinated amphetamine-type-stimulants disinfection-by-products formed during drinking water treatment. *Water Research*, 46(10):3304-14.
- 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. *Environmental Science & Technology*, 40(23):7321-7328.
- Hughes S.R., Kay P., Brown L.E. 2013. Global synthesis and critical evaluation of pharmaceutical data sets collected from river systems. *Environ. Sci. Technol.*, 47: 661-667.
- Irvine R.J. Kostakis C., Felgate P.D., Jaehne E.J., Chen C., White J.M. 2011. Population drug use in Australia: a wastewater analysis. *Forensic Sci. Int.*; 210: 69-73.
- Jones, O.A., Lester, J.N., Voulvoulis, N.. 2005. Pharmaceuticals: a threat to drinking water?. *Trends in Biotechnology*., 23(4): 163-167.
- 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.
- Jurado A., Mastroianni N., Vázquez-Suñé E., Carrera J., Tubau I., Pujades E. 2012a. Drugs of abuse in urban groundwater. A case of study: Barcelona. *Sci. of Total Env.*, 424: 280-288
- Jurado A., Vázquez-Suñé E., Carrera J., López de Alda M., Pujades E., Barceló D. 2012b. Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in European context. *Sci. of Total Env.*, 440: 82-94.
- Karolak S., Nefau T., Bailly E., ASolgard A., Levi Y. 2010. Estimation of illicit drugs consumption by waste waters analysis in Paris area (France). *Forensic Sci. Int.*; 200: 153-160.

- Karthikeyan K.G., Meyer M.T. 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Sci Total Environ* 361:196–207.
- 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." *Journal of Chromatography A*, 1161(1-2):132-145.
- Kasprzyk-Hordern Barbara, Dinsdale Richard M., and Guwy Alan J. 2008a. Multiresidue methods for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(4):1293-1308.
- 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.
- Kethan S.K., Collins T.J. 2007. Human Pharmaceuticals in Aquatic Environment: A Challenge to Green Chemistry. *Chem. Rev.*, 107, 2319-2364.
- Khan M.H., Bae H., Jung J.Y. 2010. Tetracycline degradation by ozonation in the aqueous phase: proposed degradation intermediates and pathway, *J. Hazard. Mater.* 181: 659–665.
- Khan U, van Nuijs A L.N., Li J., Maho W, Dua P., Li K., Houa L., Zhang J, Meng X., Li X., Covaci A. 2014. Application of a sewage-based approach to assess the use of ten illicit drugs in four Chinese megacities. *Sci Total Environ*. Jan 30. pii: S0048-9697(14)00052-7. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.043.
- Khan U., Nicell J. 2015. Human health relevance of pharmaceutically active compounds in drinking water. *The AAOS J.* 17 (3): 558-583.
- Kim T.U., Drewes J.E., Scott Summers R., Amy G.L. 2007. Solute transport model for trace organic neutral and charged compounds through nanofiltration and reverse osmosis membranes. *Water Research* 41(17): 3977-3988.
- Koshland museum <https://www.koshland-science-museum.org/water/html/en/Treatment/Membrane-Processes-technologies.html#tech4tractament>,
- Kosma CI, Lambropoulou DA, Albanis TA. 2014. Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: occurrence, removal and environmental risk assessment. *Sci Total Environ*;466–467:421–38.

- Krkosek WH, Koziar, S.A., White, R.L., Gagnon, G.A. 2011. Identification of reaction products from reactions of free chlorine with the lipid-regulator gemfibrozil *Water Research* 45, 1414-1422.
- Lai F.Y., Ort C., Gartner C., Carter S., Prichard J., Kirkbride P., Bruno R., Hall W., Eaglesham G., Mueller J. F. Refining the estimation of illicit drug consumptions from wastewater analysis: Co.analysis of prescription pharmaceuticals and uncertainty assessment. *Water Research* 2011, 45: 4437-4448.
- Laloup, M. Ramirez Fernandez, M. Wood, G.De Boeck, C. Henquet, V. Maes, N. Samyn, Quantitative analysis of delta9-tetrahydrocannabinol in preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1082 (2005) 15-24
- Lange F., Cornelissen S., Kubac D., Sein M.M., von Sonntag J., Hannich C.B., Golloch A., Heipieper H.J., Moder M., von Sonntag C. 2006. Degradation of macrolide antibiotics by ozone: a mechanistic case study with clarithromycin, *Chemo-sphere* 65: 17–23.
- Lapworth, D.J., Baran, N., Stuart, M.E., Ward, R.S. 2012. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ. Pollut.* 163: 287-303.
- Lee HB, Peart TE, Svoboda ML. 2005. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A*; 1094:122–9.
- Li, W.C. 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environ. Pollut.* 187: 193-201.
- Lin A.Y.C., Tsai Y.T. 2009. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Sci Total Environ*;407:3793–802
- Loos, R., Locoro, G., Comero, S., Contini, S., Schwesig, D., Werres, F., Balsa, P., Gans, O., Weiss, S., Blaha, L., Bolchi, M., Gawlik, B.M. (2010). Pan-European survey on the occurrence of selected polar organic persistent pollutants in ground water. *Water Res.* 44:4115-4126.
- López-Serna R., Pérez S., Ginebreda A., Petrović M., Barceló D. 2010. Fully automated determination of 74 pharmaceuticals in environmental and waste waters by online solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta.* 83: 410-424.
- Luiz D.B., Genena A.K., Virmond E., Jose H.J., Moreira R., Gebhardt W., Schroder H.F. 2010. Identification of degradation products of erythromycin arising from ozone and advanced oxidation process treatment, *Water Environ. Res.* 82: 797–805.
- Lutchmiah K, Verliefde ARD, Roest K, Rietveld LC, Cornelissen ER 2014. Forward osmosis for application in wastewater treatment: A review. *Water Research* 58, 179-197

- Mackulak T., Skubák J., Grabic R., Ryba J., Birosová L., Fedorova G., Spalková V., Bodík I. 2014. National study of illicit drug use in Slovakia based on wastewater analysis. *Sci. Total Env.*; 494-495: 158-165.
- Maralikova B, Weinmann, W. 2004b. Confirmatory analysis for drugs of abuse in plasma and urine by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry with respect to criteria for compound identification *J. Chromatogr. B*, 811: 21-30
- Mari F., Politi I., Biggeti A., Acceta G., Trignano C., Padua MD. 2009. Cocaine and heroin in wastewater plant: a 1 year study in the city of Florence, Italy. *Forensic Sci. Int.*, 189: 88-92.
- Marcé R., Honey-Rosés J., Manzano A., Moragas L., Catllar B., and Sabater S. 2012. The Llobregat River Basin: A Paradigm of Impaired Rivers Under Climate Change Threats. In S. Sabater et al. (eds.), *The Llobregat: The Story of a Polluted Mediterranean River*, *Hdb Env Chem*, DOI 10.1007/698_2012_152, # Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012©
- Martín J., Camacho-Muñoz D., Santos JL., Aparicio I., Alonso E. 2012. Occurrence of pharmaceuticals compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *J. Hazard. Mater.* 239-240: 40-47.
- Martínez-Bueno MJ., Uclés S., Hernando MD., Fernandez-Alba AR. 2011a. Development of a solvent free method for simultaneous identification/quantification of drugs of abuse and their metabolites in environmental water by LC-MS/MS. *Talanta*, 85: 157-166.
- Martinez-Bueno M.J.M, Uclés S., Hernando M.D., Dávoli E., Fernández-Alba A.R. 2011b. 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 Res*;45:2331–41.
- McAvoy DC, Schatowitz B, Jacob M, Hauk A, Eckhoff WS 2002. Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21, 1323-1329.
- Melis, M. Castiglioni, S., Zuccato, E. Metabolism and excretion of illicit drugs in humans Cap. 2 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R.© 2011. John Wiley & Sons, Inc.
- Mendoza A., Lopez de Alda M., González-Alonso S, Mastroianni N., Barceló D., 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., Lopez de Alda M., Barceló D., Valcárcel Y. 2014b. Drugs of abuse and benzodiazepines in Madrid region

- (central Spain): Seasonal variations in river waters, occurrence in tap water and potential environmental and human risk. *Environment International*, 70: 76-87.
- Mengual J.L., Khayet M., Godino M.P. 2005. Tratamiento de aguas mediante técnicas de membrana. *Ingeniería Química*. Enero. 184-195.
- Metcalfe C., Tindale K., Li H., Rodayan A., Yargeau V. 2010. Illicit drugs in Canadian municipal wastewater and estimates of community drugs use. *Environ. Pollut.*, 158: 3179-3185.
- Mitch, W.A.; Schreiber, I.M. 2008. Degradation of tertiary alkylamines during chlorination/chloramination: Implications for formation of aldehydes, nitriles, halonitroalkanes and nitrosamines. *Environ. Sci. Technol.* 42: 4811-4817.
- Mohammad A.W., Teow Y.H., Ang W.L., Chung Y.T., Oatley-Radcliffe D.L., Hilal N. 2015. Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. *Desalination* 356: 226-254.
- Monteiro, S.C., Boxall, A.B.A. 2010. Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the aquatic environment. *Reviews Environ. Contam. Toxicol.* Whitacre, D.M. ed. Springer New York. 202, 53-154.
- Mompelat, S., Le Bot, B., Thomas, O. 2009. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ. Internat.* 35: 803-814.
- Nakada N, Shinohara, H., Murata, A., Kiri, K., Managaki, S., Sato, N., Takada, H. 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 Research* 41, 4373-4382.
- National Academy of Sciences. Safe drinking waters is essential. Treatment. Membrane process. <https://www.koshland-science-museum.org/water/html/en/Treatment/Membrane-Processes-technologies.html#tech4tractament>
- Nefau T., Karolak S., Castillo L., Boireau V., Levi Y. 2013. Presence of illicit drugs in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drugs consumption in France. *Sci. Total Environ.*, 461-462: 712-722.
- Ng H.Y., and Elimelech M. 2004. Influence of colloidal fouling on rejection of trace organic contaminants by reverse osmosis. *J. Membrane Sci.* 244 (1-2): 215-226.
- Ontario MOE. Survey of the Occurrence of Pharmaceuticals and Other Emerging Contaminants in Untreated Source and Finished Drinking Water in Ontario. Ontario Ministry of the Environment (MOE), Canada, 2010, 31 pp; <http://www.ene.gov.on.ca/publications/7269e.pdf>.
- Orias F, Perrodin Y. 2014. Pharmaceuticals in hospital wastewater: Their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. *Chemosphere*. 115: 31–39.

- Ort C, van Nuijs A.L.N., Berset J.-D., Bijlsma L., Castiglioni S., Covaci, A., de Voogt P., Emke E., Fatta-Kassinos D., Griffiths P., Hernández F., González-Mariño I., Grabic R., Kasprzyk-Hordern B., Mastroianni N., Meierjohann A., Nefau T., Östman M.P, Pico Y.Q, Racamonde I.J., Reid M.R., Slobodnik J.S., Terzic S., Thomaidis N., Thomas K.V. 2014. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction* 109, 1338-1352.
- Ortiz de García S, Pinto Pinto G, García Encina P, Irusta Mata R. 2013. Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. *Science of The Total Environment* 444, 451- 465
- Osorio V., Imbert-Bouchard M., Zonja B., Abad JL., Pérez S., Barceló D. 2014. Simultaneous determination of diclofenac, its human metabolites and microbial nitration/nitrosation transformation products in wastewaters by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr. A* 1347: 63-71.
- Östman M, Fick J, Näsström E, Lindberg RH 2014. A snapshot of illicit drug use in Sweden acquired through sewage water analysis. *Science of The Total Environment* 472, 862-871.
- Pal R., Megharaj M., Kirkbride K.P. 2013. Naidu R. Illicit drugs and the environmental – A Review. *Sci. of Total Environ.*, 463-464: 1079-1092.
- Pauwels B, Verstraete W. 2006. Treatment of hospital wastewater: an appraisal. *J. Of Water and Health* 04.4, 405-416.
- Pedrouzo M., Borrull F., Pocurull E., Marcé RM. 2011. Drugs of abuse and their metabolites in waste and surface waters by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Sep. Sci.*, 34: 1091-1101.
- Pérez S, Barceló D. 2008. First evidence for occurrence of hydroxylated human metabolites of diclofenac and aceclofenac in wastewater using QqLIT-MS and QqTOF-MS. *Anal Chem*;80:8135-45
- Petri B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. 2015. A review on emerging contaminants in wastewaters and environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring.
- Petrovic M., Lopez de Alda MJ, Diaz-Cruz S., Posyigo C., Radjenovic J., Gros M., Barceló D. 2009 Fate and removal of pharmaceuticals and illicit drugs in conventional and membrane reactor wastewater treatment plants and riverbank filtration. *Phil. Trans. R. Soc. A* , 367, 3979-4003.
- Petrovic M., Postigo C., Lopez de Alda MJ, Ginebreda A., Gros M., Radjenovic J., Barceló D. 2010. Occurrence and fate of pharmaceuticals and illicit drugs under water scarcity. In *Water scarcity in Mediterranean: Perspectives under global change* Hdb Env Chem, 197-228. Ed. Sabater S., Barceló D. ©Springer.

- Petrovic M 2014. Methodological challenges of multi- residue analysis of pharmaceuticals in environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 1, e25-e33
- Postigo C., Lopez de Alda M. J., and Barceló D. 2008b. 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., López 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., de Alda MJ., Barceló D 2011a. Occurrence of illicit drugs in wastewater in Spain Cap. 6 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R.©. John Wiley & Sons, Inc.
- Postigo C., de Alda MJ., Barceló D. 2011b. Evaluation of drugs of abuse and trends in a prison through wastewater analysis. *Environ. Int.*, 37:49-55.
- Postigo C., Richardson S.D. 2014. Review: Transformation of pharmaceuticals during oxidation/disinfection processes in drinking water treatment. *J. Hazardous Materials* 279: 461-475.
- Queiroz F B., Brant E M F., Aquino S F., Chernicharo A I., Afonso J C F. 2012. Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw sewage and their behavior in UASB reactors operated at different hydraulic retention times. *Wat. Sci. Technol.* 66.12: 2562-2569.
- Quintana JB, Rodil, R., Lopez-Mahia, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodriguez, D. 2010. Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-product formation aided by an experimental design methodology. *Water Research* 44, 243-255.
- Radjenovic J., Godehardt M., Petrovic M., Hein A., Farre M., Jekel M., Barcelo D., 2009. Evidencing generation of persistent ozonation products of antibiotics roxithromycin and trimethoprim, *Environ. Sci. Technol.* 43: 6808–6815.
- Regula C., Carretier E., Wyart Y., Gésan-Guizieu G., Vicent A., Boudot D., Moulin P. 2014. Chemical cleaning/disinfection and ageing of organic UF membranes: A review. *Water Research* 56: 325-365.
- Repice C., Dal Grande M., Maggi R., Pedrazzani R. 2013. Licit and illicit drugs in a wastewater treatment plant in Verona, Italy. *Sci. Of Total Environ.* 463-464:27-34.
- Richardson and Ternes, 2014. *Water analysis: Emerging Contaminants and Current Issues*. *Anal Chem* (2014) 86: 2813-2848.

- Roberts P.H., Thomas K.V. 2006. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci. of the Total Environ.* 356,143– 153.
- Rodayan A., Segura P.A., Yargeau V. 2014. Ozonation of wastewater: Removal and transformation products of drugs of abuse. *Sci Total Environ.* 487:763-70.
- Rodil R., Quintana J.B., Reemtsma T. 2005. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Determination of Nonionic Organophosphorus Flame Retardants and Plasticizers in Wastewater Samples. *Anal. Chem.*, 77: 3083-3089.
- Rodriguez-Mozaz S., Ricart M., Köck-Schulmeyer M., Guasch H., Bonninau C., Proia L., Lopez de Alda M., Sabater S., Barceló D. 2015. Pharmaceuticals and pesticides in reclaimed water: Efficiency assessment of microfiltration-reverse osmosis (MF_RO) pilot plant. *J. Hazardous Materials* 282: 165-173.
- Rosal R, Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A., Fernández-Alba, A. 2010. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation *Water Research* 44, 578-588.
- Sancho J.V., Pozo O J, Hernández F. 2000. Direct determination of chlorpyrifos and its main metabolite 3,5, 6-trichloro-2-pyridinol in human serum and urine by coupled-column liquid chromatography/electrospray-tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* , 14(16):1485-90
- Schwab BW, Hayes EP, Fiori JM, Mastrocco FJ, Roden NM, Cragin D, Meyerhoff RD, D'Aco VJ, Anderson PD. 2005. Human pharmaceuticals in US surface waters: A human health risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol*, 42(3):296–312.
- Sein M.M., Zedda M., Tuerk J., Schmidt T.C., Golloch A., von Sonntag C. 2008. Oxidation of diclofenac with ozone in aqueous solution, *Environ. Sci. Technol.* 42 6656–6662.
- Senta I, Krizman I, Ahel M, Terzic S. 2013. Integrated procedure for multiresidue analysis of dissolved and particulate drugs in municipal wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 405: 3255-3268.
- Shaffer DL, Werber JR, Jaramillo H, Lin S, Elimelech M 2015. Forward osmosis: Where are we now? *Desalination* 356, 271-284.
- Shah A.D., Kim J-H, Huang C-H 2006, Reaction kinetics and transformation of carbadox and structurally related compounds with aqueous chlorine *Environmental Science and Technology* 40, 7228-7235.
- Simazaki D, Fujiwara, J., Manabe, S., Matsuda, M., Asami, M., Kunikane, S. 2008. Removal of selected pharmaceuticals by chlorination coagulation-sedimentation and powdered activated carbon treatment. *Water Science and Technology* 58, 1129-1135.

- Simazaki D., Kubota R., Suzuki T., Akiba M., Nishimura T., Kunikane S. 2015. Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. *Water Res.* 76:187-200.
- Snyder SA. 2008. Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in water *Ozone, Science and Engineering* 30, 65-69.
- Soufan M., Deborde M., Legube B. 2012. Aqueous chlorination of diclofenac: kinetic study and transformation products identification, *Water Res.* 46: 3377–3386.
- Stamatis N.K., Konstantinou I.K. 2013. Occurrence and removal of emerging pharmaceutical, personal care compounds and caffeine tracer in municipal sewage treatment plant in Western Greece. *J Environ Sci Health B*;48:800–13.
- Stülten D, Lamshöft M, Zühlke S, Spiteller M. 2008. Isolation and characterization of a new human urinary metabolite of diclofenac applying LC–NMR–MS and high-resolution mass analyses. *J Pharm Biomed Anal*; 47:371–6
- Swinyard EA, Miyahara, J.T., Goodman, L.S. 1963 Effect of chlorination on the anticonvulsant activity of phenobarbital *Journal of Pharmaceutical Sciences* 52, 463-465.
- Ternes T. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and Rivers *Water Res.* 32(11): 3245-3260.
- Ternes T. and Hirsch R. 2000. Occurrence and behaviour of X-ray contrast media in sewage facilities and the aquatic environment. *Environ. Sci. Technol.* 34: 2741-2748.
- Ternes T. 2001a. Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton CG. And Jones-Leep T (eds), American Chemistry Society, Symposium series 791, Whashington D. C. pp 39-54.
- Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher F, Brauch HJ, Gulde BH, Preuss G, Wilme U, Seibert NZ. 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment *Environmental Science and Technology* 36, 3855–3863.
- Terzic, S., Senta, I., Ahel, M. 2010. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia). Estimation of drug abuse in a transition country. *Environ. Pollut.*, 158, 2686-2693.
- Thomas K., bijlsma L., Castiglioni S., Covaci A., Emke E., Roman G., Hernández F., Karolak S., Kasprzyk-Horden B., Lindberg R.H., Lopez de Alda M., Meierjohann A., Ort C., Pico Y., Quintana J. B., Reid M., Rieckermann J., Terzic S., van Nuijs A.L.N., Voogt P. 2012. Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Sci. of total Env.*, 432: 432-439.
- UNODC (United Nations Office of Drugs and Crime). 2004. Drug report. Volume 2. Statistics. http://www.unodc.org/pdf/WDR_2004/methodology.pdf
- UNODC, World Drug Report 2013 (United Nations publication, Sales No. E.13.XI.6).. <http://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/WDR-2013.html>

- Valcárcel Y, Martínez F, González-Alonso S., Segura Y., Catalá M., Molina R., J.C. Montero-Rubio J.C., Mastroianni N., López de Alda M., Postigo C., Barceló D. 2012. Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: Heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. *Environ. Int.*, 41, 35–43.
- Valladares Linares R, Yangali- Quintanilla V, Li Z, Amy G 2011 Rejection of micropollutants by clean and fouled forward osmosis membrane. *Water Research* 45, 6737-6744
- van der Aa M., Bijlsma L., Emke E., Dijkman E., van Nuijs A.L.N., van de Ven B., Hernández F., Versteegh A., de Voogt P. 2013. Risk assessment for drugs of abuse in the Dutch watercycle. *Water Research*, 47: 1848-1857.
- van der Hoek J.P., Bertelkamp C., Verliefde A.R.D., Singhal N. 2014. Practical Paper. Drinking water treatment technologies in Europe: state of the art-challenges-research needs. *J. Water Sup. Res. And Tech. AQUA* 63.2, 124-130.
- van Nuijs A., Tarcomnicu I., Bervoets L., Blust R., Jorens PG., Neels H. 2009a. Analysis of drugs of abuse in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 395: 819-828.
- van Nuijs A., Castiglioni S., Tarcomnicu I., Postigo C., Lopez de Alda M., Neels H., Zuccato E., Barcelo D., Covaci A. 2011a. Illicit drugs consumption estimations derived from wastewater analysis: A critical review. *Sci. Tot. Env.*, 409: 3564-3577.
- van Nuijs A., Mougel JF., Tarcomnicu I., Bervoets L., Blust R., Jorens PG., 2011b. One year investigation of occurrence of illicit drugs in wastewaters from Brussels, Belgium. *J. Environ. Monit.*, 13: 2851-2864.
- van Nuijs A., Abdellati K., Bervoets L., Blust R., Jorens PG., Neels H., Covaci A. 2012. The stability of illicit drugs and metabolites in wastewater, an important issue for sewage epidemiology? *J. Hazardous Mat.*, 239-240: 19-23.
- Vanderford BJ, Snyder SA. 2006. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environ Sci Technol*;40:7312–20.
- Vasquez MI, Lambrianides A, Schneider M, Kümmerer K, Fatta-Kassinos D 2014. Environmental side effects of pharmaceutical cocktails: What we know and what we should know. *Journal of Hazardous Materials* 279, 169-189.
- Vazquez-Roig P., Andreu V., Blasco C., 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) *Anal Bioanal. Chem.*, 397:2851-2864.
- Verlicchi P, Al Aukidy M, Zambello E. 2012.: Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—A review. *Science of The Total Environment* 429: 123-155.
- Verlicchi P, Al Aukidy M, Jelic A, Petrović M, Barceló D. 2014. Comparison of measured and predicted concentrations of selected pharmaceuticals in wastewater and surface

- water: A case study of a catchment area in the Po Valley (Italy). *Science of The Total Environment* 470–471: 844-854.
- Verliefde A., Cornelissen E., Amy G., Van der Bruggen B., Van Dijk H. 2007. Influence of electrostatic interactions on the rejection with NF and assessment of the removal efficiency during NF/GAC treatment of pharmaceutically active compounds in surface water. *Environ. Pollut.* 146: 281-289.
- Vogna DM, R.; Napolitano, A.; Andreozzi, R.; d'Ischia, M. 2004. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. *Water Research* 38, 414-422.
- Von Gunten U. 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation *Water Research* 37, 1443-1467.
- Wang P., He Y.L., Huang C.H. 2011. Reactions of tetracycline antibiotics with chlorinedioxide and free chlorine, *Water Res.* 45: 1838–1846.
- Wang Y., Liu H., Liu G., Xie Y. 2014. Oxidation of diclofenac by aqueous chlorine dioxide: identification of major disinfection byproducts and toxicity evaluation, *Sci.Total Environ.* 473–474: 437–445.
- Webb S, Ternes T, Gibert M, Olejniczak K. 2003. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol Lett*, 142:157–167.
- 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. *Environmental Science and Technology* 39, 6649-6663.
- WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2013. Oslo 2012.
- Wick A., Fink G., Joss A., Siegrist H., Ternes TA. 2009. Fate of beta blockers and psychoactive drugs in conventional wastewater treatment. *Water Res.* 43:1060-1074.
- Weigel S, Berger U, Jensen E, Kallenborn R, Thoresen H, H€uhnerfuss H. 2004. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. *Chemosphere*;56:583–92.
- Williams RT. 2005. Human health pharmaceuticals in the environment: an introduction. In: Williams RT (ed) *Human pharmaceuticals: assessing the impacts on aquatic ecosystems*, Allen Press/ACG Publishing, 1–45.
- Yargeau V., Taylor B., Li H., Rodayan A., Metcalfe C.D. 2014. Analysis of drugs of abuse in wastewater from two Canadian cities. *Sci. Total. Environ.* 487: 722-730.
- Zarrelli A., DellaGreca M., Parolisi A., Lesce M.R., Cermola F., Temussi F., Isidori M., Lavorgna M., Passananti M., Previtiera L. 2012. Chemical fate and genotoxic risk associated with hypochlorite treatment of nicotine, *Sci. Total Environ.* 426: 132–138.

- Zwiener C. 2007. Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Anal Bioanal Chem* 387:1159–1162.
- Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R. 2005a. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard Mater* 122: 205-209.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Calamari D, Bagnati R, Schiarea S, Fanelli R. 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor community drug abuse. *Environ Health: A Global Access Science Source*, 4:14.
- Zuccato E, Chiabrando C, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R. 2008a Estimating Community Drug Abuse by Wastewater Analysis. *Environ Health Perspectives*, 116(8): 1027–1032.
- Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Chiabrando C, Grassi P, Fanelli R. 2008b. Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants. *Water Res.*, 42:961-968.
- Zuccato E., Castiglioni S. 2011. Assessing illicit drug consumption by wastewater analysis: History, potential, and limitation of a novel approach. Cap. 16 in *Illicit Drugs in the environment: Occurrence, Analysis and Fate Using Mass Spectrometry*. Edited by Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R.©. John Wiley & Sons, Inc.