

BILAGA 1

MATERIAL & METOD

BILAGA 1: MATERIAL OCH METOD

Provtagningsdatum

Provtagning omgång 1	2024-05-29 till 2024-06-04
Provtagning omgång 2	2024-09-18 till 2024-09-24

Provtagningsplatser & provtagning

Provtagning

Provtagningen genomfördes i samarbete mellan Stockholm vatten och avlopp (SVOA) och ELiVA mätteknik AB. Provtagningsplatser valdes ut av Stockholms stad i samråd med SVOA 2023. RISE och ELiVA mätteknik AB deltog som rådgivare i val av mätpunkter (ARV och PST). För mätningar 2024 valdes att använda samma mätplatser som tidigare år med ett undantag (Sundby) för att kunna jämföra resultaten. Mät punkt Sundby är ändrad då den gamla pumpstationen är tagen ur drift och en nybyggd pumpstation togs i drift 2024. Kungsholms hamnplan kunde inte provtas i september pga. ett skyddsstopp. Varje pumpstation besöktes en gång per dag för uttag av prov samt för att kontrollera att provtagningen fungerade. Avloppsvattenproverna från Henriksdal och Bromma togs av SVOAs personal i samband med ordinarie provtagning på reningsverket. Efter provtagning förvarades proverna i -20°C.

Prover

Den 5 juni 2024 mottog RISE 42 enskilda avloppsvattenprover som samlats in under perioden 29 maj till 5 juni 2024 vid pumpstationerna (PST) Karl XII Västra, Karl XII Östra, Kungsholms hamnplan, Södra Mälarstrand, Rågsved och Sundby. Ytterligare 36 enskilda avloppsvattenprover mottogs samtidigt, insamlade under samma period vid Henriksdal (två inlopp: Henriksdal och Sickla) och Bromma (tre inlopp: Järva, Hässelby och Riksby). Då dygnsprover ej gick att erhålla från de tre inloppen till Bromma (endast samlingsprov för helg erhöles) togs även dygnsprover vid det gemensamma inloppet till Bromma (BIN). Den 24 september 2024 mottog RISE prover från provtagningsomgång 2 (2024-09-18 till 2024-09-24), totalt 71 prover, tagna på samma sätt och platser som under provtagningsomgång 1. Samtliga insamlade prover var dygnsprover med undantag för prover tagna vid de tre inloppen till Bromma (samlingsprov över helgen). Respektive prov fick vid ankomst till RISE ett unikt prov-ID (fullständig provöversikt kan ses i Bilaga II), och förvarades sedan i -20°C fram till analystillfället. Proverna från Sickla var reservprover ifall någon av pumpstationerna visade sig inte vara lämplig. Prover analyserades vid sex tillfällen (batch 1 – 6) för narkotika och tre tillfällen för doping under totalt tre veckor.

Referenssubstanser

För kvantifiering av respektive substans användes kalibratorer innehållande inköpta referenssubstanser med kända halter av de i analysplattformen ingående narkotikapreparaten: amfetamin, metamfetamin, kokain, bensoylekgonin, MDMA, THCA, 6-MAM, ketamin, tramadol, O-DM-tramadol, klormetkatinon och kotinin. För kvantifiering av respektive substans användes isotopmärkta analoger (Interna standarder, IS). Följande IS användes: d5-amfetamin, d5-metamfetamin, d3-kokain, d3-bensoylekgonin, d5-MDMA, d3-THCA, d3-6-MAM, d4-ketamin, ¹³C1-d3-tramadol, d6-O-DM-tramadol samt d3-kotinin. Intern standard tillsätts alla prov i konstant mängd för att kompensera för förluster som kan uppstå vid t.ex. provupparbetning, indunstning etc.

Instrument & Analys

Proverna analyserades med vätskekromatografi-tandem masspektrometri (UPLC-MS/MS). Analyterna separerades kromatografiskt på en Acquity UPLC Phenyl-kolonn (1.7µm, 2.1x150 mm) genom gradienteluerung. LC-MS/MS-systemet som användes var en AcquityTM UPLC kopplad till en XevoTM TQS trippel-kvadrupol masspektrometer (Waters). Detektionen skedde med electrospray-jonisering (ESI) och Multiple Reaction Monitoring (MRM), där specifika joner, precursorjon och produktjon, valdes ut för varje substans. Samtliga substanser analyserades som positiva joner. Eftersom halten av respektive substans i avloppsprov varierar genomfördes två individuella injektioner per prov, där provet i den andra injektionen hade späts 1:10.

Provupparbetning

Inkommande avloppsvatten är en väldigt komplex matris, full av föroreningar. Analyserna av intresse är dessutom väldigt utspädda. Provupparbetningen syftade till att rena och koncentrera det vatten som ska analyseras. Utöver avloppsvattenproverna upparbetas kalibratorer, QC-prover (kvalitetskontroller), blankprov och nollprov. Initialt centrifugerades avloppsvattenproverna och 5 mL av supernatanten användes sedan för analysen. Till referensproven användes 5 mL MilliQ-vatten. Intern standard tillsattes alla prov, varefter proven renades med hjälp av fast-fas-extraktion (Oasis HLB). Substanserna eluerades ut från fast-fas-kolonnen med 3 mL metanol som sedan dunstades in till torrhet. Efter indunstning löstes innehållet upp med 100 µL metanol/MilliQ/ammoniak (50/50/0.1).

Kvantifiering

Varje substans kvantifierades med hjälp av trepunktskalibrering med intern standard-metodik. Detta utfördes genom att konstruera kalibreringskurvor från referensstandarder med känd halt av varje substans och sedan plotta responsen (area analyt / area intern standard) mot koncentration substans. Efter kvalitetskontroll omräknades halterna (ng/mL) för respektive analyt till milligram (mg) per 1000 invånare & 24h (s.k. massflöden) genom att använda de rapporterade värdena för insamlingstid, flöde och antal anslutna invånare.