



MUNICIPAL SEWAGE AS A SOURCE OF CURRENT INFORMATION ON PSYCHOACTIVE SUBSTANCES USED IN URBAN COMMUNITIES

Marek WIERGOWSKI, Beata SZPIECH, Krystyna REGUŁA, Anna TYBURSKA

Chair and Department of Forensic Medicine, Medical University, Gdańsk, Poland

Abstract

The results of municipal wastewater analysis may be a matter of interest to many experts in various fields of science: chemistry, toxicology, epidemiology, medicine, sociology and ethics. It is also possible to observe trends in use of certain kinds and quantities of pharmaceuticals and illicit drugs thanks to long-term investigation of effluents in tested communities. The results of wastewater analysis can provide current information on the scale and trends in the use of psychoactive substances, and in the future may allow early detection of newly introduced illicit drugs. An unambiguous interpretation of analytical results is difficult due to the high variability of the content of psychoactive substances and the matrix of analysed samples of wastewater. Selection of place and time of samples collection for study is extremely important, and valuable conclusions can be drawn only after long-term monitoring of selected control points. Pharmaceuticals occurring most commonly in wastewater are: analgesics, anti-inflammatory drugs, lipid regulating drugs, antiepileptics, beta-blockers, hormones, antibiotics and antidepressants. Among illegal drugs, the most common (in wastewater) are those consumed the most frequently, including amphetamine and methamphetamine and their analogues, cannabinoids, morphine, codeine, and cocaine.

Key words

Chemical-toxicological analysis of municipal sewage; Psychoactive substances; Narcotics.

Received 13 May 2009; accepted 17 June 2009

1. Introduction

Analysis of municipal wastewater performed in order to detect the presence of psychoactive substances is a matter of interest to many research agencies that are focused not only on eco-toxicology but also on interdisciplinary studies, because the results can have implications for epidemiological, health, social and ethical issues. Thanks to long-term examination of sewage, it is also possible to monitor trends in the intake of pharmaceuticals and drugs. The main source of pharmacologically active substances in the aquatic environment of rivers and lakes is municipal sewage from households and hospitals. It is obvious that the

larger the urban agglomeration the larger and more diverse will be the quantity of generated wastewater. Regional specificity also influences the quantity and type of wastewater (for example atmospheric factors and the kind of industrial plants in the vicinity could have an influence).

Wastewater is water that has been used by households, communal utilities or by industry, which is discharged into the wastewater collector through the sewage system [6]. Household sewage, which is the most common, is the result of water used in households to maintain personal hygiene, flush toilets, prepare food, etc. It is very cloudy, grey-yellow, has a characteristic odour and a slightly alkaline reaction.

It contains about 40% inorganic impurities and 60% organic impurities, in soluble and suspended forms. One third of household wastewater occurs in the form of suspended organic compounds. The biological oxygen demand (BOD₅) of this kind of wastewater is from 200 to 600 mg O₂/l.

Information on the scale and type of used psychoactive substances is obtained mainly from statistics provided by the police, healthcare services, and governmental and international institutions established to combat drug-related crimes. The following institutions may be included among them:

- General Headquarters of the Polish Police (www.policja.pl);
- National Office for the Prevention of Drug Addiction (www.kbnp.gov.pl);
- The European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction (www.emcdda.europa.eu);
- Drug Enforcement Administration, U.S. governmental agency established to fight against drugs (www.dea.gov).

Commercial data on the sale of pharmaceuticals (e.g. rankings of the most frequently prescribed medications), research papers, press publications, and surveys are also useful sources of information on this topic. These sources of data are very valuable, but they do not usually apply to local communities, as they describe the general trends in major regions and countries. Detailed information on the local scale of the drug problem is very difficult to obtain. For example, information about the detention of persons suspected of consumption or sale of drugs in the Tri-City (Gdańsk, Sopot, Gdynia) in the first quarter of 2009 is presented in Table I (source: www.policja.pl).

The summary presented in Table I gives only fragmentary information on narcotic drugs sold most frequently on the local drug market, and reflects the scale of this phenomenon very roughly.

It is noted more and more often that analysis of wastewater may be an important source of information about the psychoactive substances used in urban communities. A comprehensive report on this topic was prepared in December 2008 by scientists co-operating with the European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction [3], which should be mandatory reading for persons interested in this topic.

2. Chemical and toxicological analysis issues

A basic analytical problem in the analysis of chemical compounds in wastewater is the complexity of the matrix. This is related not only to the presence of par-

ent psychoactive substances, but also their metabolites. Despite advances in analytical techniques, particularly chromatographic techniques coupled to mass spectrometric detectors which have the ability to detect substances at increasingly lower levels (1 ng/l to several g/l), the analysis of wastewater requires the application of different extraction techniques for isolation and enrichment of analytes (mainly solid phase extraction, SPE). Therefore, chemical studies often have to be directed.

3. Selection of place and time of wastewater sampling

A very important step in any analytical procedure is appropriate sampling, storage and transportation of samples for analysis. In the case of wastewater analysis, samples should be taken at the inlet to a sewage treatment plant (high concentrations of psychoactive substances are expected in the influents). Sampling of effluents (i.e. water flowing out of the sewage treatment plant) is performed in order to verify the degree of wastewater purification or the changes of these substances in the aquatic environment. Back-calculations of the consumption of psychoactive substances in a given community are most reliable when they are performed on the basis of crude wastewater analysis (analysis of water collected at the outlet of the treatment plant primarily provides information on the efficiency of sewage treatment) [3]. Analysis of wastewater from the sewage system, for example, from aggregative collector points and even more so from the vicinity of residential blocks and houses, may be of interest to scientists, police or the media. However, such an approach will not be of significant benefit, until study of wastewater allows identification of the drug user. On the other hand, control (monitoring) of places of great significance to the community, such as military barracks, schools, hospitals or dormitories, may be a valuable source of information for many institutions involved in public health or the fight against drug-related crimes. Of course, the effectiveness of monitoring of use of drugs or pharmaceuticals is associated not only with the choice of sampling location, but also (equally) with the sampling frequency (once per year, month or day).

4. The choice of analytes and analytical method

Appropriate selection of an analytical method is associated mainly with choosing analytes whose concen-

TABLE I. SUMMARY OF INFORMATION ABOUT DRUG-RELATED CRIMES IN THE TRI-CITY (GDAŃSK, SOPOT, GDYNIA) FOR THE FIRST QUARTER OF 2009

Publication date	Event description
30.03.2009	A man possessing 83 portions of drugs (marihuana, amphetamine, ecstasy) was arrested.
27.03.2009	3 men from Gdańsk were arrested due to possession of 500 portions of amphetamine. They were driving a stolen car.
23.03.2009	98 tablets of ecstasy were found in the house of a Tri-City resident. During an earlier roadside inspection, marihuana had been found in his car.
20.03.2009	Officers involved in the fight against drug crimes caught a 24-year old man, who had hidden 500 portions of amphetamine and 80 doses of hashish inside a wall.
19.03.2009	A young man was arrested in Sopot for possession of 2.5 g of marihuana.
19.03.2009	A secret box used for storage of marijuana was found during a search of a young man's apartment.
10.03.2009	An 18-year old girl who had offered to sell drugs to a man who unbeknown to her was a police officer from the drug enforcement section, was arrested. 260 doses of amphetamine were found. On the same day, a man who was a few years older was arrested for possession of 210 amphetamine portions.
03.03.2009	5 tablets of ecstasy and 25 portions of white-yellow powder, which was identified as amphetamine, were found during the search of a man wanted by the District Court in Gdańsk.
27.02.2009	Six men suspected of being drug dealers were arrested. Three of them were students of one of the universities in Gdańsk. 490 tablets of ecstasy were found in their dormitory room.
18.02.2009	95 portions of hashish, 30 doses of marihuana and 29 portions of amphetamine were seized as a result of a search of a 22-year old woman's apartment. Earlier, an attempt to sell drugs by the woman was foiled.
18.02.2009	135 tablets of ecstasy, 90 doses of amphetamine and 28 doses of marihuana were found during a road check and search of an apartment of a young resident of Gdynia.
12.02.2009	A man possessing 300 doses of amphetamine was arrested.
03.02.2009	Approximately 1000 doses of amphetamine were seized by police officers. A man had thrown the drugs over a balcony and they had landed at the feet of police officers standing below.
02.02.2009	Two men possessing 2 g of marihuana were arrested in Sopot. The same night, a man with about 1 g of amphetamine was arrested in one of Sopot's pubs.
15.01.2009	Police seized drugs (heroin, cocaine and marihuana) worth 1.5 million PLN kept hidden in one of Gdańsk's housings estates. The drugs belonged to a criminal group operating in this area.

tration in wastewater can be used as the basis for back-calculations. Those chosen most frequently are illicit drugs which are (potentially) consumed most frequently (and their metabolites) such as: benzoylcegonine, cocaine, morphine, 6-monoacetylmorphine, morphine 3 -D-glucuronide, amphetamine, methamphetamine, methylenedioxyamphetamine (MDA), methylenedioxymethamphetamine (MDMA), methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) and 11-nor-9-carboxy- 9-tetrahydrocannabinolic acid (THC-COOH) [3]. Although morphine is excreted in urine as morphine glucuronides, it occurs in municipal wastewater almost exclusively in the form of free morphine due to hydrolysis caused by faecal bacteria. Likewise, 11-nor-9-carboxy- 9-tetrahydrocannabinolic acid (THC-COOH)

does not occur in municipal wastewater as the glucuronide, but in the free form.

In order to reliably monitor the changes in concentration of drugs occurring in wastewater, the use of deuterated internal standards of psychoactive substances is of particular importance. The lack of reproducibility of an analytical procedure may lead to erroneous conclusions about the monitored changes in the chemical composition of sewage.

Objectives and conclusions of studies on determination of psychoactive substances in wastewater and surface water are summarised in Table II [1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

The particular steps of the analytical procedures shown in Table II were performed in a similar way.

TABLE II. OBJECTIVES OF RESEARCH AND CONCLUSIONS RELATING TO THE DETERMINATION OF PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN WASTEWATER AND SURFACE WATER

No.	Aim of study (and determined analytes)	Conclusions																												
1	Determination of drugs in Italian (rivers: Po, Lambro, Olona, Arno), British (the River Thames) and Swiss (Lake Lugano) surface waters; (cocaine, opioids, codeine, methadone, cannabinoids, amphetamine and their metabolites) [14].	In the Po, the major (longest) river in Italy, the following drugs were found: 390 g benzoylecgonine (BE) daily (which corresponds to 1 kg of consumed cocaine), 60 g unchanged (free) cocaine, 38 g THC-COOH, 30 g amphetamine and 196 g methadone. The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS-MS. Recoveries: about 80%, except THC-COOH, for which it was 69%. Overall variability of the method < 10%. LOD in surface water < 0.2 ng/l. LOQ < 0.6 ng/l, except 6-acetylmorphine – 0.93 ng/l and MDA – 1.18 ng/l.																												
2	Evaluation of the intake of drugs of abuse on the basis of sewage analysis in Milan, Lugano and London (cocaine, heroin, cannabinoids, amphetamines and their metabolites) [15].	Estimated daily amounts of psychoactive substances and their metabolites conveyed by wastewater, expressed in mg per 1000 persons: <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>Milan</th> <th>Lugano</th> <th>London</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cocaine</td> <td>157 ± 14</td> <td>109 ± 23</td> <td>140 ± 10</td> </tr> <tr> <td>BE</td> <td>390 ± 63</td> <td>267 ± 52</td> <td>296 ± 18</td> </tr> <tr> <td>Morphine</td> <td>32 ± 3</td> <td>102 ± 15</td> <td>173 ± 29</td> </tr> <tr> <td>THC</td> <td>20 ± 2</td> <td>43 ± 10</td> <td>50 ± 21</td> </tr> <tr> <td>Amphetamine</td> <td>2.7 ± 2.8</td> <td>–</td> <td>24 ± 5</td> </tr> <tr> <td>Methamphetamine</td> <td>4.5 ± 1.6</td> <td>–</td> <td>2.4 ± 0.3</td> </tr> </tbody> </table> The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS-MS.		Milan	Lugano	London	Cocaine	157 ± 14	109 ± 23	140 ± 10	BE	390 ± 63	267 ± 52	296 ± 18	Morphine	32 ± 3	102 ± 15	173 ± 29	THC	20 ± 2	43 ± 10	50 ± 21	Amphetamine	2.7 ± 2.8	–	24 ± 5	Methamphetamine	4.5 ± 1.6	–	2.4 ± 0.3
	Milan	Lugano	London																											
Cocaine	157 ± 14	109 ± 23	140 ± 10																											
BE	390 ± 63	267 ± 52	296 ± 18																											
Morphine	32 ± 3	102 ± 15	173 ± 29																											
THC	20 ± 2	43 ± 10	50 ± 21																											
Amphetamine	2.7 ± 2.8	–	24 ± 5																											
Methamphetamine	4.5 ± 1.6	–	2.4 ± 0.3																											
3	Determination of “acidic” drugs in wastewater by gas chromatography, preceded by derivatisation (ibuprofen, ketoprofen, naproxen, diclofenac) [10].	The occurrence of naproxen and ibuprofen was shown both in crude and purified wastewater (influent and effluent of a sewage water treatment plant). Quantification limits of the analytical procedure for 500 ml of sewage water ranged from 20 to 50 ng/l. The recoveries ranged from 90 to 115%. The applied analytical technique: SPE-GC-MS-MS.																												
4	Analysis of pharmaceuticals in wastewater and assessment of their treatment process by means of a new-type bioreactor (anti-inflammatory drugs, analgesics, lipid regulating drugs, antibiotics, psychotropic drugs, antiepileptics, -blockers, antidiabetic drugs, antihistaminic drugs and diuretics) [9].	The highest concentrations of pharmaceuticals were (g day^{-1}): anti-inflammatory drugs: ibuprofen – 56.3; naproxen – 37.0; diclofenac – 27.3; lipid regulating drugs: Gemfibrozil – 54.3; diuretics: Hydrochlorothiazide – 33.7; -blockers: atenolol – 21.0. Moreover, the study revealed that the treatment of pharmaceuticals with the bioreactor gives better results than conventional purification. The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS-MS.																												
5	Stereoisomer quantitative analysis of -blockers (atenolol, metoprolol, propranolol) in wastewater by HPLC-MS-MS [8].	Treated and crude sewage collected at two points (influent and effluent) were subjected to study. The obtained results in the purified wastewater were: atenolol: 160–1100 ng/l, metoprolol: 170–520 ng/l, propranolol: 20–92 ng/l. The study also revealed that the microbial processes responsible for degradation of atenolol are stereoselective, and they depend on the season. The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS-MS. Recoveries: 67–106%. LOD: 2–17 ng/l.																												

- 6 Analysis for pharmaceuticals, personal care products and illegal drugs in surface waters of South Wales (antibacterial drugs, anti-inflammatory drugs, analgesics, antiepileptics, α -blockers, H₂ receptor antagonists, diuretics, cardiac glycosides, Angiotensin-II receptor antagonists, calcium channel blockers, lipid regulating drugs, antidepressants, illegal drugs: amphetamine, cocaine, benzoylecgonine) [5].
The occurrence of amphetamine, cocaine and its metabolite – benzoylecgonine (BE) was studied in two rivers, River Taff and River Ely. In the River Taff, both illegal drugs were found at concentrations at the level of ng/l. Similar concentrations of these substances were obtained in a study performed in Italy. Benzoylecgonine concentration in the River Taff was 10 times higher than its parent compound, cocaine. Similarly to the River Taff, BE concentration in the River Ely was also high; however, cocaine was not detected in water collected from this river and amphetamine concentration was also low. The applied analytical technique: SPE-UPLC-MS-MS.
- 7 Analysis of acidic drugs in the effluents of wastewater treatment plant by means of LC-ESI-MS-MS (bezafibrate, clofibric acid, diclofenac, fenoprofen, gemfibrozil, ibuprofen, indometacine, ketoprofen, naproxen) [13].
Samples were collected from three wastewater treatment plants. Naproxen, ibuprofen, diclofenac, fenoprofen, gemfibrozil, indometacine and bezafibrate were below the limit of detection in each of these samples. The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS-MS. Recoveries: 58.9– 91.5%. LOD: 5–20 ng/ml.
- 8 Testing for the presence of selected acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland (mefenamic acid, ketoprofen, ibuprofen, diclofenac, clofibric acid) [11].
The study was performed on samples collected at three sewage treatment plants over 4–7 consecutive days. It was shown that 50% of mefenamic acid is eliminated and 80% of ibuprofen is removed in the sewage treatment process. Long periods of rainfall induce a decrease in removal of ibuprofen and ketoprofen. The concentrations of mefenamic acid, ibuprofen and diclofenac are higher (150–2000 ng/l) in effluents than in surface water. Analytical technique applied: SPE-GC-MS-SIM. Recoveries: about 68–91%. LOD 5–15 ng/l. LOQ 15–50 ng/l.
- 9 Monitoring of cannabinoids, opiates and their metabolites in surface water and wastewater in Catalonia (Spain); (normorphine, morphine, codeine, norcodeine, EDDP (2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine), methadone, heroin, 6-acetylmorphine, fentanyl, THC-COOH, THC) [2].
The occurrence of drugs was shown in most of the analysed samples, with median values in the influents: codeine – 69 ng/l, morphine – 63 ng/l, EDDP – 28 ng/l, methadone – 18 ng/l and THC-COOH – 57 ng/l. The median values for surface water were: codeine – 76 ng/l, morphine – 12 ng/l, EDDP – 31 ng/l, methadone – 9 ng/l. The applied analytical technique: SPE-UPLC-MS-MS. Recovery >70%. LOQ – ng/l level. LOD 0.04–3.8 ng/l.
- 10 Psychoactive substances in the wastewater of northern Spain (amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, MDEA (methylenedioxyethylamphetamine), cocaine, BE, ketamine, D-lysergic acid diethylamide, fencyclidine, fentanyl, caffeine, nicotine, paraxanthine, cotinine) [4].
The following substances were detected in the influents of the wastewater treatment plant: cocaine 4.0 ng/l–4.7 g/l, its metabolite 0.9 ng/l–7.5 g/l, amphetamine 2–688 ng/l, methamphetamine 3–277 ng/l. The concentrations in the effluents were: cocaine 1.0 ng/l–0.1 g/l, BE 0.1 ng/l–1.5 g/l, amphetamine 4–210 ng/l, methamphetamine 3–90 ng/l. The applied analytical technique: SPE-UPLC-ESI-MS-MS. LOD 0.1–300 ng/l. LOQ 0.2–850 ng/l.
- 11 Cocaine and its metabolites in waste and surface waters across Belgium (cocaine, benzoylecgonine, ecgonine methyl ester) [12].
Samples collected from 28 rivers and 37 sewage treatment plants across Belgium were analysed. The determined cocaine concentrations were from <1 to 753 ng/l, benzoylecgonine <1 to 2258 ng/l, ecgonine methyl ester – below the detection limit. The highest concentrations were demonstrated in samples collected in the vicinity of large cities, and during weekends. The concentration of BE was employed to calculate the amount of consumed cocaine. The applied analytical technique: SPE-HPLC-MS.

- 12 Determination of illicit drugs and their metabolites in surface water and urban wastewater by means of the ultra-HPLC-MS-MS method (amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, MDEA, cocaine, cocaethylene, benzoylecgonine, norbenzoylecgonine, norcocaine, THC-COOH) [1].
 Samples of crude and treated wastewater as well as surface water were collected. This method allows the detection of substances at ng/l levels (*LOD*). It was shown that the intake of drugs increased during weekends and (entertainment) events. The highest concentrations were: MDMA 27.5 g/l and benzoylecgonine 10.5 g/l. Recoveries for water samples: 70–120%. Precision *RSD* < 20%. Linearity of the method was tested by three-fold analysis of 6 dilutions of standards (2–70 g/l for amphetamine and its analogues, 0.5–25 g/l for cocaine and its metabolites, 20–600 g/l for THC-COOH). *LOQ* for surface water: amphetamines 30 ng/l, cocaine and metabolites 10 ng/l and THC-COOH 300 ng/l. These values were approximately fifteen times higher in crude wastewater (influent), whereas three times higher in the effluents. The applied analytical technique: SPE-UPLC-MS-MS.
- 13 Macrolide antibiotics and illicit drugs as the contamination from small urban wastewater treatment plants (azithromycin, roxytromycin, claritromycin as well as methamphetamine and ecstasy) [7].
 Samples of wastewater were collected on different days ($n = 6$) from 9 August 2006 to 9 March 2007. The levels of determined substances varied from below the detection limit to 300 ng/l. The concentrations in influents were higher than in effluents. Azithromycin was detected in each analysed sample, at concentrations ranging from 4 to 300 ng/l. Claritromycin was detected only in one sample of influent (110 ng/l), whereas roxytromycin was not detected in any sample. Methamphetamine was detected in all six samples of influent and in three samples of effluents, while MDMA was detected in four samples of influents and in no samples of effluents. The applied analytical technique: SPE-HPLC-ESI-MS.

Usually, 100 ml to 1000 ml samples of (waste)water were collected and stored in dark amber glass bottles at 4°C. These samples were often acidified to approx. pH 2, using HCl [11, 14, 15] or H₂SO₄ [13]. Then the samples of wastewater were filtrated, followed by extraction. Deuterated analogues of the tested psychoactive substances were added to the samples, since instrumental analysis was performed using a mass spectrometric detector in each case. Solid phase extraction (SPE) was applied to extraction and enrichment of the analytes from an aqueous matrix. A mixture of sorbents, containing silica gel modified by the octadecyl phase and polymer ion exchangers (e.g. Oasis MCX- [1, 5, 14] and Oasis HLB [2, 4, 7, 8, 9, 10, 12] manufactured by Waters Company), were used as SPE column fillings. When the instrumental analysis was performed by gas chromatography, the analytes were derivatised using an MTBSTFA reagent [10].

5. Back-calculations

Results of determination of psychoactive substances and their metabolites in wastewater can be used to estimate the intake of drugs or pharmaceuticals in the community. Besides knowing the content of psychoactive substances in wastewater, some additional information is required to perform the calculation.

Estimation of cocaine consumption based on knowledge of benzoylecgonine concentration can be used as an example [3]. The determined concentration of benzoylecgonine has to be multiplied by the correction factor $k = 2.33$ in order to estimate the corresponding cocaine concentration. Taking into account the flow rate of wastewater (in m³/day), the mass of cocaine consumed by the community producing the sewage (e.g. in g cocaine per day) can be calculated. The correction factor k was estimated from the following relationship [3]:

$$k = \frac{k_M \cdot 100\%}{k_U} = 2.33,$$

where: k_M – the molar mass ratio of cocaine to benzoylecgonine ($k_M = 1.05$); k_U – the average molar fraction (as a percentage) of the parent substance that is excreted in urine, e.g. for cocaine excretion as benzoylecgonine ($k_U = 45\%$).

Similar coefficients were determined for other drugs (Table III) [3]. This allows us to perform back-calculations.

When estimating the intake of heroin based on the determined concentration of morphine, the calculation error is even greater compared to other drugs, because it should be taken into account that morphine and co-

TABLE III. CORRECTION FACTORS USED IN BACK-CALCULATIONS

Parent drug	Substance determined in wastewater	Relation of the determined substance to the parent drug	k_M	k_U	k
Cocaine	Benzoyllecgonine Cocaine	Major metabolite Parent drug (present in lower concentration in wastewater)	1.05	45%	2.33
Heroin	Morphine 6-acetylmorphine	Major, but non-specific metabolite Specific metabolite (present in lower concentration in wastewater)	1.29	42%	3.08
Amphetamine	Amphetamine	Major excretion product	1.0	30%	3.3
Methamphetamine	Methamphetamine	Major excretion product	1.0	43%	2.3
MDMA	MDMA	Major excretion product	1.0	65%	1.5
Cannabis	THC-COOH	Major metabolite of THC	0.91	0.6%	152

deine (which is metabolised to morphine) can be taken for therapeutic purposes.

Assuming 100 mg as an average drug dose, the results of calculations presented above can be expressed as the number of doses per day per 1000 inhabitants. One should remember that these calculations are only very rough estimates, because they are based on mean values (for example, the fractions of substances excreted in urine are determined for non-addicted persons). In the case of the above-mentioned average value of $k_U = 45\%$ for the percentage of benzoyllecgonine excreted in urine in relation to cocaine, the range of values was from 30 to 50%, depending on age, gender, body weight, activity of kidneys and liver, interaction with other substances (e.g. alcohol), the degree of dependence and the genetic determinants [3].

6. Interpretation of results

The uncertainty in back-calculations of drug intake on the basis of determined concentrations of metabolites of psychoactive substances is very high, and this is linked with the many factors affecting the kinetics of drugs in humans (such as the route of administration, degree of dependence, urine pH, diseases, age, sex). Phenomena such as torrential rain, uncontrolled pollution by chemicals from industrial plants located in the vicinity, large scale events and concerts also influence this uncertainty. Samples of wastewater collected during these periods will certainly not reflect the average intake of pharmaceuticals or drugs by the analysed community. Results of long term monitoring of psychoactive substances in wastewater would provide much more useful information; they could also be used

in assessment of the impact of anti-drug actions on the behaviour of the community and the effect of law enforcement interventions on the supply and consumption of drugs in given urban areas.

Calculations relating to the intake of psychoactive substances on the basis of wastewater analysis are usually underestimated. This results mainly from difficulties in estimation of their losses in the sewage network system, which is associated with degradation in a dynamic system with many variable physicochemical parameters. In order to improve the accuracy of determination of psychoactive substances in wastewater, correction factors based on model studies should be introduced, e.g. by determining the stability of these substances in wastewater stored for several days at 4°C [3]. Despite many influencing factors and sources of uncertainty, the relative standard deviation of the results of drugs determination in sewage did not exceed 20%, both in studies performed over 7 days (<16%) and over 3 weeks (<19%) [3].

7. Conclusions

The examination of wastewater may in the future be a matter of interest for: addiction treatment centres, agencies involved in fighting against doping in sport or against drug-related crimes, pharmaceutical companies, institutions where the monitoring of the behaviour of a specific social group is very important (prisons, army, schools), departments of forensic medicine and other institutions. Up-to-date information on the scale of and trends in the intake of pharmaceuticals and illicit drugs may provide an opportunity for early

detection of new drugs being introduced onto the narcotics market.

An unambiguous interpretation of analytical results is difficult due to the high variability of the content of psychoactive substances and the matrix of analysed samples of wastewater. The selection of place and time of sample collection for study is extremely important, and valuable conclusions can be drawn only after long term monitoring of preselected control points.

The pharmaceuticals occurring most commonly in wastewater are: analgesics and anti-inflammatory drugs (e.g. paracetamol, acetylsalicylic acid, ibuprofen, naproxen, diclofenac), lipid regulating drugs (e.g. fenofibrate), antiepileptics (e.g. carbamazepine), beta-blockers (e.g. metoprolol, propranolol), hormones (e.g. EE2, estradiol), antibiotics (e.g. penicillin) and antidepressants (e.g. fluoxetine). Among illicit drugs, the most common are those used the most frequently: that is amphetamine and methamphetamine and their analogues, delta-9-THC, morphine and codeine, and cocaine.

References

1. Bijlsma L., Sancho J. V., Pitarch E. [et al.], 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* 2009, 1216, 3078–3089.
2. Boleda M. R., Galceran M. T., Ventura F., Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain, *Water Research* 2009, 43, 1126–1136.
3. Frost N., Griffiths P., Assessing illicit drugs in wastewater. Potential and limitations of a new monitoring approach, EMCDDA, [<http://www.emcdda.europa.eu/publications/insights/wastewater>].
4. Huerta-Fontela M., Galceran M. T., Martin-Alonso J. [et al.], Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain, *Science of the Total Environment* 2008, 397, 31–40.
5. Kasprzyk-Hordern B., Dinsdale R. M., Guwy A. J., The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK, *Water Research* 2008, 42, 3498–3518.
6. Leksykon naukowo-techniczny, WNT, Warszawa 1989.
7. Loganathan B., Phillips M., Mowery H. [et al.], Contamination profiles and mass loadings of macrolide antibiotics and illicit drugs from a small urban wastewater treatment plant, *Chemosphere* 2009, 75, 70–77.
8. Nikolai L. N., McClure E. L., MacLeod S. L. [et al.], Stereoisomer quantification of the β -blocker drugs atenolol, metoprolol and propranolol in wastewaters by chiral high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* 2006, 1131, 103–109.
9. Radjenovic J., Petrovic M., Barceló D., Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2007, 387, 1365–1377.
10. Rodriguez L., Quintana J. B., Carpinteiro J. [et al.], Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as tert-butylidimethylsilyl derivatives, *Journal of Chromatography A* 2003, 985, 265–274.
11. Tauxe-Wuersch A., De Alencastro L. F., Grandjean D. [et al.], Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment, *Water Research* 2005, 39, 1761–1772.
12. van Nuijs A. L. N., Pecceu B., Theunis L. [et al.], Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium, *Environmental Pollution* 2009, 157, 123–129.
13. Xiu-Sheng Miao, Koenig B. G., Metcalfe C. D., Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A* 2002, 952, 139–147.
14. Zuccato E., Castiglioni S., Bagnati R. [et al.], Illicit drugs, a novel group of environmental contaminants, *Water Research* 2008, 42, 961–968.
15. Zuccato E., Chiabrando C., Castiglioni S. [et al.], Estimating community drug abuse by wastewater analysis, *Environmental Health Perspectives* 2008, 116, 8, 1027–1032.

Corresponding author

Marek Wiergowski
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej
Akademii Medycznej w Gdańsku
ul. Dębowa 23
PL 80-204 Gdańsk
e-mail: marwier@amg.gda.pl

ŚCIEKI KOMUNALNE JAKO ŹRÓDŁO AKTUALNEJ INFORMACJI O SUBSTANCJACH PSYCHOAKTYWNYCH STOSOWANYCH W SPOŁECZNOŚCIACH MIEJSKICH

1. Wstęp

Analiza ścieków komunalnych przeprowadzana w celu wykrycia obecności substancji psychoaktywnych jest przedmiotem zainteresowania wielu ośrodków naukowo-badawczych nie tylko związanych z ekotoksykologią, lecz także interdyscyplinarnych, ponieważ jej wyniki mogą być rozpatrywane również jako problemy epidemiologiczne, zdrowotne, społeczne oraz etyczne. Dzięki prowadzonym przez dłuższy czas badaniom ścieków możliwa jest też obserwacja tendencji związanych z ilością zażywanych leków i narkotyków. Źródłem substancji farmakologicznie czynnych znajdujących się w środowisku wodnym rzek i jezior są głównie ścieki komunalne pochodzące z gospodarstw domowych oraz szpitali. Jest oczywiste, że im większa aglomeracja miejska, tym ilość powstających ścieków będzie większa i bardziej różnorodna. Specyfika danego regionu wpływa również na ilość i rodzaj ścieków (np. wpływ czynników atmosferycznych czy rodzaj przemysłu rozwiniętego w pobliżu miast).

Ścieki to wody zużyte w gospodarstwach domowych, urządzeniach komunalnych lub w przemyśle, które są odprowadzane do odbiornika ścieków za pośrednictwem sieci kanalizacyjnej [6]. Ścieki bytowo-gospodarcze, z którymi najczęściej mamy styczność, powstają z wód wykorzystywanych w gospodarstwach domowych do utrzymywania higieny osobistej, splukiwania urządzeń sanitarnych, przygotowywania posiłków itp. Są one bardzo mętne, mają szarozółte zabarwienie, charakterystyczny zapach i odczyn lekko zasadowy. Zawierają około 40% zanieczyszczeń nieorganicznych i 60% organicznych w postaci rozpuszczalnej i zawiesin. Wskaźnik biologicznego zapotrzebowania na tlen (BZT5) tych ścieków wynosi od 200 do 600 mg O₂/l, z czego 1/3 występuje w postaci zawiesin organicznych.

Informacje o skali i rodzaju zażywanych substancji psychoaktywnych pochodzą głównie z danych statystycznych dostarczanych przez z ośrodki policyjne, służbę zdrowia oraz specjalnie powołane instytucje rządowe i międzynarodowe powołane do walki z przestępczością narkotykową. Przykładami takich instytucji mogą być m.in.:

- Komenda Główna Policji (www.policja.pl);
- Krajowe Biuro ds. Przeciwdziałania Narkomanii (www.kbnp.gov.pl);
- Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii (www.emcdda.europa.eu);

- Amerykańska Agencja Rządowa do spraw Walki z Przestępczością Narkotykową (Drug Enforcement Administration) (www.dea.gov).

Cennym źródłem wiedzy na ten temat są również dane komercyjne dotyczące wielkości sprzedaży leków (np. listy rankingowe z najczęściej przepisywanymi na receptach lekarstwami, badania naukowe i publikacje prasowe oraz badania ankietowe).

Powyższe źródła danych są bardzo cenne, ale z reguły nie dotyczą społeczności lokalnych, gdyż opisują one ogólne trendy w większych regionach i państwach. Szczegółowe informacje o lokalnej skali zjawiska problemu narkotykowego jest bardzo trudno uzyskać. Dla przykładu informacje o zatrzymaniu osób podejrzanych o przyjmowanie lub sprzedaż narkotyków w Trójmieście w pierwszym kwartale 2009 r. zamieszczono w tabeli I (źródło: www.policja.pl). Zestawienie to daje jednak tylko fragmentaryczną informację o najczęściej sprzedawanych środkach odurzających na lokalnym rynku narkotykowym i bardzo szacunkowo odzwierciedla skalę zjawiska.

Coraz częściej zauważa się, iż analiza ścieków komunalnych może być bardzo ważnym źródłem informacji o substancjach psychoaktywnych stosowanych w społecznościach miejskich. Obszerny raport na ten temat został przygotowany w grudniu 2008 roku przez naukowców współpracujących z Europejskim Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii [3], którego lektura powinna być obowiązkowa dla osób zainteresowanych niniejszym tematem.

2. Problematyka analizy chemiczno-toksykologicznej

Podstawowy problem analityczny stanowi skomplikowana matryca związków chemicznych obecnych w ściekach. Z problemem tym związany jest temat obecności nie tylko substancji wyjściowych, ale także metabolitów substancji psychoaktywnych. Pomimo rozwoju technik analitycznych, a zwłaszcza technik chromatograficznych sprzężonych z detekcją spektrometrii mas, które dały możliwość wykrywania substancji na coraz niższych poziomach stężeń (od 1 ng/l do kilku g/l), w przypadku analizy ścieków istnieje konieczność stosowania technik ekstrakcyjnych do izolacji i wzbogacania analitów (przede wszystkim ekstrakcji do fazy stałej SPE).

W związku z tym często badania chemiczne trzeba ukierunkować.

3. Wybór miejsca i czasu pobierania próbek ścieków

Bardzo ważnym etapem każdej procedury analitycznej jest właściwe pobranie i zabezpieczenie próbek do analizy. W przypadku analizy ścieków należy pobierać ich próbki w miejscu wlotu do oczyszczalni ścieków (spodziewane duże stężenie substancji psychoaktywnych). Pobieranie próbek wody po oczyszczeniu wód powierzchniowych wykonuje się w celu sprawdzenia stopnia oczyszczenia ścieków lub przemian tych substancji w środowisku wodnym. Obliczenia retrospektywne (ang. back-calculation) odnoszące się do ilości zażywanych substancji psychoaktywnych w danej społeczności są najbardziej wiarygodne, jeśli są uzyskane na podstawie analizy ścieków surowych (analiza wody pobranej na wylocie z oczyszczalni daje przede wszystkim informację o skuteczności oczyszczenia ścieków) [3]. Analiza ścieków pochodzących z sieci kanalizacyjnej, np. ze zbiorczych punktów kolektorowych, a tym bardziej w umiejscowionych поблизу bloków mieszkalnych i domów, może być przedmiotem zainteresowania nie tylko naukowców, ale także organów ścigania czy przedstawicieli mediów. Problem ten nie będzie istotny, dopóki w przypadku badania ścieków nie będzie możliwa identyfikacja osoby zażywającej narkotyki. Z drugiej strony taka obserwacja miejsc szczególnego znaczenia dla społeczności, takich jak koszary wojskowe, szkoły, domy akademickie czy szpitale, może stanowić bardzo cenne źródło informacji dla wielu instytucji zajmujących się zdrowiem publicznym lub walką z przestępczością narkotykową. Oczywiście możliwość skutecznego monitorowania zażywania narkotyków czy leków jest związana nie tylko z wyborem miejsca pobrania próbek, ale także w równym stopniu z częstotliwością pobierania próbek (raz na rok, miesiąc czy dzień).

4. Wybór analitów i metody analitycznej

Właściwy wybór metody analitycznej związany jest głównie z wyborem odpowiednich analitów, których oznaczone stężenie w ściekach dawałoby podstawę do obliczeń retrospektywnych. Najczęściej są to narkotyki potencjalnie najczęściej zażywane i ich metabolity, takie jak: benzoilekgonina, kokaina, morfina, 6-monoacetylmorfina, 3-D-glukuronid morfiny, amfetamina, metamfetamina, metylenodioksyamfetamina (MDA), metylenodioksymetamfetamina (MDMA), metylenodioksyetyloamfetamina (MDEA) i kwas 11-nor-9-karboksy-9-tetrahydrokannabinolowy (THC-COOH) [3]. Wprawdzie

morfina jest wydalana z moczem w postaci glukuronidów morfiny, jednak w ściekach komunalnych w wyniku hydrolizy przeprowadzonej przez bakterie fekalne występuje prawie wyłącznie w postaci wolnej morfiny. Kwas THC-COOH, podobnie jak w przypadku morfiny, w ściekach komunalnych nie występuje jednak jako glukuronid, lecz w wolnej postaci.

W celu miarodajnego monitorowania zmian stężeń narkotyków obecnych w ściekach szczególnie istotne jest stosowanie deuterowanych wzorców wewnętrznych substancji psychoaktywnych. Brak odtwarzalności stosowanej procedury analitycznej może prowadzić do mylnych wniosków związanych z monitorowanymi zmianami w składzie chemicznym ścieków.

Cel badań oraz wnioski dotyczące oznaczania substancji psychoaktywnych w ściekach oraz wodach powierzchniowych zestawiono w tabeli II [1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

W procedurach analitycznych omówionych w tabeli II poszczególne etapy były realizowane bardzo podobnie. Zwykle pobierano próbki wodne o objętości od 100 do 1000 ml i przechowywano je w butlach szklanych o ciemnym, bursztynowym zabarwieniu i w temperaturze +4°C. Probki wodne często zakwaszono do pH ok. 2 za pomocą HCl [11, 14, 15] lub H₂SO₄ [13]. Probki ścieków przed ekstrakcją były filtrowane. Do próbek dodawano deuterowane analogi badanych substancji psychoaktywnych, gdyż w każdym przypadku analizy końcowej dokonywano z wykorzystaniem detektora spektrometrii mas. Etap ekstrakcji i wzbogacenia analitów z matrycy wodnej był realizowany z zastosowaniem ekstrakcji do fazy stałej (SPE), przy czym jako wypełnień kolumnienek SPE używano mieszanych sorbentów zawierających żel krzemionkowy modyfikowany fazą oktadecylową i polimerowych wymiennicy jonowymiennych (np. Oasis-MCX [1, 5, 14] i Oasis HLB [2, 4, 7, 8, 9, 10, 12] firmy Waters). W przypadku, gdy analizę końcową wykonywano z wykorzystaniem chromatografii gazowej, anality destrywatyzowano za pomocą odczynnika MTBSTFA [10].

5. Obliczenia retrospektywne

Oznaczanie substancji psychoaktywnych i ich metabolitów w ściekach daje podstawę do próby oszacowania ilości narkotyków czy leków zażywanych w danej społeczności. Podstawą takich obliczeń jest nie tylko oznaczona zawartość substancji psychoaktywnych w ściekach, ale także znajomość kilku dodatkowych danych. Przykładem takiego szacowania może być obliczenie zużycia kokainy na podstawie znajomości stężenia benzoilekgoniny [3]. Oznaczone stężenie benzoilekgoniny należy przemnożyć przez współczynnik korekcyjny $k = 2,33$, aby uzyskać odpowiadające stężenie kokainy, co przy znajomości przepływu objętościowego ścieków

(w m³/dzień) daje informację o masie kokainy zażywanej przez społeczność, od której pochodzą ścieki (np. w jednostkach g kokainy/dzień). Współczynnik korekcyjny k został oszacowany z następującej zależności [3]:

$$k = \frac{k_M \cdot 100\%}{k_U} = 233,$$

gdzie: k_M – stosunek masy molowej kokainy do benzoiloekegoniny ($k_M = 1,05$); k_U – średni udział substancji wydalanej do moczu – np. benzoiloekegoniny w stosunku do wyjściowej kokainy ($k_U = 45\%$). Podobne współczynniki wyznaczono dla innych narkotyków (tabela III) [3], co daje możliwość wykonania obliczeń retrospektywnych.

W przypadku szacowania ilości zażywanej heroiny na podstawie oznaczonej zawartości morfiny takie obliczenie jest obciążone jeszcze większym błędem w stosunku do pozostałych narkotyków, gdyż należy uwzględnić możliwość zażywania terapeutycznie morfiny oraz kodeiny (która metabolizuje do morfiny).

Przy założonej średniej dawce narkotyku ok. 100 mg można powyższe wyniki obliczeń przedstawić jako liczbę dawek przyjmowanych dziennie na 1000 mieszkańców. Należy pamiętać, że powyższe obliczenia są bardzo szacunkowe, gdyż opierają się na przyjęciu wartości średnich (np. udziały substancji wydalanych do moczu są wyznaczane dla osób nieuzależnionych). W przypadku wyżej omówionej średniej, wartości $k_U = 45\%$ udziału wydalanej do moczu benzoiloekegoniny w stosunku do kokainy, zakres zmienności wynosi 30–50% w zależności od wieku, płci, masy ciała, prawidłowości działania nerek i wątroby, interakcji z innymi substancjami (np. alkoholem), stopnia uzależnienia czy uwarunkowań genetycznych [3].

6. Interpretacja wyników

Niepewność obliczeń retrospektywnych opierających się na zużyciu narkotyków określanym na podstawie oznaczanych stężeń metabolitów substancji psychoaktywnych jest bardzo duża, co związane jest z wieloma czynnikami mającymi wpływ na kinetykę przemian narkotyków w organizmie ludzkim (m.in. droga podania, stopień uzależnienia, odczyn moczu, choroby, wiek, płeć). Na niepewność tę wpływ wywierają również zjawiska typu: ulewne deszcze, niekontrolowane zanieczyszczenie chemikaliami z okolicznych zakładów przemysłowych czy masowe imprezy rozrywkowe i koncerty muzyczne. Próbkę ścieków pobieranych w takim czasie na pewno nie będą odzwierciedlały przeciętnego zużycia leków czy narkotyków przez badane społeczności. Monitorowanie stężeń substancji psychoaktywnych w ściekach w dłuższym czasie dawałoby znacznie większe możliwości interpretacji wyników, określania wpływu akcji antynarkotykowych na zachowania społeczności

czy oddziaływania interwencji organów ścigania na podaż i zużycie narkotyków w danych aglomeracjach.

Obliczenia dotyczące zażywania substancji psychoaktywnych na podstawie analizy ścieków są zwykle niedoszacowane, co wynika głównie z trudnych do określenia strat tych substancji w sieci kanalizacyjnej związanych z ich degradacją w dynamicznym układzie o wielu zmiennych parametrach fizykochemicznych. W celu poprawienia dokładności oznaczeń stężeń substancji psychoaktywnych w ściekach powinno się wprowadzić współczynniki korekcyjne z badań modelowych np. poprzez określenie stabilności tych substancji w ściekach przechowywanych przez kilka dni w temperaturze +4°C [3]. Pomimo tak wielu zmiennych i źródeł niepewności uzyskiwane w badaniach wyniki oznaczania narkotyków w ściekach nie przekraczają 20% wartości względnego odchylenia standardowego zarówno w badaniach prowadzonych w ciągu 7 dni (<16%), jak i w ciągu 3 tygodni (<19%) [3].

7. Podsumowanie

Potencjalne zainteresowanie badaniem ścieków mogą w przyszłości wykazać m.in. ośrodki zajmujące się leczeniem uzależnień, walką z dopingiem w sporcie czy z przestępczością narkotykową, firmy farmaceutyczne, instytucje, w których kontrola zachowania określonych grup społecznych stanowi bardzo ważny cel (więzienia, wojsko, szkoły) oraz zakłady medycyny sądowej. Aktualna informacja o skali i trendach w zażywaniu leków i narkotyków w przyszłości może dać możliwość wczesnego wykrywania nowych narkotyków wprowadzanych na rynek narkotykowy.

Jednoznaczna interpretacja wyników analizy jest utrudniona ze względu na dużą zmienność zawartości substancji psychoaktywnych i matrycy próbek ścieków. Niezwykle istotny jest wybór miejsca i czasu pobrania próbek do badań, a wartościowe wnioski można wyciągać dopiero po dłuższym monitorowaniu wyselekcjonowanych punktów kontrolnych.

Najczęściej występujące leki i narkotyki w ściekach to: leki przeciwbólowe i przeciwzapalne (np. paracetamol, kwas acetylosalicylowy, ibuprofen, naproksen, diklofenak), regulujące poziom lipidów we krwi (np. fenofibrat), przeciwpadaczkowe (np. karbamazepina), beta-blokery (np. metoprolol, propranolol), hormony (np. EE2, estradiol), antybiotyki (np. penicylina) czy przeciwdepresyjne (np. fluoksetyna). Wśród narkotyków można wymienić te najczęściej zażywane, a więc: amfetamina, metamfetamina i ich analogi, delta-9-THC, morfina i kodeina oraz kokaina.