

BILAGA 1

MATERIAL & METOD

BILAGA 1: MATERIAL OCH METOD

Provtagningsdatum

Provtagning omgång 1	2025-04-23 till 2025-04-30
Provtagning omgång 2	2025-09-18 till 2025-09-24

Provtagningsplatser & provtagning

Provtagning

Provtagningen genomfördes i samarbete mellan Stockholm vatten och avlopp (SVOA) och Ventim. Provtagningsplatserna valdes ut av Stockholms stad i samråd med SVOA under 2023. RISE och personal från Ventim (tidigare ELiVA mätteknik AB) deltog som rådgivare vid val av mätpunkter vid avloppsreningsverk (ARV) och pumpstationer (PST). För mätningarna under 2025 användes samma mätplatser som tidigare år, med ett undantag: mätpunkten vid Kungsholms hamnplan kunde inte användas på grund av skyddsstopp. Detta undantag noterades för att möjliggöra jämförelser med tidigare resultat. Totalt placerades fem provtagare ut, en vid varje pumpstation. Varje provtagare besöktes dagligen för uttag av prov samt för att säkerställa att utrustningen fungerade korrekt. Avloppsvattenproverna från Henriksdal och Bromma togs av SVOAs personal, outsoursad SGS, i samband med ordinarie provtagning vid respektive reningsverk. Efter provtagning förvarades proverna i -20°C

Prover

Den 5 maj 2025 mottog RISE totalt 71 enskilda avloppsvattenprover. Av dessa hade 35 prover samlats in under perioden 23–30 april 2025 vid pumpstationerna Karl XII Västra, Karl XII Östra, Södra Mälarstrand, Rågsved och Sundby. Ytterligare 36 prover hade insamlats under samma period vid Henriksdal (två inlopp: Henriksdal och Sickla) samt Bromma (tre inlopp: Järva, Hässelby och Riksby). Eftersom dygnsprover inte kunde erhållas från de tre inloppen till Bromma (endast samlingsprov för helg fanns tillgängligt), togs även dygnsprover vid det gemensamma inloppet till Bromma (BIN).

Den 17 september 2025 mottog RISE prover från provtagningsomgång 2, insamlade under perioden 2025-09-10 till 2025-09-16. Totalt 71 prover togs, med samma metodik och från samma platser som under omgång 1. Tyvärr saknas två prover från Henriksdal pga stopp i provtagaren (12 och 13 september) vilket gör att resultat från dessa dagar saknas. Samtliga prover var dygnsprover.

Vid ankomst till RISE tilldelades varje prov ett unikt prov-ID och förvarades därefter i -20 °C fram till analys. Proverna från Sickla fungerar som reservprover i det fall någon av pumpstationerna bedöms olämplig för analys.

Referenssubstanter

För kvantifiering av respektive substans användes kalibratorer innehållande inköpta referenssubstanter 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 gradienteluering. 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.