

# Stanovenie steroidných hormónov vo vode

Kvalita vody, najmä čistej pitnej vody, je čoraz viac ohrozovaná látkami, ktoré sa do životného prostredia uvoľňujú v dôsledku ľudskej činnosti.

Steroidné hormóny prispievajú nemalou mierou k faktorom, ktoré vedú k tzv. endokrínnej disrupcii pre životné prostredie. Tento pojem sa používa na označenie funkčných zmien spôsobených vystavením sa chemickým látkam, ktoré môžu viesť k poškodeniu organizmu. Steroidné hormóny si získavajú čoraz väčšiu pozornosť, pretože môžu spôsobovať rôzne poruchy reprodukcie už pri nízkych hladinách expozície. Súčasne s tým je tiež potrebné dodať, že ich analýza je veľmi náročná vzhľadom na veľmi nízke limity detekcie a selektivitu, ktoré sú potrebné na ich spoľahlivé stanovenie.

## Mikropolutanty v životnom prostredí

Pojem mikropolutanty sa používa pre škodlivé látky antropogénneho pôvodu, ktoré sa vyskytujú v nízkych koncentráciách (jednotky až stovky  $\mu\text{g/l}$ ). Tieto látky sa nachádzajú vo všetkých zložkách životného prostredia, vo vzduchu, vode a pôde.

Obsah mikropolutantov v životnom prostredí je zvyčajne veľmi nízky (jednotky  $\mu\text{g}$  alebo dokonca  $\text{ng}$ ), problémom však zostáva skutočnosť, že už pri týchto stopových množstvách môžu mať nežiaduce účinky na živé organizmy. Mikropolutanty sa do vody dostávajú najčastejšie z prípravkov na ochranu rastlín v poľnohospodárstve, čoraz častejšie aj z liekov a veterinárnych liečiv a v značnej miere aj z takzvaných výrobkov osobnej starostlivosti (angl. PCPs, Personal Care Products).

Ukázalo sa, že mikropolutanty môžu narušovať vodné ekosystémy. Vedecké štúdie naznačujú, že niektoré vodné živočíchy môžu pod vplyvom antropogénnych znečisťujúcich látok meniť svoje správanie a môže dochádzať k negatívnemu vplyvu na ich rozmnožovanie. Medzi najčastejšie sa vyskytujúce mikropolutanty patria rezíduá pesticídov a ich metabolity, ako aj liečivá. V posledných rokoch sa pozornosť verejnosti upriamuje aj na per- a polyfluóvané alkylové zlúčeniny (PFAS) a mikroplasty. Relatívne novou témou v monitoringu vôd a prípadne aj novo sledovanými analytmi sú steroidné hormóny.



Obrázok 1: Ilustračný obrázok

## Steroidné hormóny a ich zdroje v životnom prostredí

Steroidné hormóny ovplyvňujú funkciu mnohých tkanív, najmä reprodukčného systému. Hrajú tiež dôležitú úlohu v centrálnom nervovom systéme, či pri udržiavaní kvality kostí.

Pravdepodobne najznámejším predstaviteľom tejto skupiny je  $17\beta$ -estradiol (E2), ktorý zohráva hlavnú úlohu pri kontrole sexuálneho správania a reprodukčného systému.  $17\beta$ -estradiol sa metabolicky oxiduje na estrón (E1) a ten sa ďalej transformuje na estriol (E3). Najznámejší syntetický estrogén  $17\alpha$ -ethinyl estradiol (EE2) sa pre svoju silnú estrogénovú aktivitu používa takmer vo všetkých hormonálnych antikoncepčných prípravkoch, ale je aj súčasťou iných liekov používaných napríklad pri Alzheimerovej chorobe, alebo na zmiernenie ťažkostí u žien v menopauze.

Počas metabolizmu steroidných hormónov vznikajú rozpustné deriváty, ktoré uľahčujú ich vylučovanie močom. Preto sa ľudský moč považuje za hlavný zdroj  $17\alpha$ -ethinylestradiolu v odpadových vodách, avšak estradioly sa do životného prostredia dostávajú aj z chovu hospodárskych zvierat, kde sa používajú na liečbu určitých chorôb alebo na zlepšenie produktivity. Aktívne voľné formy estrogénov nie sú dostatočne zachytávané v čistiarniach odpadových vôd, a preto sa dostávajú do povrchových vôd. Následne môžu kontaminovať podzemné vody a zdroje pitnej vody, čo môže mať v konečnom dôsledku nepriaznivé účinky na ľudské zdravie.

## Legislatíva

Vzhľadom na neustály vývoj v tejto oblasti prijíma Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) mnohé odporúčania, ktoré sa následne premietajú do európskej, a teda aj slovenskej legislatívy.

Sledovanie Beta-estradiolu sa zaviedlo v surovej vode – na základe výsledkov manažmenu rizík povodí novelou Vyhlášky [636/2004](#).

## Metodika stanovenia

Pokroky v inštrumentálnej analytickej chémii umožnili veľmi citlivú analýzu steroidných hormónov vo vzorkách vody. Aj pri použití tých najmodernejších analytických prístrojov je však pred analýzou potrebná zložitá a časovo náročná príprava vzorky.

V našich laboratóriách sme vyvinuli postup na stanovenie najdôležitejších steroidných hormónov vo vzorkách vody, konkrétne 17 $\beta$ -estradiolu (E2), 17 $\alpha$ -estradiolu, estriolu (E3), 17 $\alpha$ -ethinylestradiolu (EE2), equilínu a estrónu (E1).

Naša metóda je založená na metóde Americkej agentúry pre ochranu životného prostredia (US EPA) č. 539 (Stanovenie hormónov v pitnej vode pomocou LC-ESI-MS/MS). Táto metóda zahŕňa prípravu vzorky pomocou off-line SPE a následnú analýzu pomocou ultračinnnej kvapalinovej chromatografie s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (UHPLC-MS/MS).

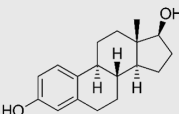
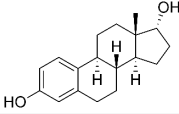
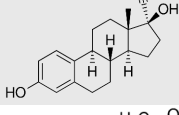
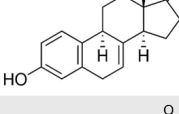
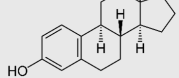
## Príprava a analýza vzoriek

Vzhľadom k legislatívne požadovaným nízkym limitom je potrebné vzorky zakonzentrovat až 1000-krát. Na tento účel sa používa takzvaná extrakcia na tuhej fáze (SPE). Ide o extrakčnú techniku, kedy sa analyty zo vzorky zachytávajú na vhodne zvolenom sorbente a následne sa premyjú vhodným rozpúšťadlom na malý objem. Tým je umožnený vysoký stupeň koncentrácie. Po úprave vzorky nasleduje samotné analytické stanovenie pomocou UHPLC-MS/MS, ktoré zabezpečuje spoľahlivé výsledky.

V súčasnosti sme schopní analyzovať päť steroidných hormónov vo vzorkách pitnej vody, vody z vodovodu, balenej vody a povrchovej vody s limitom od 1 ng/l. Na analýzu hormónov vo vode potrebujeme minimálne 250 ml vzorky vody vo fľaši z tmavého skla.



Tabuľka 1: Zoznam a charakteristiky analytov

Názov / číslo CAS číslo	Vzorka	LOQ (ng/l)
<b>17-<math>\beta</math>-ESTRADIOL (E2)</b> 50-28-2		0.8
<b>17-<math>\alpha</math>-ESTRADIOL</b> 57-91-0		1
<b>17-<math>\alpha</math>-ETHINYLESTRADIOL (EE2)</b> 57-63-6		0.8
<b>EQUILIN</b> 474-86-2		0.8
<b>ESTRONE (E1)</b> 53-16-7		1

Obrázok 2: Prístroj UHPLC-MS/MS

## Literatúra

- EPA Method 539: Determination of hormones in drinking water by solid phase extraction (SPE) and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS).
- K. Goeury et al. Assessment of automated off-line solid phase extraction LC-MS/MS to monitor EPA priority endocrine disruptors in tap water, surface water, and wastewater: Talanta. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123216>
- S. Molnár, G. Kulcsár, P. Perjési. Determination of steroid hormones in water samples by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry using parallel reaction monitoring: Microchemical Journal. 2022 <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.107105>

Kontaktujte našich expertov

