

Stanovení steroidních hormonů ve vodě

Kvalita vody, zejména čisté pitné vody, je stále více ohrožována látkami uvolňovanými do životního prostředí lidskou činností.

Steroidní hormony přispívají nemalou měrou k faktorům, které vedou k tzv. endokrinní disrupci v životním prostředí. Tento pojem se používá pro funkční změny, způsobené expozicí chemickým látkám, které mohou vést k poškození organismu.

Steroidní hormony si získávají stále větší pozornost, protože mohou způsobit různé poruchy reprodukce už při nízkých úrovních expozice. V souladu s tím je také zapotřebí dodat, že jejich analýza je velmi náročná kvůli velmi nízkým detekčním limitům a selektivitě požadované pro jejich spolehlivé stanovení.

Mikropolutanty v životním prostředí

Pojem mikropolutanty je používán pro škodlivé látky antropogenního původu, které se vyskytují v nízkých koncentracích (jednotky až stovky $\mu\text{g/l}$).

Tyto látky se vyskytují napříč všemi složkami životního prostředí, v ovzduší, vodě, i v půdě.

Obsah mikropolutantů v prostředí bývá zpravidla velmi nízký (jednotky μg či dokonce ng), problémem však zůstává především skutečnost, že už v těchto stopových množstvích mohou mít nežádoucí vliv na živé organismy. Mikropolutanty se do vody dostávají nejčastěji z přípravků na ochranu rostlin v zemědělství, ale čím dál častěji také z léčiv a veterinárních farmak, a v nemalé míře také z tzv. produktů osobní péče (angl. PCPs, Personal Care Products).

Bylo dokázáno, že mikropolutanty mohou narušovat vodní ekosystém. Vědecké studie uvádí, že někteří vodní živočichové mohou měnit pod vlivem antropogenních škodlivin své chování, a že může dojít i k negativnímu vlivu na jejich rozmnožování.

Mezi nejčastěji se vyskytující mikropolutanty patří rezidua pesticidních látek a jejich metabolity, a dále také léčiva. Pozornost veřejnosti se v posledních letech upíná také k per- a polyfluorovaným alkylovým sloučeninám (PFAS) nebo k problematice mikroplastů. Relativně novým tématem v monitoringu vod, a potažmo i nově sledovanými analyty jsou steroidní hormony.



Obrázek 1: Ilustrační obrázek

Steroidní hormony a jejich zdroje v prostředí

Steroidní hormony ovlivňují funkci mnoha tkání, především reprodukčního systému. Hrají také důležitou roli v centrálním nervovém systému či udržení kvality kostí.

Asi nejznámějším zástupcem této skupiny je 17β -estradiol (E2), který hraje ústřední roli v kontrole sexuálního chování a reprodukčním systému. 17β -estradiol je metabolicky oxidován na estron (E1) a ten je dále transformován na estriol (E3). Nejznámější syntetický estrogen, 17α -ethinyl estradiol (EE2), je vzhledem ke svojí silné estrogenní aktivitě využíván skoro ve všech přípravcích hormonální antikoncepce, ale je také součástí i jiných léčiv, používaných například při Alzheimerově chorobě, či ke zmírnění obtíží u žen v menopauze.

Při metabolismu steroidních hormonů vznikají rozpustné deriváty, které usnadňují jejich vylučování močí. Proto je lidská moč považována za hlavní zdroj 17α -ethinylestradiolu v odpadních vodách, nicméně do životního prostředí se estradioly dostávají také z chovů hospodářských zvířat, kde jsou používány k léčení některých chorob nebo i ke zlepšení produktivity. Aktivní volné formy estrogenů jsou čistírnami odpadních vod nedostatečně zachycovány a přecházejí tak dále do povrchových vod. Následně mohou kontaminovat podzemní vody a zdroje pitné vody, čímž ve finále mohou neblaze působit na lidské zdraví.

Legislativa

S ohledem na neustálý vývoj v této oblasti přijímá Světová zdravotnická organizace (WHO) mnohá doporučení, která se následně promítají do evropské a tím pádem i do české legislativy. Základ české legislativy týkající se vody a kontroly její kvality představují zákony o vodách [č. 254/2001 Sb.](#) a [č. 274/2001 Sb.](#); vyhlášky [č. 252/2004 Sb.](#) a [č. 428/2001 Sb.](#); a nařízení vlády [č. 401/2015 Sb.](#) Od ledna 2024 vstoupila v platnost aktualizace vyhlášky [č. 252/2004 Sb.](#), která zavedla sledování některých dalších mikropolutantů, či posunula sledování vybraných analytů do nižších limitů. Co se hormonů týká, jedná se konkrétně o 17 β -estradiol, který byl sledován již dříve, nyní se však výrazně snížil jeho limit pro pitné vody, konkrétně na koncentraci **1 ng/l**.

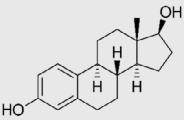
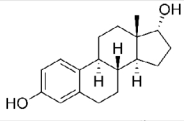
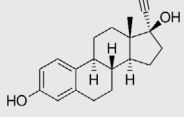
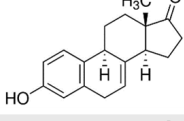
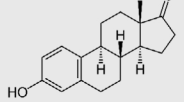
Metodika stanovení

Velké pokroky v instrumentální analytické chemii umožnily velmi citlivou analýzu steroidních hormonů ve vzorcích vody. I při použití těch nejmodernějších analytických přístrojů je však před analýzou vyžadována složitá a časově náročná příprava vzorku.

V našich laboratořích jsme vyvinuli postup pro stanovení nejdůležitějších steroidních hormonů ve vzorcích vody, konkrétně 17 β -estradiolu (E2), 17 α -estradiolu, estriolu (E3), 17 α -ethinylestradiolu (EE2), equilinu a estronu (E1).

Naše metoda vychází z metody americké Agentury pro ochranu životního prostředí (US EPA) č. 539 (Stanovení hormonů v pitné vodě pomocí LC-ESI-MS/MS). Tato metoda zahrnuje přípravu vzorku pomocí off-line SPE a následnou analýzu pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS).

Tabulka 1: Seznam a charakteristika analytů

Název / CAS číslo	Vzorec	LOQ (ng/l)
17-β-ESTRADIOL (E2) 50-28-2		0.8
17-α-ESTRADIOL 57-91-0		1
17-α-ETHINYLESTRADIOL (EE2) 57-63-6		0.8
EQUILIN 474-86-2		0.8
ESTRONE (E1) 53-16-7		1

Příprava a analýza vzorků

Vzhledem k legislativně požadovaným nízkým limitům je zapotřebí vzorky až 1000x zakonzentrovat. K tomu nám slouží tzv. extrakce na pevnou fázi (Solid Phase Extraction, SPE). Jedná se o extrakční techniku, kdy se analyty ze vzorku zachytávají na vhodně zvolený sorbent, a následně se vhodným rozpouštědlem vymyjí do malého objemu. Tím je umožněn vysoký stupeň zakonzentrování. Po úpravě vzorku následuje vlastní analytické stanovení pomocí UHPLC-MS/MS metody, která zajistí spolehlivé výsledky.

V současné době jsme umíme analyzovat pět steroidních hormonů ve vzorcích pitné vody, kohoutkové vody, balené vody a povrchové vody, s limitem od 1 ng/l. K analýze hormonů ve vodě potřebujeme minimálně 250 ml vzorku vody v tmavé skleněné láhvi.



Obrázek 2: Přístroj UHPLC-MS/MS

Literatura

- 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. Goery 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 naše
experty

