

Determinazione degli ormoni steroidei in acqua

La qualità dell'acqua, soprattutto quella potabile, è sempre più minacciata dalle sostanze rilasciate nell'ambiente dalle attività umane. **Gli ormoni steroidei sono tra i fattori che contribuiscono all'alterazione del sistema endocrino nell'ambiente.** Le alterazioni endocrine rappresentano cambiamenti funzionali causati dall'esposizione a sostanze chimiche che possono danneggiare l'organismo. Gli steroidi hanno suscitato particolare attenzione negli ultimi anni perché possono causare vari disturbi riproduttivi anche a partire da bassi livelli di esposizione. Di conseguenza, è necessario aggiungere che la loro analisi è molto impegnativa a causa dei limiti di rilevazione molto bassi e della selettività richiesta per una loro determinazione affidabile.



Microinquinanti nell'ambiente

Il termine microinquinanti è utilizzato per le sostanze antropogeniche nocive presenti in basse concentrazioni (da unità a centinaia di $\mu\text{g/L}$). I microinquinanti si trovano in tutti i componenti dell'ambiente, aria, acqua e suolo. Il contenuto di microinquinanti nell'ambiente è spesso molto basso (unità μg o addirittura ng), tuttavia il problema è che anche in queste tracce possono avere un effetto indesiderato sugli organismi viventi. Il più delle volte i microinquinanti entrano nell'acqua a causa di prodotti fitosanitari in agricoltura, ma anche di medicinali, farmaci veterinari e prodotti per l'igiene personale (PCP).



Strumento UHPLC-MS/MS

Fonti di ormoni steroidei

Gli ormoni steroidei influenzano la funzione di molti tessuti, in particolare del sistema riproduttivo. Svolgono anche un ruolo importante nel sistema nervoso centrale o nel mantenimento della qualità delle ossa.

Il 17β -estradiolo (E2), che svolge un ruolo centrale nel controllo del comportamento sessuale e del sistema riproduttivo, è probabilmente il rappresentante più famoso di questo gruppo. Il 17β -estradiolo viene ossidato metabolicamente a estrone (E1) e ulteriormente trasformato in estriolo (E3). Un noto estrogeno sintetico, il 17α -etinilestradiolo (EE2), dotato di una forte attività estrogenica, viene utilizzato in quasi tutte le pillole contraccettive e in altri farmaci, ad esempio nel morbo di Alzheimer o per alleviare le difficoltà della menopausa.

I derivati solubili degli ormoni, che si formano durante il metabolismo, ne facilitano l'escrezione entro l'urina. Pertanto, l'urina umana è considerata come principale fonte di 17α -etinilestradiolo nelle acque reflue, ma gli estradioli entrano nell'ambiente anche dagli allevamenti di bestiame, dove vengono utilizzati ormoni per trattare alcune malattie o per migliorare la produttività. Le forme libere attive degli estrogeni non sono sufficientemente captate dagli impianti di trattamento delle acque reflue e passano ulteriormente nelle acque di superficie. Successivamente, possono contaminare le acque sotterranee e le fonti di acqua potabile, con conseguenti effetti sulla salute umana.

Legislazione

In considerazione dei continui sviluppi in questo settore, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) adotta numerose raccomandazioni, che si riflettono successivamente nella legislazione europea e/o in particolari legislazioni nazionali.

Il controllo della qualità dell'acqua destinata per il consumo umano rientra nell'ambito di applicazione della [DIRETTIVA \(UE\) 2020/2184 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL IL CONSIGLIO](#).

In questo documento si afferma che l'OMS ha raccomandato tre composti endocrini rappresentativi (tra cui il 17β -estradiolo) come parametri di riferimento per valutare la presenza di composti endocrini e l'efficacia della loro azione di trattamenti, ove necessario. Il livello di 17β -estradiolo è stato fissato a 1 ng/L.

Metodologia di determinazione

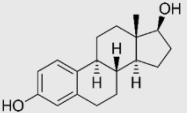
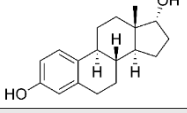
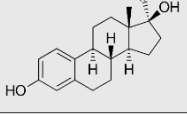
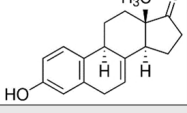
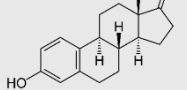
I grandi progressi della chimica analitica strumentale hanno permesso di effettuare analisi molto sensibili di ormoni steroidei nei campioni d'acqua. Tuttavia, anche con l'uso dei più moderni strumenti analitici, la preparazione del campione è complessa e richiede molto tempo.

Nei Laboratori ALS abbiamo sviluppato una procedura per la determinazione dei principali ormoni steroidei nei campioni d'acqua.

- 17 β -estradiolo (E2)
- 17 α -estradiolo
- 17 α -etinilestradiolo (EE2)
- equilina
- estrone (E1)

Il nostro metodo si basa sul metodo n. 539 (Determinazione degli ormoni nell'acqua potabile utilizzando LC-ESI-MS/MS). Questo metodo prevede la preparazione del campione mediante SPE off-line e la successiva analisi mediante cromatografia liquida ad ultraprestazioni con spettrometria di massa tandem (UHPLC-MS/MS).

Tabella 1: Elenco e caratteristiche degli analiti

Nome / Numero CAS	Formula	LOR (ng/L)
17-β-ESTRADIOLO (E2) 50-28-2		0.8
17-α-ESTRADIOLO 57-91-0		1
17-α-ETINILESTRADIOLO (EE2) 57-63-6		0.8
AQUILINA 474-86-2		0.8
ESTRONE (E1) 53-16-7		1

Preparazione e analisi dei campioni

A causa dei bassi limiti imposti dalla legge (1 ng/L), è necessario concentrare i campioni fino a 1000 volte. A questo scopo viene utilizzata una tecnica di pre-concentrazione, l'estrazione in fase solida (SPE).

La SPE è una tecnica in cui gli analiti del campione vengono catturati su un sorbente opportunamente scelto, e successivamente lavati in un piccolo volume con un solvente appropriato. Ciò consente un elevato grado di concentrazione. Dopo la preparazione del campione, viene eseguita la determinazione analitica mediante UHPLC-MS/MS.

Attualmente siamo in grado di analizzare cinque ormoni steroidei in campioni di acqua potabile, acqua di rubinetto, acqua in bottiglia e acqua di superficie. Per l'analisi degli ormoni nell'acqua, il volume minimo del campione d'acqua è di 250 ml; i campioni devono essere raccolti in una bottiglia di vetro scuro.

FONTI

- Metodo EPA 539: Determinazione degli ormoni nell'acqua potabile mediante estrazione in fase solida (SPE) e spettrometria di massa tandem con ionizzazione elettrospray in cromatografia liquida (LC-ESI-MS/MS).
- K. Goeury et al. Valutazione dell'estrazione off-line automatizzata in fase solida LC-MS/MS per monitorare gli interferenti endocrini prioritari dell'EPA nell'acqua di rubinetto, nelle acque superficiali e nelle acque reflue: Talanta. 2022
- S. Molnár, G. Kulcsár, P. Perjési. Determinazione degli ormoni steroidei in campioni d'acqua mediante cromatografia liquida a ionizzazione elettrostatica e spettrometria di massa con monitoraggio parallelo della reazione: Microchemical Journal. 2022

CONTATTI

ALS Italia | ALS Limited
www.alsglobal.it | www.alsglobal.com

+39 0434 638 200 - info.zpp@alsglobal.com
Via Viatta 1, 33080 Zoppola (PN)