

ANALYSE ET EVOLUTION D'UNE DIVERSITE D'HORMONES DANS DES FILIERES DE TRAITEMENT D'EAU

Amélie Guillon, Naïke Noyon, Auguste Bruchet, Mar Esperanza
 Pôle Analyse et Santé – CIRSEE
 Suez Environnement, 38 rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq
 Tél : 01 34 80 23 70, Fax : 01 30 53 62 09
 E-mail : amelie.guillon@suez-env.com



Introduction

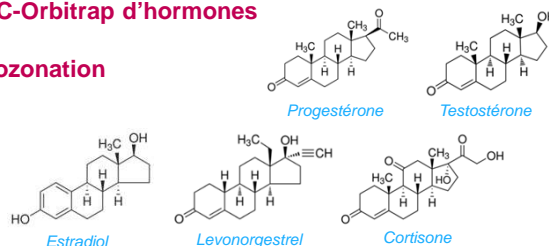
- Les hormones sont des composés dont les effets sur l'Homme et les êtres vivants sont avérés : observation de cas de féminisation, d'hermaphrodisation ou de baisse de la fertilité chez des organismes aquatiques
- D'origine naturelle ou de synthèse, les hormones sont présentes dans l'environnement à des concentrations du pg/L au ng/L
- Le comportement des estrogènes dans les filières de traitement d'eaux usées est connu mais il existe peu d'informations sur celui des androgènes et des progestagènes
- A l'heure actuelle, il n'existe aucune réglementation mais deux hormones sont sur une liste de surveillance de la Directive Cadre sur l'Eau

Objectifs de ce travail

- Développement d'une méthode d'extraction par SPE et d'analyse par UPLC-Orbitrap d'hormones
- Application à la quantification d'hormones dans des eaux naturelles
- Etude du comportement des hormones dans une filière de traitement par ozonation

Composés choisis :

- 5 estrogènes** : α et β estradiol / estriol / estrone / α éthynylestradiol
 - 4 (anti) androgènes** : androstène / androstène dione / testostérone / épitestostérone (anti)
 - 3 progestagènes** : progesterone / levonorgestrel * / noréthistérone *
 - 3 glucocorticoïdes** : cortisone / cortisol / dexaméthasone *
- * Composé de synthèse



Développement de la méthode d'analyse

1. Extraction sur phase solide

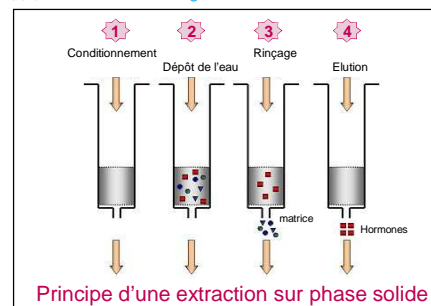
Cartouches : Strata-X (6 cc, 500 mg, Phenomenex)

Etape 1 : Conditionnement : 2 x 5 mL de méthanol + 2 x 5 mL eau

Etape 2 : Dépôt de l'échantillon → 500 mL d'eau
 → choix du pH : 3 ou 7

Etape 3 : Rinçage pour éliminer les interférents → choix des proportions du mélange eau / méthanol

Etape 4 : Elution pour extraire les hormones → choix des proportions du mélange acétate d'éthyle / méthanol



2. Analyse par UPLC-HRMS

Conditions chromatographiques :

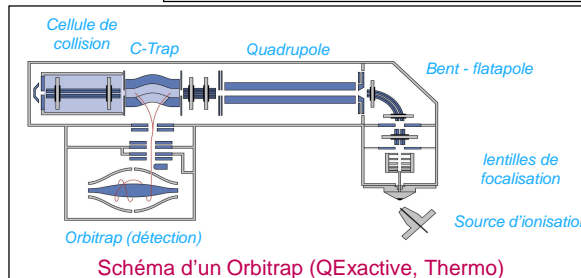
- Phases mobiles : eau milliQ / Acétonitrile
- 500 μ L/min – 20 μ L injectés
- Précolonne + Colonne BEH C18 (100 x 2,1 mm – 1,7 μ m)

Gradient d'élution (UPLC)

Temps (min)	Eau	Acétonitrile
0	80 %	20 %
8,5	25 %	75 %
9,5	0	100 %
11,5	0	100 %

Conditions d'acquisition HRMS :

- Source APCI (ionisation chimique à pression atmosphérique)
- Mode d'ionisation : positif et négatif
- Mode de détection en sélection d'ion (m/z exacte)
- Bonne linéarité / limite de quantification de 1 à 5 ng/L



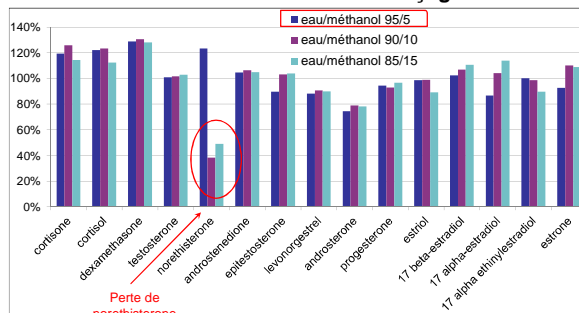
Résultats du développement analytique

Choix du pH d'extraction

	pH 7	pH 3
cortisone	97%	77%
cortisol	103%	85%
dexaméthasone	135%	140%
testostérone	93%	87%
noréthistérone	105%	91%
androstenedione	91%	81%
épitestostérone	77%	105%
levonorgestrel	88%	95%
androsterone	88%	84%
progesterone	91%	86%
estriol	94%	93%
17 beta-estradiol	124%	116%
17 alpha-estradiol	100%	106%
17 alpha éthynylestradiol	108%	100%
estrone	98%	98%

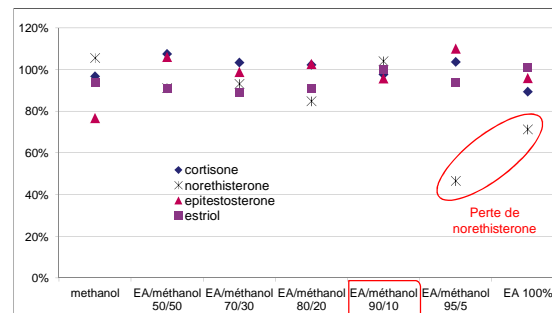
Pourcentage de récupération des hormones avec élution 100% méthanol (sans rinçage)

Choix des conditions de rinçage



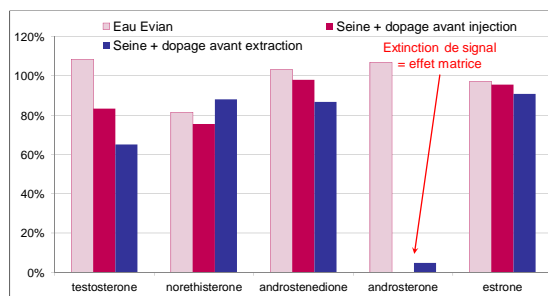
Pourcentage de récupération des hormones dans un mélange EA/Méthanol (50/50) après divers rinçages

Choix des conditions d'élution



Pourcentage de récupération des hormones après diverses élutions (pas de rinçage)

Application sur eau de Seine



Rendements des dopages (100 ng/L) : mise en évidence d'effets matrice

Conclusions

- Mise en place de la méthode analytique par UPLC-HRMS
- Mise au point des conditions pour la méthode d'extraction SPE pour une eau minérale
- Mise en évidence d'effets matrice sur l'eau de Seine pour androsterone

Perspectives :

- Optimisation des conditions d'extraction
- Mise au point d'une étape de purification supplémentaire pour limiter les effets matrice ?
- Application de la méthode développée sur des eaux résiduaires
- Etude de l'efficacité d'un procédé d'ozonation sur l'élimination des hormones

