

# Suda Steroid Hormon Tayini

Su kalitesi, özellikle de temiz içme suyu, insan faaliyetleri nedeniyle çevreye salınan maddeler tarafından giderek daha fazla tehdit edilmektedir. Steroid hormonlar, çevredeki endokrin bozulmaya katkıda bulunan faktörler arasındadır. Endokrin bozulması, organizmaya zarar verebilecek kimyasal maddelere maruz kalmanın neden olduğu işlevsel değişiklikleri temsil eder. Steroidler, düşük maruziyet seviyelerinde bile çeşitli üreme bozukluklarına neden olabildikleri için son yıllarda özellikle dikkat çekmektedir. Buna göre, çok düşük tespit limitleri ve güvenilir tayinleri için gereken seçicilik nedeniyle analizlerinin çok zor olduğunu eklemek gerekir.

## Çevredeki Mikro Kirleticiler

Mikro kirleticiler terimi, düşük konsantrasyonlarda (yüzlerce  $\mu\text{g/L}$ 'ye kadar) bulunan zararlı antropo-genik maddeler için kullanılır. Mikro kirleticiler çevrenin tüm bileşenlerinde, hava, se ve toprakta bulunur. Çevredeki mikro kirleticilerin içeriği genellikle çok düşüktür (birim  $\mu\text{g}$  veya hatta ng), ancak sorun, bu eser miktarlarda bile canlı organizmalar üzerinde istenmeyen bir etkiye sahip olabilmeleridir. Mikro kirleticiler suya çoğunlukla tarımdaki bitki koruma ürünlerinden, aynı zamanda ilaçlardan, veteriner ilaçlarından ve kişisel bakım ürünlerinden (PCP'ler) girmektedir.

Mikro kirleticiler doğaya karışarak su ekosistemini bozabilir. Bilimsel çalışmalar, bazı su hayvanlarının antropojenik kirleticilerin etkisi altında davranışlarını değiştirebileceğini ve üremeleri üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabileceğini belirtmiştir. En sık rastlanan mikro kirleticiler arasında pestisit kalıntıları ve metabolitlerinin yanı sıra ilaçlar da yer almaktadır. Son yıllarda, kamuoyunun dikkati per- ve poliflorlu alkil bileşikleri (PFAS) veya mikroplastikler üzerine odaklanmıştır. Steroid hormonlar su izlemede nispeten yeni bir konudur ve aynı zamanda yeni izlenen analitlerdir.



Figure 1: Örnek resim

## Steroid Hormonlarının Kaynakları

Steroid hormonlar başta üreme sistemi olmak üzere birçok dokunun işlevini etkiler. Ayrıca merkezi sinir sisteminde veya kemik kalitesinin korunmasında önemli bir rol oynarlar.

Cinsel davranış ve üreme sisteminin kontrolünde merkezi bir rol oynayan  $17\beta$ -estradiol (E2) muhtemelen bu grubun en ünlü temsilcisidir.  $17\beta$ -östradiol metabolik olarak oksitlenerek estrona (E1) ve daha sonra estriole (E3) dönüşür. İyi bilinen sentetik östrojen, güçlü östrojenik aktiviteye sahip  $17\alpha$ -etinin östradiol (EE2), neredeyse tüm doğum kontrol haplarında ve diğer ilaçlarda, örneğin Alzheimer hastalığında veya menopozdaki zorlukları hafifletmek için kullanılır.

Hormonların metabolizma sırasında oluşan çözünebilir türevleri, idrarla atılmalarını kolaylaştırır. Bu nedenle, insan idrarı atık sudaki  $17\alpha$ -etinin östradiolün ana kaynağı olarak kabul edilir, ancak östradioller, hormonların belirli hastalıkları tedavi etmek veya verimliliği artırmak için kullanıldığı hayvancılıktan da çevreye girer. Östrojenlerin aktif serbest formları atık su arıtma tesisleri tarafından yeterince tutulamamakta ve yüzey sularına geçmektedir. Daha sonra, yeraltı sularını ve içme suyu kaynaklarını kirlitebilir ve böylece insan sağlığını etkileyebilirler.

## Yasal Mevzuat

Bu alandaki sürekli gelişim göz önünde bulundurularak, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), daha sonra Avrupa ve/veya belirli ulusal mevzuata yansıtılan birçok tavsiyeyi kabul etmektedir.

İnsani tüketim amaçlı suyun kalitesinin kontrollü, [AVRUPA PARLAMENTOSU VE KONSEYİNİN \(AB\) 2020/2184 SAYILI DİREKTİFİ](#) kapsamında. Bu belgede, DSÖ'nün endokri- ne bozucu bileşiklerin varlığını ve gerektiğinde tedavilerin etkinliğini değerlendirmek için ölçüt olarak üç temsili endokri- ne bozucu bileşik (17 $\beta$ -estradiol dahil) önerdiği belirtilmektedir.

17 $\beta$ -estradiol için seviye 1 ng/L olarak belirlenmiştir.

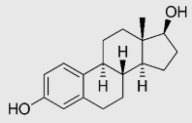
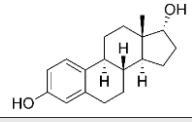
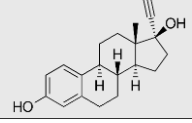
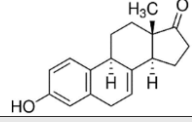
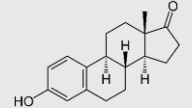
## Tespit Metodolojisi

Enstrümantal analitik kimyadaki büyük ilerlemeler, su örneklerinde steroid hormonlarının çok hassas bir şekilde analiz edilmesini sağlamıştır. Bununla birlikte, en modern analitik cihazların kullanımında bile, analizden önce karmaşık ve zaman alıcı bir numune hazırlığı gerekmektedir. ALS Laboratuvarlarında, su numunelerindeki en önemli steroid hormonlarının belirlenmesi için aşağıdaki gibi bir prosedür geliştirdik:

- 17 $\beta$ -estradiol (E2)
- 17 $\alpha$ -estradiol
- 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2)
- equilin
- estrone (E1)

Metodumuz, ABD Çevre Koruma Ajansı (US EPA) 539 numaralı metoduna (LC-ESI-MS/MS kullanılarak içme suyunda hormon tayini) dayanmaktadır. Bu yöntem, off-line SPE ile numune hazırlamayı ve ardından tandem kütle spektrometresi (UHPLC-MS/MS) ile ultra performanslı sıvı kromatografisi ile analizi içerir.

Table 1: Analitlerin listesi ve özellikleri

Name / CAS Number	Formula	LOR (ng/L)
17- $\beta$ -ESTRADIOL (E2) 50-28-2		0.8
17- $\alpha$ -ESTRADIOL 57-91-0		1
17- $\alpha$ -ETHINYLESTRADIOL (EE2) 57-63-6		0.8
EQUILIN 474-86-2		0.8
ESTRONE (E1) 53-16-7		1

## Numune Hazırlama ve Analizi

Yasal olarak gerekli olan düşük limitler (1 ng/L) nedeniyle, numunelerin 1000 kata kadar konsantrasyona edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla bir ön konsantrasyon tekniği olan katı faz ekstraksiyonu (SPE) kullanılır. SPE, numunedeki analitlerin uygun şekilde seçilmiş bir sorbent üzerinde yakalandığı ve daha sonra uygun bir çözücü ile küçük bir hacimde yıkandığı bir tekniktir. Bu, yüksek derecede konsantrasyon sağlar. Numune hazırlama işleminden sonra, UHPLC-MS/MS kullanılarak analitik belirleme gerçekleştirilir.

Şu anda içme suyu, musluk suyu, şişelenmiş su ve yüzey suyu örneklerinde beş steroid hormonu analiz edebiliyoruz. Sudaki hormonların analizi için minimum su numunesi hacmi 250 mL'dir; numuneler koyu renkli bir cam şişeye toplanmalıdır.



Figure 2: UHPLC-MS/MS cihazı

## Kaynaklar

- 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>

Ask the Experts

