

↓

ANALYSE ET ÉVOLUTION D'UNE DIVERSITÉ D'HORMONES DANS DES FILIÈRES DE TRAITEMENT D'EAU

S'ENGAGER
POUR LA PLANÈTE
EST UNE BELLE
ENTREPRISE



CIRSEE – Suez Environnement
Amélie Guillon – amelie.guillon@suez-env.com

CONTEXTE DE L'ETUDE

Hormones = perturbateurs endocriniens

- Œstrogènes : bien étudiés
- Progestagènes et androgènes : moins documentés

Effets sur l'Homme et les êtres vivants :

- Féminisation
- Hermaphrodisation
- Problème de fertilité

Présence dans les eaux résiduaires : pg/L → ng/L

Pas de réglementation mais liste de surveillance

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

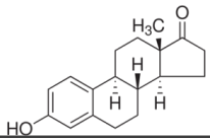
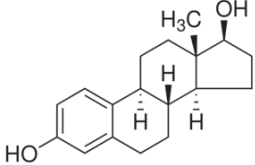
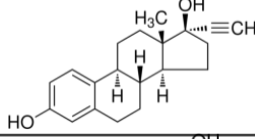
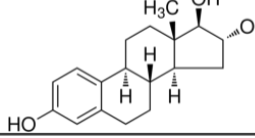
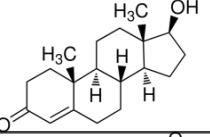
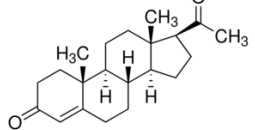
- **Développement d'une méthodologie d'extraction et d'analyse des hormones**
- **Application de la méthode sur des eaux usées**
- **Evaluation de l'influence des conditions de traitement par ozonation sur les hormones**

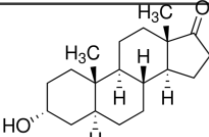
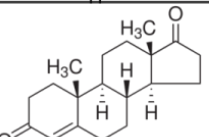
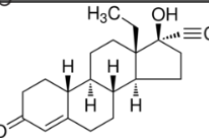
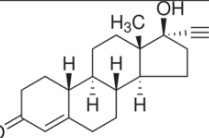
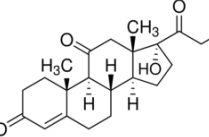
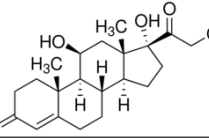
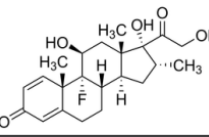
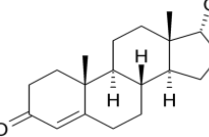
OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

- **Développement d'une méthodologie d'extraction et d'analyse des hormones**
- **Application de la méthode sur des eaux usées**
- **Evaluation de l'influence des conditions de traitement par ozonation sur les hormones**

MATÉRIEL ET MÉTHODES

LISTE DES HORMONES CHOISIES

Nom	N° CAS	Formule brute	Structure
Estrone	53-16-7	$C_{18}H_{22}O_2$	
17a Estradiol	57-91-0	$C_{18}H_{24}O_2$	
17B Estradiol	50-28-2	$C_{18}H_{24}O_2$	
17a Ethinyl Estradiol	57-63-6	$C_{20}H_{24}O_2$	
Estriol	50-27-1	$C_{18}H_{24}O_3$	
Testostérone	58-22-0	$C_{19}H_{28}O_2$	
Progestérone	57-83-0	$C_{21}H_{30}O_2$	

Nom	N° CAS	Formule brute	Structure
Androstérone	53-41-8	$C_{19}H_{30}O_2$	
Androstènedione	63-05-8	$C_{19}H_{26}O_2$	
Lévonorgestrel *	797-63-7	$C_{21}H_{28}O$	
Norethisterone *	68-22-4	$C_{20}H_{26}O_2$	
Cortisone	53-06-5	$C_{21}H_{28}O_5$	
Cortisol	50-23-7	$C_{21}H_{30}O_5$	
Dexaméthasone *	50-02-2	$C_{22}H_{29}FO_5$	
Epitestosterone	481-30-1	$C_{19}H_{28}O_2$	

* Hormone de synthèse

2 MÉTHODES D'ANALYSE PAR UPLC-HRMS

Appareillage

- Chromatographie en phase liquide ultra-haute performance (Accela 125 – ThermoFisher)
- Détection par spectrométrie de masse Orbitrap (QExactive – ThermoFisher)



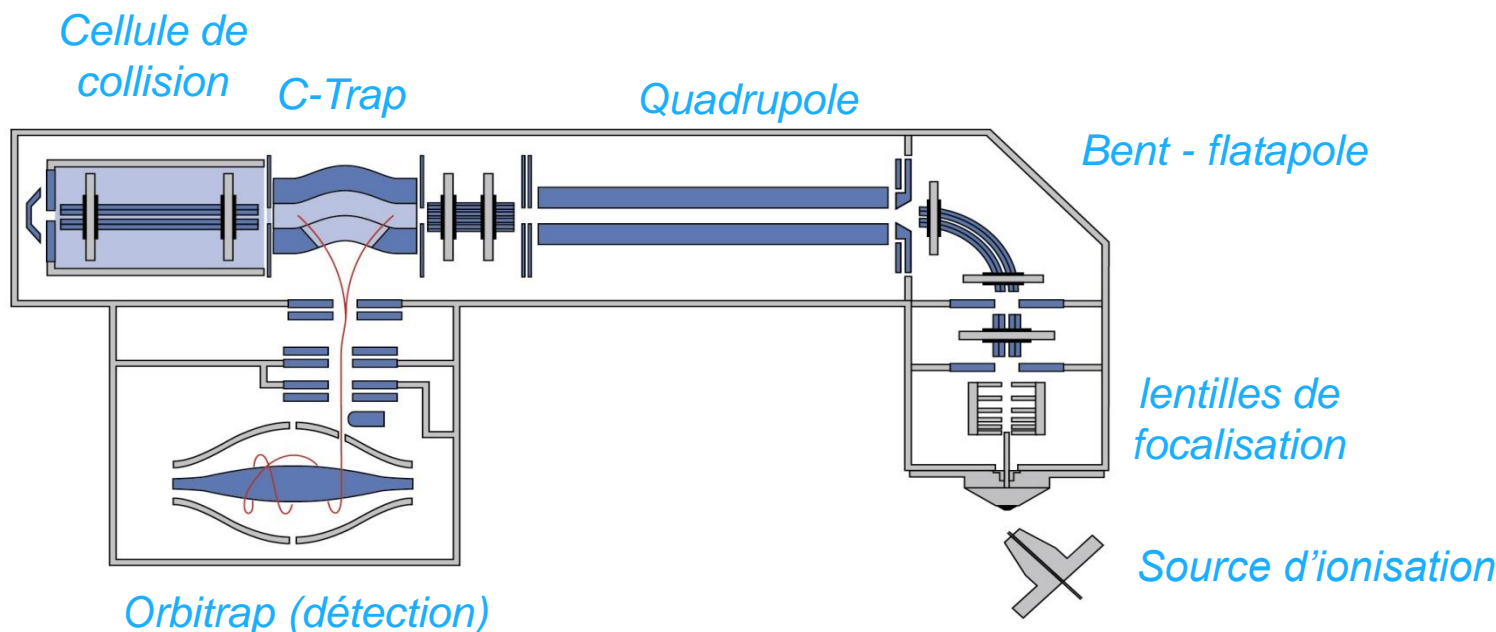
Conditions LC : 2 méthodes

- Phases mobiles : eau milliQ / Acétonitrile
- 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ – 20 μL injectés
- Colonne BEH C18 100 X 2,1 mm – 1,7 μm
- Gamme : 1 à 500 ng/L

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

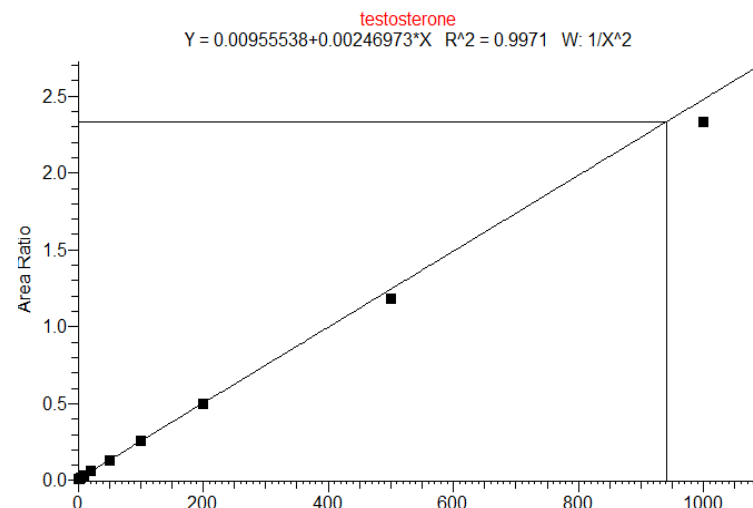
ANALYSE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE HAUTE RÉOLUTION : ORBITRAP

Schéma d'un Orbitrap (QExactive, Thermo)

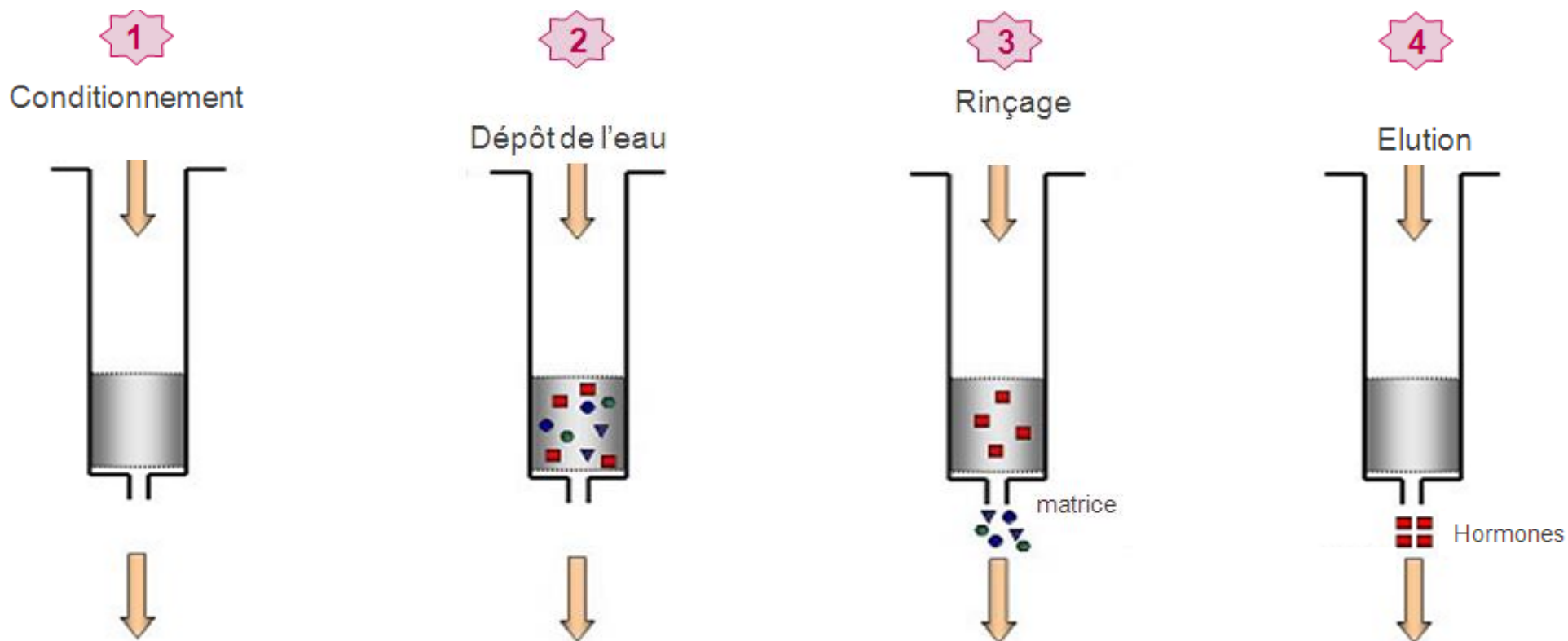


Analyse par HRMS :

- Ionisation positive et négative
- mode par sélection d'ions (masse exacte)
- Résolution = 70 000
- Étalonnage interne : 10 étalons internes
- LQ instrumentale = 1 ng/L sauf dexaméthasone, androsterone, norethisterone et estrone à 5 ng/L



EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE)



Choix du pH ?
Prise d'essai = 500 mL

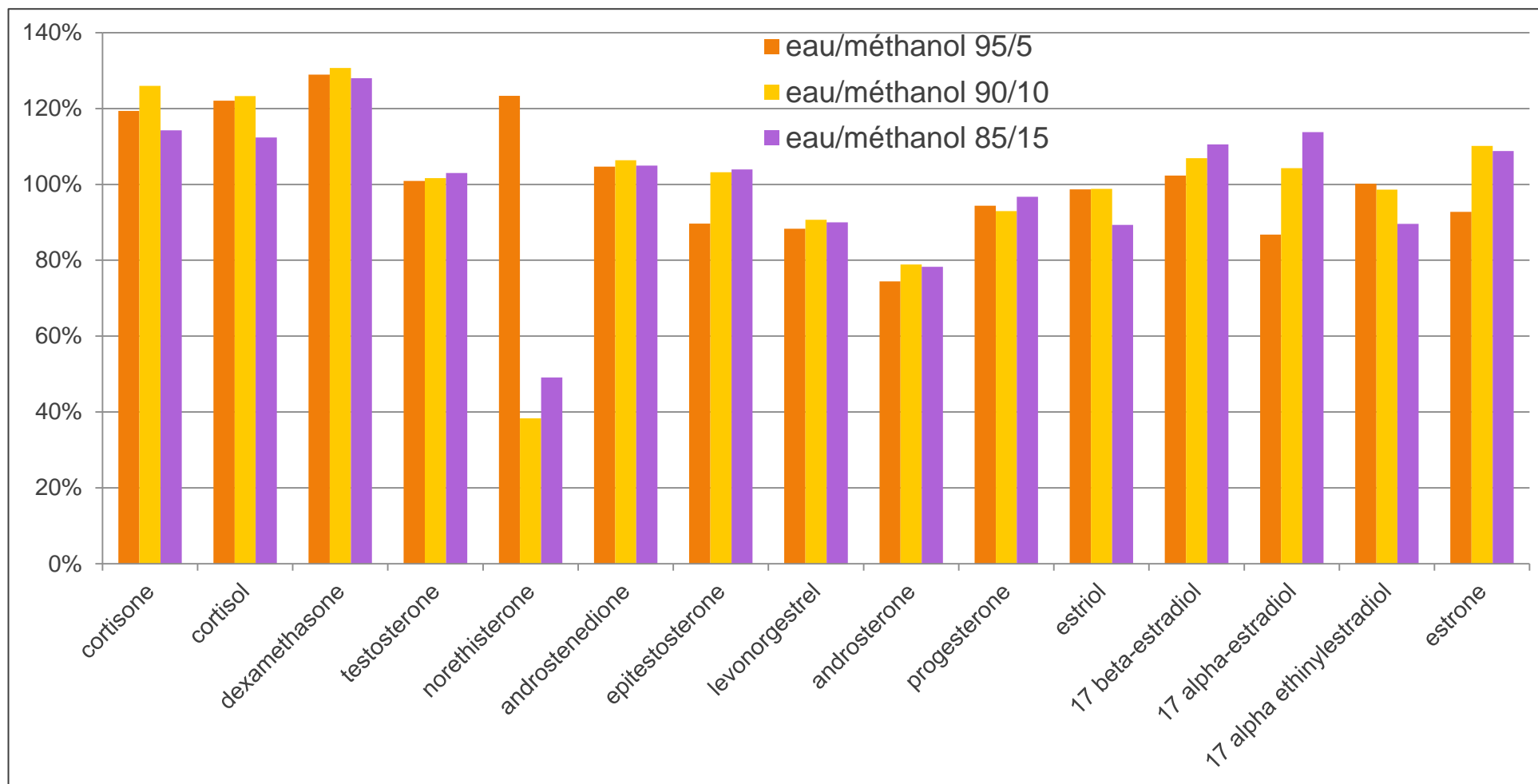
Quel solvant pour
éliminer des
interférents sans
perdre les
hormones ?

Quel solvant pour
extraire les
hormones ?

RÉSULTATS DE L'OPTIMISATION DE L'EXTRACTION SPE

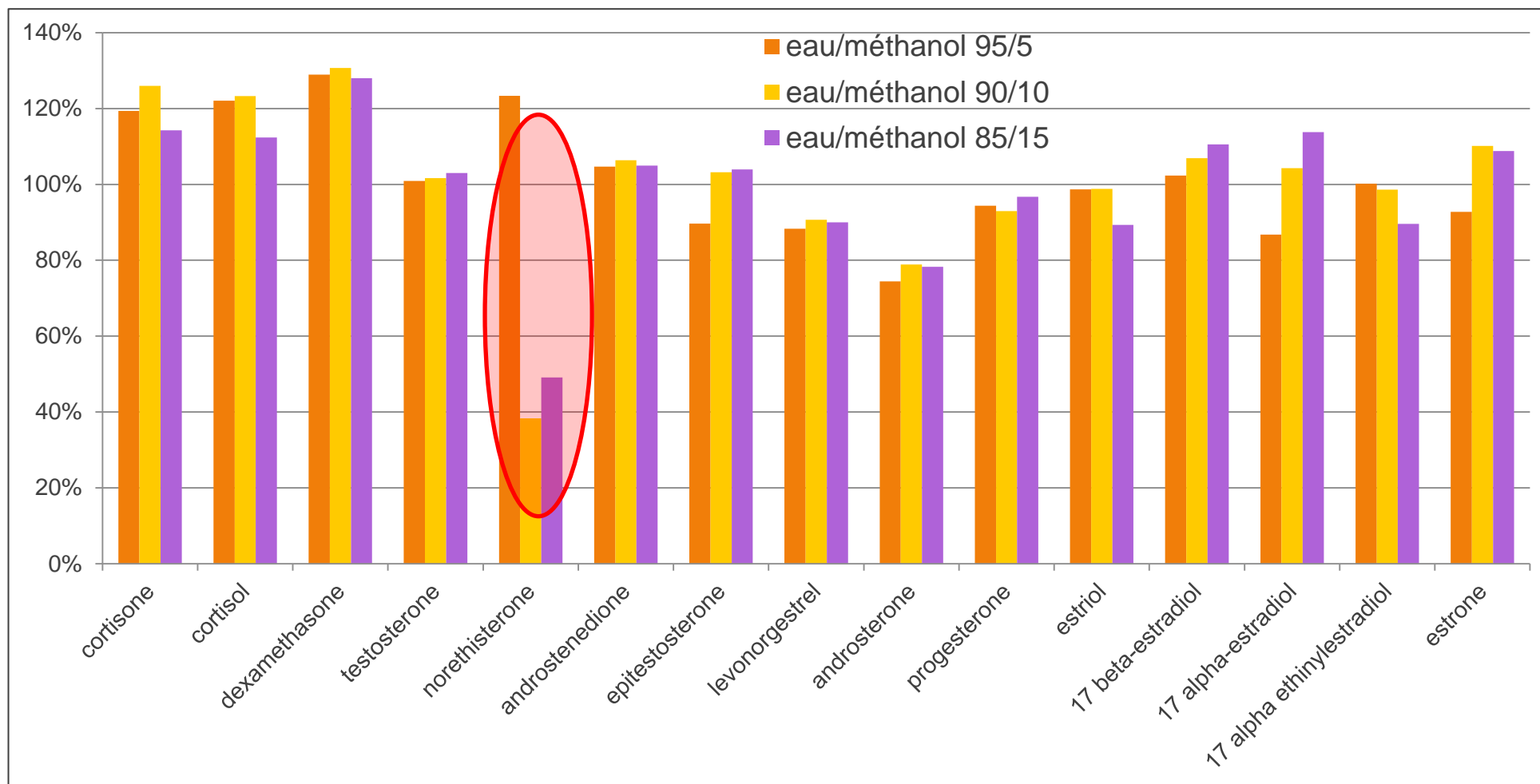


IMPACT DU RINÇAGE



Élution acétate d'éthyle / méthanol 50/50 après diverses conditions de rinçage

IMPACT DU RINÇAGE

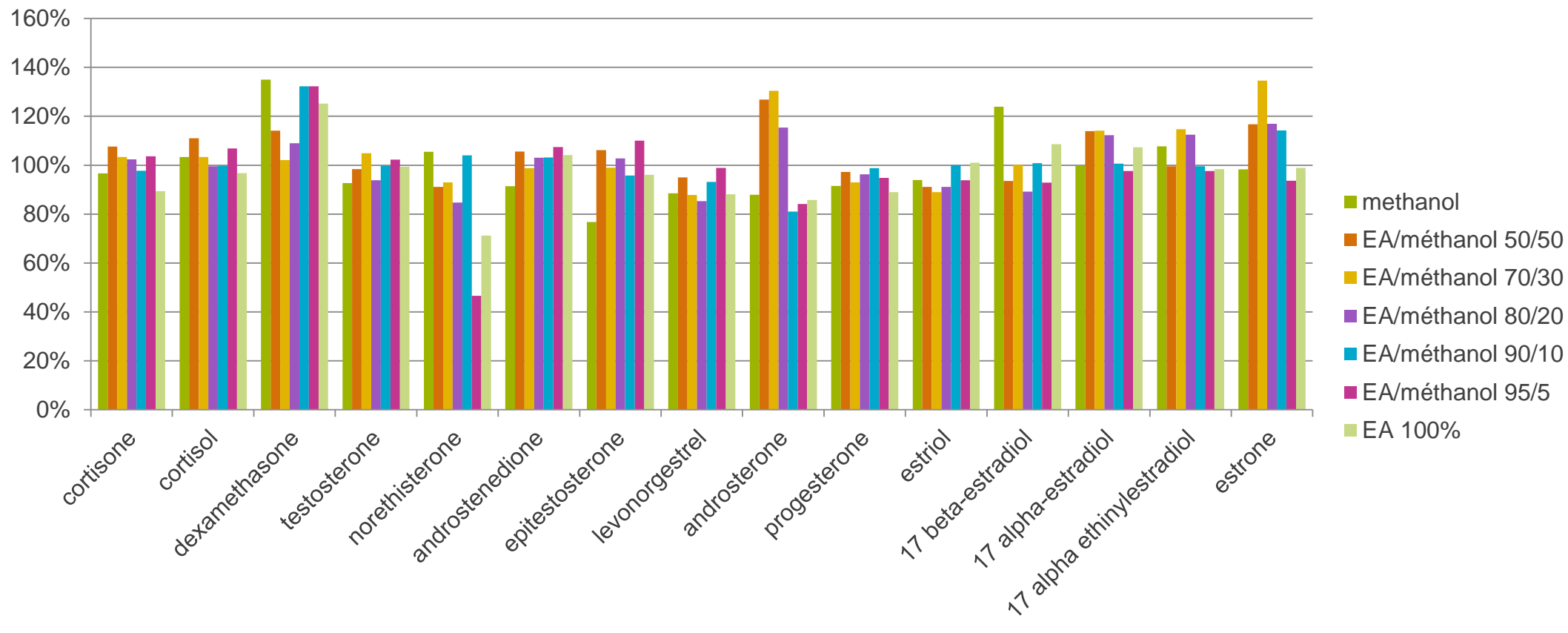


Élution acétate d'éthyle / méthanol 50/50 après diverses conditions de rinçage

➔ Rinçage eau / méthanol 95/5

IMPACT DU SOLVANT D'ÉLUTION

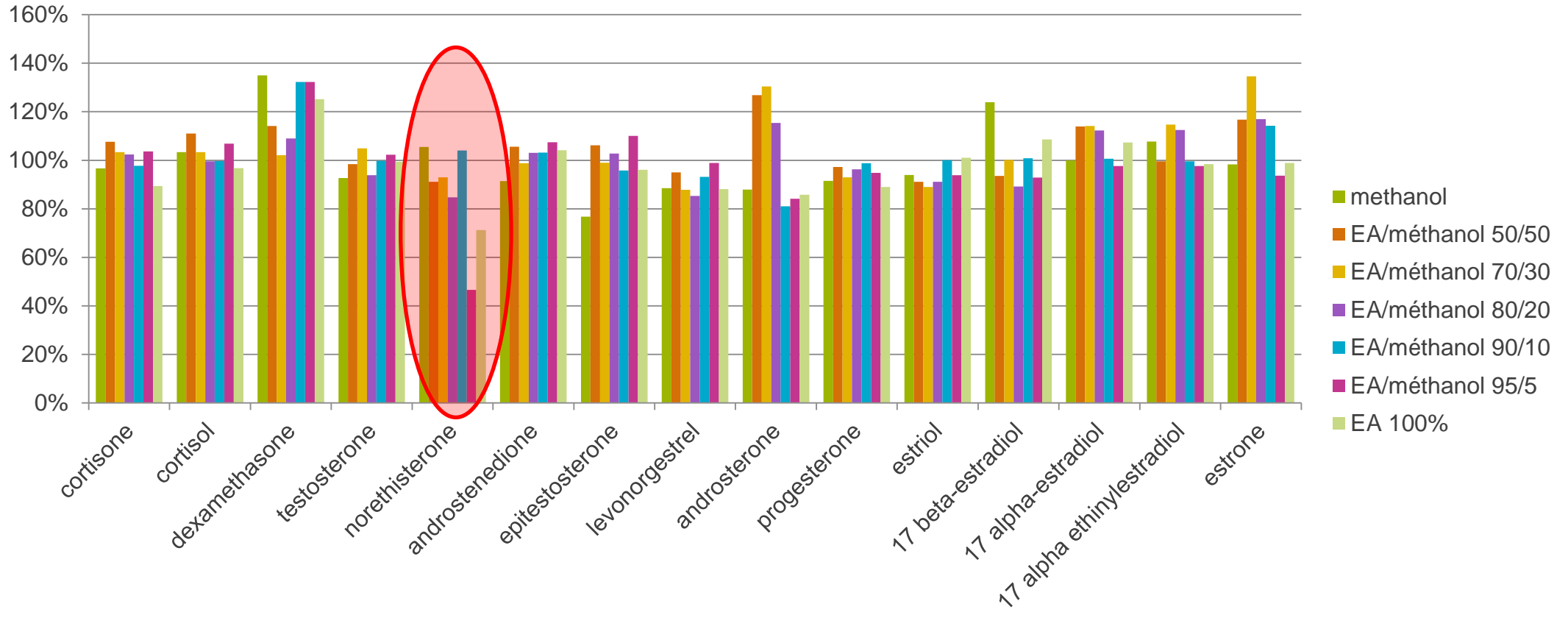
Pourcentage de récupération des hormones après élution
(dopage à 100 ng/L)



Pouvoir éluant : méthanol = 0,95 / acétate d'éthyle = 0,58

IMPACT DU SOLVANT D'ÉLUTION

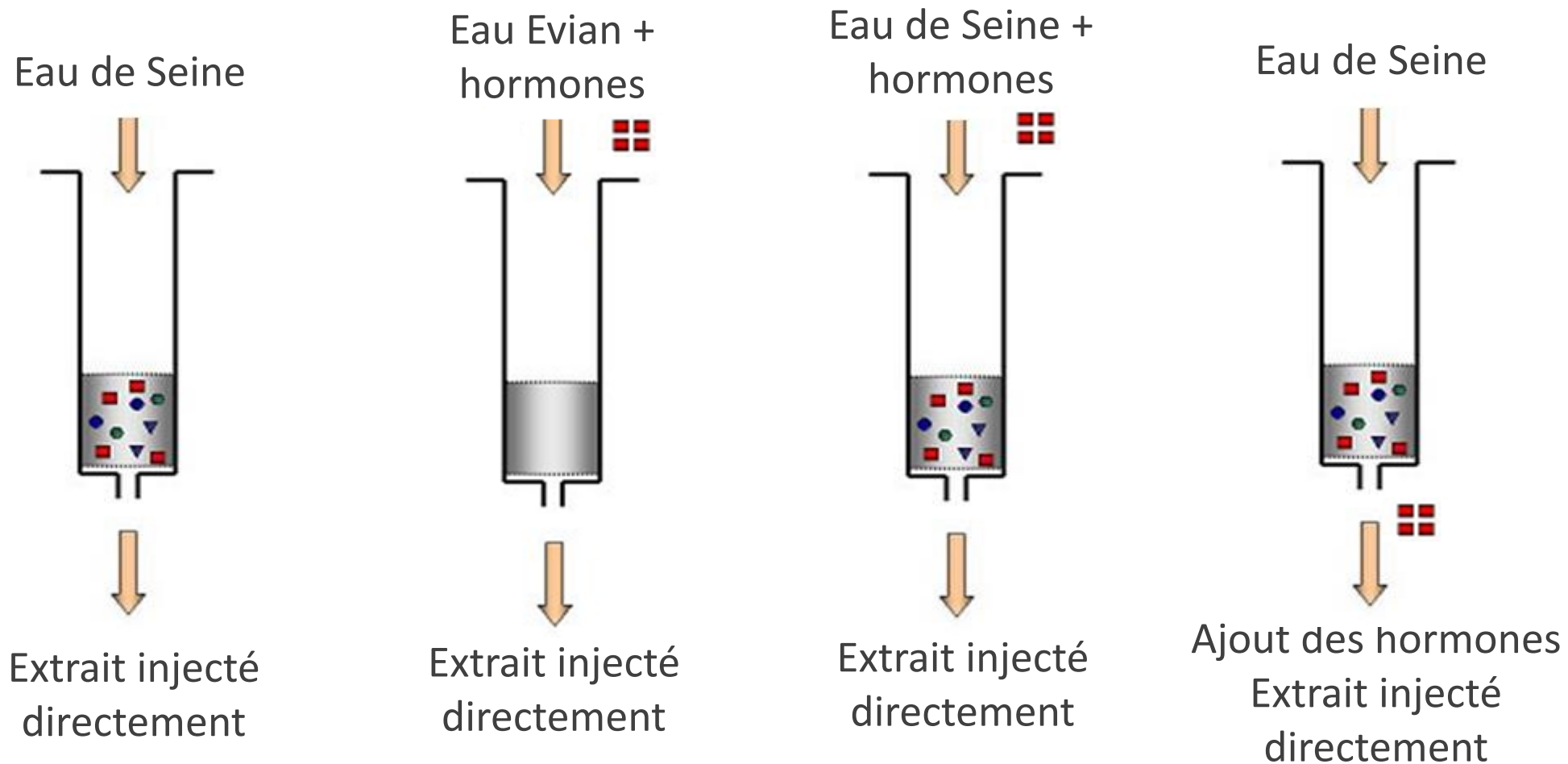
Pourcentage de récupération des hormones après élution
(dopage à 100 ng/L)



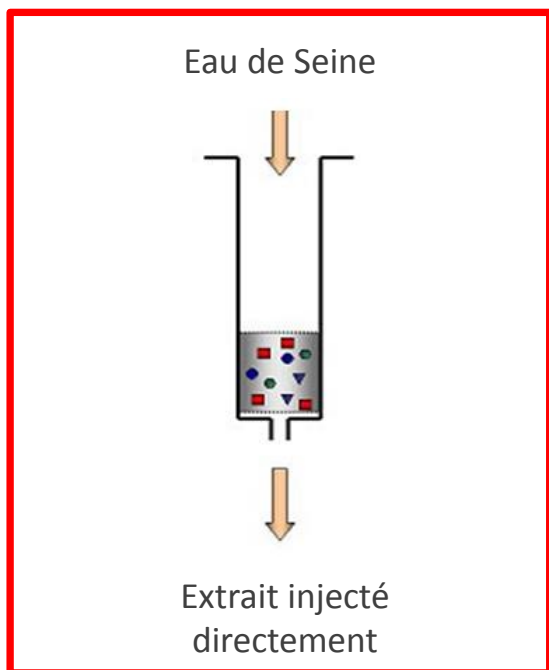
Pouvoir éluant : méthanol = 0,95 / acétate d'éthyle = 0,58

➔ **Elution acétate d'éthyle / méthanol 90/10**

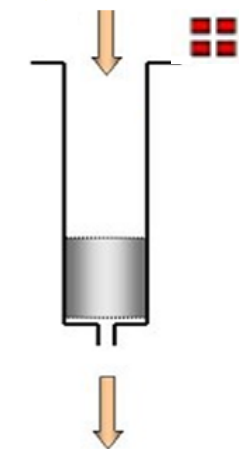
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE



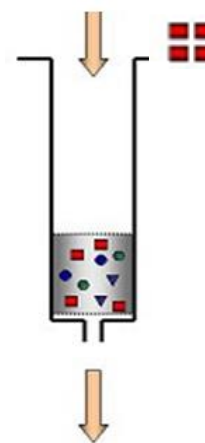
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE



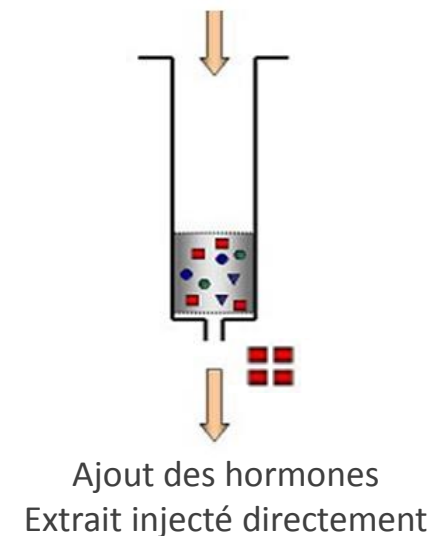
Eau Evian + hormones



Eau de Seine + hormones



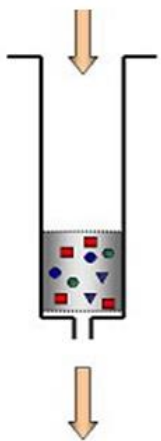
Eau de Seine



	<i>Seine (ng/L)</i>
cortisone	21
testostérone	< 1
norethisterone	< 1
androstenedione	< 1
androsterone	< 1
estrone	22

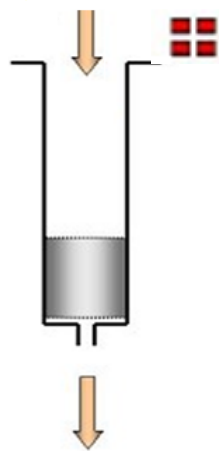
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

Eau de Seine



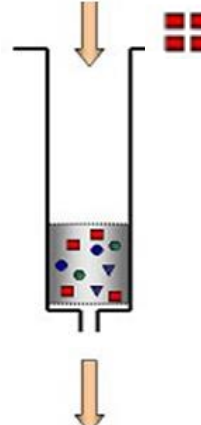
Extrait injecté
directement

Eau Evian + hormones



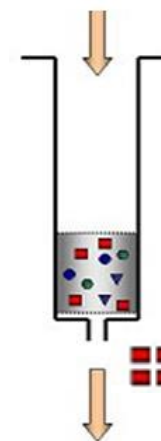
Extrait injecté
directement

Eau de Seine +
hormones



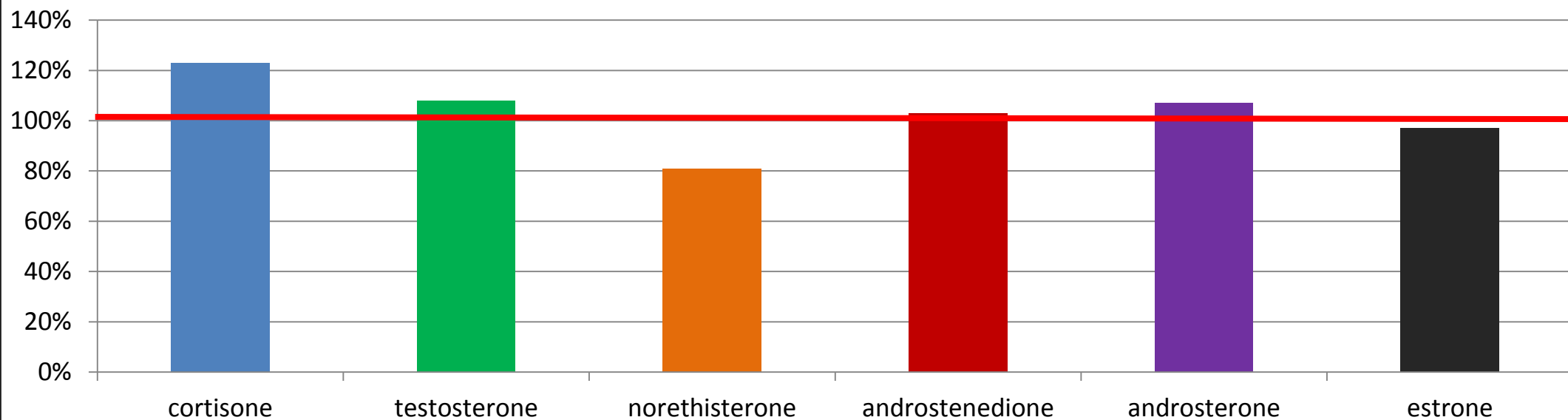
Extrait injecté
directement

Eau de Seine



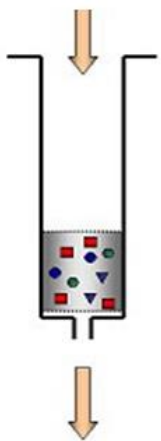
Ajout des hormones
Extrait injecté directement

Rendements des dopages Evian (%)



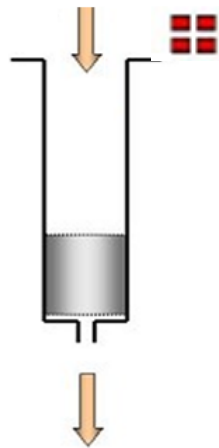
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

Eau de Seine



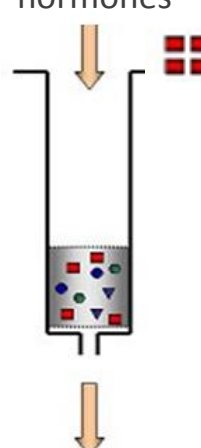
Extrait injecté
directement

Eau Evian + hormones



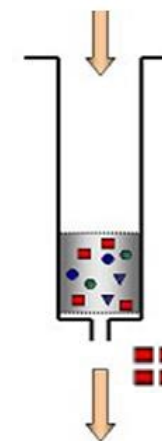
Extrait injecté
directement

Eau de Seine +
hormones



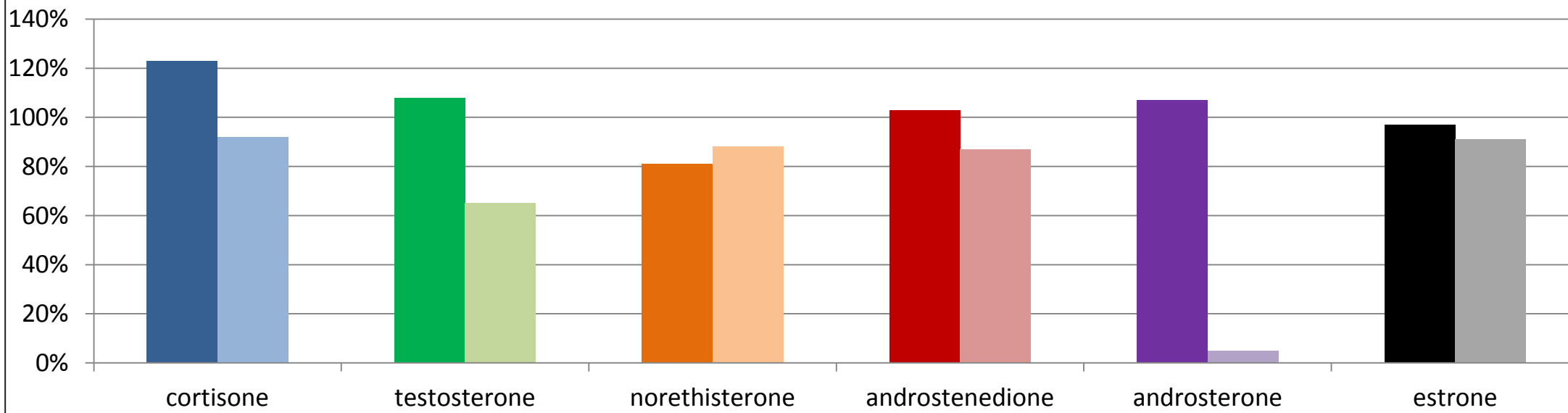
Extrait injecté
directement

Eau de Seine

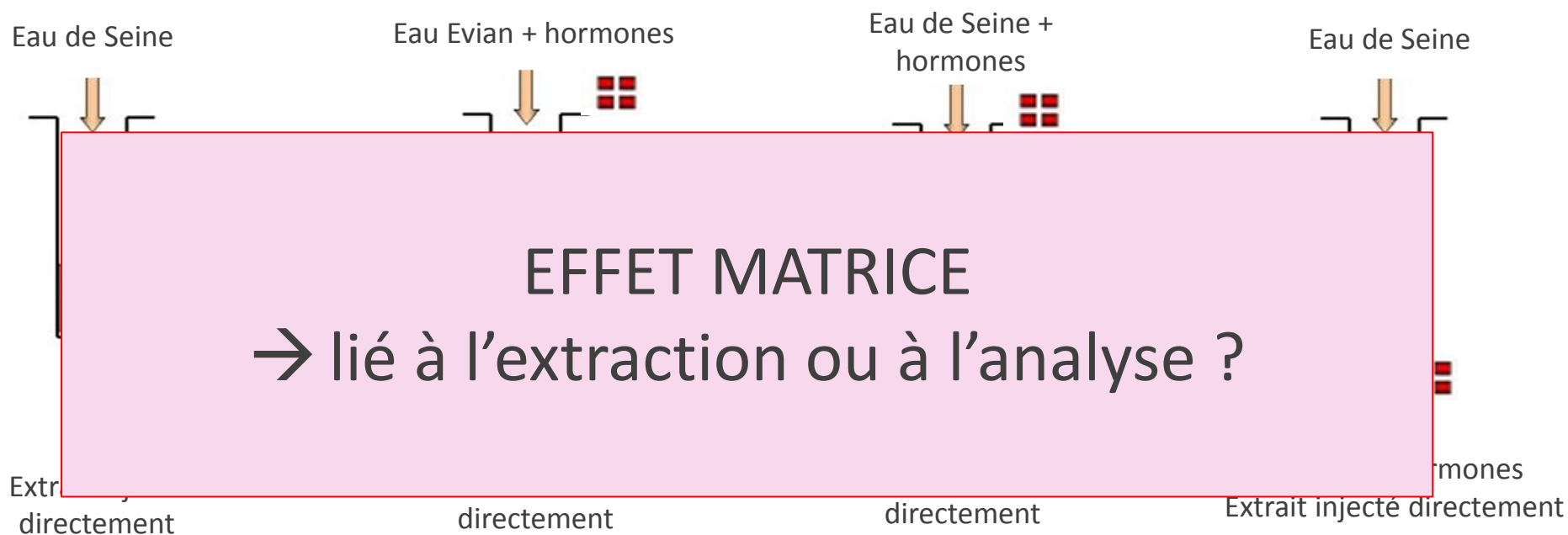


Ajout des hormones
Extrait injecté directement

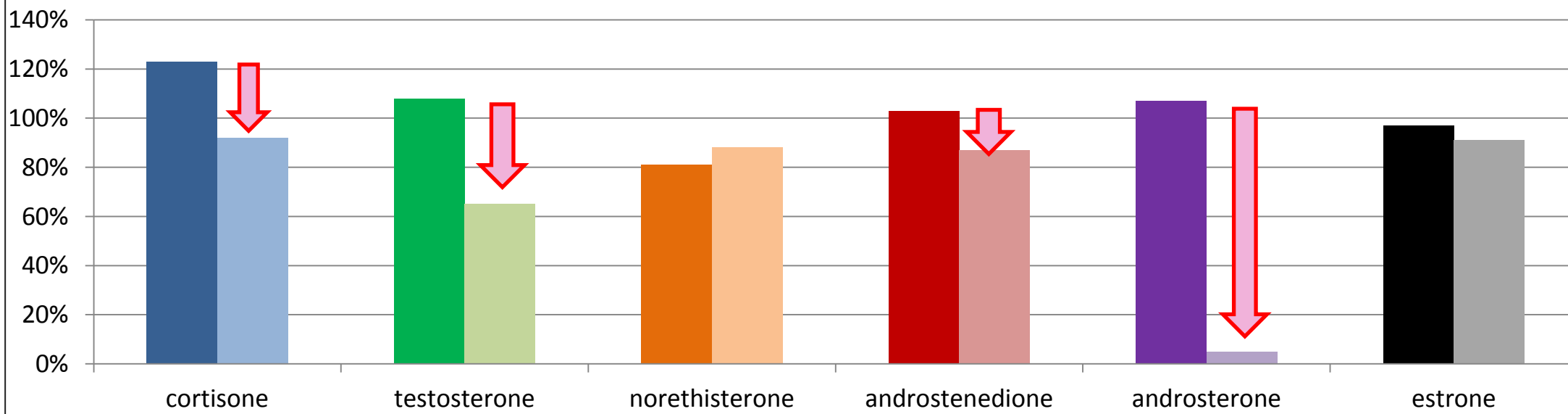
Rendements des dopages Evian et eau de Seine (%)



APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

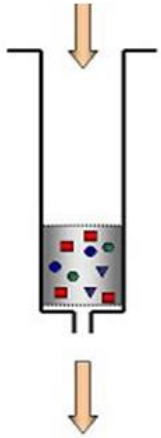


Rendements des dopages Evian et eau de Seine (%)



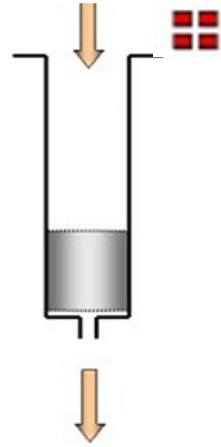
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

Eau de Seine



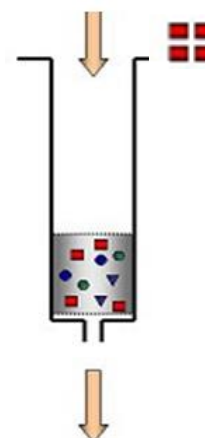
Extrait injecté
directement

Eau Evian + hormones



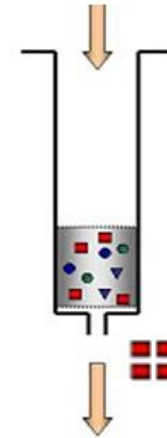
Extrait injecté
directement

Eau de Seine +
hormones



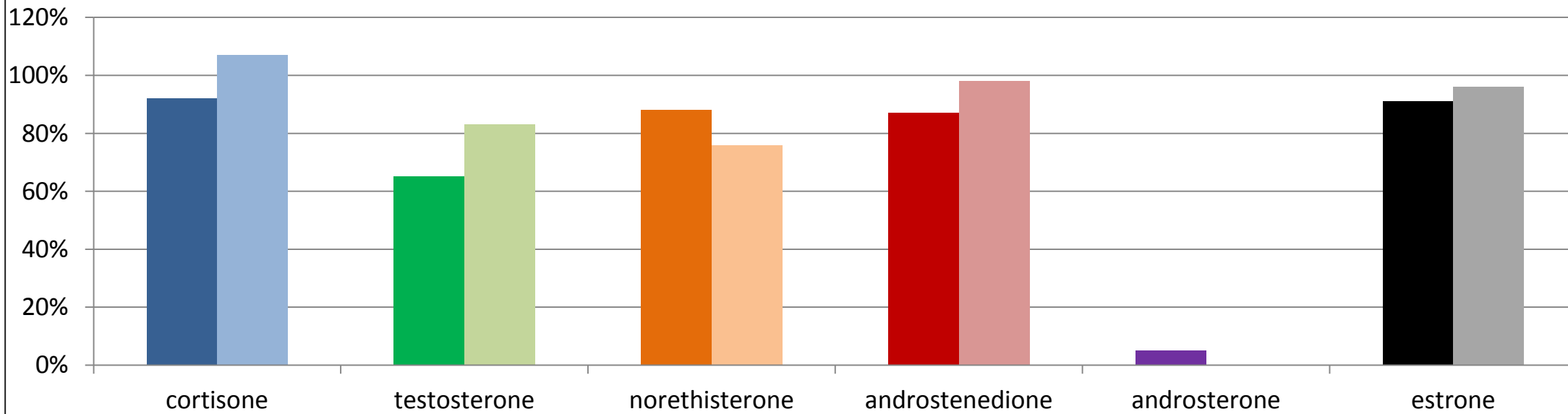
Extrait injecté
directement

Eau de Seine



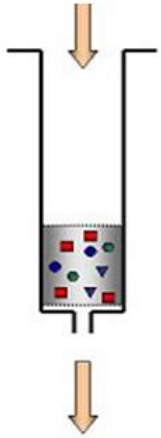
Ajout des hormones
Extrait injecté directement

Rendements des dopages avant et après extraction



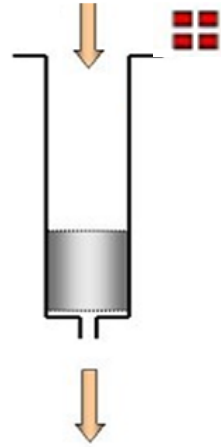
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

Eau de Seine



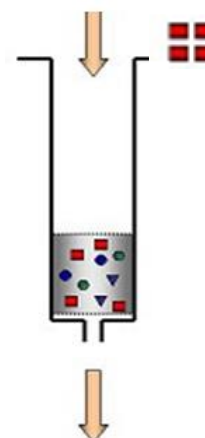
Extrait injecté
directement

Eau Evian + hormones



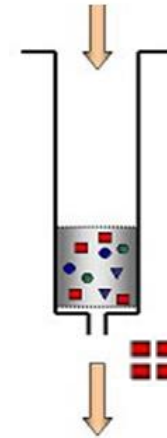
Extrait injecté
directement

Eau de Seine +
hormones



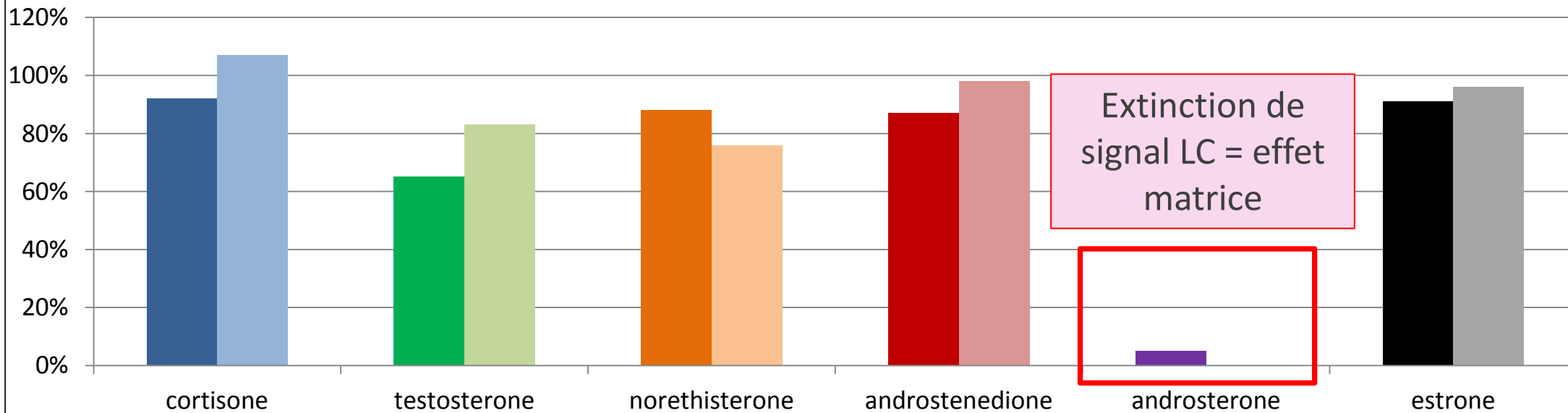
Extrait injecté
directement

Eau de Seine



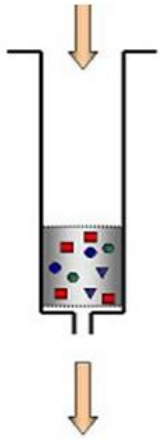
Ajout des hormones
Extrait injecté directement

Rendements des dopages avant et après extraction



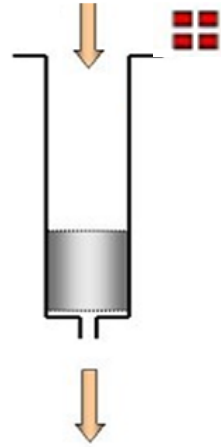
APPLICATION SUR L'EAU DE SEINE : MISE EN ÉVIDENCE D'UN EFFET MATRICE

Eau de Seine



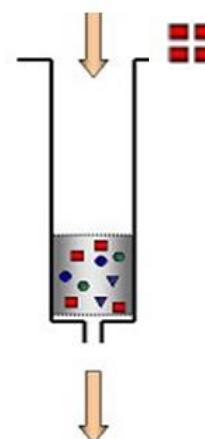
Extrait injecté
directement

Eau Evian + hormones



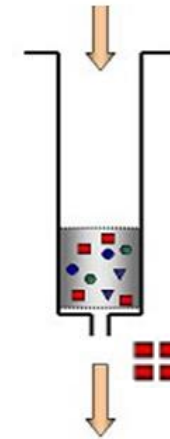
Extrait injecté
directement

Eau de Seine +
hormones

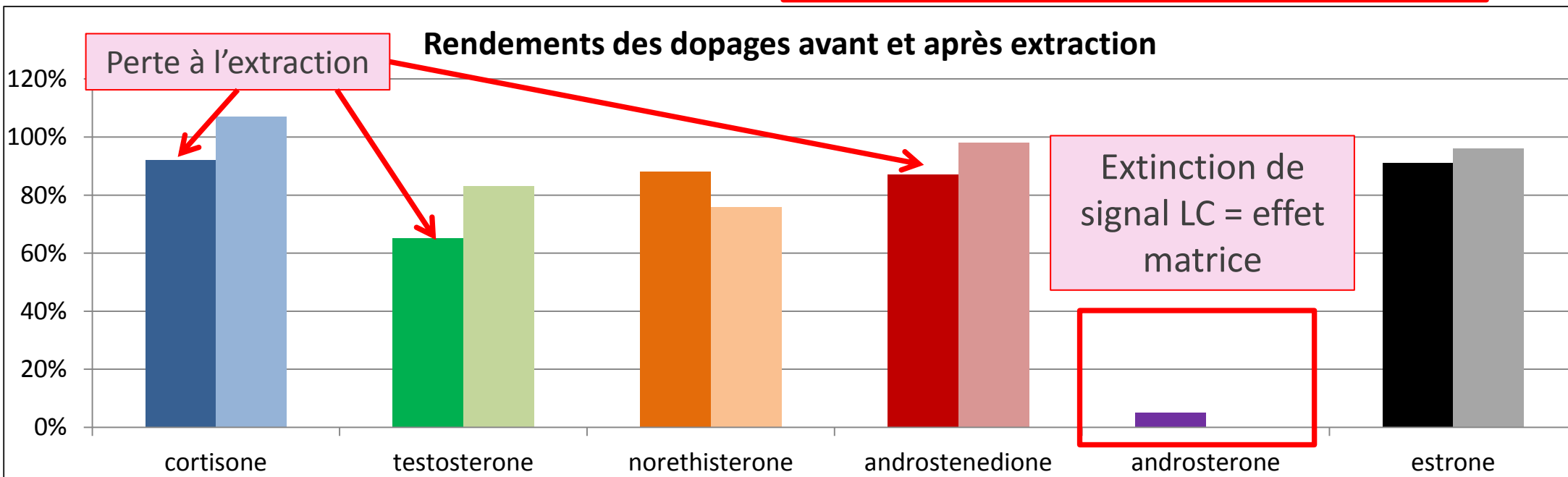


Extrait injecté
directement

Eau de Seine



Ajout des hormones
Extrait injecté directement



CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

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 pour des matrices complexes
- 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

S'ENGAGER
POUR LA PLANÈTE
EST UNE BELLE
ENTREPRISE



MERCI DE VOTRE ATTENTION