

## 16. posvet Kemijska varnost za vse

# Hormoni in kemični motilci endokrinega sistema kot novodobna onesnaževala v vodnem okolju

asist. dr. Andrej Grobin

doc. dr. Jurij Trontelj

prof. dr. Robert Roškar

UL Fakulteta za farmacijo

Katedra za biofarmacijo in farmakokinetiko

Brdo pri Kranju, 2024

# Vsebina

## 1 Uvod in namen

Teoretično ozadje področja in namen raziskave

## 2 Rezultati

Predstavitev rezultatov raziskave

## 3 Sklepi

Sklepi eksperimentalnega dela in pomen rezultatov

# 1

## Uvod in namen

Teoretično ozadje področja in namen raziskave

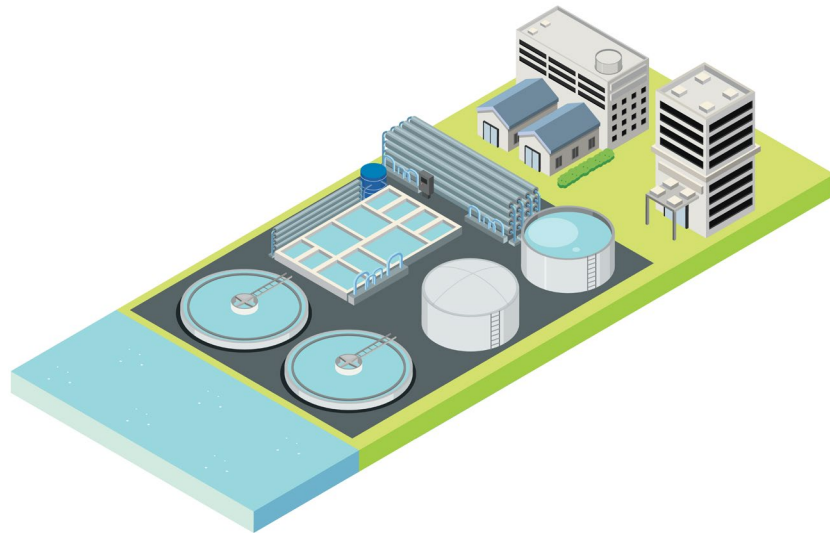
# Uvod

- Hormoni, zdravilne učinkovine, KMES
- Učinki KMES na ljudi, aditivnost
- Stik človeka s KMES
- Vstop KMES v okolje
- Problematika odpadnih vod
- Odstranjevanje na čistilnih napravah
- Povezanost vod



# Namen

- Obravnava problematike KMES
- Razvoj ustrezne analizne metodologije
- Meritve koncentracij v okoljskih vodah
- Določitev tveganj KMES v vodah
- Pomen obremenjenosti s KMES

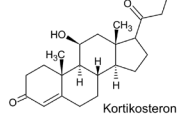
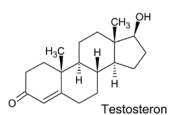
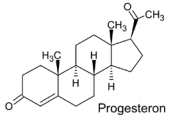
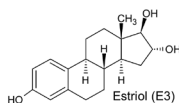
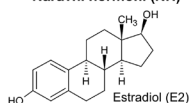
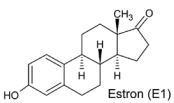


# 2

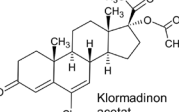
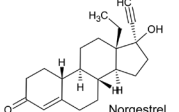
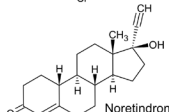
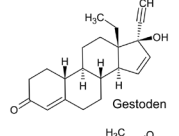
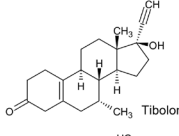
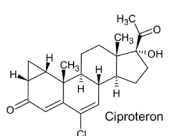
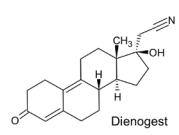
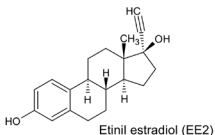
## Rezultati

Predstavitev rezultatov raziskave

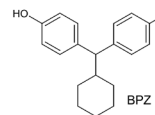
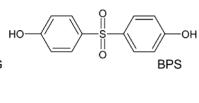
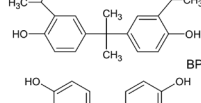
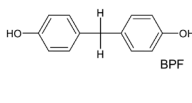
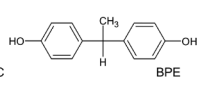
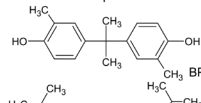
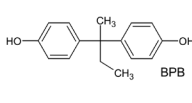
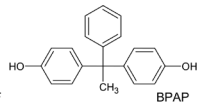
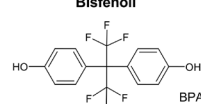
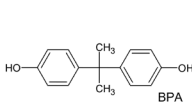
### Naravni hormoni (NH)



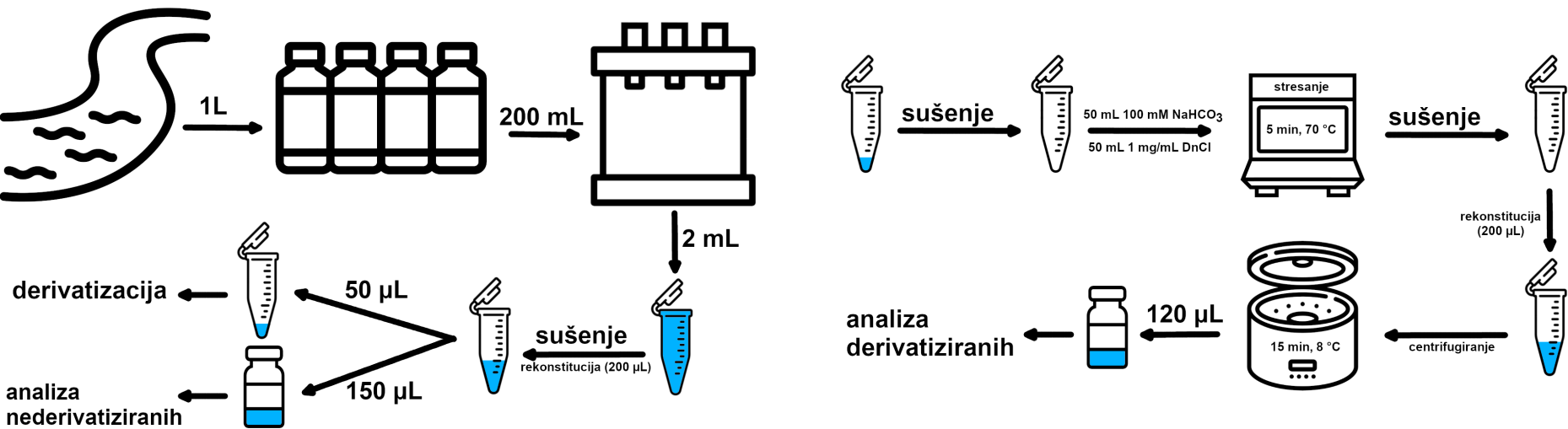
### Sintezni steroidi (SS)



### Bisfenoli

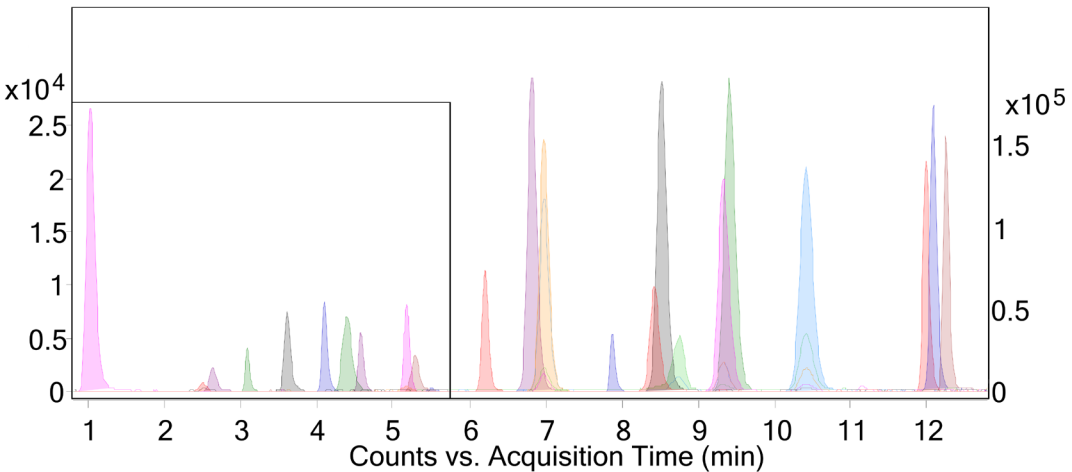


- Razvili ultra občutljivo analizno metodo
- 25 različnih KMES iz skupin naravnih hormonov, sinteznih steroidov ter bisfenolov

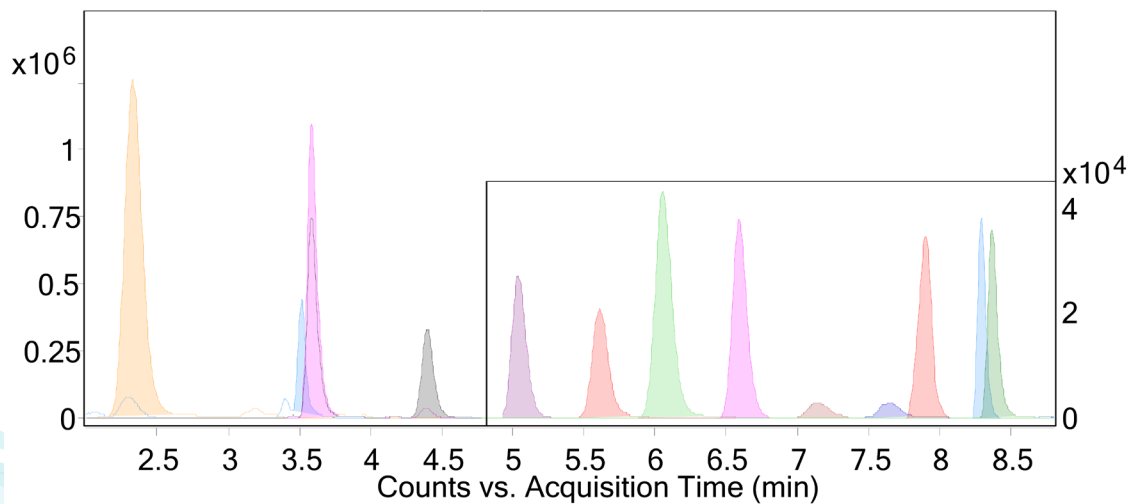


- Enostavna priprava vzorca z derivatizacijo
- SPE ekstrakcija 200 mL vzorca
- Uporaba LC-MS/MS nižjega srednjega cenovnega razreda
- Metoda zelo občutljiva s širokim delovnim območjem





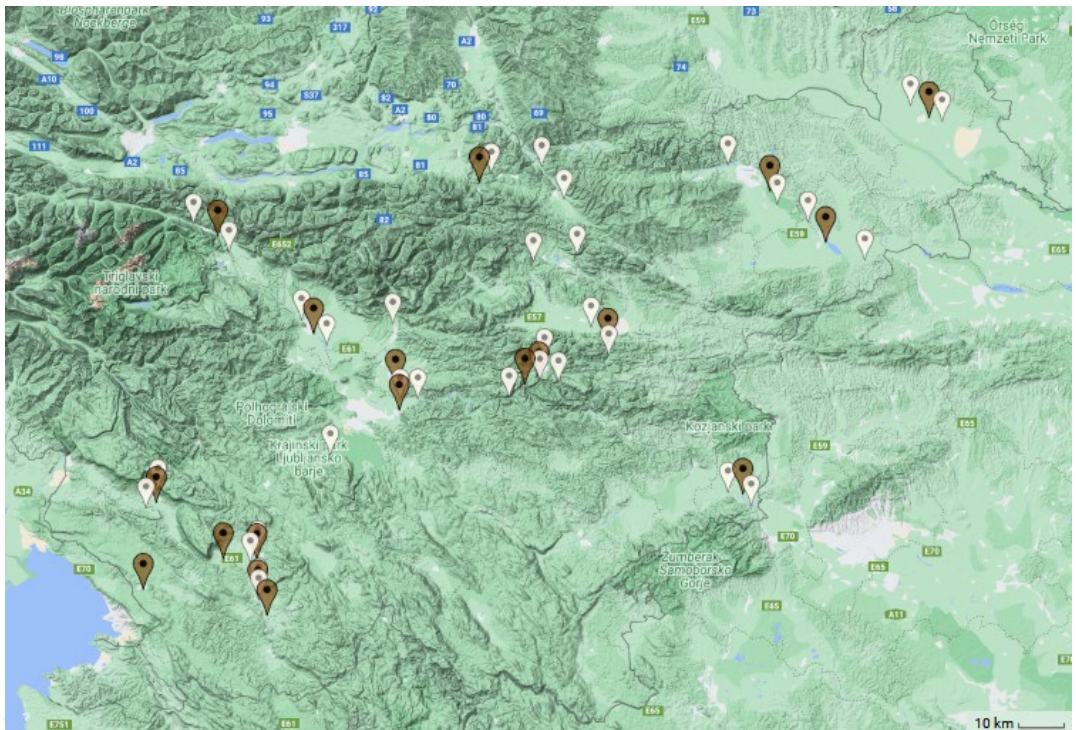
- Sočasno vrednotenje 25 KMES z dvema metodama z isto kolono in mobilno fazo



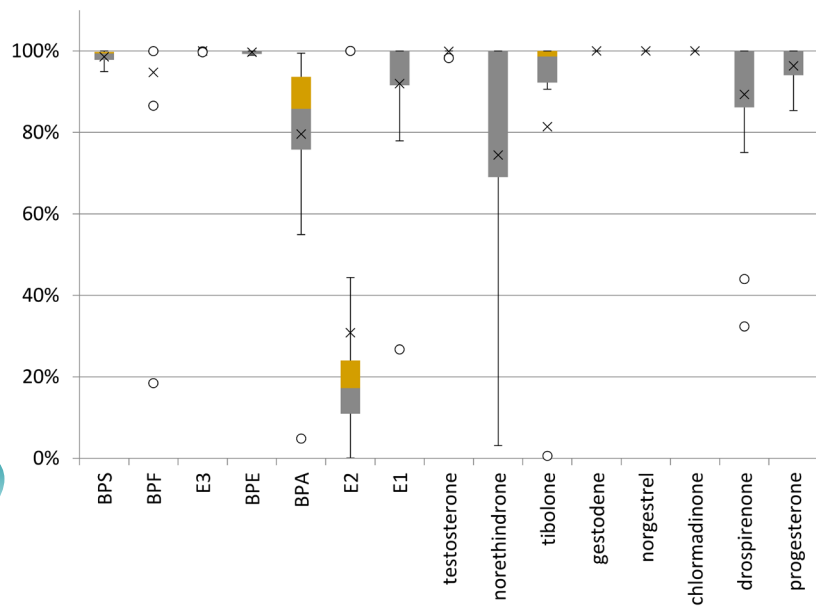
Compound Name	Calibration range [ng/L]	R <sup>2</sup>	LOD [ng/L]	LOQ [ng/L]	Accuracy [%]	intra- and between-day precision [%]	injection repeatability [%]	Recovery [%]	ME [%]				
					σ <sub>c</sub>	σ <sub>c</sub>	σ <sub>c</sub>	σ <sub>c</sub>	σ <sub>w</sub>				
BPS	0.3 - 300	0.9998	0.08	0.24	109-112	96-97	1.0/7.7	1.2/5.8	1.4	1.0	99.7	-9.4	-17.8
BPF	4.0 - 400	0.9995	1.3	4.0	/	97-100	/	1.8/5.4	/	1.4	100.8	9.4	17.4
estriol	2.3 - 75	0.9990	0.75	2.3	/	97-99	/	6.2/9.0	/	2.3	89.5	5.9	22.2
BPE	1.5 - 300	0.9995	0.5	1.5	103-117	93-94	0.3/14.6	2.4/5.6	0.4	1.5	104.4	6.5	24.2
BPA	0.8 - 300	1.0000	0.28	0.84	/	95-96	/	0.5/7.0	/	0.4	109.8	0.3	17.1
BPAF	1.5 - 300	0.9981	0.5	1.5	/	90-99	/	1.0/6.6	/	0.7	112.9	-5.8	20.9
BPB	1.5 - 300	0.9998	0.5	1.5	108-115	97-98	8.9/10.5	3.0/4.8	7.2	2.6	118.0	8.3	16.5
BPC	9.0 - 300	0.9989	3.0	9.0	/	88-94	/	3.2/6.8	/	2.9	111.3	-12	19.6
estradiol	40 - 400	0.9994	13.3	40	/	94-97	/	1.5/5.2	/	1.3	111.2	8.6	19.5
ethinyloestradiol	25 - 75	0.9992	8.8	26	/	88-95	/	5.2/18.5	/	2.3	88.2	5.2	10.2
BPAP	0.4 - 300	0.9999	0.14	0.42	100-110	98-101	2.0/8.0	1.9/5.9	2.2	1.5	103.8	-3.6	6.1
BPZ	2.0 - 200	0.9999	0.67	2.0	/	101-102	/	1.5/7.5	/	1.5	100.0	-5.5	0.6
corticosterone	0.9 - 850	0.9998	0.23	0.68	81-82	109-110	4.4/7.3	1.0/7.8	1.8	0.7	88.9	5.1	-13.4
dienogest	0.4 - 400	1.0000	0.11	0.32	90-92	106-107	2.3/4.9	1.4/5.8	1.9	1.0	89.1	-8	-20.6
estrone	3.0 - 30	0.9999	1.0	3.0	/	98-102	/	3.2/5.6	/	2.5	98.8	-1.3	21.0
testosterone	0.1 - 100	1.0000	0.046	0.14	96-97	101-102	2.1/6.6	1.3/2.8	1.4	1.1	99.2	-3.3	1.7
norethindrone	0.8 - 750	0.9994	0.20	0.60	114-115	95-98	1.5/5.3	0.4/4.3	0.5	0.6	99.9	-4.6	5.8
tibolone	2.0 - 700	0.9976	0.65	2.0	73-75	113-117	3.1/9.2	0.4/3.9	2.9	0.4	96.4	6	10.7
BPG	6.0 - 600	0.9994	2.0	6.0	/	95-98	/	1.5/6.8	/	1.4	97.4	-17.6	14.0
gestodene	0.55 - 550	0.9999	0.15	0.44	88-91	104-105	0.6/3.9	0.7/3.3	0.5	0.5	101.4	-3.1	8.3
cyproterone	1.25 - 1250	0.9986	0.33	1.0	71-72	109-110	1.7/4.5	1.0/2.5	1.4	1.1	102.4	2.8	8.5
norgestrel	0.5 - 500	0.9998	0.13	0.4	106-109	98-100	1.3/3.2	1.1/3.0	0.8	0.8	104.9	-5.6	13.0
chlormadinone	3.5 - 3500	0.9998	0.93	2.8	106-106	100-102	1.9/4.5	1.0/7.9	1.9	0.9	93.6	-2.4	12.3
drospirenone	0.4 - 400	0.9998	0.11	0.32	106-106	99-102	2.1/4.1	1.6/7.3	2.0	1.3	100.4	-7.6	6.5
progesterone	0.1 - 100	0.9997	0.027	0.080	102-108	97-102	3.8/5.4	2.3/6.1	1.0	2.0	94.6	-7.9	-0.6
estriol-D*	0.075 - 26	0.9999	0.02	0.06	92-99	101-103	4.9/8.0	3.5/4.0	2.4	0.8	100.3	-5.3	0.5
ethinyloestradiol-D	0.075 - 26	1.0000	0.02	0.06	93-94	100-102	2.8/3.9	2.4/3.5	1.2	0.8	97.1	-2.1	23.4
estradiol-D	0.4 - 140	0.9999	0.11	0.32	103-108	98-102	3.0/5.1	0.9/3.2	0.6	0.7	100.9	-10.5	-5.4
estrone-D	0.03 - 11	0.9999	0.028	0.084	86-91	100-103	1.6/4.2	3.2/4.8	1.2	1.0	94.6	6.2	13.7
BPS-D	0.3 - 105	1.0000	0.08	0.24	99-103	102-103	1.0/5.5	1.3/5.9	1.3	0.5	102.0	-1.8	-12.1
BPAF-D	0.3 - 105	0.9995	0.08	0.24	98-101	99-103	5.1/17.4	2.9/6.9	0.9	0.5	87.3	9.7	-8.4
BPF-D	0.4 - 140	1.0000	0.11	0.32	97-107	100-104	2.3/7.7	3.1/5.2	1.4	0.7	88.2	-8.9	2.5
BPE-D	0.3 - 105	1.0000	0.08	0.24	97-100	98-101	3.2/6.9	0.3/4.2	1.0	0.8	98.3	-4.8	4.4
BPA-D	0.3 - 105	1.0000	0.08	0.24	93-117	98-99	0.5/15.6	0.9/5.4	0.3	0.7	97.7	-4.0	-1.8
BPB-D	0.3 - 105	0.9999	0.08	0.24	99-100	99-100	2.1/6.5	2.3/4.8	0.8	0.6	87.6	0.0	1.8
BPC-D	1.5 - 105	0.9997	0.5	1.5	87-105	96-98	8.5/18.4	1.2/7.5	2.6	1.1	73.0	-10.1	20.2
BPG-D	0.6 - 210	1.0000	0.16	0.48	91-108	100-102	6.1/16.0	1.3/17.3	2.9	1.1	80.5	-17.1	22.7
BPAP-D	0.3 - 105	0.9997	0.08	0.24	89-89	94-97	7.5/9.2	3.0/6.9	2.6	0.6	77.0	9.9	-9.6
BPZ-D	0.2 - 70	0.9999	0.053	0.16	90-90	93-97	7.8/9.1	1.5/4.2	2.1	1.0	79.6	1.7	-2.8

## Metoda validirana:

- selektivnost (signali brez presluhov),
- linearnost ( $R^2 > 0.999$ , širina območja treh velikostnih razredov),
- meje kvantifikacije (od 60 pg/L do 2.8 ng/L),
- točnost (81-117%),
- natančnost (RSD < 20%),
- izkoristek (73-118%),
- učinek ozadja (-20,6 do 23,4%)
- stabilnost (>90% v 48 urah).

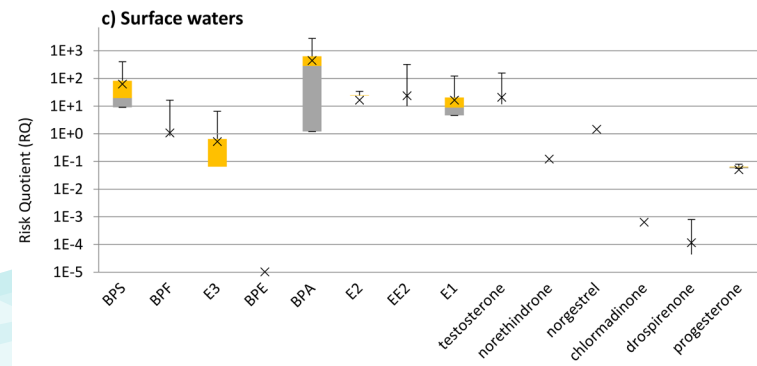
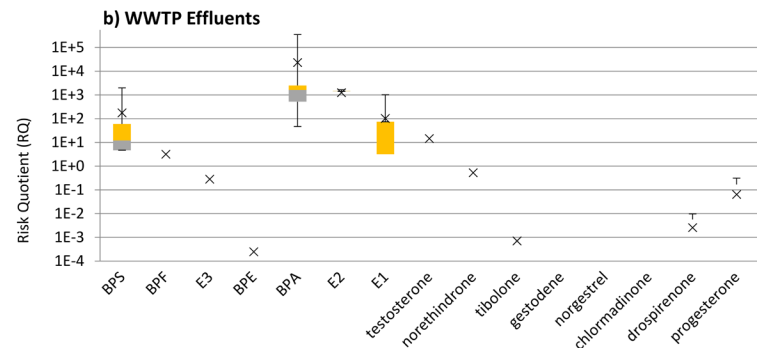
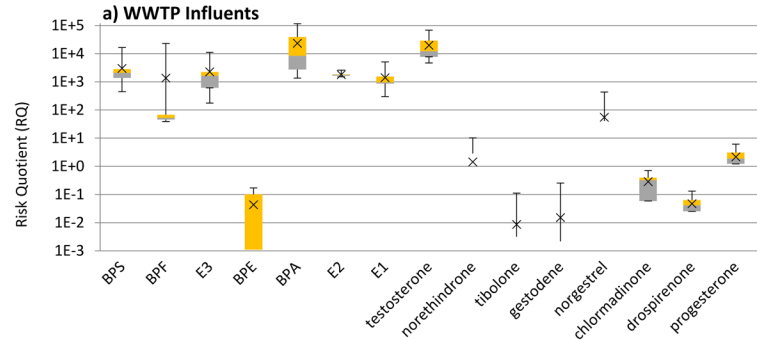


- Vzorci vtokov in iztokov iz 18 čistilnih naprav po Sloveniji
- 33 vzorcev rečnih vod iz 15 rek

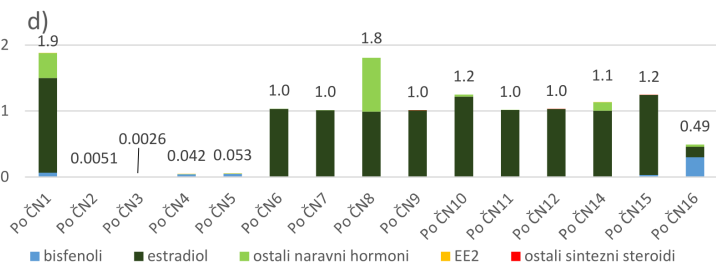
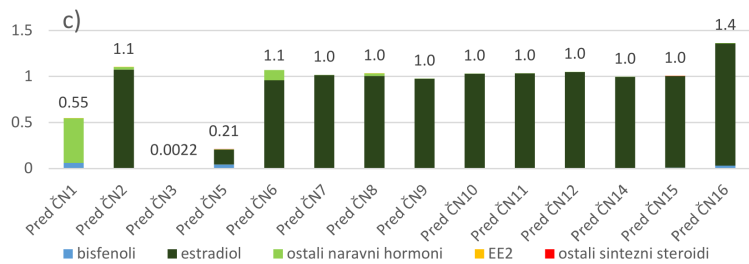
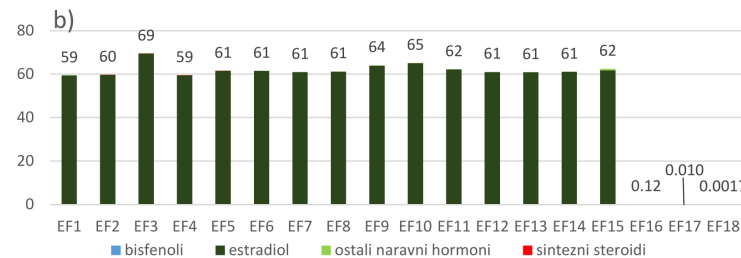
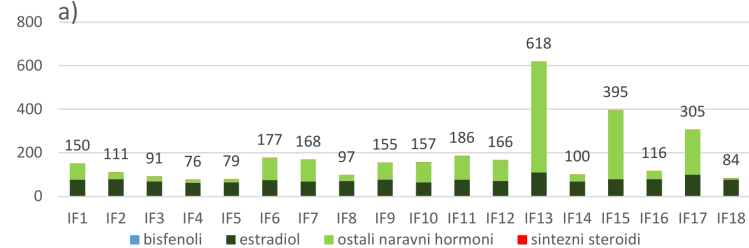


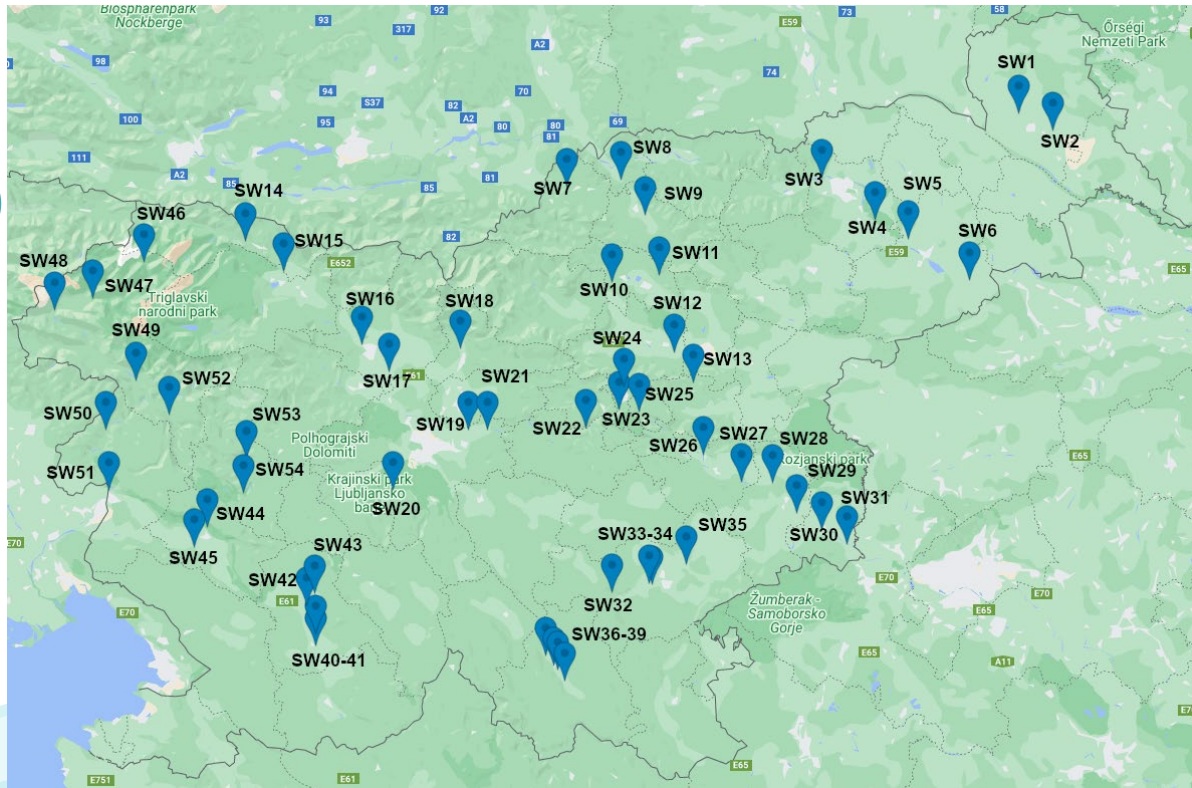
- Najprej analizirali večje število vzorcev odpadnih in povezanih rečnih vod s cele Slovenije
- Uspešno kvantificirali 16 KMES
- Najvišje konc. bisfenolov S, A in F, estriola in klormadinona
- Določili stopnjo odstranjevanja v čistilnih napravah

- Tveganje zelo visoko v vtokih in iztokih iz čistilnih naprav
- Prisotnost BPA, estradiola, BPS in estrona predstavlja veliko tveganje v rečnih vzorcih
- RQ BPA-ja tudi 450 v rečnih vzorcih

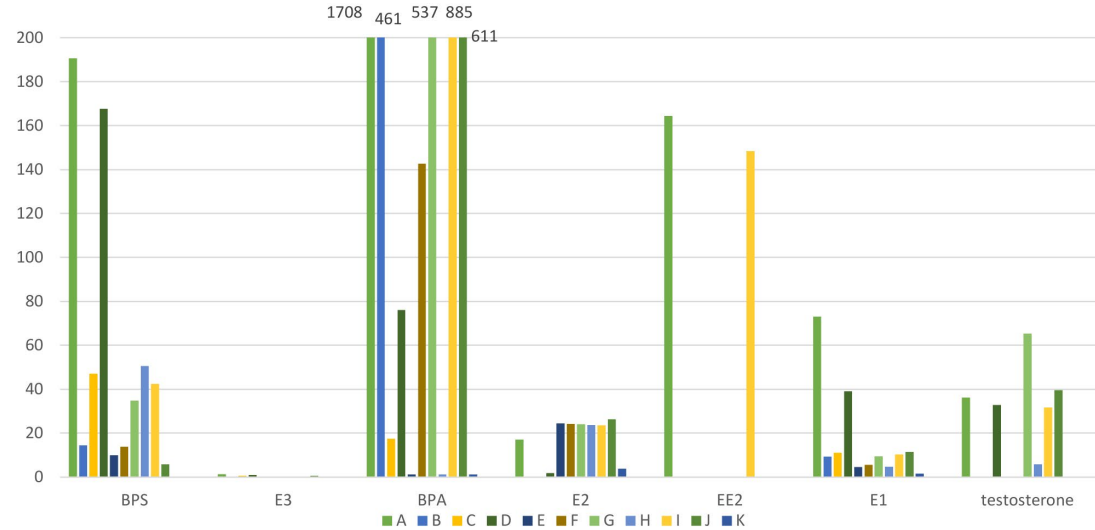


- Čistilne naprave dobre v odstranjevanju večine KMES
- Zmanjšanje estradiolske aktivnosti po obdelavi v čistilnih napravah 61%
- Varne vrednosti za estrogensko aktivne spojine presežene za dva velikostna razreda



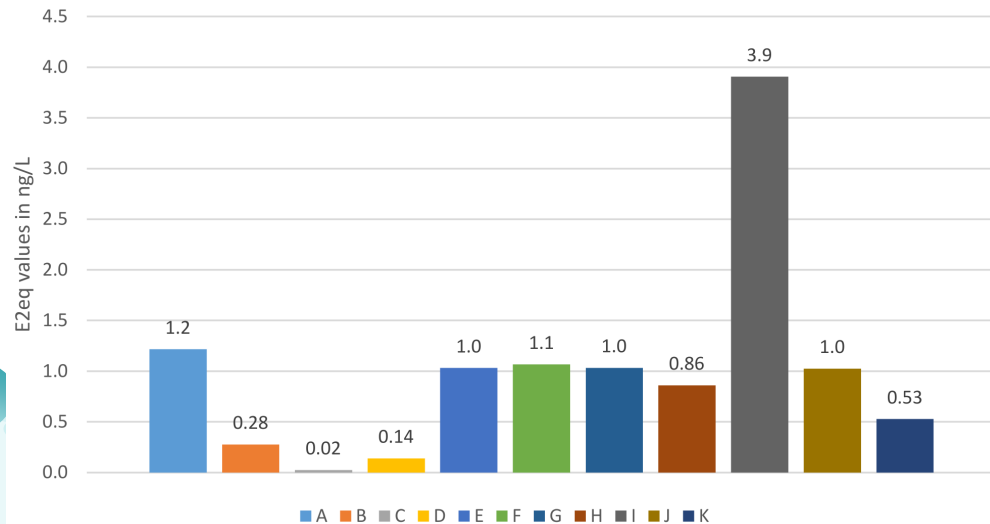


- 54 vzorcev rečnih vod iz 18 rek iz 11-ih slovenskih regij

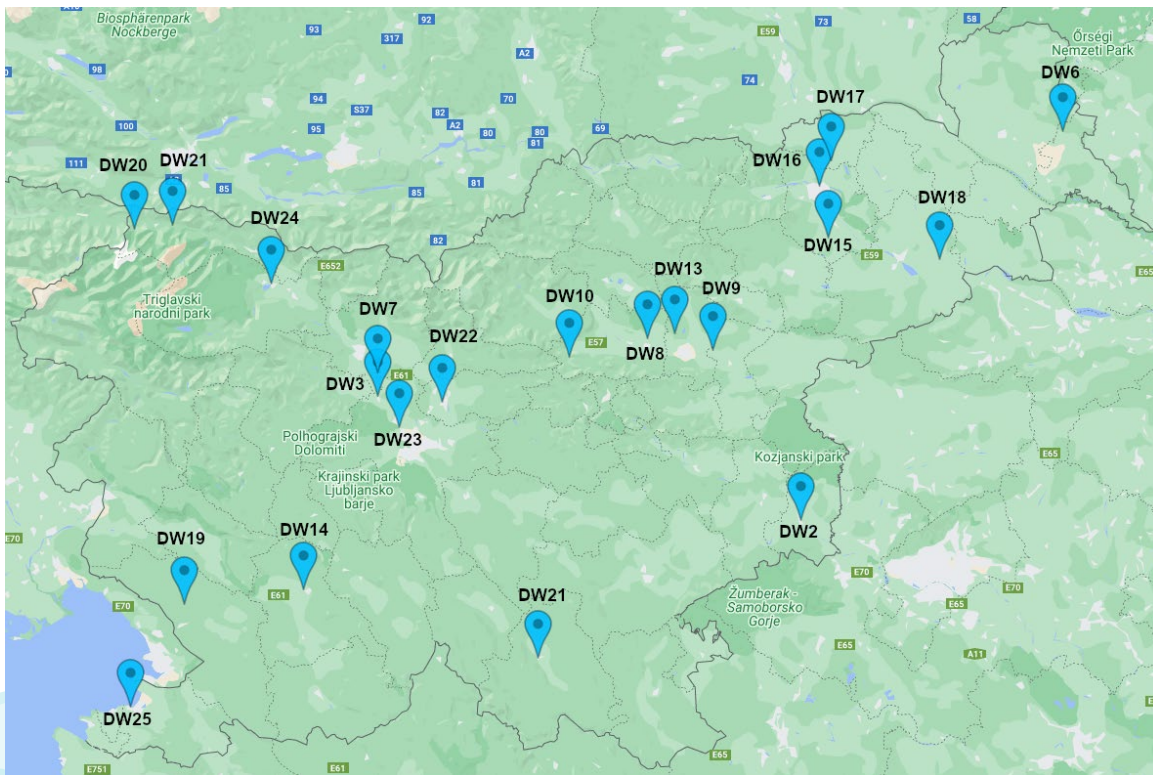


- Ocena tveganja pokazala zelo visoke vrednosti RQ za 6 spojin

- Varne vrednosti za estrogensko aktivne spojine presežene tudi za več kot dva velikostna razreda







- 25 vzorcev pitnih vod
- V 2 vzorcih našli progesteron
- V 21 vzorcih našli BPS, v koncentracijah od 0,12 do kar 324 ng/L

# 3

## Sklepi

Sklepi eksperimentalnega dela in pomen rezultatov

# Sklepi in pomen rezultatov

- Razvoj ultra občutljive analizne metode za določanje prisotnosti 25 KMES v okoljskih vodah, ki postavlja nove mejnike glede širine nabora spojin, občutljivosti in delovnega območja
- Izvedba prve obsežne študije prisotnosti 25 KMES v površinskih in odpadnih vodah z večparametrskim določanjem tveganja
- Pokazali dobro, a suboptimalno odstranjevanje KMES v vodah ČN
- Opozorili na tveganje, ki ga predstavljajo KMES v rečnih vodah in nujnost zmanjševanja obremenitev ČN z njihovimi izpusti
- Pokazali pojav KMES tudi v pitnih vodah v visokih koncentracijah