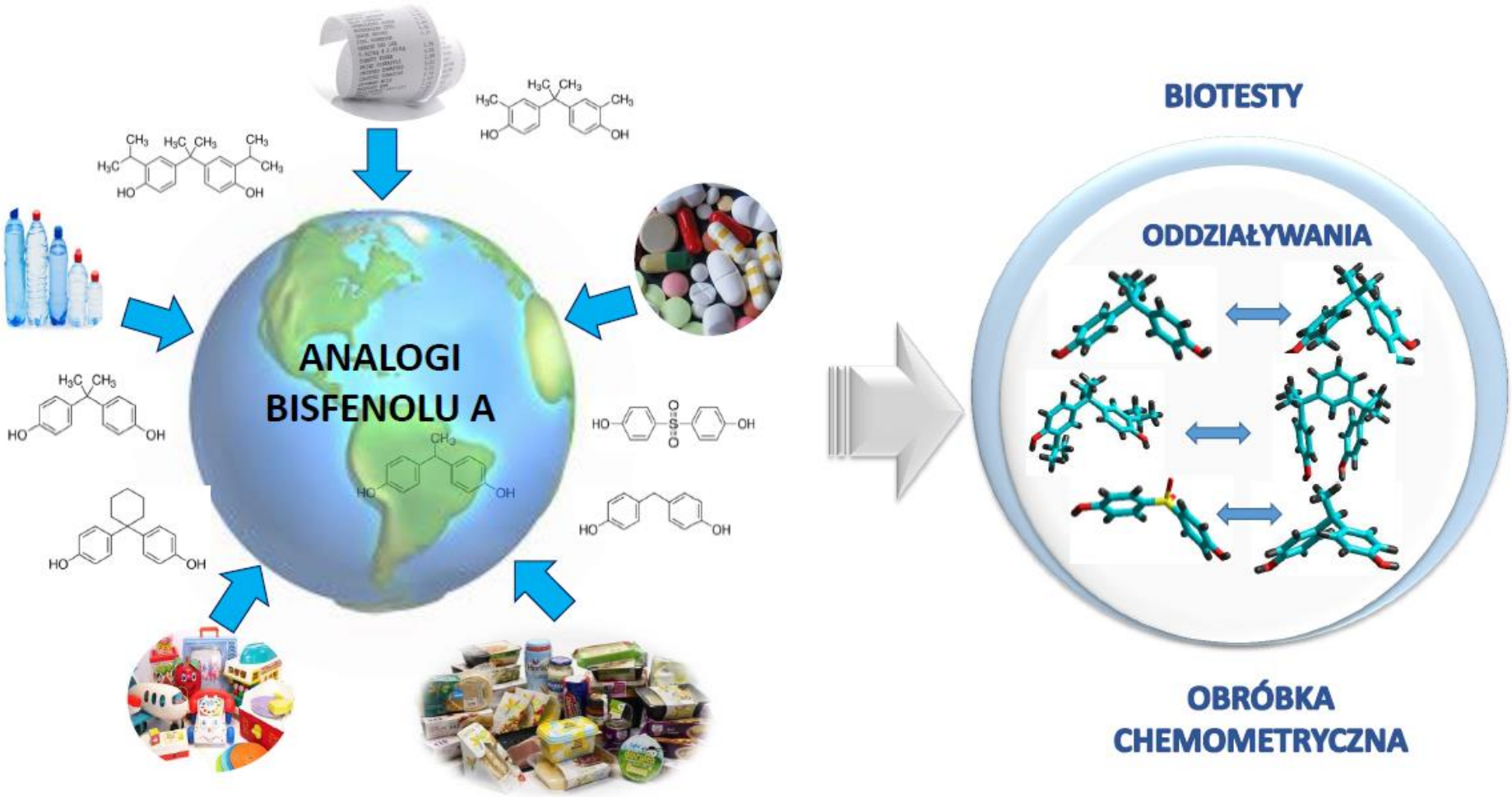
POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Opakowania produktów żywnościowych jako potencjalne źródło zanieczyszczenia związkami endokrynnie czynnymi

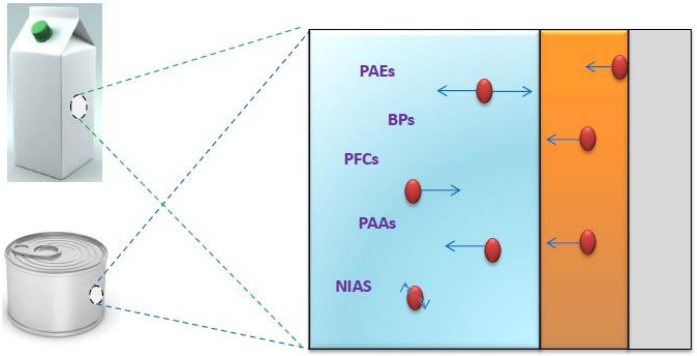
Kudłak Błażej, Szczepańska Natalia, Namieśnik Jacek

## Zarys i cel


ANALOGI
BISFENOLU A
BIOTESTY
ODDZIAŁYWANIA
OBRÓBKA
CHEMOMETRYCZNA

## Zarys i cel

- Trudno byłoby obecnie wyobrazić sobie powszechną sprzedaż żywności bez prężnie działającego przemysłu opakowaniowego.
- Dane wskazują, że w krajach wysoko rozwiniętych ponad 98% produktów powszechnego użytku sprzedawanych jest w rożnego rodzaju opakowaniach, wykonanych z tworzyw sztucznych, papieru, szkła, metalu oraz z materiałów kompozytowych.




CEL:

Ocena stopnia degradacji materiału opakowaniowego przeznaczonego do kontakty z żywnością (FCM) z zastosowaniem baterii biotestów

## Metodologia

- Badania/ekstrakcję prowadzono w oparciu o normę UE 10/2011 oraz PN-EN 1186-1:2005 jednak z niewielkimi modyfikacjami (np. 5% a nie 10% EtOH, wobec niektórych powtórzeń prowadzono podwójne grzanie lub stosowano dodatkowo wspomaganie mikrofalami).

- Do realizacji tych badań zdecydowano się użyć: Microtox®, Ostracodtoxkit F™, XenoScreen YES/YAS, testu kometkowego, natomiast jako czynniki ekstrakcyjne zastosowano roztwory kwasu octowego, etanolu, DMSO, oleju roślinnego a okresy ekstrakcji sięgają w niektórych przypadkach aż 6 miesięcy. Ekstrakcję prowadzono na wytrząsarkach obrotowych (100 rpm), w trzech powtórzeniach z zastosowaniem...

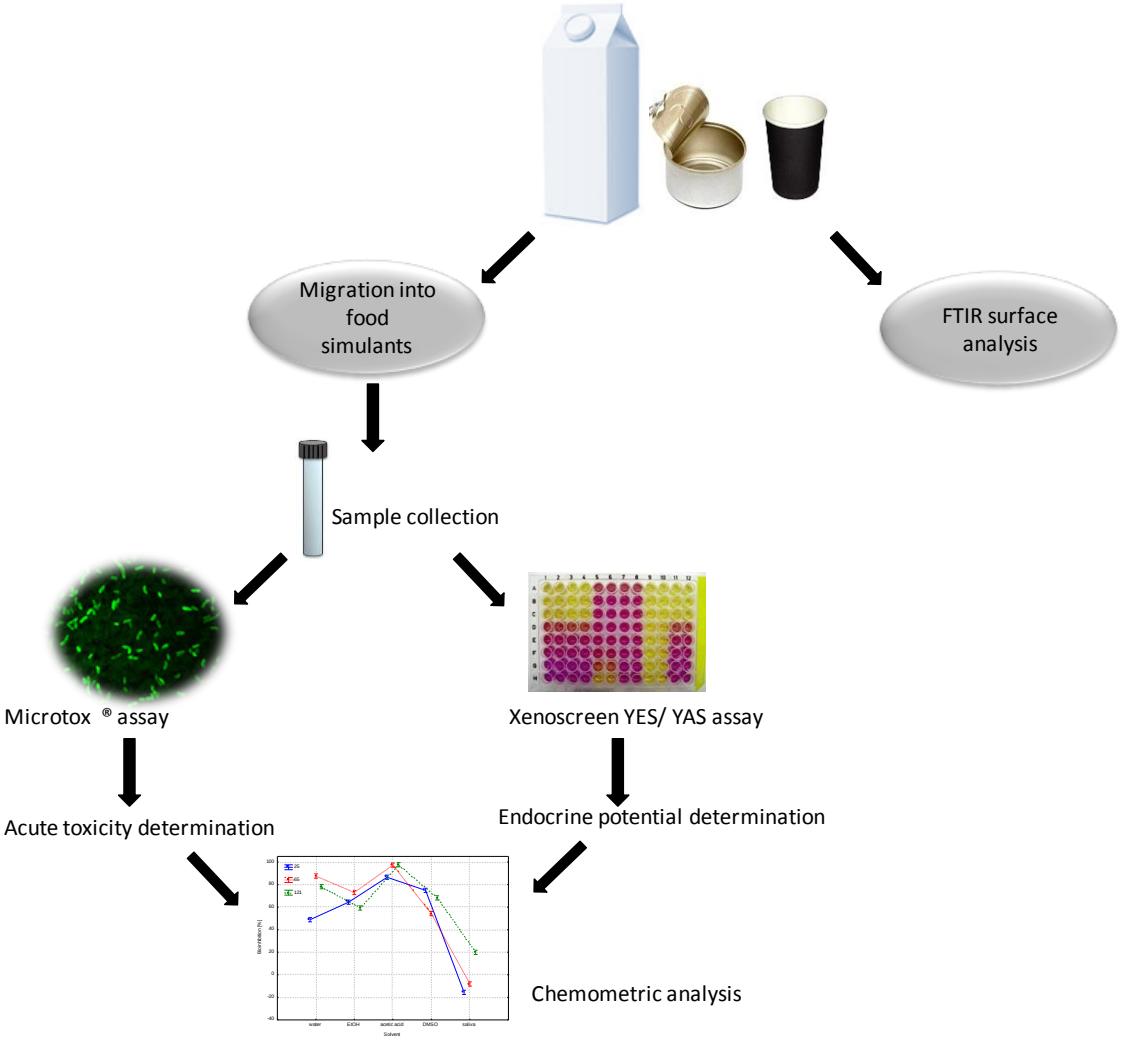
POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Metodologia

| Podstawowe informacje o warunkach prowadzenia procesu ekstrakcji opakowań | | | |
|---|---|---|---|
| **Rodzaj opakowania** | Metalowe puszki | Materiał kompozytowy | Kubki |
| **Medium symulacyjne** | Woda destylowana,<br>5% etanol,<br>3% kwas octowy,<br>5% DMSO,<br>sztuczna ślina | | Woda destylowana,<br>5% etanol,<br>3% kwas octowy,<br>5% DMSO |
| **Warunki** | Temperatura pokojowa | Temperatura pokojowa | Temperatura pokojowa |
| | 100°C - 4 h + 60°C - 14 dni | 60°C - 14 dni | Wypełnienie gorącym medium (95°C -100°C ) |
| | 65°C - 30 min | 65°C - 30 min | Napromieniowanie mikrofalami (10 min, 800 W) |
| | 121°C - 30 min | 121°C - 30 min | |
| **Próbkowanie** | 12 h, 48 h, 240 h i 336 h | | 0.5 h, 1 h, 2 h, 6 h, 12 h |

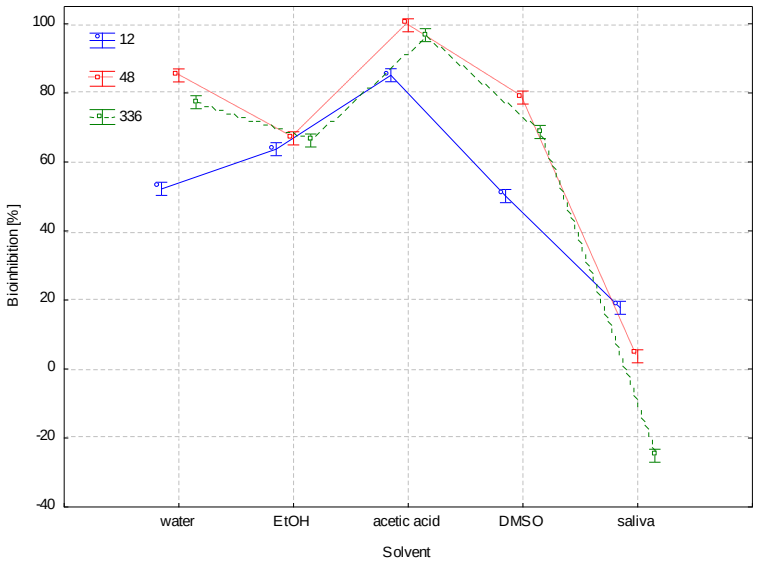
POLITECHNIKA GDAŃSKA

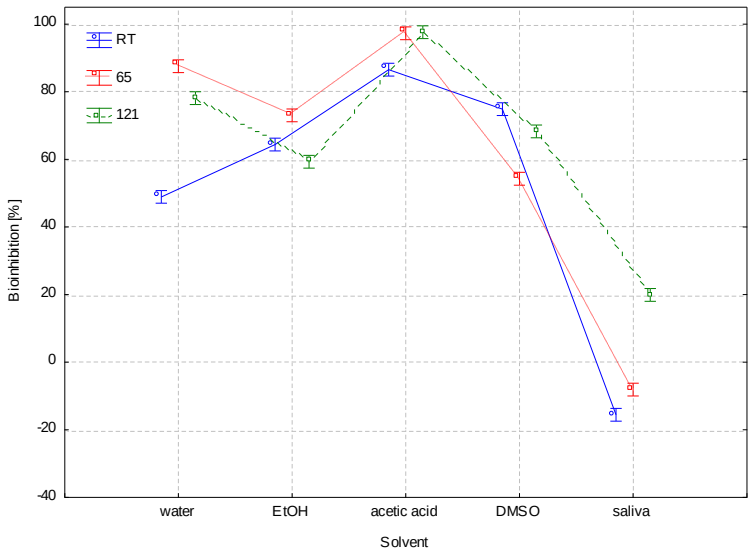
# Metodologia



POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – toksyczność ostra, puszki

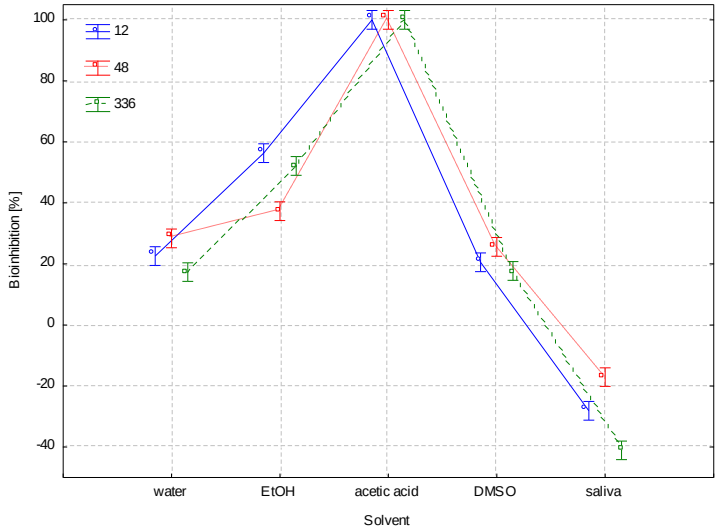


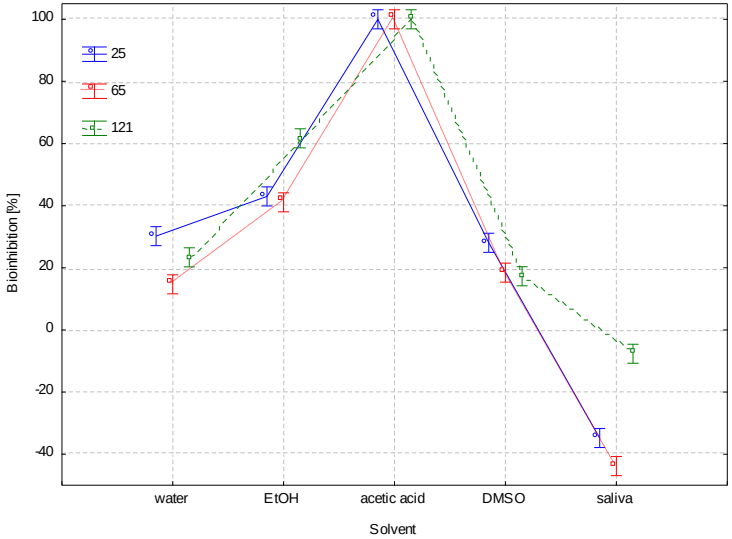




- Najbardziej toksyczne okazały się ekstrakty wykonane z zastosowaniem kwasu octowego (średnie zahamowanie bioluminescencji 93,82%), a następnie ekstrakty wodne, etanolowe i DMSO (65-72%). Ekstrakty przygotowane z użyciem sztucznej śliny okazały się być nietoksyczne.
- Woda, EtOH, kw. octowy i DMSO mają najniższą toksyczność po 12 h prowadzenia ekstrakcji oraz maksimum po 48h prowadzenia procesu.
- Woda, kw. octowy i sztuczna ślina mają najniższą toksyczność w przypadku prowadzenia ekstrakcji w 25°C a obserwowana toksyczność rośnie wraz z temperaturą.

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – toksyczność ostra, kompozyty

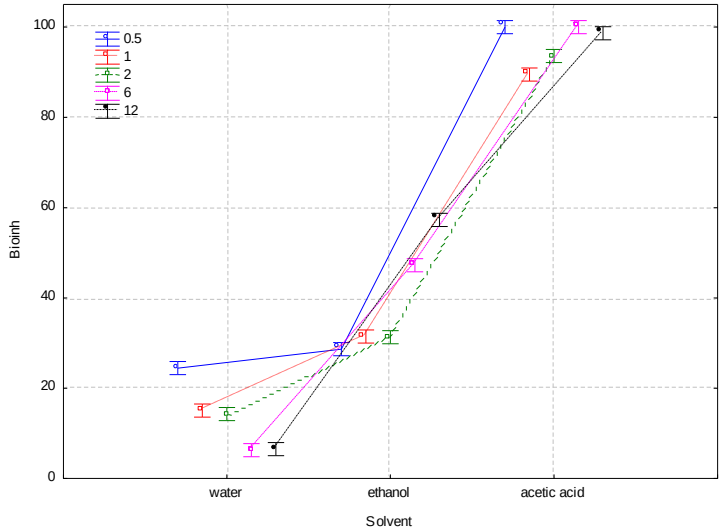


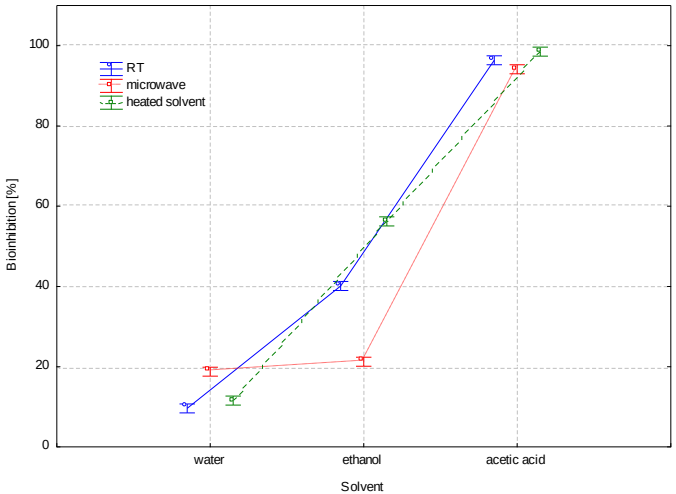




- Najbardziej toksyczne okazały się ekstrakty wykonane z zastosowaniem kwasu octowego (zahamowanie bioluminescencji w większości przypadków wynosiło 100%), a następnie ekstrakty wodne, etanolowe i DMSO (20-45%). Ekstrakty przygotowane z użyciem sztucznej śliny okazały się być nietoksyczne.
- Temperatura i czas ekstrakcji mają mniejszy wpływ na toksyczność pobieranych ekstraktów a największy strumień migracji substancji z materiału opakowaniowego następuje po 12h ekstrakcji w 121°C.

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – toksyczność ostra, kubki

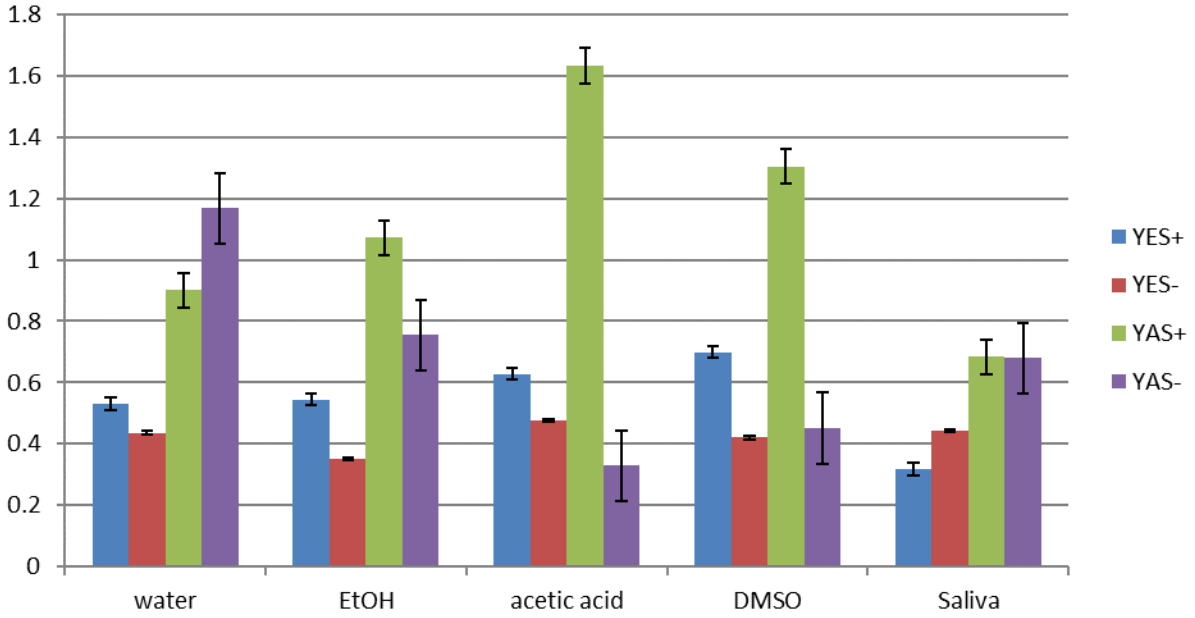



- Najbardziej toksyczne okazały się ekstrakty wykonane z zastosowaniem kwasu octowego, potem etanolu i wody.
- Najbardziej toksyczne ekstrakty pochodzą z najkrótszych i najdłuższych czasów prowadzenia procesu ekstrakcji (produkty transformacji).

POLITECHNIKA GDAŃSKA

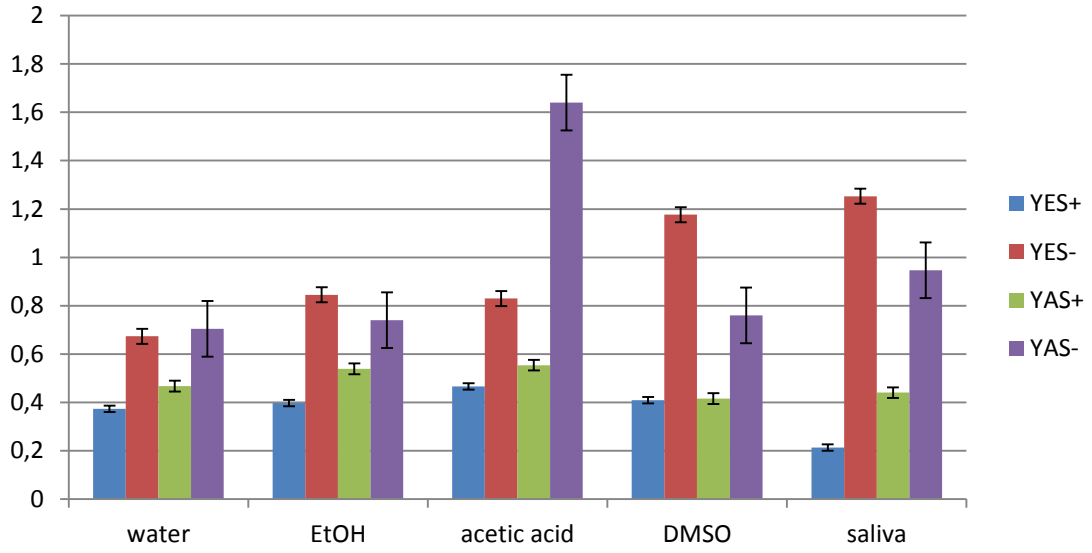
## Wyniki – XenoScreen, puszki




- Znaczący potencjał androgenny agonistyczny (w stosunku do kontroli) mają ekstrakty przygotowane z zastosowaniem kwasu octowego, a następnie DMSO i etanolu a ekstrakty wodne mają znaczący potencjał androgenny antagonistyczny. Najsilniejszy efekt androgenny jest obserwowany po 48h.
- Temperatura prowadzenia ekstrakcji nie wpływa znacząco na potencjał endokrynny w warunkach prowadzenia procesu.
- Wydłużenie czasu ekstrakcji powoduje wzrost potencjału androgennego ekstraktów wodnych sugerując zwiększenie degradacji/migracji związków toksycznych przy dłuższych czasach prowadzenia ekstrakcji (badania trwają).

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – XenoScreen, kompozyty




- Temperatura nie ma znaczącego wpływu na potencjał endokrynny ekstraktów, jest to również prawdą dla oceny wpływu czasu kontaktu i aktywności agonistycznej androgennej.
- Zauważalny jest wpływ czynnika ekstrakcyjnego na potencjał agonistyczny i antagonistyczny ekstraktów przy czym właściwości antagonistyczne są silniejsze niż agonistyczne.

## Wnioski

- Toksyczność ekstraktów prowadzonych z użyciem roztworu kwasu octowego pozwoliła potwierdzić znaczący wpływ wszystkich trzech parametrów na stopień toksyczności. Wydłużenie czasu prowadzenia ekstrakcji i podwyższenie temperatury powoduje wzrost zahamowania bioluminescencji.
- Ze wszystkich cieczy ekstrakcyjnych zastosowanych w badaniach roztwór kwasu octowego okazał się najbardziej toksyczny.

- Przedstawione wyniki mogą być podstawą do stwierdzenia, że ekstrakcja wodna w niskiej temperaturze i przy krótkim czasie kontaktu skutkują powstaniem warunków korzystnych dla rozwoju i życia bakterii a zatem wywołują migrację substratów będących źródłem energii dla mikroorganizmów.

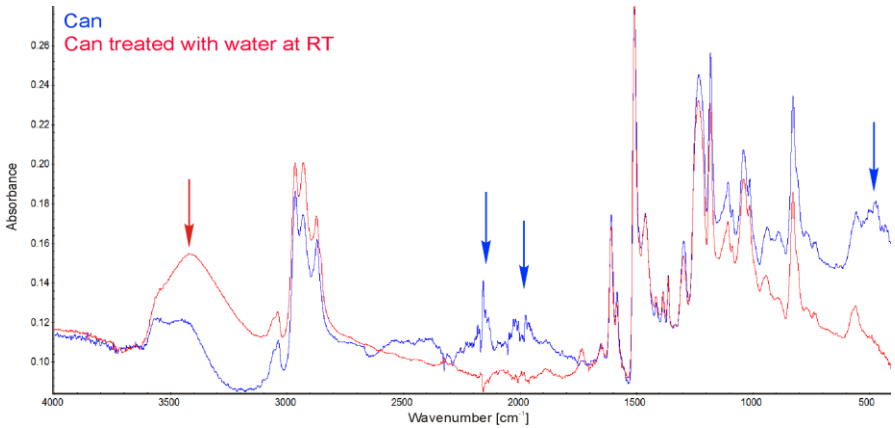
- W przypadku ekstraktów etanolowych należy stwierdzić, że prowadzenie ekstrakcji przez 48 h i w 65°C skutkuje powstaniem największego strumienia emisji zanieczyszczeń z omawianego typu opakowania.

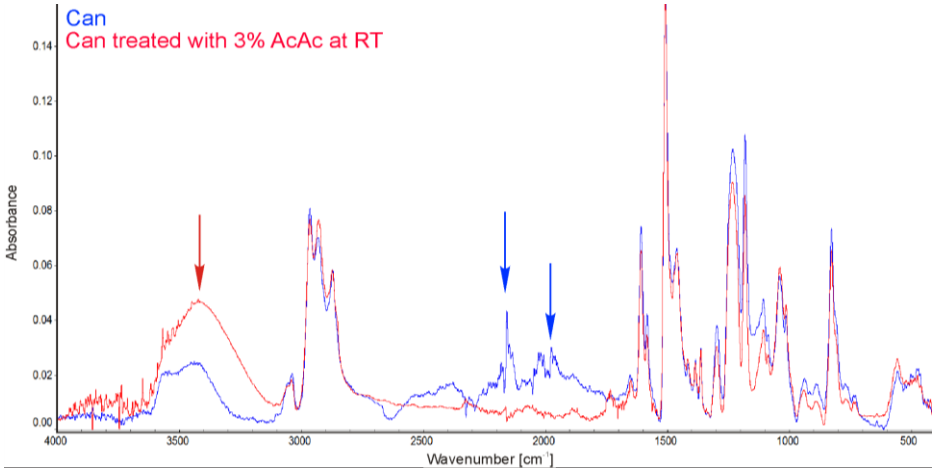
- W przypadku ekstrakcji z zastosowaniem DMSO scenariusz jest odmienny – wydłużony czas ekstrakcji skutkuje wzrostem stopnia toksyczności jednak obniżenie temperatury prowadzenia procesu obniża zahamowanie bioluminescencji. **Ekstrakty uzyskane z wykorzystaniem roztworu kwasu octowego wykazały się najwyższą toksycznością wobec badanego organizmu.**

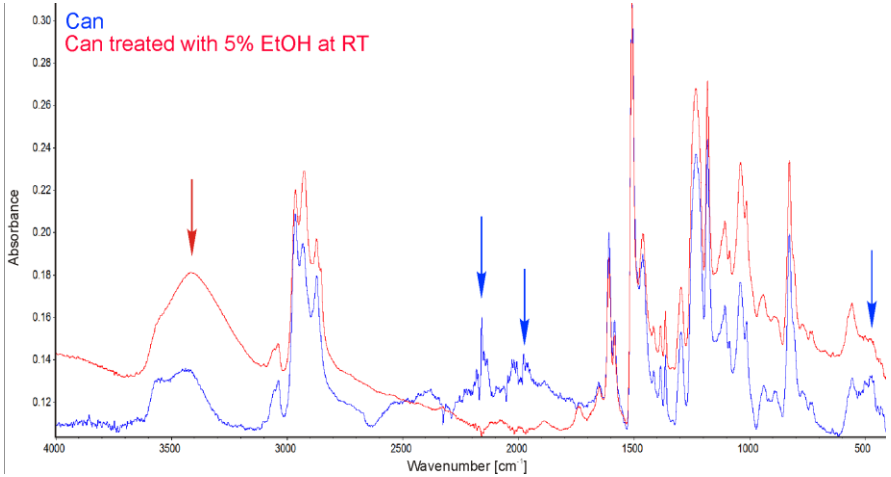
- Możliwe jest zatem stwierdzenie, że użycie kwasu octowego (przechowywanie zbyt kwaśnych produktów żywnościowych w opakowaniu) może powodować znaczące uszkodzenia struktury badanego materiału opakowaniowego skutkując znaczącą migracją toksycznych składników do ekstraktu a zatem i do żywności.

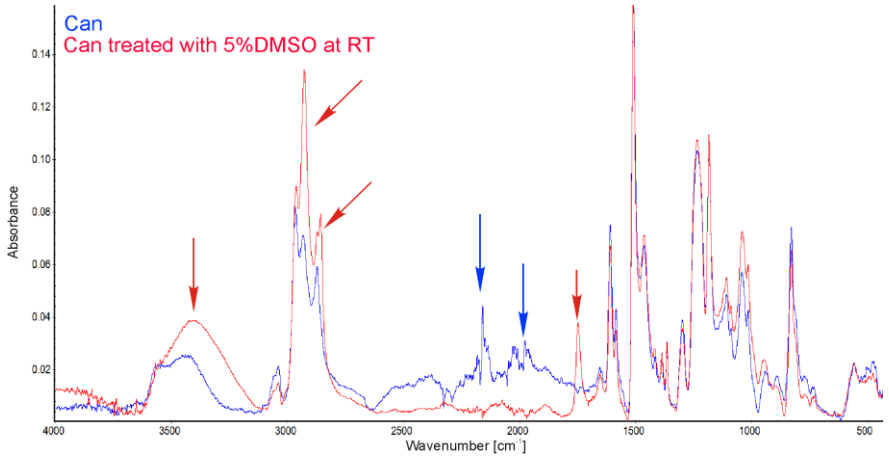
POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – FTIR, puszki

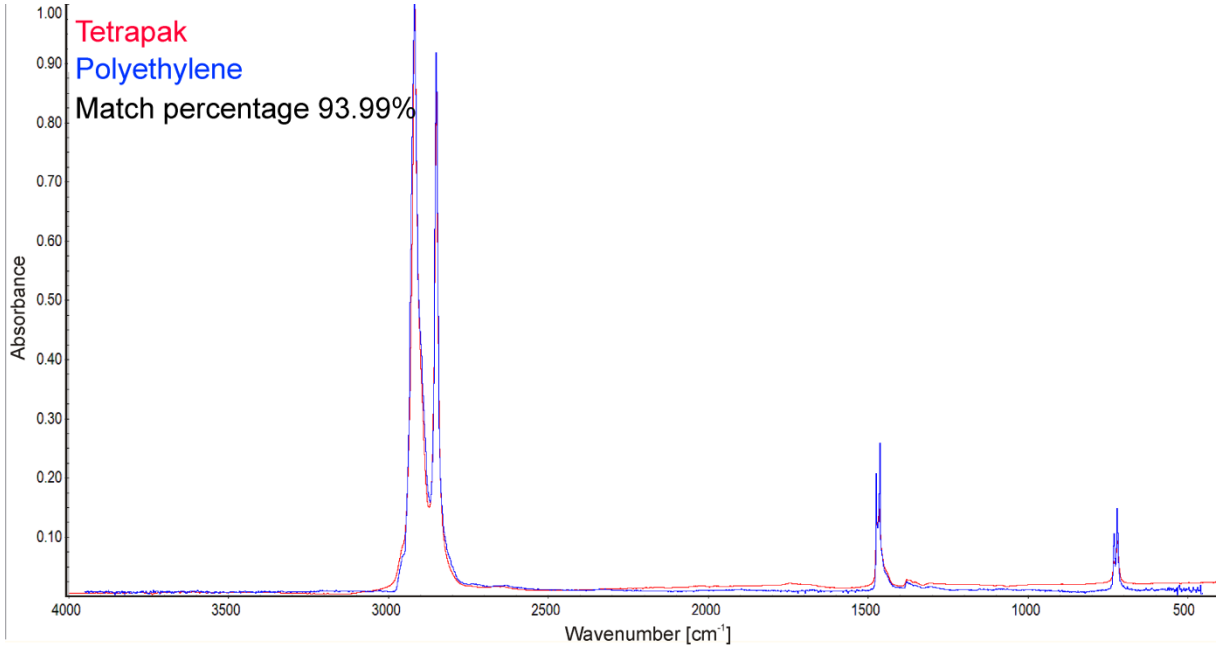


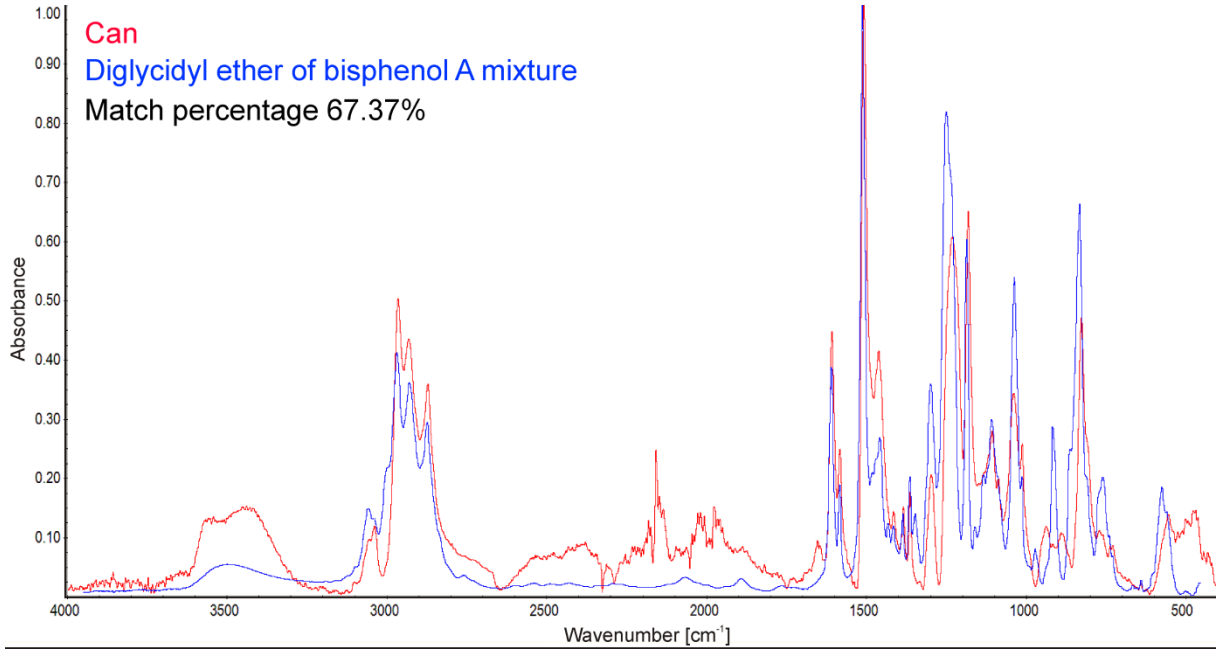



# Wyniki – FTIR, kompozyty



## Wnioski

# ALE CO DALEJ…?



# Badania toksyczności mieszanin

W świetle obecnie dostępnej wiedzy toksykologicznej oraz wyników badań ukierunkowanych na jak najlepsze poznanie toksycznych interakcji jakie zachodzą między substancjami wiadomo, że współwystępowanie kilku związków nawet na bardzo niskich poziomach stężeń może skutkować zmianą sumarycznego efektu toksycznego.

W literaturze fachowej dostępne są informacje o kilku podstawowych metodach określania oddziaływań jakie wywołują ksenobiotyki w przypadku łącznego występowania w mieszaninie; można tu choćby wymienić metody: izobologramów, Webb'a, Talalay'a i inne.

| metoda | **Izobologramy** | **Metoda Webb'a** | **Metoda Valeriote'a i Lin'a** | **Indeks interakcji** | **Metoda Chou i Talalay'a** |
|---|---|---|---|---|---|
| **założenia** | Substancje nie oddziałują ze sobą | Czynniki nie oddziałują ze sobą (zgodnie z zasadą niezależności Bliss'a) | Czynniki nie oddziałują ze sobą (zgodnie z zasadą niezależności Bliss'a) | Czynniki nie oddziałują ze sobą, pochodna metody izobologramów | Oparta na krzywych przebiegu dawka-odpowiedź |
| **zalety** | Prosta do użycia, popularna | Prosta w użyciu, może być zastosowana w przypadku złożonych mieszanin | Prosta w użyciu, może być zastosowana w przypadku złożonych mieszanin | Łatwa do obliczenia | Może być zastosowana w przypadku złożonych mieszanin, szeroko stosowana |
| **wady** | Konieczność wyznaczenia efektu poszczególnych substancji | Nie bierze pod uwagę nieprostoliniowych krzywych przebiegu dawka-odpowiedź | Nie bierze pod uwagę nieprostoliniowych krzywych przebiegu dawka-odpowiedź | W niektórych przypadkach niemożliwa do przeprowadzenia | Niemożliwa do przeprowa-dzenia bez wyznaczenia krzywych przebiegu dawka-odpowiedź |

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Następny krok…

| | Matryca | jednostka | Oznaczone stężenia | | | | | | | | | | | Technika oznaczania | Ref. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | BADGE | BADGE ·$H_2O$ | BADGE ·2$H_2O$ | BADGE ·2HCl | BADGE·HCl·$H_2O$ | BFDGE | BFDGE ·2$H_2O$ | BFDGE ·2HCl | DEP | DBP | DEHP | | |
| Próbki środowiskowe | Powietrze wewn. | [µg/g] | 0.36-0.98 | 1.79-3.85 | 0.04-0.85 | 7.15-7.3 | 3.57-4.01 | 3.57-4.01 | | 1.79-2.43 | | | | LC-MS/MS | (Xue et al., 2016) |
| | Powietrze wewn. | [µg/g] | | | | | | | | | 1.549-1.580 | 318.3-346.1 | 92.299 - 84.52 | GC-MS | (Zhang et al., 2014) |
| | kurz | [ng/g] | n.d.-34.5 | 1.79-80.5 | 10.9-1630 | | 2.49-417 | | | | 9.49-362 | 73.7-4910 | 2080-76500 | GC-MS | (Tran et al., 2016) |
| | ścieki | [µg/L] | 0.57±0.04-96±7 | | | | | 0.32±0.05-92±4 | | | | | | LC-FD | (Ballesteros-Gómez et al., 2007) |
| | Wody rzeczne | [µg/L] | 90±4-95±1 | | | | | 88±2-91±1 | | | | | | LC-FD | (Ballesteros-Gómez et al., 2007) |
| | Wody rzeczne | [µg/L] | 0.35 | | | | | 0.14 | | | | | | GC-MS/MS | (Jiao et al., 2012) |
| | Osad czynny | [ng/g] | n.d.-1980 | n.d.-2090 | n.d.-2290 | n.d. - 37.5 | n.d. - 121 | n.d.-146 | n.d.-175 | n.d.-4510 | | | | LC-MS/MS | (Xue et al., 2015) |
| | Osad | [ng/mL] | | | | | | | | | 126.18-893.17 | 537.4-1935.1 | 1853.64-9408.49 | GC-MS | (Gao et al., 2014) |
| Próbki biologiczne | mocz | [ng/mL] | 0.07-295 | | 0.07-1450 | | | | | | | | | LC-MS/MS | (Cutanda et al., 2015) |
| | Mocz | [ng/mL] | 0.105-2.321 | 0.121–1.361 | 0.150-4.604 | | n.d.-3.412 | | | | | | | LC-MS/MS | (Wang et al., 2015) |
| | Serum | [ng/mL] | n.d. | n.d.-9.54 | n.d.- 65.1 | n.d. | n.d.-1.41 | 23.3-180 | n.d.-6.65 | n.d. | | | | LC-MS/MS | (Wang et al., 2015) |
| | tłuszcz | [ng/g] | n.d.-5.16 | n.d.-4.33 | n.d.-45.4 | n.d.-3.11 | n.d.-28.2 | 19.1–4500 | n.d.-12.6 | n.d.-5.2 | | | | LC-MS/MS | (Wang et al., 2015) |

# Badania toksyczności plastyfikatorów i ich mieszanin

## 1: Przeprowadzone badania:

- Wyznaczenie liczbowych wartości miar efektów toksycznych wybranych związków (ftalanów i bisfenoli)
- mieszaniny ww. związków dla testów:
  a) Microtox®
  b) Ostracodtoxkit F™
  c) Phytotoxkit F™
  d) XenoScreen YES/YAS
  e) kometowego

## Cel:

- wyznaczenie wzajemnych oddziaływań jakim podlegają wybrane związki w warunkach środowiskowych

## 3:

- Ocena/Modelowanie z zastosowaniem np. MDR (*Model Deviation Ratio*)

$$MDR = \frac{Toksyczność\ obliczona}{Toksyczność\ zaobserwowana}$$

$$ECx_{mix} = \left( \sum_{i=1}^{n} \frac{p_i}{ECx_i} \right)^{-1}$$

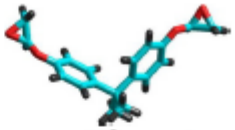
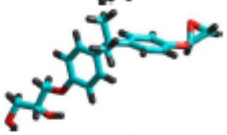
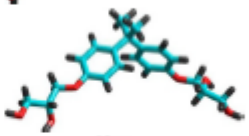
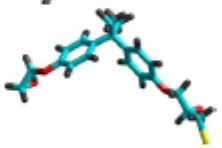
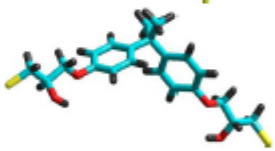
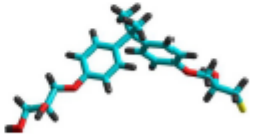
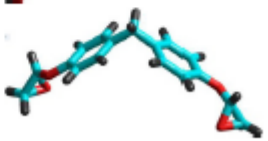
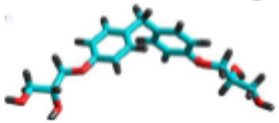
## 2:

- Określenie stopnia toksyczności mieszanin wybranych związków (*przykładowa matryca wyników*)

| | | Związek A | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | $EC_{50}$ | 0 % | 33 % | 66 % | 100 % |
| Związek B | 0 % | T1 | T6 | T10 | T14 |
| | 33 % | T2 | T7 | T11 | T15 |
| | 66 % | T3 | T8 | T12 | T16 |
| | 100 % | T4 | T9 | T13 | T17 |

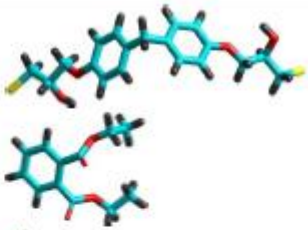
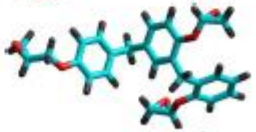
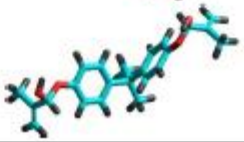
POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Badania toksyczności mieszanin – jakie anality badano?

| Compound (IUPAC name) | Acronym | CAS no. | Molecular weight [g/mol] | $K_{ow}$ | pKa | Water solubility at 25 °C [mg/L] | TDI [mg/kg] | Annual production (year) | Optimized structure[1] | Distances [Å] | | | Angle [°] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | O-C[2] | O-O[3] | C-O[4] | O-C-O[5] |
| 2-[[4-[2-[4-(Oxiran-2-ylmethoxy)phenyl]propan-2yl]phenoxy] methyl]oxirane | BADGE | 1675-54-3 | 340,41 | 3,84 | – | 3,7 | 0,15 | 31 k tonnes (2003) |  | 5,78 | 9,28 | 5,78 | 108,83 |
| 3-[4-[2-[4-(Oxiran-2-ylmethoxy)phenyl]propan-2-yl]phenoxy]propane-1,2-diol | BADGE -$H_2O$ | 76,002-91-0 | 358,43 | 3,09 | 13,53 | 12,6 | 0,15 | – |  | 5,76 | 9,28 | 5,76 | 107,78 |
| 3-[4-[2-[4-(2,3-Dihydroxypropoxy)phenyl]propan-2-yl]phenoxy]propane-1,2-diol | BADGE -2$H_2O$ | 5581-32-8 | 376,44 | 1,93 | 13,23 | 96,2 | 0,15 | – |  | 5,72 | 9,31 | 5,73 | 105,41 |
| 1-Chloro-3-[4-[2-[4-(oxiran-2-ylmethoxy)phenyl]propan-2-yl]phenoxy]propan-2-ol | BADGE-HCl | 13,836-48-1 | 376,87 | 4025 | 13,33 | 5,25 | – | – |  | 5,76 | 9,17 | 5,76 | 105,57 |
| 1-Chloro-3-[4-[2-[4-(3-chloro-2-hydroxypropoxy)phenyl] propan-2-yl]phenoxy]propan-2-ol | BADGE -2HCl | 4809-35-2 | 413,33 | 4340 | 12,83 | 0,32 | – | – |  | 5,75 | 9,28 | 5,74 | 107,74 |
| 3-[4-[2-[4-(3-Chloro-2-hydroxypropoxy)phenyl]propan-2-yl]phenoxy]propane-1,2-diol | BADGE -$H_2O$-HCl | 227,947-06-0 | 394,89 | 3250 | – | 5,5 | – | – |  | 5,76 | 9,15 | 5,76 | 105,11 |
| 2-[[4-[[4-(Oxiran-2-ylmethoxy)phenyl]methyl]phenoxy] methyl] oxirane | BFDGE | 2095-03-6 | 312,37 | 3,26 | – | 17,2 | – | – |  | 5,71 | 9,50 | 5,71 | 112,53 |
| 3-[4-[[4-(2,3-Dihydroxypropoxy)phenyl]methyl] phenoxy]propane-1,2-diol | BFDGE -2$H_2O$ | 72,406-26-9 | 348,39 | 1254 | 13,23 | 453 | – | – |  | 5,70 | 9,42 | 5,70 | 111,44 |
| 2-Chloro-3-[4-[[4-(2-chloro-3-hydroxypropoxy)phenyl] methyl]phenoxy]propan-1-ol | BFDGE -2HCl | 374,772-79-9 | 385,28 | 3,98 | 13,52 | 1,51 | – | – | | 5,71 | 9,52 | 5,71 | 112,85 |

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Badania toksyczności mieszanin – jakie anality badano c.d.?

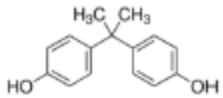
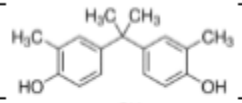
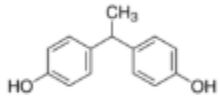
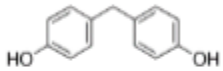
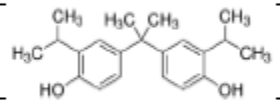
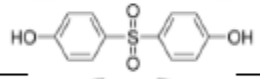
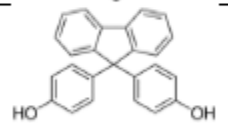
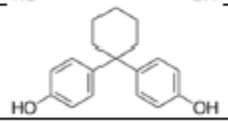
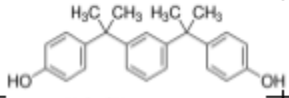
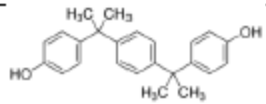
| Compound (IUPAC name) | Acronym | CAS no. | Molecular weight [g/mol] | $K_{ow}$ | pKa | Water solubility at 25 °C [mg/L] | TDI [mg/kg] | Annual production (year) | Optimized structure[1] | Distances [Å] | | | Angle [°] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | | | O-C[2] | O-O[3] | C-O[4] | O-C-O[5] |
| Diethyl benzene-1,2-dicarboxylate | DEP | 84-66-2 | 222,24 | 2470 | – | 1080 | 5 | 4,5 k tonnes (2008) |  | 2,45 | 3,79 | 2,46 | 74,44/85,21 |
| Dibuthyl benzene-1,2-dicarboxylate | DBP | 84-74-2 | 278,34 | 4500 | – | 11,2 | 0,01 | 26 k tonnes (1998) | | 2,46 | 3,95 | 2,45 | 65,16/89,62 |
| Bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate | DEHP | 117-81-7 | 390,56 | 7500 | – | 0,27 | 0,05 | 8000 k tonnes (2003) | | 2,45 | 5,38 | 2,46 | 122,06/122,75 |
| Novolac glycidyl ether 3-Ring | NOGE | 158,163-01-0 | 474,00 | – | – | – | – | – |  | 5,71<br>2,94 | 9,51<br>5,54 | 5,73<br>2,94 | 112,52<br>139,99 |
| 2,2-di(4methacryloxyphenyl) propane | BIS-DMA | 3253-39-2 | 364,43 | 6200 | – | – | – | – |  | 5,76 | 9,18 | 5,76 | 108,77 |

# Badania toksyczności mieszanin – jakie anality badano c.d.?

| analit | Microtox | | XenoScreenYES YAS |
|---|---|---|---|
| | $EC_{50}$ [µg/mL] | Zakresy stężeń [µg/mL] | |
| BADGE | - | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| BADGE·$H_2O$ | 39.25 | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| BADGE·2$H_2O$ | 59.09 | 8.12-81.82 | 0.039-40.00 |
| BADGE·HCl | 7.93 | 3.25-32.73 | 0.039-40.00 |
| BADGE·2HCl | 2.69 | 1.22-12.27 | 0.039-40.00 |
| BADGE·$H_2O$·HCl | 32.08 | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| BFDGE | 64.38 | 8.12-81.82 | 0.039-40.00 |
| BFDGE·2$H_2O$ | 96.94 | 12.99-130.91 | 0.039-40.00 |
| BFDGE·2HCl | 6.31 | 4.87-49.09 | 0.039-40.00 |
| DEP | 117.49 | 12.99-130.91 | 0.039-40.00 |
| DBP | 56.97 | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| DEHP | - | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| NOGE | - | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |
| BIS-DMA | - | 6.49-65.45 | 0.039-40.00 |

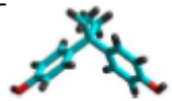
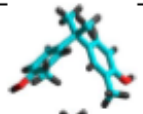
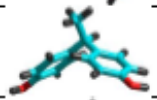
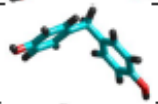
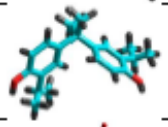
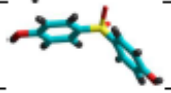
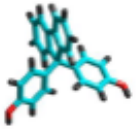
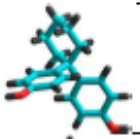
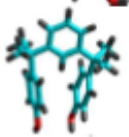
POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Badania toksyczności mieszanin – jakie anality badano c.d.?

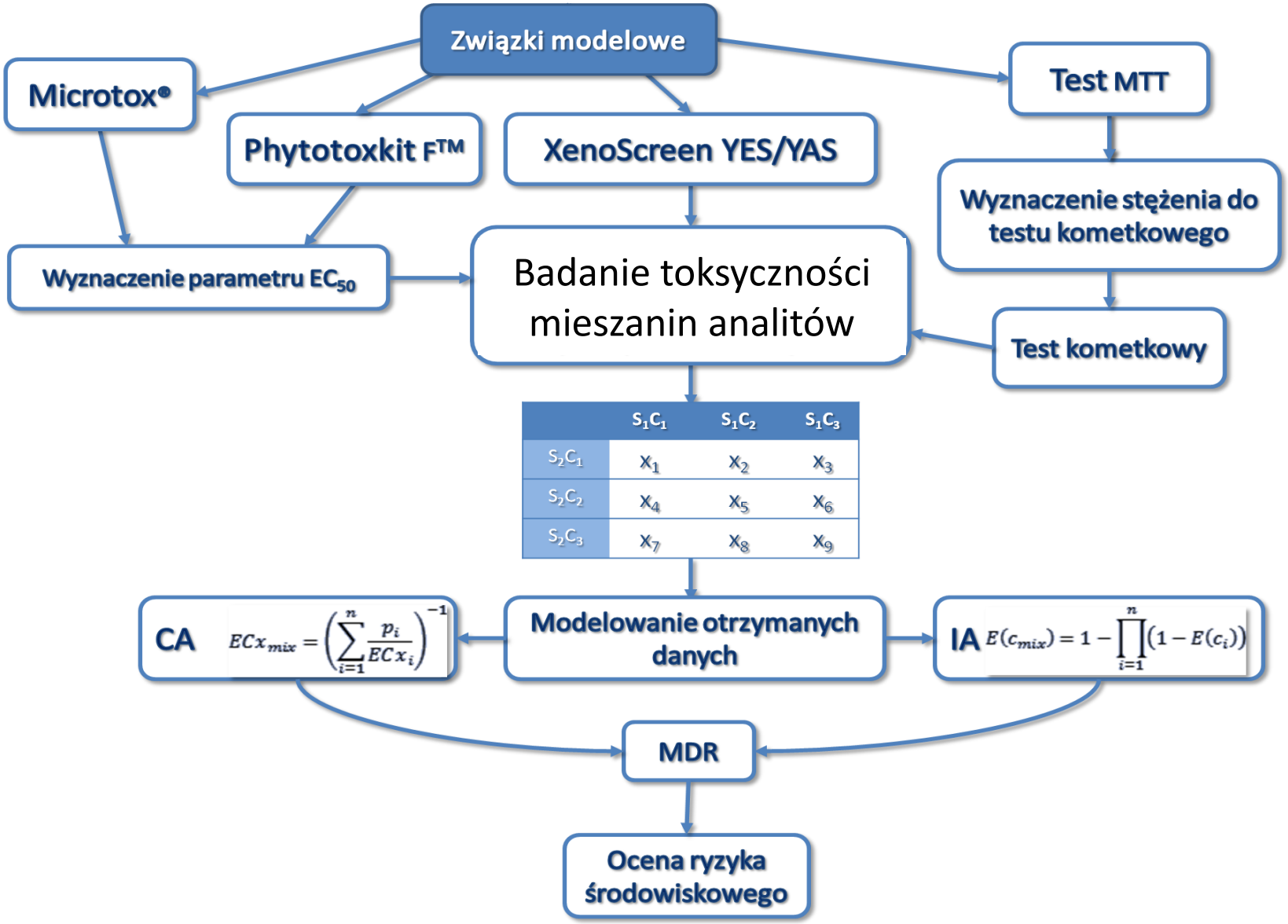
| Analit /CAS no./ masa cząsteczkowa [g/mol] | struktura | Nazwa IUPAC | Wybrane zastosowanie |
|---|---|---|---|
| **BPA** / 80-05-7/ 228.29 |  | 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane | Produkcja opakowań do żywności, butelek, zabawek i in. |
| **BPC** /79-97-0/ 256.34 |  | 2,2-bis(4-hydroxy-3-methylphenyl) propane | Substrat w produkcji pestycydów i farmaceutyków |
| **BPE** /2081-08-5/ 214.26 |  | 1,1-bis(4-hydroxyphenyl) ethane | Wytwarzanie polimerów, opóźniaczy spalania, materiałów termoczułych |
| **BPF** /620-92-8/ 200.23 |  | 4,4′-methylenediphenol | Zamiennik BPA |
| **BPG** /127-54-8/ 312.45 |  | 2,2-bis(4-hydroxy-3-isopropylphenyl) propane | Produkcja materiałów termoczułych |
| **BPS** /80-09-1/ 250.27 |  | 4,4′-sulfonyldiphenol | Wypełnienia dentystyczne, produkcja papierów fotoczułych, elektronika |
| **BPFL** /3236-71-3/ 350.41 |  | 4,4′-(9-fluorenylidene)di-phenol | Żywice fotoutwardzalne |
| **BPZ** /843-55-0/ 268.35 |  | 4,4′-cyclohexylidene-bis-phenol | Wytwarzanie polimerów, opóźniaczy spalania, materiałów termoczułych, kompozyty optyczne |
| **BPM** /13595-25-0/ 346.46 |  | 4,4′-(1,3-phenylenediisopro-pylidene)bisphenol | Wytwarzanie polimerów, opóźniaczy spalania, materiałów termoczułych |
| **BPP** /2167-51-3/ 346.46 |  | 4,4′-(1,4-phenylenediisopropylidene) bisphenol | Opakowania do żywności, wytwarzanie plastików, opóźniaczy spalania, żywic termoutwardzalnych |

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Badania toksyczności mieszanin – jakie anality badano c.d.?

| Analit | Struktura | Odległość [Å] | | Kąt [°] |
|---|---|---|---|---|
| | | O-C | O-O | O-C-O |
| BPA |  | 5.74 | 9.25 | 107.26 |
| BPC |  | 5.74 | 9.19 | 106.38 |
| BPE |  | 5.72 | 9.29 | 108.47 |
| BPF |  | 5.71 | 9.29 | 109.00 |
| BPG |  | 5.74 | 9.19 | 106.55 |
| BPS |  | 5.67 | 10.26 | 129.41 |
| BPFL |  | 5.74 | 9.70 | 115.40 |
| BPZ |  | 5.76 | 9.11 | 104.36 |
| BPM |  | 5.92 | 3.50 | 34.41 |
| BPP | | 6.38 | 9.73 | 99.2 |

# Badania toksyczności mieszanin



POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Metodyka - BADGE

| Analit | Microtox®* | | | | | XenoScreen YES/YAS® | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Badane zakresy stężeń | $EC_{50}$ | $c_1$ | $c_2$ | $c_3$ | Badane zakresy stężeń | Efekt | | | |
| | [µg/mL] | | | | | [µg/mL] | | | | |
| | | | | | | | YES+ | YES- | YAS+ | YAS- |
| BADGE | 6.49-65.45 | >65.45# | - | - | - | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| BADGE ·$H_2O$ | 6.49-65.45 | 39.25 | 12,95 | 25,91 | 39.25 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| BADGE ·2$H_2O$ | 8.12-81.82 | 59.09 | 19,50 | 39,00 | 59.09 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| BADGE·HCl | 3.25-32.73 | 7.93 | 2,62 | 5,23 | 7.93 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | 4.00$^L$ | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ |
| BADGE ·2HCl | 1.22-12.27 | 2.69 | 0,89 | 1,78 | 2.69 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | 4.00$^L$ | >40.00$^N$ | 4.00$^L$ |
| BADGE ·$H_2O$·HCl | 6.49-65.45 | 32.08 | 10,59 | 21,17 | 32.08 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ |
| BFDGE | 8.12-81.82 | 64.38 | 21,25 | 42,49 | 64.38 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ |
| BFDGE ·2$H_2O$ | 12.99-130.91 | 96.94 | 31,99 | 63,98 | 96.94 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | 4.00$^L$ | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ |
| BFDGE ·2HCl | 4.87-49.09 | 6.31 | 2,08 | 4,16 | 6.31 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| DEP | 12.99-130.91 | 117.49 | 38,77 | 77,54 | 117.49 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | 40.00$^L$ |
| DBP | 6.49-65.45 | 56.97 | 18,80 | 37,60 | 56.97 | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| DEHP | 6.49-65.45 | >65.45# | - | - | - | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| NOGE | 6.49-65.45 | >65.45# | - | - | - | 0.039-40.00 | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |
| BIS-DMA | 6.49-65.45 | >65.45# | - | - | - | 0.039-40.00 | 4.00$^L$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ | >40.00$^N$ |

*- $c_1$, $c_2$ i $c_3$ opisuje wartość 33, 66 i 100% $EC_{50}$ określonych analitów

# - granica rozpuszczalności w danych warunkach prowadzenia badań, L – LOEC, N – NOEC

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Metodyka – analogi BPA

| Analit | Microtox®* | | | | | XenoScreen YES/YAS® | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Zakresy stężeń | $EC_{50}$ ± SD (n=3) | $c_1$ | $c_2$ | $c_3$ | Zakresy stężeń | Efekt (n=3) | | | |
| | [μM] | | | | | [μM] | | | | |
| | | | | | | | YES+ | YES- | YAS+ | YAS- |
| BPA | 8.96-71.68 | 37.7±6.7 | 12.44 | 24.88 | 37.69 | 1.71-1752.15 | $173.9^{L}$ | $>1752^{N}$ | $>1752^{N}$ | $>1752^{N}$ |
| BPC | 6.33-63.84 | 30.8±2.1 | 10.17 | 20.34 | 30.82 | 1.53-1560.43 | $15.4^{L}$ | $>1560^{N}$ | $>1560^{N}$ | $>1560^{N}$ |
| BPE | 38.19-305.49 | 57.9±4.4 | 19.12 | 38.24 | 57.94 | 1.83-1866.89 | $>1886^{N}$ | $1.83^{L}$ | $>1886^{N}$ | $1.83^{L}$ |
| BPF | 10.22-81-72 | 28.3±1.5 | 9.34 | 18.68 | 28.31 | 1.95-1997.70 | $>1997^{N}$ | $>1997^{N}$ | $>1997^{N}$ | $>1997^{N}$ |
| BPG | 2.60-26.19 | 14.85±0.98 | 4.90 | 9.80 | 14.85 | 1.25-1280.21 | $>1280^{N}$ | $>1280^{N}$ | $>1280^{N}$ | $12.6^{L}$ |
| BPM | 70.84-566.77 | >566.77# | - | - | - | 1.13-1154.53 | $>1154^{N}$ | $>1154^{N}$ | $>1154^{N}$ | $11.5^{L}$ |
| BPP | 70.84-566.77 | > 566.77# | - | - | - | 1.13-1154.53 | $>1154^{N}$ | $>1154^{N}$ | $>1154^{N}$ | $>1154^{N}$ |
| BPS | 32.69-261.54 | 61.6±5.6 | 20.34 | 40.68 | 61.64 | 1.56-1598.27 | $>1598^{N}$ | $>1598^{N}$ | $>1598^{N}$ | $>1598^{N}$ |
| BPZ | 75.62-762.23 | > 762.23# | - | - | - | 1.46-1490.60 | $>1490^{N}$ | $>1490^{N}$ | $>1490^{N}$ | $>1490^{N}$ |
| BPFL | 0.58-58.40 | 3.31±0.52 | 1.09 | 2.18 | 3.31 | 1.12-1141.52 | $1141.5^{L}$ | $113.3^{L}$ | $1141.5^{L}$ | $>1141^{N}$ |

*- $c_1$, $c_2$ i $c_3$ to 33, 66 i 100 % of $EC_{50}$ danego analitu
# - osiągnięta granica rozpuszczalności, L – LOEC, N – NOEC

# Badania toksyczności mieszanin – wyniki dla mieszanin..

Związki modelowe

Microtox®

Phytotoxkit F™

XenoScreen YES/YAS

Test MTT

Wyznacz

**MDR:**

$$MDR = \frac{wartość\ obliczona}{wartość\ zmierzona}$$

**< 0,50 – synergizm,**
**0,51 – 0,71 – niedoszacowanie,**
**1,40-2,00 – przeszacowanie,**
**>2,00 – antagonizm.**

CA $EC_{x_{mix}} = \left(\sum_{i=1}^{n} \frac{p_i}{EC_{x_i}}\right)^{-1}$

Modelowanie otrzymanych danych

IA $E(c_{mix}) = 1 - \prod_{i=1}^{n} (1 - E(c_i))$

MDR

Ocena ryzyka środowiskowego

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – BADGE, CA

| | | BADGE·$H_2O$ | | | BADGE·HCl | | | BADGE·$2H_2O$ | | | BFDGE | | | BFDGE·$2H_2O$ | | | BFDGE·2HCl | | | BADGE·2HCl | | | BADGE·$H_2O$·HCl | | | DEP | | | DBP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ |
| BADGE·HCl | $C_1$ | 0,29 | 0,68 | 0,94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,57 | 0,38 | 1,54 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,58 | 0,49 | 0,46 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BADGE·$2H_2O$ | $C_1$ | 0,15 | 0,50 | 0,39 | 0,56 | 0,71 | 0,63 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,58 | 0,41 | 0,89 | 0,80 | 0,82 | 0,75 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,73 | 0,68 | 0,30 | 0,89 | 1,06 | 0,61 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BFDGE | $C_1$ | 0,27 | 0,32 | 0,42 | 1,11 | 1,18 | 1,19 | 0,27 | 0,42 | 0,54 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,36 | 0,39 | 0,46 | 1,51 | 1,32 | 1,54 | 0,33 | 0,45 | 0,53 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,45 | 0,48 | 0,51 | 1,34 | 1,24 | 0,91 | 0,42 | 0,53 | 0,57 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BFDGE·$2H_2O$ | $C_1$ | 0,36 | 0,59 | 0,64 | 0,60 | 0,62 | 0,67 | 0,35 | 0,62 | 0,66 | 0,37 | 0,46 | 0,64 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,66 | 0,55 | 0,72 | 0,78 | 0,79 | 0,93 | 0,61 | 0,53 | 0,76 | 0,42 | 0,50 | 0,64 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,71 | 0,64 | 0,55 | 0,84 | 0,95 | 0,69 | 0,74 | 1,19 | 0,44 | 0,54 | 0,56 | 0,63 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BFDGE·2HCl | $C_1$ | 0,23 | 0,47 | 0,62 | 0,61 | 0,84 | 0,89 | 0,25 | 0,80 | 0,79 | 0,26 | 0,32 | 0,41 | 0,63 | 0,93 | 0,91 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,32 | 0,36 | 0,85 | 0,77 | 0,81 | 0,84 | 0,32 | 0,63 | 0,67 | 0,36 | 0,40 | 0,47 | 0,69 | 0,72 | 1,14 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,35 | 0,40 | 0,50 | 0,81 | 1,12 | 0,70 | 0,34 | 1,29 | 0,49 | 0,48 | 0,49 | 0,55 | 0,68 | 0,73 | 0,7 5 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BADGE·2HCl | $C_1$ | 0,20 | 0,37 | 0,53 | 0,66 | 0,97 | 0,95 | 0,34 | 0,76 | 1,39 | 0,24 | 0,33 | 0,52 | 0,68 | 0,99 | 1,07 | 0,31 | 0,64 | 0,67 | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,25 | 0,34 | 0,71 | 0,74 | 1,02 | 0,95 | 0,80 | 0,52 | 1,00 | 0,24 | 0,33 | 0,53 | 0,83 | 0,88 | 1,23 | 0,43 | 0,49 | 0,95 | | | | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,23 | 0,32 | 0,50 | 0,75 | 1,00 | 0,61 | 0,56 | 1,23 | 0,50 | 0,25 | 0,34 | 0,51 | 0,82 | 0,85 | 0,74 | 0,42 | 0,53 | 0,61 | | | | | | | | | | | | | |
| BADGE·$H_2O$·HCl | $C_1$ | 0,26 | 0,44 | 0,56 | 0,40 | 0,52 | 0,61 | 0,40 | 0,64 | 0,82 | 0,76 | 0,85 | 0,89 | 0,55 | 0,67 | 0,75 | 0,33 | 0,52 | 0,51 | 0,27 | 0,49 | 0,39 | | | | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,44 | 0,43 | 0,91 | 0,80 | 0,65 | 0,66 | 0,74 | 0,56 | 0,65 | 0,76 | 0,81 | 0,86 | 0,82 | 0,73 | 0,98 | 0,90 | 0,70 | 1,54 | 0,85 | 0,72 | 1,20 | | | | | | | | | | |
| | $C_3$ | 0,45 | 0,47 | 0,58 | 0,79 | 1,27 | 0,73 | 0,66 | 0,94 | 0,51 | 0,90 | 0,93 | 0,91 | 0,69 | 0,65 | 0,66 | 0,71 | 0,64 | 0,63 | 0,71 | 0,62 | 0,55 | | | | | | | | | | |
| DEP | $C_1$ | 0,50 | 0,93 | 0,83 | 0,66 | 0,78 | 0,69 | 0,62 | 0,83 | 0,87 | 0,52 | 0,57 | 0,64 | 0,58 | 0,82 | 0,84 | 0,68 | 0,75 | 0,67 | 0,58 | 0,85 | 0,72 | 0,38 | 0,52 | 0,49 | | | | | | | |
| | $C_2$ | 0,91 | 0,62 | 1,46 | 0,72 | 0,74 | 0,83 | 0,94 | 0,77 | 1,11 | 0,56 | 0,59 | 0,63 | 0,77 | 0,74 | 1,01 | 1,00 | 0,70 | 1,01 | 0,90 | 0,74 | 1,19 | 0,54 | 0,50 | 0,64 | | | | | | | |
| | $C_3$ | 1,12 | 0,92 | 0,58 | 0,86 | 0,81 | 0,66 | 0,95 | 0,84 | 0,66 | 0,64 | 0,67 | 0,66 | 0,85 | 0,80 | 0,68 | 0,94 | 0,92 | 0,64 | 1,13 | 0,94 | 0,65 | 0,75 | 0,68 | 0,61 | | | | | | | |
| DBP | $C_1$ | 0,27 | 0,42 | 0,45 | 1,22 | 1,13 | 1,06 | 0,51 | 0,71 | 0,73 | 0,43 | 0,53 | 0,70 | 0,49 | 0,72 | 0,73 | 0,56 | 0,61 | 0,69 | 0,58 | 0,86 | 0,61 | 0,42 | 0,69 | 0,71 | 0,62 | 0,95 | 1,06 | | | | |
| | $C_2$ | 0,38 | 0,39 | 0,62 | 0,89 | 0,99 | 1,04 | 0,66 | 0,66 | 0,85 | 0,43 | 0,49 | 0,63 | 0,62 | 0,62 | 0,81 | 0,70 | 0,59 | 0,96 | 0,71 | 0,64 | 0,75 | 0,58 | 0,51 | 0,95 | 0,68 | 1,13 | 1,27 | | | | |
| | $C_3$ | 0,58 | 0,53 | 0,54 | 1,01 | 1,03 | 0,56 | 0,93 | 0,92 | 0,63 | 0,58 | 0,61 | 0,63 | 0,79 | 0,73 | 0,60 | 0,81 | 0,86 | 0,55 | 0,95 | 0,94 | 0,58 | 1,04 | 0,82 | 0,58 | 0,80 | 1,26 | 0,65 | | | | |

POLITECHNIKA GDAŃSKA

# Wyniki – BADGE, IA

| | | BADGE·$H_2O$ | | | BADGE ·HCl | | | BADGE·$2H_2O$ | | | BFDGE | | | BFDGE·$2H_2O$ | | | BFDGE ·2HCl | | | BADGE ·2HCl | | | BADGE·$H_2O$·HCl | | | DEP | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ | $C_1$ | $C_2$ | $C_3$ |
| $C_1$ | BADGE ·HCl | 0,53 | 1,05 | 1,24 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 1,15 | 0,65 | 2,18 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 1,24 | 0,90 | 0,68 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BADGE ·$2H_2O$ | 0,42 | 1,66 | 1,43 | 0,84 | 1,10 | 0,99 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 1,01 | 0,77 | 1,79 | 1,06 | 1,11 | 1,04 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 1,18 | 1,21 | 0,57 | 1,11 | 1,36 | 0,80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BFDGE | 0,46 | 0,55 | 0,70 | 1,26 | 1,40 | 1,39 | 0,48 | 0,73 | 0,91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 0,56 | 0,62 | 0,74 | 1,63 | 1,46 | 1,70 | 0,53 | 0,76 | 0,91 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 0,66 | 0,73 | 0,76 | 1,42 | 1,34 | 0,98 | 0,64 | 0,81 | 0,88 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BFDGE ·$2H_2O$ | 0,62 | 0,99 | 1,00 | 0,94 | 1,04 | 1,12 | 0,68 | 1,08 | 1,10 | 0,51 | 0,72 | 0,92 | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 1,03 | 0,87 | 1,08 | 1,12 | 1,23 | 1,44 | 1,12 | 0,88 | 1,26 | 0,66 | 0,77 | 0,97 | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 1,03 | 0,95 | 0,79 | 1,15 | 1,39 | 0,83 | 1,32 | 1,93 | 0,80 | 0,80 | 0,83 | 0,89 | | | | | | | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BFDGE ·2HCl | 0,54 | 0,85 | 0,86 | 0,90 | 1,14 | 1,17 | 0,56 | 1,26 | 1,03 | 0,47 | 0,54 | 0,67 | 0,88 | 1,19 | 1,07 | | | | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 0,79 | 0,70 | 1,24 | 1,09 | 1,10 | 1,12 | 0,80 | 1,08 | 0,93 | 0,59 | 0,64 | 0,74 | 1,03 | 0,98 | 1,41 | | | | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 0,97 | 0,85 | 0,79 | 1,09 | 1,46 | 0,91 | 1,21 | 2,85 | 0,79 | 0,72 | 0,75 | 0,80 | 1,08 | 1,05 | 0,96 | | | | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BADGE ·2HCl | 0,53 | 0,72 | 0,76 | 0,97 | 1,30 | 1,22 | 0,70 | 1,28 | 1,85 | 0,54 | 0,60 | 0,71 | 0,92 | 1,23 | 1,26 | 0,64 | 1,00 | 0,90 | | | | | | | | | |
| $C_2$ | | 0,80 | 0,76 | 1,13 | 1,11 | 1,41 | 1,26 | 2,35 | 1,18 | 1,61 | 0,62 | 0,67 | 0,77 | 1,24 | 1,18 | 1,54 | 0,87 | 0,79 | 1,32 | | | | | | | | | |
| $C_3$ | | 0,84 | 0,76 | 0,89 | 1,13 | 1,40 | 0,83 | 1,84 | 3,13 | 0,86 | 0,74 | 0,77 | 0,82 | 1,24 | 1,16 | 0,93 | 0,88 | 0,88 | 0,86 | | | | | | | | | |
| $C_1$ | BADGE ·$H_2O$·HCl | 0,55 | 0,81 | 0,82 | 0,65 | 0,87 | 1,00 | 0,75 | 1,11 | 1,27 | 0,99 | 1,00 | 1,01 | 0,85 | 0,99 | 0,99 | 0,54 | 0,90 | 1,03 | 0,45 | 1,08 | 0,99 | | | | | | |
| $C_2$ | | 0,90 | 0,81 | 1,38 | 1,06 | 0,88 | 0,90 | 1,31 | 0,97 | 1,02 | 1,01 | 0,99 | 1,01 | 1,27 | 1,13 | 1,35 | 1,24 | 1,03 | 2,43 | 1,15 | 1,20 | 2,26 | | | | | | |
| $C_3$ | | 0,92 | 0,88 | 0,88 | 0,95 | 1,56 | 0,91 | 1,12 | 1,62 | 0,80 | 1,01 | 1,02 | 0,99 | 1,04 | 1,03 | 0,93 | 0,89 | 0,85 | 0,85 | 0,87 | 0,85 | 0,82 | | | | | | |
| $C_1$ | DEP | 0,76 | 1,47 | 1,32 | 1,09 | 1,36 | 1,19 | 0,95 | 1,31 | 1,34 | 0,88 | 0,92 | 0,97 | 0,90 | 1,24 | 1,23 | 1,11 | 1,34 | 1,25 | 0,95 | 1,48 | 1,37 | 0,66 | 0,98 | 0,92 | | | |
| $C_2$ | | 1,26 | 0,91 | 2,23 | 1,15 | 1,26 | 1,41 | 1,35 | 1,16 | 1,71 | 0,90 | 0,93 | 0,97 | 1,13 | 1,10 | 1,49 | 1,47 | 1,11 | 1,67 | 1,29 | 1,13 | 1,96 | 0,80 | 0,81 | 1,07 | | | |
| $C_3$ | | 1,44 | 1,24 | 0,80 | 1,21 | 1,20 | 0,97 | 1,26 | 1,16 | 0,95 | 0,93 | 0,96 | 0,95 | 1,16 | 1,12 | 0,96 | 1,24 | 1,29 | 0,93 | 1,48 | 1,28 | 0,94 | 1,01 | 0,97 | 0,89 | | | |
| $C_1$ | DBP | 0,47 | 0,72 | 0,71 | 1,65 | 1,58 | 1,50 | 0,86 | 1,15 | 1,13 | 0,69 | 0,80 | 0,97 | 0,82 | 1,11 | 1,06 | 1,04 | 1,22 | 1,44 | 0,96 | 1,63 | 1,29 | 0,68 | 1,30 | 1,17 | 1,09 | 1,71 | 1,37 |
| $C_2$ | | 0,60 | 0,63 | 0,95 | 1,26 | 1,44 | 1,55 | 1,04 | 1,03 | 1,31 | 0,69 | 0,77 | 0,95 | 0,98 | 0,94 | 1,18 | 1,14 | 1,01 | 1,76 | 1,03 | 1,04 | 1,33 | 0,89 | 0,83 | 1,56 | 1,17 | 1,90 | 1,72 |
| $C_3$ | | 0,87 | 0,80 | 0,78 | 1,39 | 1,45 | 0,80 | 1,37 | 1,39 | 0,89 | 0,85 | 0,91 | 0,89 | 1,18 | 1,07 | 0,85 | 1,18 | 1,33 | 0,90 | 1,23 | 1,32 | 0,89 | 1,43 | 1,16 | 0,87 | 1,37 | 1,73 | 0,87 |

## Wnioski - BADGE

- Stwierdzono agonistyczne estrogenne działanie BIS-DMA (dla roztworów o stężeniach ≥4.00 µg/mL), nie wykryto natomiast agonistycznej androgennej aktywności żadnej z badanych substancji.

- Androgenne antagonistyczne działanie zaobserwowano w przypadku chloropochodnych BADGE oraz BFDGE i BFDGE·2$H_2O$. Udowodniono, że BADGE·2HCl jest najbardziej antagonistycznym androgennie czynnikiem w przypadku roztworów o stężeniu ≥4.00 µg/mL.

- Estrogenną antagonistyczną aktywność zaobserwowano w przypadku BFDGE·2$H_2O$, BADGE·$H_2O$ oraz ich chloropochodnych również na poziomach ≥4.00 µg/mL co uwidacznia ryzyko jakie stanowią te związki w przypadku występowania w środowisku.

# Wyniki – BPA, CA *vs.* IA

**INDEPENDENT ACTION**

| | BPA $C_1$ | BPA $C_2$ | BPA $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPC $C_1$ | 1.31 | 1.23 | 1.29 |
| BPC $C_2$ | 1.11 | 1.19 | 1.17 |
| BPC $C_3$ | 1.09 | 1.09 | 0.83 |
| BPE $C_1$ | 1.58 | 1.44 | 1.32 |
| BPE $C_2$ | 1.41 | 1.22 | 1.2 |
| BPE $C_3$ | 1.26 | 1.40 | 0.76 |
| BPF $C_1$ | 1.22 | 1.18 | 1.19 |
| BPF $C_2$ | 1.10 | 1.16 | 1.14 |
| BPF $C_3$ | 1.09 | 1.14 | 0.88 |
| BPG $C_1$ | 1.13 | 1.01 | 1.04 |
| BPG $C_2$ | 1.00 | 0.96 | 0.97 |
| BPG $C_3$ | 0.98 | 0.92 | 0.91 |
| BPS $C_1$ | 0.95 | 0.72 | 0.89 |
| BPS $C_2$ | 0.72 | 1.14 | 1.07 |
| BPS $C_3$ | 1.24 | 1.08 | 0.68 |
| BPFL $C_1$ | 1.38 | 1.10 | 0.96 |
| BPFL $C_2$ | 1.67 | 1.04 | 0.90 |
| BPFL $C_3$ | 1.08 | 0.98 | 0.80 |

| | BPC $C_1$ | BPC $C_2$ | BPC $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPE $C_1$ | 1.07 | 1.27 | 1.10 |
| BPE $C_2$ | 1.18 | 1.10 | 1.16 |
| BPE $C_3$ | 1.14 | 0.89 | 0.80 |
| BPF $C_1$ | 1.24 | 1.20 | 1.10 |
| BPF $C_2$ | 1.15 | 1.31 | 1.13 |
| BPF $C_3$ | 1.14 | 1.11 | 0.87 |
| BPG $C_1$ | 0.95 | 0.91 | 0.95 |
| BPG $C_2$ | 1.28 | 1.06 | 0.98 |
| BPG $C_3$ | 0.87 | 0.83 | 0.77 |
| BPS $C_1$ | 0.90 | 1.11 | 1.08 |
| BPS $C_2$ | 0.98 | 1.10 | 1.09 |
| BPS $C_3$ | 0.96 | 1.08 | 0.73 |
| BPFL $C_1$ | 1.08 | 0.99 | 0.85 |
| BPFL $C_2$ | 0.85 | 0.86 | 0.85 |
| BPFL $C_3$ | 0.89 | 0.86 | 0.88 |

| | BPE $C_1$ | BPE $C_2$ | BPE $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPF $C_1$ | 1.14 | 1.16 | 1.10 |
| BPF $C_2$ | 1.09 | 1.11 | 1.10 |
| BPF $C_3$ | 1.15 | 1.13 | 0.86 |
| BPG $C_1$ | 0.87 | 0.95 | 0.96 |
| BPG $C_2$ | 0.9 | 0.95 | 0.95 |
| BPG $C_3$ | 0.94 | 0.94 | 0.86 |
| BPS $C_1$ | 1.05 | 0.87 | 1.11 |
| BPS $C_2$ | 0.94 | 1.05 | 1.10 |
| BPS $C_3$ | 1.04 | 1.10 | 0.81 |
| BPFL $C_1$ | 1.36 | 1.20 | 1.02 |
| BPFL $C_2$ | 1.06 | 1.07 | 0.95 |
| BPFL $C_3$ | 1.03 | 1.07 | 0.85 |

| | BPF $C_1$ | BPF $C_2$ | BPF $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPG $C_1$ | # | 1.61 | 3.4 |
| BPG $C_2$ | 2.5 | 2.8 | 1.72 |
| BPG $C_3$ | 1.64 | 1.17 | 0.87 |
| BPS $C_1$ | 0.63 | 0.49 | 0.48 |
| BPS $C_2$ | 0.67 | 0.37 | 0.40 |
| BPS $C_3$ | 0.94 | 0.85 | 0.32 |
| BPFL $C_1$ | 0.98 | 0.96 | 1.13 |
| BPFL $C_2$ | 0.78 | 1.06 | 1.09 |
| BPFL $C_3$ | 1.19 | 0.99 | 0.87 |

| | BPG $C_1$ | BPG $C_2$ | BPG $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPS $C_1$ | 1.17 | 1.01 | 1.31 |
| BPS $C_2$ | 1.09 | 0.98 | 1.09 |
| BPS $C_3$ | 1.05 | 1.16 | 0.88 |
| BPFL $C_1$ | 1.48 | 0.80 | 0.76 |
| BPFL $C_2$ | 0.90 | 0.77 | 0.76 |
| BPFL $C_3$ | 0.91 | 0.80 | 0.79 |

| | BPS $C_1$ | BPS $C_2$ | BPS $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPFL $C_1$ | 0.78 | 0.91 | 0.83 |
| BPFL $C_2$ | 1.28 | 0.90 | 0.78 |
| BPFL $C_3$ | 0.85 | 1.05 | 0.70 |

**CONCENTRATION ADDITION**

| | BPA $C_1$ | BPA $C_2$ | BPA $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPC $C_1$ | 0.76 | 0.71 | 0.74 |
| BPC $C_2$ | 0.79 | 0.79 | 0.75 |
| BPC $C_3$ | 0.90 | 0.81 | 0.59 |
| BPE $C_1$ | 0.28 | 0.30 | 0.30 |
| BPE $C_2$ | 0.74 | 0.65 | 0.77 |
| BPE $C_3$ | 0.78 | 0.71 | 0.46 |
| BPF $C_1$ | 0.80 | 0.76 | 0.79 |
| BPF $C_2$ | 0.82 | 0.81 | 0.82 |
| BPF $C_3$ | 0.87 | 0.82 | 0.64 |
| BPG $C_1$ | 0.64 | 0.66 | 0.70 |
| BPG $C_2$ | 0.67 | 0.68 | 0.69 |
| BPG $C_3$ | 0.74 | 0.71 | 0.69 |
| BPS $C_1$ | 0.54 | 0.67 | 0.71 |
| BPS $C_2$ | 0.36 | 0.44 | 0.40 |
| BPS $C_3$ | 0.55 | 0.58 | 0.35 |
| BPFL $C_1$ | 1.03 | 1.33 | 0.9 |
| BPFL $C_2$ | 0.77 | 0.79 | 0.79 |
| BPFL $C_3$ | 0.66 | 0.64 | 0.61 |

| | BPC $C_1$ | BPC $C_2$ | BPC $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPE $C_1$ | 0.60 | 0.64 | 0.63 |
| BPE $C_2$ | 0.84 | 0.71 | 0.58 |
| BPE $C_3$ | 0.78 | 0.81 | 0.56 |
| BPF $C_1$ | 0.74 | 0.77 | 0.81 |
| BPF $C_2$ | 0.76 | 0.90 | 0.79 |
| BPF $C_3$ | 0.75 | 0.80 | 0.63 |
| BPG $C_1$ | 0.49 | 0.61 | 0.50 |
| BPG $C_2$ | 0.52 | 0.72 | 0.57 |
| BPG $C_3$ | 0.56 | 0.68 | 0.53 |
| BPS $C_1$ | 0.46 | 0.45 | 0.42 |
| BPS $C_2$ | 0.75 | 0.67 | 0.64 |
| BPS $C_3$ | 0.73 | 0.71 | 0.47 |
| BPFL $C_1$ | 0.73 | 0.64 | 0.71 |
| BPFL $C_2$ | 0.54 | 0.6 | 0.68 |
| BPFL $C_3$ | 0.37 | 0.52 | 0.65 |

| | BPE $C_1$ | BPE $C_2$ | BPE $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPF $C_1$ | 0.68 | 0.73 | 0.86 |
| BPF $C_2$ | 0.70 | 0.72 | 0.83 |
| BPF $C_3$ | 0.69 | 0.73 | 0.63 |
| BPG $C_1$ | 0.42 | 0.47 | 0.53 |
| BPG $C_2$ | 0.53 | 0.63 | 0.69 |
| BPG $C_3$ | 0.52 | 0.61 | 0.61 |
| BPS $C_1$ | 0.48 | 0.46 | 0.51 |
| BPS $C_2$ | 0.52 | 0.63 | 0.67 |
| BPS $C_3$ | 0.75 | 0.74 | 0.56 |
| BPFL $C_1$ | 1.00 | 0.87 | 0.88 |
| BPFL $C_2$ | 0.72 | 0.77 | 0.83 |
| BPFL $C_3$ | 0.52 | 0.6 | 0.59 |

| | BPF $C_1$ | BPF $C_2$ | BPF $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPG $C_1$ | # | 1.73 | 1.24 |
| BPG $C_2$ | 0.67 | 1.32 | 0.55 |
| BPG $C_3$ | 1.34 | 0.75 | 0.37 |
| BPS $C_1$ | 0.11 | 0.22 | 0.41 |
| BPS $C_2$ | 0.09 | 0.12 | 0.39 |
| BPS $C_3$ | 0.08 | 0.12 | 0.17 |
| BPFL $C_1$ | 0.21 | 0.42 | 0.84 |
| BPFL $C_2$ | 0.04 | 0.17 | 0.31 |
| BPFL $C_3$ | 0.02 | 0.09 | 0.16 |

| | BPG $C_1$ | BPG $C_2$ | BPG $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPS $C_1$ | 0.70 | 0.60 | 0.55 |
| BPS $C_2$ | 0.62 | 0.53 | 0.58 |
| BPS $C_3$ | 0.99 | 0.76 | 0.58 |
| BPFL $C_1$ | 0.93 | 0.65 | 0.70 |
| BPFL $C_2$ | 0.48 | 0.53 | 0.59 |
| BPFL $C_3$ | 0.44 | 0.51 | 0.57 |

| | BPS $C_1$ | BPS $C_2$ | BPS $C_3$ |
|---|---|---|---|
| BPFL $C_1$ | 0.35 | 0.85 | 0.68 |
| BPFL $C_2$ | 0.29 | 0.48 | 0.74 |
| BPFL $C_3$ | 0.21 | 0.35 | 0.44 |

## Wnioski – analogi BPA

- Badania z zastosowaniem CA wskazują na niedoszacowanie i synergizm w większości badanych przypadków (tylko 7 przypadków przeszacowania). BPA w połączeniu z BPC, BPF, BFG i BPFL wykazuje niedoszacowanie jest wyraźnie obserwowany jest synergizm z BPS.

- Synergizm wykryto dla mieszaniny BPG i BPFL oraz z BPS. BPE wykazuje działanie synergistyczne z BPG oraz z BPS na niskim poziomach stężeń.

- Mieszaniny BPF i BPG wskazują na możliwe przeszacowanie modeli zachowania tych związków (nasilenie zjawiska wraz ze wzrostem badanych stężeń). BPF w przypadku obecności BPS i BPFL wykazują silne synergiczne właściwości.

- Wartości IA mają przeważnie wyższe wartości niż CA (również w innych badaniach).

## Wnioski

W wyniku doświadczeń płynących z wielu projektów badawczych można stwierdzić, że:

- Przedstawione wyniki prowadzonych badań nt. złożonego podejścia do wyznaczania i modelowania toksyczności próbek środowiskowych i mieszanin ksenobiotyków stanowią ważne narzędzie dla organów decyzyjnych w procesie rozumienia i przewidywania jakie zagrożenie wobec organizmów żywych wynika z obecności szerokiej gamy mieszaniny zanieczyszczeń zwłaszcza, że (jak udowodniono) wiele grup analitów wykazuje tendencję do działania synergicznego w przypadku występowania w takich mieszaninach.

- Ryzyko zwiększenia stopnia toksyczności wielu analitów może się pojawić również w przypadku wystąpienia wypadków i zdarzeń losowych (np. wycieki podczas transportu itd.), co będzie skutkować lokalnym lub regionalnym zwiększeniem poziomów stężeń obecności danych ksenobiotyków.
- Wyniki opisanych tu badań mogą stanowić cenne źródło wytycznych opisujących sumaryczne działanie złożonych mieszanin ksenobiotyków a badania ekotoksykologiczne stanowią nieodzowną i szybko rozwijającą się gałąź współczesnej analityki środowiskowej
- Zastosowanie biotestów w połączeniu z tradycyjnymi badaniami instrumentalnymi i chemometryczną obróbką danych pozwala na uzyskanie pogłębionych informacji o stanie obiektu badanego i jego wpływie na otoczenie.
- Badania z wykorzystaniem biotestów można traktować jako badania przesiewowe przed podjęciem szerszych badań z wykorzystaniem metodyk z zakresu analityki specjacyjnej.

POLITECHNIKA GDAŃSKA

## Dziękuję za uwagę…


- Podziękowania:
  - Przyjaciołom z Sofii tj. prof. V. Simeonov'owi, prof. S. Tsakovski'emu, dr G. Yotov'ej, prof. A. Dołędze i Z. Mazerskiej z PG,
  - Firmom które przekazały opakowania do badań,
  - NCN za współfinansowanie badań w ramach projektu nr 2015/17/N/ST4/03835.


- Literatura:


  - N. Szczepańska, B. Kudłak, G. Yotova, S. Tsakovski, J. Namieśnik, 2017, Assessing acute toxicity of selected packages internal layers extracts using Microtox®, Packag. Technol. Sci., 30:347-357.
  - H1. N. Szczepańska, B. Kudłak, J. Namieśnik, 2018, Assessing ecotoxicity and the endocrine potential of selected phthalates, BADGE and BFDGE derivatives in relation to environmentally detectable levels, Sci. Tot. Environ., 610–611:854–866.
  - N. Szczepańska, B. Kudłak, G. Yotova, S. Tsakovski, J. Namieśnik, 2017, Assessing acute toxicity of selected packages internal layers extracts using Microtox®, Packag. Technol. Sci., 30:347-357.
  - N. Szczepańska, J. Namieśnik, B. Kudłak, 2016, Assessment of toxic and endocrine potential of substances migrating from selected toys and baby products, Environ. Sci. Pollut. Res., 23:24890-24900.
  - M. Wieczerzak, B. Kudłak, G. Yotova, M. Nedyalkova, S. Tsakovski, V. Simeonov, J. Namieśnik, 2016, Modeling of pharmaceuticals mixtures toxicity with deviation ratio and best-fit functions models, Sci. Tot. Environ., 571:259-268.
  - M. Wieczerzak, J. Namieśnik, B. Kudłak, 2016, Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality: A review, Env. Int., 94:341-361.
  - B. Kudłak, N. Szczepańska, K. Owczarek, Z. Mazerska, J. Namieśnik, 2015, Revision of biological methods serving determination of EDC presence and their endocrine potential, Crit. Rev. Anal. Chem., 45:191-200.
  - M. Wieczerzak, B. Kudłak, J. Namieśnik,2015, Environmentally oriented models and methods for the evaluation of the drug×drug interaction's effects, Crit. Rev. Anal. Chem., 45:131-155.