



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**KONSERVELENDEN YİYECEKLERE GEÇEN BİSFENOL A
MİKTARININ BELİRLENMESİ**

MUAZ KÖROĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

AĞUSTOS – 2012



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**KONSERVELENDEN YİYECEKLERE GEÇEN BİSFENOL A
MİKTARININ BELİRLENMESİ**

MUAZ KÖROĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

AĞUSTOS – 2012

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KONSERVELENDEN YİYECEKLERE GEÇEN BİSFENOL A
MİKTARININ BELİRLENMESİ**

MUAZ KÖROĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. Şana SUNGUR danışmanlığında hazırlanan bu tez/...../2012 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Şana SUNGUR

Yrd. Doç. Dr. Yasin Yücel

Doç. Dr. Abdullah ÖKSÜZ

Başkan

Üye

Üye

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. İlhan ÜREMİŞ

Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No:

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5486 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	V I
ÇİZELGELER DİZİNİ	V I I
ŞEKİLLER DİZİNİ	V I I I
1. GİRİŞ	1
1.1.Endokrin Bozucular.....	1
1.1.1. Endokrin Bozucuların Etkileri	1
1.1.2. Endokrin Bozucu Kimyasallar	3
1.2.Bisfenol A	4
1.2.1. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
1.2.2. Bisfenol A'nın Üretimi ve Kullanım Alanları	5
1.2.3. Salınım ve Bisfenol A'nın Gıdalara Salınımı.....	6
1.2.4. Bisfenol A'nın Vücuda Alınması ve Sağlık Üzerine Etkileri	8
1.2.5. Bisfenol A'nın Genler Üzerine Etkileri	9
1.2.6. Bisfenol A'nın Yasal Sınır Değerleri	10
1.2.7. Bisfenol A Yerine Kullanılacak Alternatif Materyaller	10
1.3.İstatistiksel Analiz.....	11
1.4. Çalışma Aralığı	12
1.5.HPLC	13
1.5.1. Pompa	14
1.5.2. Enjektör	14
1.5.3. Kolon	14
1.5.4. Detectör	15

1.5.4.1. UV / Görünür Bölge Dedektörü	15
1.5.4.2. Fotodiyot Array Dedektörü	15
1.5.4.3. Floresans Dedektörü	15
1.5.4.4. İletkenlik Dedektörü	15
1.5.4.5. Refraktif İndeks Dedektörü	16
1.5.4.6. Elektrokimyasal Dedektör	16
1.5.4.7. Kütle Dedektörü	16
1.6.Konserveler	16
1.6.1. Konserve Üretimi	16
1.6.2. Konservelerde Kullanılan Kaplar	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1.Materyal	25
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	25
3.2.Yöntem	26
3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	26
3.2.2. Örneklerin Hazırlanması	27
3.2.3. Şeker Analizi	27
3.2.3.1.Faktör Tayini	27
3.2.3.2. Örneğin Hazırlanması	27
3.2.3.3. İnvert Şeker Tayini	28
3.2.4. Tuz Analizi	28
3.2.5. Bisfenol A Analizi	29
3.2.5.1.Sıvı Örneklerin Hazırlanması	29
3.2.5.2.Katı Örneklerin Hazırlanması	29
3.2.5.3. HPLC Analizi	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	31
4.1.Numunelerdeki Bisfenol A Derişimlerinin	

İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar.....	31
4.2.Teneke Kutularda Satışa Sunulan Konservelerin	
BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar.....	34
4.3.İç Yüzeyi Plastik Film ile Kaplı Kutularda Satışa	
Sunulan Konservelerin BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar	36
4.4.Cam Kavanozlarda Satışa Sunulan Konservelerin	
BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar	38
4.5.Tuz Miktarı ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı	
Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar.....	40
4.6. Şeker Miktarı ile Gıdalara Geçen BFA Miktarı	
Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar.....	43
4.7. Ambalajın Cinsi ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı	
Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar.....	44
4.8. Son Kullanma Tarihi ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı	
Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar.....	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	49
TEŞEKKÜR	53
ÖZGEÇMİŞ	54

ÖZET

**KONSERVELERDEN YİYECEKLERE GEÇEN BISFENOL A
MİKTARININ BELİRLENMESİ**

Son yıllarda, tüm ülkelerde, genç insanlarda dahi, kanser, obezite, üreme bozuklukları, şeker ve sinirsel hastalıkların artış göstermesi araştırmacıları bu hastalıkların kaynaklarını araştırmaya itmiştir. Birçok yabancı ülkede, ambalajlardan gıdalara göç eden, sağlık açısından son derece zararlı, endokrin bozucu bisfenol A miktarlarını ve bu kimyasala maruz kalan hayvan ve insanların kan ve idrarlarındaki bisfenol A miktarlarını belirlemek amacıyla giderek artan araştırmalar yapılırken, ülkemizde yapılmış tatmin edici bir çalışma bulunmamaktadır. Her şeyden önce, ülkemizde özellikle son yıllarda oldukça fazla tüketilen konserve gıdalardaki bisfenol A miktarlarının belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, öncelikle iç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan süt, meyve suyu, krema, puding, ton balığı örneklerine ve hem metal hem de cam kaplarda bulunan konserve bezelye, garnitür, mısır, domates salçası, biber salçası, turşu, mantar, fasulye örneklerine geçen bisfenol A miktarları ve bu miktarların depolama şartlarına (ışık maruziyeti, sıcaklık, süre) ve glikoz, NaCl ve yağ içeriklerine bağlı olarak ne şekilde değiştikleri belirlenmiştir.

Işığa ve sıcaklığa maruz kalmış, son kullanma tarihi yaklaşmış ürünlerde, gıdalara daha çok bisfenol A'nın geçtiği, ürünlerin içerdiği glikoz, NaCl ve yağ miktarlarının artması ile gıdalara geçen bisfenol A miktarlarının da arttığı, metal kaplarda bulunan gıdalara cam kaplarda bulunanlardan çok daha fazla bisfenol A'nın geçtiği belirlenmiştir.

ABSTRACT**DETERMINATION OF AMOUNT OF BISPHENOL A IN MIGRATING FROM CANS TO FOODS**

In recent years, the increase in some diseases such as cancer, obesity, reproductive disorders, diabetes, and neurological diseases among even young people all over the world pushed researchers to research the sources of these diseases. In some countries while the number of researches on the amount of endocrine disruptor bisphenol A, and its amount in the blood and urine, which migrates from packages to food and highly hazardous, is increasing, there is not enough researches in our country. First the amount of bisphenol A in canned food, which is consumed too much in recent years, must be determined.

In this research, some food, packed in packages with an inner surface covered with plastic film, such as milk, fruit juice, cream, pudding and tuna samples have been used. Some canned food in glass and metal cans such as green peas, garniture, corn, tomato paste, pepper paste, pickles, mashroom and bean samples have been also used. The change in the amount of bisphenol A in all of these food, based on storage conditions, (exposed to light, temperature and time), the amount of glucose, salt and oil in it has been determined in this research.

It has been determined that food exposed to light and expires soon has much more bisphenol A. We see that in these kind of food as the amount of glucose, NaCl and oil increase the amount of bisphenol A in it increases. It has been determined that more bisphenol A migrated to food in metal cans than food in glass cans

2012, 54 pages

Key Words: Bisphenol A, endocrine disruptor, can, tin can, HPLC

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BADGE	Bisfenol A-Diglisidil Eter
BFA	Bisfenol A
BFF	Bisfenol F
DES	Dietilstilbesterol
GC	Gaz Kromatografi
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
LC	Sıvı Kromatografisi
LC/ECD	Sıvı Kromatografi/Elektrokimyasal Detektör
LC/MS	Sıvı Kromatografi/Kütle Spektroskopisi
LOD	Gözlenebilme Sınırı
NF	Nonilfenol
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
TDI	Tolere Edilebilir Günlük Alım Miktarı
UV/VIS	Ultraviyole / Görünür Bölge

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Endokrin bozucuların üreme üzerine etkileri.....	2
Çizelge 1.2. Endokrin bozucuların üreme sistemi dışındaki etkileri.....	2
Çizelge 1.3. Bisfenol A'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	5
Çizelge 4.1. Teneke kutularda satışa sunulan konserve gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri.....	35
Çizelge 4.2. İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan konservelerin BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri.....	37
Çizelge 4.3. Cam kavanozlarda satışa sunulan konserve gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri.....	39
Çizelge 4.4. İncelenen örneklerin BFA konsantrasyonları ve tuz içerikleri.....	42
Çizelge 4.5. Tuz içeren konserve gıdalara ait korelasyon katsayıları ve hesaplanan t değerleri.....	43
Çizelge 4.6. Konserve gıdaların BFA konsantrasyonları ve şeker içerikleri.....	44
Çizelge 4.7. Şeker içeren konserve gıdalara ait korelasyon katsayıları ve hesaplanan t değerleri.....	44
Çizelge 4.8. Cam ve teneke ambalajlardaki konserve gıdaların BFA içerikleri.....	45
Çizelge 4.9. Son kullanma tarihleri farklı konserve gıdaların BFA içerikleri.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bisfenol A'nın fenol ve aseton dan kondensasyonu	4
Şekil 4.1. Bisfenol A kalibrasyon grafiği.....	32
Şekil 4.2. 250 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı	32
Şekil 4.3. 500 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı	33
Şekil 4.4. 1000 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı	33
Şekil 4.5. Teneke kutuda satışa sunulan bezelye örneğine ait kromatogram.....	34
Şekil 4.6. İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan meyve suyuna ait kromatogram	36
Şekil 4.7. Cam kavanozlarda satışa sunulan garnitür örneğine ait kromatogram	38
Şekil 4.8. Konserve gıdalara ait ortalama bisfenol A konsantrasyonları.....	40

1. GİRİŞ

1.1. Endokrin Bozucular

1.1.1. Endokrin Bozucuların Etkileri

Hormonları taklit ederek endokrin sistemin düzenli çalışmasını engelleyen, organizmayı olumsuz olarak etkileyen ve gelecek nesiller için de sağlık sorunlarına neden olan madde veya madde karışımlarına endokrin bozucular denir.

Hormonların metabolizmasında, yapımında, yıkımında, taşınmasında ve atılmasında artırıcı veya azaltıcı bir etkide bulunarak etkin rol oynamaktadırlar. Bu etkilerin bir veya birkaçı aynı anda olabilmektedir.

Endokrin bozucuların etkileri her canlı için aynı değildir. Endokrin bozucu ile karşılaşma yaşı, süresi, miktarı ve karşılaşılan endokrin bozucunun tek veya karışım madde olması gibi faktörler endokrin bozucuların her organizma için farklı etki meydana getirmesine sebep olmaktadır. Hamileler için bu etkiler daha büyük bir risk oluşturmaktadır. Çeşitli endokrin bozucularla karşılaşan hamileler de, fetüsün endokrin sistemi etkilendiğinden dolayı, çok sayıda gelişme bozukluğu meydana gelmektedir. Bunun en büyük sebebi; endokrin bozucuların çoğunun plasentada etkisiz hale getirilemeyişidir. Bu dönemde endokrin bozucularla karşılaşmasının sonucu olarak bebeklerde doğum ağırlığı, boyu ve endokrin bezlerin çalışması etkilenmektedir. (Coşkun ve ark., 2011)

Endokrin bozucuların etkileri birçok organ üzerine olmakla birlikte en fazla üriner sistem ve tiroit bezleri üzerinde olmaktadır. Endokrin bozucuların etkileri, üreme sistemi ve üreme sistemi dışındaki etkileri olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar Çizelge 1. 1 ve Çizelge 1. 2’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Endokrin bozucuların üreme üzerine etkileri (Yeşilkaya, 2008)

Dişi	Erkek
– Kuşkulu genitalya – Hipoplastik ve atrofik uterus – Yenidoğanda hemorajik over – Ovaryumda folikül atrezisi – Uterus ve over ağırlığının artması – Premature telarş – Erken ve geç puberte – Infertilite – Laktasyon – Erken menarş	– Kuşkulu genitalya – Hipospadias – İnmemiş testis – Ektopik testis – Testis atrofisi – Prostat ve v.seminalis atrofisi – Testis ve prostat ağırlığının azalması – Seminifer tübül atrofisi – Erken ve geç puberte – Sperm azlığı – Sperm morfoloji ve hareket bozuklukları – Jinekomasti – Leydig ve sertoli hücrelerinde atrofi – Infertilite

Çizelge 1.2. Endokrin bozucuların üreme sistemi dışındaki etkileri (Yeşilkaya, 2008)

	Dişi	Erkek
Kanser	Kanser hücre çoğalmasının ve anjiogenezisin azalması, iyi ve kötü huylu kanserlerde azalma, (soyalı ürünler) dışında endometrial hiperplazi, vajinal adenokarsinom, uterus kanseri, meme kanseri gelişme risk artışı	Testis kanseri riskinin artması, prostat kanseri gelişme riskinin artması veya azalması
Teratojenik etkileri	İskelet kalsifikasyonları, ventriküllerde genişleme, gebelerde yavru sıçan sayısının azalması, yaşayan yavru sıçan sayısının azalması, intrauterin ölüm, abortus, düşük doğum kilosu	
Tiroit fonksiyonları	Fetal tiroid hormon bozuklukları, tiroit hormonu konjugasyon bozukluğu, serum tiroksin seviyelerinde düşüklük	
Kardiyovasküler etkiler	Kolesterol düşüklüğü ve antioksidan etkiler (fitoöstrojenler), trombosit agregasyon bozuklukları	
Kemik	Kemik mineral densitesi üzerine olumlu (fitoöstrojenler) ve olumsuz etkiler, epifizlerin erken ya da geç kapanması	
Diğer	Postnatal büyüme bozuklukları, vücut ağırlığı azlığı, erkek/kız yavru oranının bozulması	

1.1.2. Endokrin Bozucu Kimyasallar

Avrupa Birliği tarafından 680 kimyasal madde endokrin bozucu olarak tanımlanmıştır. Bu maddelerin bir kısmı doğal olarak bulunurken, geri kalan kısım ise insanlar tarafından üretilmektedir. Doğal endokrin bozucular, yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle vücuttan rahatlıkla atılmaktadır. Böylece yan etkileri çok azdır. Doğal endokrin bozuculara fitoandrojenler ve fitoöstrojenler örnek olarak verilebilir. Fitoöstrojenler, vişne, elma, maydanoz, kahve, hububat gibi günlük hayatta sıkça kullanılan besinlerde bulunmaktadır (Coşkun ve ark., 2011).

İnsanlar tarafından üretilen endokrin bozucu kimyasallar; hormon tedavisi ilaçları, tarım ilaçları (pestisidler), temizlik maddeleri (alkil fenoller) ve plastik katkı maddeleri (fitalatlar, bisfenol A) gibi ürünlerde kullanılarak endüstriyel sanayide üretilmektedir. Ağır metaller (arsenik, kadmiyum, uranyum, kurşun, civa) de endokrin bozucu kimyasallar arasına dâhil edilmektedir (Çek ve Sarıhan, 2010).

Sentetik endokrin bozucular yağda erimedikleri için yağ dokusunda birirmektedirler. Yıkılması ve yok edilmesi zor olduğundan dolayı organizma içerisinde birikmesi, canlılar için büyük tehdit oluşturmaktadır. Bu durum endokrin bozucular üzerine dikkatleri çekmiş ve birçok araştırma yapılmasına sebep olmuştur. Araştırmalar sonucunda bazı endokrin bozucu kimyasalların kullanımına kısıtlamalar getirilmiştir.

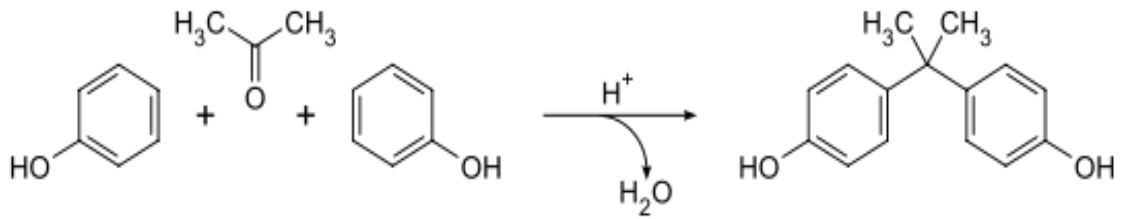
Örnek olarak; güçlü östrojenik etkisi olan “dietilstilbesterol” (DES), ilk defa 1938 yılında üretilmiştir. Amerika ve Avrupa’da uzun yıllar boyunca ilaç tedavisinde kullanılmıştır. Fakat yapılan çalışmalarda, DES’e maruz kalan bayanlarda meme kanseri gelişme riskinin yaklaşık 2 kat arttığı ve DES’e intrauterin maruz kalan kızlarda serviks kanseri, overyan germ hücre kanseri, serviko-vajinal displazi ve vajinal clear-cell adenokarsinoması ile intrauterin maruz kalan erkeklerde minör ürogenital anomali ve testis kanseri riskinin arttığı tespit edilmiştir. Bu nedenle dietilstilbesterol piyasadan kaldırılmıştır (Yeşilkaya, 2008).

Diklorodifeniltri-kloro etan (DDT), bitkisel ilaçlamada kullanılan bir ilaçtır. Bitkileri koruma amaçlı üretilen bu ilaç, canlıların endokrin sistemine zarar verdiği için kullanımı yasaklanmıştır.

1.2.Bisfenol A (BFA)

1.2.1. Bisfenol A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

2,2-bis(4-hidroksifenil)propan dünyada en fazla kullanılan bisfenol A (BFA) adı ile bilinmekte olan bir endokrin bozucudur (Gómez ve ark., 2009). 1891 yılında Dianin tarafından bulunan bisfenol A, 1905 yılında Zincke tarafından iki mol fenol ve bir mol asetonun düşük pH ve yüksek sıcaklıkta kondensasyonu ile sentezlenmiştir (Şekil 1.1).



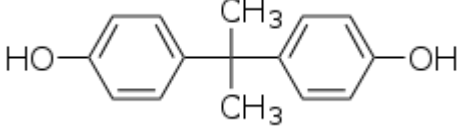
Şekil 1.1. Bisfenol A'nın fenol ve asetondan kondensasyonu

Bisfenol A, fenolik kokulu, kristal yapıda beyaz bir katıdır. Erime sıcaklığı 155°C, özgül ağırlığı 1.060-1.195 g/cm³'dür. Etanol, aseton ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi çözücülerde iyi çözünmektedir. Bisfenol A, suda 25 °C de 300 g/m³ çözünürlüğe sahiptir.

BFA yüksek kaynama noktasına (101,3 kPa'da 398 °C) ve düşük buhar basıncına (25 °C'de 5.3×10⁻⁶ Pa) sahiptir. Havadaki konsantrasyonu oldukça düşüktür. Hava-su dağılım katsayısı (K_{aw}) çok düşük (10⁻⁹) olduğundan sulu çözeltilerden buharlaşması pek mümkün değildir. Oktanol - hava dağılım katsayısı ise çok yüksek olduğundan (K_{oa}; 2.6×10¹²) gaz formunda katı yüzeylere kuvvetlice absorblanabilmektedir (Cao, 2010).

Bisfenol A'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. Bisfenol A'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (Cao, 2010)

Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
Diğer isimleri	4,4'-dihidroksi-2,2-difenilpropan 4, 4'-izopropilidendifenol
Kimyasal yapısı	
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	$C_{15}H_{16}O_2$
Yapısal formülü	$(CH_3)_2-C - (C_6H_4-OH)_2$
Moleküler ağırlığı	228.29 g/mol
Özgül ağırlığı	1,060-1,195 g/cm ³
Erime sıcaklığı	155 °C
Kaynama sıcaklığı	398 °C (101.3 kPa)
Alevlenme sıcaklığı	270°C
Uçuculuğu	193°C (1 atm)
Sudaki çözünürlüğü (25°C)	300 g/m ³ (25 °C)
Buhar basıncı	$5,3 \times 10^{-6}$ Pa (25 °C)

1.2.2. Bisfenol A'nın Üretimi ve Kullanım Alanları

Bisfenol A, Almanya, Hollanda, Japonya ve Amerika gibi ülkelerde Dow, Bayer, Shell, Mitsubishi, Mitsui ve Shin Nihon gibi firmalar tarafından yıllık yaklaşık 1.7 milyar kg civarında üretilmektedir. Bisfenol A'nın kullanım alanlarının artması, üretim miktarını da artırmaktadır. Avrupa'da 1997-1998 yılları arasında 40 bin ton Bisfenol A kullanılmıştır (Gülnaz, 2006).

Bisfenol miktarı, dünya çapında, 2000 ile 2006 yılları arasında % 4'lük, 2006 ile 2010 yılları arasında ise % 2'lik bir artış göstermiştir. 2010 yılında, sadece Batı Avrupa'da 830 milyon ton bisfenol A bulunduğu kaydedilmiştir (Gómez ve ark., 2009).

Endüstriyel bir kimyasal olan Bisfenol A' nın % 70'i polikarbonat plastik yapımında, % 25'i ise epoksi reçine yapımında kullanılmaktadır. Polikarbonat plastikler; su şişesi, biberon, saklama kapları, şişe kapakları, CD-DVD, gözlük camları, elektronik aletler, otomotiv parçaları, kurşun geçirmez camlar, toz boya, PVC pencereler ve iş güvenlik kasklar gibi alanlarda kullanılmaktadır. Epoksi reçineler ise sebze, meyve, dondurulmuş besinler, konserve ürünler, alkollü ve alkolsüz içecekler, süt tozu ve turşu gibi yiyecek ve içeceklerin ambalajlarının iç yüzeylerinin kaplamasında, şarap ve su gibi sıvıların depo kaplarında ve gıda taşıma kaplarının yapımında kullanılmaktadır (Er ve Sarımehtetoğlu, 2011).

Bisfenol A, diş tedavisinde de kullanılmaktadır. Pedodonti'de sıkça kullanılan fissür örtücü ve kompozit rezin gibi dolgu maddelerinin yapısında BFA bulunmaktadır. Daha önce fungusid olarak kullanılan tetrabromobisfenol A gibi yanmayı önleyen malzemelerin öncül maddesi de BFA'dır (Akyüz ve ark. 2011).

Ayrıca karbonsuz kopya kâğıtlarında ve termal kâğıtlarda da BFA bulunmaktadır (Muncke, 2010). BFA ihtiva eden ürünler su borularının kaplanmasında ve döküm kalıplarında da kullanılmaktadır.

1.2.3. Salınım ve Bisfenol A' nın Gıdalara Salınımı

Salınım, gıda maddesi ile ambalaj içerisindeki materyaller arasında gerçekleşen etkileşim sonrasında meydana gelen kütle transferi olarak tanımlanmaktadır. Kütle transferi ambalajdan gıda içerisine olabileceği gibi gıdadan ambalaja doğru da olabilmektedir. Özellikle aroma bileşikleri ve yağ, ambalaj tarafından absorbe edilebilmektedir (Ormancı, 2007). Monomerler, plastik katkı maddeleri, stabilizatörler, oligomerler ve antioksidanlar ise ambalaj maddesinden gıda içerisine geçebilmektedir (Er ve Sarımehtetoğlu, 2011).

Bu maddelerin salınımı, gıdanın rengi, tadı, kokusu, saklama süresi ve sağlıklı olması gibi özellikleri üzerine etkide bulunmaktadır. Bu durum tüketiciler için çok büyük bir önem arz etmektedir. Salınım sonucu gıda üzerinde oluşacak bir olumsuz etki tüketimi azaltacaktır. Bundan dolayı üreticiler, salınımı en az seviyeye indirmek için gıda türüne göre en uygun ambalaj türlerini kullanırlar. Ambalaj türleri, cam, kâğıt, karton, mukavva, alüminyum ve çeşitli plastiklerden oluşmaktadır.

Salınımı etkileyen faktörler ;

- Gıda maddesinin fiziksel durumu (katı, toz, sıvı... vb)
- Gıdanın özelliği (tuzlu, yağlı, şekerli, asitli, sulu... vb)
- Gıda maddelerinin, migrantlara olan afinitesi
- Ambalaj materyalinin fiziksel ve kimyasal özelliği
- Ambalaj materyalindeki migrantın çeşiti ve konsantrasyonu
- Gıda ile ambalaj materyalinin temas alanı
- Temas süresi
- Sıcaklık (Ormancı, 2007).

Bisfenol A, gıda ambalajlarının plastik malzemesinde ve epoksi reçine olarak kullanılmaktadır. Bisfenol A salınımı genellikle konserve ürünlerde gerçekleşmektedir.

Yoshida ve ark. (2001) bisfenol A'nın salınımının, epoksi reçinenin polimerizasyonunun tamamlanmamış olmasından dolayı gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca Er ve Sarımeahmetoğlu (2011), polimerlerin kısmen hidroliz olması sebebiyle de bisfenol A salınımının gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Kang ve ark. (2003), konserveledeki bisfenol A salınımı etkileyen faktörler üzerine yaptıkları çalışmada, glikoz, sodyum klorür, bitkisel yağ, ısıtma süresi ve sıcaklık gibi faktörlerin salınımı arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Er ve Sarımeahmetoğlu (2011), konservelede bisfenol A salınımında ana faktörün sıcaklık olduğunu belirtmişlerdir.

Neild (2008), plastik malzeme kullanımının BFA salınımını artırıcı bir etkide bulunduğunu belirtmiştir.

Ayrıca Kang ve Kondo (2002), yaptıkları çalışmada kafeinin bisfenol A salınımını arttırdığı sonucuna ulaşmışlardır.

Akyüz ve ark. (2011), plastik kapların zarar görmesi halinde ve ısıya maruz kalması durumunda bisfenol A salınımının artacağına dikkat çekmişlerdir.

Bisfenol A'nın endokrin bozucu bir kimyasal olmasına rağmen, birçok gıda ambalajlanmasında kullanılması sebebiyle dünyanın pek çok yerinde bisfenol A'nın

salınımı ve salınımı etkileyen faktörler üzerine çalışmalar yapılmıştır. Çalışmaların birçoğunda bisfenol A salınımı tespit edilmiştir.

1.2.4. Bisfenol A' nın Vücuda Alınması ve Sağlık Üzerine Etkileri

Bisfenol A' nın vücuda alınması genellikle konserve ürünler, süt vb. içecekler gibi günlük hayatta sıkça tüketilen gıdaların ambalajlarından gıda içerisine salınımı sonucunda olmaktadır.

Bisfenol A insan vücuduna oral yolla alınarak, intestinal yolla hızlı bir şekilde absorbe edilmektedir. Karaciğerde öncelikle monoglukuronid formuna dönüştürülmektedir. Glukuronik asit veya sülfat ile birleşen bisfenol A' nın % 56-82'si dışkı yolu ile, % 13-28'i ise idrar yolu ile dışarı atılmaktadır. Amerika' da 6 yaş üstü 2517 insanın % 93'ünün idrarında bisfenol A bulunmuştur. Ayrıca Amerika'da 394 yetişkinin idrar örneklerinin % 95'inde BFA miktarı 0.1 µg/l'den fazla tespit edilmiştir (Er ve Sarımeahmetoğlu, 2011).

Yapılan çalışmalarda hamile sıçanlarda plasentada 0.4, kanda 1.6 µg/kg bisfenol A bulunduğ u tespit edilmiş ve plasenta yolu ile fetüse geçtiğ i belirtilmiştir. Monoglukuronid formunun anne sütüne rahatlıkla geçebilmesi ve bisfenol A'nın fetüste akümü le olma özelliğ i bebekler için büyük risk oluşturmaktadır (Gülnaz, 2006).

Bisfenol A' nın kadınlık hormonu olan ksenöstrojene çok benzer bir özellikte olması onun bir endokrin bozucu olmasının bir göstergesidir. Yapılan çalışmalarda bisfenol A' nın insan ve hayvanların hormon sistemine zarar vermesinden dolayı, üreme sisteminin yanı sıra vücut gelişiminin ve davranışların etkilendiğ i de ifade edilmiştir. Bisfenol A'nın, kızlarda erken ergenliğ e sebebiyet verdiğ i, ayrıca idrarında yüksek oranda BFA tespit edilen kızlarda göğüs büyümesinin gecikmesine sebep olduğ u ortaya konmuştur. Bebek ve çocuklarda davranışsal ve nörolojik sorunlar ortaya çıkarmıştır. Prostat ve meme bezlerini olumsuz etkilemektedir. Hamilelerde ise, idrarlarındaki bisfenol A miktarı ile düşük riski arasında bir ilişki kurulmuştur. BFA oksidatif stres oluşturarak erkeklerde sperm azalmasına sebep olmaktadır. Şişmanlığ a yol açabileceğ i, faydalı bir hormon olan adinopektini azaltarak interlökin-6 ve TNF- α adlı zararlı iltihaba sebep olan zararlı moleküllerin kandaki miktarını arttırdığ ı belirtilmiştir. Tiroit

hormonları üzerinde antogonist veya agonist bir etkide bulunabilmektedir. BFA, günlük yaşamda kullanılan pek çok ürünün yanı sıra diş hekimliğinde kullanılan bazı dolgu maddelerinin yapısında yer almakta ve sağlık için potansiyel tehlike oluşturabileceği düşünülmektedir (Akyüz ve ark., 2011).

Bisfenol A' nın çok düşük dozda dahi farklı dokularda çeşitli biyolojik etkiler meydana getirebileceği, lipofilik özellikte olması ve insanda yağ dokuda birikebilmesinden kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda bisfenol A'nın fetal periyotta insanları etkilediği sonucuna, bisfenol A'nın annenin vücudundan fetüse geçmesi, fetüsün üreme organında anormallikler meydana gelmesi ve davranış bozukluklarına sebep olması ile ulaşılmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada 5' er adet dişi ve erkek rata 2000 mg/kg ve 5000 mg/kg miktarlarında bisfenol A oral yolla verilmiştir. 2000 mg/kg BFA' ya maruz kalan fareler yaşarken, 5000 mg/kg BFA' ya maruz kalan farelerden dişilerin hepsi, erkeklerden ise 1 tanesi ölmüştür. Sonuç olarak dişilerin daha hassas olduğu belirtilmiştir (Er ve Sarımehtetoğlu, 2011).

1.2.5. Bisfenol A'nın Genler Üzerine Etkileri

Bisfenol A, östrojen etkisinden dolayı, sığır ve kümes hayvanlarının daha çabuk büyüyüp gelişmesinde kullanılmıştır. Çok kısa bir süre de, kadınlarda östrojen hormonu takviyesinde kullanılmıştır. Ancak, hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışma, bisfenol A'nın düşük dozlarda dahi olumsuz etkiler meydana getirebileceğini göstermiştir. Ayrıca, östrojen reseptörleri olan ESR1 ve ESR2' ye bağlanması, onun, endokrin bozucu olduğunun bir göstergesidir (Singh ve Shoei, 2012).

Bisfenol A, genler ve proteinler ile etkileşime girebilmektedir. Bunlardan bir kısmında herhangi bir etki oluşturmazken, bazıları için ise önemli sorunlar meydana getirebilmektedir. Yapılan bir çalışmada 1232 tane gen ve protein üzerindeki BPA etkisinin analizleri sonucunda, kalp, böbrek ve karaciğer üzerinde toksik bir etki oluşturabileceği anlaşılmıştır. Özellikle 33 tane gen/protein etkileşimi, kalp hücreleri ve gelişimi üzerinde etki oluşturmaktadır. BPA, östrojen hormonu gibi davrandığından dolayı farelerde kalp atışlarında düzensizlik meydana getirmiştir. Aynı zamanda, kalbin

kasılmasını kontrol eden kalsiyum konsantrasyonunu da etkileyebilmektedir (Singh ve Shoei, 2012).

1.2.6. Bisfenol A'nın Yasal Sınır Değerleri

İnsanların bisfenol A'ya maruz kalmasında en büyük etken, tüketilen gıdalardır. Günlük, çocuklar ve yetişkinler vücut ağırlıkları baz alındıklarında sırası ile 0.0016 mg kg⁻¹ ve 0.00048 mg kg⁻¹ bisfenol A'ya maruz kalabilmektedir. Yeni doğanlarda ise 0.1-13.2 ppb arasında olmaktadır (Thomson ve Grounds, 2005).

İlk kez 1986 yılında Bilimsel Gıda Komitesi (Scientific Committee for Food) tarafından bisfenol A'nın plastik malzemelerde kullanımı ve gıda maddeleri ile teması değerlendirilmiştir. BFA'nın günlük alım miktarı (Tolerable Daily Intake-TDI) 0.01 mg kg⁻¹ va/gün olarak belirlenmiştir (Thomson ve Grounds, 2005).

EC Directive tarafından plastik materyalli kaplardan yiyeceklere geçen BFA spesifik salınım limiti 0.6 µg g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ayrıca U.S. Environmental Protection Agency ve European Food Safety Authority tarafından günlük alım miktarı (TDI) 50 µg kg⁻¹ va/gün olarak belirlenmiştir. Health Canada'nın belirlediği bisfenol A'nın günlük alım miktarı (TDI) ise 25 µg kg⁻¹ va/gün'dür (Cao ve ark., 2009).

Yapılan birçok araştırma sonucunda Avrupa Birliği tarafından, bisfenol A'nın gıdalara teması sonrasındaki spesifik salınım limiti 0.6 mg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. (Castro ve ark., 2011)

Türkiyedeki bisfenol A'nın yasal sınır değerleri Avrupa ile uyumludur. Bisfenol A'nın spesifik salınım limiti, Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Hakkındaki Tebliğ'de 0.6 mg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. (Er ve Sarımeahmetoğlu, 2011)

1.2.7. Bisfenol A Yerine Kullanılacak Alternatif Materyaller

BFA polikarbonat plastiklerde ve yiyecek maddelerinin ambalaj yapımında epoksi reçine maddesi olarak çok yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır. Şişe, saklama kabı ve konservelerde BFA'ya alternatif olarak bazı materyaller kullanılabilmektedir.

Günümüzde bu alternatif materyaller arasından herhangi biri için BFA yerine kullanılıyor diyebileceğimiz kimyasallar oldukça sınırlıdır.

Polikarbonatlar için saklama kabı, şişe ve konservelerde kullanılan kaplama malzemesi içerisinde cam, polipropilen, polietersülfon, polietilen, yüksek yoğunluklu polietilen, PVC, poliamid ve silikon gibi polimerler içermektedir. Ayrıca polikarbonatlara alternatif olarak tritan kopolimerler de örnek verilebilir.

Poliesterler, poliakrilitler, vinil reçineler ve oleoreçineler alternatif olarak mümkün olmakla birlikte BPA reçinenin göstermiş olduğu performansı gösterememektedirler. Örneğin alkidler yiyecek konservelerinde çabuk hidrolize uğraması ve tepkimeye girme eğilimli olmasından dolayı iç kaplama olarak kullanılmamaktadır. (Anonymous, 2010)

1.3. İstatistiksel Analiz

Korelasyon analizinde, bir ana kütleden seçilmiş en az iki veya daha fazla örnek grup alınarak, bu gruplar arasındaki etkileşime bir katsayı yardımıyla bakılmaktadır. Bu katsayıya korelasyon katsayısı adı verilmekte ve r ile gösterilmektedir.

Korelasyon katsayısının alabileceği en küçük değer -1 , en büyük değer ise $+1$ olmakta, başka bir anlatımla korelasyon katsayısı r , $-1 \leq r \leq +1$ arasındaki değerleri almaktadır.

Korelasyon katsayısının işareti pozitifse, değişkenlerden birinin değerinin artarken (azalırken) diğerinin de arttığını (azaldığını) göstermektedir. Korelasyon katsayısının işareti negatifse, değişkenlerden birinin değeri artarken (azalırken) diğerinin değerinin azaldığını (arttığını) göstermektedir. Yani ters yönlü bir ilişki söz konusudur.

$r = 0$ olduğunda ise, değişkenler arasında doğrusal bir ilişki bulunmamaktadır.

r 'nin $+1$ 'e eşit olması, değişkenler arasında pozitif ve tam doğrusal bir ilişkinin varlığını ortaya koymaktadır.

r 'nin -1 'e eşit olması ise, değişkenler arasında negatif ve tam doğrusal bir ilişkiyi belirlemektedir. Değişkenler arasındaki ilişki kuvvetlendikçe ± 1 'e, zayıfladıkça da sıfıra yaklaşan bir korelasyon katsayısı elde edilmektedir.

Korelasyon katsayısının yorumunu, tam değerler dışında ara değerler için yapmak oldukça güçtür. Ara değerler için katsayı değerlendirilirken, örnek gözlem sayısı (n) oldukça önemlidir. Çok fazla gözleme dayanan (serbestlik derecesi = 60) değerlendirmelerde 0.25'e kadar düşmüş bir korelasyon katsayısı bile anlamlı sayılabilmektedir. Fakat az sayıda, 5 gözleme dayanan değerlendirmelerde önemli bir korelasyon için katsayının 0.7545'in üstünde olması gerekmektedir.

X ve Y diye adlandırabileceğimiz n adet gözlem değerine ait, iki değişken grup varsa, (iki grup aralarında neden sonuç ilişkisi olan gruplar da olabilir) bu gruplar arasındaki korelasyon katsayısı aşağıda verilen formülden yararlanılarak hesaplanabilmektedir.

$$r = \frac{\sum x.y}{\sqrt{(\sum x^2)(\sum y^2)}} \quad (1.1)$$

1. X ve Y, n adet gözlemden oluşan iki değişken gözlem dizisini ifade etmektedir.
2. $(Y - \bar{Y}) = y$ olarak, $(X - \bar{X}) = x$ olarak ifade edilmektedirler. Tüm gözlem değerleri ortalamadan çıkarılarak x ve y dizileri oluşturulmaktadır.
3. x ile y dizisinin değerleri teker teker çarpılarak toplamaları bulunmaktadır.
4. x dizisinin ve y dizisinin ayrı ayrı kareleri alınarak toplamaları bulunmaktadır.
5. x ile y dizisinin çarpılarak toplamaları alınmış değer, x dizisinin karesi alınarak toplamı bulunmuş değer ile y dizisinin çarpılarak toplamaları alınmış değere bölünmektedir.

Korelasyon katsayısının anlamlılığı t testi kullanılarak, n-2 serbestlik derecesine göre aşağıdaki bağıntıdan yararlanılarak $\alpha = 0.05$ ve $\alpha = 0.01$ için test edilmektedir.

$$t = \frac{r \cdot \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

$\alpha = 0.05$ için $t_{\text{hesap}} > t_{0.95}$ ise, $\alpha = 0.01$ için $t_{\text{hesap}} > t_{0.01}$ ise, r istatistiksel olarak anlamlıdır denilmektedir (Orhunbilge, 1996).

1.4.Çalışma Aralığı

Kalibrasyon eğrisinde tayin edilebilen en düşük derişimden, doğrusallıktan sapma gösterdiği derişime kadar olan derişim aralığını kapsar.

LOD(Limit of dedection): Gözlenebilme sınırıdır. Zemin gürültüsünden farklı olarak tespit edilen fakat miktarı belirlenemeyen en küçük analit derişimidir.

LOQ (Limit of quantification): Uygun doğruluk ve kesinlikle miktarı saptanabilen en küçük derişimdir.

1.5. HPLC (High performance liquid chromatography)

Kromotagrafi, bir karışımı oluşturan bileşiklerin veya maddelerin iki ayrı faz arasında ve bu fazlardaki hareket hızlarının farklılıklarına dayanarak hem nitelik hem de nicelik olarak ayrıştırılması işlemidir. Bu işlem sırasında iki farklı faz kullanılmaktadır, bunlar sabit faz ve hareketli fazlardır. Sabit faz katı veya bir katı üzerine adsorblanmış sıvı olabilmektedir. Hareketli veya taşıyıcı denilen faz ise hem sıvı hem de gaz olabilmektedir.

Hareketli fazın gaz olması durumundaki sistem Gaz Kromatografisi (GC) diye tanımlanmaktadır. Taşıyıcı ya da hareketli fazın sıvı olması durumunda ise Sıvı Kromatografisinden (LC) söz etmek mümkündür. Sıvı Kromatografisi özellikle günümüzde oldukça geliştirilmiş durumdadır. Daha gelişmiş aparatlarla günümüzde bilinen ismi HPLC (High-performance liquid chromatography) dir.

HPLC sisteminde, taşıyıcı faz olan sıvı, yüksek akış hızında olduğundan dolayı ayırma işlemi daha kısa sürede ve tam olarak gerçekleşmektedir. Kolon çıkışına bağlanan uygun dedektörler, ayrılan bileşikleri miktarıyla orantılı bir şekilde kayıt etmektedir.

HPLC günümüzde kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp kimyası, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir araç olarak kabul edilmektedir. Bilhassa diğer kromatografik tekniklere uygun olmayan bileşiklerin ayrılması ve analizi için uygundur. Çevre sıcaklığında termal olarak kararsız bileşikleri ve yüksek polarlıktaki bileşikleri herhangi bir türevlendirme olmaksızın ayırabilmekte ve analiz edebilmektedir.

Standart HPLC donanımı temel olarak 4 bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenler sırasıyla pompa, enjektör, kolon (sabit faz) ve dedektörden oluşmaktadır.

1.5.1. Pompa

HPLC donanımında yer alan pompalama sistemleri, akış hızına göre, pompanın yapımında kullanılan malzemeye göre ve pompanın hareketli fazı iletme mekanizmasına göre olmak üzere 3 farklı şekilde sınıfa ayrılabilir.

1.5.2. Enjektör

HPLC donanımını oluşturan enjektör örneğin sabit faz (kolon) öncesinde hareketli faza enjekte edilmesi için kullanılmaktadır. Elle kumanda edilen ve bilgisayar kumandalı oto-enjektörler olmak üzere 2 çeşidi bulunmaktadır.

1.5.3. Kolon

Modern HPLC donanımının 4 temel yapı taşından birisi olan kolon, karmaşık örneklerde bileşenlerin birbirinden iyi çözünürlükle ayırımından sorumlu sabit fazdır. Kolon imalatında yapı materyali olarak paslanmaz çelik, teflon, cam veya peek en sık tercih edilenlerdir. Kolonun ayırım gücü ve performansı yapıldığı materyalden çok, iç yüzeyine yapılan kaplamada kullanılan malzemenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinden etkilenmektedir. Kullanılan bu tür kaplama malzemeleri çok çeşitli olup, kullanılacak hareketli fazın ve uygulanacak HPLC metodunun özelliklerine ve analizi yapılacak örneğin bilinen kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre seçilmelidir. Seçilecek kolonun HPLC uygulamasında kullanılacak akış hızı ve dolayısıyla oluşacak basınca dayanıklı olmasına dikkat edilmelidir. Birçok analitik kolonun iç çapı 2-5 mm aralığında değişmektedir. Kolon iç çapı arttıkça akış hızı ve iç doldurma hacmi artmakta ancak oluşacak piklerin çözünürlüğü, dolayısıyla duyarlılık azalmaktadır. Kolonların boyları (uzunluğu) çok çeşitli olup genellikle 30-300 mm aralığında değişmektedir. Kolon uzunluğu arttıkça örnek bileşenlerinin ayırımı daha iyi olmakta fakat analiz süresi uzadığı için daha fazla hareketli faz harcanmaktadır.

1.5.4. Dedektör

HPLC donanımında 4 temel bileşenden birisi olan dedektörler, örnek bileşenlerini tayin ederken ölçtükleri fiziksel özelliklere göre 7 çeşittir:

1.5.4.1. UV / Görünür Bölge Dedektörü:

Absorbans ölçülür. Lambert-Beer yasası geçerlidir. Spektrum taraması yapmak, farklı dalga boyunda çalışmak veya dalga boyunu zamana karşı programlamak mümkündür.

1.5.4.2. Fotodiyot Array Dedektörü:

UV/VIS dedektörden farkı, 512 elementten oluşan bir yüzeyde, her elementin ayrı bir dalga boyundaki absorbansı eş zamanlı olarak ölçebilmesidir. Bu sayede 3 boyutlu kromatogramlar almak ve istenilen her pikin çok hızlı spektrum taramasını görebilmek mümkündür. Ayrıca istenilen dalga boyu aralığında çalışılabilmesi bu dedektörün sağladığı bir diğer önemli avantajdır. Kullanılan ışık kaynağı döteryum veya tungsten lambadır.

1.5.4.3. Floresans Dedektörü:

Organik maddelerin yaklaşık %15'i floresans oluşturma yeteneğine sahiptir. Oluşan floresans ölçülmektedir. Kullanılan ışık kaynağı ksenon lamba olup, duyarlılığı UV/VIS dedektöre göre yaklaşık 103 kat fazladır.

1.5.4.4. İletkenlik Dedektörü:

İletkenlik ölçülmektedir. Daha çok anyon ve kation analizlerinde kullanılmaktadır. Sıcaklık kontrolü çok önemlidir bu sebeple kolon fırını içerisinde çalışılmalıdır. Kullanılan hareketli fazın iletkenliği ne denli düşük olursa oluşan gürültü de o denli düşük olmaktadır.

1.5.4.5. Refraktif İndeks Dedektörü:

Kırılma indisi ölçülmektedir. Sıcaklıktan etkilenmektedir. Örnek bileşenlerinin bulunduğu ortamda yoğunluk artacağından gelen ışık kırılarak hücreyi terk etmektedir. Işığın ölçülen kırılma oranından (kırılma indisi) kantitatif tayin yapılmaktadır.

1.5.4.6. Elektrokimyasal Dedektör:

Elektroaktif maddeler analizlenebilmektedir. Yani bileşenler, belirli potansiyel değerlerinde yükseltgenebilir veya indirgenebilir olmalıdır. Ölçülen fiziksel özellik tayin sırasında oluşan elektrik akımıdır.

1.5.4.7. Kütle Dedektörü:

Örnek bileşenlerine ait çok özgün kromatogramlar elde edilmektedir. Dolayısıyla özellikle kalitatif tayinlerde teşhis amaçlı kullanımlarda çok önemli bir dedektördür(Anonim, 2009).

1.6.Konserveler

1.6.1. Konserve Üretimi

Konserve, yiyeceklerin, besin özelliklerini kaybetmeden uzun süre saklanması için geliştirilen bir tekniktir. Et, sebze ve meyve gibi çabuk bozulabilen besinler, bu sayede uzun süre saklanabilmektedir.

Konserve yapılırken yiyeceklerin bozulmadan saklanması çok önemlidir. Bunu sağlamak için yapım aşamasında konserve içerisine giren mikroorganizmaların yok edilmesi gerekmektedir.

Konserve yapılırken uygulanan işlemler şunlardır:

- **Ön İşlem**

Seçme, sınıflandırma, ayıklama, yıkama, haşlama gibi işlemler yapılmaktadır.

- **Dolum**

Bu aşamada uygun kap türü seçilerek, ön işleminden geçirilen yiyecek, kaplara doldurulmaktadır. Üzerlerine belli bir seviyeye kadar, içerisinde yiyeceğin yapısını bozmayacak ve uzun süre dayanmasını sağlayan maddeler (şeker, tuz, sitrik asit vb.) bulunan dolgu sıvısı ilave edilmektedir. Dolgu sıvısı, konserve içerisindeki yiyeceklerin arasındaki boşluğu doldurduğu için hava oksijeninin oluşturacağı korozyonu önlemektedir.

- **Hava Çıkarma ve Kapama**

Konserve yapılırken dikkat edilmesi gereken en önemli aşamalardan birisidir. Bu aşamada uygun yöntemler kullanılarak kap içerisindeki bütün havanın çıkarılması gerekmektedir. Aksi takdirde havadaki oksijen, yiyeceklerin bozulmasına sebebiyet verebileceği gibi, metal kaplarda korozyon oluşturabilmektedir. Havaşı çıkarılan kap elle çalışan veya otomatik makinelerle kapatılmaktadır.

- **Isıl İşlem**

Bu aşamada, konserve hazırlanmasında veya yiyeceklerden geçen bakteri vb. mikroorganizmalar yok edilmektedir. Pastörizasyon ve sterilizasyon olmak üzere iki farklı yöntem uygulanmaktadır.

Pastörizasyon işlemi, ağızları kapatılmış konserve, ağzı açık su dolu bir kap içerisinde kaynarken bir süre bekletilip daha sonra soğumaya bırakılmasıyla gerçekleşmektedir.

Sterilizasyon işlemi ise basınçlı bir kap içerisinde, 100 °C üzerinde bir sıcaklıkta konserve bekletilmesiyle gerçekleşmektedir.

- **Soğutma ve Depolama**

Pastörizasyon ve sterilizasyon işleminden sonra konserve kademeli olarak soğutulmaktadır. Konserve çeşidine göre güneşsiz ve serin bir yerde saklanmaktadır (Anonim, 2007).

1.6.2. Konservelerde Kullanılan Kaplar

Önceleri konservelerde cam kavanozlar kullanılmaktaydı. 1810 yılından sonra teneke konserveler kullanılmaya başlamıştır. Cam ve teneke, konservelerde en çok kullanılan kap türleridir.

- **Teneke kaplar**

Konserve kaplar, karbonlu çelikten üretilmektedir. Ayrıca çeliğin yapısında Sn, Mn, Si ve P da kullanılmaktadır. Korozyondan korunması için çelik levhanın üzeri kalay ile kaplanmaktadır. Doğrudan gıda ile temas ettiği için kalayın, toksik madde içermemesi ve % 99.75 saflıkta olması gerekmektedir. Konservelerin kalaylanması elektrolit ve sıcak daldırma yöntemleri kullanılmaktadır. Sıcak yöntemde, asit ile temizlenen çelik levhalar, kalay banyosuna yatırılarak kalaylanmaktadır. Bu yöntemin maliyeti yüksek olmasına rağmen, korozyona dayanıklı konserva kaplar elde edilmektedir. Elektrolit yöntem, levhanın temizlenmesi, kalay kaplama, ısıtma ve yağ banyosundan geçirerek yüzeyin etkisizleştirilmesi gibi aşamalarla gerçekleşmektedir. Elektrolit yöntem kalaylamada daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kalay her ne kadar çeliğin korozyonunu önlemek için kullanılsa da korozyona çok dayanıklı bir metal değildir. Bu nedenle kalayın üzeri ayrıca "lak" tabakası ile kaplanmaktadır.

Laklar, sıcaklığa karşı dayanıklılıklarına göre termoplastik ve termosetting olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Termosetting laklar yüksek sıcaklıkta sterilize edilen et ve balık konservelerinde kullanılmaktadır. Termoplastik laklar ise, sıcaklık etkisi ile yumuşamaktadır.

Laklar içeriklerine göre yağ-reçine, sentetik ve su bazlı olarak da sınıflandırılabilir. Yağ-reçine (oleoresin) lakların bileşimi, keten tohumu yağı ile doğal veya sentetik reçinelerden oluşmaktadır. Katı madde miktarı fazla olduğu için ekonomiktir. Çinko oksit kullanılarak amino asitlerce zengin gıdaların konserva yapımında kullanılmaktadır. Ancak termoplastik yapıda oldukları için, ısıtma işlemlerinde sorun oluşturabilmektedir. Sentetik laklarda, fenolik, vinil ve epoksi reçinelerin değişik kombinasyonları kullanılmaktadır. Vinil grubu haricinde termosetting yapıdadırlar. Su bazlı laklar, diğer lakların yapısında bulunan organik maddelerin pahalı olması ve çevreye olan zararlarından dolayı yapılan çalışmaların sonucunda alternatif olarak

kullanılmaktadır. Özellikle içecek kutularının laklarında kullanılmaktadır. Konservelerde ise kullanılmamaktadır.

- **Cam kaplar**

Cam, kum, soda, kireç ve diğerk başka maddelerin 1500 °C' ye kadar ısıtılıp eritilmesiyle elde edilmektedir. Cam konservelerin korozyona uğramaması, iini gösterebilmesi, defalarca kullanılabilmesi, gaz ve UV ışığıny geçirmemesi olumlu özellikleridir. Ağır olması, ışık sebebiyle gıdada renk solması ve özellikle kırılabilir olmasından dolayı teneke konservelere göre daha az tercih edilmektedir (Anonim, 2012).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Lopez ve Valdez (2001), Meksika’da tüketilen konservelelerden sulu gıdalara geçen BFA ve BADGE miktarına sıcaklığın ve depolama süresinin etkisini araştırmışlardır. Son kullanma tarihin yaklaştıkça ton balığı konservelelerinde herhangi bir etki saptanamazken, biber konservelelerinde salınım artışı gözlenmiştir. Sıcaklık artışının konservelelerden gıdalara geçen BFA miktarını artırdığı sonucuna ulaşmışlardır. İnceledikleri örneklerde 0,6-83,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında bisfenol A ve 0.25-4.3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında BADGE tespit etmişlerdir.

Yoshida ve ark. (2001), Japonya’da tüketilen meyve ve sebze konservelelerindeki (mısır, mantar, portakal, şeftali, ananas, armut, kuşkonmaz) BFA salınımı üzerine çalışmışlardır. HPLC kullanılarak yapılan bu çalışma sonucunda meyve örneklerinde 10 ng g^{-1} ’den daha az, sebze örneklerinde ise 10 ng g^{-1} ile 95 ng g^{-1} arasında BFA bulmuşlardır. Depolama sırasında teneke kutulardan meyve ve sebze örneklerine bisfenol A’ nın göç ettiğini ileri sürmüşlerdir.

Kang ve Kondo (2002), Japonya’da teneke kutularda satışa sunulan kahve örneklerinin bisfenol A içeriklerini ve kafein konsantrasyonu ile teneke kutudan kahvelere geçen bisfenol A miktarları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Kafeinsiz kahve içerisinde 66.2 ng ml^{-1} , kafeinli kahve içerisinde ise, 84.0 ng ml^{-1} BFA bulmuşlardır. Kafeinin teneke kutulardan kahvelere BFA geçişi üzerinde etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Goodson ve ark. (2002), İngiltere’de satılan konserve yiyeceklerin içerisindeki bisfenol A ve bisfenol F varlığı ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. 62 tane konserve balık, sebze, meşrubat, çorba, meyve, makarna ve et ürünleri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda 38 numunede BFA bulmuşlar, BFF ise bulamamışlardır. Sebze ve meyve örneklerinde 0.010 – 0.048 mg kg^{-1} arasında, balık örneklerinde 0.011 – 0.044 mg kg^{-1} arasında, meşrubat örneklerinde $< 0.007 \text{ mg kg}^{-1}$, çorba örneklerinde 0.008 – 0.021 mg kg^{-1} arasında BFA tespit etmişlerdir. En yüksek BFA değerini ise et konservelelerinde (0.38 mg kg^{-1}) bulmuşlardır. GC-MS kullanılarak yapılan çalışmanın sonucunda buldukları tüm değerlerin İngiltere BFA salınım limitinin altında kaldığını belirtmişlerdir.

Kang ve ark. (2003), HPLC kullanarak Japonya’da yaptıkları çalışmada konservelerden gıdalara bisfenol A geçişini arttıran faktörleri incelemişlerdir. Bu amaçla 100 ml’ lik su örneklerini teneke kutulara koyup 105 ve 121 °C’de 15, 30, 60 dakika süre ile ısıtmışlardır. Süre ve sıcaklık arttıkça suya geçen bisfenol A miktarının da arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca glikoz (% 5, 10, 20’lik), tuz (% 1, 5, 10) ve bitkisel yağ (mısır, zeytin ve soya fasulyesi) örneklerini de teneke kutulara yerleştirdikten sonra 30 dakika süre ile 121 °C’ de ısıtmışlardır. Glikoz (8 ng ml⁻¹), tuz (10 ng ml⁻¹) ve bitkisel yağ (18 ng ml⁻¹) içeren örneklere su örneklerinden daha fazla miktarlarda bisfenol A geçtiğini tespit etmişlerdir.

Brede ve ark. (2003), polikarbonat bebek biberonlarının kaynatılması ve yıkanması sonrasında BPA salınımında artış olduğunu saptamışlardır. Çalışmada GC-MS kullanmışlardır. 20 farklı polikarbonat biberonu (hem eski, hem yeni) 100 °C’deki su ile doldurup, 1 saat süreyle bekletmişlerdir. Yeni biberonlardaki suya ortalama 0.18 µg l⁻¹, 51 kez yıkanmış biberonlara ortalama 7.0 µg l⁻¹ ve 169 kez yıkanmış biberonlara ise 5.6 µg l⁻¹ bisfenol A geçtiğini belirlemişlerdir. Kaynatma ve yıkama sonrasında BFA salınımında artış olduğu ve bunun da polimerin degradasyonundan kaynaklandığı sonucuna ulaşmışlardır.

Thomson ve Grounds (2005), Yeni Zenlanda’da tüketilen meyve, sebze, balık, çorba, salça ve içeceklerden oluşan 64 numunedeki bisfenol A miktarlarını incelemişlerdir. GC-MS kullanarak analizleri gerçekleştirmişlerdir. İnceledikleri gıdalarda ortalama 10 - 29 µg kg⁻¹ arasında BPA bulunduğunu ancak sırası ile ton balığı, mısır ve fındık kreması örneklerinde 109, 98 ve 191 µg kg⁻¹ BFA bulunduğunu belirtmişlerdir. Alkolsüz içeceklerde tespit edilebilir düzeyde BFA’ya rastlamamışlardır.

Braunrath ve ark. (2005), Avusturya’da tüketilen teneke kutulardaki içeceklere (kola, portakal suyu, limonata, enerji içeceği, bira) geçen BFA miktarlarını floresans dedektörlü HPLC kullanarak belirlemişlerdir. İçeceklerde 0.1 – 3.4 ng ml⁻¹ arasında bisfenol A saptamışlardır. Ayrıca, Almanya ve İtalya orijinli teneke kutularda satışa sunulan mısır, kuru fasulye, barbunya, mercimek ve domates salçası örneklerini incelemişlerdir. Bu örneklerde de, 8.5 – 35 ng g⁻¹ arasında BPA tespit etmişlerdir.

Gülnaz (2006), bisfenol A’nın biyolojik parçalanması, biyokonsantrasyon faktörleri ve östrojenik aktivite düzeylerinin belirlenmesi üzerine çalışmıştır. Çalışmada BFA

abiyotik olarak parçalanmadığından dolayı hormonal aktivitesinde değişme olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak bisfenol A'nın östrojenik aktivitesinin, *Aeromonas hydrophyla* ve *Chlorella vulgaris* ile biyolojik muamele sonucunda azaldığı ortaya konmuştur. Bu organizmaların atık su ve yüzey sularında bol bulunan organizmalar olduğu belirtilmiştir.

Sajiki ve ark. (2007), Japonya'daki marketlerde teneke kutularda satışa sunulan 48 tane (7 balık, 5 et, 16 meyve ve sebze, 18 çorba, 2 salça), plastik ambalajlı 23 tane (3 içecek, 5 çikolata, 4 çorba, 11 fast food) ve kağıt ambalajlı 16 tane (9 içecek, 5 süt ürünü, 2 fast food) numune içerisinde bulunan BFA miktarlarını incelemişlerdir. LC/ECD, LC/MS ve LC/MS/MS dedektörün kullanıldığı HPLC ile yapılan deneyler sonucunda; teneke kutularda bulunan yiyecekler içerisinde 0 - 842 ng g⁻¹ arasında, plastik kaplı yiyecekler içerisinde 0 -14 ng g⁻¹ arasında ve kağıt kaplamalı yiyecekler içerisinde 0 - 1 ng g⁻¹ arasında BFA saptamışlardır.

Grumetto ve ark. (2008), İtalya'daki marketlerde teneke kutularda satılan farklı markalardaki 42 adet domates salçasının bisfenol A içeriklerini incelemişlerdir. Analizleri ultraviyole (UV) ve floresans dedektörlü (FD) RP-HPLC ile gerçekleştirmişlerdir. İnceledikleri salça örneklerinde 21.4 ile 115.3 µg kg⁻¹ arasında BFA tespit etmişlerdir. Buldukları değerlerin Avrupa Birliği salınım limitinin (3 mg kg⁻¹) altında kaldığını belirtmişlerdir.

Cao ve ark. (2009), Kanada'daki marketlerden temin ettikleri alkolsüz içeceklerdeki (kola, diyet kola, enerji içeceği, buzlu çay, bira, soda, tonik, zencefilli gazoz) BFA miktarlarını GC-MS kullanarak tespit etmişlerdir. 72 tane numune üzerinde çalışmışlardır. Alkolsüz içeceklerde 0.032 ile 4.3 µg l⁻¹ arasında bisfenol A tespit etmişlerdir. Elde ettikleri verilerin Health Canada tarafından belirlenen alkolsüz içeceklerdeki maksimum değerin (4,5 µg l⁻¹) altında kaldığını ileri sürmüşlerdir.

Hadjmohammadi ve Saeidi (2010), İran'da tüketilen paket sütlerde bisfenol A tayinini yapmışlardır. Çalışmalarda katı faz ekstraksiyon (SPE) metodu kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, paket sütlerde bulunan bisfenol A seviyelerini 0.472-1.014 mg dm⁻³ arasında bulmuşlardır. Sütlerdeki bisfenol A analizi HPLC cihazı kullanılarak yapılmıştır. Taşıyıcı faz olarak metanol-su çözeltisinin kullanıldığı cihazda, UV detektör kullanılmıştır.

Rastkari ve ark. (2011), İran marketlerinde bulunan konservelerdeki bisfenol A ve bisfenol F miktarları üzerine çalışmışlardır. Bisfenol A ve bisfenol F maddelerinin konserve yapımında kullanıldığını fakat östrojenik aktivitelerinden dolayı ciddi bir tehdit unsuru olduklarını belirtmişlerdir. Farklı çeşitlerde (mısır, domates salçası, ton balığı, et) 48 konserve üzerinde çalışmışlardır. Ton balığı konservelerinde bisfenol A miktarı en fazla bulunmuştur. Analizlerde GC-MS cihazını kullanmışlardır. Bisfenol F'ye hiçbir numunede rastlamamışlardır. Bütün numunelerde BFA konsantrasyonunun ısıtma işleminden sonra arttığını saptamışlardır.

Castro ve ark. (2011), Meksika'da teneke kutularda satışa sunulan mısır, mantar, biber, bezelye ve garnitür örneklerindeki ve plastik kaplarda satışa sunulan yoğurt ve krema örneklerindeki bisfenol A miktarlarını incelemişlerdir. Sebze örneklerinde 10^{-5} ile $21.3 \times 10^{-3} \mu\text{g kg}^{-1}$ arasında, yoğurt örneklerinde ortalama $0.002 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA tespit etmişlerdir. Krema örneklerinde ise tespit edilebilir seviyede bisfenol A'ya rastlamamışlardır. Çalışmalarında GC-MS ve HPLC kullanmışlardır.

Şişe (2011), Afyonkarahisar ilinde yaşayan 100 anneye ait süt örneklerinde nonilfenol ve bisfenol A düzeylerini belirlemiştir. Ayrıca, annelerin demografik özellikleri, beslenme alışkanlıkları, temizlik ve kozmetik ürün kullanma faktörleri ile sütlerine geçen BFA miktarları arasındaki ilişkiyi de incelemiştir. BFA düzeylerini $0.36 - 16.34 \text{ ng ml}^{-1}$ arasında, nonilfenol düzeylerini ise, $0.04 - 47.5 \text{ ng ml}^{-1}$ arasında bulmuştur. BFA veya NF konsantrasyonları ile annelerin yaş, mesleki durum, eğitim durumu, gebelik sayısı arasında bir ilişki bulamamıştır. Ancak, süt ve süt ürünleri, yiyecekler ve kışlık malzemeler için plastik kap kullanan annelerde, besin saklama kaplarında plastik kullanılması ile BFA düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulmuştur.

Gyllenhammar ve ark. (2012), İsveç'te marketlerde satılan yiyecekler içerisindeki bisfenol A ve 4-nonilfenol varlığı ve bakıcı kadınların bu maddelere maruziyeti üzerinde çalışmışlardır. İsveç'te insanların bisfenol A ve NF ile temas etmesinin en büyük nedeninin tüketilen yiyeceklerden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Araştırmalar sonucunda BFA ve NF için günlük alım miktarları EFSA tarafından belirtilen limitlerin altında bulunmuştur. Uppsala bölgesindeki genç kızların kanlarında ölçülebilecek seviyede BFA ve NF saptanmıştır. Ayrıca üzerlerinde araştırma yapılan kadınların % 30' unun kan serum değerlerindeki BFA ve NF miktarları LOD değerlerinin ($0.5-0.8 \text{ ng g}^{-1}$ serum) üzerinde bulunmuştur.

Singh ve ark. (2012), bisfenol A'nın ve ftalatların sağlık ve genler üzerindeki benzer olan zararları üzerine çalışmışlardır. Bisfenol A ve 5 ftalatın (DEHP/MEHP/DBP/BBP/MBP) sırası ile 1932 ve 498 tane gen/protein ile etkileşimi bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca 89 tane gen/protein'e her ikisi de etkide bulunabilmektedir. 1232 tane gen ve protein üzerine BFA'nın etkisinin incelenmesi sonucunda, kalp, böbrek ve karaciğer üzerinde toksik bir etki oluşturabileceğini ve bisfenol A ve ftalatların, prostat, rahim, göğüs, yumurtalık ve genital bölge hastalıklarına sebep olabileceğini ortaya koymuşlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneyisel çalışmalar sırasında aşağıdaki kimyasal maddeler kullanılmıştır. Kimyasal maddeler kullanılmadan önce herhangi bir saflaştırma işleminden geçirilmemiştir. Kimyasal maddelerin adı, formülü, alındıkları firma ve katalog numaraları aşağıda verilmiştir.

<u>Kimyasal madde adı</u>	<u>Firma adı ve katalog numarası</u>
Bisfenol A ($C_{15}H_{16}O_2$)	Aldrich 23965-8
Asetonitril (CH_3CN)	Merck 100003
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Merck 106462
Disodyum hidrojenfosfat dihidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$)	Merck 106576
Sodyum dihidrojenfosfat ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)	Merck 106345
Potasyum hekzasiyanoferrat(II)trihidrat ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$)	Merck 104984
Çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)	Merck 108881
Bakır (II) sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	Merck 102787
Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$)	Merck 108087
Hidroklorik asit (HCl)	Merck 100314
Sakkaroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	Merck 107651
Potasyum kromat (K_2CrO_4)	Merck 104951
Gümüş nitrat ($AgNO_3$)	Merck 101510
Fenolftalein ($C_{20}H_{14}O_4$)	Merck 107227
Metilen mavisi ($C_{16}H_{18}N_3SCl$)	Merck 106045
Sodyum klorür (NaCl)	Merck 106400

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma süresince kullanılan cihazlar ve özellikleri aşağıda verilmiştir.

<u>Cihazın adı</u>	<u>Özellikleri (Marka/Model)</u>
HPLC	Shimadzu C196-E039A model
Ultra saf su cihazı	New Human Power I model
pH metre	İnoLab wtw serisi
Analitik terazi	Sartorius BL210S
Santrifüj cihazı	Hettich EBA 8 S
Isıtıcı	IKA RH basic 2

3.2. Yöntem

3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- a) Carez I çözeltisi: 0.35 M $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ 'ın sudaki çözeltisi hazırlandı.
- b) Carez II çözeltisi: 1 M $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ 'ın sudaki çözeltisi hazırlandı.
- c) Fehling I çözeltisi: 0.3 M $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 'ın sudaki çözeltisi hazırlandı.
- d) Fehling II çözeltisi: 346 g potasyum sodyum tartarat bir miktar saf suda çözüldü. 100g sodyum hidroksit bir miktar suda çözüldü. İki çözelti birbiri ile karıştırılıp 1 litrelik hacme saf su ile tamamlandı. 48 saat bekledikten sonra süzüldü.
- e) Stok invert şeker çözeltisi: 9.5 g sakkaroz bir miktar suda çözülerek 100 ml'lik balonjojeye aktarıldı. Üzerine 5 ml HCl eklenerek 100 ml'ye tamamlandı. Çözelti oda sıcaklığında 3 gün bekletildikten sonra 1 litrelik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar saf su eklendi.
- f) Standart invert şeker çözeltisi: Stok invert şeker çözeltisinden 50 ml alınarak 250 ml'lik balonjojeye aktarıldı. Üzerine 2 damla fenolftalein indikatörü eklenerek çok hafif pembe renk gözlenene kadar 5 N NaOH çözeltisi ile nötrale edildi ve hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlandı.
- g) NaOH: 0,1 N, 4 N, 5 N, 1 M NaOH'in sudaki çözeltileri hazırlandı.
- h) Fenolftalein: % 0.1'lik çözelti hazırlandı.
- i) Metilen mavisi: % 1'lik sulu metilen mavisi çözeltisi hazırlandı.

- j) HCl: Şişe üzerindeki özellikler kullanılarak (d: 1.19, % 37'lik) % 25'lik HCl çözeltisi hazırlandı.
- k) K_2CrO_4 : % 5'lik sudaki çözeltisi hazırlandı.
- l) $AgNO_3$: 0.1 N'lik sudaki çözeltisi hazırlandı.
- m) CH_3CN : % 10'luk ve % 40'lık sulu çözeltileri hazırlandı.
- n) Standart BFA çözeltileri: 100, 250, 500, 750, 1000 ppb asetonitril içerisindeki çözeltileri hazırlandı.

3.2.2. Örneklerin Alınması

Hatay'daki marketlerde iç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan süt, meyve suyu, krema, puding, ton balığı örneklerinden ve hem metal hem de cam kaplarda bulunan konserve bezelye, garnitür, mısır, domates salçası, biber salçası, turşu, mantar, fasulye örneklerinden oluşan toplam 75 örnek alınmıştır. Her bir konserve gıdadan 5 farklı marka alınmıştır. Konservelerin genellikle katı kısımları incelenmiştir.

3.2.3. Şeker Analizi

3.2.3.1. Faktör Tayini

Erlene Fehling I ve Fehling II çözeltilerinden 5 ml alınarak üzerine bir miktar saf su eklenmiştir. Bürette hazırlanan standart invert şeker çözeltisinden 15 mL erlene koyulup, erlen bek alevi üzerine koyulmuştur. Çözelti kaynamaya başladıktan sonra titrasyona başlanmıştır. Çözeltinin 3 dakika içinde kaynaması sağlanmıştır. Kaynamaya başladıktan 2 dakika sonra metilen mavisi eklenmiştir. Çözeltinin rengi mavi olmuş ve renk maviden kırmızıya döndüğü anda titrasyon sonlandırılmıştır.

3.2.3.2. Örneğin Hazırlanışı

25 mL örnek alınarak 250 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve üzerine 50 mL saf su eklenmiştir. Daha sonra durutma amacıyla 5 mL Carez I ve 5 mL Carez II

çözeltilerinden eklenerek iyice karıştırılmış ve hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır. 30 dakika bekledikten sonra 0.1 N NaOH, ortamın pH'ı 8 olana kadar eklenmiştir. Çözelti filtre edilerek berrak çözelti elde edilmiştir.

Berrak süzüntüden 50 mL alınarak 100 mL'lik balonjojeye koyulmuş ve üzerine % 25'lik hidroklorik asit (HCl) çözeltisinden 6 mL eklenmiştir. Çözelti içerisine termometre koyularak 70°C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Sık sık çalkalanarak sıcaklığın en fazla 3 dakikada 67 °C'ye gelmesi sağlanmıştır. 5 dakika aynı sıcaklıkta tutulmuş ve soğuk su altında hızlı bir şekilde soğutulmuştur. Çözeltiye 2 damla fenolftalein indikatörü konularak 4 N NaOH ile çok açık pembe renk olana kadar nötralize edilmiştir. Daha sonra hacim çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır.

Hazırlanan bu çözelti bürete doldurulup, erlene 5'er mL Fehling I ve Fehling II çözeltilerinden koyularak 3 dakika içerisinde kaynaması sağlanmıştır. Kaynamada 2 dakika dolmadan 3 damla metilen mavisi damlatılmış ve büretteki çözelti ile titre edilmiştir.

3.2.3.3. İnvert Şeker Tayini

$$\text{İnvert şeker (g/L)} = (V_2 \times F) / (V \times V_1)$$

V_1 : Alınan numune miktarı

V_2 : Seyreltilen hacim

V : Titrasyonda harcanan çözelti miktarı

F : Faktör (harcanan şeker çözeltisinin mL'sinde bulunan mg şeker ile harcanan çözelti hacminin çarpımı ile bulunmaktadır.)

3.2.4. Tuz Analizi

25 g örnek 100 mL saf su içerisinde çözülmüştür. 10 mL alınıp, üzerine % 5'lik potasyum kromat eklenmiştir. Kiremit kırmızısı renk meydana gelinceye kadar 0.1 N AgNO_3 çözeltisi ile titre edilmiştir. Salçanın kendi rengi ile dönüm noktasındaki renk aynı olduğundan, numune, oluşan kırmızı renk ayırt edilebilecek miktarda sulandırılmıştır.

$$\% \text{ Tuz (sodyum klorür olarak) } = 0.0585 \times V \times N \times F \times 100 / m$$

V: Harcanan AgNO₃ çözeltisi hacmi, mL

N: AgNO₃ çözeltisi normalitesi

F: AgNO₃ çözeltisinin faktörü

0,0585: NaCl' ün miliekivalan ağırlığı

m: numune miktarı, g

3.2.5. Bisfenol A Analizi

3.2.5.1. Sıvı Örneklerin Hazırlanması

Sıvı numunelerin sıcaklığı oda sıcaklığına getirildikten sonra filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Süzöntüden 5 mL alınıp, fosfat tamponu ile 1:1 seyreltilmiştir. pH 1 M NaOH ile 7 yapılmıştır. SPE kolonları 5 mL asetonitril:su (hacimce 10:90) ile yıkandıktan sonra, örnekler SPE kolonlarından geçirilmiştir. Kolonlar 4 mL asetonitril:su (hacimce 40:60) ile elüe edilmiştir. Elüatlar bisfenol A tayini için HPLC' ye verilmiştir.

3.2.5.2. Katı Örneklerin Hazırlanması

Katı numuneler oda sıcaklığına getirilip homojenize edildikten sonra 5 g katı örnek alınmıştır. Üzerlerine 5 mL asetonitril eklenmiştir. Santrifüj yapıldıktan sonra, sıvı kısım alınmıştır. Katı kısma 5 mL asetonitril eklenip süzölmüştür. Süzöntü ile bir önceki sıvı birleştirilip 1:10 oranında su ile seyreltilmiştir. SPE kolonları 5 mL asetonitril:su (hacimce 10:90) ile yıkandıktan sonra, örnekler SPE kolonlarından geçirilmiştir. Kolonlar 4 mL asetonitril:su (hacimce 40:60) ile elüe edilmiştir. Elüatlar bisfenol A tayini için HPLC' ye verilmiştir.

3.2.5.3. HPLC Analizi

HPLC çalışma koşulları aşağıdaki gibidir.

Akış hızı: 1 ml dk⁻¹

Kolon sıcaklığı: 40 °C

Dalga boyu: 220 nm

Enjeksiyon hacmi: 20µl

Analiz süresi: 15 dk.

Taşıyıcı faz: %40 asetonitril sulu çözeltisi

Dedektör: Diode Array Dedektör (DAD) SPD-M20A

Kolon: Inertsil ODS-3 5µm 4.6×250 mm

Pompa: Shimadzu prominence LC-2DAD SP

Sistem kontrol cihazı: Shimadzu prominence SCL-10A VP

Kolon fırını: Shimadzu prominence CTO-20A

Degazör: Shimadzu prominence DGU-20 A3

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Numunelerdeki Bisfenol A Derişimlerinin İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar

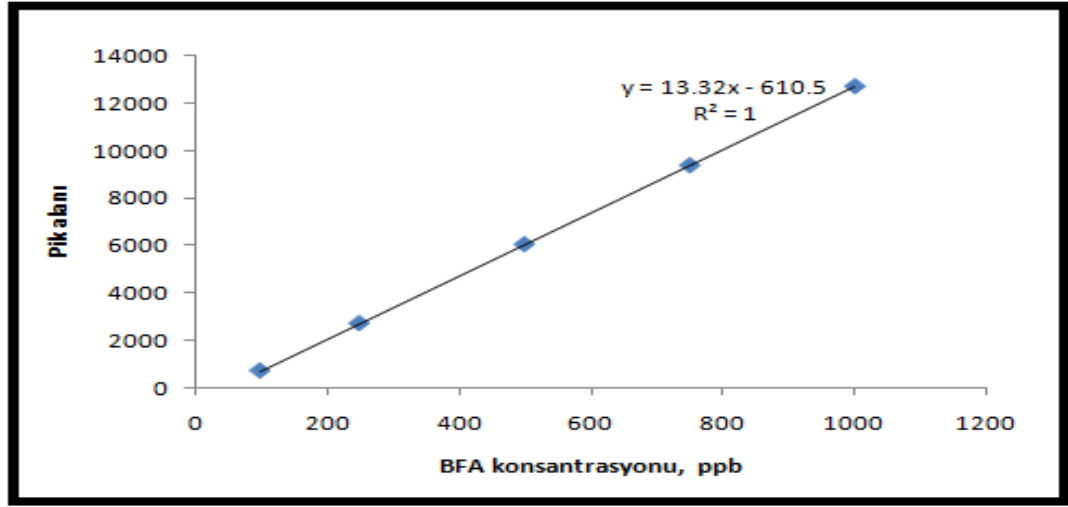
Solvent ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu basitliği ve geniş ölçüde uygulanabilirliği nedeniyle, katı ve sıvı örneklerden BFA'yı izole etmekte kullanılan en yaygın tekniklerdir.

Bisfenol A'nın analizi yapılırken uygun yöntemin seçilmesi, çalışmaların yürümesi açısından son derece önemlidir. Seçilen yöntemin hassasiyetinin yüksek olması gerekmektedir. Gıdalardaki BFA'nın belirlenmesinde LC/FL, LC/MS ve GC/MS kullanılmaktadır. LC/FL, konserve, bal, sebze, meyve ve balık örneklerinin analizinde, LC/MS ise tahıllar ve süt analizinde daha çok kullanılmaktadır. GC/MS, LC-MS'e göre daha kesin sonuç verirken, yağlı örneklerde analitik performansı düşmektedir. Yüksek hassasiyete sahiptir.

Bu çalışmada LC çeşidi olan HPLC yönteminin tercih edilmesinin nedeni;

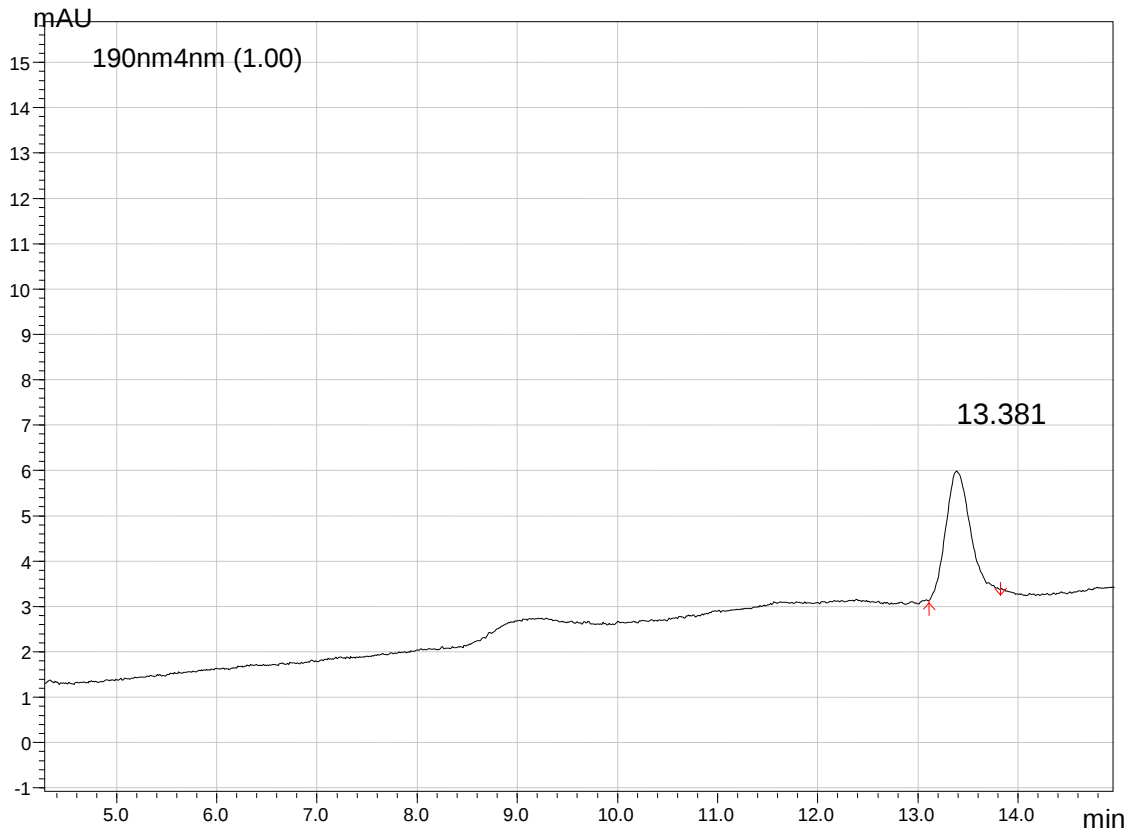
- İyi sonuç vermesi
- Analiz süresinin kısa olması
- Kolaylığı
- Düşük maliyetli olması
- Hızlı olması
- Kolay numune hazırlanmasıdır.

Tüm konserve numunelerindeki bisfenol A derişimlerini belirleyebilmek amacıyla standart bisfenol A çözeltileri kullanılarak elde edilen kalibrasyon doğrusu Şekil 4.1'de verilmiştir.

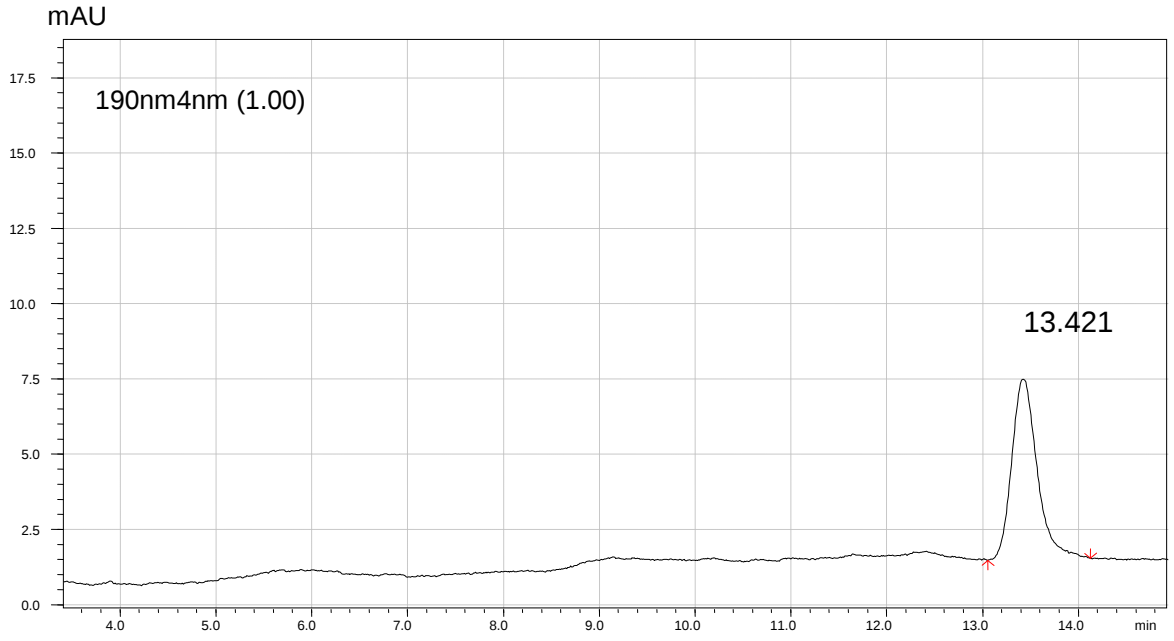


Şekil 4.1. Bisfenol A için kalibrasyon grafiği

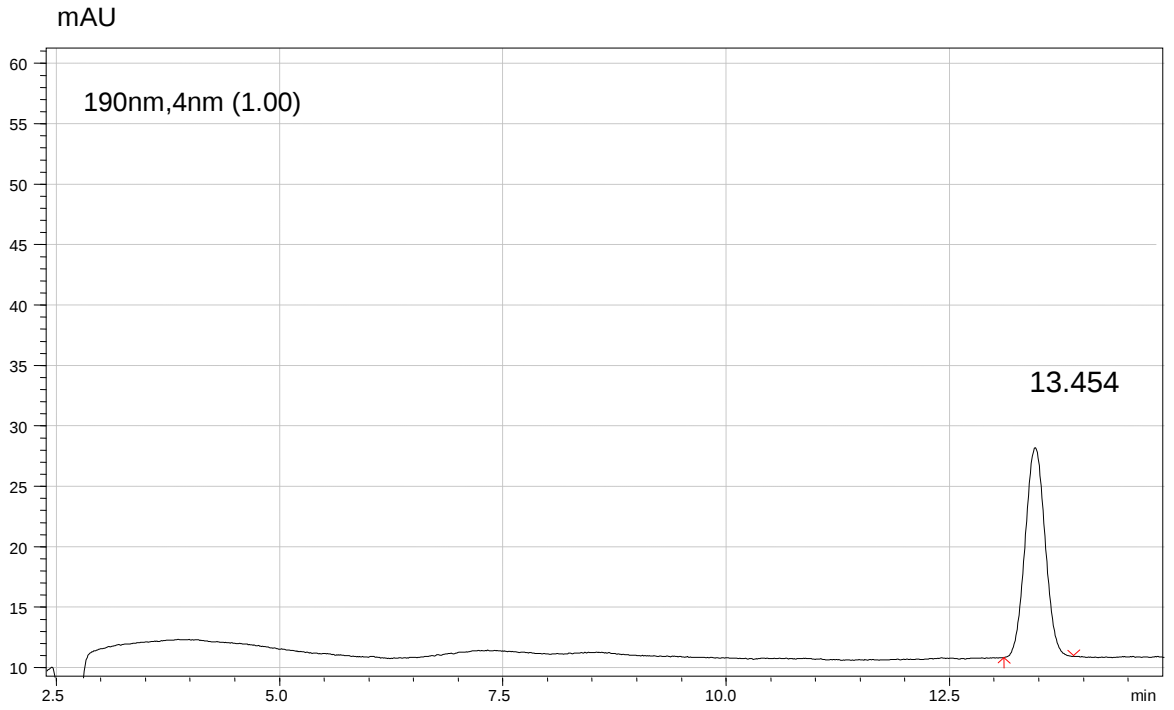
250, 500 ve 750 ppb standart BFA çözeltilerine ait kromatogramlar Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4' de verilmiştir.



Şekil 4.2. 250 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı



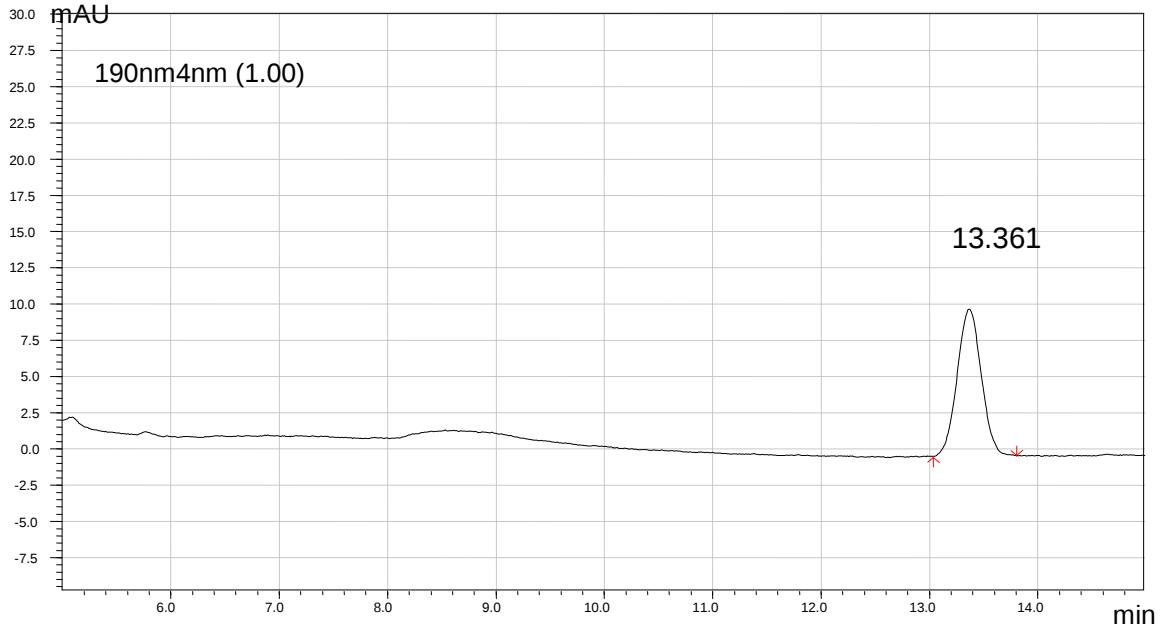
Şekil 4.3. 500 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı



Şekil 4.4. 1000 ppb standart BFA çözeltisi kromatogramı

4.2.Teneke Kutularda Satışa Sunulan Konservelerin BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Her bir numuneden 5 farklı marka alınarak, analiz edilen teneke kutulardaki konserve gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Ayrıca teneke kutuda satışa sunulan bezelye örneğine ait kromatogram Şekil 4.5’ te verilmiştir.



Şekil 4.5. Teneke kutuda satışa sunulan bezelye örneğine ait kromatogram

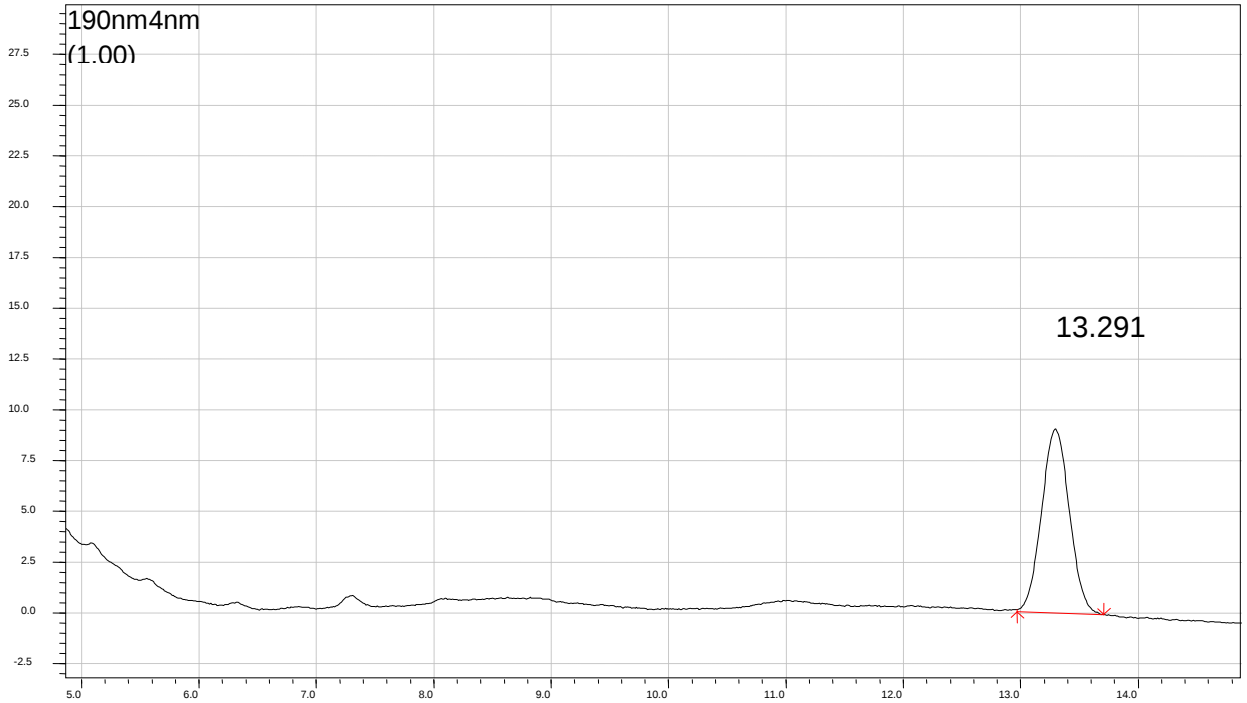
Çizelge 4.1. Teneke kutularda satışa sunulan konserve gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri (N=30)

Numune	Ortalama BFA Kons. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)(N=3)	Üretim Tarihi	Son Kullanma Tarihi
Mısır1	151.86 $\pm$ 1.58	Kasım 2011	Kasım 2014
Mısır2	171.72 $\pm$ 1.60	Eylül 2011	Eylül 2014
Mısır3	198.21 $\pm$ 1.72	Ekim 2011	Ekim 2013
Mısır4	223.19 $\pm$ 1.88	Temmuz 2011	Temmuz 2014
Mısır5	230.84 $\pm$ 1.90	Ağustos 2008	Ağustos 2011
Bezelye1	93.14 $\pm$ 1.38	Mayıs 2011	Mayıs 2014
Bezelye2	138.74 $\pm$ 1.50	Mayıs 2011	Mayıs 2014
Bezelye3	190.55 $\pm$ 1.70	Haziran 2011	Haziran 2014
Bezelye4	243.44 $\pm$ 1.93	Eylül 2010	Eylül 2013
Bezelye5	303.72 $\pm$ 2.06	Mayıs 2010	Mayıs 2013
Garnitür1	144.44 $\pm$ 1.52	Aralık 2011	Aralık 2013
Garnitür2	150.44 $\pm$ 1.58	Haziran 2009	Haziran 2012
Garnitür3	176.16 $\pm$ 1.62	Eylül 2011	Eylül 2014
Garnitür4	217.71 $\pm$ 1.86	Aralık 2011	Aralık 2014
Garnitür5	366.80 $\pm$ 2.18	Haziran 2009	Haziran 2012
Fasulye1	182.16 $\pm$ 1.69	Ekim 2010	Ekim 2013
Fasulye2	376.70 $\pm$ 2.20	Mart 2011	Mart 2014
Fasulye3	503.54 $\pm$ 3.14	Temmuz 2011	Temmuz 2014
Fasulye4	894.70 $\pm$ 4.58	Haziran 2011	Haziran 2014
Fasulye5	1858.71 $\pm$ 8.24	Nisan 2012	Nisan 2015
Ton balığı1	174.21 $\pm$ 1.62	Ağustos 2011	Ağustos 2016
Ton balığı2	180.81 $\pm$ 1.63	Aralık 2011	Aralık 2016
Ton balığı3	343.69 $\pm$ 2.06	Eylül 2011	Eylül 2016
Ton balığı4	376.40 $\pm$ 2.20	Aralık 2011	Aralık 2016
Ton balığı5	550.54 $\pm$ 3.26	Nisan 2010	Nisan 2015
Domates salçası1	55.71 $\pm$ 1.28	Eylül 2010	Eylül 2013
Domates salçası2	64.64 $\pm$ 1.33	Eylül 2010	Eylül 2013
Domates salçası3	82.26 $\pm$ 1.40	Mart 2011	Mart 2014
Domates salçası4	85.74 $\pm$ 1.44	Mayıs 2010	Mayıs 2012
Domates salçası5	109.71 $\pm$ 1.50	Ağustos 2009	Ağustos 2012

Teneke kutularda satışa sunulan mısır örneklerinde ortalama $195.16 \mu\text{g kg}^{-1}$, bezelye örneklerinde ortalama $193.92 \mu\text{g kg}^{-1}$, garnitür örneklerinde ortalama $211.11 \mu\text{g kg}^{-1}$, fasulye örneklerinde ortalama $763.16 \mu\text{g kg}^{-1}$, ton balığı örneklerinde ortalama $325.13 \mu\text{g kg}^{-1}$, domates salçası örneklerinde ise, ortalama $79.61 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En fazla bisfenol A'nın fasulye örneklerine geçtiği saptanmıştır. Çizelge 4.1'e bakıldığında, genellikle, son kullanma tarihi yaklaşan ürünlere daha çok BFA geçtiği, ancak bunu tüm ürünler için söylemenin mümkün olmadığı görülmektedir.

4.3. İç Yüzeyi Plastik Film ile Kaplı Kutularda Satışa Sunulan Gıdaların BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Her bir numuneden 5 farklı marka alınarak, analiz edilen karton kutulardaki gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Ayrıca meyve suyuna ait bir kromatogram Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan meyve suyuna ait kromatogram

Çizelge 4.2. İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri(N=20)

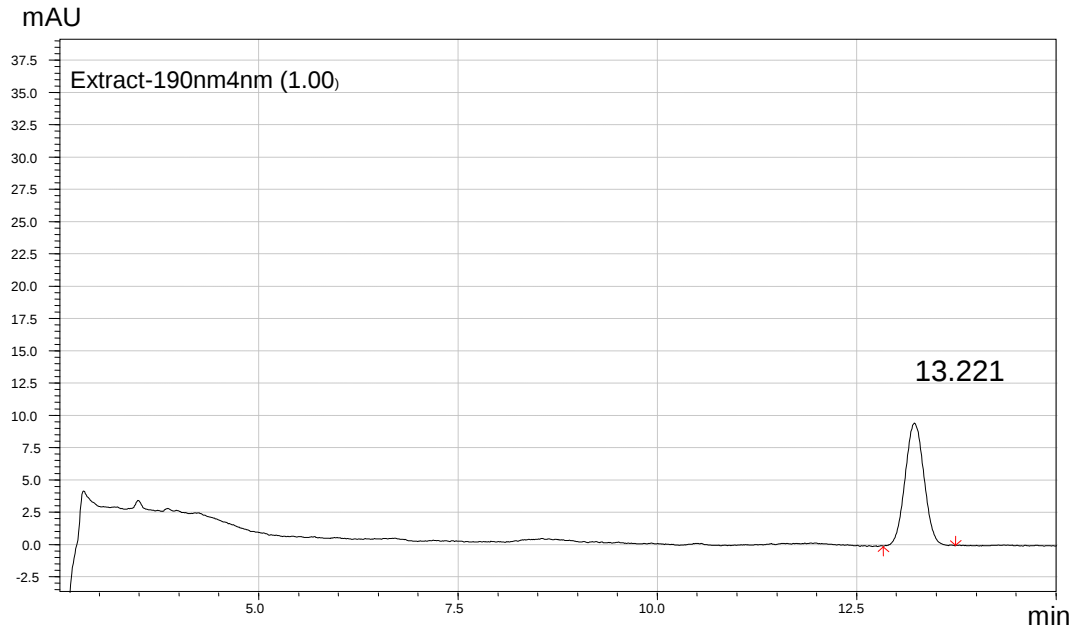
Numune	Ortalama BFA Kons. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)(N=3)	Üretim Tarihi	Son Kullanma Tarihi
Meyve suyu1	63.46 ± 1.33	Şubat 2012	Ağustos 2013
Meyve suyu 2	65.12 ± 1.34	Aralık 2011	Aralık 2012
Meyve suyu 3	68.56 ± 1.36	Ekim 2011	Mayıs 2013
Meyve suyu 4	80.09 ± 1.39	Ocak 2012	Temmuz 2013
Meyve suyu 5	82.55 ± 1.40	Aralık 2011	Haziran 2013
Süt1	88.76 ± 1.46	Ocak 2012	Haziran 2012
Süt2	110.46 ± 1.50	Eylül 2011	Mart 2012
Süt3	150.59 ± 1.58	Ekim 2011	Nisan 2012
Süt4	152.00 ± 1.58	Aralık 2011	Mayıs 2012
Süt5	156.22 ± 1.60	Mayıs 2011	Kasım 2012
Krema1	47.69 ± 1.03	Kasım 2011	Şubat 2012
Krema2	70.11 ± 1.36	Kasım 2011	Mart 2012
Krema3	72.51 ± 1.38	Kasım 2011	Mart 2012
Krema4	92.34 ± 1.48	Kasım 2011	Mart 2012
Krema5	112.26 ± 1.50	Kasım 2011	Mart 2012
Puding1	51.44 ± 1.06	Aralık 2011	Haziran 2012
Puding 2	86.54 ± 1.44	Kasım 2011	Mayıs 2012
Puding 3	156.06 ± 1.60	Ocak 2012	Temmuz 2012
Puding 4	346.55 ± 2.06	Ekim 2011	Nisan 2012
Puding5	554.69 ± 3.18	Kasım 2011	Mart 2012

İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan meyve suyu örneklerinde ortalama $71.96 \mu\text{g kg}^{-1}$, süt örneklerinde ortalama $131.61 \mu\text{g kg}^{-1}$, krema örneklerinde ortalama $78.98 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve puding örneklerinde ortalama $239.06 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En fazla BFA'nın puding örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde, bazı örneklerde son kullanma tarihi yaklaştıkça ürünlere geçen BFA miktarının arttığı, ancak teneke kutularda satışa sunulan örneklere benzer

şekilde, burada da tüm ürünler için bu genellenmenin yapılması mümkün görülmemektedir.

4.4. Cam Kavanozlarda Satışa Sunulan Konservelerin BFA İçerikleri ile İlgili Tartışmalar

Her bir numuneden 5 farklı marka alınarak, analiz edilen cam kavanozlardaki konserve gıdaların BFA içerikleri, üretim ve son kullanma tarihleri Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Ayrıca garnitür örneğine ait bir kromatogram Şekil 4.7’ de verilmiştir.



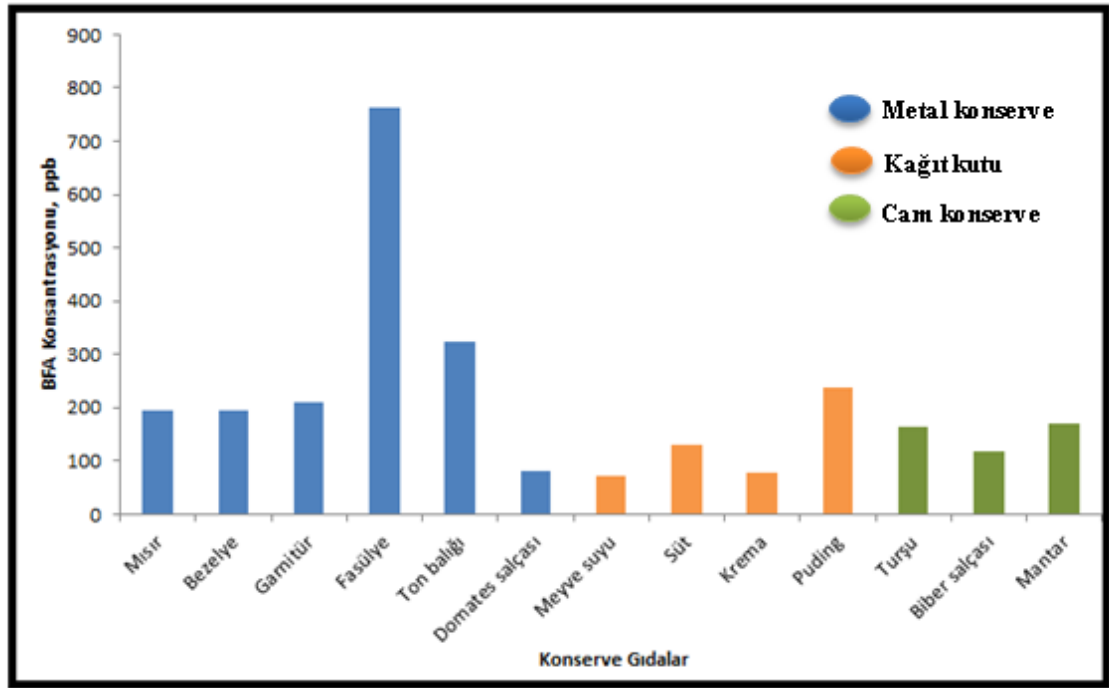
Şekil 4.7. Cam kavanozlarda satışa sunulan garnitür örneğine ait kromatogram

Çizelge 4.3. Cam Kavanozlarda Satışa Sunulan Konserve Gıdaların BFA İçerikleri, Üretim ve Son Kullanma Tarihleri (N=15)

Numune	Ortalama BFA Kons. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)(N=3)	Üretim Tarihi	Son Kullanma Tarihi
Turşu1	101.46 ± 1.50	Ağustos 2011	Ağustos 2014
Turşu2	111.89 ± 1.50	Ekim 2011	Ekim 2014
Turşu3	158.09 ± 1.61	Şubat 2011	Ağustos 2014
Turşu4	158.31 ± 1.61	Haziran 2009	Haziran 2012
Turşu5	290.76 ± 1.95	Ekim 2011	Haziran 2014
Biber salçası1	-----	Ekim 2010	Ekim 2012
Biber salçası2	-----	Ağustos 2010	Ağustos 2012
Biber salçası3	57.29 ± 1.28	Ekim 2011	Ekim 2014
Biber salçası4	-----	Kasım 2010	Kasım 2012
Biber salçası5	177.66 ± 1.62	Eylül 2011	Eylül 2014
Mantar1	43.94 ± 1.03	Ekim 2011	Ekim 2013
Mantar2	76.49 ± 1.39	Kasım 2011	Kasım 2013
Mantar3	121.79 ± 1.52	Aralık 2010	Aralık 2012
Mantar4	213.82 ± 1.86	Mayıs 2011	Mayıs 2014
Mantar5	399.21 ± 3.26	Mayıs 2011	Mayıs 2014

Cam kavanozlarda satışa sunulan turşu örneklerinde ortalama $164.10 \mu\text{g kg}^{-1}$, biber salçası örneklerinde ortalama $117.48 \mu\text{g kg}^{-1}$, mantar örneklerinde ise ortalama $171.05 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En fazla BFA mantar örneklerinde tespit edilmiştir. Çizelge 4.3'den görüleceği gibi, son kullanma tarihi ile numunelere geçen BFA miktarlarının artışı arasında bir ilişki saptanamamıştır.

Elde edilen sonuçları daha rahat karşılaştırabilmek amacıyla, incelenen tüm konserve gıdalara ait ortalama bisfenol A konsantrasyonları sütun grafiklerle Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.8. Konserve gıdalara ait ortalama bisfenol A konsantrasyonları

Şekil 4.8’den de görüleceği gibi, teneke kutularda satışa sunulan konserve gıdalara daha çok BFA geçişi olmuştur. Bununla birlikte, iç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda ve cam kavanozlarda satışa sunulan gıdalara da BFA geçişinin olduğu görülmektedir.

4.5. Tuz Miktarı ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar

Öncelikle, tuz içeren mısır, bezelye, garnitür, turşu, fasulye, mantar ve domates salçası örneklerinin içerdikleri tuz miktarları belirlenmiştir. Daha sonra, içerdikleri tuz miktarları ile konserve gıdalara geçen BFA miktarları arasındaki korelasyon incelenmiştir. İncelenen örneklerin BFA konsantrasyonları ve tuz içerikleri Çizelge 4.4’de, hesaplanan korelasyon katsayıları ve t değerleri ise Çizelge 4.5’de verilmiştir. Çizelge 4.5’den de görüleceği gibi, tüm örnekler için elde edilen korelasyon katsayıları 0.75’den büyüktür. Bu da, tuz miktarı ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında

kuvvetli bir korelasyonun olduğunu göstermektedir. Ayrıca, korelasyon katsayılarının anlamlılığı, t testi aracılığıyla test edilmiştir. Bütün korelasyon katsayıları için hesaplanan t değerleri, gerek % 95 güven seviyesi için tablodan belirlenen $t_{0.05} = 3.18$ değerinden, gerekse % 99 güven seviyesi için belirlenen $t_{0.01} = 5.84$ değerinden büyük bulunmuştur. Bu da, tüm konserve örnekleri için elde edilen korelasyon katsayılarının istatistiksel olarak anlamlı olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.4. İncelenen Örneklerin BFA Konsantrasyonları ve Tuz İçerikleri (N=35)

MISIR		BEZELYE		GARNİTÜR		TURŞU		FASULYE		MANTAR		DOMATES SALÇASI	
BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Tuz (% NaCl)
151.86	0.725	93.14	0.959	144.44	0.412	101.46	1.87	182.16	0.47	43.94	0.32	55.71	2.05
171.72	0.750	138.74	0.998	150.44	0.510	111.89	1.94	376.70	0.52	76.49	0.42	64.64	2.24
198.21	0.760	190.55	1.140	176.16	0.676	158.09	2.25	503.54	0.58	121.79	0.70	82.26	2.63
223.19	0.779	243.44	1.714	217.71	0.792	158.31	2.25	894.70	0.60	213.82	0.82	85.74	2.93
230.84	0.785	303.72	1.998	366.80	1.220	290.76	2.78	1858.71	0.87	399.21	1.36	109.71	3.80

Çizelge 4.5. Tuz İçeren Konserve Gıdalara Ait Korelasyon Katsayıları ve Hesaplanan t Değerleri (N=35)

Numune	Korelasyon Katsayısı	t_{hesaplanan}
Mısır	0.985	9.887
Bezelye	0.962	6.102
Garnitür	0.980	8.530
Turşu	0.988	11.079
Fasulye	0.986	10.240
Mantar	0.987	10.640
Domates Salçası	0.986	10.240

4.6. Şeker Miktarı ile Gıdalara Geçen BFA Miktarı Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar

Şeker içeren puding ve meyve suyu örneklerinin şeker miktarları belirlendikten sonra, içerdikleri şeker miktarları ile gıdalara geçen BFA miktarları arasındaki korelasyon incelenmiştir. İncelenen puding ve meyve suyu örneklerin BFA konsantrasyonları ve şeker içerikleri Çizelge 4.6’da, hesaplanan korelasyon katsayıları ve t değerleri ise Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çizelge 4.7’den de görüleceği gibi, hem puding hem de meyve suyu örnekleri için elde edilen korelasyon katsayıları 0.75’den büyüktür. Bu da, şeker miktarı ile gıdalara geçen BFA miktarı arasında kuvvetli bir korelasyonun olduğunu göstermektedir. Her iki örneğin korelasyon katsayıları için hesaplanan t değerleri de, gerek % 95 güven seviyesi için tablodan belirlenen $t_{0.05} = 3.18$ değerinden, gerekse % 99 güven seviyesi için belirlenen $t_{0.01} = 5.84$ değerinden büyük bulunmuştur. Bu da, tüm örnekler için elde edilen korelasyon katsayılarının istatistiksel olarak anlamlı olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.6. Konser Gıdaların BFA Konsatrasyonları ve Şeker İçerikleri (N=10)

Puding		Meyve Suyu	
BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Şeker (g l^{-1})	BFA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Şeker (g l^{-1})
51.44 $\pm$ 1.06	16.55	63.46 $\pm$ 1.33	5.48
86.54 $\pm$ 1.44	18.28	65.12 $\pm$ 1.34	6.83
156.06 $\pm$ 1.60	18.58	68.56 $\pm$ 1.36	8.00
346.55 $\pm$ 2.06	20.12	80.09 $\pm$ 1.39	19.00
554.69 $\pm$ 3.18	21.99	82.55 $\pm$ 1.40	21.00

Çizelge 4.7. Şeker İçeren Gıdalara Ait Korelasyon Katsayıları ve Hesaplanan t Değerleri (N=10)

Numune	Korelasyon Katsayısı	$t_{\text{hesaplanan}}$
Puding	0.968	6.681
Meyve Suyu	0.995	17.250

4.7.Ambalajın Cinsi ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar

Ambalajın cinsi ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında bir ilişkinin olup olmadığını anlamak amacıyla, aynı markalı, aynı konservelerin hem teneke hem de cam ambalajda olanları alınarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8’de gösterilmiştir. Çizelge 4.8’den de görüleceği gibi, teneke kutularda satışa sunulan konserve gıdalara, cam kavanozlarda satışa sunulan ürünlerden daha fazla BFA geçtiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Cam ve Teneke Ambalajlardaki Konserve Gıdaların BFA İçerikleri (N=8)

Numune	Ambalaj Cinsi	BFA Kons. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Bezelye	Cam	93.14 ± 1.38
Bezelye	Teneke	102.22 ± 1.50
Garnitür	Cam	54.00 ± 1.28
Garnitür	Teneke	366.8 ± 2.18
Domates salçası	Cam	64.64 ± 1.33
Domates salçası	Teneke	109.71 ± 1.50
Biber salçası	Cam	59.18 ± 1.28
Biber salçası	Teneke	177.66 ± 1.62

4.8. Son Kullanma Tarihi ile Konserve Gıdalara Geçen BFA Miktarı Arasındaki İlişkinin İncelenmesi ile İlgili Tartışmalar

Son kullanma tarihi ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında bir ilişkinin olup olmadığını anlamak amacıyla, aynı markalı, aynı konservelelerin son kullanma tarihleri farklı olanları alınarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9’da gösterilmiştir. Çizelge 4.9’dan da görüleceği gibi, son kullanma tarihi yaklaşan konserve gıdalara daha fazla BFA geçtiği saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Son Kullanma Tarihleri Farklı Konserve Gıdaların BFA İçerikleri (N=8)

Numune	Son Kullanma Tarihi	BFA Kons. ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Bezelye	Mayıs 2012	102.00 ± 1.50
Bezelye	Haziran 2014	93.14 ± 1.38
Garnitür	Şubat 2012	101.71 ± 1.50
Garnitür	Ekim 2014	----
Turşu	Ekim 2010	121.48 ± 1.52
Turşu	Ekim 2014	37.00 ± 1.26
Mantar	Ocak 2012	208.58 ± 1.85
Mantar	Mayıs 2014	153.79 ± 1.59

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İlk kez 1993’de Krishnan polikarbonat kaplardan otoklav sırasında bisfenol A’nın açığa çıktığını ve östrojen gibi davranarak meme kanseri hücrelerinin çoğalmasına yol açtığını ortaya koymuştur. Kısa bir süre sonra, bisfenol A doğal çevrede, içme sularında ve konserve kutulardaki yiyeceklerde de saptanmıştır (Biedermann ve ark., 1997). Bu küçük çaplı çalışmalar 1997 yılından itibaren yayınlanmaya başlamış ve bu konu üzerinde artan bir ilgiyle çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bisfenol A üzerinde yapılan çalışmalar, bisfenol A’nın nörokimyasal değişikliklere, üreme bozukluklarına, büyüme hızında değişikliklere, bağışıklık sisteminde bozukluklara neden olduğunu göstermiştir. İnsan sağlığı üzerinde negatif etkilere sahip oluşunun belirlenmesi ile, 1999’da Avrupa Sağlık Örgütü tarafından sağlık açısından zararlı kimyasallar arasına alınmıştır.

Yurtdışında, ambalajlardan gıdalara geçen sağlık açısından son derece zararlı endokrin bozucu bisfenol A ve bu endokrin bozucuların oluşturduğu hastalıklarla ilgili giderek artan çalışmalar yapılırken, ülkemizde bu konularda yapılmış iki çalışma bulunmaktadır (Er, 2010; Erkan ve ark., 2005). Bu iki çalışmada da sadece ton balıkları incelenmiştir. Bu zararlı maddelerin toksikliklerinin boyutu, ekonomi ve sağlık açısından getirdikleri olumsuzlukların düzeyi ancak yapılacak çalışmalarla belirlenebilecektir. Bu çalışmada, iç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan süt, meyve suyu, krema, puding, ton balığı örneklerinin ve hem metal hem de cam kaplarda bulunan konserve bezelye, garnitür, mısır, domates salçası, biber salçası, turşu, mantar, fasulye örneklerinin bisfenol A içerikleri HPLC aracılığıyla belirlenmiştir. Bu kapsamda, Türkiye’de gerçekleştirilen ilk çalışma olması nedeniyle büyük önem taşımaktadır.

Teneke kutularda satışa sunulan mısır örneklerinde ortalama $195.16 \mu\text{g kg}^{-1}$, bezelye örneklerinde ortalama $193.92 \mu\text{g kg}^{-1}$, garnitür örneklerinde ortalama $211.11 \mu\text{g kg}^{-1}$, fasulye örneklerinde ortalama $763.16 \mu\text{g kg}^{-1}$, ton balığı örneklerinde ortalama $325.13 \mu\text{g kg}^{-1}$, domates salçası örneklerinde ise, ortalama $79.61 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En

fazla bisfenol A'nın fasulye örneklerine, en az BFA'nın ise domates salçası örneklerine geçtiği saptanmıştır.

İç yüzeyi plastik film ile kaplı kutularda satışa sunulan meyve suyu örneklerinde ortalama $71.96 \mu\text{g kg}^{-1}$, süt örneklerinde ortalama $131.61 \mu\text{g kg}^{-1}$, krema örneklerinde ortalama $78.98 \mu\text{g kg}^{-1}$ ve puding örneklerinde ortalama $239.06 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En fazla BFA'nın puding örneklerinde, en az BFA'nın ise meyve suyu örneklerinde bulunduğu tespit edilmiştir.

Cam kavanozlarda satışa sunulan turşu örneklerinde ortalama $164.10 \mu\text{g kg}^{-1}$, biber salçası örneklerinde ortalama $117.48 \mu\text{g kg}^{-1}$, mantar örneklerinde ise ortalama $171.05 \mu\text{g kg}^{-1}$ BFA bulunmuştur. En fazla BFA mantar örneklerinde, en az BFA ise biber salçası örneklerinde tespit edilmiştir.

Gerek teneke, gerek karton ve gerekse cam ambalajlarda satışa sunulan gıdalara bisfenol A geçişinin olduğu, ancak teneke kutularda satışa sunulan ürünlere daha fazla bisfenol A'nın geçtiği belirlenmiştir.

Tuz ve şeker miktarı ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında bir ilişkinin olup olmadığı incelenmiştir. Bu amaçla, öncelikle tuz içeren gıdaların tuz miktarları, şeker içeren gıdaların şeker miktarları belirlenmiştir. Tuz içeren mısır, bezelye, garnitür, turşu, fasulye, mantar ve domates salçası örneklerinin tümünde, tuz miktarının artmasıyla BFA miktarının da arttığı görülmüştür. Benzer şekilde, şeker içeren puding ve meyve suyu örneklerinde de şeker miktarının artmasıyla BFA miktarının arttığı belirlenmiştir. Tuz miktarı ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasındaki korelasyon incelendiğinde, tüm örnekler için elde edilen korelasyon katsayıları $0.962 - 0.988$ arasında bulunduğu için, aralarında kuvvetli bir korelasyonun olduğu anlaşılmıştır. Benzer şekilde, şeker miktarı ile gıdalara geçen BFA miktarı arasındaki korelasyon incelendiğinde, tüm örnekler için elde edilen korelasyon katsayıları $0.968 - 0.995$ arasında bulunduğu için, aralarında kuvvetli bir korelasyonun olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, tüm örnekler için hesaplanan t değerlerinden, korelasyon katsayılarının istatistiksel olarak anlamlı oldukları saptanmıştır.

Ambalajın cinsi ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında bir ilişkinin olup olmadığını anlamak amacıyla, aynı markalı, aynı konservelelerin (bezelye, garnitür,

domates salçası, biber salçası) hem teneke hem de cam ambalajda olanları alınarak incelenmiştir. Teneke kutularda satışa sunulan konserve gıdalara, cam kavanozlarda satışa sunulan ürünlerden daha fazla BFA geçtiği belirlenmiştir.

Son kullanma tarihi ile konserve gıdalara geçen BFA miktarı arasında bir ilişkinin olup olmadığını anlamak amacıyla, aynı markalı, aynı konserve türleri (bezelye, garnitür, turşu, mantar) son kullanma tarihleri farklı olanları alınarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar son kullanma tarihi yaklaşan konserve gıdalara daha fazla BFA geçtiğini göstermiştir.

Türk Gıda Kodeksine göre, gıda maddeleri ile temas sonucu gıdalara geçebilecek maksimum bisfenol A dozu 0.6 mg kg^{-1} gıda olarak saptanmıştır. İncelenen örnekler içerisinde 2 adet fasulye konserve dışında (0.895 ve 1.859 mg kg^{-1}), tüm örneklerin BFA içeriği Türk Gıda Kodeksi limitinin altında bulunmuştur.

Avrupa Gıda Güvenliği Komitesi bisfenol A için vücuda alınabilecek maksimum dozu 0.01 mg kg^{-1} vücut ağırlığı / gün olarak belirlemiştir. Buna göre, yaklaşık 70 kg 'lık bir yetişkinin bir günde alabileceği maksimum doz 0.7 mg kg^{-1} 'dır. İncelenen konserve gıdalardan günde birkaç tanesini tüketen bir kişi bu dozu aşabilir. Bu da, konserve gıdaları çok fazla tüketmenin sağlık açısından bir risk yaratacağını göstermektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile ülkemizde özellikle son yıllarda oldukça fazla tüketilen bazı konserve gıdalardaki bisfenol A miktarları belirlenmiştir. Bu kimyasala maruz kalan hayvan ve insanların kan ve idrarlarındaki bisfenol A miktarlarının belirlenmesi de, endokrin bozucuların sebep olduğu hastalıklarla kan ve idrardaki BFA seviyesi arasındaki ilişkinin ortaya konması açısından önemli olacaktır. Bu çalışmanın, benzer çalışmaların yapılmasına ışık tutacağı ve bir örnek teşkil edeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akyüz, S., Yarat, A., Egil, E., 2011. Bisfenol-A içerkli dental materyallere güncel yaklaşım. **Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 1(3): 190-195.
- Anonim, 2007. Gıda teknolojisii sebze konservesi. **MEGEP**, 31s, Ankara.
- Anonim, 2012. Konserve üretim teknolojisi.
http://www.food.hacettepe.edu.tr/turkish/ouyeleri/gmu428/konserve_uretim_teknolojisi.pdf
- Anonim, 2009. Makromoleküllerin kromatografik yöntemle analizi
<http://www.belgeler.com/blg/2dvh/hplc-cihazı>.
- Anonymous, 2010. Joint FAO/WHO expert meeting to review toxicological and health aspects of bisphenol A. **FAO/WHO Expert Meeting**, 1–5 November 2010: 29-31, Ottawa.
- Biedermann, M., Bronz, M., Grob, K., Gfeller, H., Schmid, J. P., 1997. BADGE and its Accompanying Compounds in Canned Oily Food: Further Results. **Mitteilung aus dem Gebiete Lebensmittel Untersuchung und Hygiene**, 88: 277-292.
- Braunrath, R., Podlipna, D., Padlesak, S., Markl, M.C., 2005. Determination of bisphenol A in canned foods by immunoaffinity chromatography, HPLC, and fluorescence detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(23): 8911-8917.
- Brede, C., Fjeldal, P., Skjevrak, I., Herikstad, H., 2003. Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. **Food Additives and Contaminants**, 20(7): 684-689.
- Cao, X.L., Corriveau, J., Popovic, S., 2009. Levels of bisphenol A in canned soft drink products in Canadian markets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57 (4): 1307-1311.
- Cao, X.L., 2010. Chemistry and analytical methods for determination of bisphenol A in food and biological samples. **FAO/WHO Expert Meeting on Bisphenol A (BPA)**, 2-5 November 2010: 2-4, Ottawa.

- Castro, M.I.G., Serrano, M.F.O., Velasco, A.M.R., Rivero, E.M., Acevedo, L.G.O., Rodriguez, A.D.L., 2011. Phthalates and bisphenols migration in Mexican food cans and plastic food containers. **Bull Environ Contam Toxicol**, 86: 627-631.
- Coşkun, B., Hancı, T.Ö., Kabdaşlı, I., Tünay, O., 2011. Endokrin bozucu dimetil fitalatın elektrokoagülasyon ve elektrokoagülasyon/fenton prosesleri ile arıtımı. **İTÜ Dergisi**, 21(2): 3-12.
- Çek, Ş., Sarıhan, F., 2010. Endokrin sistemi bozan kimyasallardan cinsiyet steroidlerinin balıklardaki etkileri. **Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi**, 27(1): 41-46.
- Er, B., Sarımehtetoğlu, B., 2011. Gıdalarda bisfenol A varlığının değerlendirilmesi. **Veteriner Hekim Derneği Dergisi**, 82(1): 69-74.
- Erkan, N., Hele, N., Özden, O., 2005. Determination of Bisphenol A Diglycidyl Ether (BADGE) in Canned Fish in Oil from the Turkish Market. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 101(7): 301-305.
- Gomez, A.B., Rubio, S., Bendito, D.P., 2009. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. **Journal of Chromatography A**, 1216: 449-469.
- Goodson, A., Summerfield, W., Cooper, I., 2002. Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. **Food Additives and Contaminants**, 19(8): 796-802.
- Grumetto, L., Montesano, D., Seccia S., Albrizio, S., Barbato, F., 2008. Determination of bisphenol A and bisphenol B residues in canned peeled tomatoes by reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56(22): 10633-10637.
- Gülnaz, O., 2006. Bisfenol A'nın biyolojik parçalanması, biyokonsantrasyon faktörleri ve östrojenik aktivite düzeylerinin belirlenmesi. **Doktora Tezi**, Çukurova Üniversitesi, 117s, Adana.
- Gyllenhammar, I., Glynn, A., Darnerud, P.O., Lignell, S., Delft, R.V., Aune, M., 2012. 4-nonylphenol and bisphenol A in Swedish food and exposure in Swedish nursing women. **Environment International**, 43: 21-28.
- Hadjmohammadi, M.R., Saedi, I., 2010. Determination of bisphenol A in Iranian packaged milk by solid-phase extraction and HPLC. **Monatsh Chem**, 141:501-506.

- Kang, J.H., Kondo, F., 2002. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. **Food Additives and Contaminants**, 19 (9): 886-890.
- Kang, J.H., Kito, K., Kondo, F., 2003. Factors influencing the migration of bisphenol A from cans. **Journal of Food Protection**, 66 (8): 1444-1447.
- Lopez, E.M.M., Valdez, H.S., 2001. Effect of heat processing and storage time on migration of bisphenol A (BPA) and bisphenol A-diglycidyl ether (BADGE) to aqueous food simulant from Mexican can coatings. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49(8): 3666-3671.
- Muncke, J., 2010. Gıda ambalajı ve sağlık: gıda ile temas eden madde ve malzemelerin içerdiği bisfenol A, ftalatlar ve diğer kimyasallardaki son gelişmeler. **Anadolu Cam Gıda Ambalajındaki Etkileşimler Toplantısı**, 3 Mayıs 2010: 1-7.
- Neild, K., 2008. Bisfenol A. uhaweb.hartford.edu/neild/Bisphenol%20A.doc
- Orhunbilge, N., 1996. Uygulamalı regresyon ve kolerasyon analizi. İstanbul Üniversitesi İşletme Fakültesi: 267-276, İstanbul
- Ormancı, F.S.B., 2007. Süt ürünlerinin ambalajlanmasında pvc malzemenin kullanımı ve Migrasyon. **Gıda**, 32(4): 187-193.
- Rastkari, N., Yunesian, M., Ahmadkhaniha, R., 2011. Levels of bisphenol A and bisphenol F in canned foods in Iranian markets. **Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering**, 8(1): 95-100.
- Sajiki, J., Miyamoto, F., Fukata, H., Mori, C., Yonekubo, J., Hayakawa, K., 2007. Bisphenol A (BPA) and its source in foods in Japanese markets. **Food Additives and Contaminants**, 24(1): 103-112.
- Singh S., Li, S.S.L., 2012. Bisphenol A and phthalates exhibit similar toxicogenomics and health effects. **Gene**, 494: 85-91.
- Şişe, Ş., 2011. Anne sütünde nonilfenol ve bisfenol A düzeylerinin belirlenmesi. **Doktora Tezi**, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 102s, Afyon.
- Thomson, B.M., Grounds, P.R., 2005. Bisphenol A in canned foods in New Zealand: an exposure assessment. **Food Additives and Contaminants**, 22(1): 65-72.
- Yeşilkaya, E., 2008. Endokrin bozucular. **Güncel Pediatri**, 6: 76-82.

Yoshida, T., Horie M., Hoshino, Y., Nakazawa H., 2001. Determination of Bisphenol A in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. **Food Additives and Contaminants**, 18 (1): 69-75.

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde büyük katkısı olan, çalışmam boyunca her türlü maddi ve manevi yardımlarını içtenlikle esirgemeyen, birikimleriyle bana yol gösteren Danışman Hocam Prof. Dr. Şana Sungur'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca MKÜFAM imkânlarından yararlanmamı sağlayan her türlü yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Veli UYGUR ve Yüksek Kimyager Abdo Özkan'a, deneylerimin yapılması sırasında desteklerini esirgemeyen Yusuf KILBOZ, Selvin USTABAŞ, Hasan ARSLANER, Ramazan OKUR ve Muhammet DEMİREL'e teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Mustafa Kemal Üniversitesi Kimya Bölümü öğrencilerine teşekkürlerimi belirtirim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesindeki maddi katkılarından dolayı M.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca hep yanımda olan ve beni destekleyen annem, babam ve ağabeylerime teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Hatay'ın Hassa ilçesinde doğdum. İlkokul, ortaokul ve liseyi Erzurum'da okudum. 2003 yılında girmiş olduğum Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nü 2010 yılında bitirdim. 2010 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Bölümü Yüksek Lisans Programına yerleştim.