



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TERMAL KÂĞITLARDAKİ BİSFENOL A’NIN BELİRLENMESİ VE
İNSANLARA GEÇEN MİKTARININ TEORİK OLARAK
HESAPLANMASI**

FİDAN KENAN

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
AĞUSTOS-2019



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TERMAL KÂĞITLARDAKİ BİSFENOL A’NIN BELİRLENMESİ VE
İNSANLARA GEÇEN MİKTARININ TEORİK OLARAK
HESAPLANMASI**

FİDAN KENAN

**KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
AĞUSTOS-2019**

29.08.2019

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

FİDAN KENAN

ÖZET

TERMAL KÂĞITLARDAN İNSANLARA GEÇEN BİSFENOL A SEVİYELERİNİN İNCELENMESİ

Bisfenol A (BPA) bir 'ksenöstrojen' olup endokrin fonksiyonel bozukluk oluşturan (endokrin bozucu) bir bileşiktir. Başlangıçta BPA çevresel zayıf bir östrojen olarak kabul edilmiştir. Sonraki çalışmalarda ise BPA'nın çok düşük konsantrasyonlar da bile (pikomol, nanomol) nukleus dışındaki reseptörlere bağlanarak doku ve hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını çok yönlü etkileyen özellikleri olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, toplum sağlığı açısından son derece zararlı olduğu düşünülen termal kağıtlardaki bisfenol A'nın (BPA) kantitatif olarak tayini için kesin ve hassas bir yöntem geliştirilmiştir. BPA termal kağıtlardan asetonyitril-su karışımı ile ekstrakte edilmiştir. BPA'nın ekstraksiyon verimi üzerine organik çözücü konsantrasyonunun, pH'nin, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin etkileri incelenmiştir. Optimize edilen koşullar altında (asetonyitril:su oranı 40:60, pH=7, 60 °C'de, 8 saat), geliştirilen metot beş farklı tipteki termal kağıttan (kasa fişi, POS cihazı fişi, hastane barkodu, ATM fişi, uçak bileti) BPA'nın ekstrakte edilmesi amacıyla uygulanmış ve BPA konsantrasyonları saptanmıştır. Termal kağıtların ortalama BPA içerikleri 8.91 – 10.27 mg g⁻¹ arasında tespit edilmiştir.

2019,28 sayfa

Anahtar Kelimeler: Termal Kağıt, Bisfenol A (BPA), Ekstraksiyon, HPLC

ABSTRACT

INVESTIGATION OF BISPHENOL A LEVELS TRANSFORMED FROM THERMAL PAPERS TO PEOPLE

Bisphenol A (BPA) is a endo xenoestrogen tir which is an endocrine disrupting compound. Initially BPA was considered an environmentally weak estrogen. Subsequent studies have shown that BPA can bind to receptors other than the nucleus, even at very low concentrations (picomol, nanomol), and have multiple effects on the physiological functions of tissues and cells.

In this study, a precise and sensitive method has been developed for the quantitative determination of bisphenol A (BPA) in thermal papers, which is considered to be extremely harmful to public health. BPA was extracted from thermal papers with acetonitrile-water mixture. The effects of organic solvent concentration, pH, extraction temperature and time on the extraction efficiency of BPA were investigated. Under optimized conditions (acetonitrile: water ratio 40:60, pH = 7, 60 °C, 8 hours), the developed method consists of five different types of thermal paper (cashier receipt, POS device receipt, hospital barcode, ATM receipt, air ticket) BPA was used for extraction and BPA concentrations were determined. The average BPA contents of the thermal papers were between 8.91 and 10.27 mg g⁻¹.

2019,28 pages

Keywords: Thermal paper, Bisphenol A (BPA), Extraction, HPLC

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Prof. Dr. Şana SUNGUR'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Tez Çalışmamda ve her konuda desteğini esirgemeyen, sabırla bana yardımcı olan, çok sevdiğim eşim Erdi KENAN'a teşekkür ederim.

Ve son olarak çalışmamda desteğini ve bana olan güvenini benden esirgemeyen ve beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1.GİRİŞ	1
1.1.Endokrin Bozucular.....	1
1.1.1.Endokrin Bozucu Kimyasalların Sınıflandırılması	1
1.1.2.Endokrin Bozucu Kimyasalların Sağlık Üzerine Etkileri	2
1.2.Bisfenol A.....	3
1.2.1.Bisfenol A'nın Üretimi ve Kullanım Alanları.....	3
1.2.2.Bisfenol A'nın Vücuda Alınması ve Sağlık Üzerine Etkileri.....	4
1.2.3.Bisfenol A'nın Yasal Sınır Değerleri.....	5
1.3.Termal Kağıtlar.....	6
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	8
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1.Materyal.....	12
3.1.1.Kullanılan Kimyasallar Maddeler	12
3.1.2.Kullanılan Cihazlar.....	12
3.2.Yöntem	13
3.2.1.Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	13
3.2.2.Örnek Numuellerin Alınması	13
3.3.Örneklerin Analizi	13
3.3.1.Termal Kağıtlardan BPA Ekstraksiyonu	13
3.3.2.Bisfenol A Analizi.....	14
4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	15
4.1.HPLC Cihazına Ait Kalibrasyon Verileri	15
4.2.Gözlenebilme Sınırı, Belirlenebilme Sınırı, BPA Pikinin Alıkonma Sürelerinin Belirlenmesi	15
4.3.BPA'nın Ekstraksiyon Verimini Etkileyen Faktörler	17
4.3.1.BPA'nın Ekstraksiyon Üzerine Organik Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi.....	17
4.3.2.BPA Ekstraksiyon Üzerine,Ekstraksiyon Sıcaklığı ve Süresinin Etkisi.....	18
4.3.3.BPA Ekstraksiyon Üzerine pH'ın Etkisi	20
4.4.Termal Kağıtların BPA İçerikleri	21
4.5.Termal Kağıtlardan İnsanlara Geçen BPA Miktarlarının Teorik Olarak Hesaplanması.....	22
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	24
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bisfenol A'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	3
Çizelge 3.1. Kimyasal maddelerin adı, Formülü, alındıkları firma ve katalog numaraları.	12
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar ve özellikleri.....	12
Çizelge 4.1. BPA için LOD, LOQ ve korelasyon katsayısı değerleri	16
Çizelge 4.2. BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi.....	17
Çizelge 4.3. BPA ekstraksiyonu üzerine sıcaklığın etkisi	19
Çizelge 4.4. BPA ekstraksiyonu üzerine sürenin etkisi	19
Çizelge 4.5. BPA ekstraksiyonu üzerine pH'nin etkisi	20
Çizelge 4.6. Termal kağıtların BPA içerikleri	22
Çizelge 4.7. Tahmini günlük alım miktarları.....	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.3. Termal kağıtların aktivasyonu	7
Şekil 4.1. Bisfenol A için kalibrasyon grafiği	15
Şekil 4.2. 50 mg/ml’lik BPA standardına ait kromatogram	16
Şekil 4.3. BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi	18
Şekil 4.4. BPA ekstraksiyonu üzerine sıcaklığın etkisi.....	19
Şekil 4.5. BPA ekstraksiyonu üzerine sürenin etkisi	20
Şekil 4.6. BPA ekstraksiyonu üzerine pH’ın etkisi	21



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BPA	: Bisfenol A
EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
POS	: Satış Noktaları Terminali
ATM	: Bankamatik
DES	: Dietilstilbesterol
DM	: Diyabetik Melitus
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
TDI	: günlük alım miktarı
HPLC	: Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
LOD	: Gözlenebilme sınırı
LOQ	: Tayin sınırı

1. GİRİŞ

1.1.Endokrin Bozucular

1996 yılında İngiltere’de yapılan Weybridge konferansında, endokrin bozucu bileşikler “Endokrin bozucu, endokrin fonksiyonunda değişikliklere sebep olarak organizmada ve aynı zamanda organizmanın yavrularında istenmeyen etkenlere sebep olan ekzojen bir maddedir. Potansiyel bir endokrin bozucu, organizmada endokrin sistemde bozulmaya sebep olması beklenen özellikler gösteren maddedir” şeklinde tanımlanmıştır. Bu kimyasallar, günlük yaşamda kullandığımız plastik şişeler, deterjanlar, oyuncaklar, metal yiyecek kutuları, yiyecekler, termal kâğıtlar ve kozmetik ürünlerde bulunmaktadır. Bu kimyasallar, östrojenlere benzeyen etkilere sahip olduklarından dolayı çevresel östrojen olarak da kabul görmüşlerdir. Vücuda girdiğinde hormonları taklit edip üreme sistemini etkileyen çevresel östrojenlerin doğada hemen hemen birçok hayvan çeşitlerinde (bazı balıklarda, memelilerde ve kuşlarda) cinsiyet bozukluklarına, sperm sayılarında eksilmeye, cinsiyetsiz doğumlara, erkek organizmalarda dişilik, dişi organizmalarda erkeklik özelliklerinin artmasına sebep oldukları yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Canlıların çevresel östrojene temas ettikleri dönemde aldıkları miktar ve zaman, ortaya çıkacak hastalıkların boyutunda önemli derecede rol oynamaktadır. Endokrin bozucu kimyasalların vücuttaki yarılanma ömürleri uzundur. Bu yüzden düşük dozda bile vücutta önemli etkileri olduğu tespit edilmiştir. En önemli endokrin bozucu kimyasalların başında Bisfenol A gelmektedir. 1936’dan beri östrojenik etkileri tespit edilmiş ve bilinmektedir (Gökerik, 2012).

1.1.1. Endokrin Bozucu Kimyasalların Sınıflandırılması

Endokrin bozucu kimyasallar doğal, sentetik ve çevresel endokrin bozucular olmak üzere üçe ayrılırlar. Doğal endokrin bozucular, östrojen, testosteron gibi doğal hormon yapısındaki maddelerdir. Sentetik olanlar, endokrin sistemi düzenlemek amacıyla üretilen doğum kontrol ilaçları, hormon ilaçları, bazı hayvansal besin katkı maddeleridir. Çevresel endokrin bozucular ise, endüstride kullanılmak üzere üretilen kimyasallardan oluşmaktadır (Çetinkaya, 2009).

1.1.2. Endokrin Bozucu Kimyasalların Sağlık Üzerindeki Etkileri

Endokrin bozucuların sağlık üzerine etkileri daha çok üreme sistemi ve tiroit fonksiyonunda olmaktadır. Günlük yaşamımızda tarımda, endüstride, evlerde kullanılan pek çok madde endokrin bozucu içermektedir (Gökerik, 2012).

Endokrin bozucular kadınlarda erken/geç puberteye, polikistik over sendromuna, kısırlılığa, rahim tümörlerine, doğurganlığın azalmasına, erken over yetmezliğine, meme tümörlerine, gebelik komplikasyonlarına ve endometriyal tümörlere sebep olabilmektedir. Erkek üreme sistemlerinde ise, endokrin bozucuların etkileri ile ilgili çalışmalar sperm kalitesinde düşüşe, kısırlılığa, ürogenital abnormalitelere ve testiküler germ hücreli tümörlere neden olabildiğini göstermektedir (Aksan ve Özdemir, 2016).

Fizyolojik ve psikolojik gelişim ve sağlık açısından tiroid hormon seviyelerinin normal olması önemlidir. Endokrin bozucu kimyasallar tiroid hormonunun transfer edildiği hücre yüzeyindeki membran proteinlerine bağlanırlar. Bu yüzden tiroid hormonunun biyoyararlılığını azaltırlar. Endokrin bozucuların tiotropin düzeyini, tiroit volümünü, tiroit antikor düzeyini etkilediği yönünde çalışmalar da bulunmaktadır (Yeşilkaya, 2008).

Yüksek dioksin düzeyi Diabetes Mellitus (DM) riskini yükseltmekte ve glukoz metabolizmasını bozmaktadır. Endokrin bozuculara uzun süre temasın insülin direncini artırdığı gözlenmiştir. Bu da DM gelişimini yükselten bir faktördür. Düşük doz Bisfenol A ve DES'in pankreatik alfa hücrelerini ve devamında glukagon sekresyonunu etkilediği gözlenmiştir (Gökerik, 2012).

Prostat kanseri erkeklerde sıkça görülmektedir. Steroidlerin prostat kanserinin nüksetmesine ve ilerlemesine sebep olduğu bilinmektedir. Genetik yapı, diyet, çevresel etkiler prostat kanser riskini etkilemektedir. Bir endokrin bozucu kimyasal olan izoflavondan zengin diyetlerin prostat kanserinin ilerlemesine neden olabileceği bildirilmiştir. Prostat kanseri çiftçilerde daha çok görülmektedir. Bu olay pestisitlere daha çok temas etmelerinden kaynaklanmaktadır (Gökerik, 2012).

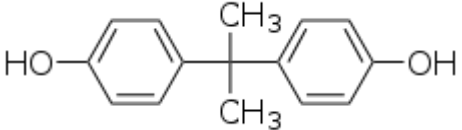
Bisfenol A, polikarbonat plastiklerinin içerisinde ve özellikle de yiyecek, içecek kaplarında ve dış malzemelerinde, termal kâğıtların yapısında bulunan ve östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik etki gösteren bir kimyasal maddedir. İntrauterin Bisfenol A'ya maruz kalan erkek farelerde prostat büyümesi, epididim ağırlığının

düşmesi ve anogenital bozuklukların belirgin olarak yükseldiği ve teması olan dişi farelerin overlerinde yumurta sayısının düştüğü ispat edilmiştir. Bisfenol A'nın, dişi farelerde endometrium epitel hücrelerinin artmasına, overlerde değişikliklere ve uterus ağırlığında yükselmeye neden olduğu tespit edilmiştir (Gökerik, 2012).

1.2. Bisfenol A (BPA)

Bisfenol A (2,2-bis(4-hidroksifenil)propan), iki fenol ve polikarbonat moleküllerinin bir araya gelmesi sonucu oluşan östrojenik endokrin bozucu bir monomerdur. Fenolik kokulu, kristal yapıda beyaz bir katıdır. İlk kez 1905 yılında Zincke tarafından iki mol fenol ve bir mol asetonun düşük pH ve yüksek sıcaklıkta kondenzasyonu sonucunda sentezlenmiştir (Köroğlu, 2012). BPA'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Bisfenol A'nın bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri (Cao, 2010)

Kimyasal yapısı	
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Moleküler ağırlığı	228.29 g/mol
Özgül ağırlığı (g/cm³)	1,060-1,195
Erime sıcaklığı (°C)	155
Kaynama sıcaklığı (°C)	398
Sudaki çözünürlüğü (25°C'de) (g/m³)	300
Buhar basıncı (25°C'de) (Pa)	5,3 × 10 ⁻⁶

1.2.1. Bisfenol A'nın Üretimi ve Kullanım Alanları

Günümüzde özellikle plastikleri sertleştirmek için kullanılan BPA'nın, dünyada yıllık 2-3 milyon tonluk bir üretimi vardır. BPA'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, otomotiv parçaları, kurşungeçirmez camlar, toz boya, PVC pencereler ve iş güvenlik kaskları gibi alanlarda kullanılmaktadır. Epoksi reçineler ise sebze, meyve,

dondurulmuş besinler, konserve ürünler, alkollü ve alkolsüz içecekler, süt tozu ve turşu gibi salamura ürünlerinin ambalajlarının iç yüzeylerinin kaplamasında, şarap ve su gibi sıvıların depo kaplarında kullanılmaktadır. Ayrıca, su boruları, elektronik aletler, termal kâğıtlar ve oyuncaklar gibi birçok üründe de BPA sıklıkla kullanılmaktadır. Dolayısıyla, BPA, insanların sıklıkla maruz kaldığı çevresel kimyasallardan birisidir (Er ve Sarımeahmetoğlu, 2011).

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

Bisfenol A'ya maruziyet en çok oral yolla, sonra solunum ve deri yoluyla gerçekleşmektedir. Vücuda oral yolla alınan BPA, intestinal yolla hızlı bir şekilde emilmektedir. Karaciğerde eliminasyona uğradıktan sonra glukuronik asit ile konjuge olarak majör metaboliti BPA glukuronite ve sülfat ile konjuge olarak da minör metaboliti BPA sülfata dönüşmektedir. BPA lipofilik olduğu için vücutta yağ açısından zengin dokularda birikebileceği düşünülmektedir. Vücutta idrardan başka kanda, yağ dokusunda, semende, anne sütünde, amniyotik sıvıda, plasenta ve fetusta, kolostrumda, umbrikal kord kanında ve tükürükte de BPA saptanmıştır (Durmaz ve Giray, 2013).

2010 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından yayınlanan raporda BPA'nın özellikle anne karnında ve çocukluk çağında zararlı etkileri olabileceği belirtilmiştir. Kanada BPA'nın toksik olduğunu açıklayan ilk ülke olmuştur. Devamında ise birçok ülke özellikle de biberonlarda BPA kullanımını yasaklamışlardır. Ülkemizde ise 10.06.2011 tarihinde resmi gazetede Tarım ve Köy işleri Bakanlığı tarafından Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliğ'inde değişiklik yapılması hakkında bir tebliğ yayınlanmıştır. Bu tebliğ ile, referans numarası 13480 olan 2,2-Bis(4-hidroksifenil) propan için "SML(T) = 0.6 mg/kg TGK-Bebek Formülleri ve TGK-Devam Formülleri Tebliğlerinde bebek olarak tanımlanan tüketici grubu için kullanılan, polikarbonat madde ve malzemelerin üretiminde kullanılamaz" ifadesi getirilmiştir. BPA ilk sıralarda çevresel zararsız bir östrojen olarak alınmıştır. Ancak daha sonraki çalışmalarda BPA'nın çok düşük konsantrasyonlarda dahi doku ve hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını her türlü etkileyen özellikleri olduğu görülmüştür. Ayrıca, BPA metabolitlerinin de BPA'nın kendisinden daha güçlü östrojenik aktivite gösterdiği görülmüştür. Bisfenol A, genler ve proteinler ile etkileşime girebilmektedir (Koroğlu, 2012).

Bisfenol A' nın ksenöstrojene çok benzer bir özellikte olması onun bir endokrin bozucu olmasına sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda BPA'nın insan ve hayvanların endokrin sistemine etkisinden ötürü, üreme sisteminin yanı sıra vücut gelişimini ve davranışlarını etkilendiği de ifade edilmiştir (Wolstenholme ve ark., 2011). BPA'nın, kızlarda erken puberteye yol açtığı, diğer yandan idrarda yüksek oranda BPA tespit edilen kızlarda meme büyümesinin uzun sürmesine sebep olduğu ortaya konulmuştur (Braun ve Hauser, 2011). Ayrıca, BPA prostat ve meme kanserinin tedavisini de olumsuz etkilemektedir (Sharpe ve Drake, 2010). BPA oksidatif stres oluşturarak erkeklerde sperm azalmasına sebep olmaktadır (Wong ve Cheng, 2011). BPA, günlük yaşamda kullanılan pek çok ürünün yanı sıra diş hekimliğinde kullanılan bazı dolgu maddelerinin yapısında da yer almakta olup sağlık açısından bir tehlike oluşturabileceği düşünülmektedir (Singh ve Li, 2012).

BPA'nın sinirsel gelişim üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, BPA'ya anne karnındaki maruziyet ile çocukların hiperaktifliği ve hırçınlığı arasında doğru orantı olduğu ve bu ilişkinin kızlarda erkeklere oranla daha fazla olduğu saptanmıştır (Braun ve Hauser, 2011). Ayrıca öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybı, dikkat eksikliği, hırçınlık, aksilik, sosyal ve seksüel davranışlarda anomali gibi nöropsikiyatrik hastalıklara yol açtığını gösteren çok sayıda hayvanlar üzerinde yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır (Sungur ve ark., 2016).

BPA'nın KOAH üzerinde önemli bir role sahip olabileceğini ifade eden (Erden ve ark, 2014), yüksek BPA'nın obeziteye sebep olabileceğini belirten (Carwile ve Michels, 2011) çalışmalar da bulunmaktadır.

1.2.3. Bisfenol A'nın Yasal Sınır Değerleri

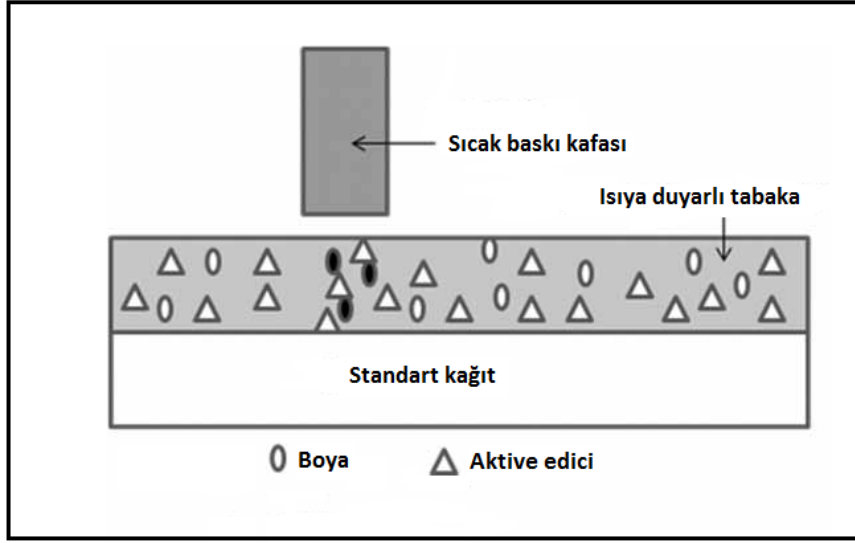
Amerika Çevre Koruma Ajansı (EPA), 1988 yılında, BPA için tolere edilebilir günlük alım miktarını 0.05 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlemiştir. 2002 yılında Avrupa Birliği bu değeri 0.01 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak kabul etmiştir (Kang ve ark., 2006).

EC Directive tarafından plastik materyalli kaplardan yiyeceklere geçen BPA 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 belirtilmiştir. Health Canada'nın belirlediği bisfenol A'nın günlük miktarı (TDI) ise 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$ va/gün'dür. Türkiye'deki bisfenol A'nın yasal sınır değerleri Avrupa ile gayet 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)

1.3.Termal Kâğıtlar

Termal baskı, kasa fişleri, ATM kağıtları, uçak biletleri, bagaj etiketleri, faksılar gibi çok çeşitli ticari uygulamalarda kullanılmaktadır. Termal baskı işleminde, basılı görüntü ısıya duyarlı termal kağıdın üzerinden bir baskı kafasının geçmesi ile oluşturulmaktadır. Isının etkisiyle termal kağıtta renk değişimi meydana gelmektedir. Bu olay termokromizm olarak isimlendirilmektedir. Bu işlemlerde kullanılan termokromik kağıt 2 tabakadan oluşmaktadır. Altta normal standart bir kağıt, üstünde ise ısıya duyarlı bir tabaka bulunmaktadır. Isıya duyarlı tabaka termokromik boya, zayıf asidik renk değıştirici (BPA) ve çözücü olmak üzere 3 bileşenden ibarettir. Çözücü olarak genellikle erime noktası 45-65 °C arasında olan uzun zincirli alifatik bileşikler (doymuş asitler, amidler, alkoller) kullanılmaktadır. Aktif bileşenler çözücü içerisinde çözünmekte ve ısıya duyarlı tabakanın üzerinden sıcak baskı kafasının geçmesi ile renk ortaya çıkmaktadır. Termokromik boyaların çoğu spirolaktonlardır ve en yaygın olarak kullanılanı da kristal viyole laktondur. Bu boya çevre sıcaklığında renksiz olup, baskı kafası aracılığıyla çözücünün erime noktasının üzerindeki bir sıcaklığa ulaşıldığında BPA boya ile etkileşerek mavi rengin oluşmasına neden olmaktadır. (Mendum ve ark., 2011)



Şekil 1.2. Termal kağıtların aktivasyonu (Mendum ve ark. 2011)

Sadece Avrupa’da 1 yıl içerisinde termal kağıt üretiminde 1800 ton BPA kullanılmıştır. Yapılan araştırmalar, büyük oranda BPA içeren (9-19 mg/30.5 cm), düşük miktarda BPA içeren (1-3 mg/30.5 cm) ve BPA içermeyen olmak üzere 3 çeşit termal kağıdın bulunduğunu göstermiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Biedermann ve arkadaşları (2010), Zürih'teki çeşitli mağazalardan 13 adet kasa fişi toplayarak, BPA içeriklerini analiz etmişlerdir. Fişlerde 8-17 g kg⁻¹ arasında BPA saptamışlardır. Sonrasında, bu kağıtlara 1 s, 5 s ve 60 s dokunma neticesinde parmaklara sırasıyla yaklaşık olarak 0.4 µg, 1.18 µg ve 1.5 µg BPA geçtiğini saptamışlardır. Ayrıca, cildin ıslak, nemli ya da yağlı olmasına bağlı olarak BPA geçişinin nasıl değiştiğini de incelemişlerdir. Cilt ıslak ya da yağlı olduğunda BPA geçişinin yaklaşık 10 kat daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

Liao ve Kannan (2011), Japonya, Kore ve Vietnam'dan 103 adet termal kâğıt örneği alarak BPA içeriklerini saptamışlardır. İnceledikleri termal kağıtların % 94'ünde ortalama olarak 13.9 mg g⁻¹ BPA bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bir günde cilt tarafından absorplanabilecek BPA miktarını insanlar üzerinde herhangi bir deneme yapmaksızın hesap yoluyla 17.5 – 1300 ng/gün olarak belirlemişlerdir. Bu hesaplamalarda, Zalko ve ark. (2011), tarafından ameliyatlara neticesinde ortaya çıkan insan derileri üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda belirledikleri 1 günde insan derisinin absorblayabileceği maksimum BPA miktarından yararlanmışlardır.

Mendum ve arkadaşları (2011), Boston'daki 10 mağazadan kasa fişi alarak içerdikleri BPA miktarlarını belirlemişlerdir. BPA konsantrasyonlarını 0.30 - 1.70 g BPA/100 g termal kâğıt şeklinde saptamışlardır. Termal kâğıtların BPA maruziyetine neden olduğunu ve BPA içermeyen kasa fişlerinin kullanılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir.

Geens ve arkadaşları (2012), Belçika'daki çeşitli dükkânlardan (kitapçı, restoran, benzin istasyonu, banka, giyim mağazası, market, manav, hediyelik eşya dükkânı, mobilyacı) 44 adet kasa fişi toplamışlar ve bisfenol A içeriklerini tespit etmişlerdir. İnceledikleri örneklerin % 73'ünde 9-21 mg g⁻¹ arasında BPA saptamışlardır. Ayrıca, literatürdeki bilgilerden yararlanarak (5 saniyelik normal dokunma ile 1.13 µg BPA'nın vücuda geçtiği, BPA'nın % 27'sinin cilt tarafından absorblandığı ve insanların günde 2-150 arasında termal kağıtlara dokunduğu kabul edilmektedir (Biedermann ve ark., 2010), insanların 1 günde termal kâğıtlar nedeniyle maruz kaldıkları minimum BPA miktarını 445 ng olarak hesaplamışlardır.

Tahmini günlük alım: $kxCxHFxHTxAF/10^6$ (ng/gün) (Biedermann ve ark., 2010)
k: Termal kağıttan cilde BPA'nın geçiş katsayısı (21522.4 ng/s)
C: Termal kağıttaki BPA konsantrasyonu (µg/g)
HF : Termal kağıda dokunma sıklığı (2-150 kez/gün)
HT : Dokunma süresi (5 saniye)
AF : BPA'nın cilt tarafından absorblanma faktörü (% 27)

Gao ve arkadaşları (2013), termal kağıtlardaki BPA'yı tespit edebilmek için kantitatif bir metot geliştirmişlerdir. Bu metotta, termal kâğıtlardaki BPA'yı % 2'lik NaOH çözeltisi ile ekstrakte ettikten sonra, ekstrakte edilen analiti asılı damla mikroekstraksiyon yöntemi ile zenginleştirmişler ve ardından HPLC aracılığıyla miktar tayinini gerçekleştirmişlerdir. İnceledikleri 7 tip termal kağıtta (ATM kağıdı, banka dekontu, sinema bileti, tren bileti, eczane fişi, restoran fişi, mağaza fişi) BPA miktarlarını 0.53 – 20.9 mg g⁻¹ arasında tespit etmişlerdir. En düşük BPA içeriğini tren biletinde, en yüksek BPA değerini de ATM kâğıdında saptamışlardır.

Porras ve arkadaşları (2014), Finlandiya İş Sağlığı Enstitüsünde çalışan 22-67 yaşları arasındaki 35 erkek, 86 kadın olmak üzere toplam 121 kişiden idrar örnekleri alarak, idrarlarındaki BPA miktarlarını incelemişlerdir. İdrar BPA konsantrasyonlarını 2.6 µg L⁻¹ ortalama değer ile 0.8-18.9 µg L⁻¹ arasında tespit etmişlerdir. Bu kişileri kontrol grubu olarak kabul etmişlerdir. Daha sonra 2 simulasyon deneyi gerçekleştirmişlerdir. Birincisinde marketlerde kasiyer olarak çalışan 3 kişiden idrar örneği almışlar ve idrarlarındaki ortalama BPA konsantrasyonlarını 0.9; 1.7; 4.0 µg L⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Bu değerlerin limit değerlerin altında kaldığını belirtmişlerdir. Bu kişilerin her defasında üç parmakları ile 5 s termal kağıtlara maruz kaldıklarını, 8 saatlik bir çalışma süresinde en az 140 kağıda dokunacaklarını ve toplamda 11 dakika maruz kalacaklarını hesaplamışlardır. İkinci deneyde, kasiyerlerin her defasında termal kağıtlara daha uzun süreli dokunmaları (5 dakika) sağlanmış ve tekrar idrar BPA seviyeleri ölçülmüştür. Maksimum idrar BPA konsantrasyonu 10.3 µg L⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Her iki deneyde de kontrol grubuna göre büyük farklar elde edemediklerini, ancak az sayıda kişi ile çalıştıklarını belirtmişlerdir.

Hormann ve arkadaşları (2014), Kolombiya'daki 50 mağazadan termal kağıt örnekleri almış ve BPA içeriklerini 11.5-26.3 mg g⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Çalışmanın ikinci aşamasında, termal kağıda 2 s, 15 s, 45 s maruz kalındığında parmaklara sırasıyla % 40'lık (235 µg), % 58'lik (339 µg), % 73'lük (425 µg) bir BPA geçişinin meydana geldiğini saptamışlardır. Çalışmanın son aşamasında da, termal kağıda dokunduktan

sonra patates kızartması yiyen kişilerin kan ve idrar BPA seviyelerini ölçmüşlerdir. 4 erkeğin ortalama kan BPA seviyelerinde 5.60 ng ml^{-1} , idrar seviyelerinde 0.89 ng ml^{-1} , 2 bayanın ortalama kan BPA seviyelerinde ise 9.66 ng ml^{-1} ve idrar seviyelerinde de 4.79 ng ml^{-1} artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Elde ettikleri veriler neticesinde, bayanlarda vücuda BPA geçişinin daha yüksek oranlarda gerçekleştiğini, bunun da cinsiyete bağlı olarak cildin geçirgenliğinin farklılık göstermesi ile alakalı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Ehrlich ve arkadaşları (2014), Harvard Üniversitesi Halk Sağlığı öğrencileri ve personelinden idrar örnekleri alarak BPA konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Yaşları 26-71 arasındaki beyaz, siyah ve Asyalı 24 kişiye eldiven takmadan, 12 kişiye de eldiven takarak termal kağıtlara 2 saat boyunca dokunmalarını sağlamışlar ve hemen, 4, 8, 12 ve 24 saat sonra da idrar örnekleri almışlardır. Eldiven takmayan kişilerin temas sonrası alınan idrarlarında $2.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ortalama ile $1.4 - 3.3 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında, 4 saat sonrasında alınan idrarlarında $6.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ortalama ile $3.4 - 10.7 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında, 8 saat sonrasında alınan idrarlarında $11.1 \mu\text{g L}^{-1}$ ortalama ile $5.5 - 22.8 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında, 12 saat sonrasında alınan idrarlarında $10.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ortalama ile $4.9 - 22.6 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında, 24 saat sonrasında alınan idrarlarında da $4.7 \mu\text{g L}^{-1}$ ortalama ile $2.4 - 9.1 \mu\text{g L}^{-1}$ arasında BPA tespit edilmiştir. 4, 8, 12 ve 24 saat sonrasında idrar örneklerinde gerçekleştirilen her bir ölçüm, termal kağıtlara temas sonrası gerçekleştirilen ilk ölçümden anlamlı bir şekilde farklı bulunurken, eldiven takan kişilerin idrarlarındaki BPA artışı anlamlı bulunamamıştır.

Goldinger ve arkadaşları (2015), İsviçre’de kullanılan termal kâğıtlardan (kasa fişi, ATM fişi, park fişi, otobüs bileti gibi) 124 adet toplayarak analiz etmişlerdir. İncelenen örneklerin 100 tanesinde $5.6 - 30.4 \text{ mg g}^{-1}$ arasında BPA tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, BPA’ya alternatif olarak 4 örnekte $8.3 - 12.6 \text{ mg g}^{-1}$ arasında bisfenol S (BPS), 11 örnekte $3.3 - 8.2 \text{ mg g}^{-1}$ arasında Pergafast® 201 ve 9 örnekte de $3.4 - 13.2 \text{ mg g}^{-1}$ arasında D-8 (WinCon-8) belirlemişlerdir. Çalışmanın ikinci kısmında, saptanan bu 4 maddenin 17β -estradiyol ve serbest testosteron seviyeleri üzerine etkilerini, hormonal sistemde bulunan 16 proteine bağlanma eğilimlerini ve toksikolojik potansiyellerini incelemişlerdir. Her ne kadar yapılan çalışma sonucunda Pergafast® 201 ve D-8, BPA’ya göre daha iyi alternatifler olarak görünseler de, net bir sonuca varabilmek için daha geniş çaplı incelemelerin yapılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Russo ve arkadaşları (2017), İtalya'daki marketlerden topladıkları 50 adet kasa fişinin BPA içeriklerini incelemişlerdir. İncelenen örneklerin 44'ünde ortalama olarak 107.47 µg BPA / 100 mg kağıt bulmuşlardır. Daha sonra 70 kg'lık bir erişkinin termal kağıtlara maruziyet nedeniyle günlük alacağı BPA miktarını 0.0625 µg/gün olarak hesaplamışlardır. Bu gibi ciltsel temas neticesinde günlük alınabilecek maksimum miktarın EFSA tarafından 4 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlendiğini, hesapladıkları değerin bu değerden düşük olduğunu, ancak uzun süre temas sonucunda yine de risk oluşturabileceğini ifade etmişlerdir.

Lee ve arkadaşları (2018), Kore'de 7 farklı markette 2 ile 16 yıldan beri çalışmakta olan 54 bayan kasiyerden idrar örneği alarak, BPA içeriklerini belirlemişlerdir. İlk vardiyada çalışanların idrarlarındaki BPA konsantrasyonlarını 0.40 ng ml⁻¹ ortalama ile 0.28 - 0.57 ng ml⁻¹ arasında, son vardiyada çalışanlarda ise, 0.90 ng ml⁻¹ ortalama ile 0.65 – 1.25 ng ml⁻¹ arasında tespit etmişlerdir. Daha sonra 1 hafta süreyle kasiyerlere eldiven giydirmişler ve sonrasında tekrar idrarlarındaki BPA miktarlarını ölçmüşlerdir. İlk vardiyada çalışanların idrarlarındaki BPA konsantrasyonlarını 0.44 ng ml⁻¹ ortalama ile 0.32 - 0.60 ng ml⁻¹ arasında, son vardiyada çalışanlarda ise, 0.49 ng ml⁻¹ ortalama ile 0.35 – 0.67 ng ml⁻¹ arasında tespit etmişlerdir. Son vardiyada çalışan kasiyerlerden eldiven takmayanların idrarlarındaki BPA miktarlarının eldiven takanlara kıyasla yaklaşık 2 kat daha fazla bulunduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca, idrarda bulunan yüksek BPA seviyelerinin açlık şekeri ve insülin direnci artışı ile alakalı olduğunu vurgulamışlardır.

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 Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kimyasal maddelerin adı, Formülü, alındıkları firma ve katalog numaraları

Kimyasal madde adı	Firma adı ve katalog numarası
Bisfenol A (C ₁₅ H ₁₆ O ₂)	Aldrich 23965-8
Asetonitril (CH ₃ CN)	Merck 100003
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Merck 106462
Disodyum hidrojenfosfat dihidrat (Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O)	Merck 106576
Potasyumyum dihidrojenfosfat (KH ₂ PO ₄)	Merck 104873
Hidroklorik asit (HCl)	Merck 100314
Sodyum klorür (NaCl)	Merck 106400
Potasyum klorür (KCl)	Merck 104935

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma süresince kullanılan cihazlar ve özellikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar ve özellikleri

Cihazın adı	Özellikleri (Marka/Model)
HPLC	Shimadzu LC20A model
Ultra saf su cihazı	New Human Power I model
pH metre	İnoLab wtw serisi
Analitik terazi	Sartorius BL210S
Isıtıcı	IKA RH basic 2

3.2.Yöntem

3.2.1. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- a) NaOH: 1 M NaOH'in sudaki çözeltisi hazırlandı.
- b) HCl: Şişe üzerindeki özellikler kullanılarak (d: 1.19, % 37'lik) % 25'lik HCl çözeltisi hazırlandı.
- c) Standart BPA çözeltileri: 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 mg ml⁻¹'lik asetronitril içerisindeki çözeltileri hazırlandı.
- d) Asetonitril çözeltileri: Hacimce 40:60; 50:50 ve 60:40 asetronitril:su karışımlarından oluşan çözeltiler hazırlandı.
- e) Fosfat tamponu: 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄ ve 0.24 g KH₂PO₄ karıştırılarak 1L'ye su ile tamamlanmıştır.

3.2.2. Örnek Numunelerin Alınması

Her bir gruptan (kasa fişi, POS cihazı fişi, hastane barkodu, ATM fişi, uçak bileti) 10'ar adet olmak üzere toplam 50 adet termal kağıt örneği Hatay bölgesinden temin edilmiştir.

3.3. Örneklerin Analizi

3.3.1. Termal Kağıtlardan BPA Ekstraksiyonu

Her bir termal kağıttan yaklaşık 100 mg tartılarak, 10 ml pH'ı fosfat tamponu ve 1 M NaOH kullanılarak 7'ye ayarlanmış olan asetronitril:su (hacimce 40:60) karışımına daldırılmış ve 60 °C'de 8 saat süreyle karıştırılmıştır. Daha sonra süzme işlemi uygulanmış ve elde edilen süzüntüler BPA analizi için HPLC'ye verilmiştir. (Biedermann ve ark. 2010)

3.3.2. Bisfenol A Analizi

Örneklerdeki BPA miktarları HPLC (Shimadzu LC20A model) aracılığıyla tayin edilmiştir. HPLC çalışma koşulları aşağıdaki gibidir. (Biedermann ve ark. 2010)

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 Dedector (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

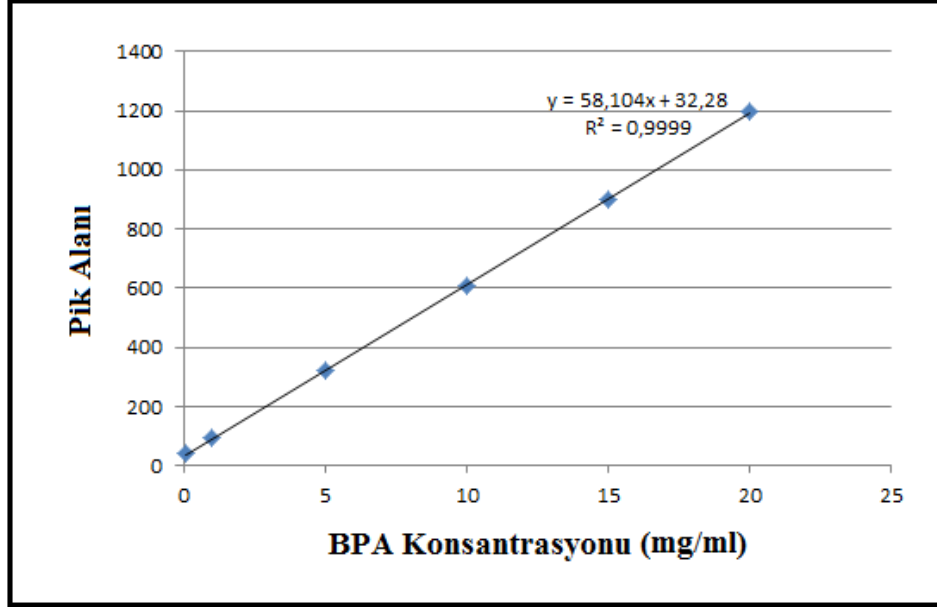
Kolon fırını: Shimadzu prominence CTO-20A

Degazör: Shimadzu prominence DGU-20 A3

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. HPLC Cihazına Ait Kalibrasyon Verileri

Bisfenol A için elde edilen kalibrasyon doğrusu Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Bisfenol A için kalibrasyon grafiği

4.2. Gözlenebilme Sınırı, Belirlenebilme Sınırı, BPA Pikinin Alıkonma Süresinin Belirlenmesi

BPA için 20’şer adet ayrı ayrı şahit numunelerine ait ölçümlerin standart sapmaları hesaplanarak gözlenebilme sınırı (LOD) ve belirlenebilme sınırı (LOQ) değerleri aşağıdaki formüllerden yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$LOD = \frac{3s}{m} \quad (4.1)$$

$$LOQ = \frac{10s}{m} \quad (4.2)$$

s = Şahit numuneye ait ölçümlerin standart sapması

m = Doğrunun eğimi

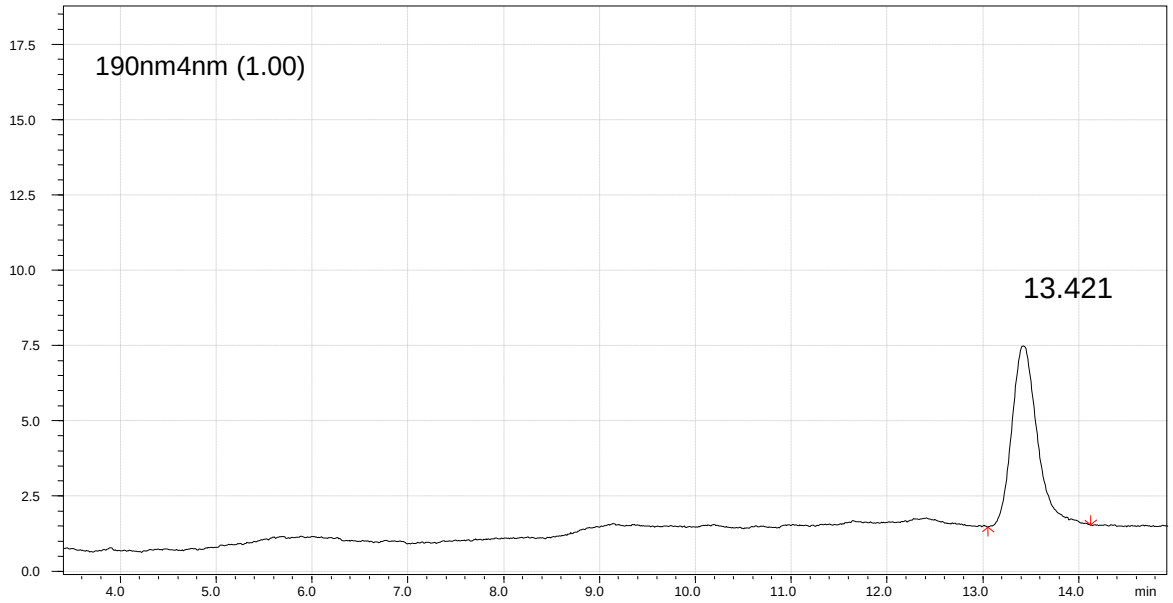
Geri kazanım oranı ise, spike yöntemi gerçek örnek ile hesaplanmıştır.

$$\%R = \frac{C_{gözlenen} - C_{örnek}}{C_{spike}} \quad (4.3)$$

BPA için hesaplanan LOD, LOQ, R², % R değerleri ve alıkonma süresi Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Hazırlanan standart çözeltiler HPLC cihazına verilmiş ve materyal ve yöntem kısmında belirtilen şartlarda, BPA pikinin 13.42 dakikada geldiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. BPA için LOD, LOQ ve korelasyon katsayısı değerleri

Bileşik Adı	Alıkonma Süresi (dak)	Korelasyon Katsayısı (R ²)	LOD (mg/g)	LOQ (mg/g)	Geri Kazanım % R
BPA	13.42	0.9999	0.010	0.033	92.6 – 103.4



Şekil 4.2. 50 mg/ml’lik BPA standardına ait kromatogram

4.3. BPA'nın Ekstraksiyon Verimini Etkileyen Faktörler

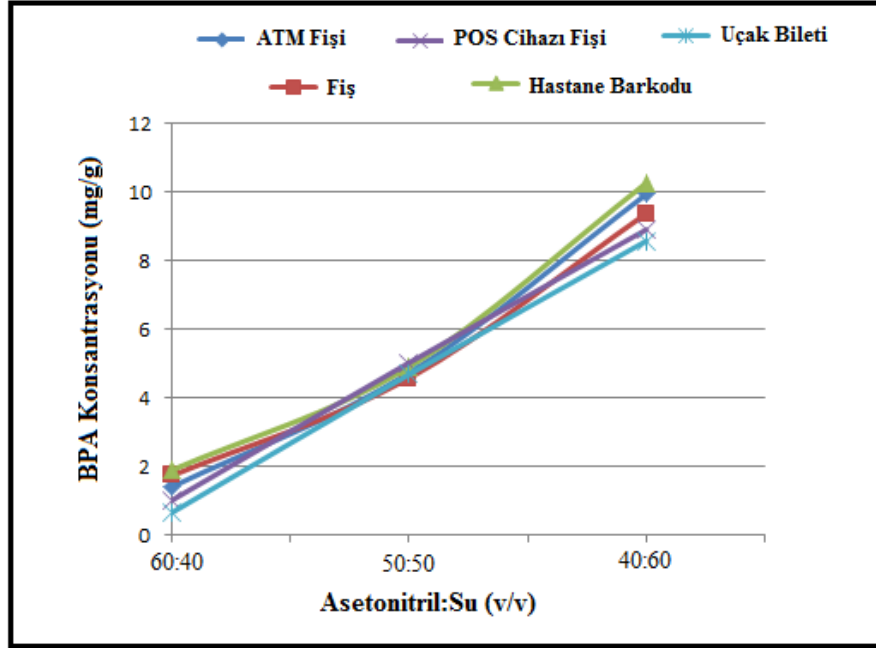
BPA'nın ekstraksiyon verimi üzerine organik çözücü konsantrasyonunun, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin, pH'ın etkilerini incelemek amacıyla, tüm termal kağıt örnekleri kendi içlerinde küçük parçalara ayrılarak karıştırılmış ve deneysel çalışmalar bu karışımdan alınan tartımlarla gerçekleştirilmiştir.

4.3.1. BPA Ekstraksiyonu Üzerine Organik Çözücü Konsantrasyonunun Etkisi

BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi, asetonitril:su oranları hacimce 40:60; 50:50 ve 60:40 olacak şekilde ayarlanarak denenmiştir. Karışımların pH'ı fosfat tamponu ve 1 M NaOH'den yararlanılarak 7'ye getirilmiş ve karıştırma işlemi 60 °C'de 8 saat süreyle uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Ayrıca, sonuçların daha net bir şekilde görünmesi açısından veriler Şekil 4.3'de de gösterilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi, termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonunun asetonitril:su oranı hacimce 40:60 olduğunda gerçekleştiği saptanmıştır.

Çizelge 4.2. BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi

BPA Konsantrasyonu (mg/g)			
Asetonitril:Su (v/v)	60:40	50:50	40:60
Atm Fişi	1.41 ±0.002	4.73 ±0.004	9.94 ±0.008
POS Cihazı	1.02 ±0.001	5.03 ±0.004	8.91 ±0.007
Uçak Bileti	0.66 ±0.001	4.69 ±0.004	8.58 ±0.007
Market Fişi	1.74 ±0.003	4.58 ±0.003	9.38 ±0.008
Hastane Barkodu	1.90 ±0.003	4.90 ±0.004	10.27±0.009



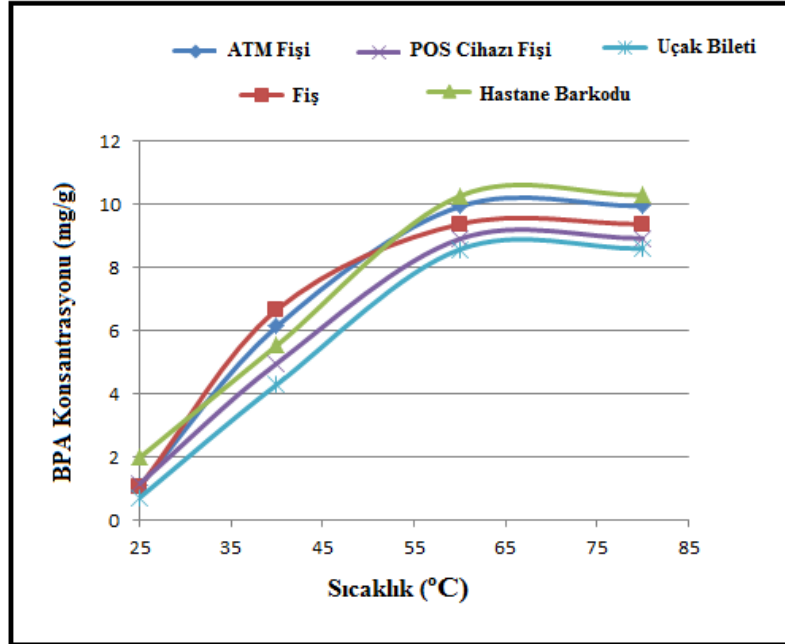
Şekil 4.3 BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi.

4.3.2. BPA Ekstraksiyonu Üzerine, Ekstraksiyon Sıcaklığı ve Süresinin Etkisi

BPA ekstraksiyonu üzerine, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen deneylerde, sıcaklık 25 °C, 40 °C, 60 °C ve 80 °C olarak, süreler ise 3, 5, 8 ve 10 saat olarak ayarlanmıştır. Deneyler, asetonitril:su oranı hacimce 40:60 ve pH=7 olan çözeltilerde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 ve 4.4’de verilmiştir. Ayrıca Şekil 4.4 ve 4.5’de de gösterilmiştir. Termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonunun 60 °C sıcaklıkta ve 8 saatlik karıştırma sonucunda gerçekleştiği görülmüştür.

Çizelge 4.3. BPA ekstraksiyonu üzerine sıcaklığın etkisi

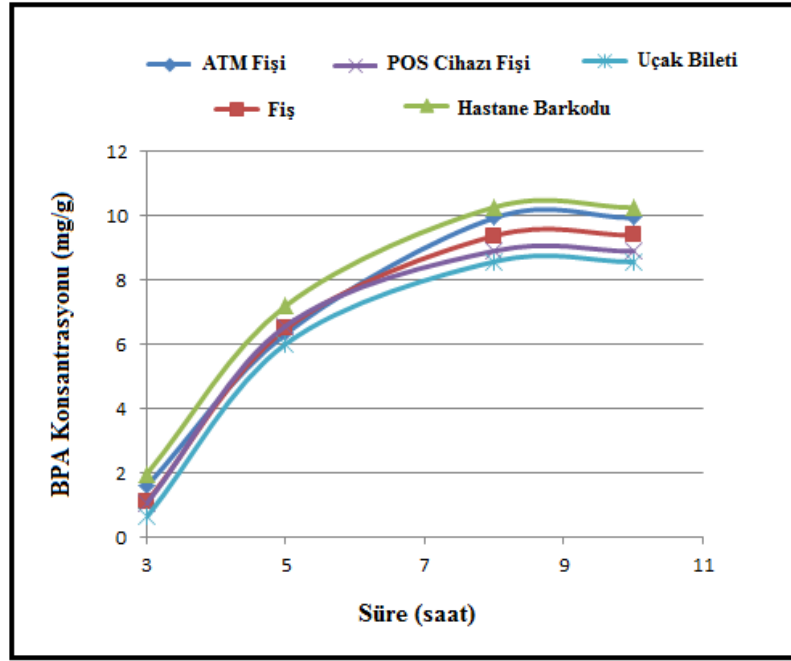
Sıcaklık (°C)	BPA Konsantrasyonu (mg/g)			
	25	40	60	80
Atm Fişi	1,09 ±0.001	6,14 ±0.005	9,94 ±0.008	9,93 ±0.008
POS Cihazı Fişi	1,16 ±0.002	4,97 ±0.004	8,91 ±0.007	8,91 ±0.007
Uçak Bileti	0,72 ±0.001	4,30 ±0.003	8,58 ±0.007	8,57 ±0.007
Market Fişi	1,06 ±0.001	6,67 ±0.005	9,38 ±0.008	9,38 ±0.008
Hastane Barkodu	1,99 ±0.003	5,54 ±0.004	10,27±0.009	10,26±0.009



Şekil 4.4. BPA ekstraksiyonu üzerine sıcaklığın etkisi

Çizelge 4.4. BPA ekstraksiyonu üzerine sürenin etkisi

Süre (saat)	BPA Konsantrasyonu (mg/g)			
	3	5	8	10
Atm Fişi	1,60 ±0.002	6,34 ±0.005	9,94 ±0.008	9,94 ±0.008
POS Cihazı Fişi	1,06 ±0.001	6,58 ±0.005	8,91 ±0.007	8,90 ±0.007
Uçak Bileti	0,64 ±0.001	6,02 ±0.004	8,58 ±0.007	8,57 ±0.007
Market Fişi	1,11 ±0.001	6,49 ±0.005	9,38 ±0.008	9,40 ±0.008
Hastane Barkodu	1,98 ±0.003	7,21 ±0.006	10,27±0.009	10,26±0.009



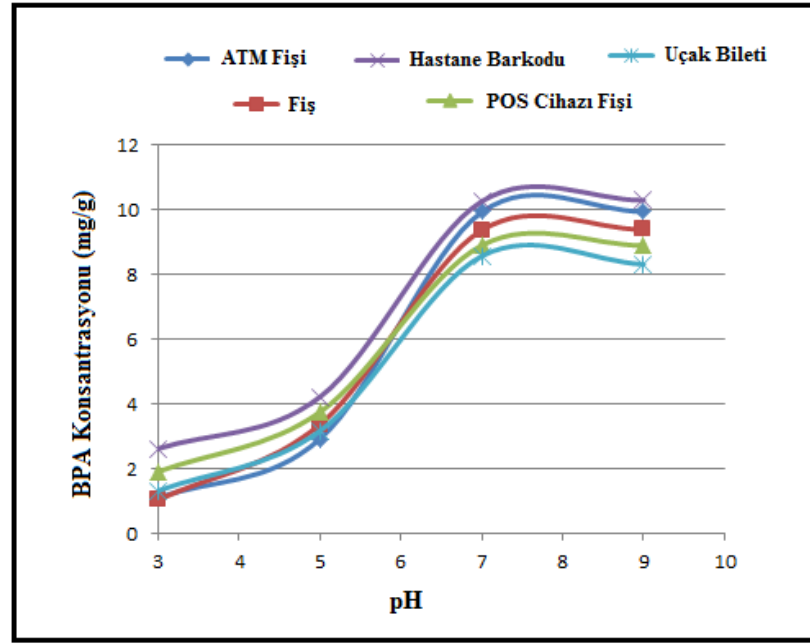
Şekil 4.5. BPA ekstraksiyonu üzerine sürenin etkisi.

4.3.3. BPA Ekstraksiyonu Üzerine pH'ın Etkisi

BPA ekstraksiyonu üzerine pH'ın etkisi, pH değerleri 3, 5, 7 ve 9 olacak şekilde ayarlanarak denenmiştir. Benzer şekilde, deneyler, asetonitril:su oranı hacimce 40:60 ve pH=7 olan çözeltilerde 60 °C'de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir. Ayrıca Şekil 4.6'da da gösterilmiştir. Termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonu pH 7'de gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.5. BPA ekstraksiyonu üzerine pH'ın etkisi

	BPA Konsantrasyonu (mg/g)			
pH	3	5	7	9
Atm Fişi	1.11 ±0.001	2.93 ±0.003	9.94 ±0.008	9.95 ±0.008
POS Cihazı	1.92 ±0.003	3.76 ±0.004	8.91 ±0.007	8.90 ±0.007
Fişi				
Uçak Bileti	1.33 ±0.002	3.18 ±0.003	8.58 ±0.007	8.32 ±0.007
Market Fişi	1.05 ±0.001	3.38 ±0.003	9.38 ±0.008	9.40 ±0.008
Hastane	2.63 ±0.003	4.23 ±0.004	10.27±0.009	10.30±0.009
Barkodu				



Şekil 4.6. BPA ekstraksiyonu üzerine pH'nın etkisi

4.4. Termal Kağıtların BPA İçerikleri

Belirlenen optimum şartlar kullanılarak, toplanan termal kağıtların BPA içerikleri belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da verilmiştir. Termal kağıtların ortalama BPA içerikleri $8.91 - 10.27 \text{ mg g}^{-1}$ arasında tespit edilmiştir. Ortalama BPA konsantrasyonları hastane barkotlarında 10.27 mg g^{-1} , kasa fişlerinde 9.38 mg g^{-1} , POS cihazı fişlerinde 8.91 mg g^{-1} , ATM fişlerinde 9.94 mg g^{-1} ve uçak biletlerinde 8.58 mg g^{-1} olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Termal kağıtların BPA içerikleri

Örnek	Derece	BPA Konsantrasyonu (mg/g)
Hastane barkodu	Minimum	9.95 ± 0.18
	Maksimum	10.53 ± 0.20
	Ortalama	10.27 ± 0.20
Kasa fişi	Minimum	9.14 ± 0.26
	Maksimum	10.05 ± 0.29
	Ortalama	9.38 ± 0.27
POS cihazı fişi	Minimum	8.43 ± 0.24
	Maksimum	9.38 ± 0.27
	Ortalama	8.91 ± 0.26
ATM fişi	Minimum	9.59 ± 0.15
	Maksimum	10.22 ± 0.18
	Ortalama	9.94 ± 0.16
Uçak bileti	Minimum	8.14 ± 0.29
	Maksimum	9.01 ± 0.33
	Ortalama	8.58 ± 0.31

Literatürde (Biederman ve ark.2010) genellikle kasa fişlerinin BPA içerikleri incelenmiş olup, Biedermann ve arkadaşlarının (2010) çalışmasında 8-17 g kg⁻¹ arasında, Mendum ve arkadaşlarının çalışmasında (2011), 0.30-1.70 g/100 g arasında, Geens ve arkadaşlarının çalışmasında (2012) 9-21 mg g⁻¹ arasında, Gao ve arkadaşlarının çalışmasında (2013) 0.53-20.9 mg g⁻¹ arasında, Hormann ve arkadaşlarının çalışmasında (2014) 11.5-26.3 mg g⁻¹ arasında, Goldinger ve arkadaşlarının çalışmasında (2015) 5.6-30.4 mg g⁻¹ arasında, Russo ve arkadaşlarının çalışmasında (2017) 107.47 µg/100 mg arasında bulunmuştur. Bu veriler, elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında, kasa fişlerinde tespit edilen BPA miktarlarının genellikle benzer oldukları görülmektedir.

4.5. Termal Kâğıtlardan İnsanlara Geçen BPA Miktarlarının Hesaplanması

Literatürde, bir günde termal kâğıtlara temas sonucu insanlara geçen tahmini BPA miktarını hesaplamakta aşağıdaki formülden yararlanılmaktadır.

Tahmini günlük alım: $kxCxHFxHTxAF/10^6$ (ng/gün) (Biedermann ve ark. 2010)

k: Termal kağıttan cilde BPA'nın geçiş katsayısı (21522.4 ng/s)

C: Termal kağıttaki BPA konsantrasyonu (µg/g)

HF : Termal kağıda dokunma sıklığı (2-150 kez/gün)

HT : Dokunma süresi (5 saniye)

AF : BPA'nın cilt tarafından absorblanma faktörü (% 27)

Yukarıdaki formülden ve incelenen termal kâğıtların BPA içeriklerinden yararlanılarak tahmini günlük alım miktarları hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Tahmini günlük alım miktarları

Örnek	Minimum geçen miktar (ng/gün)	Maksimum geçen miktar (ng/gün)
Hastane barkodu	596.8	44759.6
Kasa fişi	545.1	40880.7
POS cihazı fişi	517.8	38831.3
ATM fişi	577.6	43321.4
Uçak bileti	498.6	37394.1

Çizelgeden de görüleceği gibi, bir günde termal kâğıtlara minimum 5'er saniyelik 2 kez dokunma sonucunda 498.6 – 596.8 ng arasında, maksimum 150 kez dokunma sonucunda ise 37394.1 – 44759.6 ng arasında insan vücuduna BPA geçtiği belirlenmiştir.

Literatürde benzer şekilde hesaplanan 1 günde insan vücuduna termal kağıtlara kısa süreli dokunma sonucunda geçen BPA miktarları, Biedermann ve arkadaşlarının çalışmasında (2010) 1.18 µg olarak, Liao ve Kannan'ın çalışmasında (2011) 17.5-1300 ng olarak, Geens ve arkadaşlarının çalışmasında (2012) 445 ng olarak, Hormann ve arkadaşlarının çalışmasında (2014) 235 µg olarak, Russo ve arkadaşlarının çalışmasında (2017) 0.0625 µg olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar daha çok Geens ve arkadaşlarının elde ettiği sonuçlara benzer olarak bulunmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Başlangıçta BPA çevresel zayıf bir östrojen olarak kabul edilmiştir. Fakat daha sonraki çalışmalarda BPA'nın çok düşük konsantrasyonlarda bile, nukleus dışındaki reseptörlere bağlanarak doku ve hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını çok yönlü etkileyen özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bisfenol A, genler ve proteinler ile etkileşime girebilmekte ve kalp, böbrek, karaciğer gibi organlar üzerinde toksik etkiler oluşturabilmektedir. Bununla birlikte, BPA üretimi dünyada yıllık olarak 2-3 milyon tonu aşmaktadır.

Termal baskı, kasa fişleri, ATM kâğıtları, uçak biletleri, bagaj etiketleri, faksler gibi çok çeşitli ticari uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır. Termal kâğıtlarda kullanılan BPA miktarı ise oldukça fazla olup, sadece Avrupa'da 1 yılda bu amaçla kullanılan BPA miktarı 1800 tonu bulmaktadır.

Literatürde, gıdalardaki ya da çevresel örneklerdeki BPA'nın belirlenmesine yönelik olarak kullanılan çok sayıda analitik yöntem bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu çalışmaların çoğu sıvı örnekler üzerine yoğunlaşmıştır. Kâğıt ve kâğıt ürünleri gibi katı örneklerdeki BPA'nın saptanmasına ilişkin çalışmalar ise, oldukça sınırlı sayıdadır. Katı örneklerdeki BPA'nın belirlenebilmesi için gerçekleştirilen çalışmalarda büyük miktarlarda metanol ya da etanol gibi ekstraksiyon çözücülerini kullanılmaktadır. Bu çalışmada geliştirilen metodun en büyük avantajı, kullanılan çözücü miktarının oldukça az olması ve dolayısıyla da yöntemin maliyetinin düşük olmasıdır.

Bu çalışmada, BPA termal kağıtlardan asetonitril-su karışımı ile ekstrakte edilmiştir. BPA'nın ekstraksiyon verimi üzerine organik çözücü konsantrasyonunun, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin, pH'nın etkileri incelenmiştir.

BPA ekstraksiyonu üzerine organik çözücü konsantrasyonunun etkisi, asetonitril:su oranları hacimce 40:60; 50:50 ve 60:40 olacak şekilde ayarlanarak denenmiş ve termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonunun asetonitril:su oranı hacimce 40:60 olduğunda gerçekleştiği saptanmıştır.

BPA ekstraksiyonu üzerine, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen deneylerde, sıcaklık 25 °C, 40 °C, 60 °C ve 80 °C olarak, süreler ise 3, 5, 8 ve 10 saat olarak ayarlanmış ve termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonunun 60 °C sıcaklıkta ve 8 saatlik karıştırma sonucunda gerçekleştiği görülmüştür.

BPA ekstraksiyonu üzerine pH'ın etkisi, pH değerleri 3, 5, 7 ve 9 olacak şekilde ayarlanarak denenmiş ve termal kağıtlardan en fazla BPA ekstraksiyonu pH 7'de gerçekleşmiştir.

Optimize edilen koşullar altında (asetonitril:su oranı 40:60, pH=7, 60 °C'de, 8 saat), geliştirilen metot beş farklı tipteki termal kağıttan (kasa fişi, POS cihazı fişi, hastane barkodu, ATM fişi, uçak bileti) BPA'nın ekstrakte edilmesi amacıyla uygulanmış ve ortalama BPA konsantrasyonları 8.91–10.27 mg g⁻¹ aralığında saptanmıştır. Hastane barkodlarında 9.95 – 10.53 mg g⁻¹ aralığında, kasa fişlerinde 9.14 – 10.05 mg g⁻¹ aralığında, POS cihazı fişlerinde 8.43 – 9.38 mg g⁻¹ aralığında, ATM fişlerinde 9.59 – 10.22 mg g⁻¹ aralığında ve uçak biletlerinde 8.14 – 9.01 mg g⁻¹ aralığında BPA saptanmıştır. Elde edilen sonuçlardan, incelenen termal kâğıtlar içerisinde en fazla BPA içeriğinin hastane barkodlarında, en az ise uçak biletlerinde bulunduğu tespit edilmiştir.

Termal kağıtlardan insanlara geçen BPA miktarları hesaplanmış ve bir günde minimum 5'er saniyelik 2 kez dokunma sonucunda hastane barkodlarından 596.8 ng, kasa fişlerinden 545.1 ng, POS cihazı fişlerinden 517.8 ng, ATM fişlerinden 577.6 ng, uçak biletlerinden 498.6 ng, bir günde maksimum 5'er saniyelik 150 kez dokunma sonucunda hastane barkodlarından 44759.6 ng, kasa fişlerinden 40880.7 ng, POS cihazı fişlerinden 38831.3 ng, ATM fişlerinden 43321.4 ng, uçak biletlerinden 37394.1 ng geçeceği bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, işleri gereği termal kâğıtlara maruz olan kişilerin vücutlarına çok daha fazla miktarlarda BPA geçtiğini göstermiştir.

Sonuç olarak, geliştirilen metot termal kağıt örneklerinden BPA'nın kantitatif olarak belirlenmesi için başarıyla uygulanmıştır. Ucuz, kolay ve hızlı bir yöntem olarak kâğıt ve kâğıt ürünlerindeki BPA tayinlerinde rahatlıkla kullanılabilecek bir yöntemdir.

KAYNAKLAR

- Aksan A., Özdemir A. 2016. "Endocrine disruptors", Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 3(2), 1-14.
- Braun J.M., Hauser R. 2011. "Bisphenol A and children's health", *Current Opinion in Pediatrics*, 23, 233-239.
- Biedermann S., Tschudin P., Grob K. 2010. "Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin", **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 398, 571-576.
- 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**, 2-4.
- Carwile J. L., Michels K.B. 2011. "Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006", **Environmental Research**, 111, 825-830.
- Çetinkaya S. 2009. "Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri", *Dicle Tıp Dergisi*, 36(1), 59-66.
- Durmaz E., Giray B. K. 2013. "Çevresel bir endokrin bozucu: bisfenol A ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi", **Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi**, 56, 192-199.
- Ehrlich S., Calafat A. M., Humblet O., Smith T., Hauser R. 2014. "Handling of thermal receipts as a source of exposure to bisphenol A", **JAMA**, 311(8), 859-860.
- Er B., Sarımehtetoğlu B. 2011. "Gıdalarda bisfenol A varlığının değerlendirilmesi", **Veteriner Hekim Derneği Dergisi**, 82(1), 69-74.
- Erden E. S., Motor S., Ustun İ., Demirkose M., Yuksel R., Okur R., et al. 2014. "Investigation of bisphenol A as an endocrine disruptor, total thiol, malondialdehyde, and C-reactive protein levels in chronic obstructive pulmonary disease", **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, 18, 3477-3483.
- Gao L., Zou J., Liu H., Zeng J., Wang Y., Chen X. 2013. "Determination of bisphenol A in thermal printing papers treated by alkaline aqueous solution using the combination of single-drop microextraction and HPLC", 36, 1298-1303.
- Geens T., Goeyens L., Kannan K., Neels H., Covaci A. 2012. "Levels of bisphenol-A in thermal paper receipts from Belgium and estimation of human exposure", **Science of the Total Environment**, 435-436, 30-33, 2012.
- Goldinger D. M., Demierre A., Zoller O., Rupp H., Reinhard H., Magnin R., Becker T.W., Bourqui-Pittet M. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland", **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 71, 453-462, 2015.
- Gökerik M. 2012. "Endokrin bozucu kimyasallar ve insan sağlığı üzerine etkileri", Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Bitirme Ödevi.
- Hormann A. M., Saal F. S., Nagel S. C., Stahlhut R.W., Moyer C. L., Ellersieck M. R. 2014. "Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of bisphenol A (BPA)", **Plos One**, 9(10), 1-12.
- Kang J. H., Kondo F., Katayama Y. 2006. "Human exposure to bisphenol A", **Toxicology**, 226, 79-89.

- Köroğlu M. 2012. “Konservelerden yiyeceklere geçen bisfenol A miktarının belirlenmesi”, Mustafa Kemal Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi.
- Lee I., Kim S., Kim K., Park S., Lee H., Jeong Y., Lim J., Moon H., Choi K. 2018. “Bisphenol A exposure through receipt handling and its association with insulin resistance among female cashiers”, **Environment International**, 117, 268–275.
- Liao C., Kannan K. 2011. “Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: Implications for human exposure”, **Environmental Science and Technology**, 45, 9372-9379.
- Mendum T., Stoler E., Van Benschoten H., Warner J. C. 2011. “Concentration of bisphenol A in thermal paper”, **Green Chemistry Letters and Reviews**, 4(1), 81-86.
- Porras S. P., Heinälä M., Santonen T. 2014. “Bisphenol A exposure via thermal paper receipts”, **Toxicology Letters**, 230, 413–420.
- Russo G., Barbato F., Grumetto L. 2017. “Monitoring of bisphenol A and bisphenol S in thermal paper receipts from the Italian market and estimated transdermal human intake: A pilot study”, **Science of the Total Environment**, 599–600, 68–75.
- Sharpe R. M., Drake A. J. 2010. “Bisphenol A and metabolic syndrome”, **Endocrinology**, 151(6), 2404-2407.
- Singh S., Li, S. S. L. 2012. “Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol A and phthalates”, **International Journal of Molecular Sciences**, 13, 10143-10153.
- Sungur Ş., Özsan M., Karakaş E. 2016. “Endokrin bozucu olarak bisfenoller”, **Turkey Clinics Journal of Endocrinology**, 9(3), 57-63.
- Wolstenholme J. T., Rissman E. F., Connolly J. J. 2011. “The role of bisphenol A in shaping the brain, epigenome and behavior”, **Hormones and Behavior**, 59, 296-305.
- Wong E. W., Cheng C. Y. 2011. “Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction”, **Trends in Pharmacological Sciences**, 32(5), 290-299.
- Yeşilkaya E. 2008. “Endokrin bozucular”, **Güncel Pediatri**, 6, 76-82.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Osmaniye'nin Bahçe ilçesinde doğdu. İlkokul ortaokul ve lise eğitimi Gaziantep'te tamamladı. 2007 yılında Gaziantep Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi bölümünü 2009 yılında bitirdi. Eğitimine DGS sınavı ile 2010 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girerek bu bölümden 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Bölümü Yüksek Lisans Programına yerleşti. 2015-2016 yılları arasında Gaziantep Üniversitesinde Formasyon eğitimi aldı. 2013 yılı itibariyle kimya öğretmeni olarak çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk annesidir.