

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

GÜNEYDOĞU KARADENİZ'DE AVLANAN BAZI BALIK TÜRLERİ VE
MİDYEDE BİSFENOL-A DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

Berrin ÖZKILIÇ

MART 2024

TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

GÜNEYDOĞU KARADENİZ'DE AVLANAN BAZI BALIK TÜRLERİ VE
MİDYEDE BİSFENOL-A DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Berrin ÖZKILIÇ

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"DOKTOR (BALIKÇILIK TEKNOLOJİSİ MÜHENDİSLİĞİ)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 12 / 02 / 2024

Tezin Savunma Tarihi : 12 / 03 / 2024

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nigar ALKAN

Trabzon 2024

ÖNSÖZ

“Güneydoğu Karadeniz’de Avlanan Bazı Balık Türleri ve Midyede Bisfenol-A Düzeylerinin Belirlenmesi” isimli bu tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Programı’nda hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle yolumu aydınlatan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nigar ALKAN’a teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, yapıcı eleştirileri ve önerileri ile tezime büyük katkıları bulunan saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Ali ALKAN’a teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yürütülmesinde sağladığı altyapı ve idari destekten dolayı Karadeniz Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Enstitüsü Müdürlüğü’ne ve Maçka Meslek Yüksekokulu Müdürü Sayın Prof. Dr. Volkan Numan BULUT’a teşekkürlerimi sunarım.

101000518 numaralı DOORS isimli UFUK 2020 Avrupa Birliği projesine kimyasal sarf malzeme alımında verdiği katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan aileme, eşime ve oğluma teşekkür eder, minnettarlığımı sunarım.

Bu tez çalışmasının bundan sonraki çalışmalara katkı sağlamasını temenni ederim.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumunun (TÜBİTAK) 121Y079 kodlu ‘Güneydoğu Karadeniz Ekosisteminde (Balık, Midye, Sediment) Bisfenol-A ve Mikroplastik Düzeylerinin Araştırılması’ adlı projesi ile desteklenmiştir.

Berrin ÖZKILIÇ
Trabzon 2024

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Güneydoğu Karadeniz'de Avlanan Bazı Balık Türleri ve Midyede Bisfenol-A Düzeylerinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Nigar ALKAN’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 12/03/2024

Berrin ÖZKILIÇ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Araştırma Materyalleri	3
1.1.1. Mezgit (<i>Merlangius merlangus</i> , Nordmann, 1840)	4
1.1.2. Barbunya (<i>Mullus barbatus</i> , Lamarck, 1819).....	4
1.1.3. Midye (<i>Mytilus galloprovincialis</i> , Linnaeus, 1758).....	4
1.2. Bisfenol A (BPA)	5
1.3. BPA Kullanım Alanları	7
1.4. BPA'nın Çevre Üzerine Etkisi	8
1.5. BPA'nın Sağlık Üzerine Etkileri.....	10
1.6. Yasal Düzenlemeler	14
1.7. BPA Analiz Metotları.....	14
1.7.1. Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (SPME).....	15
1.7.2. Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu (MSPE).....	15
1.7.3. Dispersif Katı Faz Ekstraksiyonu (DSPE)	16
1.7.4. Manyetik Dispersif Katı Faz Ekstraksiyonu (MDSPE)	16
1.7.5. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE).....	16
1.8. Biyolojik Örneklerde Uygulanan BPA Analiz Metotları	17
1.8.1. Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (LC/MS).....	18
1.9. Önceki Çalışmalar	18
1.10. Çalışmanın Amacı	22
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	23
2.1. Kullanılan Cihazlar.....	23

2.2. Kullanılan Kimyasallar.....	23
2.3. Çalışma Alanı	23
2.4. Örnekleme	25
2.5. Laboratuvar Ortamının Hazırlanması.....	27
2.6. Balık ve Midye Örneklerinde BPA Analiz Aşamaları	27
2.6.1. Örneklerin Analize Hazırlanması.....	27
2.6.2. Ekstraksiyon.....	28
2.6.3. Kromatografik-Kütle Spektrometrik Analizler	30
2.6.4. LC-MS/MS Temelli BPA Analizi.....	31
2.6.5. İstatistiksel Analizler.....	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4. SONUÇLAR.....	39
5. ÖNERİLER.....	40
6. KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	

Doktora Tezi

ÖZET

GÜNEYDOĞU KARADENİZ'DE AVLANAN BAZI BALIK TÜRLERİ VE MİDYEDE BİSFENOL-A DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Berrin ÖZKILIÇ

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Nigar ALKAN
2024, 53 Sayfa

Plastiklerde bulunan katkı maddelerinin çoğunlukla polimerlere kimyasal olarak bağlı olmaması ve biyolojik olarak aktif olması sebebiyle çevre için tehlike oluşturmaktadırlar. Plastiklerin mekanik özelliklerini geliştirmek için kullanılan, doğada bulunmayan ve endokrin bozucu olarak tanımlanmış olan Bisfenol A (BPA), en önemli katkı kimyasallarından birisi olup üretim ve tüketim miktarları açısından ilk sıralarda yer almaktadır.

Bu çalışma kapsamında Güneydoğu Karadeniz kıyısında yer alan nüfus yoğunluğu farklı iki şehirde (Trabzon ve Giresun) farklı yoğunlukta antropojenik etkilere maruz kalan lokasyonlarda belirlenen istasyonlarda biyota örneklerinde BPA düzeyleri belirlenmiştir. Her iki ilde 4 ayrı istasyondan midye, 2'şer bölgeden ise balık örnekleri alınmıştır. Numunelerde BPA derişimleri katı faz ekstraksiyonu sonrasında LC-MS/MS cihazı ile belirlenmiştir. Tespit edilen ortalama BPA derişimleri ng/g kuru ağırlık cinsinden midyede $0,31 \pm 0,11$, mezgitte $3,77 \pm 2,58$ ve barbunyada ise $6,56 \pm 4,11$ 'dir.

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından BPA günlük tüketilebilir limit değerleri ($0,2 \text{ ng/kg}$ vücut ağırlığı) dikkate alındığında balık ve midye tüketiminin risk içerdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, Karadeniz, Mezgit, Barbunya, Midye

PhD. Thesis

SUMMARY

DETERMINATION OF BISPHENOL-A LEVELS IN SOME FISH SPECIES AND MUSSELS CAUGHT IN THE SOUTHEAST BLACK SEA

Berrin ÖZKILIÇ

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Fisheries Technology Engineering Graduate Program
Supervisor: Prof. Nigar ALKAN
2024, 53 Pages

The additives that included in plastics, pose a hazard to the environment because they are usually not bonded to the polymers chemically and they are biologically active. Bisphenol A (BPA), which used to improve the mechanical properties of plastics, that not exist in nature and defined as an endocrine disruptor, is one of the most important additives and takes place near the top in terms of production and consumption amounts.

Within the scope of this study, BPA levels were determined in biota samples at stations determined in two cities with different population densities (Trabzon and Giresun) located on the Southeastern Black Sea coast, in locations exposed to anthropogenic effects at different intensities. In both provinces mussel samples were taken from 4 different stations and fish samples were taken from 2 regions. BPA concentrations in the samples were determined by LC-MS/MS device after solid phase extraction. The average BPA concentrations (ng/g dry weight) in mussels were 0.31 ± 0.11 , in whiting were 3.77 ± 2.58 and in red mullet were 6.56 ± 4.11 . Considering BPA acceptable daily intake (ADI: 0.2 ng/kg body weight) by the European Food Safety Authority (EFSA), it has been determined that consumption of fish and mussels poses a risk.

Key Words: Bisphenol A, Black Sea, Whiting, Red mullet, Mussel

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. BPA'nın kimyasal sentez basamakları	5
Şekil 2. BPA ile üretilmiş polikarbonat tipi.....	7
Şekil 3. BPA toksisitesi	12
Şekil 4. BPA türevleri	14
Şekil 5. Çalışma sahası	24
Şekil 6. Midye, mezgıt ve barbunya örnekleri.....	25
Şekil 7. Örneklerin analize hazırlık işlemleri	28
Şekil 8. Ekstraksiyona aşamaları ve kullanılan cihazlar.....	30
Şekil 9. BPA-d ₁₆ bileşiği için öncül iyon ve 20 eV enerji uygulanarak elde edilen parçalanma ürünleri	32
Şekil 10. Optimum koşullarda BPA ve BPA-d ₁₆ için elde edilen kromatogramla	33
Şekil 11. Asetonitril ile hazırlanan biyota örneklerine ait kromatogramlar.....	33
Şekil 12. Metanol ile hazırlanan biyota örneklere ait kromatogramlar	34
Şekil 13. Midye örneklerinde ölçülen BPA derişimleri.....	35
Şekil 14. Giresun ili kıyı şeridindeki istasyonlarda midye örneklerinde tespit edilen ortalama BPA değerlerinin alansal dağılımı	36
Şekil 15. Trabzon ili kıyı şeridindeki istasyonlarda midye örneklerinde tespit edilen ortalama BPA değerlerinin alansal dağılımı	36
Şekil 16. Balık örneklerinde ölçülen BPA derişimleri.....	37
Şekil 17. Biyota örneklerinde illere göre tespit edilen ortalama BPA derişimler.....	37

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. BPA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	6
Tablo 2. Bazı su ürünlerinde tespit edilen BPA derişimleri	20
Tablo 3. Örnekleme istasyonları ve konum bilgileri.....	24
Tablo 4. Balık (mezgıt ve barbunya) örneklerinin biyometrik ölçümleri	26
Tablo 5. Midye örneklerinin biyometrik ölçümleri	26
Tablo 6. BPA ekstraksiyon aşamaları	29
Tablo 7. LC-MS/MS cihaz parametreleri	30
Tablo 8. MS/MS analiz parametreleri.....	32

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADI	: günlük alınabilir limit değeri
ANOVA	: varyans analizi
BPA	: Bisfenol A
BPAF	: Bisfenol AF
BPAP	: Bisfenol AP
BPB	: Bisfenol B
BPE	: Bisfenol E
BPF	: Bisfenol F
BPP	: Bisfenol P
BPS	: Bisfenol S
BPZ	: Bisfenol Z
BS	: Benzil salisilat
dak	: dakika
DEHP	: bis (2-etilheksil) ftalat
DEP	: Dietil ftalat
DSPE	: dispersif katı faz ekstraksiyonu
ECHA	: Avrupa Kimyasallar Ajansı
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
eV	: elektrovolt
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
g	: gram
HDPE	: yüksek yoğunluklu polietilen
HPLC	: yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IS	: internal standart
Kg	: kilogram
L	: litre
LC/EC	: sıvı kromatografi-elektrokimyasal dedektör
LC/FL	: sıvı kromatografi-floresans dedektör
LC-MS/MS	: sıvı kromatografi- kütle/kütle spektrometresi

LDPE	: düşük yoğunluklu polietilen
LLDPE	: doğrusal-düşük yoğunluklu polietilen
LLDPE	: doğrusal-düşük yoğunluklu polietilen
logK _{ow}	: n-Oktanol/Su Dağılıma Katsayısı
MDSPE	: manyetik dispersif katı faz ekstraksiyonu
MeOH	: metil alkol
MRM	: çoklu reaksiyon izleme metodu
MS	: kütle spektrometresi
MS/MS	: kütle/kütle spektrometrisi
m/z	: kütle/yük oranı
mL	: mililitre
mm	: milimetre
msn	: milisaniye
µg	: mikrogram
µm	: mikrometre
ng	: nanogram
NHANES	: Amerika Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması
nm	: nanometre
PC	: polikarbonat
POP	: kalıcı organik kirleticiler
PP	: polipropilen
PVC	: polivinilklorür
SML	: spesifik migrasyon limiti
SPE	: katı faz ekstraksiyonu
SPME	: katı faz mikro ekstraksiyonu
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
UV	: Ultraviyole
V	: volt
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GENEL BİLGİLER

İlk kez 1907 yılında sentezlenen plastik, mükemmel özellikleri nedeniyle günlük hayatın her alanında yaygın olarak kullanılmaktadır (Hernandez vd., 2017). Plastikler toplumsal ve ekonomik faydalar sağlayarak insanlığın yaşam kalitesini önemli derecede artırmaktadır (Andrady & Neal, 2009; Thompson vd., 2009). 2012 yılında 0,28 milyar ton olan küresel plastik üretiminin 2050 yılına kadar 33 milyar tona ulaşması beklenmektedir (Rochman vd., 2013). Küresel plastik talebine, termoplastik polipropilen (PP) (%21), düşük ve doğrusal-düşük yoğunluklu polietilen (LDPE ve LLDPE) (%18), polivinilklorür (PVC) (%17) ve yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) (%15) türleri hakimdir. Plastik polimerler sadece tüketici ürünleri için değil, aynı zamanda çok sayıda uygulamada kullanılan sentetik elyaflar, köpük kaplamalar, yapıştırıcılar ve izolasyon malzemeleri yapımında da kullanılmaktadır. Avrupa'da plastik en fazla ambalaj (%38), yapı ve inşaat (%21), otomotiv (%7), elektrik ve elektronik (%6) ve diğer sektörlerde (%28) kullanılmaktadır (Hahladakis vd., 2018).

Plastikler genellikle plastiğin türüne (bileşim), sentez yoluna ve malzemenin saflaştırma derecesine bağlı olarak katkı maddeleri içermektedirler (Barrick vd., 2021). Katkı maddeleri, polimerlerin performansı, fonksiyonelliği ve eskime özelliklerini geliştirmek amacıyla ilave edilen kimyasal bileşiklerdir (Hahladakis vd., 2018). Katkı maddeleri, fiziksel veya kimyasal bir etki elde etmek veya son ürüne fonksiyonel özellikler kazandırmak için plastiklere ilave edilen herhangi bir madde olarak tanımlanır (ECHA, 2019). Katkı maddeleri, plastik hammadde zincirleri arasına yerleşerek moleküller arasındaki kimyasal ilgiyi azaltarak çalışırlar (Staples vd., 1997). Birçoğunun çeşitli endüstriyel uygulamalarda geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Kimyasal katkı maddeleri, son ürüne kazandırdıkları temel işlevsel özelliklerine göre sınıflandırılırlar; plastikleştiriciler, yüzey aktif maddeler, alev geciktiriciler, anti-mikrobiyaller, antioksidanlar, asit tutucular, ısı stabilizatörleri, antistatik maddeler, UV filtreleri vb. (Barrick vd., 2021; Hahladakis vd., 2018).

Polimerler, katkı maddelerinin dağıldığı 3 boyutlu gözenekli bir yapıya sahiptirler. Gözeneklerin boyutu ile katkı maddesinin molekül ağırlığı ilişkili olup, düşük molekül ağırlığına sahip katkılar büyük gözenekli polimerler içerisinde daha kolay dağılım gösterirler. Bununla birlikte bağlı bir bileşiğin polimerden sızması için kovalent bağların

ayrılması gerekmekte olup, polimer reçinelerde genellikle reaksiyona girmemiş bileşenlerin sızdığı görülmektedir (Teuten vd., 2009). Plastiklerin çoğu katkı maddeleri içermekte olup, katkı maddelerinin çoğunlukla polimerlere kimyasal olarak bağlı olmaması, kalıcı ve biyolojik olarak aktif olması sebebiyle çevre için tehlike oluşturmaktadırlar. Bu kimyasallar bozunma ve ayrışma prosesine bağlı olarak plastikten çevreye sızılmaktadır. Salınımı azaltmaya yönelik uluslararası politikalar mevcut olmakla birlikte yetersiz plastik atık yönetimi sonucu ekosistemler için risk oluşmaktadır (Barrick vd., 2021).

Polimerlerde bulunan katkı maddelerinin migrasyon potansiyeli birçok parametreye bağlı olarak değişmektedir. Kentsel atıklarda oldukça fazla miktarlarda plastik çöp bulunmakta olup, kimyasal olarak bağlı olmayan bazı katkı maddeleri ve monomerler plastikten ayrılarak sızıntı suyuna geçebilmektedir (Asakura vd., 2004; Deng vd., 2006; Hermabessiere vd., 2017; Yasuhara vd., 1997). Plastik katkı maddeleri, endüstriyel ve belediye atık suları, atmosferik çökeltme, tarımsal atıksu arıtma çamurunun nehir ile taşınımı gibi birçok yolla deniz ortamına salınmaktadır (Hermabessiere vd., 2017). Katkı maddelerinin çevresel ortama sızması hem üretici hem de çevre için istenmeyen bir olaydır (Teuten vd., 2009).

Katkıların kaybı polimer ömrünün azalmasına sebep olmakla birlikte canlı organizmalar da ortama salınan katkılara maruz kalmaktadırlar (Teuten vd., 2009). Okyanuslarda plastik birikimi ve parçalanması sonucunda sızan katkı maddeleri sucul canlılar için ekotoksikolojik risk teşkil edebilmektedir (Hermabessiere vd., 2017). Yapılan çalışmalarda kentsel atıkların sızıntı sularında Bisfenol A (BPA), ftalatlar ve alkilfenollerin bulunduğu ve sucul yaşamı tehlikeye soktuğu bildirilmiştir (Asakura vd., 2004; Deng vd., 2006; Fürhacker vd., 2000; Yasuhara vd., 1997).

Plastik katkı maddeleri temel olarak 4 ayrı kategoride incelenirler (Hahladakis vd., 2018);

- Fonksiyonel katkı maddeleri (stabilizatörler, antistatik maddeler, alev geciktiriciler, plastikleştiriciler, yağlayıcılar, kaydırıcı maddeler, kütleme maddeleri, köpük oluşturuıcı maddeler, biyositler, vb.)
- Renklendiriciler (pigmentler, çözünür azorenlendiriciler, vb.)
- Dolgu maddeleri (mika, talk, kaolin, kil, kalsiyum karbonat, baryum sülfat)
- Destek maddeleri (cam elyafları, karbon elyafları).

Katkı kimyasallarının plastikteki konsantrasyonu (% ağırlık) özelliklerine göre değişmekle birlikte genellikle çok yüksektir. Katkı kimyasalları alıcı ortamlarda dönüşüme

uğrayabilir ve tam olarak anlaşılamayan çeşitli toksisite mekanizmalarıyla farklı metabolitlere parçalanabilirler (Capolupo vd., 2020; Jeong & Choi, 2020). Bu nedenle plastikte bulunan katkı kimyasalları, çevrede bunlara maruz kalan organizmalar için ciddi anlamda yüksek potansiyel risk teşkil edebilmektedir (Barrick vd., 2021; Hahladakis vd., 2018; Hermabessiere vd., 2017).

Yaygın olarak kullanılan katkı maddelerinden bazıları (bromlu alev geciktiriciler, ftalatlar, nonilfenoller, BPA ve antioksidanlar) kalıcı organik kirleticiler (POP) olarak tanımlanmış ve endokrin bozucu özelliklerinden dolayı bazı ülkelerde kullanımları kısıtlanmıştır (Hermabessiere vd., 2017; OECD, 2018).

Plastik katkı maddelerini değerlendiren birçok çalışma kanıtlanmış toksisiteleri sebebiyle BPA ve ftatlara odaklanmıştır (Kim vd., 2019; Oehlmann vd., 2009).

BPA'nın, gıda ile temas eden malzemelerde kullanımını ile ilişkili Avrupa Birliği yönetmeliği bulunmaktadır (EU, 2018). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından daha önce 4 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olan günlük alınabilir BPA limit değeri (ADI), 19 Nisan 2023 tarihinde 0,2 ng/kg vücut ağırlığı olarak güncellenmiştir (EFSA, 2023). Ancak, analitik zorluklardan dolayı bu bileşiğin deniz suyundaki dağılımı ve bunların deniz besinleri ağına aktarımı hakkında çok az şey bilinmektedir.

Bu çalışma ile ülkemiz ortalaması üzerinde yağış alan, hem iklimsel hem de arazi şartları ve dere yataklarına yapılan müdahaleler sonucu sel riski yüksek olan Güneydoğu Karadeniz kıyısında yer alan nüfus yoğunluğu farklı iki şehirde (Trabzon ve Giresun) farklı antropojenik etkilere maruz kalan lokasyonlarda seçilen istasyonlardan elde edilen biyota (mezgit (*Merlangius merlangus*), barbunya (*Mullus barbatus*) ve midye (*Mytilus galloprovincialis*)) örneklerinde BPA düzeyleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında hem deniz canlılarında hem de bu canlıların tüketimi sonucu insanlarda birikim yapan BPA'nın alansal farklılığı ortaya konulmuştur.

1.1. Araştırma Materyalleri

Sucul ekosistemlerin önemli bileşenleri olan balıklar hem ekolojik hem de ekonomik açıdan önemlidirler. Balıklar, besin zincirinin yüksek trofik seviyelerinde yer aldıkları için kirleticileri bünyelerinde biriktirmektedirler. Bu nedenle, özellikle demersal balıklar denizlerde kimyasal kirliliğin izlenmesi amacıyla kullanılabilirler (Alkan vd., 2012).

Bununla birlikte beslenme şekilleri sebebiyle midyeler de bulunduğu bölgede biyoindikatör olarak kullanılabilmektedirler (Regoli vd., 1993).

Bu çalışmada mezgit, barbunya ve midye numunelerinde BPA seviyeleri araştırılmıştır.

1.1.1. Mezgit (*Merlangius merlangus*, Nordmann, 1840)

Semi-pelajik bir tür olan mezgit genellikle suların 30-100 m derinliklerinde ve sedimente yakın bölgelerde bulunurlar (Aydın vd., 2008). Karnivor beslenen mezgitle hamsi, istavrit, çaça, sardalya gibi küçük pelajik balıklarla birlikte deniz sedimentinde bulunan yengeç, karides ve demersal balık yumurtalarını tüketmektedirler (Özdemir vd., 2018). Mezgit balığı etinin kimyasal kompozisyonuna bakıldığında %15,5 protein ve %1,5 yağ içerdiği görülmektedir (Bilgin & Bilgin, 2018).

1.1.2. Barbunya (*Mullus barbatus*, Lamarck, 1819)

Demersal bir tür olan barbunya genç bireylerinin zooplanktonla, ergin bireylerinin ise poliketler, küçük eklembacaklı kabuklular, yumuşakçalar ve daha küçük boyutlu balıklarla beslenmektedirler (Ivanov ve Beverton, 1985). Barbunya balıkları yazın ilk 20 m, kışın 50-100 m derinliklerde dağılım göstermektedirler (Aydın vd., 2008). Demersal olan barbunyalar avlandıkları bölgeyi temsil edebileceğinden biyoindikatör olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Alkan vd., 2012). Barbunya balığı etinin kimyasal kompozisyonuna bakıldığında ortalama %19,5 protein ve %6,77 yağ içerdiği görülmektedir (Tulgar, 2008).

1.1.3. Midye (*Mytilus galloprovincialis*, Linnaeus, 1758)

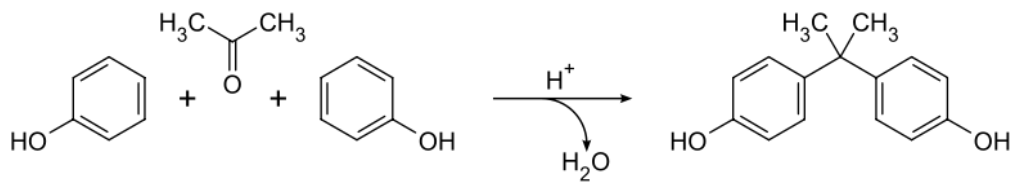
Ilıman kıyı sularında kayalar, bentler ve yüzer iskele gibi habitatlarda hareketsiz ve işgalci tür olarak hayatını sürdüren midye, su kolonundan alg, bakteri, fitoplankton ve diğer küçük partikülleri süzerek beslenir. Midye etinin kimyasal kompozisyonuna bakıldığında ortalama %12,04 protein ve %1,82 yağ içerdiği görülmektedir (Atasaral Şahin, 2011; Koral ve Süleyman, 2016).

1.2. Bisfenol A (BPA)

Bisfenoller, en yaygın bilinen çeşidiyle Bisfenol A (BPA), polikarbonat (PC) plastiklerin (biberonlar ve yiyecek kapları gibi gıdayla temas eden malzemelerde kullanılan) ve epoksi reçinelerin (konserve yiyecek ve içecekler için koruyucu astar olarak ve cam kavanoz ve şişelerin metal kapaklarında kaplama olarak kullanılır) üretiminde ara madde olarak kullanılan endüstriyel bir kimyasaldır. 2,2-bis (4-hidroksifenil) propan, yaygın adı ile BPA, 1891 yılında Alexander P. Dianin adlı bir Rus kimyager tarafından, iki fenol ve bir aseton molekülünün hidrojen klorür ve iyon değiştirme reçinesi katalizörleri eşliğinde gerçekleştirilen yoğunlaştırma reaksiyonuyla ilk sentezlenen ve en fazla kullanılan bisfenoldür (Şekil 1) (Ohore & Zhang, 2019; Staples vd., 1998).

Genelde yanlış bir şekilde etiketlenmesine rağmen BPA bir plastikleştirici değildir. BPA, stabilizatörler, antioksidanlar ve ultraviyole (UV) stabilizörleri türü plastik katkı maddeleri grubuna girmektedir. BPA, UV ışığa maruz kaldığında plastiklerin genel oksidatif bozunmasını geciktirmek için çeşitli polimer reçinelere emdirilir (Cadogan & Howick, 2000; Hahladakis vd., 2018).

BPA yaygın olarak organik çözücülerde çözünen, suda zayıf çözünürlüğe sahip renksiz bir katıdır. (Abraham & Chakraborty, 2020; Chen vd., 2018; Regueiro & Wenzl, 2015). Molekül ağırlığı 228,29 g/mol olup erime noktası 156 °C, kaynama noktası ise 220 °C'dir (5 hPa basınç altında) (Almeida vd., 2018; Michalowicz, 2014).

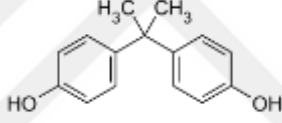


Şekil 1. BPA'nın kimyasal sentez basamakları

BPA iki büyük fenil grubuyla birlikte iki tane elektron bakımından zengin hidroksil (veya alkol) grubu ve 2 metil grubu içermektedir. Hidroksil gruplarının varlığından dolayı yüksek reaktiviteye sahip olup, diğer fenoller gibi eter, ester ve tuzlara dönüştürülebilir. Ayrıca nitrasyon, sülfonasyon ve alkilasyon gibi çeşitli grupların eklenmesiyle farklı BPA türevleri oluşturulabilir (Almeida vd., 2018; Gupta, 2014; Michalowicz, 2014).

BPA'nın suda çözünürlüğü 25 °C'de 120-300 mg/L, yarılanma ömrü ise suda 38, toprakta 75, sedimentte 340 ve havada 0,2 gündür (Corrales vd., 2015; Liu vd., 2019). BPA alkali ortamlarda (pKa 10,29±0.69) çözünen ve orta derecede birikim potansiyeli gösteren bir biyoakümülatördür (EPA, 2014; Corrales vd., 2015; Groshart & Okkerman, 2001). ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri verilerine göre BPA için log K_{ow} değeri 3,64±0,32'dir (Heinonen vd., 2002; Staples vd., 1997). Log K_{ow} değeri BPA'nın düşük biyobirikim potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Ancak BPA sucul ekosisteme sürekli girdiğinden dolayı ortamda kalıcı olabilmektedir (Balbi vd., 2016; Groshart & Okkerman, 2001). BPA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. BPA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri (Groshart & Okkerman, 2001)

Bileşen	Bisfenol A (BPA)
CAS no	80-05-7
Kimyasal formül	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Molekül ağırlığı (g/mol)	228,29
Fiziksel özelliği	Beyaz-açık kahverengi pullar veya toz
Kimyasal yapısı	
Erime noktası (°C)	156
Kaynama noktası (°C)	5hPa, 220
Bağıl yoğunluk (25 °C/25 °C)	1,195
Dekompozisyon noktası (°C)	220
Buhar basıncı (Pa)	25 °C'de 5,32x10 ⁻⁷
Çözünürlük (Suda) 25 °C'; mg/L)	120-300
Çözünürlük (28 °C; g/kg)	CCl ₄ , kısmen Benzen, çözünür
Log K _{ow}	3,64±0,32

BPA, serbest formda kısmen lipofilik olup tipik olarak yağ dokusu ve rezervlerinde ve anne sütünde bulunur (Gupta, 2014).

BPA'nın biyoakümülasyonu, sorpsiyon kapasitesi ve sucul ortamdaki toksisitesi tuzluluk, pH ve sıcaklık gibi çevresel koşullara göre değişmektedir. Yapılan çalışmalara göre BPA'nın deniz ortamında tatlı su ortamına göre daha kalıcı olabildiği, muhtemelen deniz canlılarında tatlı su canlılarına göre daha yüksek birikim yaptığı ve buna bağlı olarak daha fazla olumsuz etkiye sebep olabileceği belirtilmiştir. Tuzluluk oranının artmasıyla birlikte BPA'nın Log K_{ow} değerinin arttığı, dolayısıyla deniz ortamında BPA'nın daha yüksek

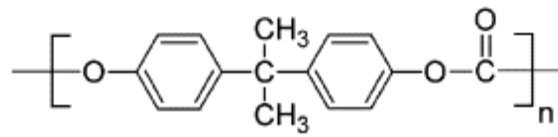
biyoakümülyasyon ve daha yüksek sediment adsorpsiyonu göstermesi sonucu özellikle bentik beslenen balıklarda daha yüksek biyomagnifikasyon potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir. (Borrirukwisitsak vd., 2012; Geyer vd., 2000; Major vd., 1991; Bangedphol vd., 2009).

1.3. BPA Kullanım Alanları

Dünya çapında en çok üretilen ve kullanılan kimyasallardan birisi olan BPA, farklı uygulama alanlarında 2015 yılında 7,7 milyon ton, 2016 yılında 8 milyon ton tüketilmiş olmakla birlikte, %4,8'lik yıllık büyüme oranıyla 2022 yılında tüketimin 10,6 milyon tona ulaşması beklenmektedir (Almeida vd., 2018; Duenas-Moreno vd., 2022; Wang vd., 2021).

BPA'nın %65-70'i polikarbonatların üretiminde, %25-30'u epoksi reçineleri ve vinil ester reçinelerin üretiminde kullanılmaktadır (Michalowicz, 2014; EU, 2008; Vasiljevic & Harner, 2021). Kalan %5'i, birkaç yüksek performanslı plastiğin ana bileşeni olarak ve PVC, poliüretan, termal kağıt ve diğ er birçok malzemede küçük katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Tsai, 2006; Vandenberg vd., 2007).

BPA'nın en fazla kullanıldığı polimer olan polikarbonatlar, termoplastiklerin özel bir grubudur. İşlenmesi, kalıplanması, ısıl olarak şekillendirilmesi kolaydır. En yaygın polikarbonat plastik tipi, BPA grupları ile bağlanmış karbonat gruplarının oluşturduğu polimer zincirlerine sahip olanıdır (Şekil 2) (Margolis, 2006).



Şekil 2. BPA ile üretilmiş polikarbonat tipi

Epoksi reçineler ise en basit yapıştırma işlemlerinden, elektronik, inşaat, otomotiv ve ambalaj endüstrilerine kadar kullanılan bir malzemedir. Aşınmaya ve kimyasallara olan direnci sayesinde birçok sektörde tercih edilen bir polimerdir. Denizcilik, elektrik-elektronik, otomotiv ve benzeri sektörlerde kompozit parçaların üretiminde kullanılmaktadır. Aynı zamanda hastane, laboratuvar, üretim tesisleri, restoranlar, havuz ve hamam gibi yerlerde de dayanıklılık ve antibakteriyel özelliği sayesinde sıklıkla tercih edilen bir maddedir (Margolis, 2006).

BPA'nın polimer olmayan uygulamaları da mevcuttur; termal kağıtlarda renk geliştirme bileşeni, yüksek sıcaklıkta kablo ve lastiklerde antioksidant ve tetrabromo BPA (alev geciktirici) üretiminde reaktan olarak kullanılmaktadır (Almeida vd., 2018; Groshart & Okkerman, 2001; Heinonen vd., 2002).

BPA, termal kağıtlarda, yüksek sıcaklığa dayanıklı kablolarda ve kauçuk lastiklerde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalarda BPA, ana maddeyle kimyasal bir bağ oluşturmadığından dolayı üründen daha kolay ayrılabilir (Groshart & Okkerman, 2001). Termal kağıtlar serbest veya polimerize olmayan formda (ağırlıkça %2,3) BPA içerdiğinden, kağıt geri dönüşümü sırasında BPA kontaminasyonu meydana gelebilmektedir (Mendum vd., 2011; Russo vd., 2017).

Ayrıca, BPA ile ilişkili bileşikler (alkilfenoller), dış dolguları, teneke kutuların kaplama katmanları, şişe kapakları, CD'ler ve DVD'ler, elektronik ekipmanlar ve araç parçaları gibi günlük hayatta kullanılan çeşitli ürünlerde bulunmaktadır (Mendum vd., 2011; Russo vd., 2017). Bu ürünlerin bu kadar büyük kullanımı nedeniyle, BPA çeşitli ortamlara (toprak, deniz suyu, çöp sızıntı suları, kanalizasyon arıtma tesisi deşarjları) dağılmaktadır (Im & Loffler, 2016).

1.4. BPA'nın Çevre Üzerine Etkisi

BPA, yaygın olarak yiyecek kutularının iç kaplamalarında, giysi tasarımlarında, mağaza fişlerinde ve dış dolgularında kullanılmaktadır (Bjornsdotter vd., 2017; Geens vd., 2012; Noonan vd., 2011; Xue vd., 2017). BPA'nın ambalaj materyalleri ve kaplama malzemelerinden yiyecek ve içeceklere sızması nedeniyle gıdalar BPA maruziyetinin en önemli kaynağı olmakla birlikte, gıda dışı kaynaklar da BPA maruziyetine katkıda bulunmaktadır (Buckley vd., 2019; Freire vd., 2019).

Bisfenollerin ekosistemlere kontaminasyonu, üretim ve işleme aşamalarıyla birlikte çeşitli polimerlerin bozunması sonucu meydana gelmektedir (Liu, J. vd., 2021). Ürünlerin üretim, kullanım, eskime ve imha edilmesi süreçlerinde bisfenoller ve bozunma ürünleri doğaya salınmakta, bununla birlikte atmosferik taşınım, endüstriyel atık su deşarjı, yüzey akışı ve kentsel kanalizasyon yollarıyla da sucul alanlara girmektedirler (Usman & Ahmad, 2016). Gıda işleme tesisleri ve tekstil temizlik şirketlerinin atık sularında yüksek miktarlarda bisfenollere rastlanılmıştır. Bebek çoraplarında bile BPA'nın tespit edilmesi, tekstil ürünlerinin de potansiyel bisfenol kaynağı olduğunu göstermektedir (Cesen vd., 2018). En

yüksek BPA konsantrasyonları çöp sahası sızıntı suları ve kağıt hamuru fabrikası atık sularında belirlenmiştir (Flint vd., 2012).

Deniz çöpünün büyük bir bileşeni olan plastik atıklar, deniz ortamında her yerde bulunmakta olup, uluslararası alanda giderek artan bir endişe konusu olarak kabul edilmektedir (Rochman vd., 2013; Teuten vd., 2009).

Balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliğinde doğal liflerden daha dayanıklı olduğu için sentetik liflerden elde edilen halat ve ağlar kullanılmaktadır. Tekne yapımı (boya ve kaplamalar), tekne bakımı, av araçları (balık ağları, trol ağları, tuzaklar, tarama ağları, şamandıralar, yemler), balık taşınan straforlar, balık kasa ve kutuları ve balık kafeslerinde plastik maddeler kullanılmaktadır. Bununla birlikte su ürünleri paketlenme ve taşımada da plastik malzemeler yaygın olarak kullanılmaktadır (Lusher vd., 2017). Birçok plastik, toksik bileşenler içerdiğinden veya diğer kirleticileri absorbe ettiğinden dolayı, kimyasal olarak zarar vermektedir (Browne vd., 2008; Rochman vd., 2013; Teuten vd., 2009; Uhrin & Schellinger, 2011). Yapılan çalışmalara göre plastiklerin parçalanarak denizel ortamda birikim yaptığı ve besin ağına sızdığı, balıklar, omurgasızlar ve mikroorganizmaların da mikropplastikleri (1µm- 5 mm) ve nanoplastikleri (<1 µm- 1 nm) yediği belirlenmiştir (Browne vd., 2011). Su ürünleri yetiştiriciliğinin sucul çevredeki plastik atık miktarına, dolayısıyla plastik katkı kimyasallarına katkısı bilinmemektedir (Lusher vd., 2017). Daha çok çalışmaya ihtiyaç olmakla birlikte, insanlar ve midyeler üzerinde yapılan çalışmalara göre bunların hücre ve dokularına girerek zarar verdiği, içerdikleri katkı kimyasallarının organizmalara geçtiği belirlenmiştir (Browne vd., 2011; Browne vd., 2008; Pauly vd., 1998).

Tüketim miktarlarının sürekli artması sonucu BPA doğada yaygın olarak bulunmakta, yüzey suları ve sedimentlerde konsantrasyonları sürekli artmaktadır (Czarny-Krzyszewska vd., 2023). Bisfenoller nehir, göl ve sığ deniz sedimentlerinde belirlenmiş olup balıklar ve diğer sucul canlılar yaşam döngülerinde bu kimyasallara maruz kalmaktadırlar (Liao vd., 2012).

Sucul canlıların üreme ve gelişmesine olumsuz etkisi sebebiyle BPA, sucul ekosistemler için potansiyel bir endişe kaynağıdır. BPA, hızlı indirgenmesine rağmen, sucul ekosisteme sürekli girdiğinden dolayı ortamda kalıcı olabilmektedir (Balbi vd., 2016). BPA sucul canlılar için yaklaşık 1-10 µg/L düzeylerinde akut toksik bir kimyasaldır (Alexander vd., 1988). Sucul ekosistemdeki konsantrasyonları ise 0,0005-12 µg/L olarak bildirilmiştir (Balbi vd., 2016).

1.5. BPA'nın Sağlık Üzerine Etkileri

Mevcut 'plastik çağı' sebebiyle milyonlarca ton BPA sadece çevresel ortamlarda değil, aynı zamanda bireylerin günlük yaşamlarında kullandığı yiyecek ve içecek ambalajlarında, tıbbi ekipmanlarda ve ev aletlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu nedenle insanlar sürekli olarak solunum, deri teması ve sindirim yoluyla BPA'ya maruz kalmaktadır (Chen vd., 2023; Vandenberg vd., 2007). Etkisi zayıf olmasına rağmen BPA içeren malzemelerin yaygınlığı sonucu maruziyetin sürekli olması endişeleri artırmaktadır (Blair vd., 2000). Yapılan çalışmalara göre, insanlar doğrudan veya dolaylı olarak çeşitli BPA konsantrasyonlarına (0,27-10,6 ng/mL) maruz kalmaktadırlar. Toz soluma, deri maruziyeti ve yutma yoluyla günde 30,76 ng/kg BPA'nın vücuda alındığı tahmin edilmektedir. İnsanlarda BPA maruziyetinin en önemli yolunun %90 oranında yutma yoluyla olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2016). ABD Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması'na (NHANES) göre nüfusun %90'ından fazlasının idrar örneklerinde BPA varlığı belirlenmiştir (Chen vd., 2023).

Bisfenollerin sağlık risklerine dair endişeler artış göstermektedir. BPA ve toksisitesi Dünya Sağlık Örgütü'nün yanı sıra (WHO) birçok ülkede halk sağlığı kurumları tarafından araştırılmaktadır (FAO & WHO, 2010; Hengstler vd., 2011; Myers vd., 2009; Peretz vd., 2014). BPA, Avrupa Kimyasallar Ajansı (ECHA) tarafından, üreme sistemine toksik ve önemli derecede kaygı uyandıran madde olarak sınıflandırılmıştır (Peretz vd., 2014).

Avrupa Birliği tarafından yaklaşık 900 kimyasal endokrin bozucu olarak tanımlanmış ve değerlendirilmiştir (EU, 2023; Plattard vd., 2021). Endokrin bozucu bileşikler endojen hormonları uyarabilen veya baskılayabilen, canlı organizmaların üreme ve gelişim süreçlerine müdahale eden eksojen maddelerdir (Czarny-Krzyszewska vd., 2023). Endokrin aktiviteye sahip iyi bilinen maddeler arasında sentetik hormonlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, poliklorlu bifeniller, BPA ve türevleri, ftalatlar, dioksinler ve doğal olarak oluşan kimyasallar (doğal hormonlar) yer alır (Czarny vd., 2017). Bunların arasında BPA, gündelik hayatta çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılan, en yüksek üretim hacmine sahip kimyasaldır (Huang vd., 2017).

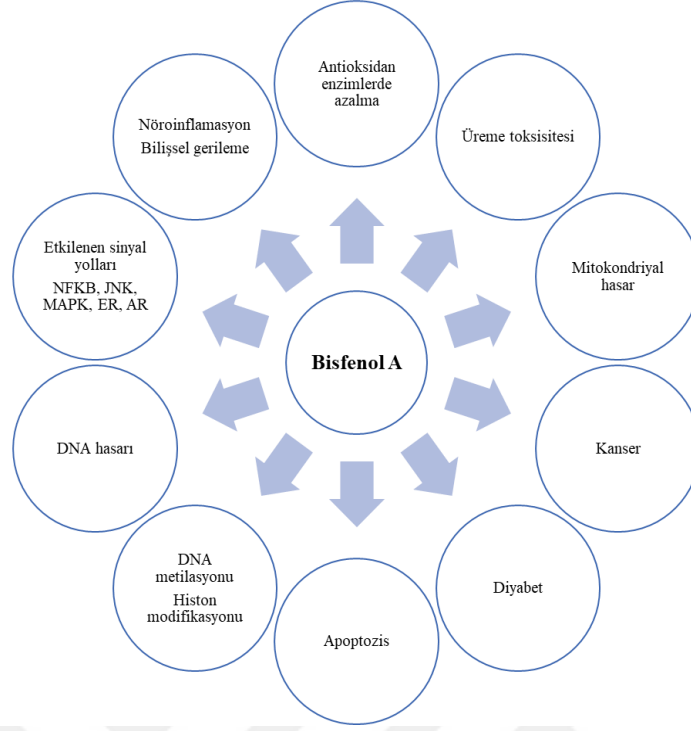
BPA, östrojenin vücuttaki etkilerini taklit eden hormon benzeri özellikler sergileyen bir zenoöstrojen olup, birçok çalışmada BPA ve metabolitlerinin östrojenik ve endokrin aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Danzl vd., 2009; Skledar vd., 2016; Vogel, 2012). BPA, endojen hormonların üretim, fonksiyon ve aktivitesini bozarak hipotalamus-hipofiz-gonadal

bezlerde ve hipofiz-adrenal fonksiyonda düzensizliğe neden olmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda bile üreme sistemine olumsuz etki etmektedir (Matuszczak vd., 2019; Mukhopadhyay vd., 2022). Ayrıca BPA, bağışıklık sistemini baskılayabilmekte ve T hücreleri ile antioksidan genleri bozabilmektedir (Taraftar vd., 2022).

BPA'nın insan sağlığına etkileri üzerine yapılan çalışmalarda, BPA maruziyetinin çocuk ve yetişkinlerde sinirsel ve davranışsal işlev bozuklukları dahil fizyolojik fonksiyonlar üzerinde olumsuz etkilere sebep olduğu bildirilmiştir (Rochester & Bolden, 2015; Song vd., 2014). Ayrıca BPA'nın kadınlarda meme, erkeklerde prostat kanserine yol açtığına dair çalışmalar mevcuttur (Blair vd., 2000).

Endokrin bozucu bir kimyasal olan BPA'nın östrojen benzeri ve anti-androjen özellikler göstererek üreme sistemi, bağışıklık sistemi ve nöroendokrin sistemi de dahil olmak üzere vücudun doku ve organlarında önemli hasara neden olduğu belirtilmiştir (Taraftar vd., 2022). BPA'nın başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Chen vd., 2023).

Farklı vücut sistemlerine olan toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalara göre BPA'nın erkeklerde sperm kalitesini düşürerek üreme sistemine zarar verdiği, kadınlarda yumurtalık hastalıklarına sebep olduğu, erkek çocuklarda boy uzamasını azalttığı, kardiyovasküler işlev bozukluklarına sebep olarak hipertansiyon riskini artırdığı, idrar seviyesinde artışının akciğer fonksiyonlarını etkileyerek astımı tetiklediği, böbrek fonksiyonlarında bozulmalara sebep olduğu, kadınlarda tip 1 diyabeti artırdığı, otizm spektrum bozukluğunu tetiklediği bildirilmiştir (Şekil 3) (Amin vd., 2019; Kataria vd., 2017; Metwally vd., 2018; Özel vd., 2019; Savarese vd., 2019; Tian vd., 2018; Wang vd., 2019; Youssef vd., 2018). Ayrıca idrarda belirlenen yüksek BPA miktarlarının yetişkinlerde kardiyovasküler mortalite ile ilişkili olduğu, bu etkinin kadınlarda erkeklere göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2023).

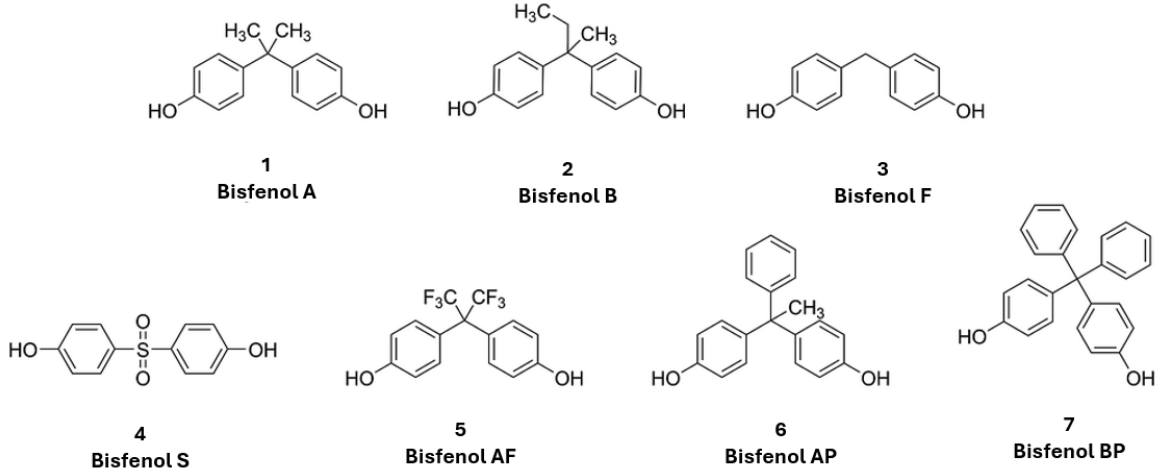


Şekil 3. BPA toksisitesi (Tarafdar vd., 2022)

Düşük dozda BPA'nın özellikle üreme, sinir sistemi ve davranış gelişimi üzerinde insan sağlığına olumsuz etkilerinin olabileceği konusundaki belirsizlikler ışığında ve çok küçük çocukların yetişkinlere kıyasla nispeten daha yüksek maruziyetleri dikkate alındığında, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Birleşmiş Milletler ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), BPA'nın güvenliğini değerlendirmek üzere ortak birçok uzman toplantıları düzenlemiş, BPA'nın toksik etki göstermesi ihtimalinden dolayı birçok ülkede biberonlarda kullanımı yasaklanmıştır. Bunun sonucunda da bebeklerde BPA maruziyetinin azaldığına dair bazı kanıtlar bulunmaktadır (Huang vd., 2018).

BPA'nın yaygın kullanımı, doğada her yer yerde bulunması, toksisitesi ve endokrin bozucu etkisi göz önüne alındığında birçok üründe kullanımına kısıtlama ve yasaklar getirilmiştir (Frankowski vd., 2020). Kanada 2010 yılından bu yana biberonlarda BPA'yı yasaklayan ilk ülke olmuştur. Bunu sırasıyla 2011 ve 2012 yıllarında polikarbonat biberonlarda kullanımını yasaklayan Avrupa Birliği ve ABD takip etmiştir (EU, 2011; FDA, 2012; Canada, 2010). Avrupa Birliği termal kağıttan kaynaklanan BPA maruziyetini azaltmak amacıyla BPA içeriğini 2020'den bu yana ağırlıkça %0,02'nin altına düşürmüştür. Fransa'da gıda ambalajlarında, Avrupa Birliği 1223/2009 Komisyon Direktifi'ne göre ise kozmetiklerde BPA kullanımı yasaklanmıştır (Czarny-Krzyminska vd., 2023).

İnsan sağığına olumsuz etkileri sebebiyle BPA kullanımıyla ilgili endişeler artınca endüstriyel sektörde alternatif kimyasallar arama yoluna girilmiş, kademeli olarak bisfenol türevleri kullanılmaya başlanmıştır. Bu kimyasalların orijinalleri kadar, hatta daha fazla zararlı olabileceğinden dolayı ‘üzücü ikameler’ olarak adlandırılmışlardır (Belfroid vd., 2002; Rochester & Bolden, 2015). Bisfenol S (BPS) ve bisfenol F (BPF) gibi alternatif bisfenoller kullanılarak üretilen, BPA içermeyen plastikler de piyasaya sürülmüş olup, bunların gerçekten daha güvenli olup olmadığı konusunda da tartışmalar vardır (Chen vd., 2016; Thoene vd., 2020). İnsan ve çevresel toksisitelerinin ve maruziyet yollarının BPA ile benzer olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. BPA, BPS ve alkilfenollerin biyobirikimli olduğu ve canlı organizmaların endokrin sistemlerini etkilediğı ve insan sağığına zararlı olduğu yapılan bazı çalışmalarda ifade edilmiştir (Ahmed, 2016; Gramec Skledar & Peterlin Masic, 2016; Skledar vd., 2016). BPA türevlerinin BPA’dan daha sitotoksik etki gösterebileceğı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda bisfenol türevlerinin benzer molekül yapıları ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle BPA ile benzer toksikolojik etkiler gösterdiği, hormonal açıdan BPA kadar aktif olduğu, aynı BPA gibi organizmaların büyümesini teşvik eden tiroid hormonlarını bozduğu raporlanmıştır (Lee vd., 2019; Liu, J vd., 2021; Rochester & Bolden, 2015; Song vd., 2014). Mevcut veriler, bisfenollere maruz kalmanın tiroid hormonu, enzim aktivitesi, gen hasarı ve kromozomal anormallikler gibi endokrin sistem bozukluklarına sebep olabileceğini desteklemektedir (Liu, J. vd., 2021). Liu, J. vd, (2021)’e göre BPF en yüksek ekolojik riski gösterirken bunu BPA ve BPS takip etmektedir. Su piresi (*Daphnia magna*) üzerinde yapılan bir çalışmada ise BPA’nın BPF ve BPS’den daha yüksek toksisite gösterdiği bildirilmiştir (Danzl vd., 2009). En yaygın kullanılan Bisfenol A’nın türevleri Şekil 4’te verilmiştir.



Şekil 4. BPA türevleri

1.6. Yasal Düzenlemeler

Yapılan çalışmalara bağlı olarak Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından daha önce 4µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olan günlük alınabilir BPA limit değeri (ADI), 19 Nisan 2023 tarihinde 0,2 ng/ kg vücut ağırlığı olarak güncellenmiştir (EFSA, 2023).

Ülkemizde biberon gibi bebek beslenmesinde kullanılan polikarbonat malzemelerin üretiminde BPA'nın kullanımı yasaklanmış olup Türk Gıda Kodeksi, Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği'nde (Türk Gıda Kodeksi, 2019) BPA için spesifik migrasyon limiti (SML) (0,6 mg/kg) olarak belirlenmiştir. Spesifik migrasyon limiti; madde veya malzemedan gıdaya veya gıda benzerine geçen belirli bir maddenin izin verilen maksimum miktarı olarak tanımlanmakta olup, ambalajdan gıdaya geçebilecek miktarı göstermektedir. Bunun dışında ülkemizde BPA ile ilgili herhangi bir yasal düzenleme bulunmamaktadır.

1.7. BPA Analiz Metotları

Bisfenol A ve türevleri (bisfenol F (BPF), bisfenol B (BPB), bisfenol Z (BPZ), bisfenol AP (BPAP), bisfenol AF (BPAF), bisfenol S (BPS), bisfenol P (BPP)) iki fenolik halkanın karbon veya diğer kimyasal yapılar ile birleşmesi sonucu oluşan, benzer yapıya sahip

kimyasal bir sınıftır (Peng vd., 2020). BPA ve türevlerinin farklı çevresel örneklerde belirlenebilmesi önemlidir. Çevrede mevcut olan bisfonellerin düşük konsantrasyonlarda bulunması, analiz süresinin %80'inden fazlasının numune toplama ve hazırlama için harcanmasından dolayı, analitik proseste örnek hazırlama aşaması çok önemlidir. Ekstraksiyon metodlarında örnek hazırlama aşamasının geliştirilmesinde spesifik özellik ve etkileşimlere sahip sorbentlerin hazırlanması üzerine yoğunlaşmıştır. Sorbent bazlı ekstraksiyonlarda yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip malzemelerin kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan teknikler; katı faz ekstraksiyonu (SPE), katı faz mikro ekstraksiyonu (SPME), manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE), dispersif katı faz ekstraksiyonu (DSPE), manyetik dispersif katı faz ekstraksiyonu (MDSPE)'dur. Bu tekniklerin sıvı-sıvı ekstraksiyon gibi diğer klasik ekstraksiyon yöntemlerine göre belirgin avantajları bulunmaktadır (Farré vd., 2010; Naing vd., 2016).

1.7.1. Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (SPME)

Katı faz mikroekstraksiyonu, modifiye edilmiş bir mikro şırıngaya bağlı uygun bir sabit fazla kaplanmış erimiş silika fiber kullanan, solvent içermeyen bir numune hazırlama tekniğidir. SPME 2 aşamadan oluşmaktadır; ilk olarak analitlerin sıvı veya buhar haldeki numune matrisi ile fiber kaplama arasında ayrışması, daha sonra konsantre ekstraktın fiberden analitik cihaza (genellikle GC) termal olarak desorpsiyonunu içerir (Ridgway vd., 2007).

1.7.2. Manyetik Katı Faz Ekstraksiyonu (MSPE)

Manyetik katı faz ekstraksiyonunda analit içeren bir çözelti veya süspansiyon içerisine bir sorbent yerleştirilir. Organik veya inorganik malzemelerden oluşan nanometre boyutundaki küçük moleküllerin (nano parçacıklar) analitlerle doğrudan teması katı yüzeylerde seçici adsorpsiyonu sağlar. Adsorbe edilmiş analitler içeren sorbent daha sonra numunenin santrifüjlenmesine veya filtrelenmesine gerek kalmadan ekstraksiyon kabının dışına yerleştirilen harici bir manyetik alan (mıknatıs) kullanılarak çözülden ayrılır. Analitin sorbent yüzeyinden desorpsiyonu uygun bir solvent kullanılarak gerçekleştirilir. Ekstraksiyon işleminin tamamlanmasından sonra sorbent rejenere edilir ve ekstrakt, analitlerin nicel olarak tespit edilmesi ve belirlenmesi amacıyla analitik cihaza verilir (Chen vd., 2022; Wierucka & Biziuk, 2014).

1.7.3. Dispersif Katı Faz Ekstraksiyonu (DSPE)

SPE tekniğinin çeşitlerinden birisi de ekstraksiyon işleminin kolon, disk veya kartuş yerine sıvı numunede dağılmış materyal kullanılarak gerçekleştirildiği dispersif katı faz ekstraksiyon tekniğidir (Wen, 2020; Zhang vd., 2020). DSPE, genellikle silika veya polimer bazlı katı bir sorbentin doğrudan numune çözeltisine eklenmesinden oluşur. Dispersiyon işlemi sorbent ile analit arasındaki temas alanını artırır. Dispersiyonun ardından sorbent, bir santrifüjleme veya filtreleme işlemiyle ayrılır. Katı faz ayrıldıktan sonra, sorbentin yüzeyinde adsorbe edilen analitler, organik çözücülerin eklenmesiyle kolayca ayrıştırılabilirler (Islas vd., 2017).

1.7.4. Manyetik Dispersif Katı Faz Ekstraksiyonu (MDSPE)

Manyetik nanopartiküllerin analitik kimyada kullanılması ile birçok analitik proses kolaylaşmaktadır. Manyetik ayırmanın avantajlarını geleneksel DSPE tekniğiyle birleştiren MDSPE tekniği, hızla gelişen bir numune ön işleme teknolojisidir. Bu yöntemde ayırma ve zenginleştirme, adsorban ilavesi, ardından manyetik ayırma ve hedef bileşenin ekstraksiyon çözeltisinden desorpsiyonu ile gerçekleştirilir. Adsorban olarak kullanılan manyetik nanopartiküller santrifüjleme veya filtrelemeye gerek kalmadan hızla ayrılabilirler (Chen vd., 2022).

1.7.5. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Katı faz ekstraksiyon tekniği, ayırma işleminin katı bir sorbent üzerinden analiti içeren sıvı bir numunenin geçirilmesi ile yapılan bir yöntemdir (dos Ramos, 2000).

Katı faz ekstraksiyonu ilk olarak 1970'lerin ortasında bulunmuş olup, 1978'de ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Çevresel örneklerin ön işleminde kullanılan bu teknik, en yaygın kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden birisidir (Gil García vd., 2017; Hennion, 1999; Ji vd., 2017).

Sorbent ve analitler arasındaki etkileşim mekanizmasına dayanan katı faz ekstraksiyon tekniği; analit geri kazanımında mükemmel performansı, ayırmak için çeşitli sorbentlerin kullanılabilirliği ve farklı ortamlardan hedef analitlerin ön konsantrasyonu gibi avantajları sebebiyle sıvı-sıvı ekstraksiyonla birlikte kullanılan temel tekniklerden birisidir (Mohd Ali vd., 2023; Nasiri vd., 2020). Katı faz ekstraksiyonu, yüksek zenginleştirme faktörü, yüksek

geri kazanım, düşük solvent tüketimi, artan ekstraksiyon verimliliği, işlem kolaylığı, tekrarlanabilirlik ve otomasyona uygunluk ile çeşitli etkileşim mekanizmalarıyla (hidrojen bağı, kovalent bağ, π - π etkileşimi vb.) ekstraksiyonda seçicilik ve hassasiyet sağlayabilir (Liu, H. vd., 2021; Mohd Ali vd., 2023).

Katı faz ekstraksiyonu, günümüzde numunenin ekstraksiyonu ve saflaştırılmasında, özellikle karmaşık matrikslerde düşük analit konsantrasyonların belirlenmesinde en çok kullanılan tekniklerden birisidir. Solvent ekstraksiyonundan sonra ham ekstraktların temizlenmesinde ve BPA içeren gıdalardan BPA ekstraksiyonunda en çok kullanılan tekniklerden biridir. BPA için uygun sorbent gıda matriksinin türüne ve sorbentin özelliklerine (polar karakter ve hidrojen alıcı/verici grupların varlığı) göre belirlenmektedir. Hem seçici hem de seçici olmayan sorbentler, BPA'nın gıdalardan izolasyonunda mükemmel verimlilik göstermişlerdir. (Ballesteros-Gomez vd., 2009).

1.8. Biyolojik Örneklerde Uygulanan BPA Analiz Metotları

Gıda ve biyolojik örneklerde serbest ve toplam BPA'yı ölçmek için kullanılan yöntemlerin çoğunluğu doğruluk, kesinlik, geri kazanım ve tayin sınırı gibi belirli performans parametreleri açısından doğrulanmıştır. Çoğu yöntem, tek laboratuvar doğrulamasının gerekliliklerini karşılar. Ancak biyolojik numuneler için konjuge BPA'ya yönelik yöntemlerin validasyonu çok sınırlıdır. BPA ölçümüne yönelik yeterlilik testleri mevcut olmakla birlikte laboratuvarlar arası doğrulama çalışmaları henüz tamamlanmamıştır (Ballesteros-Gomez vd., 2009).

BPA'nın gıda maddelerinde eser seviyede bulunması ve gıda matrikslerinin karmaşıklığı nedeniyle, belirlenmesi için oldukça hassas ve seçici tekniklerin kullanılması gerekmektedir. Gıda ve biyolojik numunelerden BPA'nın ekstraksiyonunda solvent ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu en yaygın kullanılan ve en etkili yöntemlerdir. BPA'nın düşük seviyelerde bile zararlı etki göstermesi sebebiyle, BPA maruziyetini değerlendirmek için düşük tayin sınırına sahip analitik yöntemler geliştirilmiştir. Gıdalarda BPA'nın belirlenmesi daha çok LC/FL (sıvı kromatografi-floresans dedektör), LC/MS ve GC/MS (gazkromatografisi/kütle spektrometresi) ile gerçekleştirilmektedir (Ballesteros-Gomez vd., 2009).

1.8.1. Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (LC/MS)

LC ile BPA'nın belirlenmesi genellikle ters fazlı C18 kolonlarında gerçekleştirilir. Mobil fazlar LC'ye bağlanan dedektöre göre değişmektedir. Kütle spektrometresinin kullanımı, numune işleme aşamasını kısaltabilir ve belirli iyonların veya geçişlerin seçilmesiyle metodun tayin aşamasında analitin ekstraksiyonunu mümkün kılabilir. Bununla birlikte iyonizasyon verimliliğini ve arka plan gürültüsünü etkileyen matriks bileşenlerinin varlığını ve dolayısıyla tayin sınırını belirlediğinden LC/MS yönteminde örnek hazırlama aşamasının iyi yapılması çok önemlidir. LC/MS'e dayanan BPA analiz metodları LC/FL ve LC/EC'ye (sıvı kromatografi-elektrokimyasal dedektör) göre daha yüksek güven ve tanımlama sağlar. GC/MS ile karşılaştırıldığında ise zaman alan türevlendirme aşamasına gerek duyulmadığından kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Ballesteros-Gomez vd., 2009).

BPA'nın belirlenmesinden kullanılan MS yöntemlerinin çoğu geri kazanım oranının düşmesine neden olan numune hazırlama kayıplarını ve matriksin etkilerini (sinyalin bastırılması veya artırılması) gidermek için bir internal standart (IS) (iç standart) eklenmesini içermektedir. En çok kullanılan internal standartlar 4-nonilfenol (alkilfenollerin belirlenmesinde), döteryumlanmış BPA (BPA-d₁₆) ve ¹³C₁₂ izotopu işaretlenmiş BPA (¹³C₁₂-BPA)'dır.

Bu çalışmada BPA analiz metodu olarak üçlü kuadrapol kütle spektrometresinden oluşan Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) tekniği kullanılmıştır.

1.9. Önceki Çalışmalar

Romanya'nın Karadeniz kıyısında deniz suyu, sediment ve alglerde (*Enteromorpha*, *Cladophora*) endokrin bozucu kalıntı ve metabolitlerin araştırılması için yapılan çalışmada en yaygın görülen kirletici türleri; deniz suyunda BP-3 (2-hidroksi-4-metoksi-benzofenon), alglerde BP-3, BS (Benzil salisilat) ve BPE (Bisfenol E) olmuştur. BPA konsantrasyonları ise deniz suyunda 416 ng/L, sedimentte 0,8 ng/g kuru ağırlık ve alglerde 10,1 ng/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Çevresel risk değerlendirmesi sonucunda deniz suyu örneklerinde tespit edilen bisfenol türevlerinin Karadeniz'de bulunan deniz canlıları için tehlike arz ettiği bildirilmiştir (Chiriac vd., 2021).

Karadeniz'in İstanbul açıklarındaki sularda belirlenen BPA konsantrasyonlarının ise sucul canlılar için toksik kabul edilen seviyelerde (1-10 µg/mL, (Alexander vd., 1988; Flint vd., 2012)) olduğu bildirilmiştir (Kocaman, 2018).

Uzun süreli BPA maruziyetinin etkilerini belirlemek için gökkuşağı alabalığında yapılan bir çalışmada ilk 3 hafta balık ölümlerinin yanında, hemoglobin, lökosit, plazma kortizol seviyesinin anlamlı derecede yükseldiği, glutatyon peroksidaz aktivitesinin anlamlı derecede düştüğü ve solungaçlarda histolojik değişiklikler meydana geldiği gözlenmiştir (Minaz vd., 2022).

Mersin körfezi'nde avlanan 2 balık türünün *M. barbatus* (kırmızı kefal) ve *Liza ramada* (inci kefal) karaciğer dokusu örneklerinde belirlenen BPA seviyelerinin karaciğer ve gonad hasarına sebep olduğu bildirilmiştir (Yılmaz vd., 2016).

İskenderun Körfezi'nden avlanan Levrek (*Dicentrarchus labrax*), Çipura (*Sparus aurata*), Kefal (*Mugil cephalus*), ve Mercan (*Dentex macrophthalmus*) balıklarının kas dokularında BPA düzeylerine bakılmıştır. BPA seviyeleri yaş ağırlık cinsinden, Mercan balığında en yüksek 1,27 ng/g, ortalama 0,50 ng/g, Çipurada en yüksek 1,84 ng/g, ortalama 0,44 ng/g, Kefalde en yüksek 1,28 ng/g, ortalama 0,33 ng/g, Levrekte en yüksek 0,93 ng/g, ortalama 0,22 ng/g olarak belirlenmiştir. Türler arasında ortalama BPA seviyelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiş olup ($p>0,05$), bulunan değerlerin spesifik migrasyon limitinin altında olduğu belirtilmiş (TGK, 2019) ve BPA düzeylerinin periyodik olarak izlenmesi tavsiye edilmiştir (Günay, 2020).

Batı Akdeniz'de el değmemiş kıyısız alandan toplanan 33 çift kabuklu, 4 tür balık (24 birey) ve 3 tür deniz hıyarında (15 birey) plastik katkı kimyasalları (BPA, BPF, BPS, DEP, DEHP) düzeylerine bakılmış, Katkı kimyasalları en az balık dokusunda belirlenmiş olup sadece BPA seviyesi balıklarda çift kabuklulara göre daha yüksek bulunmuştur. En yüksek BPA düzeyi ise deniz hıyarı dokusunda belirlenmiştir. Bu çalışma ile doğal bir ortamda bile deniz canlılarının kirleticilere maruz kaldığı ve onları biyoakümülediği bildirilmiştir (Rios-Fuster vd., 2022).

Kuzey Basra Körfezi'nden avlanan çift kabuklularda yapılan BPA analizi sonucunda bazı çift kabuklularda (*Saccostrea* sp.) BPA seviyesinin 340,16 ng/g'a ulaştığı görülmüştür (Abootalebi Jahromi vd., 2020).

Hong Kong'ta yapılan bir çalışmada 10 farklı tür deniz balığında BPA analizi yapılmış, bütün türlerde BPA varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca 6 sene önce yaptıkları çalışmaya göre balıklarda 10 kat daha fazla BPA konsantrasyonu bulunduğu bildirilmiştir (Wong vd., 2017).

Bazı su ürünlerinde tespit edilmiş BPA derişimleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Bazı su ürünlerinde tespit edilen BPA derişimleri

Tür	Lokasyon	BPA konsantrasyonu (ng/g)	Kaynak
Karides (<i>Penaeus monodon</i>)	Singapur	13,3±8,4 (yaş ağırlık)	(Basheer vd., 2004)
Crab (<i>Portunus pelagicus</i>)		213,1±20,2 (yaş ağırlık)	
Kan midyesi (<i>Anadara granosa</i>)		56,5±40,0 (yaş ağırlık)	
Beyaz deniz tarağı (<i>Meretrix meretrix</i>)		27,4±29,1 (yaş ağırlık)	
Kalamar (<i>Loligo</i> sp.)		118,9±107,1 (yaş ağırlık)	
Akdeniz midyesi	Yunanistan	453,6 (kuru ağırlık)	(Gatidou vd., 2010)
Midye (<i>Bearded horse mussel</i>)		388,5 (kuru ağırlık)	
Dil balığı	Polonya-Rusya	430,4 (kuru ağırlık)	(Staniszewska vd., 2014)
Morina balığı		236,3 (kuru ağırlık)	
Ringa balığı		98,6 (kuru ağırlık)	
Nil tilapyası (<i>Nile tilapia</i>)	Tayvan	8,30 (yaş ağırlık)	(Lee vd., 2015)
Megalop		1,70 (yaş ağırlık)	
Pisi balığı (<i>Cirrhina molitorella</i>)	Hong Kong	2,0±5,2 x 10 ⁻¹ (yaş ağırlık)	(Wei vd., 2011)
Yayın balığı (<i>Claris fuscus</i>)		2,0±3,3 x 10 ⁻¹ (yaş ağırlık)	
Kocabaş Sazan		1,9±1,9 x 10 ⁻¹ (yaş ağırlık)	(Wei vd., 2011)

Tablo 2'nin devamı

Mandarin balığı	Hong Kong	$1,9 \pm 5,9 \times 10^{-1}$ (yaş ağırlık)	(Wei vd., 2011)
Yellow croaker		$0,9 \pm 0,8 \times 10^{-1}$ (yaş ağırlık)	
Çitari (<i>Sarpa salpa</i>)	Tiren denizi	90% BPA ile kontamine olmuş	(Mita vd., 2011)
Eşkina		83% BPA ile kontamine olmuş	
Kompozit balık örneği	Quebec City	0,48 (yaş ağırlık)	(Cao vd., 2011)
Balık homojenatı	Llobregat nehri	224 (kuru ağırlık)	(Jakimska vd., 2013)
Mavi midye (<i>Mytilus edulis</i>)	Hollanda	10 (kuru ağırlık)	(Belfroid vd., 2002)
Dil balığı		11 (kuru ağırlık)	
Midye	İspanya, Akdeniz	$8,26 \pm 0,30$ (kuru ağırlık)	(Alvarez-Munoz vd., 2018)
Uskumru	Atlantik kıyıları (İspanya)	$25,02 \pm 0,90$ (kuru ağırlık)	
Midye	İtalya, Akdeniz	$9,32 \pm 2,50$ (kuru ağırlık)	
Çipura	Diğer	$21,50 \pm 2,0$ (kuru ağırlık)	
Pavurya	Kuzey denizi (Hollanda)	$10,31 \pm 2,21$ kuru ağırlık	
Midye	Fransa, Manş denizi	$8,26 \pm 0,60$ (kuru ağırlık)	

Tablo 2'nin devamı

Sarı kanatlı tuna balığı	Porto, Portekiz	0,5 (yaş ağırlık)	(Cunha vd., 2017)
Dil balığı		1,1 (yaş ağırlık)	
Turuncu benekli orfoz	Hong Kong, Çin	8,97±5,88 (yaş ağırlık)	(Wong vd., 2017)
Hint yassıkafa		6,20±2,44 (yaş ağırlık)	
Koyu kuyruklu orfoz		4,11±5,86 (yaş ağırlık)	
Altın pompano		3,54±2,45 (yaş ağırlık)	
Büyük göz		3,03±0,78 (yaş ağırlık)	
Dil balığı		2,82±0,57 (yaş ağırlık)	
Sarı yüzgeçli orkinos		2,71±1,14 (yaş ağırlık)	
Sarı korvina		2,20±0,49 (yaş ağırlık)	
Altın yüzgeçli çipura		1,79±0,64 (yaş ağırlık)	
Benekli tavşan balığı		1,21±0,59 (yaş ağırlık)	

1.10. Çalışmanın Amacı

Bu çalışma ile Güneydoğu Karadeniz’de farklı nüfus yoğunluğu ve farklı antropojenik etkiler altında olan Trabzon ve Giresun şehir yerleşimlerinin kıyısız alanında belirlenen 4’er farklı istasyondan temin edilen mezgit, barbunya ve midye örneklerinde BPA düzeyleri katı-faz ekstraksiyon yöntemi ile tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu bağlamda günlük kişi başı ortalama tüketilebilir balık ve midye miktarları göz önüne alınarak EFSA tarafından güvenli kabul edilen günlük alınabilir BPA limit değerinin aşılp aşılmadığının belirlenmesi ve bu yönüyle halk sağlığı açısından balık ve midye tüketiminin güvenilirliğinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Kullanılan Cihazlar

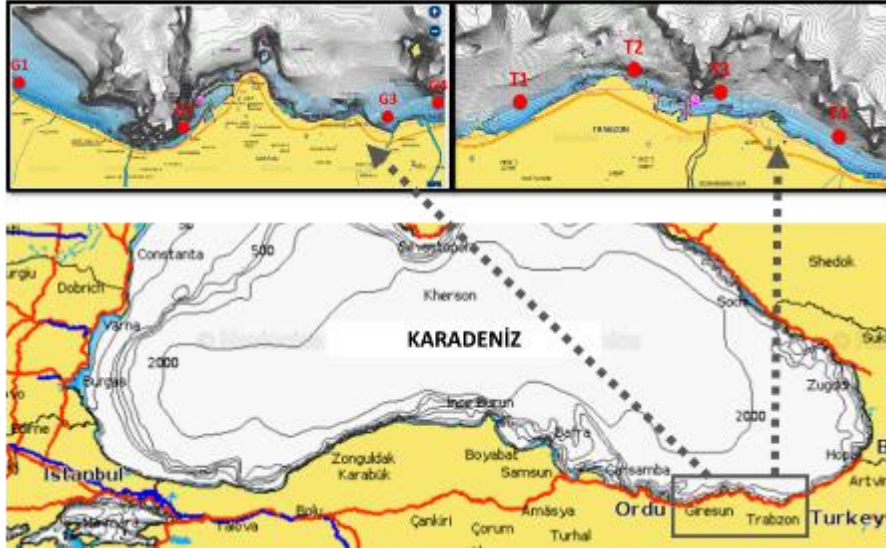
Çalışmalarda; Elga Flex 3 marka saf su cihazı, Heidolph marka vorteks, Bandelin Sonorex marka ultrasonik banyo, Shimadzu marka analitik terazi, Waring marka blender, Hermle Z 206 A marka santrifüj cihazı, Christ Alpha 1-2 LD plus marka liyofilizatör, Supelco visiprep, 12-port model ekstraksiyon düzeneği ve Shimadzu 8030 marka LC-MS/MS cihazı kullanılmıştır.

2.2. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmalarda; Kalibrasyon standartı (BPA, Sigma-Aldrich), Internal standart (BPA-d16, Sigma-Aldrich), Reçine (Water Oasis max 30 µm, mixed mode), aseton (CH_3COCH_3), (Merck), etil asetat ($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$) (Sigma-Aldrich), diklorometan (CH_2Cl_2) (Sigma-Aldrich) ve metanol (CH_3OH) (Supelco) kullanılmış olup, tüm kimyasallar analitik saflık derecesindedir.

2.3. Çalışma Alanı

Bu çalışma, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde farklı nüfus yoğunluğu ve farklı antropojenik etkiler altında olan Trabzon (nüfus; 816,684) ve Giresun (nüfus; 450,154) (TÜİK, 2021) şehir yerleşimlerinin kıyısal alanında belirlenen 4'er farklı istasyondan temin edilen mezgıt, barbunya ve midye örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Biyota örnekleme İlkbahar döneminde (Mayıs, 2022) yapılmıştır. Örnekleme yapılan istasyonların harita üzerinde görünümü Şekil 5'te, konumları ile ilgili bilgiler Tablo 3'te verilmiştir.



Şekil 5. Çalışma sahası

Tablo 3. Örnekleme istasyonları ve konum bilgileri

Örnekleme Yeri	İstasyon Kodu	Örnek Türü	Koordinatlar	Açıklama
Trabzon	T1	Midye	40.99748 °K 39.6599 °D	Kentsel etki
	T2	Midye	41.01197 °K 39.70723 °D	Eski katı atık depolama sahası ve kentsel etki
	T1-T2	Balık	T1-T2 istasyonları arasında kalan bölge	
	T3	Midye	41.00519 °K 39.76558 °D	Değirmendere deresi ve sanayi etkisi
	T4	Midye	40.98796 °K 39.81704 °D	Nispeten temiz alan / Referans
	T3-T4	Balık	T3-T4 istasyonları arasında kalan bölge	
Giresun	G1	Midye	40.9351228 °K 38.3047346 °D	Nispeten temiz alan / Referans
	G2	Midye	40.912206 °K, 38.371375 °D	Liman, kentsel etki ve Batlama deresi etkisindeki alan
	G1-G2	Balık	G1-G2 istasyonları arasında kalan bölge	
	G3	Midye	40.917662 °K, 38.400712 °D	Kentsel etki
	G4	Midye	40.914307 °K, 38.434090 °D	Sanayi ve kentsel katı atık toplama alanı ve Aksu deresi etkisi
	G3-G4	Balık	G3-G4 istasyonları arasında kalan bölge	

2.4. Örnekleme

Balık ve midye örnekleri Tablo 3’te belirtilen istasyonlardan temin edilmiştir.

Mezgit (*M. merlangus*) ve barbunya numuneleri (*M. barbatus*) her iki ilin kıyı şeridinde şehrin doğu ve batısını temsil edecek şekilde (Trabzon batı: T1-T2 arası bölge, Trabzon doğu: T3-T4 arası bölge; Giresun batı: G1-G2 arası bölge, Giresun doğu: G3-G4 arası bölge) olta balıkçılarından tedarik edilmiştir. Balık örneklerinin boy ve ağırlıkları alınmış, kas dokuları ayrılarak kompozit örnekler elde edilmiş ve analiz edilinceye kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Midye (*M. galloprovincialis*) örneklerinin boy, en, yükseklik ve ağırlıkları alınmış, kas dokuları ayrılarak elde edilen kompozit örnekler derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Biyota örneklerine ait fotoğraflar Şekil 6’da verilmiştir.

Balık örneklerine ait biyometrik ölçümler Tablo 4’te, midye örneklerine ait biyometrik ölçümler ise Tablo 5’te verilmiştir.



Şekil 6. Midye, mezgit ve barbunya örnekleri

Tablo 4. Balık (mezgıt ve barbunya) örneklerinin biyometrik ölçümleri

İstasyon Kodu	Parametre	Mezgıt			Barbunya		
		n	Ort±%95GA*	Min-Mak	n	Ort±%95GA*	Min-Mak
T1-T2	Boy (cm)	144	12,05 ±0,70	10,1-14,1	91	12,14 ±1,25	10,1-17,5
	Ağırlık (g)		12,88 ±2,30	7,63-20,29		18,58 ±7,20	9,71-52,13
T3-T4	Boy (cm)	106	13,42 ±1,26	11,2-16,9	79	13,09 ±1,41	10,5-19,0
	Ağırlık (g)		18,34 ±5,50	10,65-35,18		24,72 ±9,39	12,77-75,28
G1-G2	Boy (cm)	92	14,44 ±1,15	12,0-19,0	72	14,12 ±1,23	12,0-16,7
	Ağırlık (g)		14,94 ± 3,55	9,21-32,17		24,25 ±7,50	12,26-45,00
G3-G4	Boy (cm)	90	13,87 ±1,04	11,0-17,0	106	12,64 ±1,15	10,6-22,5
	Ağırlık (g)		19,72 ±4,55	10,99-34,18		16,10 ± 2,34	9,08-23,53

* Güven aralığı

Tablo 5. Midye örneklerinin biyometrik ölçümleri

İstasyon Kodu	n	Ölçümler	Ort±%95GA*	Min-Mak
T1	143	En (mm)	20,44 ±2,93	14,0- 29,6
		Boy (mm)	35,92 ±3,35	27,8- 44,4
		Yükseklik (mm)	11,79 ±1,84	7,8- 18,0
		Ağırlık (g)	6,19 ± 1,67	3,2- 12,0
T2	114	En (mm)	22,32 ±3,1	17,8-35,6
		Boy (mm)	38,5 ±4,67	30,8-56,8
		Yükseklik (mm)	13,55 ±2,72	9,4-23,8
		Ağırlık (g)	8,11 ±3,14	4,1-22,5
T3	88	En (mm)	29,29 ±5,13	18,0- 46,0
		Boy (mm)	52,69 ±8,47	35,0- 76,8
		Yükseklik (mm)	19,59 ±4,16	10,8- 30,2
		Ağırlık (g)	16,90 ±8,67	4,35- 51,15
T4	160	En (mm)	18,19 ±2,55	8,8- 26,0
		Boy (mm)	35,15 ±3,45	27,7- 44,2
		Yükseklik (mm)	11,00 ±1,76	7,2- 17,8
		Ağırlık (g)	5,20 ±1,77	2,59- 11,4
G1	125	En (mm)	21,62 ±2,73	17,0- 31,3
		Boy (mm)	41,15 ±2,89	33,6- 52,4
		Yükseklik (mm)	14,04 ±2,12	10,0- 19,9

Tablo 5'in devamı

G1	125	Ağırlık (g)	6,14 ±1,51	3,97- 13,9
G2	172	En (mm)	17,95 ±2,93	11,2- 27,2
		Boy (mm)	37,00 ±3,95	29,7- 48,8
		Yükseklik (mm)	12,09 ±2,07	7,7- 19,2
		Ağırlık (g)	5,23 ±1,74	2,37- 14,5
G3	79	En (mm)	21,48 ±4,75	13,0- 34,6
		Boy (mm)	43,61 ±7,28	32,0- 62,6
		Yükseklik (mm)	15,83 ±4,45	9,6- 30,0
		Ağırlık (g)	8,87 ±5,36	2,26- 27,65
G4	58	En (mm)	29,68 ±3,74	20,1- 38,0
		Boy (mm)	55,77 ±6,60	39,8- 71,1
		Yükseklik (mm)	22,50 ±4,57	13,2- 44,2
		Ağırlık (g)	17,62 ±5,71	6,41- 34,78

* Güven aralığı

2.5. Laboratuvar Ortamının Hazırlanması

Kontaminasyonun önlenmesi için bütün deneylerin hazırlık aşamasından itibaren toz bırakmayan laboratuvar önlüğü, nitril eldiven, bone ve maske kullanılmıştır (Frias vd, 2018; Kavya vd, 2020; Nuelle vd, 2014).

Kullanılan malzemeler (cam ve metal malzemeler) önce fosfatsız deterjan ile yıkanmış, sonrasında saf su ve ultra saf sudan geçirildikten sonra, alüminyum folyolara sarılarak 450 °C' de 5-6 saat fırınlanmıştır. Aynı şekilde örnekleri saklamak için kullanılacak alüminyum folyolar da 450 °C' de 5-6 saat fırınlanmıştır (Frias vd, 2018; Kavya vd, 2020; Nuelle vd, 2014).

2.6. Balık ve Midye Örneklerinde BPA Analiz Aşamaları

2.6.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Dondurulmuş balık ve midyelerin kas dokusu 48 saat liyofilizatörde kurutulduktan sonra blenderda homojenize edilmiş ve analiz edilinceye kadar cam şişelerde muhafaza edilmiştir. Örneklerin analize hazırlık işlemlerine ait fotoğraflar şekil 7'de verilmiştir.



Şekil 7. Örneklerin analize hazırlık işlemleri

2.6.2. Ekstraksiyon

Kalibrasyon standartı (BPA) ve internal standart (BPA-d₁₆) Fauvelle (2018) ve Schmidt'in (2019) yaptığı çalışmalara göre hazırlanmıştır (Fauvelle vd., 2018; Schmidt vd., 2020). BPA'nın örnek materyalden ekstrakte edilmesinde katı-faz ekstraksiyon tekniği kullanılmıştır (Alkan vd., 2021; Fauvelle vd., 2018; Rykowska, 2006; Schmidt vd., 2019). Numunelerde BPA ekstraksiyon aşamaları Tablo 6'da, ekstraksiyon aşamaları ve kullanılan cihazlar Şekil 8'de verilmiştir.

Tablo 6. BPA ekstraksiyon aşamaları

	KARTUŞLARIN HAZIRLANMASI • Cam kartuşların içerisine teflon fritler yerleştirdi. • Üzerine 0,2 g Oasis Max reçinesi ilave edildi. • Üzerine tekrar teflon frit yerleştirildi. • Kartuşlar sırasıyla 5'er mL aseton, etil asetat ve diklorometan ile temizlendi.
	ÖRNEK HAZIRLAMA • 0,3 g biyota örneği cam santrifüj tüpüne yerleştirildi.
	EKSTRAKSİYON • Örnekler 5 mL etil asetat ilave edilip, vortekslenildi ve 15 dakika ultrasonik banyoda ekstrakte edildi. Daha sonra 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. • Ekstraktlar cam pastör pipetiyle toplanarak kartuşlara dolduruldu. • Aynı işlem metanol ile tekrarlandı.
	BUHARLAŞTIRMA • LC fraksiyonu azot gazı atmosferinde 1mL kalıncaya kadar buharlaştırıldı. • BPA internal standartı (BPA-d₁₆) eklendi.



Şekil 8. Ekstraksiyona aşamaları ve kullanılan cihazlar

2.6.3. Kromatografik-Kütle Spektrometrik Analizler

Katı faz ekstraksiyonu ile ekstrakte edilen örnekler LC-MS/MS (Shimadzu 8030) ile analiz edilmiştir (Kolon; Inertsil ODS-4 (2,1 x 50 mm, 3 μ m), mobil faz; %0,1 formik asit içeren su: %0,1 formik asit içeren asetronitril (50:50, h/h), Akış hızı; 0.4 mL/dak). İlgili cihazda MRM (çoklu reaksiyon izleme) tekniği ile Tablo 7’de verilen parametreler esas alınarak ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7. LC-MS/MS cihaz parametreleri

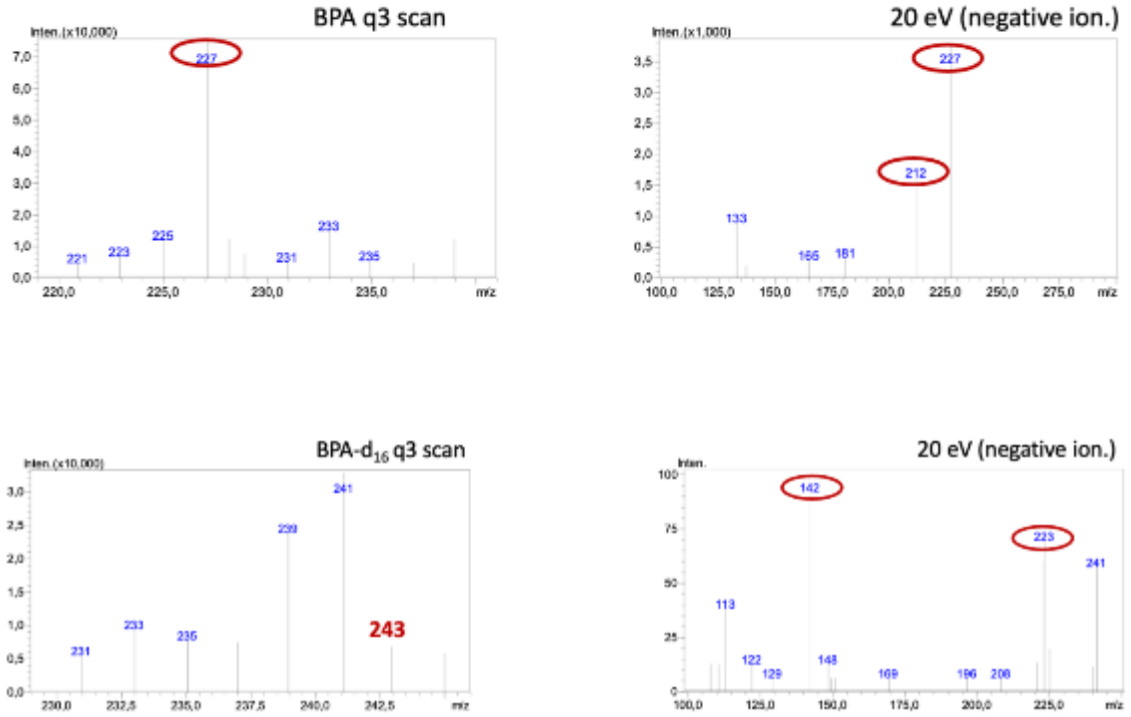
	Birincil iyon	Parçalanma iyonu	Denge zamanı (msn)	Kuadrapol 1 (V)	Çarpışma enerjisi (eV)	Kuadrapol 3 (V)
BPA	226,80	133,00	122,0	11,0	27,0	25,0
	*227,00	*211,60	122,0	17,0	19,0	19,0
BPA-d₁₆	241,00	223,30	247,0	12,0	21,0	23,0

*İzotop pikinin birincil iyonunu ve parçalanma iyonunu göstermektedir.

2.6.4. LC-MS/MS Temelli BPA Analizi

Literatürde çoklu reaksiyon izleme (MRM) modunda BPA için öncü iyon ve parçalanma ürünlerinin kütle/yük oranlarının (m/z ; 227,1) benzer olduğu görülmektedir (Errico vd., 2019). İç standart olarak kullanılan BPA- d_{16} için ise farklı öncü iyonlar ve parçalanma ürünlerinin elde edildiği, Errico vd., 2019'a göre m/z oranının 243,1, Venisse vd., 2019'a göre ise 241,1 olduğu gözlemlenmiştir.

BPA ve BPA- d_{16} için öncü iyonların ve parçalanma ürünlerinin belirlenmesi ve çoklu reaksiyon izleme modunda MS/MS analiz yönteminin optimizasyonunda kullanılması amacıyla BPA ve BPA- d_{16} standartlarından uygun miktarda alınmış ve metanol ile seyreltilerek 1 $\mu\text{g/mL}$ lik çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltilerin LC-MS/MS sistemine enjeksiyonu kolon kullanılmadan 0,3 mL/dk akış hızında %0,1 formik asit içeren su: %0,1 formik asit içeren asetonitril (50:50, h/h) hareketli fazları ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikli olarak uygun iyonizasyon modu ve bileşiklere ait öncü iyonlar q3 tarama (scan) modunda belirlenmiş ve ardından seçilen iyonizasyon modunda farklı çarpışma enerjileri kullanılarak bileşiklere ait parçalanma ürünleri elde edilmiştir. Seçilen parçalanma ürününe ait sinyal şiddetini maksimuma çıkarmak için çoklu reaksiyon izleme modunda bileşiklere ait çarpışma enerjisi ve dört kutuplu voltajları (Q1 ve Q3) optimize edilmiştir. BPA ve BPA- d_{16} bileşikleri için belirlenen öncü iyon ve parçalanma ürünleri Şekil 9.'da verilmiştir. Uygun öncü iyon ve parçalanma ürünleri negatif iyonizasyon modunda elde edilmiş ve bunların literatür ile örtüştüğü gözlenmiştir (Venisse vd., 2019).



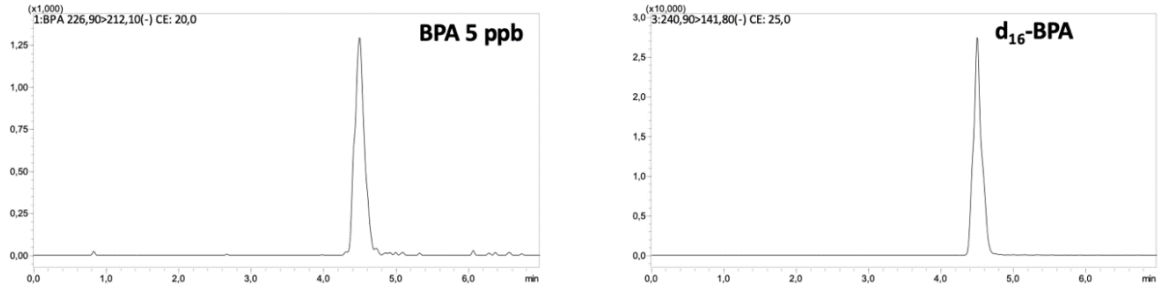
Şekil 9. BPA-d₁₆ bileşiği için öncül iyon ve 20 eV enerji uygulanarak elde edilen parçalanma ürünleri

Optimum kromatografik koşulların belirlenmesi için farklı özellikte analitik kolonlar, hareketli fazlar ve gradiyent elüsyon programları denenmiş ve analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Optimum kromatografik koşullar; %0,1 formik asit içeren su: %0,1 formik asit içeren asetonitril (50:50, h/h) hareketli fazları ile 30 °C kolon fırın sıcaklığında ODS-4 (2.1 x 50 mm, 3 µm; Inertsil) kolon kullanılarak 0,4 mL/dak akış hızında gradiyent elüsyonla elde (10 dak) edilmiştir. MS/MS analiz parametreleri Tablo 8’de sunulmuştur.

Tablo 8. MS/MS analiz parametreleri

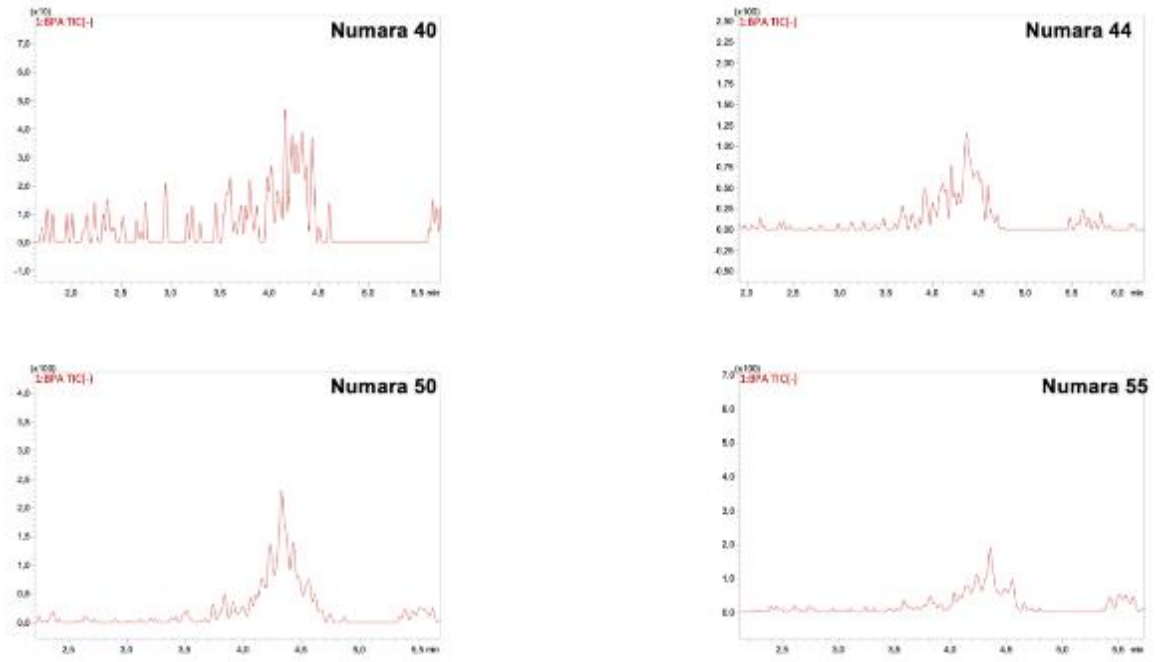
Nebulizer gaz akışı	3 L/dak
Kurutucu Gaz Akışı	15 L/dak
DL Sıcaklığı	250 °C
İyon kaynağı sıcaklığı	400 °C
İyon kaynağı	Elektrosprey
İyon tarama modu	MRM

Kalibrasyon çözeltileri 5 ppm- 5 ppb aralığında hazırlanmıştır. 5 ppb standart BPA analizi için elde edilen kromatogram Şekil 10’da verilmiştir.

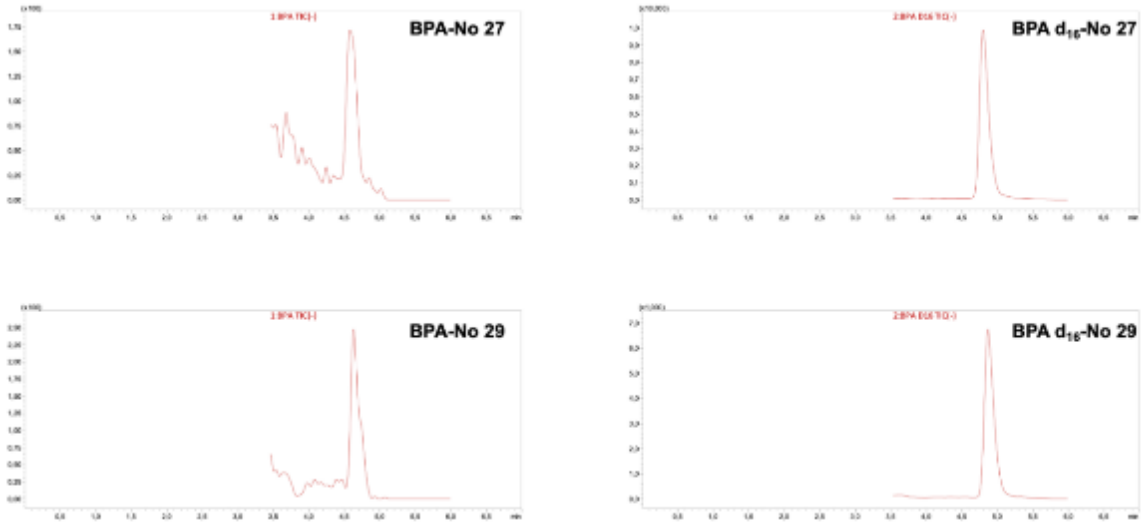


Şekil 10. Optimum koşullarda BPA ve BPA-d₁₆ için elde edilen kromatogramlar

Asetonitril ile hazırlanan biyota örneklerinde BPA ve BPA-d₁₆ sinyali gözlenmezken (Şekil 11) metanol ile hazırlanan örneklerde ise BPA ve BPA-d₁₆ sinyali gözlemlenmiş (Şekil 12) ve BPA pikine ait alan değerleri IS alanına oranlanarak sonuçlar paylaşılmıştır.



Şekil 11. Asetonitril ile hazırlanan biyota örneklerine ait kromatogramlar



Şekil 12. Metanol ile hazırlanan biyota örneklere ait kromatogramlar

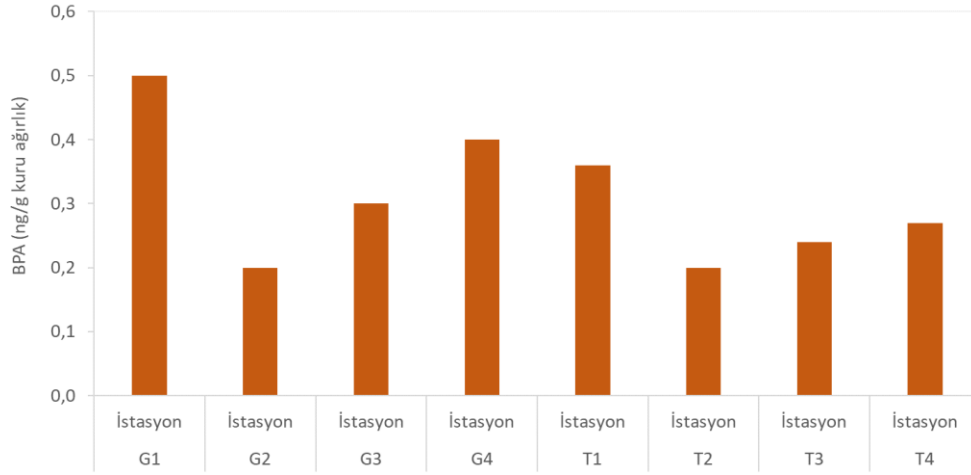
2.6.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri için Statistica-V10 programı kullanılmıştır. Verilerin detaylı analizine başlamadan önce tanımlayıcı istatistikler hesaplanmıştır. İller, istasyonlar ve numune matrisleri arasındaki farklılıklar varyans analizi (ANOVA) ile, farklılığa neden olan grupların tespiti ise post-hoc testleri yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

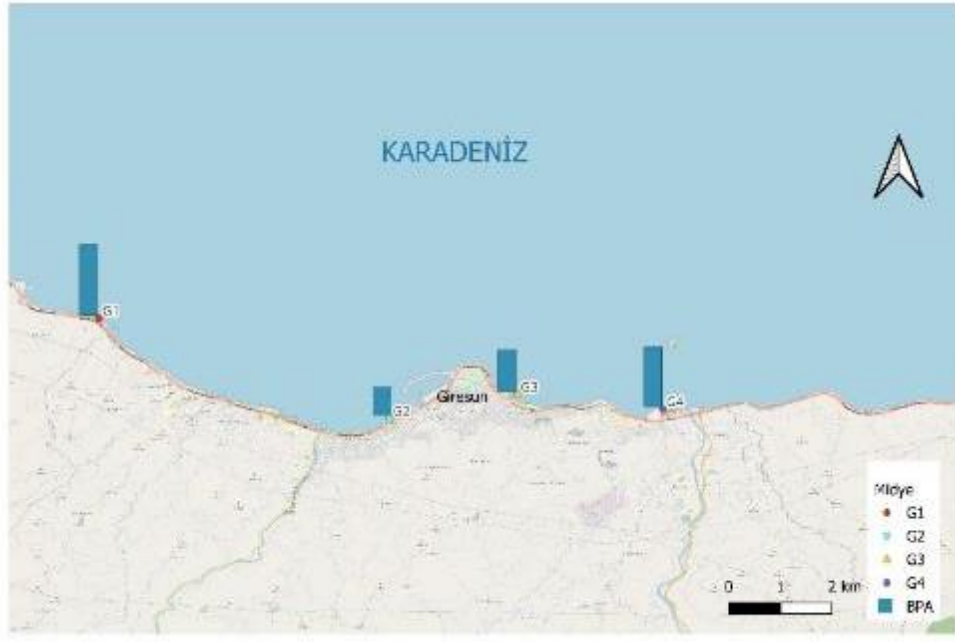
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, ekonomik öneme sahip ve karnivor beslenen semi-pelajik türlerden mezgit ve demersal türlerden barbunya balıklarında ve midye örneklerinin yenilebilir dokusunda BPA düzeyleri belirlenmiştir.

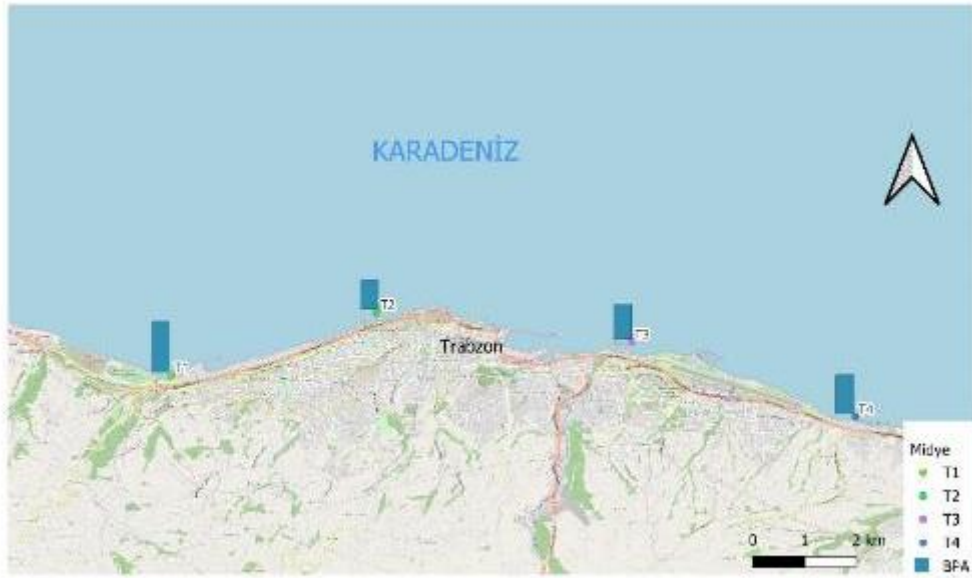
Bu çalışmada beslenme şekli nedeniyle (suları süzerek, filtre ederek) sularda kirlilik indikatörü olarak bilinen ve insanlar tarafından tüketilen midyelerde ortalama BPA derişimleri Trabzon ili için $0,27 \pm 0,10$ ng/g kuru ağırlık ve Giresun ili için $0,33 \pm 0,16$ ng/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Midye örneklerinde belirlenen ortalama BPA derişimlerinin istasyonlara göre değişimleri Şekil 13'te, Coğrafi Bilgi Sistemi (CBS) kullanılarak kıyıs alanda illere bağlı olarak tespit edilen sonuçların gösterimi Şekil 14 ve 15'te verilmiştir.



Şekil 13. Midye örneklerinde ölçülen BPA derişimleri

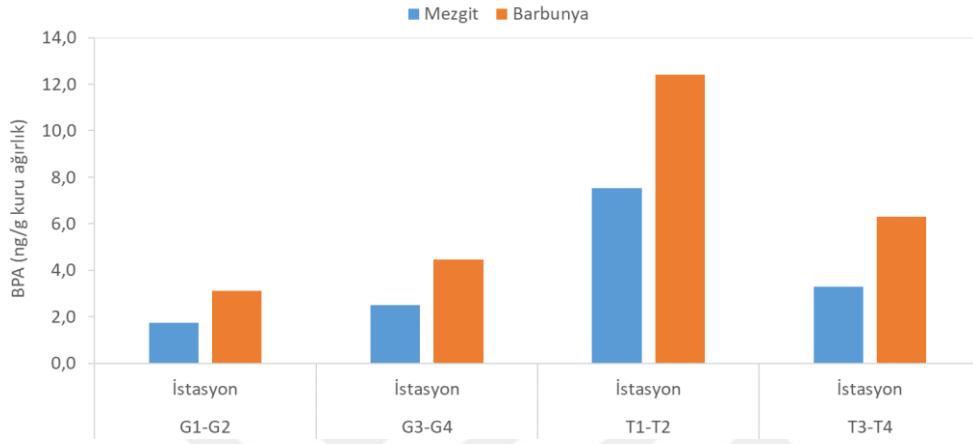


Şekil 14. Giresun ili kıyı şeridindeki istasyonlarda midye örneklerinde tespit edilen ortalama BPA değerlerinin alansal dağılımı



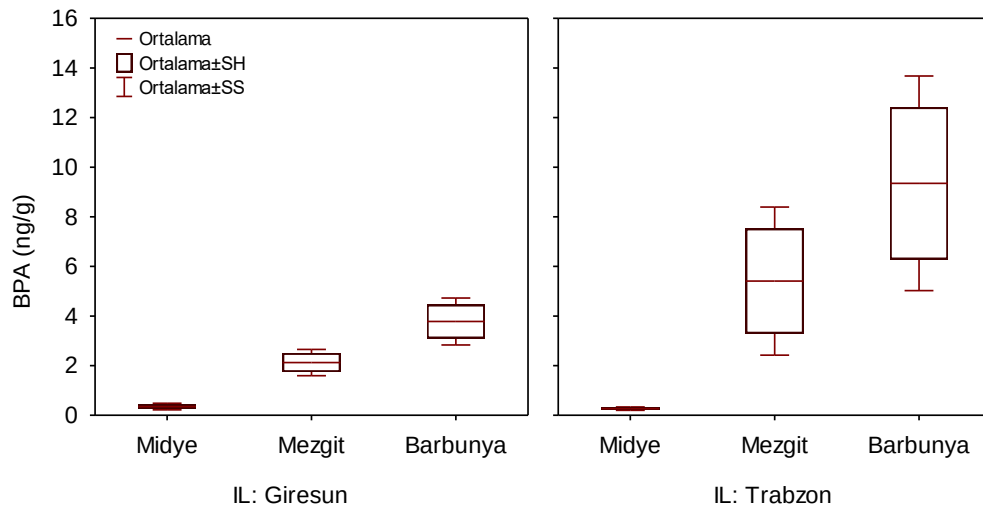
Şekil 15. Trabzon ili kıyı şeridindeki istasyonlarda midye örneklerinde tespit edilen ortalama BPA değerlerinin alansal dağılımı

Mezgit ve barbunya balıklarında tespit edilen BPA derişimlerinin istasyonlara göre değişimleri Şekil 16’da verilmiştir. Mezgit ve barbunya balıklarında tespit edilen ortalama BPA derişimleri sırasıyla Trabzon’da $5,41 \pm 3$ ng/g kuru ağırlık ve $9,35 \pm 3,9$ ng/g kuru ağırlık, Giresun’da $2,1 \pm 0,9$ ng/g kuru ağırlık ve $3,56 \pm 1,4$ ng/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir.



Şekil 16. Balık örneklerinde ölçülen BPA derişimleri

Çalışmanın hedefleri arasında mikroorganik kirleticilerin önemli bileşenlerinden biri olan BPA konsantrasyonlarının Güneydoğu Karadeniz Bölgesi’nde farklı matrislerdeki düzeylerinin belirlenmesi yer almaktadır. Çalışma kapsamında Doğu Karadeniz’de farklı yoğunlukta antropojenik baskıların olduğu öngörülen iki yarı şehrin (Giresun ve Trabzon) kıyıs al denizel ortamından alınan midye ve balık örneklerinde BPA derişimleri tespit edilmiş ve ortalama derişimler Şekil 17’de verilmiştir.



Şekil 17. Biyota örneklerinde illere göre tespit edilen ortalama BPA derişimleri

Çalışmada elde edilen BPA derişimleri mezgit ve barbunya balıkları için önerilen yaş/kuru ağırlık dönüştürme faktörleri kullanıldığında (Barbunya; 4,3 ve mezgit; 5,7 (Alkan vd., 2016)) barbunya için $6,56/4,3=1,5$ ng/g yaş ağırlık ve mezgit için $3,77/5,7=0,7$ ng/g yaş ağırlık olduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizin balıkçılık açısından en önemli üretim alanı olan Doğu Karadeniz’de avlanan mezgit ve barbunya balıklarında tespit edilen ortalama BPA derişimleri sırasıyla $3,77\pm2,58$ ng/g ve $6,56 \pm 4,11$ ng/g’dır. İndikatör türlerden midyedeki BPA derişimlerinin balıklara göre daha düşük olduğu ($0,31\pm0,11$ ng/g) belirlenmiştir.

Literatürde bu yönde benzer sonuçlar da bulunmaktadır. Alvarez-Munoz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre midye örneklerinde BPA konsantrasyonları 8,26-9,32 ng/g kuru ağırlık aralığında değişmekte olup balık örneklerinde ise 10,31 -25,02 ng/g kuru ağırlık aralığında değişmektedir (Alvarez-Munoz vd., 2018). Ayrıca Rios-Fuster ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da BPA seviyesinin balıklarda çift kabuklulara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Rios-Fuster vd., 2022).

Çalışılan matrikslerde BPA konsantrasyonu açısından Trabzon ve Giresun illeri arasında istatistiksel olarak ($p=0,05$ düzeyinde) anlamlı fark tespit edilememiştir. Tespit edilen ortalama BPA derişimleri ng/g kuru ağırlık cinsinden midyede $0,31\pm0,11$ (0.20-0.50), mezgitte $3,77\pm2,58$ (1,75-7,52) ve barbunyada ise $6,56\pm4,11$ (3,11-12,41) olarak belirlenmiştir. Deniz ürünlerinde ulusal düzeyde yapılan çalışmalar sınırlı olmasına rağmen farklı araştırmacılar tarafından küresel ölçekte yürütülen çalışmalarda ölçülen BPA derişimleri geniş bir dağılım aralığı göstermektedir. Günay, (2020) tarafından İskenderun Körfezi’nde yürütülen çalışmada ortalama BPA derişimleri yaş ağırlık cinsinden mercan balığında 0,50 ng/g, çipurada 0,44 ng/g, kefalde 0,33 ng/g, levrekte 0,22 ng/g olarak belirlenmiştir. Farklı balık türleri olmakla birlikte söz konusu çalışmada ölçülen derişimlerin bu çalışmada mezgit ve barbunya balıkları için belirlenen değerlere yakın olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte literatürde bu çalışmada elde edilen derişimlerden 100 kat daha fazla BPA derişimi tespit edilen çalışmalar mevcuttur (Staniszewska vd., 2014). Farklı ülkelerde midyeler üzerinde yapılmış olan çalışmalarda 8,26 – 453 ng/g kuru ağırlık gibi bu çalışmada ölçülen derişimlere göre yüksek ve oldukça geniş aralıkta BPA derişimleri tespit edilmiştir (Alvarez-Munoz vd., 2018; Gatidou vd., 2010; Staniszewska vd., 2014).

4. SONUÇLAR

İnsan beslenmesinde önemli yer tutan deniz ürünlerinde endokrin bozucu etkisi nedeniyle BPA düzeylerinin bilinmesi önemlidir. Yapılan çalışmalar sonucunda literatürde de belirtildiği gibi demersal ve yağlı bir tür olan barbunya balıklarının diğer türlere (mezgit ve midye) göre daha yüksek BPA birikimi yaptığı, buna bağlı olarak denizlerde BPA'nın izlenmesi için kullanılabileceği düşünülmektedir.

EFSA tarafından daha önce 4 µg/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş olan günlük alınabilir BPA limit değeri (ADI), yapılan çalışmalar dikkate alınarak 19 Nisan 2023 tarihinde 0,2 ng/kg vücut ağırlığı olarak güncellenmiştir. Bu çalışma kapsamında elde edilen BPA derişimleri EFSA tarafından belirlenen önceki ve güncel limitlerle esas alınarak değerlendirildiğinde dikkat çekici sonuçlar ortaya çıktığı görülmektedir. BPA için EFSA tarafından belirlenen yeni limit değerler esas alındığında ortalama 70 kg vücut ağırlığına sahip bir kişinin BPA açısından güvenli günlük tüketilebileceği balık miktarı barbunya için 9,3 g/gün, mezgit için ise 20 g/gün olmaktadır. Eski limit değere göre ortalama porsiyonlarla balık tüketimi BPA açısından bir risk teşkil etmemesine rağmen yeni limit değere göre ortalama porsiyonların EFSA tarafından önerilen risk değerini aştığı görülmektedir. Benzer şekilde yeni limit değere esas alındığında 70 kg bir birey için BPA açısından günlük güvenli tüketilebilir midye miktarının 74 g (kas doku) olduğu ve bu miktarın da ortalama porsiyon miktarının altında kaldığı, bu nedenle ortalama porsiyon miktarı düzeylerinde tüketimin BPA açısından toksik etki gösterme riski taşıdığı değerlendirilmektedir. BPA limit değerlerinde yapılan revizyon dikkate alındığında balık ve midye tüketiminin BPA açısından risk içerebileceği düşünülmektedir. Ancak BPA'nın günlük hayatta kullanılan birçok malzeme ve tüketim ürününde bulunduğu gözönüne alındığında, bu durumun sadece balık ve midye tüketimi ile sınırlı olmadığı, riskin ambalajlı ürünler başta olmak üzere birçok gıda ve tüketim ürünü açısından söz konusu olduğu değerlendirilmektedir.

5. ÖNERİLER

Bu çalışmada tahmini antropojenik baskı potansiyeli göz önünde bulundurularak farklı istasyonlardan balık ve midye örneklemeleri yapılmıştır. Giresun ilinde midye örneklerinde beklenenin aksine karasal girdilerden uzak olması yönüyle referans istasyon olarak belirlenmiş G1 istasyonunda daha yüksek BPA derişimi tespit edilmiştir. Bu durumun Giresun ilinde G1 istasyonundaki Batı-Doğu yönünde etkin olan akıntı sistemi ile ilişkili olabileceğı değerlendirilmektedir. Balık örneklerinde ise beklenildiğı gibi sanayi, kentsel katı atık toplama alanı ve Aksu deresi etkisi altında olan G3-G4 istasyonunda daha yüksek BPA konsantrasyonları belirlenmiştir.

Trabzon ilinde, T1 ve T2 istasyonları kentsel etki altında olduğundan beklenildiğı gibi en yüksek BPA konsantrasyonları balık numunelerinde T1-T2 istasyonunda, midye örneklerinde ise T1 istasyonunda belirlenmiştir.

Deniz taban topoğrafyası ve istasyonlardaki akıntı düzeylerinin kirletici taşınım ve birikimlerinde önemli faktörler olduğu bilinmekle birlikte daha ayrıntılı bir örnekleme yapma imkânı mümkün olamamıştır. Daha ileri düzeyde sebep-sonuç ilişkilerinin ortaya konulması hedefinde gerçekleştirilecek çalışmalarda söz konusu hususların göz önünde bulundurulması önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abraham, A., & Chakraborty, P. (2020). A review on sources and health impacts of bisphenol A. *Reviews on environmental health*, 35(2), 201-210.
- Ahmed, R. G. (2016). Maternal bisphenol A alters fetal endocrine system: Thyroid adipokine dysfunction. *Food Chem Toxicol*, 95, 168-174.
- Alexander, H. C., Dill, D. C., Smith, L. W., Guiney, P. D., & Dorn, P. (1988). Bisphenol a: Acute aquatic toxicity. *Environmental Toxicology*, 7(1).
- Alkan, N., Aktaş, M., & Gedik, K. (2012). Comparison of metal accumulation in fish species from the southeastern Black Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 807-812.
- Alkan, A., Alkan, N., & Akbas, U. (2016). The factors affecting heavy metal levels in the muscle tissues of whiting (*Merlangius merlangus*) and red mullet (*Mullus barbatus*). *Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(3), 349-359.
- Alkan, N., Alkan, A., Castro-Jimenez, J., Royer, F., Papillon, L., Ourgaud, M., & Sempere, R. (2021). Environmental occurrence of phthalate and organophosphate esters in sediments across the Gulf of Lion (NW Mediterranean Sea). *Sci Total Environ*, 760, 143412.
- Almeida, S., Raposo, A., Almeida-González, M., & Carrascosa, C. (2018). Bisphenol A: Food Exposure and Impact on Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1503-1517.
- Alvarez-Munoz, D., Rodriguez-Mozaz, S., Jacobs, S., Serra-Compte, A., Caceres, N., Sioen, I., Verbeke, W., Barbosa, V., Ferrari, F., Fernandez-Tejedor, M., Cunha, S., Granby, K., Robbens, J., Kotterman, M., Marques, A., & Barcelo, D. (2018). Pharmaceuticals and endocrine disruptors in raw and cooked seafood from European market: Concentrations and human exposure levels. *Environ Int*, 119, 570-581.
- Amin, M. M., Ebrahim, K., Hashemi, M., Shoshtari-Yeganeh, B., Rafiei, N., Mansourian, M., & Kelishadi, R. (2019). Association of exposure to Bisphenol A with obesity and cardiometabolic risk factors in children and adolescents. *Int J Environ Health Res*, 29(1), 94-106.
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 1977-1984.
- Asakura, H., Matsuto, T., & Tanaka, N. (2004). Behavior of endocrine-disrupting chemicals in leachate from MSW landfill sites in Japan. *Waste Manag*, 24(6), 613-622.
- Atasaral Şahin, Ş. (2011). Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*, lam., 1819) populasyonlarının genetik yapısının belirlenmesi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Trabzon.

- Aydın, İ., Eroğlu, O., & Küçük, E. (2008). Karadeniz'in Demersal Balıkları. *Aquaculture Studies*, 2008(2).
- Balbi, T., Franzellitti, S., Fabbri, R., Montagna, M., Fabbri, E., & Canesi, L. (2016). Impact of bisphenol A (BPA) on early embryo development in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*: Effects on gene transcription. *Environ Pollut*, 218, 996-1004.
- Ballesteros-Gomez, A., Rubio, S., & Perez-Bendito, D. (2009). Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *J Chromatogr A*, 1216(3), 449-469.
- Bangkedphol, S., Keenan, H. E., Davidson, C., Sakultantimetha, A., & Songsasen, A. (2009). The partition behavior of tributyltin and prediction of environmental fate, persistence and toxicity in aquatic environments. *Chemosphere*, 77(10), 1326-1332.
- Barrick, A., Champeau, O., Chatel, A., Manier, N., Northcott, G., & Tremblay, L. A. (2021). Plastic additives: challenges in ecotox hazard assessment. *PeerJ*, 9, e11300.
- Basheer, C., Lee, H. K., & Tan, K. S. (2004). Endocrine disrupting alkylphenols and bisphenol-A in coastal waters and supermarket seafood from Singapore. *Mar Pollut Bull*, 48(11-12), 1161-1167.
- Belfroid, A., Velzen, M., Horst, B., & Vethaak, D. (2002). Occurrence of bisphenol A in surface water and uptake in fish: evaluation of field measurements. *Chemosphere*, 49, 97-103.
- Bilgin, S., & Bilgin, Ö. (2018). Karadeniz'de mezgit balığının, *Merlangius merlangus euxinus* (Nordman, 1840), büyümesi, üremesi ve kimyasal kompozisyonu. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(4), 483-496.
- Bjornsdotter, M. K., de Boer, J., & Ballesteros-Gomez, A. (2017). Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*, 182, 691-706.
- Blair, R. M., Fang, H., Branham, W. S., Hass, B. S., Dial, S. L., Moland, C. L., Tong, W., Shi, L., Perkins, R., & Sheehan, D. M. (2000). The Estrogen Receptor Relative Binding Affinities of 188 Natural and Xenochemicals: Structural Diversity of Ligands. *Toxicological Sciences* 54, 138-153.
- Borrirukwisitsak, S., Keenan, H. E., & Gauchotte-Lindsay, C. (2012). Effects of salinity, pH and temperature on the octanol-water partition coefficient of bisphenol A. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3(5), 460.
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science and Technology*, 45, 9175-9179.
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L). *Environ Sci Technol*, 42(13), 5026-5031.

- Buckley, J. P., Kim, H., Wong, E., & Rebholz, C. M. (2019). Ultra-processed food consumption and exposure to phthalates and bisphenols in the US National Health and Nutrition Examination Survey, 2013-2014. *Environ Int*, 131, 105057.
- Cadogan, D. F., & Howick, C. J. (2000). *Plasticizers*, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Online, Wiley-Vch.
- Government of Canada. (2010). Order amending schedule I to the hazardous products act (Bisphenol A). Canada Gazette Part II, 144(7), 413-426.
- Cao, X. L., Perez-Locas, C., Dufresne, G., Clement, G., Popovic, S., Beraldin, F., Dabeka, R. W., & Feeley, M. (2011). Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 28(6), 791-798.
- Capolupo, M., Sorensen, L., Jayasena, K. D. R., Booth, A. M., & Fabbri, E. (2020). Chemical composition and ecotoxicity of plastic and car tire rubber leachates to aquatic organisms. *Water Res*, 169, 115270.
- Cesen, M., Lenarcic, K., Mislej, V., Levstek, M., Kovacic, A., Cimrmancic, B., Uranjek, N., Kosjek, T., Heath, D., Dolenc, M. S., & Heath, E. (2018). The occurrence and source identification of bisphenol compounds in wastewaters. *Sci Total Environ*, 616-617, 744-752.
- Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y., Wu, Y., & Widelka, M. (2016). Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environ. Sci. Technol.*, 50(11), 5438-5453.
- Chen, L., He, Y., Lei, Z., Gao, C., Xie, Q., Tong, P., & Lin, Z. (2018). Preparation of core-shell structured magnetic covalent organic framework nanocomposites for magnetic solid-phase extraction of bisphenols from human serum sample. *Talanta*, 181, 296-304.
- Chen, R., Qiao, X., & Liu, F. (2022). Ionic liquid-based magnetic nanoparticles for magnetic dispersive solid-phase extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1201.
- Chen, S., Tao, Y., Wang, P., Li, D., Shen, R., Fu, G., Wei, T., & Zhang, W. (2023). Association of urinary bisphenol A with cardiovascular and all-cause mortality: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2016. *Environ Sci Pollut Res Int*, 30(17), 51217-51227.
- Chiriac, F. L., Pirvu, F., & Paun, I. (2021). Investigation of endocrine disruptor pollutants and their metabolites along the Romanian Black Sea Coast: Occurrence, distribution and risk assessment. *Environ Toxicol Pharmacol*, 86, 103673.
- Corrales, J., Kristofco, L. A., Steele, W. B., Yates, B. S., Breed, C. S., Williams, E. S., & Brooks, B. W. (2015). Global Assessment of Bisphenol A in the Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation. *Dose Response*, 13(3), 1559325815598308.

- Cunha, S. C., Oliveira, C., & Fernandes, J. O. (2017). Development of QuEChERS-based extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of bisphenol A and tetrabromobisphenol A in seafood: fish, bivalves, and seaweeds. *Anal Bioanal Chem*, 409(1), 151-160.
- Commission Regulation, (EU), (2018). *2018/213 of 12 February 2018 on the use of bisphenol A in varnishes and coatings intended to come into contact with food and amending Regulation (EU) No 10/2011 as regards the use of that substance in plastic food contact materials*.
- Commission Regulation, (EU), (2011). *10/2011, on plastic materials and articles intended to come into contact with food.*, 1-89, 12.
- Czarny-Krzyminska, K., Krawczyk, B., & Szczukocki, D. (2023). Bisphenol A and its substitutes in the aquatic environment: Occurrence and toxicity assessment. *Chemosphere*, 315, 137763.
- Czarny, K., Szczukocki, D., Krawczyk, B., Zieliński, M., Miękoś, E., & Gadzała-Kopciuch, R. (2017). The impact of estrogens on aquatic organisms and methods for their determination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(11), 909-963.
- Danzl, E., Sei, K., Soda, S., Ike, M., & Fujita, M. (2009). Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. *Int J Environ Res Public Health*, 6(4), 1472-1484.
- Deng, L., Liu, Y. X., Chen, P. Y., Wang, L., & Deng, N. S. (2006). Determination of Trace Bisphenol A in Leachate by Solid Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography. *Analytical Letters*, 39(2), 395-404.
- dos Ramos, F. J. (2000). β 2-Agonist extraction procedures for chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*, 880, 69-83.
- Duenas-Moreno, J., Mora, A., Cervantes-Aviles, P., & Mahlknecht, J. (2022). Groundwater contamination pathways of phthalates and bisphenol A: origin, characteristics, transport, and fate - A review. *Environ Int*, 170, 107550.
- Errico, S., Chioccarelli, T., Moggio, M., Diano, N., & Cobellis, G. (2019). A New LC-MS/MS Method for Simultaneous and Quantitative Detection of Bisphenol-A and Steroids in Target Tissues: A Power Tool to Characterize the Interference of Bisphenol-A Exposure on Steroid Levels. *Molecules*, 25(1).
- European Chemicals Agency, ECHA., (2019). *Plastic additives initiative - Supplementary Information on Scope and Methods*. <https://echa.europa.eu/plastic-additives-initiative> adresinden alınmıştır.
- European Food Safety Authority, EFSA. (2023). Bisphenol A. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol> adresinden alınmıştır.
- European Union, EU., (2023). Endocrine Disruptor Lists. <https://edlists.org/the-ed-lists/list-i-substances-identified-as-endocrine-disruptors-by-the-eu> adresinden alınmıştır.

- European Food Safety Authority, EFSA. (2023). Bisphenol A. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol> adresinden alınmıştır.
- European Union, EU., (2023). Endocrine Disruptor Lists. <https://edlists.org/the-ed-lists/list-i-substances-identified-as-endocrine-disruptors-by-the-eu> adresinden alınmıştır.
- Gatidou, G., Vassalou, E., & Thomaidis, N. S. (2010). Bioconcentration of selected endocrine disrupting compounds in the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Pollut Bull*, 60(11), 2111-2116.
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J. P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., Pironnet, A. M., Pussemier, L., Scippo, M. L., Van Loc, J., & Covaci, A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol*, 50(10), 3725-3740.
- Geyer, H. J., Rimkus, G. G., Scheunert, I., Kaune, A., Schramm, K. W., Kettrup, A., ... & Mackay, D. (2000). Bioaccumulation and occurrence of endocrine-disrupting chemicals (EDCs), persistent organic pollutants (POPs), and other organic compounds in fish and other organisms including humans. *Bioaccumulation—New Aspects and Developments*, 1-166.
- Gil García, M. D., Dahane, S., Arrabal-Campos, F. M., SocíasViciano, M. M., García, M. A., Fernández, I., & Martínez Galera, M. (2017). MCM-41 as novel solid phase sorbent for the pre-concentration of pesticides in environmental waters and determination by microflow liquid chromatography-quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 134, 181-190.
- Gramec Skledar, D., & Peterlin Masic, L. (2016). Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? *Environ Toxicol Pharmacol*, 47, 182-199.
- Groshart, C. P., Okkeman, P. C., & Pijnenburg, A. M. C. M. (2001). Chemical study on bisphenol A. *Rijkswaterstaat, RIKZ*.
- Gupta, A. (2014). (2024, Ocak 16). Bisphenol-A: <https://www.healthandenvironment.org/docs/ToxipediaBPAPageArchive.pdf> adresinden alınmıştır.
- Günay, Y. D. (2020). İskenderun Körfezi Balıklarında Bisfenol A (BPA) Düzeylerinin Belirlenmesi. Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Hatay.
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *J Hazard Mater*, 344, 179-199.
- Heinonen, J., Honkanen, J., Kukkonen, J. V., & Holopainen, I. J. (2002). Bisphenol A accumulation in the freshwater clam *Pisidium amnicum* at low temperatures. *Arch Environ Contam Toxicol*, 43(1), 50-55.
- Hengstler, J. G., Foth, H., Gebel, T., Kramer, P. J., Lilienblum, W., Schweinfurth, H., Volkel, W., Wollin, K. M., & Gundert-Remy, U. (2011). Critical evaluation of key evidence

- on the human health hazards of exposure to bisphenol A. *Crit Rev Toxicol*, 41(4), 263-291.
- Hennion, M. C. (1999). Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856, 3-54.
- Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, 182, 781-793.
- Hernandez, E., Nowack, B., & Mitrano, D. M. (2017). Polyester Textiles as a Source of Microplastics from Households: A Mechanistic Study to Understand Microfiber Release During Washing. *Environmental science & technology*, 51, 7036-7046.
- Huang, R.-p., Liu, Z.-h., Yuan, S.-f., Yin, H., Dang, Z., & Wu, P.-x. (2017). Worldwide human daily intakes of bisphenol A (BPA) estimated from global urinary concentration data (2000–2016) and its risk analysis. *Environmental Pollution*, 230, 143-152.
- Huang, R. P., Liu, Z. H., Yin, H., Dang, Z., Wu, P. X., Zhu, N. W., & Lin, Z. (2018). Bisphenol A concentrations in human urine, human intakes across six continents, and annual trends of average intakes in adult and child populations worldwide: A thorough literature review. *Sci Total Environ*, 626, 971-981.
- Im, J., & Loffler, F. E. (2016). Fate of Bisphenol A in Terrestrial and Aquatic Environments. *Environ Sci Technol*, 50(16), 8403-8416.
- Islas, G., Ibarra, I. S., Hernandez, P., Miranda, J. M., & Cepeda, A. (2017). Dispersive Solid Phase Extraction for the Analysis of Veterinary Drugs Applied to Food Samples: A Review. *Int J Anal Chem*, 2017, 8215271.
- Ivanov, L., Beverton, R.J.H., 1985, *The Fisheries Resources of the Mediterranean* , Part 2, *Black Sea Etud. Rev.*, CGPM, 60, 135 p.
- Jahromi, F. A., Moore, F., Keshavarzi, B., Mohebbi-Nozar, S. L., Mohammadi, Z., Sorooshian, A., & Abbasi, S. (2020). Bisphenol A (BPA) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the surface sediment and bivalves from Hormozgan Province coastline in the Northern Persian Gulf: A focus on source apportionment. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110941.
- Jakimska, A., Huerta, B., Barganska, Z., Kot-Wasik, A., Rodriguez-Mozaz, S., & Barcelo, D. (2013). Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers. *J Chromatogr A*, 1306, 44-58.
- Jeong, J., & Choi, J. (2020). Development of AOP relevant to microplastics based on toxicity mechanisms of chemical additives using ToxCast and deep learning models combined approach. *Environ Int*, 137, 105557.

- Ji, W., Sun, R., Duan, W., Wang, X., Wang, T., Mu, Y., & Guo, L. (2017). Selective solid phase extraction of chloroacetamide herbicides from environmental water samples by amphiphilic magnetic molecularly imprinted polymers. *Talanta*, 170, 111-118.
- Kataria, A., Levine, D., Wertenteil, S., Vento, S., Xue, J., Rajendiran, K., Kannan, K., Thurman, J. M., Morrison, D., Brody, R., Urbina, E., Attina, T., Trasande, L., & Trachtman, H. (2017). Exposure to bisphenols and phthalates and association with oxidant stress, insulin resistance, and endothelial dysfunction in children. *Pediatr Res*, 81(6), 857-864.
- Kim, J. J., Kumar, S., Kumar, V., Lee, Y. M., Kim, Y. S., & Kumar, V. (2019). Bisphenols as a Legacy Pollutant, and Their Effects on Organ Vulnerability. *Int J Environ Res Public Health*, 17(1).
- Kocaman, E. (2018). Temporal - spatial distributions and degradation of Bisphenol A in marine and freshwaters in Turkey / Bisfenol A' nın Türkiye' nin deniz ve nehirlerinde zamansal – mekansal dağılımı ve bozunması. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Koral, S., & Süleyman, B. (2016). Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki Kara Midyenin (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) Mevsimsel Olarak Biyokimyasal Kompozisyonundaki Değişiminin Belirlenmesi. *Aquaculture Studies*, 16(3).
- Lee, C. C., Jiang, L. Y., Kuo, Y. L., Chen, C. Y., Hsieh, C. Y., Hung, C. F., & Tien, C. J. (2015). Characteristics of nonylphenol and bisphenol A accumulation by fish and implications for ecological and human health. *Sci Total Environ*, 502, 417-425.
- Lee, S., Kim, C., Shin, H., Kho, Y., & Choi, K. (2019). Comparison of thyroid hormone disruption potentials by bisphenols A, S, F, and Z in embryo-larval zebrafish. *Chemosphere*, 221, 115-123.
- Liao, C., Liu, F., Alomirah, H., Loi, V. D., Mohd, M. A., Moon, H., Nakata, H., & Kannan, K. (2012). Bisphenol S in Urine from the United States and Seven Asian Countries: Occurrence and Human Exposures. *Environ. Sci. Technol.*, 46(12), 6860-6866.
- Liu, H., Jin, P., Zhu, F., Nie, L., & Qiu, H. (2021). A review on the use of ionic liquids in preparation of molecularly imprinted polymers for applications in solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 134.
- Liu, J., Zhang, L., Lu, G., Jiang, R., Yan, Z., & Li, Y. (2021). Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment - A review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 208, 111481.
- Liu, X., Shi, H., Xie, B., Dionysiou, D. D., & Zhao, Y. (2019). Microplastics as Both a Sink and a Source of Bisphenol A in the Marine Environment. *Environ. Sci. Technol.*, 53(17), 10188–10196.
- Lusher, A. L., Hollman, P. C. H., & Mendoza-Hill, J. J. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety. Rome, Italy, Food And Agriculture Organization of The United Nations (FAO), Vol. No. 615.

- Major, M. A., Bostian, K. A. & Rosenblatt D. H. (1991) The Effect of Changes in Acidity and Salinity on the Octanol Water Partition Coefficient of Monomethylmercuric Species Present in Aquatic Environments at High pE, U.S.A.: U. S. Army Biomedical Research & Development Laboratory.
- Margolis, J. M. (2006). Engineering Plastics Handbook. Quebec, Kanada, McGraw-Hill Education.
- Matuszczak, E., Komarowska, M. D., Debek, W., & Hermanowicz, A. (2019). The Impact of Bisphenol A on Fertility, Reproductive System, and Development: A Review of the Literature. *Int J Endocrinol*, 2019, 4068717.
- Mendum, T., Stoler, E., VanBenschoten, H., & Warner, J. C. (2011). Concentration of bisphenol A in thermal paper. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 4(1), 81-86.
- Metwally, F. M., Rashad, H., Zeidan, H. M., Kilany, A., & Abdol Raouf, E. R. (2018). Study of the Effect of Bisphenol A on Oxidative Stress in Children with Autism Spectrum Disorders. *Indian J Clin Biochem*, 33(2), 196-201.
- Michalowicz, J. (2014). Bisphenol A-sources, toxicity and biotransformation. *Environ Toxicol Pharmacol*, 37(2), 738-758.
- Minaz, M., Er, A., Ak, K., Nane, I. D., Ipek, Z. Z., Yalcin, A., Kurtoglu, I. Z., & Kayis, S. (2022). Investigation of long-term bisphenol A exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Hematological parameters, biochemical indicator, antioxidant activity, and histopathological examination. *Chemosphere*, 303(Pt 2), 135136.
- Mita, L., Bianco, M., Viggiano, E., Zollo, F., Bencivenga, U., Sica, V., Monaco, G., Portaccio, M., Diano, N., Colonna, A., Lepore, M., Canciglia, P., & Mita, D. G. (2011). Bisphenol A content in fish caught in two different sites of the Tyrrhenian Sea (Italy). *Chemosphere*, 82(3), 405-410.
- Mohd Ali, N. F., Sajid, M., Halim, W. I. T. A., Mohamed, A. H., Mohamad Zain, N., Kamaruzaman, S., Hanapi, N. S. M., Wan Ibrahim, W. N., & Yahaya, N. (2023). Recent advances in solid phase extraction methods for the determination of bisphenol A and its analogues in environmental matrices: An updated review. *Microchemical Journal*, 184.
- Mukhopadhyay, R., Prabhu, N. B., Kabekkodu, S. P., & Rai, P. S. (2022). Review on bisphenol A and the risk of polycystic ovarian syndrome: an insight from endocrine and gene expression. *Environ Sci Pollut Res Int*, 29(22), 32631-32650.
- Myers, J. P., vom Saal, F. S., Akingbemi, B. T., Arizono, K., Belcher, S., Colborn, T., Chahoud, I., Crain, D. A., Farabollini, F., Guillette, L. J., Jr., Hassold, T., Ho, S. M., Hunt, P. A., Iguchi, T., Jobling, S., Kanno, J., Laufer, H., Marcus, M., McLachlan, J. A., & Zoeller, R. T. (2009). Why public health agencies cannot depend on good laboratory practices as a criterion for selecting data: the case of bisphenol A. *Environ Health Perspect*, 117(3), 309-315.

- Naing, N. N., Li, S. F., & Lee, H. K. (2016). Evaluation of graphene-based sorbent in the determination of polar environmental contaminants in water by micro-solid phase extraction-high performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1427, 29-36.
- Nasiri, M., Ahmadzadeh, H., & Amiri, A. (2020). Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 123.
- Noonan, G. O., Ackerman, L. K., & Begley, T. H. (2011). Concentration of Bisphenol A in Highly Consumed Canned Foods on the U.S. Market. *J. Agric. Food Chem.*, 59(13), 7178-7185.
- OECD. (2018). Considerations and criteria for sustainable plastics from a chemicals perspective (Background Paper). OECD Global Forum on Environment: Plastics in a Circular Economy Designing Sustainable Plastics from a Chemicals Perspective.
- <https://www.oecd.org/environment/waste/background-paper-sustainable-plastics-from-a-chemicals-perspective-considerations-and-criteria.pdf> adresinden alınmıştır.
- Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Kloas, W., Jagnytsch, O., Lutz, I., Kusk, K. O., Wollenberger, L., Santos, E. M., Paull, G. C., Van Look, K. J., & Tyler, C. R. (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 2047-2062.
- Ohore, O. E., & Zhang, S. (2019). Endocrine disrupting effects of bisphenol A exposure and recent advances on its removal by water treatment systems. A review. *Scientific African*, 5.
- Ozel, S., Tokmak, A., Aykut, O., Aktulay, A., Hancerliogullari, N., & Engin Ustun, Y. (2019). Serum levels of phthalates and bisphenol-A in patients with primary ovarian insufficiency. *Gynecol Endocrinol*, 35(4), 364-367.
- Özdemir, S., Söyleyici, H., Özdemir, Z. B., Özsandıkçı, U., & Büyükdeveci, F. (2018). karadeniz (Sinop-Samsun) kıyılarında avlanan mezgıt (*Merlangius merlangus euxinus*) balığının aylık olarak boy-ağırlık ilişkileri ve boy kompozisyonunun tespiti. *Aquatic Research*, 1(1), 26-37.
- Pauly, J. L., Stegmeler, S. J., Allaart, H. A., Cheney, R. T., Zhang, P. J., Mayer, A. G., & Streck, R. J. (1998). Inhaled Cellulosic and Plastic Fibers Found in Human Lung Tissue. 7, 419-428.
- Peng, G., Lu, Y., You, W., Yin, Z., Li, Y., & Gao, Y. (2020). Analysis of five bisphenol compounds in sewage sludge by dispersive solid-phase extraction with magnetic montmorillonite. *Microchemical Journal*, 157.
- Peretz, J., Vrooman, L., Rieke, W. A., Hunt, P. A., Ehrlich, S., Hauser, R., Padmanabhan, V., Taylor, H. S., Swan, S. H., VandeVoort, C. A., & Flaws, J. A. (2014). Bisphenol a and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environ Health Perspect*, 122(8), 775-786.

- Plattard, N., Dupuis, A., Migeot, V., Haddad, S., & Venisse, N. (2021). An overview of the literature on emerging pollutants: Chlorinated derivatives of Bisphenol A (Cl(x)BPA). *Environ Int*, 153, 106547.
- Regoli, F., & Orlando, E. (1993). *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of lead pollution: biological variables and cellular responses. *Science of the total environment*, 134, 1283-1292.
- Regueiro, J., & Wenzl, T. (2015). Determination of bisphenols in beverages by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1422, 230-238.
- Ridgway, K., Lalljie, S. P., & Smith, R. M. (2007). Sample preparation techniques for the determination of trace residues and contaminants in foods. *J Chromatogr A*, 1153(1-2), 36-53.
- Rios-Fuster, B., Alomar, C., Paniagua Gonzalez, G., Garcinuno Martinez, R. M., Soliz Rojas, D. L., Fernandez Hernando, P., & Deudero, S. (2022). Assessing microplastic ingestion and occurrence of bisphenols and phthalates in bivalves, fish and holothurians from a Mediterranean marine protected area. *Environ Res*, 214(Pt 3), 114034.
- Rochester, J. R., & Bolden, A. L. (2015). Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environ Health Perspect*, 123(7), 643-650.
- Rochman, C. M., Browne, M. A., Halpern, B. S., Hentschel, B. T., Hoh, E., Karapanagioti, H. K., Rios-Mendoza, L. M., Takada, H., Teh, S., & Thompson, R. C. (2013). Classify plastic waste as hazardous. *Nature*, 494, 169–171.
- 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. *Sci Total Environ*, 599-600, 68-75.
- Rykowska, I., Wasiak, W. . (2006). Properties, threats, and methods of analysis of bisphenol A and its derivatives. *Acta Chromatographica*, 16, 7-27.
- Savarese, G., Xu, H., Trevisan, M., Dahlstrom, U., Rossignol, P., Pitt, B., Lund, L. H., & Carrero, J. J. (2019). Incidence, Predictors, and Outcome Associations of Dyskalemia in Heart Failure With Preserved, Mid-Range, and Reduced Ejection Fraction. *JACC Heart Fail*, 7(1), 65-76.
- Schmidt, N., Castro-Jimenez, J., Fauvelle, V., Ourgaud, M., & Sempere, R. (2020). Occurrence of organic plastic additives in surface waters of the Rhone River (France). *Environ Pollut*, 257, 113637.
- Schmidt, N., Fauvelle, V., Ody, A., Castro-Jimenez, J., Jouanno, J., Changeux, T., Thibaut, T., & Sempere, R. (2019). The Amazon River: A Major Source of Organic Plastic Additives to the Tropical North Atlantic? *Environ Sci Technol*, 53(13), 7513-7521.

- Skledar, D. G., Schmidt, J., Fic, A., Klopčič, I., Trontelj, J., Dolenc, M. S., Finel, M., & Masić, L. P. (2016). Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere*, 157, 152-159.
- Song, S., Song, M., Zeng, L., Wang, T., Liu, R., Ruan, T., & Jiang, G. (2014). Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China. *Environ Pollut*, 186, 14-19.
- Staniszewska, M., Falkowska, L., Grabowski, P., Kwasniak, J., Mudrak-Cegiolka, S., Reindl, A. R., Sokolowski, A., Szumilo, E., & Zgrundo, A. (2014). Bisphenol A, 4-tert-octylphenol, and 4-nonylphenol in the Gulf of Gdansk (Southern Baltic). *Arch Environ Contam Toxicol*, 67(3), 335-347.
- Staples, C. A., Dorn, P. B., Klecka, G. M., O'Block, S. T., & Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 2149-2173.
- Staples, C. A., Peterson, D. R., Parkerton, T. F., & Adams, W. J. (1997). The environmental fate of phthalate esters: A literature review. *Chemosphere*, 35(4), 667-749.
- Tarafdar, A., Sirohi, R., Balakumaran, P. A., Reshmy, R., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., Kumar, Y., Kumar, D., & Sim, S. J. (2022). The hazardous threat of Bisphenol A: Toxicity, detection and remediation. *J Hazard Mater*, 423(Pt A), 127097.
- Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R., Barlaz, M. A., Jonsson, S., Bjorn, A., Rowland, S. J., Thompson, R. C., Galloway, T. S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P. H., Tana, T. S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M. P., Akkhavong, K., . . . Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 2027-2045.
- Thoene, M., Dzika, E., Gonkowski, S., & Wojtkiewicz, J. (2020). Bisphenol S in Food Causes Hormonal and Obesogenic Effects Comparable to or Worse than Bisphenol A: A Literature Review. *Nutrients*, 12(2).
- Thompson, R. C., Swan, S. H., Moore, C. J., & vom Saal, F. S. (2009). Our plastic age. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 1973-1976.
- Tian, Y., Zhou, X., Miao, M., Li, D. K., Wang, Z., Li, R., Liang, H., & Yuan, W. (2018). Association of Bisphenol A Exposure with LINE-1 Hydroxymethylation in Human Semen. *Int J Environ Res Public Health*, 15(8).
- Tsai, W. T. (2006). Human health risk on environmental exposure to Bisphenol-A: a review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 24(2), 225-255.
- Tulgar, A. (2008). Saroz Körfezinde Avlanan Bazi Ekonomik Balık Türlerinin Besin Kompozisyonunun Mevsimsel Değişimi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale.
- Türk Gıda Kodeksi, TGK. (2019). Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Plastik Madde ve Malzemeler Tebliği, Tebliğ No:2019/44.

- Uhrin, A. V., & Schellinger, J. (2011). Marine debris impacts to a tidal fringing-marsh in North Carolina. *Mar Pollut Bull*, 62(12), 2605-2610.
- European Union, EU. (2008). Risk Assessment Report, Updated Risk Assessment of 4,4'-isopropylidenediphenol (Bisphenol-A), Human Health Addendum of February 2008.
- US Environmental Protection Agency, EPA., (2014). Bisphenol A alternatives in thermal paper. US EPA.
- https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-05/documents/bpa_final.pdf adresinden alınmıştır.
- Usman, A., & Ahmad, M. (2016). From BPA to its analogues: Is it a safe journey? *Chemosphere*, 158, 131-142.
- Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol*, 24(2), 139-177.
- Vasiljevic, T., & Harner, T. (2021). Bisphenol A and its analogues in outdoor and indoor air: Properties, sources and global levels. *Sci Total Environ*, 789, 148013.
- Venisse, N., Cambien, G., Robin, J., Rouillon, S., Nadeau, C., Charles, T., Rabouan, S., Migeot, V., & Dupuis, A. (2019). Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives in adipose tissue. *Talanta*, 204, 145-152.
- Vogel, S. A. (2012). *Is it Safe?: BPA and the Struggle to Define the Safety of Chemicals*. Univ of California Press.
- Wang, C., He, J., Xu, T., Han, H., Zhu, Z., Meng, L., Pang, Q., & Fan, R. (2021). Bisphenol A(BPA), BPS and BPB-induced oxidative stress and apoptosis mediated by mitochondria in human neuroblastoma cell lines. *Ecotoxicol Environ Saf*, 207, 111299.
- Wang, Z., Liang, H., Tu, X., Yuan, W., Zhou, Z., Jin, L., Miao, M., & Li, D. K. (2019). Bisphenol A and pubertal height growth in school-aged children. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 29(1), 109-117.
- Wei, X., Huang, Y., Wong, M. H., Giesy, J. P., & Wong, C. K. (2011). Assessment of risk to humans of bisphenol A in marine and freshwater fish from Pearl River Delta, China. *Chemosphere*, 85(1), 122-128.
- Wen, Y. (2020). Recent advances in solid-phase extraction techniques with nanomaterial. *Handbook Nanomaterial Analytical Chemistry*, 57-67.
- Wierucka, M., & Biziuk, M. (2014). Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 59, 50-58.
- Wong, Y. M., Li, R., Lee, C. K. F., Wan, H. T., & Wong, C. K. C. (2017). The measurement of bisphenol A and its analogues, perfluorinated compounds in twenty species of

- freshwater and marine fishes, a time-trend comparison and human health based assessment. *Mar Pollut Bull*, 124(2), 743-752.
- Xue, J., Liu, W., & Kannan, K. (2017). Bisphenols, Benzophenones, and Bisphenol A Diglycidyl Ethers in Textiles and Infant Clothing. *Environ. Sci. Technol.*, 51(9), 5279-5286.
- Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nishikawa, M., Yamamoto, T., Uehiro, T., Nakasugi, O., Okumura, T., Kenmotsu, K., Fukui, H., Nagase, M., Ono, Y., Kawagoshi, Y., Baba, K., & Noma, Y. (1997). Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 774(1-2), 321-332.
- Yilmaz, D., Kalay, M., Donmez, E., & Yilmaz, N. (2016). Assessment of biological effects of environmental pollution in Mersin Bay (Turkey, northeastern Mediterranean Sea) using *Mullus barbatus* and *Liza ramada* as target organisms. *Environ Pollut*, 208(Pt B), 361-370.
- Youssef, M. M., El-Din, E., AbuShady, M. M., El-Baroudy, N. R., Abd El Hamid, T. A., Armanous, A. F., El Refay, A. S., Hussein, J., Medhat, D., & Latif, Y. A. (2018). Urinary bisphenol A concentrations in relation to asthma in a sample of Egyptian children. *Hum Exp Toxicol*, 37(11), 1180-1186.
- Zhang, Y., Zhao, Y. G., N., M., Ye, M. L., & Zhu, Y. (2020). Ultrasound-assisted synthesis of clover-shaped nano-titania functionalized covalent organic frameworks for the dispersive solid phase extraction of N-nitrosamines in drinking water. *Journal of Chromatography A*, 1618.

ÖZGEÇMİŞ

Berrin ÖZKILIÇ, Ortaöğretimi Tevfik Serdar Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı ve Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2014 yılından itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi, Maçka Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme bölümünde Öğretim Görevlisi olarak görev yapmaktadır. İyi derecede İngilizce bilmektedir.

