

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞEBEKE SULARINDA VE ŞİŞELENMİŞ İÇME SULARINDA ÖSTROJENİK
AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI VE ENDOKRİN SİSTEMİNİ BOZUCU
MADDELERİN VARLIĞI İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike Begüm TANIŞ

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2015

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞEBEKE SULARINDA VE ŞİŞELENMİŞ İÇME SULARINDA ÖSTROJENİK
AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI VE ENDOKRİN SİSTEMİNİ BOZUCU
MADDELERİN VARLIĞI İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melike Begüm TANIŞ

(501131720)

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Elif PEHLİVANOĞLU MANTAŞ

HAZİRAN 2015

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 501131720 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Melike Begüm TANIŞ**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**ŞEBEKE SULARINDA VE ŞİŞELENMİŞ İÇME SULARINDA ÖSTROJENİK AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI VE ENDOKRİN SİSTEMİNİ BOZUCU MADDELERİN VARLIĞI İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Elif PEHLİVANOĞLU MANTAŞ**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Kadir ALP**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Zehra CAN
Marmara Üniversitesi

Teslim Tarihi : 4 Mayıs 2015

Savunma Tarihi : 2 Haziran 2015

Ailem ve Tüm Sevdiklerime,

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bana yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam ve danışmanım Doç. Dr. Elif PEHLİVANOĞLU MANTAŞ'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde büyük katkısı olan değerli hocam Doç. Dr. Egemen AYDIN'a, tez sürecinde bana yardımlarından dolayı Araş. Gör. Emel TOPUZ'a ve Nilay BİLGİN'e,

Tez çalışmamı 112Y321 numaralı projesi ile destekleyen TÜBİTAK'a ve Yüksek Lisans Tezlerini Destekleme Programı kapsamında tezime ayrıca destek olan İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Beraber vakit geçirmekten keyif aldığım, bana her zaman yardımcı olan ve desteğini hissettiren canım arkadaşım Merve YILMAZ'a, ayrıca sevgili arkadaşlarım Uğur GÜLER, Efe GÜMÜŞLÜ ve Ali RAHİMLİ'ye; yüksek lisans eğitimim dâhil olmak üzere bütün eğitim hayatımı beraber geçirdiğim canım arkadaşım Binhan GİRİT'e, Her koşulda yanımda olan, desteğini, sabrını ve sevgisini esirgemeyen nişanlım Barış Burak KANBUR'a,

Son olarak; hayatımın her anında sevgisini, hoşgörüsünü, sabrını hissettiğim ve daima verdiğim kararlarda yanımda olan annem Nesrin TANIŞ, babam Kamil TANIŞ ve kardeşim Emir Alp TANIŞ'e çok teşekkür ederim.

Haziran 2015

Melike Begüm TANIŞ
Çevre Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Anlam ve Önemi	1
1.2 Çalışmanın Kapsamı	2
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	5
2.1 Endokrin Bozucu Maddeler Hakkında Genel Bilgi	5
2.2 Endokrin Bozucu Maddelerin Kaynakları.....	7
2.3 Endokrin Bozucu Maddelerin Etkileri	9
2.4 Endokrin Bozucu Maddelere Örnekler	12
2.4.1 Bisfenol A (BPA).....	12
2.4.2 Nonilfenol (NP).....	20
2.5 Toplam Östrojenik Aktivite ve Östrojenik Aktiviteye Neden Olan Maddelerin Ölçümü İçin Kullanılan Yöntemler.....	23
2.5.1 YES biyodeneyi	23
2.5.2 Katı faz ekstraksiyonu (KFE).....	25
2.5.3 LC-MS/MS ile östrojenik aktiviteye neden olan maddelerin belirlenmesi	28
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	35
3.1 Kullanılan Ekipman ve Malzemeler.....	35
3.2 Şişelenmiş İçme Suları İle Yapılan Deneyler İçin Numune Alımı	38
3.3 Şebeke Suları İle Yapılan Deneyler İçin Numune Alımı	38
3.4 İstanbul'daki İçme Suyu Arıtma Tesisleri Hakkında Bilgiler.....	39
3.4.1 Kâğıthane İçmesuyu Arıtma Tesisleri	39
3.4.2 Ömerli İçmesuyu Arıtma Tesisleri	40
3.4.3 İkitelli (FSMH) İçmesuyu Arıtma Tesisleri	40
3.4.4 Büyükçekmece İçmesuyu Arıtma Tesisleri.....	41
3.4.5 Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisleri	41
3.5 Deney Prosedürleri	43
3.5.1 YES Biyodeneyi.....	45
3.5.2 Katı Faz Ekstraksiyonu (KFE).....	48
3.5.3 LC-MS/MS Ölçümleri	49
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA	53
4.1 Şebeke Suyu Numunelerinin YES ve LC-MS/MS Sonuçları	53
4.1.1 Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları	53

4.1.2	Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları	56
4.1.3	Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları.....	59
4.1.4	İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları	62
4.2	Şişe Suyu Numunelerinin YES ve LC-MS/MS Sonuçları	65
5.	DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER	83
KAYNAKLAR.....		89

KISALTMALAR

AB	: Avrupa Birliği
AWWA	: American Water Works Association (Amerikan Su İşleri Birliği)
BPA	: Bisfenol A
BPA-d16	: İşaretli Bisfenol A
BPS	: Bisfenol S
dk.	: Dakika
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
E1	: Estron
E2	: 17 β -estradiol
E3	: Estriol
EBM	: Endokrin Bozucu Maddeler
EC	: European Commission (Avrupa Komisyonu)
EE2	: 17 α -etinilestradiol
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
g.	: Gram
KFE	: Katı Faz Ekstraksiyonu
L	: Litre
LC	: Liquid Chromatography (Sıvı Kromatografi)
LC-MS/MS	: Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi)
Log Kow	: Oktanol-Su ayırım katsayısı
NP	: Nonilfenol
NP-d4	: İşaretli Nonilfenol
ONPG	: orto-nitrofenil- β - galaktosit
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
PCB	: Poliklorlu Bifeniller
PET	: Polietilen Tereftalat
s	: Saniye
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
UPLC	: Ultra Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi)
USEPA	: United States Environmental Protection Agency (Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı)
YES	: Yeast Estrogen Screen (In-vitro maya östrojen izleme testi)

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : EBM kabul edilen bileşiklerin kaynakları ve türlerine örnekler (Snyder ve diğ., 2008).	8
Çizelge 2.2 : BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri (European Commission (EC), 2003; Snyder ve diğ., 2008).	12
Çizelge 2.3 : NP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (European Commission (EC), 2002; Snyder ve diğ., 2008; ECHA, 2012; Soares ve diğ., 2008).	21
Çizelge 2.4 : Çeşitli su matrisleri için östrojenik aktivitenin incelenmesi.	24
Çizelge 2.5 : Çeşitli su matrislerinde ölçülmüş BPA ve NP konsantrasyonları.	31
Çizelge 3.1 : YES biyodeneyi için kullanılan ortam.	45
Çizelge 3.2 : Numuneyi konsantre hale getirmek için belirlenen KFE yöntemi.	49
Çizelge 4.1 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.	53
Çizelge 4.2 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.	54
Çizelge 4.3 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.	55
Çizelge 4.4 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.	56
Çizelge 4.5 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.	57
Çizelge 4.6 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.	58
Çizelge 4.7 : Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.	59
Çizelge 4.8 : Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.	60
Çizelge 4.9 : Kış mevsimini alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.	61
Çizelge 4.10 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.	62
Çizelge 4.11 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.	63
Çizelge 4.12 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.	63
Çizelge 4.13 : Şişe suyu deneylerinde kullanılan numuneler ve numune kodları.	66
Çizelge 4.14 : İstanbul İçin Uzun Yıllar İçinde Gerçekleşen Ortalama Değerler (1950 - 2014) (Meteoroloji, G. M., 2014).	67
Çizelge 4.15 : II.B5-1 numunesinin YES sonuçları.	67
Çizelge 4.16 : II.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	68

Çizelge 4.17 : 2 ay laboratuvarda bekletildikten sonra II.B5-2 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	68
Çizelge 4.18 : 3 ay 15 gün laboratuvarda bekletildikten sonra II.B5-2 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	69
Çizelge 4.19 : XI.B5-4 numunesinin YES sonuçları.	70
Çizelge 4.20 : XI.B5-4 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	70
Çizelge 4.21 : 2 ay laboratuvarda bekletildikten sonra KFE yapılan XI.B5-1 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	70
Çizelge 4.22 : XI.B5-5 numunesinin YES sonuçları.	71
Çizelge 4.23 : XI.B5-6 numunesinin YES sonuçları.	71
Çizelge 4.24 : XI.B5-5 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	72
Çizelge 4.25 : XI.B5-6 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	72
Çizelge 4.26 : XIV.B5-1 numunesinin YES sonuçları.	73
Çizelge 4.27 : XIV.B5-2 numunesinin YES sonuçları.	73
Çizelge 4.28 : XIV.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	74
Çizelge 4.29 : XIV.B5-2 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	74
Çizelge 4.30 : XVII.B5-1 numunesinin YES sonuçları.	75
Çizelge 4.31 : XVII.B5-2 numunesinin YES sonuçları.	75
Çizelge 4.32 : XVII.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	75
Çizelge 4.33 : XVII.B5-2 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	75
Çizelge 4.34 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=7'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin YES sonuçları.	76
Çizelge 4.35 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=8'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin YES sonuçları.	77
Çizelge 4.36 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=7'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	77
Çizelge 4.37 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=8'e ayarlanmış çeşme suyu numunesinin BPA ve BPS sonuçları.	77
Çizelge 4.38 : pH=8,5 ve pH=10'a ayarlanıp firma 1'e ait 1 hafta polikarbonat şişede bekletilen çift distile suyun KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	78
Çizelge 4.39 : Kaynatılıp 2. firmaya ait polikarbonat şişeye koyulmuş çift distile su numunesinin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	79
Çizelge 4.40 : Campet şişelere içme suyu doldurularak bir kısmı 1 hafta bir kısmı 10 gün bekletilen ve bir kısmı da pH=10'a getirilen numunelerin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.	80

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Endokrin bozucu maddelerin yapıları (Snyder ve diğ., 2008).	6
Şekil 2.2 : BPA'nın moleküler yapısı.	12
Şekil 2.3 : BPA oluşum reaksiyonu (Prokop ve diğ., 2004).	14
Şekil 2.4 : Polimer hidrolizi ile BPA salınımı mekanizması.	16
Şekil 2.5 : BPS' nin moleküler yapısı.	19
Şekil 2.6 : NP'nin moleküler yapısı.	20
Şekil 3.1: LC-MS/MS enstrümanı.	36
Şekil 3.2 : Turbovap II cihazı.	36
Şekil 3.3 : Laminer akışlı biyogüvenlik kabini.	37
Şekil 3.4 : İSKİ Kâğıthane İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.	39
Şekil 3.5 : İSKİ Ömerli İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.	40
Şekil 3.6 : İSKİ İkitelli İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.	41
Şekil 3.7 : İSKİ Büyükçekmece İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.	41
Şekil 3.8 : İSKİ Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.	42
Şekil 3.9 : Katı faz ekstraksiyonu.	43
Şekil 3.10 : Oasis HLB cam kartuş.	44
Şekil 3.11 : Oasis HLB plastik kartuş.	44
Şekil 3.12 : Santrifüj cihazı.	46
Şekil 3.13 : Spektrofotometre cihazı.	47
Şekil 3.14 : Standart çözeltilerle hazırlanan BPA kalibrasyon eğrisi.	50
Şekil 3.15 : Standart çözeltilerle hazırlanan NP kalibrasyon eğrisi.	50
Şekil 3.16: BPS kalibrasyon eğrisi örneği (yüksek konsantrasyonlar için 0-500 µg/L).	51
Şekil 3.17 : BPS kalibrasyon eğrisi örneği (düşük konsantrasyonlar için 0-50 µg/L).	51

ŞEBEKE SULARINDA VE ŞİŞELENMİŞ İÇME SULARINDA ÖSTROJENİK AKTİVİTENİN ARAŞTIRILMASI VE ENDOKRİN SİSTEMİNİ BOZUCU MADDELERİN VARLIĞI İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ

ÖZET

Çeşitli doğal ya da sentetik maddeler kimyasal yapıları nedeni ile canlıların endokrin sistemini etkileyebilmekte, bu nedenle “Endokrin Bozucu Maddeler (EBM)” olarak adlandırılmaktadır. Atıksularda ve sulara bulunan bazı maddeler de östrojenik aktiviteleri nedeniyle Endokrin Bozucu Maddeler (EBM) olarak kabul edilmektedir.

Su canlıların yaşamını sürdürebilmesi için ihtiyaç duyduğu temel bir bileşiktir. Sularda bulunan kirleticiler canlılar için ciddi problemler yaratabileceğinden üzerinde durulması gereken bir konudur. Bu kirleticilerden EBM’ler, hem evsel ve endüstriyel atıksulardan noktasal kirletici olarak hem de tarım alanlarından yayılı kirletici olarak su kaynaklarına karışmakta ve sulara östrojenik aktivite oluşturmaktadır. Sucul canlıların yanı sıra insanlar da, bu maddelerin içme suyu arıtma tesislerinde tam olarak arıtilamaması ya da içme suyu dağıtım şebekelerinde ve evlerde kullanılan plastik malzemeli su boruları nedeniyle EBM’lere maruz kalabilmektedir. Bu durum da östrojenik aktiviteye sahip maddelerin hem çevre hem de insan sağlığı için risk oluşturmaya neden olmaktadır. Ayrıca, içme sularının ticari olarak büyük oranda polikarbonat yapılı damacınalar ve polietilen tereftalat (PET) yapılı şişeler içerisinde satışa sunulmakta olması, şebeke sularının içme suyu kalitesine güvenilmemesi ve plastik yapılı şişelerin pratik olması sebebiyle şişelenmiş suları daha çok tercih eden insanların da östrojenik aktivite gösterme potansiyeli olan sulara maruz kalmasına sebep olmaktadır.

EBM’lerin organizmalarda çok ciddi hasarlara yol açtığı bilinmektedir. Cinsiyet farklılaşmaları ve üreme sisteminde oluşan problemler endokrin bozucu maddelerin toksikolojik değerlendirmelerinin ana konusu olmasına rağmen, kanser, metabolik fonksiyonlar, bağışıklık sistemi ve gelişme fonksiyonları, büyüme, davranış ve hafıza bozukluklarına potansiyel etkisi de endişeye sebep olmaktadır (Dorival-Garcia ve diğ., 2012; Plotan ve diğ., 2013).

Doğal (estron ve 17 β -estradiol) ve sentetik (17 α -etinilestradiol) hormonlar, EBM arasında ilk sırayı almakta olup bu maddeler hormon tedavisi ya da doğum kontrolü amacıyla kullanıldıklarından, evsel atıksuların deşarjı sonucunda doğal sulara karışmakta ve çeşitli organizmalarda problem yaratmaktadır. Hormonlara ilave olarak DDT ve atrazin gibi organik yapılı pestisitler de EBM arasında sayılabilir. Ayrıca, ateşe dayanıklı malzemelerin, yüzeysel aktif maddelerin, pestisitlerin, polikarbonat ve epoksi reçinelerin yapımında kullanılan alkilfenoller ve bisfenol A gibi maddeler de EBM arasında yer almaktadır. Bisfenol A, temel olarak epoksi reçinelerinin ve polikarbonat plastiklerin üretiminde kullanılmaktadır (Crain ve diğ., 2007; Wright-Walters ve diğ., 2011). İçme sularının büyük ölçüde polikarbonat şişelerde satılıyor olması nedeniyle bisfenol A içeren polikarbonat şişelerdeki suların östrojenik aktivite açısından önemli olabileceği düşünülmektedir.

EBM’lerin su çevrimine girme yolu en çok atıksu arıtma tesislerinden çevreye deşarj ile olmaktadır. Ancak, EBM arasında çeşitli pestisitler de yer aldığından, sadece noktasal kirlilik kaynakları değil, yayılı kirlilik kaynakları da EBM’nin yüzeysel sulara

ve yeraltı sularına karışmasına sebep olabilmektedir. Günümüzde birçok içme suyu arıtma tesisinde ham su olarak yüzeysel su kaynakları kullanıldığından, içme suyu arıtma tesislerinde giderilemeyen yüzeysel su kaynaklı endokrin bozucu maddelerin içme suyuna karışma ihtimali söz konusudur (Zhang ve diğ., 2013).

Hem şebeke suları hem de şişelenmiş sular şebekeye verilmeden ya da şişelenmeden önce klorlama ya da ozonlama gibi dezenfeksiyon işlemlerine tabii tutulmaktadır. Bu yöntemler EBM'lerin oksidasyonuna sebep olarak konsantrasyonlarını azaltabilir. Ozonlama sonucunda EBM'in parçalanması sonucunda östrojenik aktivitenin azalması söz konusu olabilirken, klorlama sonucunda oluşabilecek olan klorlanmış EBM de östrojenik aktivite gösterebilir (Fan ve diğ., 2013). Ayrıca, su kaynağında bulunabilecek EBM'e ilave olarak, içme suyu şebekesinde ya da bina içi dağıtım sistemlerinde bulunan plastik borularla temas yoluyla şebekeye verilen sulara EBM karışma ihtimali mevcuttur. Bunun haricinde, plastik su depolarından da sulara EBM karışma potansiyeli vardır. Benzer şekilde, şişelenmiş sularda da, kullanılan şişenin materyaline ve şişenin saklanma koşullarına bağlı olarak östrojenik aktivitenin artması ya da oluşması mümkündür. Özellikle yüksek pH'ın polikarbonat damacanalardan suya geçen bisfenol A miktarını arttırdığı belirtilmektedir (Hoekstra ve Simoneau, 2013). Bunun dışında güneşlenme süresi ve sıcaklığın da önemli etki gösterme ihtimali olabilir.

Bu tez çalışmasında İstanbul'da su şebekesinden sağlanan sularda ve satın alınan çeşitli şişelenmiş içme sularında endokrin sistemini bozabilecek maddelerinin varlığı, maya bazlı bir biyodeney ile oluşturacakları östrojenik aktivitenin ölçülmesi yoluyla incelenmiştir. Numuneler, son kullanıcıya gelen durumu yansıtması açısından İstanbul'daki beş farklı içme suyu arıtma tesisince beslenen bölgelerde, her içme suyu arıtma tesisini temsilen seçilen en az iki evden alınmıştır. Her mevsimi temsilen ayrı ayrı numune alımı gerçekleştirilmiştir. Şişelenmiş sularda ise, içinde bulundukları plastik malzemeden dolayı, saklama koşulları östrojenik aktiviteye etki edebileceğinden, sıcaklık, pH ve fotolizin etkisine bakmak üzere deneyler yürütülmüştür. Biyodenezlere ilave olarak, içme sularında ve şebeke sularında bulunma ihtimali yüksek olan EBM olmaları sebebiyle seçilen bisfenol A, nonilfenol ve bisfenol S'nin de ölçümü yapılarak östrojenik aktivite ile bu maddelerin konsantrasyonları arasında bulunabilecek ilişki incelenmiştir.

Östrojenik aktivite ölçümleri, insana etki açısından temsil ediciliği yüksek olduğu için Yeast Estrogen Screen.(YES) ile gerçekleştirilmiş olup, bu biyodeney Türkiye'de ilk kez tez çalışmasının dahil olduğu proje çerçevesinde kullanılmıştır. Bisfenol A ve bisfenol S'nin ölçümü ise düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapabilmek için katı faz ekstraksiyonu ile numunelerin zenginleştirilmesini takiben sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile yapılmıştır.

Şebeke sularında tüm mevsimler için YES biyodenezini ile toplam östrojenik aktiviteler <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. İstanbul'a içme suyu temin eden çoğu tesiste ozonlama yapıyor olmasının hamsuda östrojenik aktiviteye neden olabilecek kirleticilerin bulunsu bile, onların giderilmesini sağlayamış olabileceği düşünülmektedir. BPA konsantrasyonları çoğu numunede ölçüm limiti olan 1 ng/L'nin altındadır. BPA konsantrasyonları $1,2 \pm 0,3$ ng/L ile $18,3 \pm 3,8$ ng/L arasında değişmektedir. BPS konsantrasyonları çoğu numunede ölçüm limiti olan 10 ng/L'nin altındadır. Sadece 2 numunede ölçüm limitinin üzerinde BPS bulunmuş olup konsantrasyonları $60,2 \pm 4,6$ ng/L ve $13,2 \pm 2,1$ ng/L'dir. pH ve Sertlik analizleri

sonucunda numunelerin çoğunlukla orta sertlikte olduğu gözlenmiş ve pH'ları 7 civarında ölçülmüştür.

Bekletme şartlarının şişe sularındaki östrojenik aktiviteyi etkileyip etkilemediğinin ortaya konulması amacıyla yapılan deneylerde elde edilen YES biyodeneyi ile toplam östrojenik aktiviteler $3\pm0,3$ ng/L ile 118 ± 14 ng/L arasında değişmektedir. Ölçülen BPA konsantrasyonları $1,5\pm0,2$ ng/L ile 6600 ± 725 ng/L arasındadır. BPS konsantrasyonu ise tek bir numunede $49,5\pm6,6$ ng/L olarak ölçülmüştür. Östrojenik aktivite ve BPA konsantrasyonu için bulunan geniş aralık esas olarak suların içinde tutulduğu şişe materyaline, bekletme süresine ve pH'a bağlı olarak elde edilmiş olup, hamsuların sadece birinde ölçülebilir limitin üstünde östrojenite mevcuttur. Bu sonuçlar da, suların içinde bulunmasa bile saklama şişelerinden östrojenik aktivitenin gelebileceğini göstermektedir.

ASSESSMENT OF ESTROGENICITY IN TAP AND BOTTLED WATERS AND ITS RELATION WITH THE PRESENCE OF ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS

SUMMARY

Several natural and synthetic compounds may affect the endocrine system of organisms due to their chemical structure. These compounds have been labeled as “Endocrine Disrupting Compounds (EDCs)”. Some materials which are included in water and waste water are called as Endocrine Disrupting Compounds (EDCs) due to their oestrogenic activities.

Water is a fundamental basic compound that organisms need for living. The pollutants in the water is a significant research topic due to they may be cause the serious problems to living organisms. EDCs are some of the these type of pollutants and they mix in the water sources from domestic waste water and industrial waste water as a point source pollutant so they constitute oestrogenic activities in water resources. Beside the aquatic organisms, also humankind is exposed to estrogenic activities due to unsuccessful treatment of these chemical materials in waste water treatment plants or the plastic pipes which are used in dwellings and drinking water distribution network systems. Thus, the chemical materials with oestrogenic activities pose risks in both environment and people. Furthermore, the public is exposed to waters which have oestrogenic activity potential due to the drinking waters are packaged by polycarbonate or polyethylene terephthalate based bottles to be sold to the people because the tap water is not trustworthy for the public to drink and also the packaging by the plastic based materials is one of the practical methods.

It is clearly known that EDCs cause permanent damage in the living organisms. The potential effects of the EDCs on the gamogeneses, cancer, metabolic functions, immune system, growing functions and some disorders such as behaviour, growing and memory give researchers worry though the sexual differentiation is one of the main topics of the toxicological assessment of EDCs (Dorival-Garcia et al., 2012; Plotan ve diğ., 2013).

EDCs may possibly have an interference in wildlife and the endocrine system of humans by: i) mimicing natural hormones ii) disrupting action, pathways and synthesis of natural hormones iii) antagonizing the effect of natural hormones or iv) disrupting the synthesis of specific hormone receptors.

Natural (estron and 17β -estradiol) and synthetic (17α -ethinylestradiol) hormones are the top of the EDCs and they mix in the water resources and cause problems for various organisms due to they are used in hormonal therapy and birth control. In addition to the hormones also some organic pesticides such as DDT and atrazine may be categorised as in EDCs. Moreover, some materials such as alkylphenols and bisphenol A which are used in the production processes of fire resistant materials, surface active agents, pesticides, polycarbonates and epoxy resin are in the EDCs category. Bisphenol A is basically used in the production process of epoxy resin and polycarbonate (Crain et al., 2007; Wright-Walters et al., 2011). Therefore, caution is warranted for the bisphenol A based polycarbonate bottled waters due to the drinking waters are sold in polycarbonate bottles.

The main reason the mixing of the EDCs to the water cycles by discharging of the EDCs from the treatment plants to water resources. Nevertheless, beside the point source pollution sources, also distributed pollution sources may be reason to mixing of the EDCs into the surface and groundwater resources due to EDCs include various pesticides. Nowadays, in case of the unsuccessful treatment of EDCs from the water resources, there is a possibility to mix of EDCs to the drinking water due to surface water resources are used in many drinking water production plants (Zhang et al., 2013).

Both tap waters and bottled waters are subjected to chlorination and ozonization processes before entering the network system or packaging process. These methods may decrease the concentration of the EDCs thanks to oxidation of the EDCs. However, in addition to EDCs in the water resources, it is a possibility to mixing of the EDCs to network water system because of the contact with the plastic pipes which are used in water network systems or dwelling distribution systems. Also it is another possible to mixing of the EDCs to water systems because of the plastic water storage tanks. Similarly, it is a possibility the forming of the oestrogenic activities based on the tha packaging material and storage conditions of the bottles. It is especially indicated that the high pH increases the transfer rate of bisphenol A from the polycarbonate bottles to the water. Besides, it is known that sunshine duration and temperature are another two crucial parameters for this transfer.

Health Canada proposed classification of BPA as toxic to human health and the environment in April, 2008. In 2011, EC established a specific migration limit for BPA from food plastic of 600 ng/g and a tolerable daily intake (TDI) of 0.05 mg/kg body weight has been set by the European Food Safety Authority (2006). The United States Environmental Protection Agency (USEPA) has established 50 µg/kg per day based on the lowest observable adverse effect level of BPA. In 2011, Sweden announced the ban of BPA in cans containing food for children under the age of three. Turkey banned the usage of BPA in baby bottles and other PC items which are produced for babies on 10 June 2011.

Because of the harmful effects of the degradation of products containing nonylphenol ethoxylates in the environment, the use and production of these compounds have been banned in EU countries and strictly monitored in many other countries including Canada and Japan. In this study, existance of the EDCs in the water network system of Istanbul and various purchased bottled drinking waters was investigated by using yeast based oestrogenic activity bioexperiments. Istanbul has five main water treatment plants to distribute the tap water to all the city borders and tap water samples were collected from these five different region in order to demonstrate the situation of the end user. In each region, the tap water was bottled from at least two different dwellings. Moreover, in order to indicate the season effects, samples were collected in each seaoson respectively. The experiments were performed to investigate the effects of temperature, pH and photolysis in bottled tap waters due to effect of the storage condition on the estrogenic activity and plactic materials. In addition to bioexperiments, measurements of the bisphenol A and bisphenol S were performed due to high existence probability of these materials in the network and drinking waters. By this way, the relationship between concentration of these materials and oestrogenic activity was investigated.

Oestrogenity measurements were carried out by YES method due to its effect on the human in high hazard group so it is the first time this experiment have been performed

in Turkey. However, measurement of the bisphenol A and bisphenol S were performed by using LC-MS/MS in order to perform the measurements in low concentrations.

The total estrogenic activities in tap waters were found $<2,71$ ng/L equivalent of E2 for all seasons due to most water treatment plants that provide drinking water to Istanbul use ozonation helps to remove pollutants that can cause estrogenic activity. BPA concentrations in most samples were <1 ng/L under the limit of detection. Other BPA concentrations measured 1.2 ± 0.3 ng/L and 18.3 ± 3.8 ng/L range. BPS concentrations in most samples were <10 ng/L under the limit of detection. BPS was found in two samples with concentrations of $60,2\pm4,6$ ng/L and $13,2\pm2,1$ ng/L. pH , hardness and TOC analysis are performed and showed as a result of medium hardness and pH of the samples was measured at around 7.

The total estrogenic activities in bottled waters were found between $3\pm0,3$ ng/L and 118 ± 14 ng/L. BPA concentrations measured between $1,5\pm0,2$ ng/L and 6600 ± 725 ng/L range. BPS was found in only one sample with concentration of $49,5\pm6,6$ ng/L' dir.

1. GİRİŞ

Su canlılar için hayati öneme sahip olan temel bir bileşiktir. Dünya nüfusunun hızla artmasına bağlı olarak su tüketiminin artması ve bunun sonucunda su kaynaklarının kalite ve miktarının azalması çeşitli çevresel ve sosyoekonomik sorunlara yol açmaktadır. Mevcut kaynakların bilinçli kullanılabilmesi ve sorunların en aza indirgenmesi amacıyla son yıllarda suyla ilgili yapılan araştırmalar artmaktadır. Su tüketiminin fazlalığı düşünüldüğünde sulara bulunan kirleticiler ve etkileri de göz ardı edilemez. Bu kirleticilerden endokrin bozucu maddelerin özellikle üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri yanında, kanser gibi önemli birçok hastalığa da sebebiyet vermesi tartışmaların odak noktası haline gelmesine neden olmuştur. Çeşitli endüstriyel ve evsel atıksu deşarjı ile tarımsal faaliyetler sonucu alıcı ortama deşarj yoluyla karışan endokrin bozucu bileşikler, içme sularında kaynak olarak yüzeysel suları kullanıldığı ve endokrin bozucu maddeler açısından %100 giderimin sağlanamadığı durumlarda ciddi problemlere yol açabilir. Bunların yanı sıra, içme suyu dağıtım şebekelerinde ve evlerde kullanılan plastik malzemeli su boruları ve içme sularının büyük bir çoğunluğunun plastik şişelerde satılıyor olması nedeniyle endokrin bozucu maddeler ciddi bir sağlık endişesi yaratmaktadır.

1.1 Çalışmanın Anlam ve Önemi

Endokrin bozucu maddeler gittikçe önem kazanmasına rağmen, ülkemizde bu konuda henüz çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında, Türkiye’de hem şebeke sularında hem de içme sularında endokrin bozucu maddelerin toplam östrojenik aktivitesinin ölçümünün yanısıra, seçilen bazı endokrin bozucu maddelerin varlığının belirlenmesi ve bu maddelerin konsantrasyonlarının tespiti amaçlanmıştır. Ülkemizdeki mevcut çalışmalarda, endokrin bozucu maddeler zehirlilikleri açısından değerlendirilmiş olmasına rağmen (Ölmez Hancı ve diğ., 2015) , bu maddelerin en önemli özelliği olan östrojenik aktiviteleriyle ilgili yegane çalışma, bu tezin de yürütüldüğü TÜBİTAK projesi kapsamında yapılmış bir yüksek lisans tezidir (Gün, 2015). Bu nedenle toplam östrojenik aktivitenin içme ve şebeke sularında ölçülmesi

bilimsel açıdan çok önemli ve değerlidir. Bu bağlamda, toplam östrojenik aktiviteyi belirlemek amacı ile kullanılan *in-vitro* maya östrojen izleme testi (YES) Türkiye’ de ilk defa İTÜ Çevre Mühendisliği Laboratuvarları’nda yapılmıştır. Ayrıca çalışma, biyolojik bir deney olan YES ile toplam östrojenik aktivitenin belirlenmesi ve kimyasal bir yöntem olan LC-MS/MS ölçümleri ile östrojenik aktiviteye neden olan EBM ve konsantrasyonlarının spesifik olarak tespit edilmesini birleştirmesi açısından özgündür. Böylelikle, seçilen EBM konsantrasyonları ile toplam östrojenik aktivite arasındaki ilişki incelenerek biyolojik ve kimyasal deneylerin ortaklaşa kullanımının önemi ortaya konulmuştur.

Çalışmada, şişelenmiş sularda ve şebeke sularında karşılaşılabilecek olan östrojenik aktivitenin hem kirlenme sonucunda su kaynağına karışmış olabileceği hem de özellikle plastik şişelerde sonradan oluşabileceği düşünülerek özellikle şişelenmiş sularda saklanma şartlarına bağlı olarak östrojenik aktivitenin değişimi ile ilgili deneyler yapılmıştır. Özellikle yüksek pH, sıcaklık ve güneş ışığının etkisinin incelenmesi ile ilgili literatürde fazla çalışma bulunmaması çalışmayı özgün kılan bir diğer faktördür.

1.2 Çalışmanın Kapsamı

Çalışma kapsamında, şebeke ve şişe sularında bulunabilecek olan östrojenik aktivitenin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla İstanbul’daki beş içme suyu arıtma tesisinin hizmet ettiği bölgelerden, her bölgede en az iki evden olmak üzere minimum 10 adet numune alınmıştır. Bu şekilde, şebeke sularının içme suyu arıtma tesisi çıkışındaki durumu değil de, dağıtım şebekesinde ve bina içinde meydana gelebilecek değişimlerin de içerileceği şekilde, kullanıcıya ulaştığı andaki durumu incelenmiştir.

Şebeke suları için numune alma ve ölçüm işlemleri, yıl içinde her mevsimi temsilen dört kez gerçekleştirilmiştir.

Şişe sularıyla yapılan denemelerde piyasada farklı markalardaki polikarbonat damacana suları satın alınmış ve bu suların saklama koşullarından ne kadar etkilendiği incelenmiştir. Bu amaçla, damacanalara güneş altında bekletilmiş ve çeşitli pH ve süre kombinasyonları denenmiştir. Böylelikle, şişe malzemesinden suya östrojenik etki yapabilecek bir kimyasal geçip geçmediğinin anlaşılması hedeflenmiştir.

Hem Şebeke sularında hem de Şişelenmiş sularda YES biyodeneyi ile toplam östrojenik aktivite belirlenmiş, LC-MS/MS ile östrojenik aktiviteye neden olduğu bilinen bisfenol A, nonilfenol ve bisfenol S varlığı ve konsantrasyonu tespit edilmeye çalışılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapılabilmek adına, YES ve LC-MS/MS denemeleri öncesinde katı faz ekstraksiyonu ile numunelerin konsantre edilmesi saĐlanmıŐtır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Endokrin Bozucu Maddeler Hakkında Genel Bilgi

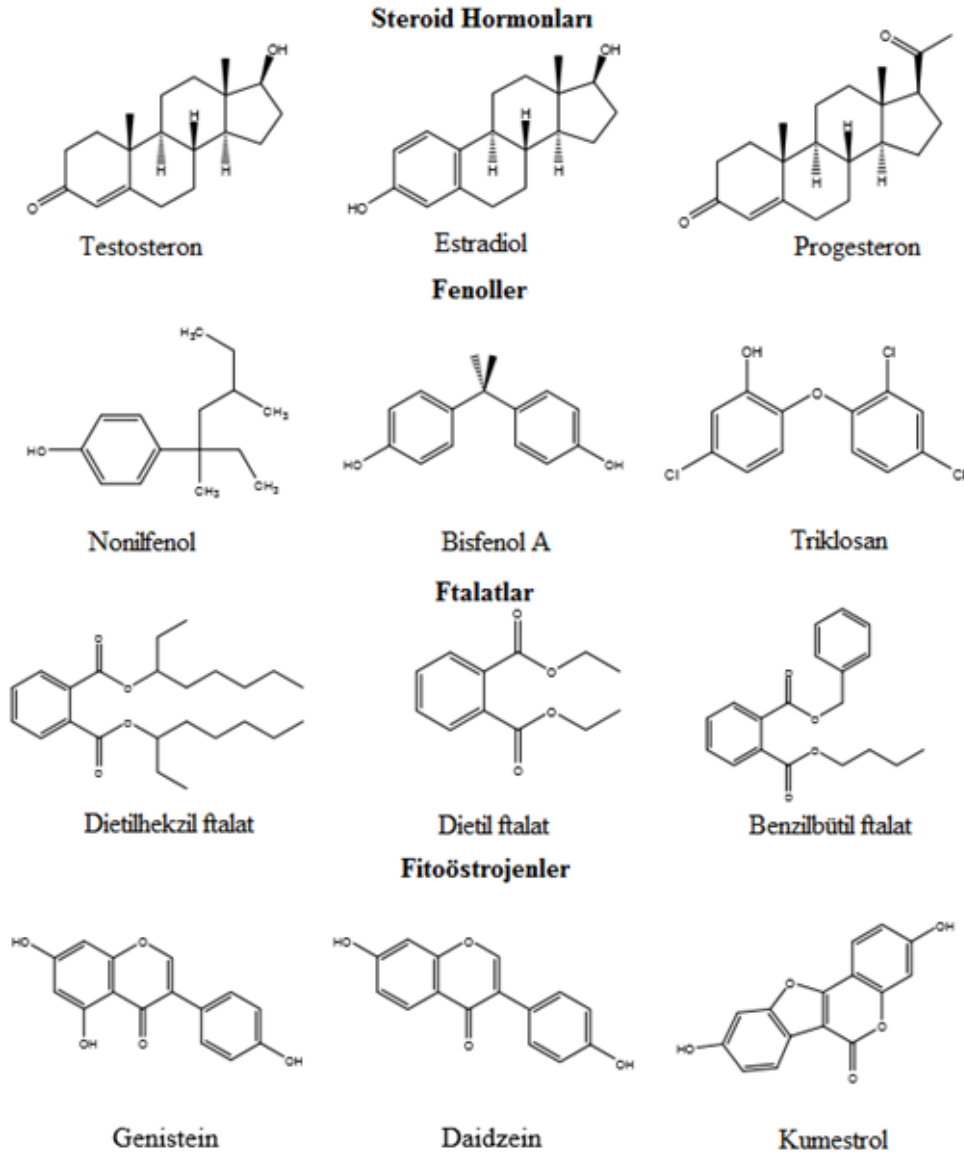
Su canlıları üzerindeki olumsuz etkileri bilinen, endokrin bozucu maddeler (EBM'ler), 1990'lı yıllardan beri toplumsal, politik ve bilimsel bir problem olmuş ve tüm dünyada güncel çevresel araştırma konuları arasında yer almış olup her geçen gün birçok madde endokrin bozucu olarak şüpheli listesine alınmaktadır (Guart, 2011; Sun, 2008; Wagner, 2009).

Endokrin bozucu maddeler (EBM'ler) canlıların ve insanların endokrin sistem fonksiyonlarına karışma potansiyeli ile karakterize edilen heterojenik bir gruptur (Carvalho ve diğ., 2015). EBM'ler ayrıca endokrin bozucular, hormonal-aktif maddeler, endokrin-aktif maddeler, endokrin değiştirici maddeler olarak ve diğer çeşitli benzer terimlerle ifade edilmektedir (Snyder ve diğ., 2008).

EBM'ler, insanların ve hayvanların endokrin sistemini i) içsel hormonların etkilerini taklit ederek, ii) içsel hormonların etkisini azaltarak, iii) içsel hormonların sentezini ve metabolizmasını bozarak ya da iv) özel hormon reseptörlerinin sentezini engelleyerek etkilemektedir (Colosi, 2011; Silva ve diğ., 2012).

Endokrin bozucu maddeler; steroid hormonları, fenoller, ftalatlar ve fitoöstrojenleri içeren geniş bir bileşik grubunu kapsamaktadır (Snyder ve diğ., 2008).. Androjen, östrojen ve progestojen steroid hormonlarının üç alt kategorisidir. Testosteron, temel ve en çok çalışılan androjendir (Snyder ve diğ., 2008). Estradiol, estriol ve estron başlıca üç ana östrojen türleridir (Silva ve diğ., 2012). Progesteron ise tek doğal progestojendir. Oktilfenoller, nonilfenoller ve bisfenol A fenoller grubuna ait endokrin bozucu maddelerdir (Capriotti ve diğ., 2013). EBM grubundan bir diğer tür olan ftalatların en çok bilinen örneği dietilhekzil ftalat olup düşük maliyetinden dolayı tüm dünyada polivinil yapısında en çok kullanılan plastikleştiricidir (Bang ve diğ., 2012). Son olarak fitoöstrojenler ise bitki ve meyve yapısında bulunan ve vücutta östrojen gibi davranan doğal yollarla oluşan bileşiklerdir (Behr ve diğ., 2011).

Genistein ve daidzein en çok bilinen ve üzerinde çalışılan fitoöstrojen türleridir (Capriotti ve diğ., 2013). Bazı önemli endokrin bozucu maddelerin moleküler yapıları Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 : Endokrin bozucu maddelerin yapıları (Snyder ve diğ., 2008).

Endokrin bozucu maddeler yukarıda da belirtildiği gibi geniş bir kimyasal grubunu kapsamaktadır. Bu çalışmada sadece östrojenik aktivite gösteren EBM’ler incelenmiştir. Bu EBM’ler doğal ve sentetik östrojen hormonları, ilaçlar, pestisitler ve endüstriyel kimyasalları (polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH’lar), poliklorlu bifeniller (PCB’ler), yüzey aktif maddeler, plastikleştiriciler ve ağır metaller) içeren bir gruptur (Bistan ve diğ., 2012).

Doğal ve sentetik östrojen hormonları (estron (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), 17 α -etinil estradiol (EE2), ekilin) ile nonilfenol (NP) ve bisfenol A (BPA) gibi maddeler östrojenik aktivite gösteren maddeler arasında ana kirleticiler olarak tespit edilmiştir (Fernandez ve diğ., 2009).

2.2 Endokrin Bozucu Maddelerin Kaynakları

Endokrin bozucu maddeler plastik şişeler, deterjanlar, yangın söndürücüler, gıda, oyuncaklar, kozmetik ürünleri, pestisitler gibi geniş ürün yelpazesinde bulunmaktadır (Jurado ve diğ., 2012).

Östrojen benzeri bileşikler çeşitli gıda maddelerinin içerisinde bulunan ve östrojen sinyali ile karışan bir grup kimyasaldır. Gıdaların doğal yollarla oluşan östrojen benzeri bileşikler içerdiği bilinmektedir. Et, yumurta ve süt içerisinde bulunan hormonlar (17 β -estradiol) ve meyve ve sebzelerde bulunan fitoöstrojenler örnek olarak verilebilir. Fitoöstrojenler, özellikle izoflavonlar ayrıca başta kanser oluşumunu önleme gibi olumlu sağlık etkileri ile de ilişkilidir (Snyder ve diğ., 2008). Bütün bu doğal yollarla oluşan bileşiklerin yanı sıra, sentetik östrojen benzeri kimyasallar (örneğin; ftalatlar, nonilfenol ve bisfenol a) da gıda maddelerinde tespit edilmektedir (Behr ve diğ., 2011). BPA ve NP büyük ölçüde plastiklerde katkı maddeleri ve antioksidan madde olarak kullanılmaktadır. BPA epoksi reçineleri ve polikarbonat plastiklerin üretiminde önemli bir rol oynarken; NP deterjanlarda, pestisit yapılarında ve endüstride geniş bir kullanım alanı olan nonilfenol etoksilatlarının yan ürünü olarak üretilmektedir (Fan ve diğ., 2013). Ayrıca, atıksu içinde bulunan nonilfenol etoksilatlarının arıtma tesisi içinde NP'ye dönüştüğü bilinmektedir (Ahel ve diğ., 1994; Langford ve diğ., 2005; Zhang ve diğ., 2008; Caliman ve Gavrilescu, 2009; Petrie ve diğ., 2013).

Çevresel akıbet çalışmaları yüzeysel sulara endokrin bozucu maddelerin genellikle evsel, endüstriyel ve hayvan çiftliklerinden gelen atıksular yoluyla geldiğini ve birçok endokrin bozucu maddenin çeşitli yüzeysel sularda tespit edilebileceğini göstermektedir (Voutsas ve diğ., 2006; Zuccato ve diğ., 2006; Chang ve diğ., 2009). Günümüzde bir çok içme suyu arıtma tesisi yüzeysel su kaynaklarını kullandığından, giriş suyundan endokrin bozucu maddelerin giderimi tam anlamıyla sağlanamadığında içme suyuna karışma ihtimali söz konusudur (Zhang ve diğ., 2013).

Sularda bulunan diğer endokrin bozucu madde kaynakları tarımsal alanlardan akış, konsantre hayvan besleme işlemleri, depolama alanı sızıntı suları ve kentsel yüzeysel akışı içermektedir (Benotti ve diğ., 2009).

Çizelge 2.1’de EBM kabul edilen bileşiklerin kaynakları ve türlerine örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.1 : EBM kabul edilen bileşiklerin kaynakları ve türlerine örnekler (Snyder ve diğ., 2008).

EBM türü	Kaynakları ve suya giriş yolları	Örnek bileşikler
İnsanlar ve hayvanlar tarafından atılan hormonlar	•Kentsel atıksu arıtma tesisleri çıkış suları, geri dönüşüm/tekrar kullanım suları, septik sistemler •Konsantre hayvan besleme işlemlerinden akış •Su ürünleri •Atıksu arıtma tesisi çamuru uygulamaları yada gübreleme	•17β-Estradiol •Estron •Çeşitli konjuge östrojenler
Fitoöstrojenler ve diğer bitkisel hormonlar, mikoöstrojenler (mantarlar tarafından)	•Gıdalardaki fitoöstrojenler (örneğin; soya) ve diğer bitkisel malzemeler, kanalizasyona atılan insan atıkları •Kağıt hamuru ve kağıt endüstrisinden gelen bitkisel hormonlar	•Genistein •Diadzein •Kumestrol •β-Sitosterol
İyonik bileşikler	•Gübreleme yada sentetik nitrat bazlı suni gübrelerden gelen akış ve sızma •Endüstriyel (yol fişekleri, kibritler, otomobil araç yastıkları) ve askeri kullanım (mühimmat, havacılık) ve sentetik perklorat uzaklaştırma	•Nitrat •Perklorat •Tiyosiyanat
Metaller	•Madencilik •Endüstriyel uygulamalar •Tüketici ürünlerinin (örneğin; piller, cep telefonları) depolama sahalarında depolanması	•Arsenik •Kadmiyum •Kurşun •Cıva
İlaçlar	•Kentsel atıksu arıtma tesisi çıkış suları •Geri dönüşüm suları	•17α-Etinil estradiol •Konjuge östrojenler
Veterinerlikte kullanılan ilaçlar	Konsantre hayvan besleme işlemlerinden akış	Trenbolon

Çizelge 2.1 (devam): EBM kabul edilen bileşiklerin kaynakları ve türlerine örnekler (Snyder ve diğ., 2008).

EBM türü	Kaynakları ve suya giriş yolları	Örnek bileşikler
Dioksinler, furanlar ve PAH'lar	•Orman yangınları (doğal yada insan kaynaklı) •Volkanik aktiviteler •Yakma işlemleri •Endüstriyel prosesler •Fosil yakıtların yakılması	•TCDD •Benzo(a)piren
Endüstriyel kimyasallar ve onların bozunma ürünleri	•Endüstriyel atıklar ve depolanmış atıklar •Tüketici ürünlerinden salım	•PCB'ler •Nonilfenol •Oktifenol •Bisfenol a
Biositler	•Tarımda pestisit ve herbisit uygulamaları, peyzajcılık, evler, yeraltı suyuna ve yüzeysel sulara akış veya sızma ile tamamlanan işlemler •Kullanılmayan biostlerin kentsel atıksu arıtma tesisleri ya da depolama sahalarında uzaklaştırılması	•DDE •Lindan •Atrazin •Linuron •Vinklozolin •Tribütiltin

Yapılan son çalışmalar, insan kaynaklı (antropojenik/sentetik) EBM'lere yönelmiştir (Bang ve diğ., 2012; Flint ve diğ., 2012). Örneğin; kontraseptif olarak kullanılan sentetik hormonlar, çeşitli ilaç etken maddeleri ve kişisel bakım ürünleri, BPA, PCB, dioksin, pestisit, ftalat, alkil fenol ve alkil fenol etoksilatları içeren birçok endüstriyel kimyasal özel öneme sahiptir (Dorival-Garcia ve diğ., 2012). İnsan kaynaklı EBM'lerin geniş bir kimyasal grubunu ifade ettiği göz önünde bulundurulduğunda ve kimyasal maddelerin günlük hayatın her alanında kullanıldığı, bu nedenle üretim hacminin fazlalığı hesaba katıldığında insan kaynaklı EBM'lerin doğal hormonlara göre doğada fazla bulunabileceği düşünülebilir. Bu durum da insan kaynaklı endokrin bozucu maddeleri önemli kılmaktadır.

2.3 Endokrin Bozucu Maddelerin Etkileri

Endokrin bozucu maddeler, çevresel sistemlerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen insan sağlığına ve çevreye önemli boyutlarda etki ettiklerinden bilimsel araştırmalarda gitgide önem kazanan bir konu olmuştur. Cinsiyet farklılaşmaları endokrin bozucu maddelerin toksikolojik değerlendirmelerinin ana konusudur (Dorival-Garcia ve diğ., 2012). Tespit edilmiş en önemli biyolojik

etkilerden biri çeşitli nehirlerdeki balık popülasyonlarında görülen feminizasyondur. EBM içerdiği bilinen atıksuların deşarj edildiği yüzeysel sularda erkek balıklarda feminizasyona bağılı olarak hermafrodit oluşum gözlemlenmiştir (Jobling ve diğ., 1998). BPA, NP, estron (E1), 17 β -estrodiole (E2), estriol (E3) ve 17 α -etinilestradiol (EE2)'nin balık türlerinde üreme bozukluklara sebep olduğı görülmüştür (Fernandez, 2009).

Atrazin ile yapılan bir çalışmada atrazine maruz bırakılan erkek kurbağalarda testosteron seviyesinin azaldığı, östrojen seviyesinin arttığı ve hermafrodit oluşum gerçekleştiğı gözlemlenmiştir (Hayes ve diğ., 2002).

EBM'ler cinsiyet farklılaşmalarına sebep olmanın yanı sıra, üreme fonksiyonlarına olumsuz etkisi (Behr ve diğ., 2011; Dorival-Garcia ve diğ., 2012), hormonal kanser türlerinde (testis ve meme kanseri) artışa neden olması (Soares ve diğ., 2008; Behr ve diğ., 2011; Plotan ve diğ., 2013), metabolik fonksiyonlara olumsuz etkisi, bağışıklık sistemi, gelişme fonksiyonları, büyüme, davranış, hafıza bozuklukları (Dorival-Garcia ve diğ., 2012), kardiyovasküler rahatsızlıklar ve diyabet (Lang ve diğ., 2008) ve obeziteye etkisi sebebiyle de endişeye oluşturmaktadır (Grun ve Blumberg 2009).

Östrojenik bileşiklerin insan sağlığına olumsuz etkileri; kanser oluşumu ihtimalini artırma ve erkek üreme sistemini olumsuz etkileme şeklinde gözlenmektedir. Atıksu arıtma tesislerinden östrojen ve zenöstrojen (antropojenik östrojen/sentetik östrojen) deşarj edilen bölgelerde, sucul ekosistemde feminizasyon etkilerini de içeren üreme sistemleri bozuklukları tespit edilmiştir. Endokrin bozucu maddeler sıklıkla vitollejenin konsantrasyonundaki artış ya da gelişme bozuklukları ile tespit edilmektedir (Beck ve diğ., 2006).

Plastik katkı maddeleri çevre ve insan sağlığına risk oluşturabilmekte ve küresel atık yönetim problemine katkıda bulunmaktadır. Bu bağlamda, plastik içeren sentetik yapıda reçinelerin EBM varlığını mümkün kılması sebebiyle endişe söz konusudur (Bang ve diğ., 2012). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda bazı ftalat türlerinin endokrin bozucu etkisi sonucu ruhsal bozukluklara ve üreme toksisitesine neden olduğı ortaya konmuştur (Bang ve diğ., 2012). Birtakım insan yapımı kimyasalın omurgasızlar, sürüngenler ve balıklar dahil olmak üzere bazı türlerde üreme fonksiyonlarına zarar verdiği tespit edilmiştir (Behr ve diğ., 2011).

İnsanlarda da östrojen benzeri EBM'lere maruz kalmaya bağlı olarak üreme fonksiyonlarında benzer etkiler gözlemlenmiştir. Potansiyel etkileri doğurganlıkta azalma, hormonlara bağlı kanser türlerinin oranında artış, doğuştan gelen bozukluklar ve erkek bebeklerde feminizasyonu içermekte olup bunlarla sınırlı değildir. Son araştırmalar EBM türlerine maruz kalma ile kardiyovasküler hastalıkların, diyabetin ve obezitenin arasında bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir (Behr ve diğ., 2011). EBM seviyesi ile obezite arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Grün ve Blumberg, 2009).

Gıda yolu ile maruz kalınan endokrin bozucu maddelerden fitoöstrojenler de tartışma konusudur. Asya beslenme kültürünün temel besinlerinden soya, fitoöstrojen içerdiği bilinen bir bitkidir. Soyanın çeşitli hastalıkların riskini azalttığı bilinmesine rağmen endokrin bozucu madde içermesi endişelere sebep olmaktadır. Fitoöstrojenlerin yararları ve zararları ile ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiş olup, fitoöstrojenlerin etkisinin bireyin yaş, sağlık durumu, tüketim seviyesi ve hatta bireyin bağırsak florasının bileşimine bağlı olarak farklılıklar gösterebildiğini ortaya koymuştur (Patisaul ve Jefferson, 2010).

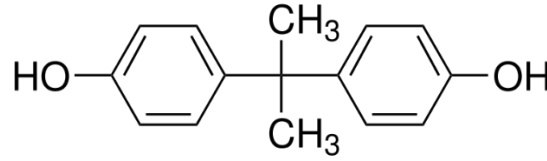
EBM'ler düşük konsantrasyonlarda bile hormonal olarak aktif olabilmektedir. Yapılan son çalışmalarda atıksular, yüzeysel sular, yeraltı suyu ve hatta içme sularında dahi yüksek konsantrasyonlarda bulunmaları endişeye sebep olmaktadır. İnsanlar EBM'lere gıdalar, su ve çevre yoluyla maruz kalmaktadır. Son araştırmalar ve bilimsel mutabakatlar EBM'lere maruz kalmanın üremeye olumsuz etki gösteren sonuçlar doğurduğunu ortaya çıkarmıştır. Kısırlık, kanser, sakatlıklar ve diğer hormonal sistemi etkileyen rahatsızlıklar bunlara örnek gösterilebilir (Bistan ve diğ., 2012). Kız çocuklarında erken ergenliğe girme, erkeklerde sperm sayısında azalma, üreme organlarında fonksiyon bozuklukları, meme, yumurtalık, testis ve prostat kanserlerinde artış da sayılabilecek diğer ciddi etkilerdir (Bach ve diğ., 2012).

2.4 Endokrin Bozucu Maddelere Örnekler

2.4.1 Bisfenol A (BPA)

2.4.1.1 BPA'nın özellikleri

BPA genel olarak 2,2-bis(4-hidroksifenil)propan ismiyle de kullanılmakta olup kimyasal olarak birbirine metil köprüsü ile bağlı iki fenol halkasından oluşan organik bir bileşiktir. Metil köprüsüne iki fonksiyonel metil grubu bağlanmıştır (Wright-Walters ve diğ., 2011). Şekil 2.2'de BPA'nın moleküler yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.2 : BPA'nın moleküler yapısı.

BPA düşük buhar basıncı ve yüksek erime noktasına sahiptir. Suda kısmen çözünür (300 mg/L) ve pKa değeri 9,6 ile 11,3 arasında değişmektedir. BPA biyolojik olarak kolay bozunabilen bir maddedir ve karbondioksite mineralizasyonu %81 ile 93 oranında 28 günde gerçekleşmektedir. Yapılan bir çalışmada nehirdeki bozunma yarı ömrü 0,5-3 gün ölçülmüştür (Wright-Walters ve diğ., 2011). Çizelge 2.2'de BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 : BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri (European Commission (EC), 2003; Snyder ve diğ., 2008).

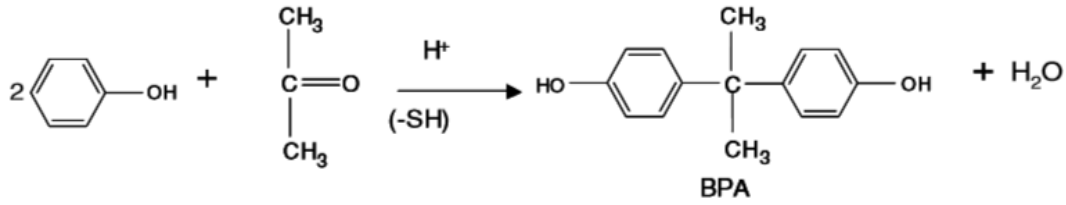
BPA'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	
Adı	Bisfenol A
IUPAC Adlandırılması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS Numarası	80-05-7
Moleküler Formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Moleküler Ağırlığı	228,29 g/mol
Fiziksel Durum	Beyaz katı pullar veya toz halinde
Erime Noktası	155°C

Çizelge 2.2 (devam): BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri (European Commission (EC), 2003; Snyder ve diğ., 2008).

BPA'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	
Kaynama Noktası	360°C (101,3 kPa)
Bağıl Yoğunluk	1,2 g/cm ³ (25°C)
Buhar Basıncı	5,3x10 ⁻⁹ kPa (25°C)
Sudaki Çözünürlüğü	300 mg/L
LogK _{ow}	3,32
Parlama Noktası	207°C
Pka	9,6-11,3

2.4.1.2 BPA'nın üretimi

BPA yılda 3,7 milyon metrik tondan fazla toplam üretim kapasitesiyle dünyanın en çok üretim hacmine sahip olan kimyasallarından biridir (Wright-Walters ve diğ., 2011, Liao ve diğ., 2012). Birçok şirket BPA sentezlemek için özel yöntemler kullanmaktadır (Wright-Walters ve diğ., 2011). Fakat BPA temelde asetonun fenolle asit katalizli kondenzasyonu sonucu elde edilmektedir (Prokop ve diğ., 2004). İki farklı BPA üretim yöntemi mevcuttur. Birinci yöntemde fenol ve aseton düşük pH ve yüksek sıcaklık koşullarında katalizörler varlığında kondense edilir. Ardından elde edilen ham BPA distilasyon teknolojisi kullanılarak saflaştırılır. Eriyik halde bulunan saflaştırılmış ürün filtreden süzülür ve kurutulur. İkinci yöntem de benzer olmakla birlikte farklı katalizörler saflaştırma teknolojileri kullanılarak daha az atık elde edilmektedir. Her iki yöntemde de BPA priller, pullar ya da kristaller şeklinde elde edilmektedir. Atıklar üretim proseslerinde (yıkama kalıntıları veya atıksu) oluşturulmaktadır. BPA ayrıca işlenme, ambalajlanma ve taşıma esnasında kaza sonucu kapalı sistemlerden kaçarak toz emisyonları şeklinde serbest kalabilir (Staples ve diğ., 1998). Şekil 2.3'te BPA oluşum reaksiyonu gösterilmiştir.



Şekil 2.3 : BPA oluşum reaksiyonu (Prokop ve diğ., 2004).

Epoksi reçineler için üretilen BPA ve polikarbonat üretiminde kullanılan daha yüksek saflıkta BPA olmak üzere iki sınıf BPA türü üretimi mevcuttur. (Wright-Walters ve diğ., 2011).

2.4.1.3 BPA'nın kullanım alanları

BPA temel olarak epoksi reçinelerinin ve polikarbonat plastiklerin üretiminde kullanılmaktadır (Crain ve diğ., 2007; Li ve diğ., 2010; Wright-Walters ve diğ., 2011; Dorival-Garcia ve diğ., 2012; Huang ve diğ., 2012; Hoekstra ve Simoneau, 2013).

BPA gıda ve içecek ambalajları, yangın söndürücüler, yapıştırıcılar, yapı malzemeleri, elektronik parçalar ve kağıt kaplamaların da içinde bulunduğu bir çok üründe yer aldığından özellikle son seksen yılda her yerde görülen bir bileşik haline gelmiştir (Li ve diğ., 2010; Flint ve diğ., 2012).

BPA reçineleri yiyecek saklamak için kullanılan metal kutuların kaplamalarında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Dorival-Garcia ve diğ., 2012). Fakat 2001 yılından itibaren metal kutuların kaplamalarındaki kullanımı yerini polietilen tereftalat filmlere bırakmaya başlamıştır (Wright-Walters ve diğ., 2011).

Toz boyalar, otomobil farları ve termal kağıtlar BPA'nın kullanıldığı diğer son ürünler arasında sayılmaktadır (Staples ve diğ., 1998).

Yıllık BPA ihtiyacının %6-7 oranında artması beklenmektedir (Wright-Walters ve diğ., 2011).

2.4.1.4 BPA'nın çevresel davranışı

BPA psödo dayanıklı bir kimyasaldır. Düşük yarı ömrüne rağmen devamlı olarak piyasaya sürüldüğü için çevrede her yerde bulunan bir bileşiktir (Flint ve diğ., 2012). Sucul ortam da buna dahildir ve BPA su sistemine çoğunlukla noktasal deşarj yoluyla girmektedir. Atıksu arıtma tesisi çıkış suları noktasal deşarjlara örnek olarak verilebilir (Oehlmann ve diğ., 2009). Noktasal deşarj haricinde depolama sahasından sızan sular

gibi yayılı kaynaklardan da sucul ortama BPA girişi söz konusudur (Oehlmann ve diğ., 2009).

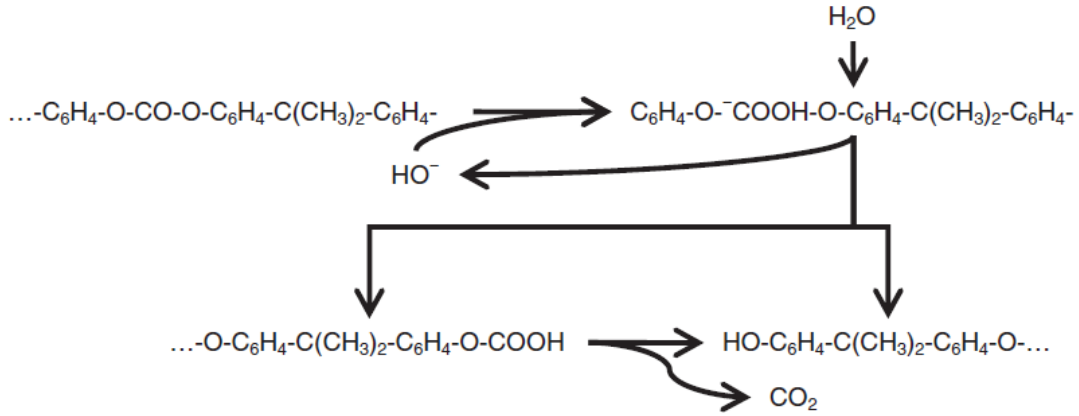
BPA salınımı esas olarak şişe yapımı sonrasında şişede kalan BPA miktarına bağlı olup bu miktar standartlara uygun üretilmiş şişelerde 1-140 mg/kg arasında olmakla birlikte, standart dışı üretimlerde şişede kalan BPA konsantrasyonu 380-600 mg/kg'a çıkabilmektedir (Kawamura ve diğ., 1998).

Tekrar kullanılabilir polikarbonat şişelerden suya geçen BPA konsantrasyonu, şişenin kaçınıcı kullanımı ile ilişkili olup yeni şişelerden suya geçen BPA konsantrasyonu daha yüksektir (Colin ve diğ., 2014).

Şişe hammaddesinden difüzyon ile salınım ek olarak yiyecek ya da içecek maddesi ile temas sonucunda polimerin hidrolizi de diğeri bir BPA salınım mekanizmasıdır. Şekil 2.4'te polimer hidrolizi ile BPA salınımı mekanizması gösterilmiştir (Hoekstra ve Simoneau, 2013).

2013 yılında yayınlanmış olan kapsamlı bir literatür taraması makalesinde, polikarbonat şişelerden BPA salınımında, öne çıkan faktörler olarak temas süresi, sıcaklık ve pH belirtilmektedir (Hoekstra ve Simoneau, 2013). Polikarbonat şişelerden BPA salınımının alkali hidroliz yoluyla olması sebebiyle, alkali deterjanlarla yapılan yıkamaların bile BPA salınımını artırabileceği öne sürölmektedir (Hoekstra ve Simoneau, 2013). Sert su kullanımından kaynaklanan yüksek pH değerleri polikarbonattan BPA salınımını 5 kattan daha fazla arttırmaktadır (Biedermann-Brem ve Grob, 2009).

BPA içeren polikarbonat bir yapıya sahip biberonlardan su matrisine geçen BPA miktarı hem sıcaklık hem de temas süresine göre değişmekle birlikte, kısa süre için çok yüksek sıcaklıklarda salınan BPA miktarı, orta sıcaklıkta ancak uzun süreli temas sonucunda salınan BPA miktarından daha düşöktür (Hoekstra ve Simoneau, 2013). Bu da özellikle 19 L'lik su damacanelerinin uzun sürede tüketildiği durumlarda suya geçebilecek BPA miktarının önemli olacağını düşöndürmektedir (EEC, 1982). Polikarbonat şişenin/damacanelerin kaçınıcı kez kullanıldığı da BPA salınımını etkilemek olup şişelerin ardışık kullanımları sonucunda suya geçen BPA miktarı azalmaktadır (Hoekstra ve Simoneau, 2013).



Şekil 2.4 : Polimer hidrolizi ile BPA salınımı mekanizması.

BPA'nın polikarbonat şişelerden sızması ve insana geçmesi ile ilgili en yeni ve en kontrollü çalışma, 2013 yılında Çin'de gerçekleştirilmiştir (Li ve Zhang, 2013). İdrardaki BPA konsantrasyonunun polikarbonat ve seramik şişe/bardak kullanan 25 kişide 3 hafta boyunca ölçülmesi sonucunda polikarbonat şişeden su içilmediği durumlarda idrardaki konsantrasyon düşmüş ($0,012 \mu\text{g BPA/ L idrar'dan } 0,0056 \mu\text{g BPA/ L idrar'a}$) ve tekrar polikarbonat şişeye dönüldüğünde yükselmiştir ($0,0067 \mu\text{g BPA/ L idrar}$).

2.4.1.5 BPA'nın etkileri

BPA steroid yapıda olmayan bir zenöstrojen olup yaklaşık olarak 10^{-6} - 10^{-4} estradiol aktivitesi sergilemektedir (Witorsch, 2002). Fakat son çalışmalar BPA'nın bazı reseptörlerin cevabını tetiklemede estradiol kadar etkili olabileceğini ve androjen reseptör antagonisti gibi davranabileceğini göstermektedir (Flint ve diğ., 2012).

Literatürde BPA için EC_{50} ve LC_{50} değerleri 1 ila 10 mg/L aralığında verilmektedir. Bu nedenle sudaki biyolojik canlılar için Avrupa Komisyonu tarafından “orta seviyede toksik”, EPA tarafından ise “toksik” olarak sınıflandırılmaktadır. Fakat BPA'nın canlı yaşamı üzerindeki etkisi konusunda yapılan çalışmalar neticesinde çevresel olarak uygun konsantrasyonlarda bile ($12 \mu\text{g/L}$ ve altı) zararlı olduğu ortaya konmuştur (Flint ve diğ., 2012).

İçme sularının dezenfeksiyonu için klorlama ya da ozonlama gibi prosesler kullanıldığı düşünüldüğünde, insanların sadece EBM'e değil bu maddelerin klorlanması sonucunda oluşacak klorlanmış yan ürünlere de maruz kalabilme ihtimali ortaya çıkmaktadır. Ozonlama sonucunda çoğu organik maddenin ve dolayısıyla

EBM'nin son ürünlere kadar oksitlenmesi mümkün olsa da, son birkaç yılda yapılan çalışmalar çeşitli EBM'nin klorlanması sonucunda oluşacak ürünlerin östrojenik aktivitelerinin de çok önemli olabileceğini ortaya koymuştur (Fan ve diğ., 2013; Kuruto-Niwa ve diğ., 2005). Özellikle dikloro-BPA, konsantrasyonu düşük olmasına rağmen, östrojenik aktivitenin çoğunluğuna sebep olabilir. Yapılan bir çalışmada 3,3'dikloroBPA'nın östrojenik aktivitesinin BPA'nın östrojenik aktivitesinden 38 kat fazla olduğu bulunmuştur (Fukazawa ve diğ., 2002).

BPA'nın östrojenik etkisinin ortaya konulmasını ve bu maddenin biberonlarda kullanımının yasaklanmasını takiben benzer bir madde olan Bisfenol S (BPS)'nin plastik yapımında kullanımı başlamıştır (Ji ve diğ., 2013; Simoneau ve diğ., 2011). BPA'sız adı altında satılan ürünlerde BPA yerine genellikle BPA ile benzer kimyasal yapıya sahip olan BPS kullanılmaktadır. Bu durumda insanlar BPA'sız ürünler tercih etmesine rağmen BPS hakkında bilgi sahibi olmadıklarından dolayı bilindik bir problemi bilinmedik bir problemle değiştirmektedirler (Glausiusz, 2014). Ancak, bu konuda yapılan az sayıda çalışmada, BPS'nin hormon sistemini olumsuz etkilediğini (Ji ve diğ., 2013) ve östrojenik etkisinin BPA'ya yakın olduğunu göstermiştir (Grignard ve diğ., 2012; Kuruto-Niwa ve diğ., 2005). BPA ve BPS için elde edilen EC50 değerleri sırasıyla $1,04 \times 10^{-6}$ M- $2,32 \times 10^{-6}$ M ve $1,75 \times 10^{-6}$ M- $4,24 \times 10^{-6}$ M aralığında bulunmuş olup bu da 17- β östradiol'dan (EC50: $5,49 \times 10^{-12}$ - $4,10 \times 10^{-11}$ M) 100000 kat daha düşük östrojenik etki gösterdikleri anlamına gelmektedir (Grignard ve diğ., 2012). Yine de bu sonuç, BPA'sız olarak nitelendirilerek satılan plastik şişelerin de aslında östrojenik etki gösterme ihtimali olabileceğini göstermektedir.

BPA, vücutta homeostaz, üreme ve davranıştan sorumlu doğal hormonların sentezi, salgılanması, dağıtımı, bağlanması ve vücuttan atılması gibi eylemleri engellemektedir (Li ve diğ., 2010). BPA'nın insan sağlığı üzerindeki doğrudan etkisi ile ilgili yayınlanmış yeterince çalışma bulunmasa da, hayvanlar üzerindeki etkisine bakıldığında insanların da BPA ile kontamine olmuş yiyecek ve suları tüketmesi durumunda etkilenebileceği söylenebilmektedir. Yumurtalık hastalıkları ve düşük/erken doğum olaylarının kandaki BPA seviyesi ile ilişkilendirildiği iki epidemolojik çalışma bulunmakta olup çok düşük BPA konsantrasyonlarının dahi insan prostat kanser hücrelerinde artışa, kalp ve damar hastalıklarına, Tip II şeker hastalığına ve karaciğer-enzim bozukluklarına neden olabileceği düşünülmektedir

(Mohapatra ve diğ., 2010). Yapılan çalışmalar, BPA maddesine insan sağlığı açısından önem verilmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

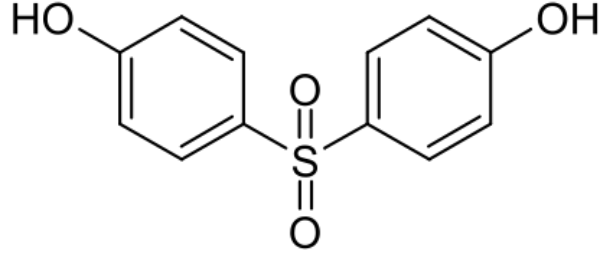
BPA'nın biberonlardan bebeklere geçme ihtimali sebebiyle Kanada'da bebek ürünlerinde BPA kullanılması 2008 yılında yasaklanmıştır. Kanada'dan sonra AB ülkelerinde (European Union, 2013) ve 2011 yılında ülkemizde (Mevzuat, 2013) de yasaklanmıştır. Amerika'nın eyaletlerinde de BPA için çeşitli yasalar çıkartılmıştır (Mohapatra ve diğ., 2010). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), fetüs ve yeni doğan bebekler gibi hassas alt grupların da dahil olduğu tüketici grubu için günlük tolere edilebilir BPA'ya maruz kalma dozunu 0.05 mg/kg vücut ağırlığı olarak belirlemiştir. Avusturalya ve Yeni Zelanda da Avrupa ülkelerinin uygulamasını benimsemiştir. Ancak Asya ve Afrika ülkelerinde BPA ile ilgili bir kontrol mekanizması henüz geliştirilmemiştir (Bach ve diğ., 2012).

2.4.2 Bisfenol S (BPS)

Bisfenol S (BPS), 4,4'-sülfonil difenol, epoksi reçine, siklik karbonatlar ve sülfonillenmiş poli eter keton eter sülfonların yapımında uzun yıllardır kullanılmakta olup ayrıca, çeşitli pestisitler ve boya maddelerinin yapısında da bulunmaktadır (Cao ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2014; Liao ve diğ., 2012a; Liao ve diğ., 2012b). BPS, deri tabaklamada, boya dispersiyonu için ve fiberlerin güçlendirilmesinde de kullanılan önemli bir endüstriyel madde olduğu için gelişmekte olan ülkelere bu maddeye olan talep ve dolayısıyla maddenin üretimi gün geçtikçe artmaktadır (Liu Y, 2005).

Bu kullanımına ilave olarak, Bisfenol S, BPA'nın yaratabileceği endokrin bozucu etkilere karşı oluşmuş tepki sebebiyle BPA yerine kullanımına başlanmış maddelerden de bir tanesidir. Özellikle 2011 yılında Avrupa Komisyonu'nun BPA'nın biberonlarda kullanımını yasaklaması üzerine BPS'nin BPA yerine biberon üretiminde kullanımı sıklaşmıştır (Ji ve diğ., 2013). BPS'nin moleküler yapısı Şekil 2.5'te verilmiştir. BPA yerine BPS kullanılması görece olarak yeni olsa da, bu maddenin yapısı ve BPA'ya benzer tepkiler verip vermeyeceği ile ilgili çalışmalar, bu maddenin BPA yerine kullanılmasını takiben hemen başlamış ve son iki yılda hız kazanmıştır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan ve 2014 yılında tamamlanan bir çalışma (OEHHA, 2014), BPS'yi ilerde yaratabileceği problemler sebebiyle incelenmesi yararlı olacak maddeler listesine almıştır.



Şekil 2.5 : BPS' nin moleküler yapısı.

BPS maddesi bir BPA analogu olduğundan BPA yerine, “BPA’sız” olarak lanse edilen ürünlerde yer almaktadır. Bu sebeple, özellikle daha bu madde ile ilgili bir kontrol mekanizması mevcut olmadığı için, BPS’nin kullanılma miktarının yüksek olma ihtimali fazladır. Gıda maddesi ambalajında BPA ve BPA analoglarının kullanım oranlarına bakıldığında BPS ve BPA arasında bir korelasyon olduğu görülmektedir (Liao ve Kannan, 2014). Plastik malzemelerde BPA konsantrasyonunun BPA analoglarından yüksek olmasına rağmen, konserve ürün malzemelerinde toplam BPA analogları konsantrasyonu BPA’ninkine yakın, cam malzemelerde ise BPA konsantrasyonundan çok daha fazladır (Liao ve Kannan, 2014).

Yaygın kullanıma bağlı olarak BPS’ye insan idrarında (Liao ve Kannan, 2012; Yang ve diğ., 2014) ve göl ve haliç sedimanlarında (Liao ve diğ., 2012b) rastlanmıştır. Diğer BPA analoglarına kıyasla BPS’ nin Japonya’daki haliç sedimanının en genç kısmında en çok bulunan tür olması, bu maddenin 2001 yılından sonra Japonya’da BPA yerine kullanılmaya başlaması ile açıklanmıştır (Liao ve diğ., 2012b). İnsan idrarında bulunan BPS miktarı da, diğer BPA analogları arasında en yüksek konsantrasyonda bulunmuştur (Yang ve diğ., 2014). Çevresel sularda en yüksek BPS konsantrasyonu olarak 3 µg/L rapor edilmektedir (Kienhuis ve Geerdink, 2000). Çevredeki akıbeti açısından BPS’nin BPA’ya göre biyolojik parçalanmaya daha dayanıklı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Ike ve diğ., 2006) ancak fotoliz de dikkate alındığında çevredeki yarılanma ömrünün BPA’dan daha kısa olabileceği de vurgulanmaktadır (OEHHA, 2014).

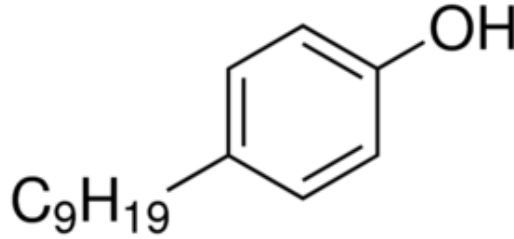
BPS, BPA'ya benzer yükseklikte östrojenik aktivite göstermesine rağmen, BPS'nin klorlanması ile oluşan klorlanmış türevleri (CIBPS için $1,12 \times 10^{-7}$, diCIBPS için $3,11 \times 10^{-7}$, triCIBPS için $3,05 \times 10^{-6}$ EEQ), BPA'nın klorlu türevlerinden farklı olarak (CIBPA için $3,87 \times 10^{-5}$, diCIBPA için $2,57 \times 10^{-5}$, triCIBPA için $3,05 \times 10^{-6}$ EEQ) daha az östrojenik aktivite göstermektedir (Kuruto- Niwa ve diğ., 2002; Kuruto-Niwa ve diğ., 2005).

Bu da özellikle şebeke sularında, klorlanmadan önce suda BPS bulunuyor olsa da klorlama sonucunda gözlenecek östrojenik aktivitenin azalacağını göstermektedir.

2.4.3 Nonilfenol (NP)

2.4.3.1 NP'nin özellikleri

Nonilfenol ifadesi genel formülleri $C_6H_4(OH)C_9H_{19}$ olan geniş sayıda izomerik bileşiğe verilen bir isimdir. (European Commission (EC), 2002). NP bir fenol halkası ve *para* pozisyonunda dokuz karbon zinciri içeren bir zenobiyotik bileşiktir (Soares ve diğ., 2008). Şekil 2.6'da NP'nin moleküler yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.6 : NP'nin moleküler yapısı.

NP çevre koşullarında hafif soluk renkli viskoz bir sıvı yapısında olup suyla karışmaz. 2001 yılında AB Su Çerçeve Direktifi'nde öncelikli maddeler listesinde yer almıştır (Url-1). Çizelge 2.3'te NP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.3 : NP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (European Commission (EC), 2002; Snyder ve diğ., 2008; ECHA, 2012; Soares ve diğ., 2008).

NP'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	
Adı	Nonilfenol
IUPAC Adlandırılması	4-Nonilfenol
CAS Numarası	84852-15-3
Moleküler Formülü	C ₁₅ H ₂₄ O
Moleküler Ağırlığı	220,34 g/mol
Fiziksel Durum	Soluk sarı viskoz sıvı
Erime Noktası	-8°C
Kaynama Noktası	302°C (101 kPa)
Bağıl Yoğunluk	0,952 g/cm ³ (25°C)
Buhar Basıncı	2,07x10 ⁻² Pa (25°C)
Sudaki Çözünürlüğü	4,9 mg/L
LogK _{ow}	4,48
Parlama Noktası	141°C
pKa	10,7

2.4.3.2 NP'nin üretimi

Nonilfenol ilk kez 1940'da sentezlendiğinden beri üretimi ve kullanımı eksponansiyel olarak artmaktadır. NP'nin yıllık üretim miktarı ABD'de 154200 ton, Avrupa'da 73500 ton, Japonya'da 16500 ton, Çin'de 16000 ton olarak belirtilmektedir (Soares ve diğ., 2008).

NP üretiminde kullanılan üç ana proses vardır. Bunlardan birincisi fenol ve karışık nonenlerin katalizör varlığında kesikli proseste reaksiyona sokulması sonucu gerçekleşir. Kullanılan katalizör montmorillonit kil ve fosforik asittir.

İkinci yöntem ise fenol ve karışık nonenlerin sülfonlu iyon değiştirici reçineler varlığında kesikli proseste reaksiyona sokulması şeklinde gerçekleşmektedir. Katalizör/ön kaplama sistemi 40-500 kez tekrar kullanılabilir.

Üçüncü yöntemde fenol ve karışık nonenler akışkan yataklı iyon değıştirici reçine varlığında sürekli proseste reaksiyona sokulur. Katalizör ömrü yaklaşık olarak üç aydır (European Commission (EC), 2002).

2.4.3.3 NP'nin kullanım alanları

NP, antioksidanların, makine yağı katkı maddeleri ve büyük ölçüde nonilfenol etoksilatlı yüzey aktif maddelerin üretiminde (%65) kullanılan zenobiyotik bir bileşiktir. Nonilfenol etoksilatlar, uygun maliyetli ve oldukça iyi performansla sahip olmaları nedeni ile deterjanlar, emülgatörler, sulandırıcı ve çözücü maddeler, statik elektrik önleyici maddeler ve emülsiyon çözücüler gibi birçok endüstriyel, ticari ve evsel uygulamalarda kullanılmaktadır (Soares ve diğ., 2008). 4-NP, yüzey aktif maddeler ve gıda ambalajları gibi evsel ürünlerde kullanılmaktadır (Wagner ve Oehlmann, 2009).

2.4.3.4 NP'nin çevresel davranışı

Birçok çalışma uzun zincirli nonilfenol etoksilatlarının (NP_nEO) biyolojik olarak dönüşümünün kanalizasyon sistemi ve ön çöktürücülerde gerçekleştiğini kanıtlamıştır (Ahel ve diğ., 1994; Langford ve diğ., 2005; Zhang ve diğ., 2008). Bu da nonilfenol, nonilfenol monoetoksilat ve nonilfenol dietoksilatın da içinde bulunduğu daha kısa zincirli metabolik ara ürünlerin birikimine neden olmaktadır (Ahel ve diğ., 1994; Langford ve diğ., 2005; Stasinakis ve diğ., 2008; Zhang ve diğ., 2008; Caliman ve Gavrilescu, 2009; Petrie ve diğ., 2013).

Yeni çalışmalar NP'nin güçlü bir östrojenik izomer olduğunu göstermekte ve genellikle atıksu arıtma tesislerinde tespit edildiğini belirtmektedir (Soares ve diğ., 2008; Stasinakis ve diğ., 2008; Zhang ve diğ., 2008; Caliman ve Gavrilescu, 2009; Petrie ve diğ., 2013).

2.4.3.5 NP'nin etkileri

NP, yaygın olarak kullanılan noniyonik yüzey aktif madde olan nonilfenol etoksilatlarının (NP_nEO) metabolitlerden biridir. Ana maddesinden çok daha inatçı ve toksik bir maddedir ve endokrin bozucu madde olarak davranmaktadır (Huang ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2008).

NP doğal çevrede her yerde bulunabilen bir bileşiktir ve yüzeysel sular ve yeraltı suları (Carvalho ve diğ., 2015), içme suları (Fan ve diğ., 2013), atıksu ve arıtma çamuru gibi farklı çevresel ortamlarda ve gıdalarda tespit edilmiştir (Huang ve diğ., 2007; Soares ve diğ., 2008).

NP, endokrin sistemini, E2 hormonun bağlandığı reseptörle bağlanıp bu hormonun fonksiyonunu inhibe ederek bozmakta ve aynı zamanda göğüs kanseri hücrelerinin yayılmasına neden olmaktadır (Soares ve diğ., 2008). NP'in östrojenik etkisi, NP konsantrasyonunun $\mu\text{g/L}$ hatta ng/L seviyelerinde olması durumunda bile tespit edilebilmektedir (Isidori ve diğ., 2006). US EPA, NP için su kalite kriteri yayınlamıştır. Buna göre, akut maruz kalma için (maksimum 1 saat) kriter $28 \mu\text{g/L}$ iken kronik maruz kalma için $6,6 \mu\text{g/L}$ (üç yılda bir kereden fazla 4 saat maruz kalma) olarak belirlenmiştir (Chang ve diğ., 2009). Yukarıda da belirtildiği gibi, NP, AB ülkelerinde öncelikli maddeler arasında yer almakta olup, sularda bulunabileceği maksimum konsantrasyon $0,3 \mu\text{g/L}$ olarak belirlenmiştir. Çin, Hindistan ve Güney Amerika ülkelerinde ise NP'nin sularda bulunabileceği konsantrasyon ile ilgili henüz herhangi bir standart belirlenmemiştir (Soares ve diğ., 2008).

2.5 Toplam Östrojenik Aktivite ve Östrojenik Aktiviteye Neden Olan Maddelerin Ölçümü İçin Kullanılan Yöntemler

2.5.1 YES biyodeneyi

YES testi birçok çalışmada çevresel numunelerdeki östrojenik aktivitenin belirlenmesinde orta maliyetli, güçlü, hızlı ve hassas bir araç olarak kullanılmaktadır.

YES testinde *saccharomyces cerevisiae* maya suşuna sabit bir şekilde insan östrojen reseptörü α (hER α) bağlanır. hER α 'nın aktivasyonu haberci gen β -galaktosidaz anlatımını uyarır. Haberci gen anlatımı renklendirici substrat eklenmesiyle miktar olarak belirlenir ve spektrofotometrede belirli dalga boyunda optik absorbans saptanır. Ayrıca hücre yoğunluğunu doğrulamak ve belirlemek için belirli dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirir (Behr ve diğ., 2011). Çizelge 2.4'te çeşitli su matrisleri için östrojenik aktivite sonuçları verilmiştir.

Çizelge 2.4 : Çeşitli su matrisleri için östrojenik aktivitenin incelenmesi.

Su matrisi	Östrojenik aktivite ölçümü	Sonuç/Yorum	Referans
Baltık denizi	YES	Kıyıya yakın bölgelerde daha yüksek östrojenite tespit edilmiş, ancak toplam EEQ değeri genelde <1 ng/L olarak bulunmuştur.	(Beck ve diğ., 2006)
Atıksu	YES	Giriş atıksuyunda çıkış atıksuyuna göre daha yüksek aktivite mevcuttur. Ayrıca dekonjugasyon sonrası östrojenik aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Bu da atıksulardaki EBM'nin konjuge yani inaktif bir formda olduğunu göstermektedir.	(Bistan ve diğ., 2012)
Arıtılmış atıksu ile yeraltı suyu beslemesi	YES	Atıksular sadece östrojenik aktivite değil, antiöstrojenik aktivite gösteren maddeler de içermektedir ve bu maddeler S eğrisinin şeklini etkilediği için fark edilebilmektedir. Bu maddeler yeraltında tutulunca çıkış suyu giriş suyundan daha yüksek östrojenik aktivite sonucu çıkmıştır.	(Conroy ve diğ., 2005)
Arıtılmış Atıksu	YES	Ölçülen maksimum E2 eşdeğeri 32 ng/L' dir. Elde edilen östrojenite eşdeğerleri LC-MS/MS' te ölçülen hormonların getireceğinden daha fazladır.	(Krein ve diğ., 2012)
Yüzeysel Su	YES	0,63- 20,77 ng/L aralığında E2 eşdeğeri östrojenik aktivite bulunmuştur.	(Krein ve diğ., 2012)
İçme suyu kaynağı ve su şebekesi	YES	ABD' de 0,19-0,72 ng/L E2 eşdeğeri östrojenik aktivite, Güney Afrika' da is 0,63-2,48 ng/L östrojenik aktivite tespit edilmiştir.	(Maggioni ve diğ., 2013) ve içindeki referanslar
Şişelenmiş su	YES	Numunelerin %38' inde östrojenik aktivite tespit edilmiştir.	(Plotan ve diğ., 2013)

Çizelge 2.4 (devam) : Çeşitli su matrisleri için östrojenik aktivitenin incelenmesi.

Su matrisi	Östrojenik aktivite ölçümü	Sonuç/Yorum	Referans
Yüzeysel Su	YES	Atıksu deşarjı yapılan 18 nehirde inceleme yapılmıştır. Östrojenite EEQ/L olarak verilmiştir. Kış aylarında 0.3- 2.0 ng/L bulunmuştur. Yaz aylarında ise 0.4 -7.0 ng/L'dir.	Vermeirssen, 2005
Şişelenmiş su	YES	Numunelerin %60' ında östrojenik aktivite belirlenmiş. Maksimum östrojenik aktivite: 75,2 ng/L E2 eşdeğerindedir.	(Wagner ve Oehlmann, 2009)
Şişelenmiş su	YES	Araştırılan 18 numunenin 11' inde östrojenik aktivite tespit edilmiştir (1,9-12,2 pg EEQ / L). PET şişelerdeki sular, cam şişe sularına kıyasla 3 kat daha fazla östrojenik aktivite göstermiştir.	(Wagner ve Oehlmann, 2011)

2.5.2 Katı faz ekstraksiyonu (KFE)

Katı faz ekstraksiyonu işlemi sayesinde, su numunesinde çözünmüş formda bulunan hedef maddelerin toplanarak ölçüme hazır hale getirilmesi sağlanmaktadır. Bu işlem, daha önceden şartlandırılmış katı formdaki uygun bir adsorbent (dolgu malzemesi) yardımıyla tutunan hedef maddenin bu katı fazdan uygun bir çözücü ile toplanarak ölçüme uygun bir hale getirilmesi esasına dayanır. Bu dolgu maddeleri, genellikle, plastik ya da cam malzemeler için daha önceden doldurularak hazır kartuşlar olarak satılmaktadır.

KFE işleminin tamamı düşünüldüğünde genel olarak 4 adımdan oluştuğu söylenebilir. İlk adımda, kartuşun ölçüm yapılacak numune matrisinin süzülmesine hazır hale getirilmesi için kartuştan uygun çözücüler geçirilerek dolgu malzemesi şartlandırılmaktadır. İkinci adımda, numune belirli bir hızla (5-10 mL/dk) kartuştan süzülmeaktadır. Daha sonra, yıkama adımı gerçekleştirilmektedir. Numunede bulunan ve ölçülmek istenen madde ile beraber kartuşta tutunan safsızlıkların kartuştan temizlenmesi için bu adım uygulanmaktadır. Kartuş, numuneyi çözmeyen, ancak ölçüme girişim yapabilecek safsızlıkları çözebilen çözücü ya da çözücü karışımı ile

yıkanmaktadır. Kartuşta toplanan hedef madde uygun bir çözücü yardımıyla toplanır. Kullanılan çözücü uçurularak kalan hedef madde çok düşük hacimde bir çözücü ile çözülüp konsantre hale getirilerek ölçüme hazır hale getirilir.

Bu durumda, KFE işlemi için optimize edilmesi gereken birçok aşama bulunmaktadır. Şartlandırmada kullanılacak çözücülerin türü, bunların hacimleri, şartlandırmada ve süzmede akış hızı, kartuşların yıkanması ve kurutma süresi, hedef maddenin toplanması için gerekli çözücü türü ve süresi, uçurma miktarı, uçurmanın ardından kalan hedef maddenin çözülmesi için kullanılacak çözücü türü önem kazanmaktadır (Topuz ve diğ., 2012).

KFE optimizasyonuna başlamadan önce kullanımı BPA ve NP için uygun bir KFE kartuşu seçilmelidir. Literatürde Supelclean ENVI 18 (Bistan ve diğ., 2012; Loyo-Rosales ve diğ., 2007) ve C18 (Petrie ve diğ., 2013; Stavrakakis ve diğ., 2008; Vega-Morales ve diğ., 2010; Vega-Morales ve diğ., 2011) kartuşları ile yapılan birkaç çalışma bulunmakla beraber, genellikle OASIS HLB (Bistan ve diğ., 2012; Krein ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Plotan ve diğ., 2013; Tang ve diğ., 2013) kartuşlar kullanılmıştır. OASIS HLB kartuşların en önemli avantajı içerdiği dolgu malzemesinin lipofilik divinilbenzen ve hidrofilik N-vinilpirrolidon içermesinden dolayı bu kartuşların, nötr pH'da kullanılabilmesi ve polar analitleri yüksek oranlarda tutabilmesidir. Ayrıca, kolay ıslanabilmeleri nedeniyle madde transferini kolaylaştırdıklarından toplama işlemi sırasındaki tekrarlanabilirlikleri yüksek olmaktadır (Yu ve Wu, 2012).

KFE işleminin ilk adımı olan şartlandırmada BPA ve NP maddelerini kartuşun dolgu maddesine adsorbe etmeye uygun şartlandırmanın yapılması gerekmektedir. Şartlandırma adımı için farklı çözücüler kullanılabilmekte olup (Bistan ve diğ., 2012) 4 mL metanol ya da etil asetat ile 4 mL distile su; Krein ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Loos ve diğ., 2007; Petrie ve diğ., 2013; Tang ve diğ., 2013 ise 5 mL metanol ile 5 mL distile su; Plotan ve diğ., (2013) ise metanol ve distile su kombinasyonuna ek olarak metil tert butil eter kullanmıştır. Stavrakakis ve diğ., (2008) ise 10 mL asetonitril ve 10 mL distile su kullanmıştır. Şartlandırmada toplamda 20 mL civarı çözücü genellikle yeterli olabilmektedir. Şartlandırma, polaritesi yüksek bir çözücü ile başlayıp (metanol veya asetonitril), su ile sonlandırılmaktadır.

Şartlandırmanın ardından numune süzölmekte ve kartuş, girişimde bulunabilecek maddelerin dolgu maddesinden arındırılması amacıyla az miktarda (yaklaşık 5 mL) çözücü ile yıkanmaktadır. Bu amaçla, %5 metanol (Bistan ve diğ., 2012; Krein ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Plotan ve diğ., 2013) ya da %10 metanol (Stavarakakis ve diğ., 2008) kullanan çalışmalar olmakla birlikte sadece distile su kullananlar da bulunmaktadır (Petrie ve diğ., 2013; Vega-Morales ve diğ., 2010). Yıkamanın ardından kartuşun kuruması için 30 dakika (Stavarakakis ve diğ., 2008; Wagner ve Oehlmann, 2011) ya da 1 saat (Escher ve diğ., 2005; Petrie ve diğ., 2013; Wang ve diğ., 2012) beklenmektedir. Kurutmanın amacı, kartuşun içerisinde kalan sudan kurtularak toplama çözücüsünün uçurulması esnasında muhtemel hedef madde kayıplarını azaltmak ve uçurma süresini kısaltmaktır.

KFE kartuşlarında adsorblanan hedef maddenin, buradan çözölerek alınması için uygun çözücü ve çözücünün miktarı seçilmelidir. Şartlandırmada olduğu gibi, bu adım için de, metanol en yaygın kullanılan çözücülerdendir (Krein ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Plotan ve diğ., 2013; Vega-Morales ve diğ., 2010; Wagner ve diğ., 2013; Wang ve diğ., 2012; Zhang ve diğ., 2013a). Petrie ve diğ. (2013) çalışmasında 5'er mL etil asetat, %0,1'lik asetik asit ve 5 mL diklorometan kullanmıştır. Stavarakakis ve diğ. (2008) 6 mL asetonitril kullanırken Wagner ve Oehlmann (2011) ise aseton kullanmıştır. Toplamanın ardından çözücüler belirli bir seviyeye kadar (Bistan ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Petrie ve diğ., 2013; Tang ve diğ., 2013; Wagner ve Oehlmann, 2011; Wagner ve diğ., 2013) ya da tamamen (Krein ve diğ., 2012; Plotan ve diğ., 2013; Stavarakakis ve diğ., 2008; Wang ve diğ., 2012; Zhang ve diğ., 2013a) azot gazı altında uçurulmuştur. Uçurma adımının ardından BPA ve NP toplanması için çözücü olarak metanol-su kombinasyonlarının (Krein ve diğ., 2012; Petrie ve diğ., 2013; Stavarakakis ve diğ., 2008; Tang ve diğ., 2013) yanı sıra sadece metanol kullanan gruplar da bulunmaktadır (Liao ve Kannan, 2012; Plotan ve diğ., 2013; Tang ve diğ., 2013; Vega-Morales ve diğ., 2010; Wang ve diğ., 2012; Zhang ve diğ., 2013a).

2.5.3 LC-MS/MS ile östrojenik aktiviteye neden olan maddelerin belirlenmesi

LC-MS/MS ile yüksek hassasiyette ve türevlendirme işlemlerine gerek kalmadan EBM ölçümü mümkün olabilmektedir (Capriotti ve diğ., 2013). LC-MS/MS kullanılarak yapılacak ölçümler için hem MS, hem de ayırım parametrelerinin ölçülecek maddeye göre optimize edilmesi gerekmektedir. MS parametrelerinin optimizasyonu için cihaza doğrudan genellikle yüksek konsantrasyonlarda madde enjekte edilmektedir. LC-MS/MS ölçüm yönteminin geliştirilmesi, yapılan her çalışmada kullanılan cihaz ve kolona da bağlı olarak spesifik bir şekilde ortaya konduğu ve bir bütün olduğu için bu çalışmalar makale bazında özetlenmiştir.

Dorival-Garcia ve diğ. (2012) Agilent 1200 seri (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA) sıvı kromatograf ile bağlı API 2000 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) tandem kuadropol kütle spektrometresi kullanarak analiz yapmıştır. Gemini C18 kolon (100x2,0 mm, 3 µm partikül çapı) kullanılarak 40 °C’de 350 µL/dakika akış hızı ile enjeksiyon yapılmıştır. %0,025 amonyaklı sulu çözelti ile %0,025 metanol içinde amonyak hareketli faz olarak kullanılmıştır. İlk 3,5 dakikada %60 oranında %0,025 metanol içinde amonyak geçirilirken 3,5 ile 4 dakika arasında bu oran kademeli olarak %100 seviyesine getirilmiş, 4. ve 5. dakikalar arasında %100 oranında %0,025 metanol içinde amonyak sabit kalmış ve 1 dakika içerisinde başlangıç koşullarına dönmüştür. Atmosferik basınç iyonizasyon ile negatif modda iyonlaşma gerçekleştirilmiştir. İyon kaynağının sıcaklığı 350 °C’ye, iyon spray voltajı -3 kV’a, “collision energy” parametresi 10 psi değerine ayarlanmıştır. MS enjeksiyonunda BPA maddesinin moleküler ağırlığı 227,2 m/z olarak belirlenmişken parçalanma iyonları 212,2 ve 132,9 m/z olarak tespit edilmiştir. BPA-d16 maddesinin moleküler ağırlığı ise 241,2 m/z iken parçalanma ürünü 142 m/z olarak belirlenmiştir.

Fan ve diğ. (2013) tarafından Acquity Ultra Performance sıvı kromatograf (Waters, Milford, MA, U.S.) ve Waters Acquity UPLC BEH C18 (100 × 2,1 mm, 1,7 µm partikül büyüklüğü) kolon kullanılarak ayırım gerçekleştirilmiştir. Kolon 40 °C’de şartlandırılmış ve hareketli faz 300 µL/dakika hızla kolondan geçirilmiştir. %0,1 formik asit ile asetonyitril hareketli faz olarak kullanılmıştır. %60 asetonyitril ile başlayan gradyan akış 0,5 dakika içinde %75 seviyesine lineer olarak yükselirken 6 dakika içinde %80’e, ardından 0,5 dakika içinde %95 seviyesine, 2 dakika içinde ise %100’e çıkartılmakta ve 2 dakika sabit olarak geçirilmektedir. Premier XE tandem quadrupol kütle spektrometresi kullanılmıştır. BPA, pozitif modda elektrospray

arayüzle iyonlaştırılmıştır. Kapiler voltajı 3,2 kV, iyon kaynağı sıcaklığı 120 °C'ye ayarlanmıştır.

Krein ve diğ. (2012) Ultimate 3000 Intelligent marka sıvı kromatograf ile yapılan ölçümlerde ZORBAX Eclipse Plus C-18, (150 x 2,1 mm, 3,5 µm partikül büyüklüğü) kolon kullanmıştır. API 3200 (Applied Biosystem/MDS Sciex, Rotterdam, The Netherlands) kütle spektrometrisi ile iyonlaşma kaynağı olarak negatif modda electrospray iyonizasyon kullanılmıştır. Hareketli faz olarak ise 10 mM amonyum asetat ve asetonitril kullanılmıştır. İlk 1 dakika %20 asetonitril ile başlayan gradyan 15 dakikada %70, 16 dakikada ise %95 seviyesine yükselmiş ve 1 dakika içinde başlangıç koşullarına geri dönmüştür. Hareketli faz, 250 µL/dakika akış hızı ile 40 °C'de şartlandırılmıştır. Kapiler voltajı -4500 V, “collision energy” 5 psi olarak belirlenmiştir.

Liao ve Kannan (2012) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ölçümler Agilent 1100 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) serisi sıvı kromatograf ile bağlanmış olan Applied Biosystems API 5500 elektrospray triple kuadrupol kütle spektrometresi ile yapılmıştır. Betasil C18 kolon (100 × 2,1 mm, 5 µm; Thermo Electron Corporation, Waltham, MA) ile ayırım gerçekleştirilmiştir. %15 metanol ve %85 10 mM amonyum asetat ile başlamış, ilk 2 dakika sabit kaldıktan sonra 0,5 dakika içerisinde %75 metanole çıkarılmış ve 5-10 dakika arasında %99 metanol seviyesine ulaşılmıştır. Daha sonra %15 metanol seviyesine dönülerek sabit tutulmuştur. BPA maddesi 227 m/z olarak tespit edilirken parçalanma ürünü 212 m/z olarak bulunmuştur.

Maggioni ve diğ. (2013) ise Perkin Elmer serisi 200 HPLC cihazını Applied Biosystem-SCIEX API 3000 tandem kuadrupol kütle spektrometresine bağlayarak çalışmıştır. LUNA C18 kolondan (50×2 mm, 5 µm partikül büyüklüğü, Phenomenex, Torrance, CA, USA) asetonitril ve %0,05 trietilamin geçirilmiştir. İlk 6 dakika içerisinde asetonitrilin oranı %70 değerine kadar arttırılmakta ve 7 dakika içerisinde oran %100 olmaktadır. İyon kaynağının sıcaklığı 350 °C'ye, iyon spray voltajı -360 V değerine ayarlanmıştır. BPA, 227,1 m/z değerinden 93,1 ve 133,1 m/z değerine parçalanırken, NP 219,2 m/z değerinden 133,1 ve 161,1 m/z değerine parçalanmaktadır.

Petrie ve diğ. (2013) çalışmalarında Waters Acquity (Waters, Manchester, UK) ultra performans sıvı kromatograf ile Acquity UPLC BEH C18 (100×2,1 mm, 1,7 µm partikül büyüklüğü; Waters, Manchester, UK) kolon kullanarak kromatografik ayırım gerçekleştirmiştir. Kolon 30 °C sıcaklıkta şartlandırılmış ve %0,1 amonyum hidroksit içeren su ile %0,1 amonyum hidroksit içeren metanol hareketli faz olarak kullanılmıştır. İlk 4 dakika metanol %20 oranında sabit tutulurken 5 dakika içerisinde %80 civarlarına çıkartılmıştır. Bu koşullar 12 dakika boyunca sabit tutulurken 3 dakika içerisinde başlangıç koşullarına dönmüştür. Dedektör olarak Waters Quattro Premier (Micromass, Watford, UK) kütle spektrometresi kullanılmıştır. Kapılar voltaj 3200 V (pozitif mod) ve iyon kaynağı sıcaklığı 120 °C tutulmuştur.

Stavarakakis ve diğ. (2008), ölçüm çalışmalarında Surveyor sıvı kromatografa bağlı TSQ Quantum Discovery kütle spektrometre (Thermo Electron Corporation, Courtaboeuf, France) kullanmıştır. Kromatografik ayırım Purospher Star RP 18 (125 mm x 2 mm, 5 µm partikül çapı, Merck) kolonu ile 30 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Gradyan programı %40 metanol ile başlamış 1 dakika içerisinde %80 civarına getirilmiştir. 1-3 dakika arasında sabit tutulan program 8. dakikaya kadar lineer artışla %100 metanol seviyesine getirilmiştir. BPA için ana iyon 227,1 m/z iken parçalanma ürünleri 212 m/z ve 133 m/z olarak belirlenmiştir. NP ise 219,1 m/z iyonundan 106 m/z iyonuna parçalanmıştır.

Östrojenik aktiviteye neden olan maddelerden BPA, BPS ve NP konsantrasyonlarının LC-MS/MS ile belirlendiği çalışmalar derlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 2.5 : Çeşitli su matrislerinde ölçülmüş BPA ve NP konsantrasyonları.

Su matrisi	BPA (ng/L)	NP (ng/L)	BPS (ng/L)	Referans
Yüzeysel su	6,59-74,58		0,29-18,99	(Yang ve diğ., 2014)
Şişelenmiş içme suyu	4,6 (medyan) 112 (maks, Polikarbonat şişe)	7,9 (medyan)		(Amiridou ve Voutsas, 2011)
Şişelenmiş içme suyu	70-4210 (polikarbonat şişe) PET şişede yok			(Colin ve diğ., 2014)
İçme suyu kaynağı	<5-14	<80-130 ng/L		(Benotti ve diğ., 2009)
İçme suyu kaynağı		1100-1200		(Petrovic ve diğ., 2003)
İçme suyu kaynağı	4,7-512	8.2-918		(Fan ve diğ., 2013)
İçme suyu	0,82-102, İspanya- şebekede: 6-25 Şişe sularında: 0,83-1,13	10,30- 84,00		(Maggioni ve diğ., 2013 ve içindeki referanslar)
İçme suyu		15 İsviçre 85 Almanya		(Soares ve diğ., 2008)
Su arıtma tesisi girişi ve çıkışı	Girişteki numunelerin %22'sinde, çıkıştakilerin ise %12'inde ölçülmüş, medyan :2,1, maks: 44			(Kleywegt ve diğ., 2011)

Çizelge 2.5 (devam) : Çeşitli su matrislerinde ölçülmüş BPA ve NP konsantrasyonları.

Su matrisi	BPA (ng/L)	NP (ng/L)	BPS (ng/L)	Referans
Su arıtma tesisi girişi ve çıkışı	Giriş: 17,7 (medyan) Arıtılmış su: 7,2 (medyan)	Giriş:32,5 (medyan) Arıtılmış su: 8 (medyan)		(Dupuis ve diğ., 2012)
Su arıtma tesisi girişi	7,44 (maks) Mayıs ayı 8,01 (maks)			(Zhang ve diğ., 2013b)
Konvansiyonel AT çıkışı	Eylül ayı 1,12			
İleri arıtma prosesi çıkışı	1			
İçme suyu arıtma tesisi				(Stavarakakis ve diğ., 2008)
Ham su	10,7	<0,11		
Çıkış suyu	1,9	<0,11		
Su matrisi	BPA (ng/L)	NP (ng/L)		Referans
Atıksu arıtma tesisi	2000 (atıksu girişi) 1000 (atıksu çıkışı)			(Fernandez ve diğ., 2009)
Atıksu arıtma tesisi				(Vega-Morales ve diğ., 2010)
Birinci kademe arıtma	13,4	9,7		
İkinci kademe arıtma	7,8	18,7		
Çıkış	6,4	17,5		
Atıksu arıtma tesisi		2146 (giriş) 1017 (çıkış)		(Petrie ve diğ., 2013)
Evsel atıksu arıtma tesisi				(Stavarakakis ve diğ., 2008)
Ham su	239,1	<0,42		
Anaerobik arıtma sonrası	285,2	8,7		
Aerobik aktif çamur sonrası	57,1	5,1		
Çıkış suyu	162,3	3,4		
Çeşme suyu	2,7-317	4-NP: 196-1070		(Li ve diğ., 2010)

Çizelge 2.5 (devam) : Çeşitli su matrislerinde ölçülmüş BPA ve NP konsantrasyonları.

Su matrisi	BPA (ng/L)	NP (ng/L)	BPS (ng/L)	Referans
Çeşme suyu	6-25			(Casajuana ve Lacorte, 2003)
Çeşme suyu (yeraltı)	50 (maks)			(Colin ve diğ., 2014)
Çeşme suyu (yüzeysel)	25 (maks)			
Yeraltı suyu	1500 (maks) endüstriyellemiş alanlarda yüksek kons.	5300 (maks)		(Jurado ve diğ., 2012)
Yeraltı suyu	1430 (maks),medyan <9			(Colin ve diğ., 2014)
Yüzeysel su	1275 (maks), medyan <9			(Colin ve diğ., 2014)
Yüzeysel su	46,7 (ortalama)	4-NP 577,9 (ort)		(Wang ve diğ., 2012)
Sızıntı suyu	1,3E ⁻³ ila 17,2			(Yamamoto ve diğ., 2001)
Sediment	1,7 (ortalama)	4-NP 0,5 (ort)		(Wang ve diğ., 2012)
Maden suyu	3-10 (PET)			(Toyo'oka ve Oshige, 2000)

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1 Kullanılan Ekipman ve Malzemeler

Katı Faz Ekstraksiyonu için belirlenen prosedürde kullanılan $\geq 99,8$ saflıkta etil asetat, $> 99,9$ saflıkta etanol ve $> 99,9$ saflıkta DMSO Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Plastik 6cc, 200 mg ve cam 5cc, 200 mg Oasis HLB kartuşlar Waters (ABD) firmasından temin edilmiştir.

YES biyodeneyinde kullanılan yeast azot bazı, adenin, $99,8$ saflıkta diklorometan ve $\geq 98,5$ saflıkta SDS Sigma Aldrich (ABD) firmasından; $\geq 99,0$ saflıkta isolusin, $\geq 99,0$ saflıkta valin, arjinin . HCl, $\geq 99,0$ saflıkta lisin . HCl, metionin, fenilalanin, $\geq 99,0$ saflıkta treonin, $\geq 99,0$ saflıkta tirosin, histidin . HCl, leusin ve glikoz, Merck (Almanya) firmasından satın alınmıştır.

LC-MS/MS ölçümlerinde iyonlaştırma kaynağı olarak kullanılan amonyum hidroksit ise gradient-grade olup Sigma Aldrich firmasından temin edilmiştir.

YES biyodeneyleri için mayaların büyütülmesinde orbital shaker cihazı kullanılmıştır.

LC-MS/MS ölçümleri Thermo Marka Accela model Ultra Performanslı Sıvı Kromatograf (UPLC) pompası ve yine Accela model otomatik örnekleyiciye bağlı TSQ Quantum Access model tandem quadrupol tandem MS ile yapılmaktadır. Thermo Hypersil Gold kolon (1,2 mmx100 mm; 1,9 μ m Thermo Scientific, Germany) ile kromatografik ayırım gerçekleştirilmiştir. LC-MS/MS enstrümanı Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1: LC-MS/MS enstrümanı.

Ölçüm öncesinde numune zenginleştirmek amacıyla kullanılan KFE adımının daha homojen gerçekleştirilebilmesi için KFE vakum manifoldu (VacMaster, Biotage, NC, USA) kullanılmıştır. KFE işlemindeki toplama adımından sonra çözücü maddeler Turbovap II (Caliper Lifesciences, USA) cihazı kullanılarak azot gazı altında uçurulmuştur. Şekil 3.2’de uçurma işleminin gerçekleştirildiği Turbovap II cihazı verilmiştir.



Şekil 3.2 : Turbovap II cihazı.

pH ölçümleri Thermo Orion SA 520 pH metre kullanılarak yapılmıştır.

Deneyleerde kullanılan malzemeler toplam östrojenik aktivite sonuçlarının güvenilirliği açısından mümkün olduğunca plastik yerine cam ve teflon olacak şekilde seçilmiştir. Volumetrik olmayan cam malzemeler yakıldıktan ve otoklavda sterilizasyon yapıldıktan sonra kullanılmıştır. YES biyodeneyi esnasında kullanılan tüm malzemeler Şekil 3.3'te gösterilen laminar akışlı biyogüvenlik kabini içinde kullanılarak sonuçlarda hata olması engellenmiştir.



Şekil 3.3 : Laminar akışlı biyogüvenlik kabini.

LC-MS/MS ölçümleri için Absolute Standards (ABD) marka BPA, işaretli BPA, NP, işaretli NP ve BPS ana stokları (1000 µg/mL) kullanılmıştır.

LC-MS/MS ile yapılan ölçümlerin değerlendirilmesi amacıyla kalibrasyon eğrisi çizilmesi için BPA, işaretli BPA, NP ve işaretli NP ana stokları kullanılarak farklı konsantrasyonlarda ara stoklar hazırlanmıştır.

Ayrıca, YES biyodeneyinde elde edilen sonuçların değerlendirilebilmesi açısından 17β-estradiol (E2) ile farklı konsantrasyonda ara stoklar hazırlanmıştır.

3.2 Şişelenmiş İçme Suları İle Yapılan Deneyler İçin Numune Alımı

Yapılan literatür taramaları sonucunda (Crain ve diğ., 2007; Wright-Walters ve diğ., 2011) BPA'nın en sık polikarbonat şişelerin üretiminde kullanıldığı gözlemlendiğinden piyasadaki farklı markalarda polikarbonat damacana suları satın alınmış ve bu suların saklama koşullarından ne kadar etkilendiği incelenmiştir. Bu amaçla damacanalara güneş altında bekletilmiş ve çeşitli pH ve süre kombinasyonları denenmiştir. Böylelikle şişe malzemesinden suya östrojenik etki yapabilecek bir kimyasal geçip geçmediğinin anlaşılması ve saklama koşullarının etkisiyle ilişkilendirilmesi hedeflenmiştir.

Deneylerde kullanılan malzemelerin tamamı plastik yerine cam ve teflon yapıda seçilmiştir. Volumetrik olmayan cam malzemeler yakıldıktan ve otoklavda sterilizasyon yapıldıktan sonra kullanılmıştır. YES biyodeneyi esnasında kullanılan tüm cam malzeme ve numunelerin ortam havasıyla teması önlenmiş ve böylelikle sonuçlarda östrojenik ve antiöstrojenik maddelerden gelebilecek pozitif ya da negatif hata olması engellenmiştir. Alınan numuneler içerisinde östrojenik aktivite belirlenen markalardan tekrar numune alınıp deney yapılmış ve ölçüm sonuçları karşılaştırılarak pozitif bir hatanın olup/olmadığı tespit edilmek istenmiştir.

3.3 Şebeke Suları İle Yapılan Deneyler İçin Numune Alımı

Şebeke sularının alımı İstanbul'daki beş içme suyu arıtma tesisinin hizmet ettiği bölgelerden, her bölgeyi temsilen en az iki evden olmak üzere minimum on adet numune alınarak gerçekleştirilmiştir. Böylelikle, şebeke sularının içme suyu arıtma tesisi çıkışındaki durumu yerine, şebeke içinde ve bina içinde meydana gelebilecek değişimlerin de dâhil olduğu şekliyle, kullanıcıya ulaştığı andaki durumu incelenmiştir.

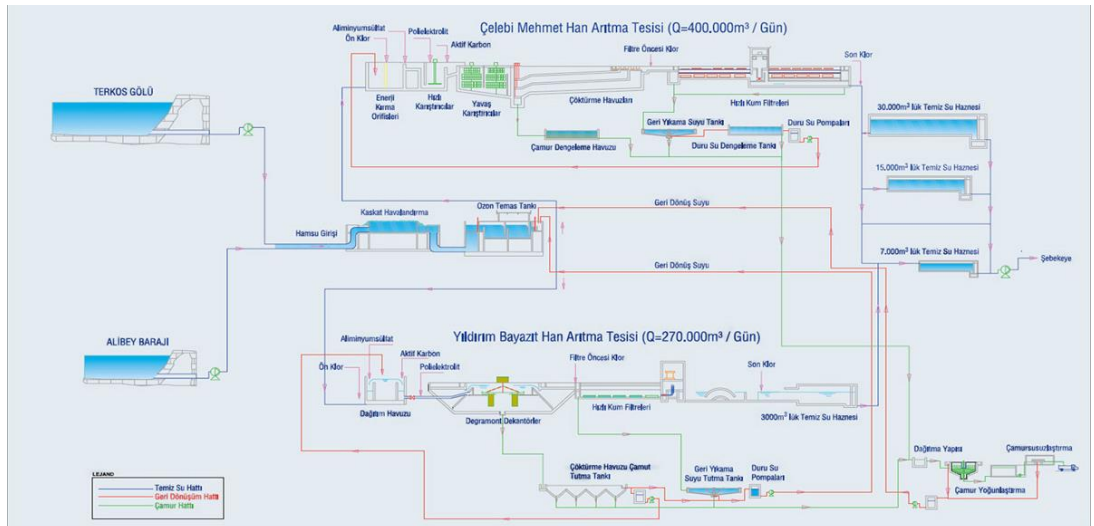
Numunelerde bulunabilecek östrojenik aktivitenin mevsimsel değişimi ile ilgili gözlem yapabilmek amacıyla numune alma ve ölçüm işlemleri, yıl içinde her mevsimi temsilen bir kez gerçekleştirilmiştir.

3.4 İstanbul'daki İçme Suyu Arıtma Tesisleri Hakkında Bilgiler

Numunelerin içerebileceği östrojenik aktivite ve bu aktiviteye sebep olabilecek maddeler değerlendirilirken, öncelikle şebeke suyu temin edilen evlere su sağlayan sistemlerin incelenmesi gerçekleştirilmiştir. İstanbul'a su sağlayan su arıtma tesisleri olarak İSKİ'nin internet sitesinde sırasıyla, Kâğıthane, Ömerli, İkitelli, Büyükçekmece ve Elmalı su arıtma tesisleri verilmekte olup bu tesisler ile ilgili olarak İSKİ'den alınan bilgiler aşağıda verilmektedir. Bu tesislerden Elmalı İçmesuyu Arıtma Tesisi, günde ortalama 40.000 m³ temiz suyu Beykoz ve Üsküdar çevresine verebilecek kapasiteye sahipken, 2013'te Elmalı Barajı'ndaki suyun azalmasını takiben, sistemin temizlenmesi amacıyla, Elmalı İçmesuyu arıtma tesisi devre dışına alınmıştır. Bu tesis yerine de, çok daha büyük kapasiteli olan Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi devreye alınmış olup bu tesis ile ilgili bilgiler de aşağıda verilmiştir.

3.4.1 Kâğıthane İçmesuyu Arıtma Tesisi

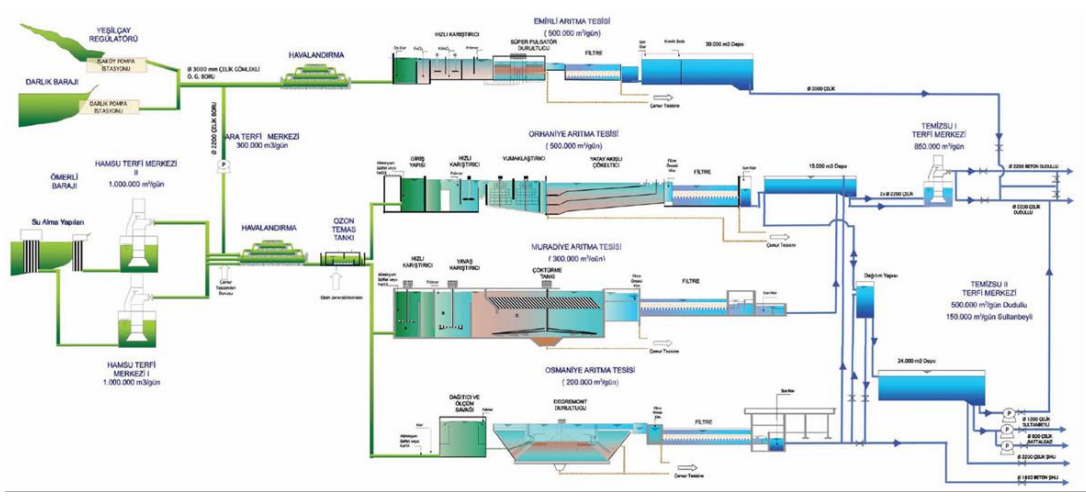
Kâğıthane Arıtma Tesisleri'ne su, Terkos Gölü ve Alibeyköy Barajları'ndan temin edilmektedir. Günlük 700.000 m³'lük su arıtma kapasitesine sahip olan tesisten, Kâğıthane, Şişli, Mecidiyeköy, Beyoğlu, Beşiktaş, Sarıyer, Ayazağa, Maslak, Feriköy, Kasımpaşa, Eyüp ile Fatih, Gaziosmanpaşa, Bayrampaşa ve Esenler bölgelerinin bazı kısımlarına su verilmektedir. Tesiste ön ozonlamaya ilave olarak dezenfeksiyon işlemi klorlama ile yapılmaktadır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : İSKİ Kâğıthane İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.

3.4.2 Ömerli İçmesuyu Arıtma Tesisi

Ömerli Arıtma Tesisleri'nden halen şehre 850.000-950.000 m³/gün su verilmekte olup, suyun bir bölümü F1850 mm'lik Kartal-Sihli hattı ile Kartal'dan Gebze ve Darıca'ya kadar uzanan bölgeye cazibe ile verilmektedir. Temiz su terfi merkezindeki pompalar vasıtasıyla iki ayrı F 2200 mm'lik Ömerli-Dudullu-Çamlıca isale hattı ile de Kadıköy'den Bostancı'ya kadar uzanan alan ve Salacak-Sarayburnu arasındaki boğaz geçit hattı yardımı ile Sarayburnu'ndan Bakırköy'e kadar uzanan sahil ve iç kesim beslenerek su ihtiyacı karşılanmaktadır. Tesiste ön ozonlamaya ilave olarak, dezenfeksiyon olarak klorlama kullanılmaktadır (Şekil 3.5).

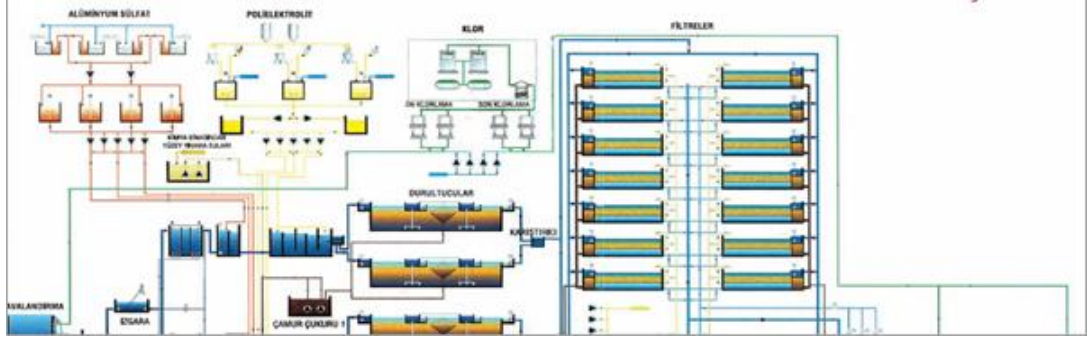


Şekil 3.5 : İSKİ Ömerli İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.

3.4.3 İkitelli (FSMH) İçmesuyu Arıtma Tesisi

Tesis yaklaşık 5.000.000 kişinin su ihtiyacını karşılayacak kapasitededir. İkitelli Olimpiyat Köyü içinde, 270.000 m²'lik alan üzerinde kurulu olan tesisin debisi 800.000 m³/gün olup ham su, Terkos Gölü'nden yaklaşık 33 km uzunluğunda 2200 mm ve Sazlıdere Barajı'ndan 4,5 km uzunluğunda 1600 mm'lik çelik borularla tesise ulaşmaktadır.

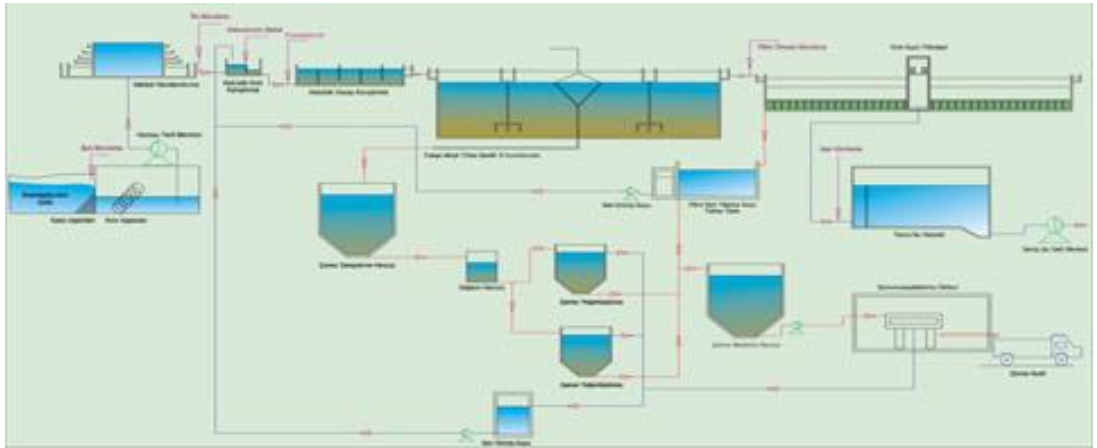
Avcılar, Bağcılar, Bahçelievler, Başakşehir, Esenler, Esenyurt, Küçükçekmece ve Gaziosmanpaşa gibi bazı ilçelere tesislerden içme suyu verilmektedir. Arnavutköy, Taşoluk, Bolluca, Boğazköy, Durusu Beldeleri ile bunlara bağlı bazı köylerin içme suyu ihtiyacı sağlanmaktadır. Tesiste ön ozonlamaya ilave olarak, dezenfeksiyon olarak klorlama kullanılmaktadır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 : İSKİ İkitelli İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.

3.4.4 Büyükçekmece İçmesuyu Arıtma Tesisi

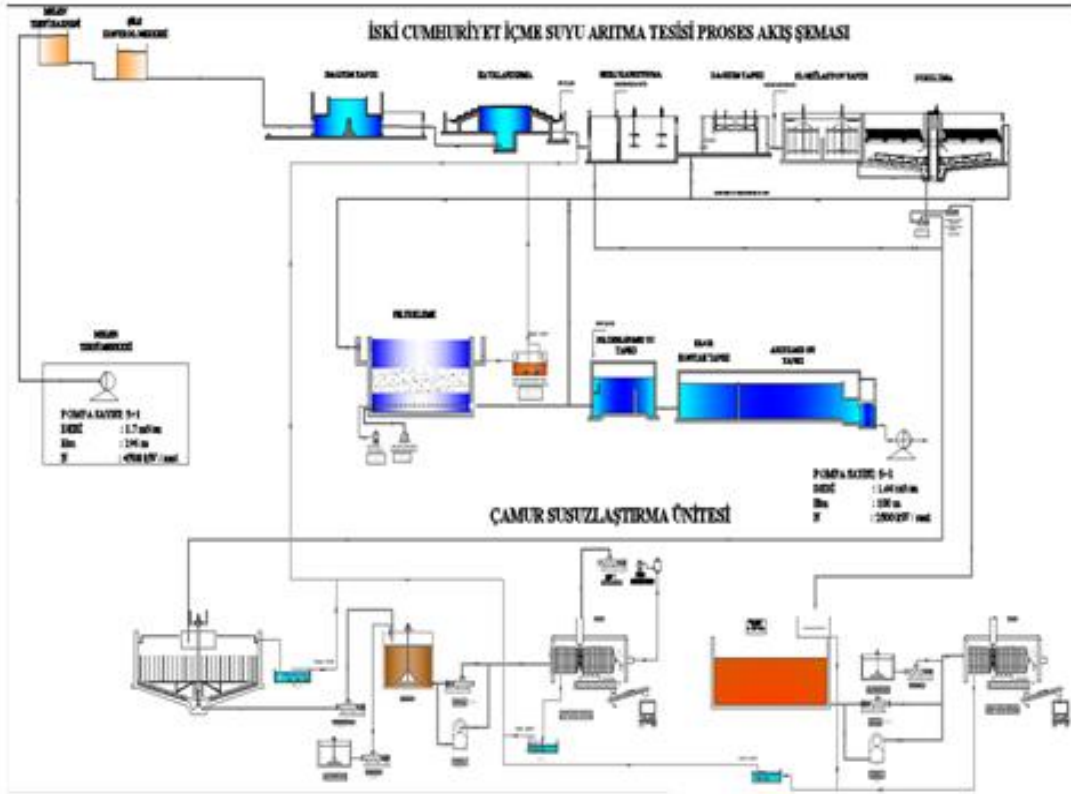
Tesisin kapasitesi günlük 400.000 m³ olup, maksimum 2.600.000 İstanbulluya hizmet vermektedir. Tesisten beslenen başlıca yerleşim merkezleri; Büyükçekmece, Beylikdüzü, Kiraç, Gürpınar, Esenyurt, Avcılar, Bahçeşehir, Çatalca, Kavaklı, Mimaroba, Sinanoba, Kumburgaz, Selimpaşa, Tepecik'tir. Tesiste dezenfeksiyon işlemi olarak klorlama kullanılmaktadır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 : İSKİ Büyükçekmece İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.

3.4.5 Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi

Bu tesis Melen Çayı'ndan gelen suyu İstanbul'a vermek üzere arıtım yapmakta olup günlük debisi 720000 m³'tür. Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi'nde üretilen su Cumhuriyet Terfi Merkezi'ndeki 6 adet 1,66 m³/s kapasiteli pompayla Kâğıthane İçmesuyu Arıtma Tesisi'nde bulunan depolara gönderilir ve daha sonra şebekeye dağıtılır. Ayrıca isale hattı üzerinde bulunan Beykoz branşmanı ile suyun bir kısmı şehrin Anadolu yakası su şebekesine verilir. Sistemde dezenfeksiyon klorlama ile sağlanmaktadır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 : İSKİ Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi akım şeması.

İSKİ'nin internet sayfasından ve İSKİ broşürlerinden alınan bu bilgiler her zaman kesin olarak doğru değildir. Çünkü İstanbul'a düzenli bir şekilde temiz su sağlamak adına, su kaynaklarının durumuna bağlı olarak, dağıtım farklı şekillerde yapılabilmektedir. Belli bir bölgedeki suyun azalması durumunda SCADA sistemi otomatik olarak, enterkonnekte yapıdaki şebeke sayesinde, her bölgeye diğer bölgelerden takviye yapılabilmektedir. Örneğin, Cumhuriyet İçmesuyu Arıtma Tesisi'nden gelen su bazı durumlarda İSTOÇ Mahmutbey'e kadar gidebilmekte ya da gerekli durumlarda, suyu azalan Büyükçekmece Gölü'nü desteklemek üzere İkitelli Arıtma Tesisi'nden Büyükçekmece Arıtma Tesisi'nin su sağladığı bölgelere su verilebilmektedir.

3.5 Deney Prosedürleri

Bu tez çalışması ve dahil olduğu proje çerçevesinde, Türkiye’de ilk kez hem şebeke sularında hem de şişelenmiş içme sularında östrojenik aktivite araştırılmıştır. Hedef kirleticilerin beklenen konsantrasyonlarının nanogram mertebesinde olması nedeni ile, öncelikle alınan numuneler Şekil 3.9’da gösterilen Katı Faz Ekstraksiyonu sistemi ile konsantre hale getirilmiştir.



Şekil 3.9 : Katı faz ekstraksiyonu.

Katı faz ekstraksiyonunun geri kazanım oranını etkileyen en önemli faktörlerden biri kartuş çeşididir. Kartuşta bulunan sorbentin fiziksel/kimyasal özellikleri, uzunluğu, kalınlığı gibi değişkenler, hedef mikro kirleticinin tutulma ve salınma oranını etkilemektedir. Bu nedenle, östrojenik aktivite için uygun KFE kartuşları hakkında

literatür araştırılması yapılmıştır. Araştırma sonucunda Evolute ABN, Waters C18 ve Oasis HLB kartuş çeşitleri ile çalışılabileceği tespit edilmiştir. Proje kapsamında bu 3 farklı kartuş çeşidi ile denemeler yapılmıştır (Gün, 2015). Sonuç olarak Oasis HLB kartuş ile en yüksek geri kazanım elde edildiği görülmüştür. Ancak, cam kartuşların maliyetli olması nedeniyle plastik ve cam HLB kartuşlar kullanılarak deneyler yapılmış, elde edilen sonuçlar plastik HLB kartuşların sonuçları etkilemediğini ortaya koymuştur. Yine de, YES biyodeneyinin güvenilirliğini etkilememek amacıyla bu deneyler için yapılan KFE'lerde cam, kullanılan şahit ile kartuştan sızabilecek olan BPA'nın ölçülmesinin mümkün olması sebebiyle de, LC-MS/MS ölçümü için yapılan KFE'lerde plastik HLB kartuş kullanılmasına karar verilmiştir. Kullanılan kartuşlar Şekil 3.10 ve Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



Şekil 3.10 : Oasis HLB cam kartuş.



Şekil 3.11 : Oasis HLB plastik kartuş.

YES biyodeneyi ile numunelerdeki toplam östrojenik aktivite E2 eşdeğeri olarak belirlenmiştir. LC-MS/MS ile yapılan ölçümler sonucunda ise numunelerde östrojenik aktivite gösterdiği bilinen seçilen kirleticiler belirlenip, ayrı ayrı konsantrasyonları hesaplanmıştır.

YES biyodeneyinde kullanılan malzemelerin bir bölümü tek kullanımlık ve steril malzemelerdir. Bunun dışında kullanılan tüm cam malzemeler öncelikle asetonitril ve çift distile su ile yıkanmış, ardından volumetrik olmayan cam malzemeler kül fırınında 550°C’ de 3,5 saat boyunca yakılmış ve otoklavda 40 dakika boyunca steril edilmiştir. Numunelerin karakterizasyonu için sertlik tayini yapılmıştır (Url-2).

3.5.1 YES Biyodeneyi

Yeast östrojenite tarama testinde, normalde östrojen içermeyen *Saccharomyces cerevisiae*, rekombinan maya suşuna insan östrojen reseptörü ilave edilerek östrojenik aktivitesi ölçülmek istenen maddenin, östrojen reseptörlerin bağlanma kapasitesine bakılır.

Deney prensip olarak birinci inkübasyon periyodu, ikinci inkübasyon periyodu ve spektrofotometrik ölçüm olmak üzere üç temel aşamadan oluşmaktadır.

Birinci inkübasyon periyodunda maya hücreleri 28 °C sıcaklıkta, içeriği Çizelge 3.1’de verilen ortamda, bir gece boyunca orbital çalkalayıcı ile çalkalanarak deney için hazır hale getirilir. Bu hücreler 16-18 saat içerisinde üstel büyüme hızına ulaşır.

Çizelge 3.1 : YES biyodeneyi için kullanılan ortam.

Madde Adı	Madde Konsantrasyonu
Yeast Azot Bazı	6.7 g/L
Glikoz	%40
Isolusin (Ile)	30 mg/L
Valin (Val)	250 mg/L
Adenin (Ade)	50 mg/L
Arjinin . HCl (Arg.HCl)	20 mg/L
Lisin . HCl (Lys.HCl)	30 mg/L
Metionin (Met)	20 mg/L

Çizelge 3.1 (devam) : YES biyodeneyi için kullanılan ortam.

Madde Adı	Madde Konsantrasyonu
Fenilalanin (Phe)	50 mg/L
Treonin (Thr)	200 mg/L
Tirosin (Tyr)	30 mg/L
Histidin . HCl (His.HCl)	200 mg/L
Leusin (Leu)	100 mg/L

İkinci inkübasyon periyodunda üstel büyüme evresine ulaşan maya hücreleri, östrojenik aktivitesi test edilen numuneler, şahit ve standartlarla eşit hacimde karıştırılır ve 28 °C sıcaklıkta 16-18 saat inkübe edilir.

İkinci inkübasyondan sonra numuneler, şahit ve standartlar 1'er ml alınarak 4000 rpm hızla 7 dakika santrifüjden geçirilir ve üst fazlar atılır. Santrifüj cihazı Şekil 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.12 : Santrifüj cihazı.

Alt fazda kalan maya hücrelerine 1 ml z-tampon çözeltisi (30 Mm Na_2HPO_4 , 20 Mm NaH_2PO_4 , 5Mm KCl, 0.5 Mm MgSO_4 , 0.025% (v/v) b-merkaptotanol) ilave edilir ve vorteks karıştırıcı ile karıştırılır. Tekrar 4000 rpm hızla 7 dakika santrifüjden geçirilir ve üst fazlar atılır. Alt fazda kalan maya hücrelerine 150 μL z-tampon çözeltisi ilave edilir ve vorteks karıştırıcı ile karıştırılır. Bu karışımdan 50 μL alınarak küçük mikrosantrifüj tüplerine aktarılır ve üzerine hücre membranlarının geçirgen hale getirilebilmesi için 30 μL z-tampon, 50 μL CH_2Cl_2 ve 20 μL SDS çözeltilerinden ilave edilir. Beş dakika beklendikten sonra her bir viale 700 μL ONPG (z-tampon içindeki konsantrasyonu 4mg/ml) çözeltisinden eklenir ve reaksiyon ile birlikte renk değişimi gözlenebilmesi için beklenir. Yaklaşık beş dakika sonra 500 μL 1 M Na_2CO_3 çözeltisi eklenerek bu reaksiyon sonlandırılır. Tüm vialler 14000 rpm hızla 2 dakika santrifüjden geçirilir ve Şekil 3.13’de gösterilen spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri okunur. İkinci inkübasyon periyodu sonunda elde edilen ve santrifüjlenmemiş olan numunelerin 600 nm dalgaboyunda absorbanları okunarak inkübasyon tüplerindeki hücre yoğunluğu belirlenir ve YES biyodeneyinin sonuçları hesaplanır.



Şekil 3.13 : Spektrofotometre cihazı.

Testin sonuçları Denklem 1 ile hesaplanır ve Miller Birimi olarak rapor edilir.

Denklem 1: Östrojenite miktarının hesaplanması.

$$MU = \frac{OD420 * 1000}{t * V * OD600}$$

MU: Miller Birimi

OD420: 420 nm dalgaboyundaki absorbans

OD600: 600 nm dalgaboyundaki absorbans

t: Kromojenik reaksiyon süresi

V: Testte kullanılan kültür hacmi

3.5.2 Katı Faz Ekstraksiyonu (KFE)

KFE işleminin özellikle şartlandırma, toplama ve çözücü içinde toplama adımlarının çözücü türü ve miktarı açısından optimize edilmesi gerekmektedir. Şartlandırma ve toplama adımlarında kullanılan çözücülerin toplanmak istenen maddelerin polaritelerine göre seçilmesi gerekmektedir. BPA, BPS ve NP ölçümlerinde metanol, asetonitril, etanol, aseton, etil asetat, diklorometan gibi güçlü çözücüler ve bunların kombinasyonları kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasının bağlı olduğu proje kapsamında literatürde kullanılan KFE yöntemleri de göz önünde bulundurularak çeşitli KFE yöntemleri denenmiştir (Gün, 2015). Etil asetat ve etanol kullanılan yöntem en yüksek geri kazanım oranlarını vermiştir. Diklorometanol ve metanolün BPA ve NP piklerinin dağılmasına neden olduğu görülmüştür. Buna karşılık, etil asetat ve etanol kombinasyonun BPA, BPS ve NP geri kazanımı için uygun olduğu açıktır. Metanol, literatürde şartlandırma ve toplama adımlarında sık sık kullanılmaktadır (Krein ve diğ., 2012; Liao ve Kannan, 2012; Plotan ve diğ., 2013; Vega-Morales ve diğ., 2010; Wagner ve diğ., 2013; Wang ve diğ., 2012; Zhang ve diğ., 2013a). Metanol solventinin kullanıldığı farklı KFE prosedürleri de denenmiştir. Ancak hazırlanan numunelerin LC-MS/MS ile yapılan ölçümlerde pik dağılımı görüldüğü için metanol solventini içeren KFE prosedürlerinin uygun olmadığına karar verilmiştir. Tüm prosedürler denendikten sonra hem YES biyodeneyi hem de LC-MS/MS ölçümlerinde başarılı ve birbiriyle tutarlı sonuç veren Çizelge 3.2’de gösterilen KFE prosedürünün kullanılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.2 : Numuneyi konsantre hale getirmek için belirlenen KFE yöntemi.

Şartlandırma	Etil asetat 2*2 ml	Etanol 2*2 ml	Çift distile su 2*2 ml
Numune geçirme			
Yıkama	Etanol:Çift distile su (1:9) 5 ml		
Kurutma	30 dakika		
Toplama	Etanol 2*2 ml	Etil asetat 2*2 ml	
Uçurma	Toplanan ekstraktın içine 50 µL DMSO eklenir, 50 µL kalana kadar		
Seyreltme	10 ml'ye çift distile su ile (YES biyodeneyi için)		
	1 ml'ye çift distile su ile (LC-MS/MS ölçümleri için)		

Katı faz ekstraksiyonu için seçilen yöntemde öncelikle YES biyodeneyi için cam, LC-MS/MS ölçümleri için plastik olarak seçilen Oasis HLB kartuşlarının 2 kez 2 ml etil asetat, 2 kez 2 ml etanol ve 2 kez 2 ml çift distile su ile şartlandırma işlemi gerçekleştirilir. Daha sonra kartuştan numuneler belli bir hızda (yaklaşık 5 ml/dk) geçirilir. Numune geçirme işlemi tamamlandıktan sonra 5 ml hacimce (1:9) oranında etanol:çift distile su ile yıkama yapılır. Yıkama adımından sonra kartuşlar 30 dk süre boyunca kurutulur. Ardından 2 kez 2 ml etil asetat ve 2 kez 2 ml etanol ile toplama işlemi gerçekleştirilir. Uçurma işleminden önce toplaması gerçekleştirilen ekstraktın içine 50 µL DMSO eklenir ve son hacimde 50 µL numune kadar uçurma işlemi yapılır.

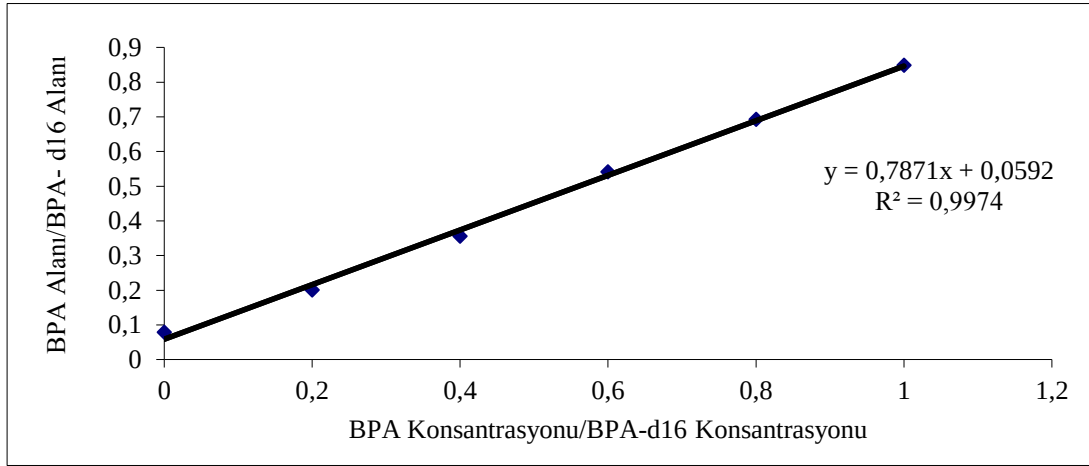
Uçurma işlemi tamamlandıktan sonra kalan 50 µL numune YES biyodeneyi için kullanılmak üzere 10 ml'ye, LC-MS/MS ölçümleri için kullanılmak üzere 1 ml'ye çift distile su ile tamamlanarak katı faz ekstraksiyonu işlemi tamamlanır.

3.5.3 LC-MS/MS Ölçümleri

LC-MS/MS'de numune ölçümlerinin yapılabilmesi için işletim koşullarının belirlenmesinin ardından lineer bir kalibrasyon eğrisi elde etmek amacı ile numunelerde beklenen konsantrasyonları kapsayacak şekilde belirlenmiş birbirinden

farklı BPA, BPS ve NP konsantrasyonları ve sabit bir BPA-d16 ve NP-d4 konsantrasyonları içeren standartlar hazırlanmıştır.

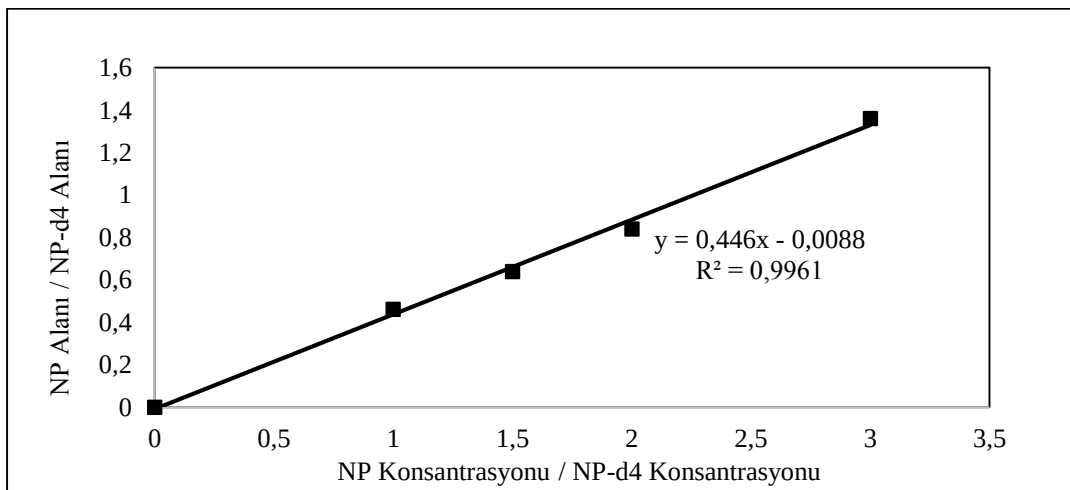
Hazırlanan standartların ölçümünün ardından x eksenine standardın BPA konsantrasyonunun BPA-d16'ya oranı, y eksenine de kromotagramda elde edilen iyonlaşma iyonlarının (BPA ve BPA-d16 için) pik alanlarının oranlarının yerleştirilmesi ile Şekil 3.14'te örneği verilen kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir.



Şekil 3.14 : Standart çözeltilerle hazırlanan BPA kalibrasyon eğrisi.

BPA için geri kazanım oranı $\%87 \pm 0,6$ 'dır. .Metod sayısallaştırma limiti ise 1 ng/L olarak bulunmuştur.

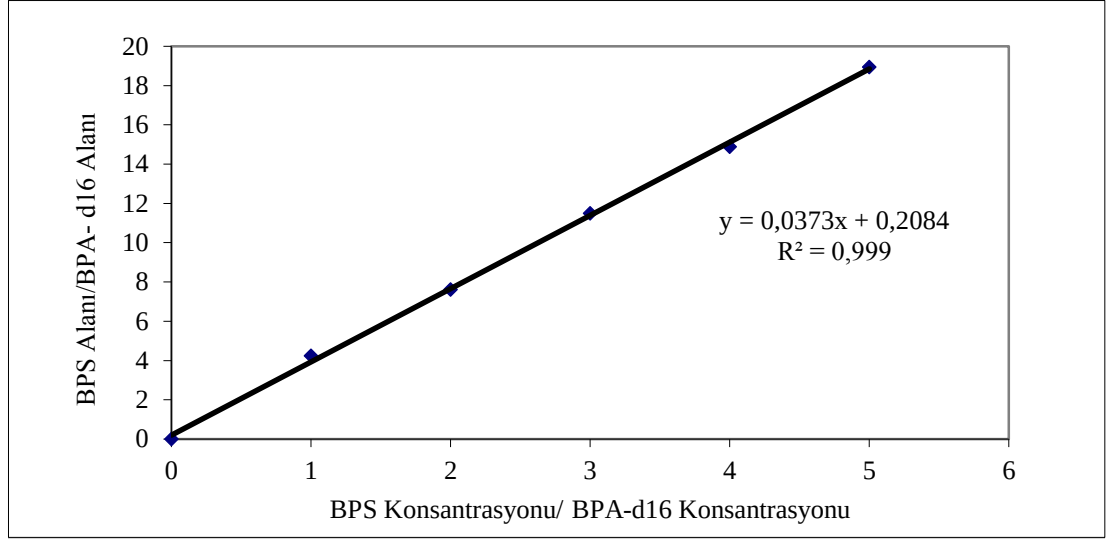
Aynı prosedür NP ve BPS konsantrasyonunu belirlemek için de kullanılmış, elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 3.15, Şekil 3.16 ve Şekil 3.17'de verilmiştir.



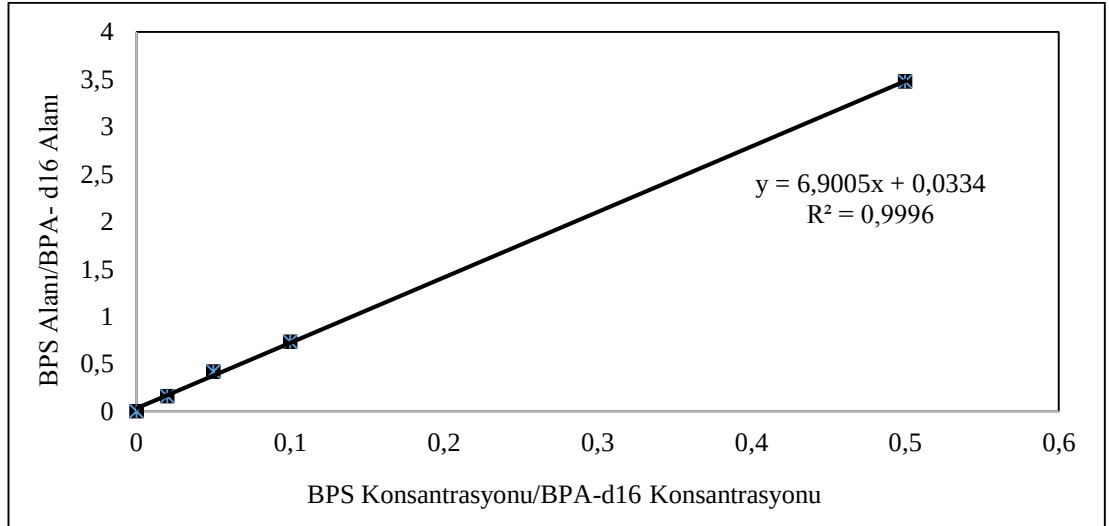
Şekil 3.15 : Standart çözeltilerle hazırlanan NP kalibrasyon eğrisi.

Numunelerin LC-MS/MS’ te ölçülmesinin ardından kromotogramda elde edilen alan oranları denklemde y teriminin yerine koyularak x değeri hesaplanmış ve bu şekilde numunelerdeki NP konsantrasyonuna geçiş yapılmıştır.

Numunelerde izotop işaretlilerin iç standart olarak kullanılmasının nedeni KFE prosedüründe oluşabilecek konsantrasyon kaybının en doğru şekilde sonuçlara yansıtılabilmesidir.



Şekil 3.16: BPS kalibrasyon eğrisi örneği (yüksek konsantrasyonlar için 0-500 µg/L).



Şekil 3.17 : BPS kalibrasyon eğrisi örneği (düşük konsantrasyonlar için 0-50 µg/L).

Geliştirilen yöntem ile BPS için metod sayısallaştırma limiti 10 ng/L olarak bulunmuştur. Numunelere uygulanan SPE sonucunda elde edilen geri kazanım ise BPS için yaklaşık olarak %80’ dir.

4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Şebeke Suyu Numunelerinin YES ve LC-MS/MS Sonuçları

4.1.1 Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları

Yaz mevsimini temsilen toplam 15 adet şebeke suyu numunesi alınmıştır. Numune alınan bölge ve hizmet aldığı su arıtma tesisi bilgileri Çizelge 4.1’de verilmektedir.

Çizelge 4.1 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.

Su Arıtma Tesisi	Kâğıthane Tesis 1	Ömerli Tesis 2	İkitelli Tesis 3	Büyükçekmece Tesis 4	Cumhuriyet Tesis 5
Numune Alınan Bölge	Beşiktaş 1 Beşiktaş 2	Üsküdar Ümraniye 1 Ümraniye 2	Başakşehir Esenler Zeytinburnu Bakırköy 1.1* Bakırköy 1.2*	Büyükçekmece 1** Büyükçekmece 2	Beykoz 1 Beykoz 2 Beykoz 3

*Bakırköy’den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükçekmece’den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Temin edilen numunelerde, karakterizasyon için ayrılan miktardan sonra, numuneler ikiye ayrılarak, YES deneyi için kullanılacak numuneler doğrudan KFE’ye, LC-MS/MS’te ölçüm için kullanılacak numuneler de izotop işaretli BPA ilavesini takiben, KFE’ye tabii tutulmuştur. KFE işleminin en sonunda tamamlama çözeltisi miktarları farklı olsa da, iki tip deney için de aynı KFE prosedürünün kullanılması, iki farklı şekilde (biyodeney ve kimyasal analiz) incelenen suyun KFE sonrasında da aynı karakterde olmasını sağlamıştır. Alınan numunelerde ölçülen pH ve sertlik ölçümü sonuçları Çizelge 4.2’de, YES biyodeneyi ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümü sonuçları ise Çizelge 4.3’te verilmektedir.

Çizelge 4.2 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.

Numune	pH	Sertlik (mg/L CaCO ₃)
Beşiktaş 1	7,49	160
Beşiktaş 2	7,34	150
Üsküdar	7,29	125
Ümraniye 1	7,35	130
Ümraniye 2	7,17	125
Başakşehir	7,44	125
Esenler	7,61	150
Zeytinburnu	7,31	130
Bakırköy 1.1*	7,46	125
Bakırköy 1.2*	7,52	120
Büyüçekmece 1**	7,23	155
Büyüçekmece 2	7,6	150
Beykoz 1	7,39	130
Beykoz 2	7,78	125
Beykoz 3	7,35	125

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Çizelge 4.3 : Yaz mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.

Numune	E2 eşdeğer kons. (ng/L) ¹	BPA kons. (ng/L)	BPS kons. (ng/L)
Beşiktaş 1	<2,71	2,0±1,3	<10 ng/L
Beşiktaş 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Üsküdar	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Başakşehir	<2,71	1,2±0,3	<10 ng/L
Esenler	<2,71	1,5±0,19	<10 ng/L
Zeytinburnu	<2,71 ^(*)	<1 ng/L	<10 ng/L
Bakırköy 1.1*	<2,71	1,7±0,3	<10 ng/L
Bakırköy 1.2*	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Büyüçekmece 1**	<2,71	6,1±0,3	13,2±2,1
Büyüçekmece 2	<2,71	18,3±3,8	60,2±4,6
Beykoz 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 2	<2,71	7,2±1,1	<10 ng/L
Beykoz 3	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L

¹ Eşdeğer konsantrasyon 50 kat konsantre edilmiş numunelerde ölçülen değerlerdir.

(*): 2,71 ng/L değerine çok yakın sonuçlar verdiği farklı denemelerde gözlemlenmiştir.

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Yaz aylarını temsilen alınan numunelerin pH'ları 7 civarında nötr değerlerde olup numuneler orta sertliktedir. Numunelerin hepsinde östrojenik aktivitenin 2,71 ng/L E2 eşdeğerinin altında olduğu görülmüştür. Ancak bir numunede bu değere çok yakın sonuçlar elde edilmiş olup, yine bu numunede hem BPA hem de BPS maddelerine rastlanmıştır. Aynı içme suyu arıtma tesisinin su verdiği bölgelerden alınan diğer numunelerde (Başakşehir için 1,2±0,3 ng/L, Esenler için 1,5±0,19 ng/L, Bakırköy 1.1 için 1,7±0,3 ng/L) BPA 'ya rastlanmıştır ancak herhangi bir östrojenik aktivite ölçülmemiştir. Bu da BPA ve BPS varlığının tesis kaynaklı olabileceği gibi şebeke borularından ya da ev içi kaynaklardan da BPA ve/veya BPS girişi olabileceğini düşündürmektedir. Büyükçekmece 1 (13,2±2,1 ng/L) ve Büyükçekmece 2 (60,2±4,6 ng/L) numunelerinde diğer bölgelere kıyasla yüksek konsantrasyonda BPA varlığına rastlanmıştır. İstanbul'a su sağlayan çoğu içme suyu arıtma tesisinde klorlamanın yanında ozonlama uygulanırken, Büyükçekmece içme suyu arıtma tesisinde sadece klorlama yapıyor olması, su kaynağında bulunabilecek östrojenik aktivite gösteren bazı maddelerin ozonlama ile tamamen oksitlenebileceği ancak klorlama ile tamamen giderilemediğini de gösterebilir.

4.1.2 Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları

Sonbahar mevsimini temsilen toplam 13 adet şebeke suyu numunesi alınmıştır. Numune alınan bölge ve hizmet aldığı su arıtma tesisi bilgileri Çizelge 4.4'te verilmektedir.

Çizelge 4.4 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.

Su Arıtma Tesis	Kâğıthane Tesis 1	Ömerli Tesis 2	İkitelli Tesis 3	Büyükçekmece Tesis 4	Cumhuriyet Tesis 5
Numune Alınan Bölge	Beşiktaş 1 Beşiktaş 2	Üsküdar Ümraniye 1 Ümraniye 2	Bahçelievler Zeytinburnu Bakırköy 1.1* Bakırköy 1.2*	Büyükçekmece 1** Büyükçekmece 2	Beykoz 1 Beykoz 2

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Alınan numunelerde ölçülen pH ve sertlik ölçümü sonuçları Çizelge 4.5'te, YES biyodeneyi ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümü sonuçları ise Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.5 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.

Numune	pH	Sertlik (mg/L CaCO ₃)
Beşiktaş 1	7,32	130
Beşiktaş 2	7,29	110
Üsküdar	7,27	100
Ümraniye 1	7,39	125
Ümraniye 2	7,21	130
Bahçelievler	7,48	140
Zeytinburnu	7,27	210
Bakırköy 1.1*	7,43	125
Bakırköy 1.2*	7,48	130
Büyükçekmece 1**	7,24	160
Büyükçekmece 2	7,58	130
Beykoz 1	7,35	170
Beykoz 2	7,69	210

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Çizelge 4.6 : Sonbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.

Numune	E2 eşdeğer Kons. (ng/L) ¹	BPA kons. (ng/L)	BPS kons. (ng/L)
Beşiktaş 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beşiktaş 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Üsküdar	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Bahçelievler	<2,71	5,4±1,4	<10 ng/L
Zeytinburnu	<2,71	9,9±0,5	<10 ng/L
Bakırköy 1.1*	<2,71	8,7±2,5	<10 ng/L
Bakırköy 1.2*	<2,71	8,1±3,1	<10 ng/L
Büyüçekmece 1**	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Büyüçekmece 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L

¹ Eşdeğer konsantrasyon 50 kat konsantre edilmiş numunelerde ölçülen değerlerdir.

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Sonbahar aylarını temsilen alınan numunelerin hepsinde östrojenik aktivitenin 2,71 ng/L E2 eşdeğerinin altında olduğu görülmüştür. Numunelerin pH'ları 7 civarında ve çoğu orta sertlikte olmasına rağmen Zeytinburnu ve Beykoz 2 numunelerinde 210 mg/L CaCO₃ sertlik değerleri ölçülmüştür.

Bahçelievler, Zeytinburnu, Bakırköy 1.1 ve Bakırköy 1.2 numunelerinde BPA varlığı tespit edilmiştir. Bu numunelerin hepsinin aynı arıtma tesisine bağlı bölgelerden alınması sonuçların tesisten kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

4.1.3 Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları

Kış mevsimini temsilen toplam 15 adet şebeke suyu numunesi alınmıştır. Numune alınan bölge ve hizmet aldığı su arıtma tesisi bilgileri Çizelge 4.7’de verilmektedir.

Çizelge 4.7 : Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.

Su Arıtma Tesis	Kâğıthane Tesis 1	Ömerli Tesis 2	İkitelli Tesis 3	Büyükçekmece Tesis 4	Cumhuriyet Tesis 5
Numune Alınan Bölge	Beşiktaş 1 Beşiktaş 2 Kâğıthane	Üsküdar Ümraniye 1 Ümraniye 2	Bağcılar Bahçelievler Zeytinburnu Bakırköy 1.1* Bakırköy 1.2*	Büyükçekmece 1** Büyükçekmece 2	Beykoz 1 Beykoz 2

*Bakırköy’den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükçekmece’den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Alınan numunelerde ölçülen pH ve sertlik ölçümü sonuçları Çizelge 4.8’de, YES biyodeneyi ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümü sonuçları ise Çizelge 4.9’da verilmektedir.

Çizelge 4.8 : Kış mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.

Numune	pH	Sertlik (mg/L CaCO ₃)
Beşiktaş 1	7,44	145
Beşiktaş 2	7,25	100
Kağıthane	7,36	120
Üsküdar	7,14	140
Ümraniye 1	7,29	80
Ümraniye 2	7,32	60
Bağcılar	7,28	100
Bahçelievler	7,40	70
Zeytinburnu	7,26	125
Bakırköy 1.1*	7,38	150
Bakırköy 1.2*	7,14	115
Büyükcçekmece 1**	7,33	130
Büyükcçekmece 2	7,43	210
Beykoz 1	7,28	220
Beykoz 2	7,41	230

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükcçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Çizelge 4.9 : Kış mevsimini alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.

Numune	E2 eşdeğer Kons. (ng/L) ¹	BPA kons. (ng/L)	BPS kons. (ng/L)
Beşiktaş 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beşiktaş 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Kağıthane	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Üsküdar	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Ümraniye 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Bağcılar	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Bahçelievler	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Zeytinburnu	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Bakırköy 1.1*	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Bakırköy 1.2*	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Büyüçekmece 1**	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Büyüçekmece 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L

¹ Eşdeğer konsantrasyon 50 kat konsantre edilmiş numunelerde ölçülen değerlerdir.

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Kış aylarını temsilen alınan numunelerin hepsinde östrojenik aktivitenin 2,71 ng/L E2 eşdeğerinin altında olduğu görülmüştür. Numune pH'ları 7 civarındadır. Ümraniye 1, Ümraniye 2 ve Bahçelievler numuneleri yumuşak, Büyükçekmece 2, Beykoz 1 ve Beykoz 2 numuneleri sert olup diğer numuneler orta sertliktedir.

4.1.4 İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin YES ve LC-MS/MS sonuçları

İlkbahar mevsimini temsilen toplam 15 adet şebeke suyu numunesi alınmıştır. Numune alınan bölge ve hizmet aldığı su arıtma tesisi bilgileri Çizelge 4.10'da verilmektedir.

Çizelge 4.10 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin bölgeleri ve bölgelerin bağlı oldukları içme suyu arıtma tesisleri.

Su Arıtma Tesis	Kâğıthane Tesis 1	Ömerli Tesis 2	İkitelli Tesis 3	Büyükçekmece Tesis 4	Cumhuriyet Tesis 5
Numune Alınan Bölge	Beşiktaş 1 Beşiktaş 2 Kâğıthane	Üsküdar Ümraniye 1 Ümraniye 2	Bağcılar Bahçelievler Zeytinburnu Bakırköy 1.1* Bakırköy 1.2*	Büyükçekmece 1** Büyükçekmece 2	Beykoz 1 Beykoz 2

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyükçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Alınan numunelerde ölçülen pH ve sertlik ölçümü sonuçları Çizelge 4.11'de, YES biyodeneyi ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümü sonuçları ise Çizelge 4.12'de verilmektedir.

Çizelge 4.11 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numunelerinin karakterizasyonu.

Numune	pH	Sertlik (mg/L CaCO ₃)
Beşiktaş 1	7,11	120
Beşiktaş 2	7,38	125
Kağıthane	7,29	120
Üsküdar	7,22	130
Ümraniye 1	7,26	120
Ümraniye 2	7,41	100
Bağcılar	7,12	100
Bahçelievler	7,24	130
Zeytinburnu	7,18	125
Bakırköy 1.1*	7,25	130
Bakırköy 1.2*	7,36	125
Büyüçekmece 1**	7,34	130
Büyüçekmece 2	7,32	125
Beykoz 1	7,13	150
Beykoz 2	7,27	160

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

Çizelge 4.12 : İlkbahar mevsimini temsilen alınan şebeke suyu numuneleri için YES ve LC-MS/MS ölçüm sonuçları.

Numune	E2 eşdeğer		
	Kons. (ng/L) ¹	BPA kons. (ng/L)	BPS kons. (ng/L)
Beşiktaş 1	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Beşiktaş 2	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Kağıthane	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Üsküdar	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Ümraniye 1	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Ümraniye 2	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Bağcılar	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Bahçelievler	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Zeytinburnu	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Bakırköy 1.1*	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Bakırköy 1.2*	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Büyüçekmece 1**	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Büyüçekmece 2	<2,71	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
Beykoz 1	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L
Beykoz 2	<2,71	<1 ng/L	<10 ng/L

¹ Eşdeğer konsantrasyon 50 kat konsantre edilmiş numunelerde ölçülen değerlerdir.

*Bakırköy'den alınan numuneler aynı bina içinden, depoya girmeden gelen su (1.1) ve depodan gelen su (1.2) olarak ayrı ayrı alınmıştır.

** Büyüçekmece'den alınan numunelerden bir tanesi suyun bina için dağıtımının plastik bir depodan geçtikten sonra yapıldığı bir evden temin edilmiştir.

İlkbahar aylarını temsilen alınan numunelerin hepsinde östrojenik aktivitenin 2,71 ng/L E2 eşdeğerinin altında olduğu görülmüştür. Numune pH'ları 7 civarındadır. Numuneler orta sertliktedir. LC-MS/MS cihazının arızalanması nedeniyle bu aya ait BPA ve BPS ölçümlerinin tamamı gerçekleştirilememiştir.

Şebeke suyu numunelerinde tüm mevsimlerde toplam östrojenik aktivite <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur.

Yaz numunelerinde Beşiktaş 1 (2,0±1,3 ng/L), Başakşehir (1,2±0,3 ng/L), Esenler (1,5±0,19 ng/L), Bakırköy 1.1 (1,7±0,3 ng/L), Büyükçekmece 1 (6,1±0,3 ng/L), Büyükçekmece 2 (18,3±3,8 ng/L) ve Beykoz 2 (7,2±1,1 ng/L) numunelerinde BPA tespit edilmiştir. Ayrıca Büyükçekmece 1(13,2±2,1 ng/L) ve Büyükçekmece 2 (numunelerinde 60,2±4,6 ng/L) BPS tespit edilmiştir.

Sonbahar numunelerinde Bahçelievler (5,4±1,4 ng/L), Zeytinburnu (9,9±0,5 ng/L), Bakırköy 1.1 (8,7±2,5 ng/L) ve Bakırköy 1.2 (8,1±3,1 ng/L) numunelerinde BPA tespit edilmiştir.

Kış numunelerinde BPA ve BPS değerleri ölçüm limitlerinin altında olup İlkbahar numunelerinin ölçümü gerçekleştirilenleri için de aynı durum söz konusudur.

4.2 Şişe Suyu Numunelerinin YES ve LC-MS/MS Sonuçları

İçme suyu numunelerinde pH, saklama koşulları ve saklama sürelerinin etkilerinin incelenmesi amacıyla farklı markalarda polikarbonat şişe suları temin edilmiştir. Farklı saklama koşullarının etkisini incelemek amacıyla, güneşte ve laboratuvarında olmak üzere iki farklı koşul ve farklı bekletme süreleri ile çalışılmıştır. Daha sonra, literatürdeki yüksek pH'ın polikarbonatlardan suya geçen BPA miktarını artırdığı (Hoekstra ve Simoneau, 2013) bilgisine dayanarak, bazı şişe suları, pH'ları değiştirildikten sonra bekletilmiştir. Bir numunede sıcak suyun BPA salınımına etkisini incelemek amacıyla, kaynatılmış çift distile su sıcak halde polikarbonat şişeye doldurulup bir gün laboratuvarında bekletilmiştir. Başka bir numunede ise polikarbonat şişelerde yapılan incelemelere ilave olarak, farklı malzemeden gelebilecek östrojenite sızmasının gözlenebilmesi açısından “campet” denilen bir malzeme içinde bulunan içecekten arındırılmış ve daha önce östrojenitesi belirlenmiş su ile doldurularak laboratuvarında bekletilmiştir. Ayrıca, pH'ın etkisi bu malzeme için de incelenmiştir.

KFE esnasında birer litre numune kullanılmış ve hem YES biyodeneyi hem de LC-MS/MS ölçümlerinde güvenilirliği arttırmak amacıyla çift numune ile çalışılmıştır. Bu nedenle her numune için her KFE’de dörder litre harcanmıştır ve polikarbonat şişeler 19 L olduğundan 4 kez KFE yapılma imkânı olmuştur. Şişelenmiş suların firma isimleri gizlilik açısından verilmemiş olup her bir numune kodlanmıştır. Çizelge 4.13’te şişe suyu deneyleri için kullanılan tüm numuneler ve numunelere ait kodlamalar verilmiştir.

Çizelge 4.13 : Şişe suyu deneylerinde kullanılan numuneler ve numune kodları.

Numara	Numune Açıklaması	Numune Kodu
1	1. Firma 1. Numune	II.B5-1
2	1. Firma 2. Numune	II.B5-2
3	2. Firma 1. Numune	XI.B5-1
4	2. Firma 2. Numune	XI.B5-4
5	2. Firma 3. Numune	XI.B5-5
6	2. Firma 4. Numune	XI.B5-6
7	3. Firma 1. Numune	XIV.B5-1
8	3. Firma 2. Numune	XIV.B5-2
9	4. Firma 1. Numune	XVII.B5-1
10	4. Firma 2. Numune	XVII.B5-2
11	pH=8,5 ve pH=10	
12	pH=7 ve pH=8	
13	Kaynatılıp polikarbonat şişeye konmuş çift distile su	
14	Campet numunesi	

Numuneler güneş altında bekletildiğinden meteorolojik veriler de önem kazanmaktadır. Numune alımına güneşlenme saatlerinin daha yüksek olduğu aylarda oluşan en kötü şartları da temsil etmek üzere çalışmalara 2014 Haziran ayı içinde başlanmıştır. 2015 Mayıs ayına kadar uzanan süreçte çalışmalar sürdürülmüştür.

Çizelge 4.14'te İstanbul için uzun yıllar içinde (1950-2014) gerçekleşen ortalama sıcaklık değerleri ve güneşlenme süreleri verilmiştir.

Çizelge 4.14 : İstanbul İçin Uzun Yıllar İçinde Gerçekleşen Ortalama Değerler (1950 - 2014) (Meteoroloji, G. M., 2014).

İstanbul	Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
Ortalama Sıcaklık (°C)	5.6	5.7	7.0	11.1	15.7	20.4	22.8	23.0	19.7	15.6	11.4	8.0
Ortalama En Yüksek Sıcaklık (°C)	8.5	9.0	10.8	15.4	20.0	24.5	26.5	26.7	23.6	19.1	14.7	10.8
Ortalama En Düşük Sıcaklık (°C)	3.2	3.1	4.2	7.7	12.1	16.5	19.5	20.0	16.8	13.0	8.9	5.5
Ortalama Güneşlenme Süresi (saat)	2.3	3.1	4.3	6	8.2	10.1	10.5	10.6	8.1	5.3	3.4	2.2

1. firmaya ait numuneler:

1. firmaya ait ilk numune ilk KFE yapıldıktan sonra güneş altında bekletilmeye başlanmıştır. 80 gün sonra 2. KFE yapılmış ve güneş altında bekletilmeye devam edilmiştir. 3. ve 4. KFE de sırasıyla 7 ay ve 11 ay sonra gerçekleştirilmiş ve bu süreç boyunca da numune güneş altında bekletilmiştir. Çizelge 4.15'te II.B5-1 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları, Çizelge 4.16'da ise BPA ve BPS sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.15 : II.B5-1 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=80 gün (ng/L)	t=7 ay (ng/L)	t=11 ay (ng/L)
<2,71	6±5	10±4	8±2

Çizelge 4.16 : II.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=80 gün	t=7 ay	t=11 ay
BPA (ng/L)	228±83	459,5±30	927±80	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

t=0 ve t=80 gün arasındaki süreç ortalama güneşlenme süresinin en yüksek olduğu aylara denk gelmektedir. Bu süreçte östrojenik aktivite <2,71 ng/L E2 eşdeğerinden 6±5 ng/L E2 eşdeğerine yükselmiştir. Fakat t=80 gün ve t=7 ay arasındaki dönemde ortalama güneşlenme süresi en düşük değerlere ulaşmasına rağmen toplam östrojenik aktivite 6±5 ng/L E2 eşdeğerinden 10±4 ng/L E2 eşdeğerine yükselmiştir. Fakat t=11 ay sonucunda 8±2 ng/L E2 eşdeğerine düşmüştür. LC-MS/MS sonuçlarının da YES sonuçlarıyla paralel olduğu görülmektedir. t=0 için 228±83 ng/L olarak tespit edilen BPA konsantrasyonu t=80'de 459,5±30 ng/L değerine ve t=7 ay'da 927±80 ng/L değerine ulaşmıştır. BPA konsantrasyonlarının giderek artması ışık etkisine maruz kalan polikarbonat şişeden fotoliz sonucu BPA salınımının olduğunu gösterebilir.

II.B5-1 numunesinde toplam östrojenik aktivite ve BPA tespit edildiğinden bu firmaya ait numunelerle farklı saklama koşulları üzerinde denemeler yapılmıştır. Farklı saklama koşullarının BPA ve BPS salınımına etkisini gözlemlemek amacıyla aynı numuneler laboratuvar ortamında 2 ay ve 3 ay 15 gün süreyle bekletilmiş ve yapılan ölçümler bu numuneler için de tekrarlanarak gözlenen sonuçlar Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.17 : 2 ay laboratuvarında bekletildikten sonra II.B5-2 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2.7	1376±77	<10 ng/L

Numunede BPA konsantrasyonu güneş altında bekletilen numunenin t=80 gün sonucundan yüksek çıkmıştır. Bu durum güneş altında bekletilen numunede BPA konsantrasyonunun zamanla artmasına rağmen, fotoliz etkisinin suda BPA konsantrasyonunda bir azalmaya da sebep olduğunu göstermektedir. Ayrıca polikarbonat şişelerin farklı olmasından, şişe yapısının ve şişenin kullanım sıklığının da BPA salınımını arttırdığı veya azalttığı sonucuna varılabilir.

Çizelge 4.18 : 3 ay 15 gün laboratuvarda bekletildikten sonra II.B5-2 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
8±5	5041,3±73,8	<10 ng/L

2 ay laboratuvarda bekletilen numune ile 3 ay 15 gün laboratuvarda bekletilen numunenin YES sonuçları karşılaştırıldığında 2 ay bekletilen numune için <2,71 ng/L E2 eşdeğeri, 3 ay 15 gün laboratuvarda bekletilen numune için 8±5 ng/L E2 eşdeğeri bulunduğu görülmektedir. YES sonuçlarına paralel bir şekilde BPA sonuçları da 2 ay bekletilen numune için 1376±77 ng/L, 3 ay 15 gün bekletilen numune için 5041,3±73,8 ng/L bulunmuştur. Güneşlenme faktöründen bağımsız olarak laboratuvar koşullarında bekletilen bu iki numunede bekletme süresi arttıkça hem YES hem de LC-MS/MS sonuçlarında artış gözlemlenmiştir. Ayrıca güneş altında bekletilen ve aynı firmaya ait olan II.B5-1 numunesinde II.B5-2 numunesine göre (t=2 ay, 1376±77 ve t=3,5 ay 5041,3±73,8) daha az BPA (t=7 ay, 927±80 ng/L). salınmasına rağmen bu numunede östrojenik aktivite (t=7 ay, 10±4 ng/L) II.B5-2 numunesinden yüksektir (8±5 ng/L). Buradan güneşlenme faktörüyle BPA haricinde östrojenik etki gösteren başka kimyasalların da salınımının gerçekleştiği yorumuna varılabilir.

2. firmaya ait numuneler:

2. firmaya ait numuneler ilk KFE yapıldıktan sonra güneş altında bekletilmeye başlanmıştır. 85 gün sonra 2. KFE yapılmış ve güneş altında bekletilmeye devam edilmiştir. 3. ve 4. KFE de sırasıyla 8 ay ve 10 ay sonra gerçekleştirilmiş ve bu süreç boyunca da numune güneş altında bekletilmiştir. Çizelge 4.19'da XI.B5-4 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları, Çizelge 4.20'de aynı numuneye ait BPA ve BPS sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.19 : XI.B5-4 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=85 gün (ng/L)	t=8 ay (ng/L)	t=10 ay (ng/L)
23±6	9±3	5±3	14±3

Çizelge 4.20 : XI.B5-4 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=85 gün	t=8 ay	t=10 ay
BPA (ng/L)	Ölçüm yapılamadı.	62,2±13,0	1274,5±54,6	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	Ölçüm yapılamadı.	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

Numunenin YES biyodeneyi sonuçlarına bakıldığında t=0 sonucu 23±6 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. t=85 gün sonucu 9±3 ng/L, t=8 ay 5±3 ng/L E2 eşdeğeri, t=10 ay 14±3 ng/L E2 olarak bulunmuştur. t=0 ve t=85 gün arasındaki dönem ortalama güneşlenme süresinin maksimum, t=85 gün ve t=8 ay arasındaki dönem ise minimum olduğu dönemdir. t=8 ay ve t=10 ay arasındaki dönem ortalama güneşlenme süresinin tekrar arttığı bir dönemdir. Sonuçlardan bu numune için ortalama güneşlenme süresinin toplam östrojenik aktiviteyi direkt olarak etkilemediği yorumu yapılabilir.

Farklı saklama koşullarının BPA salınımına etkisini gözlemlemek amacıyla östrojenik aktivite gösterdiği bilinen bu firmaya ait bir numune laboratuvar ortamında 2 ay süreyle bekletilmiş ve yapılan ölçümler bu numune için de tekrarlanarak gözlenen sonuçlar Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21 : 2 ay laboratuvarında bekletildikten sonra KFE yapılan XI.B5-1 numunesinin YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
5±4	1100±47	<10 ng/L

Sonuçta numunede 5±4 ng/L E2 eşdeğeri östrojenik aktivite tespit edilmiştir. 1100±47 ng/L BPA tespit edilmiş olup bu değer aynı firmaya ait güneş altında bekletilen

numunenin verdiği sonuç kadar (XI.B5-4 numunesi t=8 ay sonucu, 1274,5±56 ng/L) ciddidir. Buradan güneşlenme faktöründen bağımsız olarak laboratuvar koşullarında bekletme sonucunda dahi ciddi bir BPA salınımı olabileceği sonucuna varılabilir. Bu durum polikarbonat şişe yapısına ve şişenin kullanım sıklığına da bağlıdır.

Suyun pH'ındaki değişikliğin BPA salınımına etkisini gözlemlemek amacıyla XI.B5-5 ve XI.B5-6 numunelerinin ilk KFE yapıldıktan sonra pH=10 olacak şekilde ayarlaması yapılmıştır. Daha sonra güneşte bekletilmeye başlanmıştır. 20 gün sonra 2. KFE yapılmıştır ve numuneler güneşte bekletilmeye devam edilmiştir. 55 gün sonra 3. KFE yapılmıştır ve son KFE 7 ay sonra gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.22'de ve Çizelge 4.23'te XI.B5-5 ve XI.B5-6 numunelerinin YES biyodeneyi sonuçları, Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.25'te ise aynı numunelere ait BPA ve BPS sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.22 : XI.B5-5 numunesinin YES sonuçları

t=0 (ng/L)	t=20 gün (pH=10) (ng/L)	t=55 gün (pH= 10) (ng/L)	t=7 ay (pH= 10) (ng/L)
<2,71	<2,71	39±5	118±14

Çizelge 4.23: XI.B5-6 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=20 gün (pH=10) (ng/L)	t=55 gün (pH= 10) (ng/L)	t=7 ay (pH= 10) (ng/L)
<2,71	<2,71	4±3	<2,71

Çizelge 4.24: XI.B5-5 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=20 gün (pH=10)	t=55 gün (pH=10)	t=7 ay (pH= 10)
BPA (ng/L)	71,1±53,6	6599,7±724,7	5440,9±556,9	Ölçüm yapılamadı
BPS (ng/L)	<10 ng/L	49,5±6,6	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı

Çizelge 4.25: XI.B5-6 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=20 gün (pH=10)	t=55 gün (pH=10)	t=7 ay (pH= 10)
BPA (ng/L)	135,6±6,3	2635,6±288,7	1303,0±72,2	Ölçüm yapılamadı
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı

Numunelerin YES biyodeneyi sonuçlarına bakıldığında t=0 ve t=20 gün sonuçları <2,71 ng/L olarak ölçülmüştür. t=55 gün numunelerinde ise XI.B5-5 numunesi 39±5 ng/L, XI.B5-6 numunesi 4±3 ng/L E2 eşdeğeri toplam östrojenik aktivite ölçülmüştür. t=7 ay sonuçlarında XI.B5-5 numunesi 118±14 ng/L değerine kadar yükselmiştir. XI.B5-6 numunesi ise <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. Aynı markaya ait olan 2 farklı numuneden XI.B5-5'nin toplam östrojenik aktivitesinin güneş altında bekletildiği süre boyunca arttığı gözlemlenirken XI.B5-6 için sonuçların <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak kaldığı görülmüştür. Sadece t=55 gün için 4±3 ng/L E2 eşdeğeri toplam östrojenik aktivite ölçülmüştür. Ancak standart sapma dikkate alındığında bu sonucun toplam östrojenik aktivitenin önce artıp sonra azaldığını göstermeyeceği açıktır. Numunelerin LC-MS/MS sonuçlarına bakıldığında ortalama güneşlenme süresinin en yüksek olduğu dönemde yani t=0 ve t=20 gün arasındaki süreçte BPA konsantrasyonunun her iki numune için de arttığı görülmüştür. XI.B5-5 numunesi için

t=20 gün sonuçlarında $49,5 \pm 6,6$ ng/L BPS konsantrasyonu da tespit edilmiştir. Ancak güneşlenme süresinin azaldığı t=20 gün ve t=55 gün arasındaki dönem sonunda BPA konsantrasyonlarında da azalma görülmektedir. Bu numuneler için güneşlenme süresiyle paralel olarak BPA salınımının arttığı ve azaldığı söylenebilir.

Bazı markaların kullandığı şişe tiplerinden toplam östrojenik aktivitenin pH=10'da artmış olması ile bir problem oluşacağı görüldükten sonra, aynı şişeler ile, şişe sularında rastlanması daha muhtemel pH değerlerinde de deneme yapılmasına karar verilmiştir. Bu firmaya ait olup pH değişikliği ile tekrar denenmiş numuneler pH değişikliğinin etkisinin incelenmesi başlığı altında verilmiştir.

3. firmaya ait numuneler:

3. firmaya ait numuneler ilk KFE yapıldıktan sonra güneş altında bekletilmeye başlanmıştır. 90 gün sonra 2. KFE yapılmış ve güneş altında bekletilmeye devam edilmiştir. 3. ve 4. KFE de sırasıyla 7 ay ve 11 ay sonra gerçekleştirilmiş ve bu süreç boyunca da numuneler güneş altında bekletilmiştir. Çizelge 4.26'da ve Çizelge 4.27'de XIV.B5-1 ve XIV.B5-2 numunelerinin YES biyodeneyi sonuçları, Çizelge 4.28'de ve Çizelge 4.29'da ise aynı numunelerin BPA ve BPS sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.26 : XIV.B5-1 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=90 gün (ng/L)	t=7 ay (ng/L)	t=11 ay (ng/L)
<2,71	<2,71	<2,71	5±3

Çizelge 4.27 : XIV.B5-2 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=90 gün (ng/L)	t=7 ay (ng/L)	t=11 ay (ng/L)
<2,71	<2,71	<2,71	4±2

Çizelge 4.28 : XIV.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=90 gün	t=7 ay	t=11 ay
BPA (ng/L)	37,3±0,4	1183,9±112,7	90,1±16,3	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

Çizelge 4.29 : XIV.B5-2 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=90 gün	t=7 ay	t=11 ay
BPA (ng/L)	117,7±2,9	91,2±26,5	64,8±6,6	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

Numunelerin YES biyodeneyi sonuçlarına bakıldığında t=0, t=90 gün ve t=7 ay sonuçları <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. t= 11 ay sonuçları XIV.B5-1 için 5±3 ng/L ve XIV.B5-2 için 4±2 ng/L bulunmuştur. Bekletme süresiyle birlikte toplam östrojenik aktivitede az da olsa bir artış gözlemlenmiştir. LC-MS/MS verilerine bakıldığında ortalama güneşlenme süresinin maksimum olduğu dönemde yani t=0 ile t=90 gün arasındaki süreçte XIV.B5-1 için BPA konsantrasyonunun arttığı ve güneşlenmenin azaldığı t=90 gün ile t=7 ay arasındaki dönemde BPA konsantrasyonunun azaldığı görülmektedir. XIV.B5-2 için BPA konsantrasyonunun giderek azaldığı görülmektedir. Bu durum hem güneş ışınının BPA salınımına yol açmasıyla hem de sıcaklık ya da fotoliz sebebiyle BPA'nın oksitlenmesi veya hidroliz olmasıyla açıklanabilir.

4. firmaya ait numuneler:

4. firmaya ait numuneler ilk KFE yapıldıktan sonra güneş altında bekletilmeye başlanmıştır. 60 gün sonra 2. KFE yapılmış ve güneş altında bekletilmeye devam edilmiştir. 3. ve 4. KFE de sırasıyla 7 ay ve 10 ay sonra gerçekleştirilmiş ve bu süreç boyunca da numuneler güneş altında bekletilmiştir. Çizelge 4.30'da ve Çizelge 4.31'de BPA'sız olarak lanse edilen XVII.B5-1 ve XVII.B5-2 numunelerinin YES biyodeneyi

sonuçları, Çizelge 4.32’de ve Çizelge 4.33’te ise aynı numunelere ait BPA ve BPS sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.30 : XVII.B5-1 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=90 gün (ng/L)	t=7 ay (ng/L)	t=11 ay (ng/L)
<2,71	8±4	<2,71	3±2

Çizelge 4.31 : XVII.B5-2 numunesinin YES sonuçları.

t=0 (ng/L)	t=90 gün (ng/L)	t=7 ay (ng/L)	t=11 ay (ng/L)
<2,71	<2,71	20±4	4±3

Çizelge 4.32 : XVII.B5-1 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=60 gün	t=7 ay	t=10 ay
BPA (ng/L)	1,8±0,2	<1 ng/L	<1 ng/L	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

Çizelge 4.33 : XVII.B5-2 numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=60 gün	t=7 ay	t=10 ay
BPA (ng/L)	1,8±0,3	<1 ng/L	<1 ng/L	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.

Numunelerin YES biyodeneyi sonuçlarına bakıldığında t=0 sonuçları <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. t=60 gün sonuçları ise XVII.B5-1 numunesi için 8±4, XVII.B5-2 numunesi için <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. t=7 ay için XVII.B5-1 numunesi <2,71 ve XVII.B5-2 20±4 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. BPA’sız olarak lanse edilen bu markada östrojenik aktivite belirlenmiştir. Ayrıca numuneler t=0 anında östrojenik aktivite göstermezken, t=60 gün sonuçlarında XVII.B5-1 numunesi, t=7 ay sonuçlarında XVII.B5-2 numunesi östrojenik aktivite

göstermiştir. t=11 ay sonuçlarında XVII.B5-1 3 ± 2 ng/L E2 eşdeğeri, XVII.B5-2 4 ± 3 ng/L E2 eşdeğeri östrojenik aktivite göstermiştir. Numunelerin LC-MS/MS sonuçlarında ise şişelerinin BPA içermediği belirtilen bu firmanın ürünlerinde t=0 için çok düşük değerlerde de olsa BPA tespit edilmiştir. Ancak, güneş altında bekletme ile bu şişelerden suya BPA ya da BPS salınımı olmadığı görülmüş, hatta t=0 anındaki BPA'nın da 2 ay içinde ölçüm limitinin altına düştüğü belirlenmiştir. Bu da diğer şişelerde de görülen BPA ve BPS artış ve eksilmesinin güneşlenme sonucu plastik şişeden suya BPA/BPS salınımı ile BPA/BPS'nin sıcaklık ile artan hidrolizi ve/veya BPA/BPS'nin fotolizi gibi farklı yönlerde BPA/BPS konsantrasyonlarını etkileyen proseslerin mevcut olduğunu göstermektedir. Çift çalışan numunelerde östrojenite ve BPA/BPS konsantrasyonlarındaki artış ya da azalmanın aynı miktarda hatta aynı yönde olmaması nedeniyle şişelerin yapısının yanısıra kaç kez kullanıldığı ile de alakalı olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda daha detaylı bir inceleme yapılamamasının sebebi, şişelerde kullanılan maddeleri belirten bir ibare olmasına karşın, o şişenin kaç kere kullanıldığı ile ilgili bir envanterin bulunamamasıdır. Çeşitli firmalardan, ilk kez kullanılacak şişe temini çalışmaları da ne yazık ki sonuçsuz kalmıştır. Gene de aynı marka sularla, genelde aynı tip şişeler kullanıldığından çift numunelerin arasındaki farkın kullanım sayısı olduğu düşünülmektedir.

pH değişikliğinin etkisinin incelenmesi:

2. firmaya ait numunelerle yapılan çalışmalar sonucunda pH değişikliğinin östrojenik aktiviteye etki ettiği gözlenmiş, aynı şişelere doldurulmuş farklı sularla pH değişikliği tekrar incelenmiştir. Çizelge 4.34'te ve Çizelge 4.35'te östrojenik aktivite gösterdiği bilinen damacanalarda muhafaza edilen pH=7 ve pH=8'e ayarlanmış çeşme suyu numunelerinin YES sonuçları, Çizelge 4.36'da ve Çizelge 4.37'de ise aynı numunelerin BPA ve BPS sonuçları verilmektedir.

Çizelge 4.34 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacana muhafaza edilen pH=7'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin YES sonuçları.

t=30 gün (ng/L)	t=70 gün (ng/L)	t=4,5 ay (ng/L)	t=5 ay (ng/L)
<2,71	<2,71	4 ± 2	4 ± 2

Çizelge 4.35 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=8'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin YES sonuçları.

t=30 gün (ng/L)	t=70 gün (ng/L)	t=4,5 ay (ng/L)	t=5 ay (ng/L)
<2,71	<2,71	3±2	4±3

Çizelge 4.36 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=7'ye ayarlanmış çeşme suyu numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=30 gün	t=70 gün	t=4,5 ay	t=5 ay
BPA (ng/L)	<1 ng/L	83,9±7,4	213,5±18,1	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.

Çizelge 4.37 : Östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait damacanada muhafaza edilen pH=8'e ayarlanmış çeşme suyu numunesinin BPA ve BPS sonuçları.

	t=0	t=30 gün	t=70 gün	t=4,5 ay	t=5 ay
BPA (ng/L)	<1 ng/L	161,3±140,7	89,8±3,5	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.
BPS (ng/L)	<10 ng/L	<10 ng/L	<10 ng/L	Ölçüm yapılamadı.	Ölçüm yapılamadı.

Numunelerin YES sonuçlarına bakıldığında t=30 gün ve t=70 gün sonuçları <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. pH=7 numunesi için t=4,5 ay ve t=5 ay sonuçları 4±2 ng/L E2 eşdeğerine yükselmiştir. pH=8 numunesi için t=4,5 ay sonucu 3±2 ng/L E2 ve t=5 ay sonucu 4±3 ng/L E2 eşdeğerine yükselmiştir. LC-MS/MS sonuçlarında pH=7 numunesinin bekletme süresiyle BPA konsantrasyonunda artış gözlemlenirken, pH=8 numunesinde ilk 1 aylık süreçte artış gözlemlenmiş fakat 70. gün numunesi için

yapılan ölçümde azalma gözlemlenmiştir. Yukarı da belirtildiği üzere bu sonuçların iki farklı prosesin güneşe ve sıcaklığa bağlı olarak etkilerine ve aynı yapıda da olsalar çift çalışılan şişelerin farklı miktarlarda kullanımlarına bağlı olarak elde edildiği düşünülmektedir.

pH 7 ve 8’de yapılan denemelerde kullanılan şişeler 2. Markanın şişeleri olmakla birlikte içlerine konulan su satın alınandan farklı olarak İTÜ ÇevreMühendisliği Laboratuvarları’ndan elde edilen çeşme suyudur. Bu sebeple, ilk gün değerlerinde, çeşme suları için elde edilen değerlere benzer şekilde östrojenik aktivite ya da BPA/BPS konsantrasyonu tespit edilmemiştir. Sularda daha sıklıkla rastlanan pH’lar olan 7 ve 8’de elde edilen sonuçlar, pH’ı 10’a getirilip bekletilen su numunesi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, pH:7’de yaklaşık 2,5 ayda elde edilen BPA konsantrasyonunun, pH:10’da yaklaşık 2 ayda gözlenen BPA konsantrasyonundan daha az olduğu görülmüştür. Şişelerden salınacak maksimum östrojenik aktiviteye sebep olacak kimyasalların araştırılması açısından sürenin uzun tutulması önemli de olsa, normalde suların yaklaşık olarak 1 hafta içinde tüketildiği hesaplandığından/gözlemlendiğinden, benzer deneyler daha kısa bekletme süresi için tekrarlanmıştır.

Çizelge 4.38’de pH=8,5 ve pH=10’a ayarlanıp firma 1’e ait 1 hafta polikarbonat şişede bekletilen çift distile suyun KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.38 : pH=8,5 ve pH=10’a ayarlanıp firma 1’e ait 1 hafta polikarbonat şişede bekletilen çift distile suyun KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

pH=8,5		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	5,6±0,9	<10 ng/L
pH=10		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	2,2±0,5	<10 ng/L

Her iki numunenin de toplam östrojenik aktivitesi <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuş olup LC-MS/MS sonuçlarına bakıldığında pH=8,5 için ölçülen BPA değeri 5,6±0,9 ng/L, pH=10 için ölçülen değer ise 2,2±0,5 ng/L olarak bulunmuştur.

Suyun sıcaklığının etkisinin incelenmesi:

Yüksek sıcaklıklarda polikarbonat şişelerden BPA salınımının arttığına dair yapılan bir çalışmaya (Hoekstra ve Simoneau, 2013) dayanarak çift distile su numunesi kaynatılmış ve östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. firmaya ait polikarbonat şişede bir gün bekletilmiştir. Çizelge 4.39’da kaynatılıp 2. firmaya ait polikarbonat şişeye koyulmuş ve bir gün bekletilmiş çift distile su numunesinin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.39 : Kaynatılıp 2. firmaya ait polikarbonat şişeye koyulmuş çift distile su numunesinin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	809±23	<10 ng/L

Su sıcaklığının etkisinin incelenmesi amacıyla kaynatılıp 1 gün bekletilen çift distile su numunesinde YES sonucu <2,71 ng/L E2 eşdeğeri bulunmasına rağmen BPA sonucunun 809±23 ng/L bulunmasından, ve aynı firmaya ait başka bir polikarbonat şişede 85 gün güneş altında bekletme sonucunda BPA değerinin 62,2±13,0 ng/L bulunmasından kaynatılmış suyun polikarbonat şişeden BPA salınımını arttırdığı sonucuna varılabilir.

Campet şişelerin incelenmesi:

Polikarbonat şişelere bir alternatif olarak kullanıma sunulan Campet şişelere içme suyu doldurularak bir kısmı 1 hafta bir kısmı 10 gün bekletilen ve bir kısmı da pH=10’a getirilen numunelerin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları Çizelge 4.40’ta verilmiştir.

Çizelge 4.40 : Campet şişelere içme suyu doldurularak bir kısmı 1 hafta bir kısmı 10 gün bekletilen ve bir kısmı da pH=10'a getirilen numunelerin KFE sonrası YES biyodeneyi sonuçları ve LC-MS/MS ile BPA ve BPS ölçümleri sonuçları.

Blank (1L V marka su, yakılmış cam şişeye koyulmuş, 1 gün bekletilmiş)		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	8,2±7,3	<10 ng/L
1L V marka su, campete koyulmuş, 1 gün bekletilmiş		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	2,4±1,4	<10 ng/L
1L V marka su campete koyulmuş, pH=10'a ayarlanmış, 1 gün bekletilmiş		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	1,5±0,2	<10 ng/L
1L V marka su, campete koyulmuş, 10 gün bekletilmiş		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
3±0,3	2,4±0,2	<10 ng/L
1L V marka su campete koyulmuş, pH=10'a ayarlanmış, 10 gün bekletilmiş		
YES (ng/L)	BPA (ng/L)	BPS (ng/L)
<2,7	128,9±13,8	<10 ng/L

Östrojenik aktivitesi bilinen içme suyunun campet adı verilen malzeme için farklı bekletme süresi ve pH kombinasyonları denenmiş olup sonuçlar <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. Sadece pH değiştirilmeden 10 gün bekletilen numunede 3±0,3 ng/L E2 eşdeğeri toplam östrojenik aktivite tespit edilmiştir. Bu değer de <2,71 ng/L değerine yakın olmasına rağmen bekletme süresi arttıkça toplam östrojenik aktivite tespit edilme ihtimali artmaktadır denilebilir. 1 gün bekletilen sonuçlarda BPA konsantrasyonlarında standart sapmanın yüksek olmasının da etkisiyle belirgin bir fark olmamasına rağmen 10 gün bekletilen ve pH=10'a ayarlanan numunede ciddi BPA konsantrasyonuna rastlanmıştır olup yüksek pH'ın ve artan bekletme süresinin BPA salınımını arttırdığı sonucuna varılabilir. Sonuçlardan campet adı verilen şişenin polikarbonat şişelere kıyasla daha güvenilir kabul edilemeyeceği yorumu yapılabilir.

Çünkü düşük BPA konsantrasyonlarında ($2,4 \pm 0,2$ ng/L) bile östrojenik aktivite ($3 \pm 0,3$ ng/L E2 eşdeğeri) tespit edilmiş olup östrojenik aktivitenin sadece tek bir kimyasala dayanmadığı görülmektedir.

5. DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada İstanbul'da 5 farklı içme suyu arıtma tesisinin hizmet verdiği bölgelerden temin edilen şebeke sularında ve piyasada bulunan farklı markalardaki polikarbonat şişe sularında toplam östrojenik aktivite araştırılmıştır. Toplam östrojenik aktivitenin yanı sıra bu aktiviteye neden olabilecek maddelerden bisfenol A ve bisfenol S maddelerinin LC-MS/MS ile varlığının belirlenmesi ve konsantrasyonlarının ölçümü gerçekleştirilmiştir. Nonilfenol LC-MS/MS'te dağınık pikler verdiği için ölçümü gerçekleştirilememiştir. Östrojenik aktiviteye neden olan maddelerin sularda ng/L mertebesinde olması nedeniyle YES biyodeneyi ve LC-MS/MS ölçümleri öncesinde numuneler KFE uygulanarak konsantre hale getirilmiştir.

Şebeke sularında tüm mevsimler için YES biyodeneyi ile toplam östrojenik aktiviteler <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak ölçülmüştür. Numunelerde mevsime bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilmemiştir. Plastik depodan kaynaklanan bir östrojenik aktivite olup olmadığını gözlemlemek amacıyla dört mevsim için de aynı evden hem çeşme suyundan hem depodan numune alınmış ve sonuçlar <2,71 ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. Ayrıca plastik deposu olduğu bilinen bir evden de çeşme suyundan numune alınmış sonuçta yine herhangi bir östrojenik aktivite tespit edilmemiştir. İstanbul'a içme suyu temin eden çoğu tesiste ozonlama yapılıyor olması östrojenik aktiviteye neden olabilecek kirleticilerin giderimini sağlamış olabilir. Ancak yaz numunelerinde bir numunede tespit edilebilir limite çok yakın sonuçlar elde edilmiş olup yine bu numunede hem BPA hem de BPS maddelerine rastlanmıştır. Aynı içme suyu arıtma tesisinin su verdiği bölgelerden alınan diğer bir numunede de çok daha yüksek konsantrasyonlarda BPA ve BPS'ye rastlanmıştır ancak herhangi bir östrojenik aktivite ölçülmemiştir. Bu durumun tesis kaynaklı bir problem olması ihtimalinin yanı sıra, şebeke ya da ev içi kaynaklardan başka östrojenik aktivite gösteren madde girişimi olabileceğini düşündürmektedir. İstanbul'a su sağlayan çoğu içme suyu arıtma tesisinde klorlama ile birlikte ozonlama yapılmasına rağmen Büyükçekmece Su Arıtma Tesisi'nde sadece klorlama yapılıyor olması, su kaynağında bulunabilecek östrojenik aktivite gösteren bazı maddelerin ozonlama ile tamamen oksitlenebileceğini

ancak klorlama ile tamamen giderilemediğini de gösterebilir. Sonbahar numunelerinde BPA ve BPS maddelerinin tespit edildiği numunelerin aynı arıtma tesisinin su sağladığı bölgelerden alınmış olması problemin tesis kaynaklı olabileceğini düşündürse de İstanbul'a düzenli bir şekilde temiz su sağlanması için, su kaynaklarının durumuna bağlı olarak, dağıtım farklı şekillerde yapılabilmektedir. Belli bir bölgedeki suyun azalması durumunda SCADA sistemi otomatik olarak devreye girerek o bölgeye diğer bölgelerden takviye yapabilmektedir. Bu nedenle elde edilen sonuçların o bölgeye ait olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir.

Şebeke suyu numunelerinde numunelerin karakterizasyonu amacıyla yapılan pH ve Sertlik analizleri sonucunda numunelerin çoğunlukla orta sertlikte olduğu gözlenmiş ve pH'ları 7 civarında ölçülmüştür.

Polikarbonat şişe sularında pH, saklama süreleri ve saklama koşullarının etkisi incelenmiştir. Farklı saklama koşullarının etkisini incelemek amacıyla güneşte ve laboratuvarında olmak üzere iki farklı koşul ve farklı bekletme süreleri ile çalışılmıştır. Polikarbonat şişelerde östrojenik aktivite gösteren madde salınımında sıcaklık ve güneşlenme süresi faktörlerinin etkisi araştırılmış ve numuneler farklı sürelerde güneş altında bekletilerek deneyler yapılmıştır. Güneşlenme süresiyle östrojenik aktivite arasında kesin bir bağlantı kurulamamıştır. Bazı numunelerde güneş altında bekletme süresiyle birlikte östrojenik aktivitede artış görülürken bazı numunelerde azalma görülmüştür. Bu durum da olası fotoliz etkisi ve yıl içerisinde numune ölçümlerinin farklı ortalama güneşlenme sürelerine denk gelmesiyle açıklanabilir.

BPA'sız adı altında satışa sunulan bir markanın (4. Marka, XVII.B5-1 ve XVII.B5-2 numuneleri) iki farklı polikarbonat şişesiyle ilgili de denemeler yapılmıştır. Bu şişelerde BPA yerine benzer bir madde olan BPS'nin kullanılmış olma ihtimali mevcuttur. Sonuçta BPA'sız olduğu söylenen numunelerde güneş altında farklı bekletme sürelerinde toplam östrojenik aktivite tespit edilmiştir. Ayrıca, numunelerde düşük konsantrasyonlarda da olsa BPA varlığı ($1,8 \pm 0,2$ ve $1,8 \pm 0,3$ ng/L) gözlenmiştir. Fakat bu numunelerde BPA yerine BPS kullanıldığına dair bir veri elde edilememiştir. Bu şişelerde, BPA benzeri diğer madde olan BPF kullanılmış olabilir.

Yüksek pH'ın polikarbonat şişelerden BPA salınımında olumsuz etkisi bilindiğinden (Hoekstra ve Simoneau, 2013), pH etkisini gözlemlemek amacıyla numunelerde pH değiştirilerek çalışmalar yapılmıştır. Östrojenik aktiviteye neden olduğu tespit edilen

2. markaya ait 2 farklı damacana suyunun pH'ı 10'a getirilmiş ve farklı bekletme sürelerinde ciddi östrojenik aktivite ($t=55$ gün XI.B5-5 numunesi için 39 ± 5 ng/L E2 eşdeğeri ve $t=7$ ay XI.B5-5 için 118 ± 14 ng/L E2 eşdeğeri) tespit edilmiştir. Bu numunelerde ayrıca BPA ve BPS varlığına rastlanmıştır. Yüksek pH'lardaki denemeler farklı bir markanın (1. Marka) şişesi kullanılarak tekrarlanmıştır. Çift distile su ile yapılan çalışmada $pH=8,5$ ve $pH=10$ 'a ayarlanan çift distile su damacanada 1 hafta bekletilmiş ve sonuç olarak elde edilen toplam östrojenik aktivite $<2,71$ ng/L E2 eşdeğeri bulunmuştur. $pH=8,5$ için ölçülen BPA değeri ($5,6\pm0,9$ ng/L) $pH=10$ için ölçülen BPA konsantrasyonundan ($2,2\pm0,5$ ng/L) fazla bulunmuştur.

Ayrıca kaynatılan çift distile suyun, sıcak bir halde, 2. Markanın polikarbonat şişeye konulmasının ve 1 gün bekletilmesinin ardından östrojenik aktiviteye etkisi ile ilgili bir deney yapılmıştır. Numunede toplam östrojenik aktivite $<2,71$ ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunmuştur. Kaynatmanın toplam östrojenik aktiviteye pozitif bir etkisi tespit edilememesine rağmen, suda yüksek BPA konsantrasyonu (809 ± 23 ng/L) tespit edilmiştir. Sıcak suyun polikarbonat damacandan BPA salınımını arttırabileceği sonucuna varılmıştır. Bu sonuç da BPA içeren biberonların yasaklanması da gözönüne alındığında beklenen bir sonuçtur.

Laboratuvarda 2 ay boyunca bekletilen 2 farklı marka (1. Marka ve 2. Marka) damacana suyunun birinde toplam östrojenik aktivite $<2,71$ ng/L E2 eşdeğeri olarak bulunurken diğeri 5 ± 4 ng/L bulunmuştur. Her ikisinde de ciddi miktarlarda BPA varlığı (sırasıyla 1376 ± 77 ng/L ve 1100 ± 47 ng/L) tespit edilmiştir. Laboratuvarda 3 ay 15 gün bekletilen 1. Marka numunesinde ise 8 ± 5 ng/L toplam östrojenik aktivite tespit edilmiştir. Bu numune için de yüksek konsantrasyonda BPA bulunması ($5041,3\pm73,8$ ng/L) güneş ve sıcaklık gibi dış etkenlerin polikarbonat şişenin yapısına olan etkilerinden bağımsız olarak sadece bekletme süresiyle bile polikarbonat damacandan ciddi BPA salınımı olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmalara ek olarak, östrojenik aktivite gösterdiği bilinen 2. markanın 2 damacanasına çeşme suyu konarak birinin pH'ı 7 diğeri pH'ı 8 olarak ayarlanmış ve güneş altında bekletilmiştir. Burada da normal şartlarda rastlanabilecek pH'ların etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Güneş altında artan bekletme sürelerinde toplam östrojenik aktivite artış göstermiştir. pH'ın 8'e yükseltilmesi östrojenik aktiviteye pozitif bir etki yapmamıştır. Fakat her iki numunede de yüksek konsantrasyonlarda BPA ($213,5\pm18,1$ ng/L ve $89,8\pm3,5$ ng/L) bulunmuştur. Gene de elde edilen BPA

konsantrasyonlarının karşılık geldiği E2 eşdeğerleri hesaplandığında (0,02 ng/L E2 ve 0,009 ng/L E2), sulara varlığı araştırılan NP, BPA ve BPS maddelerinin dışında da östrojenik aktivite gösteren maddeler olduğu anlaşılmıştır.

Polikarbonat şişeler dışında campet adı verilen bir malzemeden yapılmış 1 L'lik östrojenik aktivite içermediği bilinen bir içme suyu doldurularak laboratuvarda bekletilmiş, numunelerde farklı bekletme süreleri ve yüksek pH etkisi incelenmiştir. Bunun için numuneler 1 gün ve 10 gün bekletilmiş, bunun dışında pH değiştirilmeden ve pH=10'a getirilerek denemeler yapılmıştır. Sonuç olarak bekletme süresi arttıkça toplam östrojenik aktivitenin tespit edilebilen değerlere ulaştığı görülmüştür fakat 1 günlük bekletme süresinde BPA sonucunda belirgin bir fark bulunamamıştır. En yüksek BPA konsantrasyonuna (128,9±13,8 ng/L) pH=10'a getirilen ve 10 gün bekletilen numunede varılmıştır. Buradan campet adı verilen şişenin de, su ile temas eden kısmının cam olduğu belirtilmesine karşın yine de, polikarbonat şişelere kıyasla BPA salınımı açısından daha güvenilir kabul edilemeyeceği yorumu yapılabilir. Düşük BPA konsantrasyonlarında (2,4±0,2 ng/L) bile östrojenik aktivite (3±0,3 ng/L E2 eşdeğeri) tespit edilmiş olması bu projenin ana amaçlarından biri olan, sadece kimyasal madde konsantrasyonu ölçülerek biyolojik bir etkinin değerlendirilmesinin mümkün olmadığı göstermiştir.

Sonuç olarak, içme suyundan gelebilecek ve östrojenite oluşturabilecek NP, BPA ve BPS maddelerinin içme sularında bulunabileceği ve özellikle bazı yapıdaki şişelerden bekletme şartlarına bağlı olarak salınabileceği görülmüştür. Gene de, 60 kg ağırlındaki bir yetişkinin östrojenik aktiviteden etkilenmesi için 24 µg/l BPA içeren sudan günde 124 L tüketmesi gerektiğini gösteren bir çalışmaya (Guart ve diğ., 2014) dayanarak, bu çalışmada analiz edilen su numunelerinin BPA konsantrasyonu dikkate alındığında, östrojenik aktivite bakımından insan sağlığına bir risk oluşturmayacağı söylenebilir. Proje sonuçlarında, incelenen ve östrojenik aktivite oluşturması muhtemel NP, BPA ve BPS konsantrasyonları çok düşük olduğunda bile östrojenik aktivitenin gözlemlendiği durumlar mevcuttur. Bu da, östrojenik aktivitenin biyolojik bir deney ile tayin edilmesinin sadece kimyasalların konsantrasyonlarının ölçümünden daha uygun bir yöntem olduğunu göstermektedir. 17β-Estradiol (E2) kimyasalı için, herhangi bir etkinin görülmediği konsantrasyonun 1 µg/kg vücut ağırlığı/gün olduğu düşünüldüğünde (Tyl ve diğ., 2008), projede ölçülen östrojenik aktivite geniş bir aralıkta (<2,71-118±14 ng/L E2 eşdeğeri) olsa ve literatürde atıksu için elde edilmiş

değerleri de içerse (32 ng/L E2 eşdeğeri, Krein ve diğ., 2012), mevcut durumda, içme suyunun östrojenik etkileri açısından ciddi bir risk taşımadığı söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Ahel, M., Giger, W., Koch, M.** (1994). Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-1. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Research*, 28, 1131-1142.
- Amiridou, D. ve Dimitra Voutsas, D.** (2011). Alkylphenols and phthalates in bottled waters. *Journal of Hazardous Materials*, 185, 281–286.
- Snyder, S.A., Vanderford, B.J., Drewes, J., Dickenson, E., Snyder, E.M., Bruce, G.M., Pleus, R.C.** (2008). *State of knowledge of endocrine disruptors and pharmaceuticals in drinking water*. Awwa Research Foundation (AwwaRF), Denver, ABD..
- Bach, C., Dauchy, X., Chagnon, M.C., Etienne, S.** (2012). Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed. *Water Research*, 46, 571-583.
- Bang, D.Y., Kyung, M., Kim, M.J., Jung, B.Y., Cho, M.C., Choi, S.M., Kim, Y.W., Lim, S.K., Lim, D.S., Won, A.J., Kwack, S.J., Lee, Y., Kim, H.S., Lee, B.M.** (2012). Human risk assessment of endocrine-disrupting chemicals derived from plastic food containers. *Ecotoxicological Environment Safety*, 44, 56-61.
- Beck, I.C., Bruhn, R., Gandrass, J.** (2006). Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic Sea using the yeast estrogen screen. *Chemosphere*, 63, 1870-1878.
- Behr, M., Oehlmann, J., Wagner, M.** (2011). Estrogens in daily diet: In vitro analysis indicates that estrogenic activity is omnipresent in foodstuff and infant formula. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2681-2688.
- Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., Snyder, S.A.** (2009). Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water. *Environmental Science and Technology*, 43, 597-603.
- Biedermann-Brem, S., Grob, K.** (2009). Release of bisphenol A from polycarbonate baby bottles: water hardness as the most relevant factor. *European Food Research and Technology*, 228(5), 679-684.
- Bistan, M., Podgorelec, M., Logar, R.M., Tisler, T.** (2012). Yeast estrogen screen assay as a tool for detecting estrogenic activity in water bodies. *Food Technology and Biotechnology*, 50, 427-433.
- Caliman, F.A. ve Gavrilescu, M.** (2009). Pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting agents in the environment–A review. *Clean*, 37, 277-303.
- Cao, G., Lu, J. ve Wang, G.** (2012). Photolysis kinetics and influencing factors of bisphenol S in aqueous solutions. *Journal of Environmental Sciences-China*, 24(5): 846-851.

- Capriotti, A.L., Cavaliere, C., Colapicchioni, V., Piovesana, S., Samperi, R., Lagana, A.** (2013). Analytical strategies based on chromatography-mass spectrometry for the determination of estrogen-mimicking compounds in food. *Journal of Chromatography A*, 1313, 62-77.
- Carvalho, A.R.M., Cardoso, V.V., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M.J., Duarte, E.A.** (2015). Occurrence and analysis of endocrine-disrupting compounds in a water supply system. *Environmental Monitoring and Assessment*, 3, 187-139.
- Casajuana, N., Lacorte, S.** (2003). Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water. *Chromatographia*, 57:649–655.
- Chang, H.K, Choo, K.H., Lee, B., Choi, S.J.** (2009). The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, *Journal of Hazardous Materials*, 172, 1–12.
- Chang, H., Wan, Y.ve Hu, J.** (2009) Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers. *Environmental. Science Technology*, 43, 7691-7698.
- Colosi, J.C., Kney, A.D.** (2011). A yeast estrogen screen without extraction provides fast, reliable measures of estrogenic activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(10), 2261-2269.
- Conroy, O., Quanrud, D.M., Ela, W.P., Wicke, D., Lansey, K.E., Arnold, R.G.** (2005). Fate of Wastewater Effluent hER-Agonists and hER-Antagonists during Soil Aquifer Treatment. *Environmental Science & Technology*, 39(7), 2287-2293.
- Crain, D.A., Eriksen, M., Iguchi, T., Jobling, S., Laufer, H., LeBlanc, G.A., Guillette Jr., L.J.** (2007). An ecological assessment of bisphenol-A: Evidence from comparative biology. *Reproductive Toxicology*, 24, 225-239.
- Dorival-Garcia, N., A.Zafra-Gomez, A., Navalon, A., Vilchez, J.L.** (2012). Improved sample treatment for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives in sewage sludge samples by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Talanta*, 101, 1-10.
- Dupuis, A., Migeot, V., Cariot, A., Albouy-Llaty, M., Legube, B., Rabouan, S.** (2012). Quantification of bisphenol A, 353-nonylphenol and their chlorinated derivatives in drinking water treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research* 19(9), 4193-4205.
- ECHA** (2012). Member state committee, Support document for identification of 4-nonylphenol, branched and linear.
- European Commission** (2002). European Union Risk Assessment Report, 4-nonylphenol (branched) and nonylphenol.
- European Commission** (2003). European Union Risk Assessment Report, 4,4'-isopropylidenediphenol (bisphenol-A).
- EEC.** (1982). Council Directive of 18 October 1982 laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs (82/711/EEC)

- European Union, EU BPA ban.**
<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:026:0011:0014:EN:PDF>, İncelenme tarihi: 9 Temmuz 2013.
- Fan, Z., Hu, J., An, W., Yang, M.** (2013). Detection and occurrence of chlorinated byproducts of bisphenol a, nonylphenol, and estrogens in drinking water of China: Comparison to the parent compounds. *Environmental Science and Technology*, 47, 10841-10850.
- Fernandez, M.P., Noguerol, T.N., Lacorte, S., Buchanan, I. ve Piña, B.** (2009). Toxicity identification fractionation of environmental estrogens in waste water and sludge using gas and liquid chromatography coupled to mass spectrometry and recombinant yeast assay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 957–968.
- Flint S., Tricia M., Thompson S., Wallace E.** (2012). Bisphenol a exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *Journal of Environmental Management*, 104, 19-34.
- Fukazawa, H., Watanabe, M., Shiraishi, F., Shiraishi, H., Shiozawa, T., Matsushita, H., ve Terao, Y.** (2002). Formation of chlorinated derivatives of bisphenol A in waste paper recycling plants and their estrogenic activities. *J. Health Sci*, 48 (3), 242–249.
- Glausiusz, J.** (2014). The plastics puzzle. *Nature*, 508,306-308.
- Grun F., Blumberg B.** (2009). Endocrine disrupters as obesogens. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 304, 19–29.
- Guart A., Bono-Blay F., Borrell A. ve Lacorte S.** (2011). Migration of plasticizers phthalates, bisphenol A and alkylphenols from plastic containers and evaluation of risk. *Food Additives & Contaminants*, 28, 676-685.
- Guart, A., Bono-Blay, F., Borrell, A. ve Lacorte, S.** (2014). Effect of bottling and storage on the migration of plastic constituents in Spanish bottled waters. *Food Chemistry*, 156, 73-80.
- Gün, B.** (2015). Şişelenmiş içme sularında östrojenik aktivitenin araştırılması ve endokrin sistemini bozucu maddelerin varlığı ile ilişkilendirilmesi. (Yüksek Lisans Tezi) İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hayes, B.T., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A.A., Vonk, A.** (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *PNAS*, 99, 5476-5480.
- Hoekstra E.J., Simoneau C.** (2013). Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(4), 386-402.
- Huang, G.L., Hou, S.G., Wang, L., Sun, H.W.** (2007). Distribution and fate of nonylphenol in an aquatic microcosm. *Water Research*, 41, 4630-4638.
- Huang, Y.Q., Wong, C.K., Zheng, J.S., Bouwman, H., Barra, R., Wahlstrom, B., Neretin, L., Wong, M.H.** (2012). Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, 42, 91-99.
- Ike, M., Chen, M. Y., Danzl, E., Sei, K. ve Fujita, M.** (2006). Biodegradation of a variety of bisphenols under aerobic and anaerobic conditions. *Water Science and Technology*, 53(6): 153-159.

- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardalli, A., Parrella, A.,** 2006. Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. *Chemosphere*, 64, 135-143.
- Jobling S., Nolan M., Tyler C.R., Brighty G., Sumpter J.P.** (1998). Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science and Technology*, 32, 2498–2506.
- Jurado A., Vazquez-Sune E., Carrera J., Lopez de Alda M., Pujades E., Barcelo D.** (2012). Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: a review of sources, recent occurrence and fate in a European context. *Science of the Total Environment*, 440, 82-94.
- Kawamura, Y., Koyano, Y., Takeda, Y. ve Yamada, T.** (1998). Migration of bisphenol a from polycarbonate products (in Japanese). *J. Food Hyg. Soc. Jpn*, 39(3):206–212.
- Kienhuis, P. G. M. ve Geerdink, R. B.** (2000). Liquid chromatography-tandem mass spectrometric analysis of surface and waste water with atmospheric pressure chemical ionisation - II. Applications. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 19(7): 460-474.
- Kleywegt, S., Pileggi, V., Yang, P., Hao, C., Zhao, X., Rocks, C., Thach, S., Cheung, P., Whitehead, B.** (2011) Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada - and treatment efficiency. *Science of the Total Environment* 409(8), 1481-1488.
- Krein A., Paillet J.Y., Guignard C., Gutleb A.C., Hoffmann L., Meyer B., K  bler S., Berckmans P., Witters H.E.** (2012). Determination of Estrogen Activity in River Waters and Wastewater in Luxembourg by Chemical Analysis and the Yeast Estrogen Screen Assay. *Environment and Pollution*, 1(2).
- Kuruto-Niwa R., Terao Y., Nozawa R.** (2002). Identification of estrogenic activity of chlorinated bisphenol A using a GFP expression system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 12, 27-35.
- Kuruto-Niwa R., Nozawa R., Miyakoshi T., Shiozawa T., Terao Y.** (2005). Estrogenic activity of alkylphenols, bisphenol S, and their chlorinated derivatives using a GFP expression system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(1), 121-130.
- Lang I.A., Galloway T.S., Scarlett A., Henley W.E., Depledge M., Wallace R.B., Melzer D.** (2008). Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 300, 1303–1310.
- Langford K.H., Scrimshaw M.D., Birkett J.W., Lester J.N.** (2005). Degradation of nonylphenolic surfactants in activated sludge batch tests. *Water Research*, 39, 870-876.

- Li X., Ying G.G., Su H.C., Yang X.B., Wang L.** (2010). Simultaneous determination and assessment of 4- nonylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles. *Environment International*, 36(6), 557-562.
- Liao, C. ve Kannan, K.** (2012). Determination of free and conjugated forms of bisphenol A in human urine and serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Environ Sci Technol.*, 46(9): 5003-5009.
- Liao, C. ve Kannan, K.** (2014). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 31(2): 319-329.
- Liao, C., Liu, F., Guo, Y., Moon, H.-B., Nakata, H., Wu, Q. ve Kannan, K.** (2012a). Occurrence of Eight Bisphenol Analogues in Indoor Dust from the United States and Several Asian Countries: Implications for Human Exposure. *Environmental Science & Technology*, 46(16): 9138-9145.
- Liao, C., Liu, F., Moon, H.-B., Yamashita, N., Yun, S. ve Kannan, K.** (2012b). Bisphenol Analogues in Sediments from Industrialized Areas in the United States, Japan, and Korea: Spatial and Temporal Distributions. *Environmental Science & Technology*, 46(21): 11558-11565.
- Liu Y** (2005). Bisphenol S. *Fine and Specialty Chemicals* 13(14): 13–14.
- Loos L., Wollgast J., Huber T., Hanke G.** (2007). Polar herbicides, pharmaceutical products, perfluorooctanesulfonate (PFOS), perfluorooctanoate (PFOA), and nonylphenol and its carboxylates and ethoxylates in surface and tap waters around Lake Maggiore in Northern Italy. *Anal. Bioanal. Chem.*, 387:1469–1478
- Loyo-Rosales, J.E., Rice, C.P., Torrents, A.** (2007) Octyl and nonylphenol ethoxylates and carboxylates in wastewater and sediments by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Chemosphere* 68(11), 2118-2127.
- Maggioni S., Balaguer P., Chiozzotto C., Benfenati E.** (2013). Screening of endocrine-disrupting phenols, herbicides, steroid estrogens, and estrogenicity in drinking water from the waterworks of 35 Italian cities and from PET-bottled mineral water. *Environmental Science and Pollution Research International*, 20(3), 1649-1660.
- Meteoroloji, G. M.** (2014). İstanbul İçin Uzun Yıllar İçinde Gerçekleşen Ortalama Değerler (1954 - 2013).
- Mevzuat,** BPA yasağı, İncelenme tarihi Kasım 2013, <http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.16052&sourceXmlSearch=epoksi&MevzuatIliski=0>
- Mohapatra D.P., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R.Y.** (2010). Physico-chemical pre-treatment and biotransformation of wastewater and wastewater sludge--fate of bisphenol A. *Chemosphere* 78(8), 923-941.
- OEHHA, C.** (2014). Preliminary Screen for Possible Future Consideration as Potential Designated Chemicals for Biomonitoring California: Some Bisphenol A substitutes and Structurally Related Chemicals .

- 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.W., Tyler C.R. (2009). A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 364, 2047-2062.
- Ölmez Hancı, T., Dursun, D., Aydın, E., Arslan Alaton, İ., Girit, B., Mita, L., Diano, N., Mita, D.G. ve Guida, M. (2015). $S_2O_8^{2-}$ /UV-C and H_2O_2 /UV-C treatment of Bisphenol A: Assessment of toxicity, estrogenic activity, degradation products and results in real water', *Chemosphere*, 119, 115-23.
- Pang W.H., Yin D.Q. (2013). The distributions, removals and estrogenic effects of selected endocrine disrupting chemicals in two drinking water factories in China. *Journal of Water and Health* 11, 41-50.
- Patisaul H.B., Jefferson W. (2010). The pros and cons of phytoestrogens. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31, 400–419.
- Petrie B., McAdam E.J., Whelan M.J., Lester J.N., Cartmell E. (2013). The determination of nonylphenol and its precursors in a trickling filter wastewater treatment process. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(10), 3243-3253.
- Petrovic, M., Diaz, A., Ventura, F., Barcelo, D. (2003) Occurrence and removal of estrogenic short-chain ethoxy nonylphenolic compounds and their halogenated derivatives during drinking water production. *Environmental Science & Technology* 37(19), 4442-4448.
- Plotan M., Frizzell C., Robinson V., Elliott C.T., Connolly L. (2013). Endocrine disruptor activity in bottled mineral and flavoured water. *Food Chemistry*, 136(3-4), 1590-1596.
- Prokop, Z., Hanková, L. ve Jeřábek, K. (2004). Bisphenol A synthesis-modelling of industrial reactor and catalyst deactivation. *Reactive and Functional Polymers*, 60, 77-83.
- Silva C.P., Otero M., Esteves V. (2012). Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review. *Environmental Pollution*, 165, 38-58.
- Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E., Lester J.N. (2008). Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment International*, 34, 1033-1049.
- Staples, C.A., Dorn, P.B., Klecka, G.M., O'Block, S.T. ve Haris, L.R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of Bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 2149–2173.
- Stasinakis, A.S., Petalas, A.V., Mamais, D., Thomaidis, N.S. (2008). Application of the OECD 301F respirometric test for the biodegradability assessment of various potential endocrine disrupting chemicals. *Bioresource Technology*, 99, 3458–3467.
- Stavarakakis C., Colin R., Hequet V., Faur C., Le Cloirec P. (2008). Analysis of endocrine disrupting compounds in wastewater and drinking water treatment plants at the nanogram per litre level. *Environ. Technol.*, 29:279–286.
- Sun Q., Deng S., Huang J., Shen G., Yu G. (2008). Contributors to estrogenic activity in wastewater from a large wastewater treatment plant in Beijing, China. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25, 20-26.

- Tang, J.Y., Aryal, R., Deletic, A., Gernjak, W., Glenn, E., McCarthy, D., Escher, B.I.** (2013) Toxicity characterization of urban stormwater with bioanalytical tools. *Water Research* 47(15), 5594-5606.
- Topuz, E., Aydin, E., Pehlivanoglu-Mantas, E.** (2012) A Practical LC-MS/MS Method for the Detection of NDMA at Nanogram per Liter Concentrations in Multiple Water Matrices. *Water Air and Soil Pollution* 223(9), 5793-5802.
- Toyo'oka, T., Oshige, Y.** (2000). Determination of alkylphenols in mineral water contained in PET bottles by liquid chromatography with coulometric detection. *Analytical Sciences* 16(10), 1071-1076.
- Tyl, R.W., Myers, C.B., Marr, M.C., Castillo, N.P., Veselica, M.M., Joiner, R.L., ve diğ.** (2008). One-generation reproductive toxicity study of dietary 17 β -estradiol (E2; CAS No. 50-28-2) in CD-1® (Swiss) mice. *Reprod Toxicol*, 25(2), 144–160.
- Vega-Morales T., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodriguez J.J.** (2010). Determination of alkylphenol polyethoxylates, bisphenol-A, 17alpha-ethynylestradiol and 17beta-estradiol and its metabolites in sewage samples by SPE and LC/MS/MS. *Journal of Hazardous materials*, 183(1-3), 701-711.
- Vega-Morales, T., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodriguez, J.J.** (2011). Determination of various estradiol mimicking-compounds in sewage sludge by the combination of microwave-assisted extraction and LC-MS/MS. *Talanta* 85(4), 1825-1834.
- Vermeirssen E.L.M., Körner O., Schönenberger R., Suter M.J.F., Burkhardt-Holm P.** (2005). Characterization of environmental estrogens in river water using a three pronged approach: Active and passive water sampling and the analysis of accumulated estrogens in the bile of caged fish. *Environmental Science & Technology*, 39, 8191-8198.
- Voutsas, D., Hartmann, P., Schaffner, C. ve Giger, W.** (2006). Benzotriazoles, alkylphenols and bisphenol A in municipal wastewaters and in the Glatt River, Switzerland. *Environmental Science and Pollution Research*, 13, 333-341.
- Wagner M., Oehlmann J.** (2009). Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles. *Environmental Science and Pollution Research*, 16, 278-286.
- Wagner M., Oehlmann J.** (2011). Endocrine disruptors in bottled mineral water: estrogenic activity in the E-Screen. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(1-2), 128-135.
- Wagner M., Schlusener M.P., Ternes T.A., Oehlmann J.** (2013). Identification of putative steroid receptor antagonists in bottled water: combining bioassays and high-resolution mass spectrometry. *PloS One* 8(8), e72472.
- Wang L., Ying, G.G., Chen F., Zhang L.J., Zhao J.L., Lai H.J., Chen Z.F., Tao R.** (2012). Monitoring of selected estrogenic compounds and estrogenic activity in surface water and sediment of the Yellow River in China using combined chemical and biological tools. *Environmental Pollution* 165, 241-249.
- Witorsch, R.J.** (2002). Endocrine disruptors: can biological effects and environmental risks be predicted? *Regulatory Toxicology and Pharemacology*, 36, 118-130.

- Wright-Walters M., Volz C., Talbott E., Davis D.** (2011). An updated weight of evidence approach to the aquatic hazard assessment of Bisphenol A and the derivation a new predicted no effect concentration (Pnec) using a non-parametric methodology. *Science of the Total Environment*, 409, 676-685.
- Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nakasugi, O.** (2001). Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere* 42(4), 415-418.
- Yang, Y., Guan, J., Yin, J., Shao, B. ve Li, H.** (2014). Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China. *Chemosphere*, 112: 481-486.
- Yu, Y., Wu, L.** (2012). Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta* 89, 258-263.
- Zhang, J., Yang, M., Zhang, Y., Chien, M.,** (2008). Biotransformation of nonylphenolethoxylates during sewage treatment under anaerobic and aerobic conditions. *Journal of Environmental Sciences*, 20, 135-141.
- Zhang H.C., Xu T., Hu X.L., Pang W.H., Yin D.Q.** (2013). The distributions, removals and estrogenic effects of selected endocrine disrupting chemicals in two drinking water factories in China. *Journal of Water and Health*, 11(1), 41-50.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R., Reitano, G., Bagnati, R., Chiabrando, C., Francesco Pomati, F., Rossetti, C. ve Calamari, D.** (2006). Pharmaceuticals in the environment in Italy: causes, occurrence, effects and control. *Environmental Science and Pollution Research*, 13, 15-21.
- Url-1** <<http://web.adu.edu.tr/user/odurdu/absudirektifi.pdf>>, alındığı tarih: 26.04.15.
- Url-2** <http://cevre.mmf.selcuk.edu.tr/docs/ck/ck_lab_1_6_tsertlik.pdf>, alındığı tarih: 28.04.15.

ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Melike Begüm TANIŞ

Doğum Tarihi ve Yeri : 21.07.1990, Üsküdar

E-posta : m.begumtanis@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü
- **Lisans** : 2013, İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü (ÇAP)
- **Lisans** : 2014, Anadolu Üniversitesi, İşletme Fakültesi, İşletme Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2015, İstanbul Teknik Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Çevre Bilimleri ve Mühendisliği Programı

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Gün., B., Taniş, M.B., Topuz, E., Aydın, E. ve Pehlivanoğlu-Mantaş, E., 2014. Determination of estrogenicity and BPA concentrations in bottled drinking water, *European Chemistry Congress, 5th EuCheMS*, August 31-September 4, 2014 Istanbul, Turkey.