



Srednja šola Slovenska Bistrica

Raziskovalna naloga

ELEKTROKEMIJSKA DOLOČITEV BISFENOLA S V RAČUNIH

Raziskovalno področje: Kemija

Mentorici:

mag. Damijana Gregorič in
doc. dr. Kristina Žagar Soderžnik

Avtorici:

Lara Marzidovšek in
Katarina Šela

Delovna mentorica:

Neža Sodnik

Slovenska Bistrica 2024

ZAHVALE

Iskreno se zahvaljujema vsem, ki so tako ali drugače pomagali pri nastanku raziskovalnega dela, predvsem pa mentoricam mag. Damijani Gregorič in doc. dr. Kristini Žagar Soderžnik za spodbudo, vodenje in nasvete ter Neži Sodnik in Melaniji Hadolin za vso strokovno pomoč pri laboratorijskem delu in pisanju naloge. Zahvala gre tudi Institutu "Jožef Stefan" za zagotavljanje delovnih prostorov in pripomočkov, ki so nama omogočili izvesti eksperimentalni del, ter za vso gostoljubnost, ki sva je bili deležni. Zahvaljujema se tudi Lidiji Ličen, prof. slovenščine, za jezikovni pregled.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD	8
2 TEORETIČNI DEL	9
2.1 Bisfenoli in njihova uporaba	9
2.2 Vpliv na zdravje	9
2.3 Bisfenoli v Evropski uniji	10
2.4 Bisfenoli v termo papirju	11
2.5 Elektrokemija in ciklična voltametrij	12
2.5.1 Trielektrodni sistem	13
2.5.2 Sitotiskane elektrode	14
3 EKSPERIMENTALNI DEL	17
3.1 Seznam uporabljenih kemikalij	17
3.2 Seznam uporabljene opreme	18
3.3 Priprava standardnih raztopin	19
3.4 Ciklična voltametrij standardnih raztopin	20
3.5 Realni vzorci (računi)	20
3.5.1 Zbiranje realnih vzorcev	20
3.5.2 Ekstrakcija	21
3.5.3 Ekstrakcija z metanolom	22
3.5.4 Analiza s CV	22
3.6 Določitev BPS v termo papirju s ciklično voltametrij	23
3.6.1 Meritve	23
3.6.2 Izračuni	23
4 REZULTATI in RAZPRAVA	24
4.1 Ciklični voltamogrami standardnih raztopin BPA, BPF in BPS	24
4.2 Umeritvena premica	25
4.3 Vsebnost BPS v termo papirju	26
4.3.1 Analiza vzorcev s CV	26
4.3.2 Izračuni	28
4.4 Ocenjen dnevni vnos BPS prek ravnanja s papirjem	32
6 ZAKLJUČEK	35
7 VIRI IN LITERATURA	36

KAZALO SLIK

Slika 1: Kemijske strukture bisfenolov A, F in S	9
Slika 2: Primerjava regulatornih ukrepov BPA in BPS znotraj EU	11
Slika 3: Delež razvijalcev barve v termo papirju v obdobju od 2014 do 2019	11
Slika 4: Spreminjanje napetosti s časom med enim ciklom pri ciklični voltametriji, pri čemer so (E_0) začetna napetost, (E_{max}) maksimalna napetost in (E_{min}) minimalna napetost. Pridobljeno iz [16]. Uporabljeno z dovoljenjem.	12
Slika 5: Shema cikličnega voltamograma reverzibilnega in ireverzibilnega procesa. Pridobljeno iz [16]. Uporabljeno z dovoljenjem.	13
Slika 6: Oksidacija bisfenola S. Pridobljeno iz [2]. Uporabljeno z dovoljenjem.	13
Slika 7: Shema klasičnega trielektrodnega sistema	14
Slika 8: Sitotiskana elektroda proizvajalca Metrohm-DropSens	15
Slika 9: Različni tipi SPE; od leve proti desni delovne elektrode iz ogljika, zlatega filma, zlatih nanodelcev in platine. [21]	16
Slika 10: Standardne raztopine BPS različnih koncentracij	19
Slika 11: Nanašanje raztopin na sitotiskano elektrodo SPE-C	20
Slika 12: Priprava računov za ekstrakcijo	21
Slika 13: Shema postopka priprave realnih vzorcev	21
Slika 14: Shema instrumentov in postopka meritve	23
Slika 15: a) Vsebnost BPS pri vseh vzorcih, b) Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije RESTAVRACIJE, c) Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije TRGOVINE Z ŽIVILI in č) Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije DRUGO	31

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Mase vzorcev in faktor razredčitve	22
Preglednica 2: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltametrijo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija RESTAVRACIJE. Vzorci, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).	29
Preglednica 3: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltametrijo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija TRGOVINE Z ŽIVILI. Vzorci, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).	30
Preglednica 4: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltametrijo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija DRUGO. Vzorci, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).	30
Preglednica 5: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo RESTAVRACIJE	32
Preglednica 6: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo TRGOVINE Z ŽIVILI	33
Preglednica 7: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo OSTALO	33
Preglednica 8: Ocenjen SKUPNI dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem ...	34

POVZETEK

Namen raziskovalne naloge je bil preučiti prisotnost bisfenola S (BPS) v termo papirju, s katerim se pogosto srečujemo v trgovinah, restavracijah, drogerijah in drugih vsakdanjih okoljih. Cilj naloge je bil ugotoviti, ali je BPS prisoten v večini vzorcev, in preveriti odsotnost bisfenola A (BPA), ki je v Evropski uniji prepovedan.

Z uporabo ciklične voltametrije smo analizirali 26 vzorcev termo papirja in pripravili standardne raztopine BPS različnih koncentracij, kar je omogočilo izračun koncentracij BPS v realnih vzorcih. Med analizo smo ugotovili, da 62 % vzorcev vsebuje BPS, pri čemer so bili ti vzorci v večini pridobljeni iz restavracij in živilskih trgovin, kar kaže na veliko prisotnost te spojine v vsakdanjem življenju. V treh vzorcih smo predvidoma zaznali tudi prisotnost bisfenola F (BPF), medtem ko sedem vzorcev ni vsebovalo niti BPS niti BPF.

Ocenili smo tudi dnevni vnos BPS v telo zaradi rokovanja s termo papirjem. Ocene kažejo, da je za splošno populacijo dnevni vnos BPS ocenjen na 0,0000003 ng/dan, medtem ko je pri poklicno izpostavljenih ljudeh, kot so trgovci in gostinski delavci, vrednost večja od 0,00002 ng/dan. V EU je določen dopustni dnevni vnos (TDI – Tolerable Daily Intake) za BPA in znaša 0,2 ng/kg telesne teže/dan. Vnos BPS še ni določen. V primeru, da bi bila meja TDI postavljena enako kot pri BPA, bi poklicno izpostavljeni ljudje lahko presegli to mejo že zgolj zaradi stika s termo papirjem, pri čemer je treba upoštevati, da to ne vključuje drugih možnih virov izpostavljenosti.

Ključne besede: bisfenol S, termo papir, ciklična voltametrija, ocenjen dnevni vnos

ABSTRACT

The purpose of the present research work was to study the presence of bisphenol S (BPS) in thermal paper, which is often encountered in shops, restaurants, drugstores and other everyday environments. The aim was to determine whether BPS is present in most samples and to check the absence of bisphenol A, which is banned in the European Union.

Using cyclic voltammetry, we analysed 26 thermal paper samples and prepared BPS standard solutions of different concentrations, which enabled the calculation of BPS concentrations in real samples. During the analysis, we found that 62 % of the samples contained BPS, and these samples were mostly obtained from restaurants and grocery stores, indicating a wider presence of this compound in everyday life. The presence of bisphenol F (BPF) was observed in three samples, while seven samples did not contain either BPS or BPF.

We also estimated the daily intake of BPS in the body due to handling thermal paper. Estimates show that for the general population, the daily value of BPS is estimated to be 0,0000003 ng/day, while for occupationally exposed people such as shopkeepers and restaurant workers, the value is greater than 0.00002 ng/day. In the EU, the Tolerable Daily Intake (TDI) for BPS has not yet been determined. If the TDI limit were set the same as for BPA (0.2ng/kg body weight/day), occupationally exposed people could exceed this limit just from contact with thermal paper, bearing in mind that this does not include other possible sources of exposure.

Key words: bisphenol S, thermal paper, cyclic voltammetry, estimated daily intake

Seznam uporabljenih kratic in simbolov

BPA	bisfenol A
BPF	bisfenol F
BPS	bisfenol S
CV	ciklična voltometrija, ciklični voltamogram
EDI	ocenjen dnevni vnos (angl. <i>Estimated Daily Intake</i>)
MeOH	metanol
PBS	fosfatni pufer s soljo (angl. phosphate-buffered saline)
SPE	sitotiskana elektroda (angl. screen-printed electrode)
TDI	dopustni dnevni vnos (angl. <i>Tolerable Daily Intake</i>)

1 UVOD

Hormonski motilci so snovi, ki so telesu tuje, a lahko zaradi strukturne podobnosti z naravnimi hormoni posnemajo, krepijo ali blokirajo njihovo delovanje. Ko je njihov škodljivi vpliv dokazan, jih imenujemo hormonsko škodljive kemikalije. Mednje sodijo tudi bisfenoli, skupina organskih spojin, ki se množično uporabljajo v industriji, in to predvsem pri proizvodnji plastike in epoksi smol. Zaradi svojih lastnosti, kot so trdnost, odpornost proti udarcem in prosojnost, so bisfenoli ključni za izdelavo vsakodnevnih izdelkov, npr. plastenk, embalaže in otroških igrač. Najbolj znan med njimi je bisfenol A (BPA), ki je postal predmet številnih raziskav zaradi dokazano škodljivih vplivov na zdravje in okolje. V raziskovalni nalogi smo se osredotočili na bisfenol S (BPS), ki je pogosto uporabljen kot nadomestek, saj ga označujejo kot "varnejšo alternativo".

Raziskovalna naloga je nastala z željo raziskati prisotnost teh spojin v vsakdanjem življenju. Proučiti smo želeli, v kolikšni meri so bisfenoli, zlasti BPS, prisotni v termo papirju, s katerim se srečujemo vsakodnevno v trgovinah, restavracijah, barih, drogerijah, na bencinskih črpalkah ipd. Zanimalo nas je, ali je BPS prisoten v večini vzorcev in ali je BPA, skladno z zakonodajnimi prepovedmi v Evropski uniji, v vzorcih odsoten.

Pred začetkom raziskovanja smo pregledali teorijo raziskovalnega področja. Obdelali smo lastnosti bisfenolov, njihov vpliv na zdravje, predvsem pa smo se osredotočili na BPA in BPS, ki se pogosto uporabljata v industriji. Proučili smo prisotnost teh spojin v termo papirju in raziskali ustrezne elektrokemijske metode, kot sta ciklična voltometrija in uporaba trielektrodnega sistema ter sitotiskanih elektrod za analizo teh spojin. Teoretični del je postavil izhodišče za določitev raziskovalnih hipotez v nadaljevanju.

Postavili smo naslednji hipotezi.

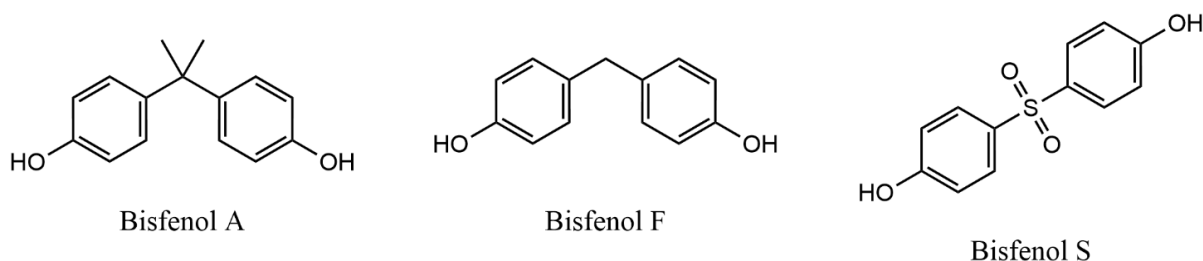
- 1. Glede na to, da se bisfenol S čedalje pogosteje uporablja pri proizvodnji termo papirja, predvidevamo, da bo bisfenol S prisoten v večini vzorcev.**
- 2. Predvidevamo, da zaradi prepovedi v EU v računih bisfenol A ne bo prisoten.**

Ko smo imeli zastavljena raziskovalna vprašanja, smo se lotili načrtovanja izvedbe eksperimentalnega dela. Pripravili smo raztopine BPS različnih koncentracij in izvedli meritve s ciklično voltometrijo, da smo izrisali umeritveno premico. Nato smo analizirali raztopine realnih vzorcev iz računov, ki smo jih pripravili z ekstrakcijo in s filtracijo, ter opravili voltometrične meritve za določitev prisotnosti BPS. Rezultati meritev, izračuni in analiza dobljenih rezultatov so prikazani v poglavju *Rezultati in razprava*.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Bisfenoli in njihova uporaba

Bisfenoli so skupina industrijsko pomembnih organskih spojin, ki jih sestavljata dve fenolni skupini, povezani z mostovno skupino, ki je najpogosteje metilenska, vendar so v njej lahko prisotni tudi heteroatomi. Med najprepoznavnejše spadajo bisfenoli A, S in F (v nadaljevanju BPA, BPS in BPF), ki so prikazani na Sliki 1. Več predstavnikov te skupine opišemo kot hormonske (endokrine) motilce, to so snovi, ki pod določenimi pogoji vplivajo na hormonski sistem tako ljudi kot tudi živali. [1], [2]



Slika 1: Kemijske strukture bisfenolov A, F in S

Bisfenoli so umetno proizvedene kemikalije, ki se najpogosteje uporabljajo pri proizvodnji polikarbonatne plastike in epoksi smol. Plastika iz teh spojin je prosojna, odporna proti udarcem, žilava in trda ter jo je mogoče oblikovati pri visokih temperaturah. Polikarbonatna plastika se uporablja za proizvodnjo običajnega potrošniškega blaga, kot so plastična posoda za večkratno uporabo, platenke za pijačo, športna oprema, CD-ji in DVD-ji ter avtomobilski deli. [3], [4]

Epoksi smole se uporabljajo za premaze notranjih površin vodovodnih cevi, pločevink, kovinskih pokrovov steklenic in raznih kozarcev za hrano in pijačo, da se jim podaljša rok uporabnosti in prepreči kovinski okus. Uporabljajo se tudi za talne obloge, premaze za karoserije avtomobilov in lepila. Prav tako se bisfenoli uporabljajo pri izdelavi zobnih tesnilnih materialov. [3]

Bisfenoli so ne nazadnje uporabljeni tudi kot organska kislina v termo papirju, na katerega se tiskajo računi, nalepke, deklaracije, potrdila na bankomatih, letalske karte in parkirni listki. V takšni obliki so lahko še posebej težavni, saj kot monomeri še lažje prehajajo v hrano, naše telo in okolje. Ko smo v stiku z njimi, se absorbirajo v telo preko kože. Zaradi vse večje uporabe plastike so zemlja, voda in zrak postali viri bisfenolov, posledično je onesnažena tudi hrana, ki pri ljudeh predstavlja glavni vir izpostavljenosti. [3]

2.2 Vpliv na zdravje

BPA je v Evropski uniji uvrščen med snovi, ki so strupene za reprodukcijo, in med motilce endokrinega sistema, kar pomeni, da lahko negativno vpliva na plodnost ali razvoj nerojenega otroka in moti delovanje hormonov v telesu. [5] Povedano natančneje, moti delovanje različnih bioloških receptorjev (beljakovin, ki se aktivirajo ob interakciji s hormoni), saj se nanje veže. Ker so to estrogenski in androgenski receptorji ter receptorji ščitničnih hormonov, BPA negativno vpliva na reproduktivni in živčni sistem, metabolične in imunske procese v telesu,

poškoduje lahko DNA in vodi do mutacij na kromosomih. Povečuje tudi možnost za razvoj tumorja in negativno vpliva na nekatere kronične bolezni, vključno s sladkorno boleznijo tipa 1 in 2, kroničnimi ledvičnimi obolenji, z astmo, različnimi krvožilnimi boleznimi, s prekomerno telesno težo, kostnim metabolizmom in z drugimi. Povzroča tudi preobčutljivost kože. [6], [7]

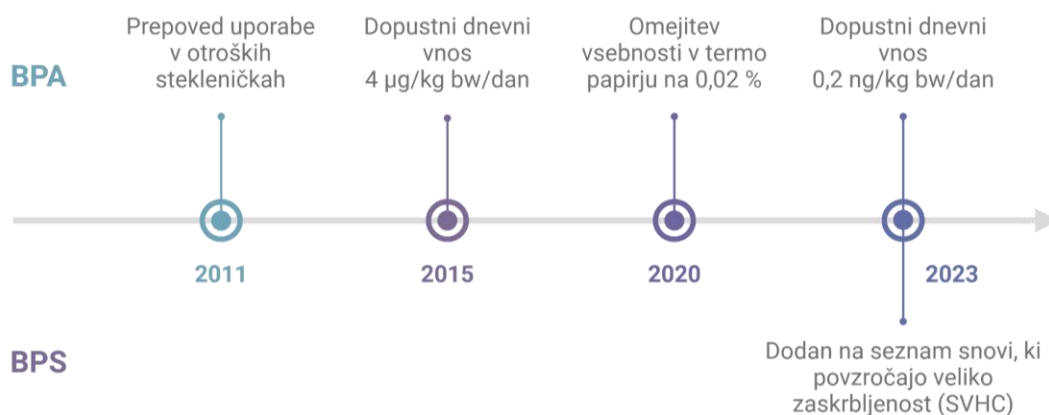
BPS je najbolj raziskan med analogi bisfenola in je najpogostejši nadomestek za BPA, vendar to še ne pomeni, da je brez negativnih učinkov na zdravje. Študije na živalih so pokazale, da lahko BPS ovira okrevanje po srčnem infarktu, povzroča srčne aritmije in srčne razvojne deformacije. Vpliva tudi na širok spekter nevroloških funkcij; izpostavljenost BPS med nosečnostjo lahko moti ravni ščitničnih hormonov. Le-ti so ključni za nevrološki razvoj ploda, kar je potencialno lahko vzrok za nevrovedenjske težave. Več študij je odkrilo tudi mogočo povezavo med izpostavljenostjo bisfenolom in prekomerno telesno težo – domneva se, da pripomorejo h kopičenju maščobe v maščobnih celicah. [6], [8]

Raven BPS v človeškem telesu je mogoče izmeriti v urinu. V eni od študij na otrocih so ugotovili pomembno povezavo med ravnmi BPS v urinu in povečano inzulinsko rezistenco, nenormalnim delovanjem ledvic ter nenormalnim delovanjem ožilja. Tako kot BPA lahko tudi BPS prehaja preko matere v plod. V raziskavi na nosečnicah so BPA zaznali v placentah vseh nosečnic, BPS pa pri 93 %. [6]

2.3 Bisfenoli v Evropski uniji

Najpogosteje uporabljen bisfenol, ki se proizvaja v velikih količinah, je BPA. Čeprav je uporaba drugih bisfenolov, kot sta BPS in BPF, manjša v primerjavi z BPA, se njihova proizvodnja nenehno povečuje, saj se uporabljajo kot nadomestki za BPA, katerega uporaba je na določenih področjih omejena. Ker je BPA potrjen motilec endokrinega sistema in poleg tega dokazano poveča nevarnost bolezni, ga industrija nadomešča z alternativami, ki pa niso ustrezno regulirane glede varnosti. Primanjkuje toksikoloških raziskav, ki bi dokazale, da so ostali bisfenoli varnejši od bisfenola A. [3], [9]

V Evropski uniji je BPA razvrščen med snovi s strupenimi učinki, zato je EU sprejela ukrepe za zmanjšanje izpostavljenosti državljanov. Zaradi teh omejitev in prepovedi so ga v različnih izdelkih zamenjali drugi bisfenoli, predvsem BPS, katerega uporaba še ni regulirana (Slika 2). Izdelki, v katerih se namesto BPA nahaja BPS, se pogosto oglašujejo in prodajajo pod oznako »BPA-free« kot varnejša alternativa, kar je zavajajoče, saj so škodljivi učinki BPA in BPS zelo podobni. [3], [10]

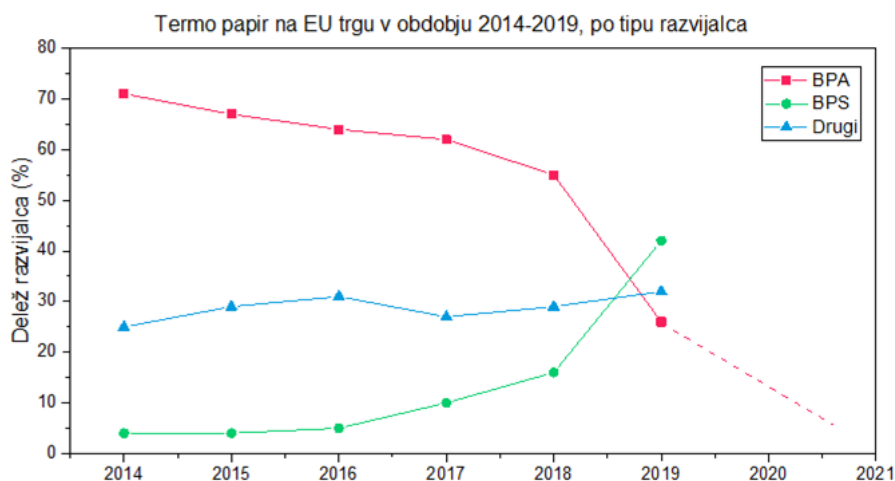


Slika 2: Primerjava regulatornih ukrepov BPA in BPS znotraj EU

Poleg tega je EU določila mejno vrednost BPA (0,5 mg/kg), ki jo lahko vsebujejo igrače za otroke do tretjega leta starosti in jih otroci dajejo v usta. BPA je v stekleničkah za hranjenje dojenčkov od leta 2011 celo povsem prepovedan. Podobno velja tudi za BPA v materialih, ki prihajajo v stik s hrano. [3], [11]

2.4 Bisfenoli v termo papirju

Računi, s katerimi se srečujemo vsakodnevno, so v večini narejeni iz termo papirja, ki je prevlečen s plastmi kemikalij. Med te kemikalije spadata tako BPA kot tudi BPS (v EU le BPS, saj je BPA prepovedan). Bisfenola sta razvijalca, ki pomagata pri procesu toplotno aktiviranega tiskanja. Termo papir deluje tako, da laser v blagajni papir pogreje, razvijalec barve (bisfenol) pa reagira z barvilom, zato se ta obarva. BPS je postal glavni razvijalec na trgu EU že pred januarjem 2020, ko je v veljavo stopila prepoved uporabe BPA v termo papirju (Slika 3). [12], [13]



Slika 3: Delež razvijalcev barve v termo papirju v obdobju od 2014 do 2019

Ko se dotaknemo termo papirja (denimo blagajniškega računa), na kožo prenesemo del spojin, s katerimi je ta premazan. Do stika lahko pride tudi z vdihavanjem onesnaženega zraka in prašnih delcev. Še posebej so seveda ranljive skupine, ki poklicno rokujejo s termo papirjem, npr. prodajalci na blagajnah, farmacevti v lekarnah ipd. Raziskave Evropske agencije za varnost hrane (EFSA) so leta 2015 pokazale, da je termo papir najpomembnejši vir izpostavljenosti BPA pri osebah, starejših od treh let, in to takoj za izpostavljenostjo prek hrane. Študije so pokazale, da lahko posamezni termo računi vsebujejo BPA, ki je od 250- do 1000-krat večji od količine v pločevinki hrane. [12], [13]

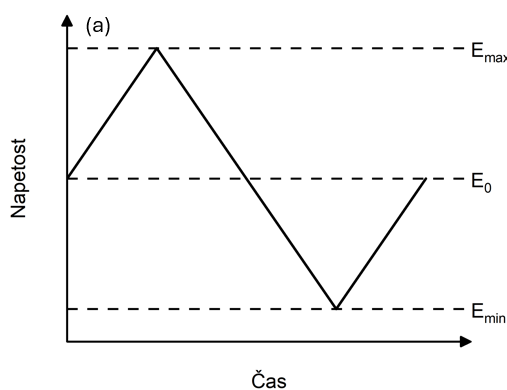
2.5 Elektrokemija in ciklična voltometrija

Za analizo oziroma določitev bisfenolov se med drugim uporabljajo različne elektrokemijske tehnike. Ena izmed njih je ciklična voltometrija.

Elektrokemija je znanstvena disciplina, ki raziskuje povezavo med kemijskimi reakcijami in električno energijo. Osredotoča se na procese, pri katerih pride do prenosa elektronov med snovmi, kar povzroča različne pojave in uporabne vrednosti. Osnova elektrokemije so redoks reakcije, katerih ime izhaja iz kombinacije besed "redukcija" in "oksidacija". Te reakcije vključujejo izmenjavo elektronov med snovmi, pri čemer ena snov sprejema elektrone (kar imenujemo redukcija), medtem ko jih druga snov oddaja (kar imenujemo oksidacija). [14], [15]

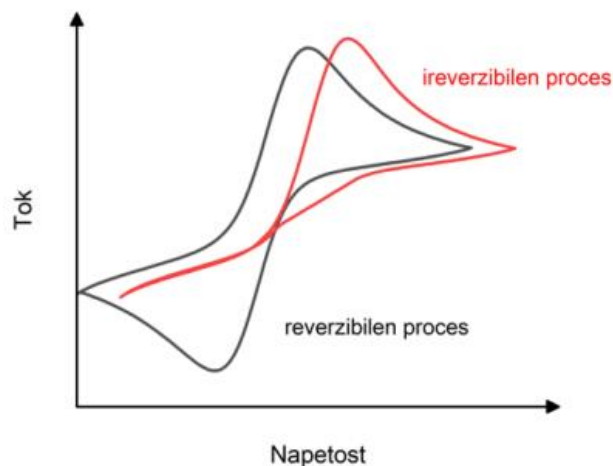
Za analizo spojin, ki so elektroaktivne, lahko uporabimo elektrokemijske tehnike. Najpogosteje uporabljena tehnika je voltometrija, pri kateri spremljamo spreminjanje električnega toka glede na spremembo električne napetosti. [15]

Ena izmed najpogosteje uporabljenih voltametričnih tehnik je ciklična voltometrija (CV). Pri ciklični voltometriji napetost spreminjamo linearno, in sicer od začetne napetosti najprej v eno stran do maksimuma (ali do minimuma, če gremo najprej v obratno smer), nato obratno do minimuma (maksimuma, če gremo v obratni smeri) in nazaj do začetne napetosti, kar je prikazano na Sliki 4. S tem ustvarimo cikel, ki ga lahko po potrebi večkrat ponovimo. [16]



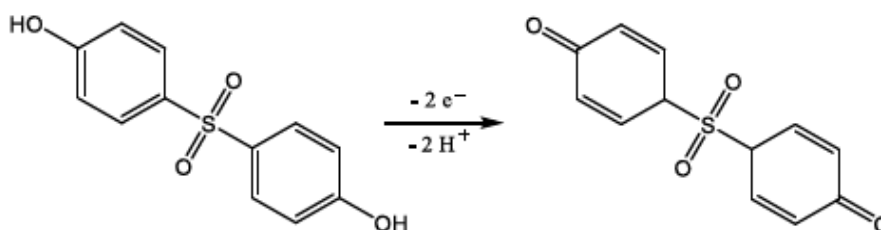
Slika 4: Spreminjanje napetosti s časom med enim ciklom pri ciklični voltometriji, pri čemer so (E_0) začetna napetost, (E_{max}) maksimalna napetost in (E_{min}) minimalna napetost. Pridobljeno iz [16]. Uporabljeno z dovoljenjem.

Elektroaktivna spojina se reducira ali oksidira pri specifični napetosti, ki je značilna za vsako spojino posebej. Ko v sistemu spreminjamo napetost, se ob prisotnosti iskane spojine na grafu (voltamogramu) pojavi vrh pri njeni značilni napetosti. V primeru, da je redoks proces reverzibilen, vidimo v obratni smeri še dodaten vrh, ki pripada obratni reakciji iskane spojine. V primeru, da je preiskovani proces ireverzibilen, na voltamogramu vidimo samo en vrh (Slika 5), kinetika izmenjave elektronov pa je počasnejša, kar povzroči spremembo oblike tokovnih vrhov. Tok maksimuma ne doseže hitro, kar vodi do bolj razširjenih vrhov. Ti vrhovi so širši in manj ostri v primerjavi z reverzibilnim sistemom, pri katerem izmenjava elektronov poteka hitro. [16]



Slika 5: Shema cikličnega voltamograma reverzibilnega in ireverzibilnega procesa. Pridobljeno iz [16]. Uporabljeno z dovoljenjem.

Kot že omenjeno, je uporaba voltametrije uporabna tudi za analizo bisfenolov, saj se lahko oksidirajo, kot je prikazano na Sliki 6. Oksidacijski proces bisfenolov je ireverzibilen, zato bomo v tem primeru opazili samo oksidacijski vrh. [2]

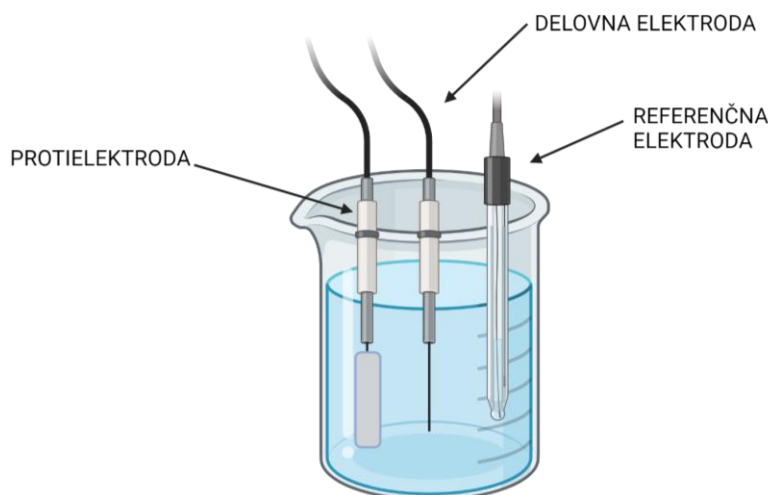


Slika 6: Oksidacija bisfenola S. Pridobljeno iz [2]. Uporabljeno z dovoljenjem.

2.5.1 Trielektrodni sistem

Pri voltametričnih meritvah se za natančno merjenje potenciala in toka uporablja trielektrodni sistem. Sestavljajo ga tri elektrode: delovna elektroda, protielektroda in referenčna elektroda. Delovna elektroda je najpomembnejša, saj na njej poteka reakcija, ki nas zanima. Na protielektrodi poteka nasprotna reakcija kot na delovni elektrodi; če torej na delovni elektrodi

poteka redukcija, poteka na protielektrodi oksidacija in obratno. Referenčna elektroda je elektroda, ki ima stalno napetost, neodvisno od sestave merjene raztopine, in služi kot referenca, proti kateri se meri napetost sistema (npr. 1 V proti referenčni elektrodi Ag/AgCl) (Slika 7). [16]–[18]



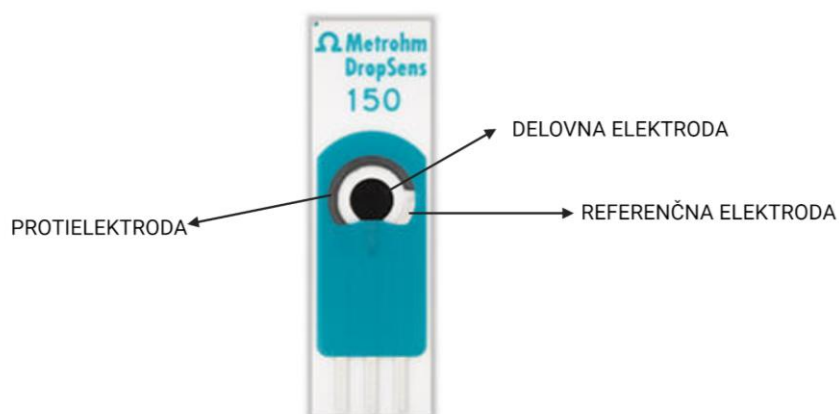
Slika 7: Shema klasičnega trielektrodnega sistema

2.5.2 Sitotiskane elektrode

Sitotiskane elektrode so miniaturni trielektrodni sistem. Na plastični, keramični ali papirnati ploščici so natisnjene delovna elektroda, protielektroda in referenčna elektroda, ki so prek kontaktov povezane s potenciostatom, ki omogoča spreminjanje napetosti, in z računalnikom, ki izriše graf. Oglikovi materiali, zlato ali druge kovine se uporabljajo kot delovna elektroda. Referenčna elektroda je najpogosteje iz srebra, medtem ko platinasto elektrodo uporabljamo kot protielektrodo (Slika 8). Sitotiskane elektrode so zelo enostavne za uporabo; preprosto dodamo kapljico raztopine, ki mora pokriti vse tri elektrode, in začnemo z merjenjem. [17], [19]

Sitotiskane elektrode so uporabne v različnih aplikacijah, saj imajo več prednosti. To so:

- nizki stroški (proizvodnja sitotiskanih elektrod je relativno poceni, kar omogoča njihovo široko uporabo v raziskavah in industriji);
- enostavna izdelava (postopek sitotiska je preprost in omogoča hitro izdelavo elektrod v velikih količinah);
- prilagodljivost (sitotiskane elektrode se lahko prilagodijo različnim potrebam z uporabo različnih materialov in modifikacij površine);
- prenosljivost (zaradi svoje majhnosti in robustnosti so sitotiskane elektrode primerne za prenosne naprave in terenske meritve);
- visoka občutljivost (z uporabo naprednih materialov, kot so ogljikove nanocevke in grafen, se lahko občutljivost in natančnost elektrod zelo izboljšata). [2]



Slika 8: Sitotiskana elektroda proizvajalca Metrohm-DropSens

Sitotiskane elektrode so pomemben del elektrokemijskih senzorjev in se uporabljajo v različnih aplikacijah. Ker so elektrode narejene iz različnih materialov, so primerne za analizo različnih spojin. Na sestavo natisnjenih plasti lahko vplivamo z dodajanjem kovin, encimov, polimerov, kompleksantov in podobnih snovi osnovnemu materialu pred tiskanjem na nosilce. Prav tako je mogoče že proizvedene elektrode naknadno modificirati z nanosom različnih materialov na površino elektrode. Modificiramo jih lahko na več različnih načinov in z različnimi modifikatorji. [19]

Navajamo nekaj vrst oziroma tipov sitotiskanih elektrod.

- a) SPE z ogljikovimi delovnimi elektrodami (SPE-C, SPE-SWCNT in SPE-GR):
 - SPE-C (sitotiskane elektrode z ogljikovo delovno elektrodo),
 - SPE-SWCNT (sitotiskane elektrode z delovno elektrodo z enostenskimi ogljikovimi nanocevkami),
 - SPE-GR (sitotiskane elektrode z delovno elektrodo iz grafena);
- b) SPE s kovinskimi delovnimi elektrodami:
 - SPE-Au (sitotiskane elektrode z delovno elektrodo iz zlata),
 - SPE-Pt (sitotiskane elektrode z delovno elektrodo iz platine),
 - SPE-Ag (sitotiskane elektrode z delovno elektrodo iz srebra).

Obstajajo tudi SPE-elektrode s prevlekami iz drugih materialov, npr. prevleke iz bakra, bizmuta, antimona, niklja, kroma, molibdena, svinca, jekla, ogljikovega jekla in diamanta. [19], [20]











Nekaj vrst SPE je prikazanih na Sliki 9.





Slika 9: Različni tipi SPE; od leve proti desni delovne elektrode iz ogljika, zlatega filma, zlatih nanodelcev in platine. [21]

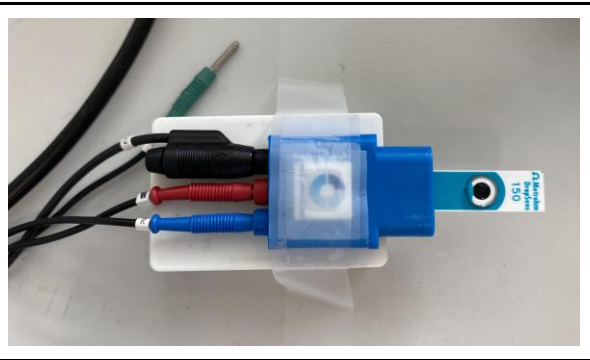

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Seznam uporabljenih kemikalij

Kemikalije	GHS-simboli
Bisfenol A: Sigma Aldrich, ZDA; čistost: 97 %	 Zdravju škodljivo (GHS08).  Jedko za kovine (GHS05).  Nevarno za zdravje (GHS07).  Okolju nevarno (GHS09).
Bisfenol F: Sigma Aldrich, ZDA; čistost: 98 %	 Nevarno za zdravje (GHS07).
Bisfenol S: Sigma Aldrich, ZDA; čistost: 98 %	 Rakotvorno, strupeno za razmnoževanje, mutageno za zarodne celice (GHS08).
Metanol: Carlo Erba, Nemčija; čistost: 99,9 %	 Vnetljiva tekočina (GHS02).  Akutna strupenost; oralno, dermalno, pri vdihavanju (GHS06).  Preobčutljivost dihal (GHS08).
PBS (tablete): Sigma Aldrich, ZDA; pH: 7,2–7,6	 Dražljivo za oči.

3.2 Seznam uporabljene opreme

Oprema	Fotografije aparatov
Ultrazvočna kopel (Sonis 4, Iskra)	 A photograph of an ultrasonic bath. The device has a stainless steel tank with a lid. The control panel is green and black, featuring a digital display showing '0.000' and several knobs and buttons. A label on the front reads 'POTRDILO' and 'Iskra pio 4'. The bath is placed on a light-colored surface.
Potenciostata PalmSens4 in program PSTrace 5.9 (PalmSens)	 A photograph of the PalmSens4 Electrochemical Interface. The device is a rectangular box with a blue and black front panel. It features a digital display showing 'PalmSens4 v17' and '0.000'. There is a power button on the left side. The text 'Electrochemical Interface' is visible at the bottom of the display area.
Rotavapor (R-100, Büchi)	 A photograph of a Rotavapor R-100 rotary evaporator. The setup includes a glass flask mounted on a rotating motor, connected to a condenser and a collection flask. The device is white and has a digital display showing '955'. It is placed on a laboratory bench.

<p>Sitotiskane elektrode DRP-150 s 4 mm ogljikovo delovno elektrodo, platinasto protielektrodo in srebrno referenčno elektrodo (DropSens)</p>	 A photograph of a DropSens DRP-150 electrode assembly. It consists of a blue plastic housing with three electrodes: a carbon working electrode, a platinum counter electrode, and a silver reference electrode. The assembly is connected to black, red, and blue cables.
<p>Filter z brizgo</p>	 A photograph showing a laboratory setup for filtering. A syringe is placed inside a clear plastic filter holder, which is positioned over a glass vial. Other vials and a plastic bag are visible in the background.

3.3 Priprava standardnih raztopin

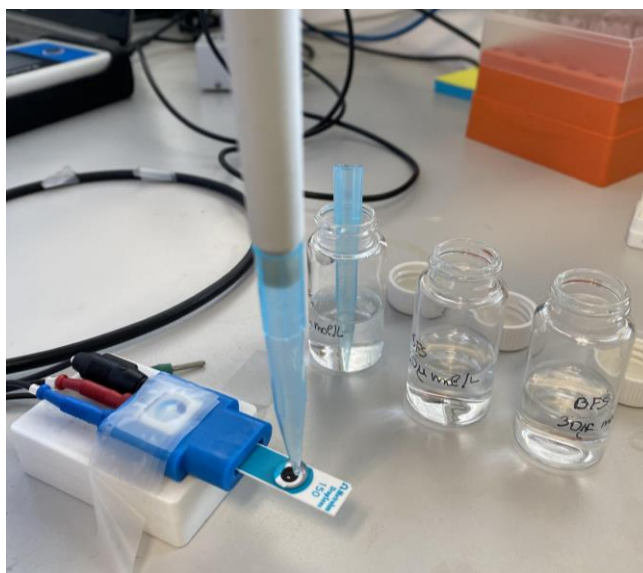
Fosfatni pufer s soljo (v nadaljevanju PBS) s pH 7,4 je bil pripravljen z raztapljanjem ene tablete PBS v 200 mL MQ vode. Koncentracija tako pripravljene pufera je bila 10 mmol/L. Z raztapljanjem trdnih standardov v 10 mM PBS so bile pripravljene standardne raztopine BPS s koncentracijo 1 mM ter BPA in BPF s koncentracijo 100 μ M. Raztopine so bile shranjene v bučkah in vialah pri sobni temperaturi. Nadaljnje raztopine BPS so bile pripravljene z dodatnim redčenjem osnovne raztopine s pufrom. Za umeritveno premico so bile pripravljene raztopine BPS s koncentracijami 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M in 75 μ M, ki so prikazane na Sliki 10.



Slika 10: Standardne raztopine BPS različnih koncentracij

3.4 Ciklična voltometrija standardnih raztopin

Za izris umeritvene premice je sledilo snemanje cikličnih voltamogramov sedmih različno koncentriranih standardnih raztopin BPS. Uporabljena je bila sitotiskana elektroda SPE-C z ogljikovo delovno elektrodo, s platinasto protielektrodo in srebrno referenčno elektrodo. Parametri ciklične voltometrije so bili naslednji: napetost od 0 do 1,1 V proti Ag, hitrost preleta 50 mV/s in potencialni korak 10 mV. Volumen nanesene kapljice vzorca na elektrodo s pipeto je bil 150 μ L; nanos vzorca na elektrodo je prikazan na Sliki 11. Meritev je potekala po naslednjem postopku ... Najprej so bili posneti štirje cikli slepe raztopine (samo PBS brez BPS). Sledilo je snemanje enega cikla v raztopini BPS. Med posameznimi meritvami je bila elektroda dobro sprana z MQ vodo in stabilizirana s tremi cikli v PBS pufuru. Ta postopek je bil ponovljen za vsako koncentracijo vsaj dvakrat.



Slika 11: Nanašanje raztopin na sitotiskano elektrodo SPE-C

Po izrisu voltamogramov so bile odštete bazne linije (odziv slepe raztopine). Da smo dobili podatek o višini vrhov, smo s pomočjo računalniškega programa Excel grafu vzorca odšteli vrednosti slepe raztopine. Temu je sledil izris umeritvene premice (odvisnost višine vrhov od koncentracije).

Pred omenjenimi meritvami smo preverili, kakšna je razlika med cikličnimi voltamogrami BPS ter BPA in BPF. Že prej pripravljenim 100 μ M raztopinam BPA, BPF in BPS smo posneli CV v območju 0 do 1,5 V proti Ag, ostali parametri CV so bili enaki kot pri meritvah za umeritveno premico.

3.5 Realni vzorci (računi)

3.5.1 Zbiranje realnih vzorcev

Za vzorec smo izbrali termo papir, ki se uporablja za tiskanje računov, vstopnic, kart, deklaracij in parkirnih listkov. Vzorci so bili zbrani v okolici Slovenske Bistrice, Poljčan, Maribora in Moravskih Toplic. Med njimi je bilo sedem restavracij/barov (vzorci od R1 do R7), sedem

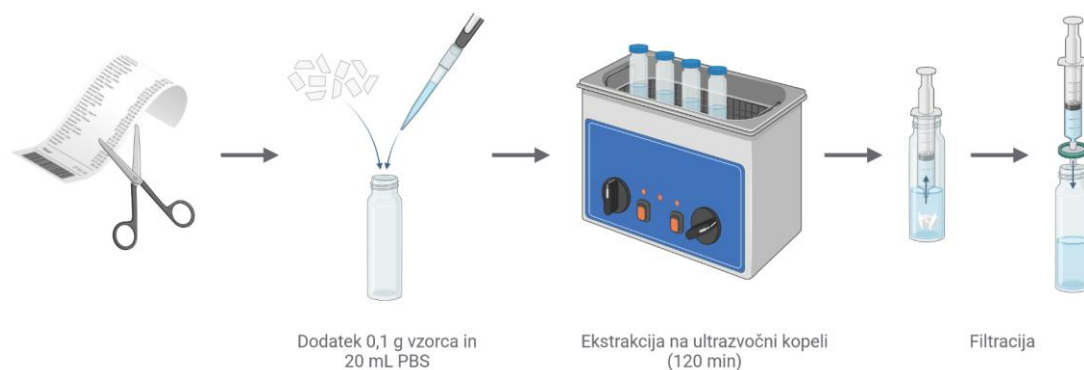
živilskih trgovin (od T1 do T7), tri karte/vstopnice/parkirni listki (od V1 do V3), dve drogeriji (od D1 in D2), tri trgovine z oblačili (od O1 do O3) in drugo: računi z bencinske črpalke, občine in term ter darilni boni (kategorija mešano: od M1 do M4). Na vsaki lokaciji sta bila zbrana vsaj dva računa, do analize v laboratoriju pa so bili posamezno shranjeni v aluminijasti foliji pri sobni temperaturi.

3.5.2 Ekstrakcija

Raçune smo pred ekstrakcijo narezali na majhne koščke (pribl. 2 mm x 2 mm), kot je prikazano na Sliki 12. Vsa oprema (škarje, steklovina) je bila pred rezanjem posameznega računa oprana z etanolom, da ni bilo zunanje kontaminacije z bisfenoli. Ko so bili računi razrezani, smo 0,1 g papirja zatehtali v 25 mL stekleno vialo. Dodali smo 20 mL pufru in za dve uri postavili na ultrazvočno kopel. Po končani ekstrakciji smo dobljene vodne raztopine prefiltrirali čez 0,22 µm najlonske filtre in jih do meritev shranili v temi na sobni temperaturi. Shema celotnega postopka priprave vzorcev je predstavljena na Sliki 13.



Slika 12: Priprava računov za ekstrakcijo



Slika 13: Shema postopka priprave realnih vzorcev

3.5.3 Ekstrakcija z metanolom

Za primerjalno analizo smo izbrali vzorec T1. 0,1 g narezanega papirja smo zatehtali v 25 mL vialo. Dodali smo 20 mL MeOH in za pol ure postavili na ultrazvočno kopel. Po končani ekstrakciji smo dobljeno raztopino prefiltrirali čez 0,22 μm najlonski filter v 25 mL bučko z okroglim dnom. Vzorec v bučki smo na rotavaporju posušili do suhega. Po končanem odparevanju topila smo v bučko dodali 20 mL pufru in jo za 15 minut postavili na ultrazvočno kopel, da se je trdna snov v bučki raztopila. Zatem smo vzorec T1 MeOH analizirali s CV po istem postopku kot vzorce, ekstrahirane s pufrom.

3.5.4 Analiza s CV

Pred kvantitativno analizo smo posneli CV za vse prefiltrirane vzorce za določitev okvirne koncentracije. Vzorce, ki so imeli višji signal kot 100 μM standardna raztopina BPS, smo redčili s pufrom, in to s faktorjem dve, štiri ali osem (Preglednica 1), da je bil signal razredčenega vzorca znotraj območja umeritvene premice.

Preglednica 1: Mase vzorcev in faktor razredčitve

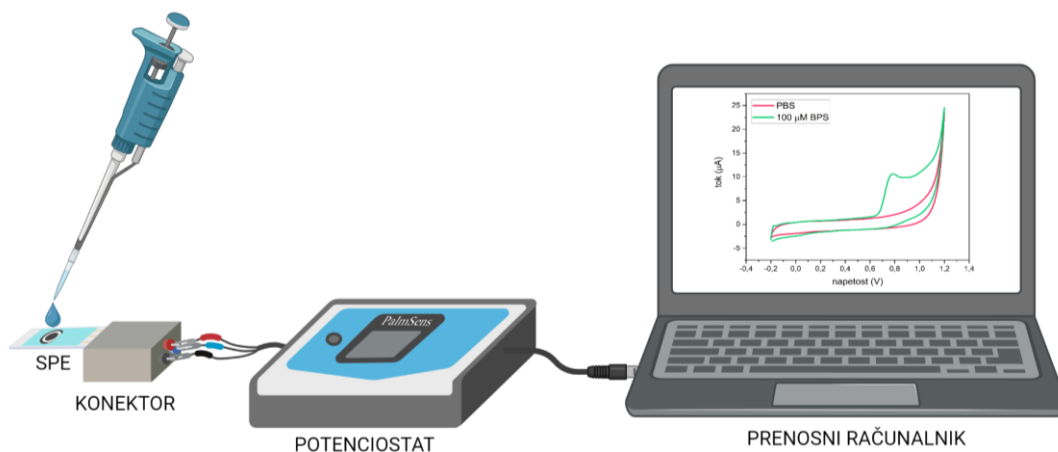
Kategorija	Vzorec	Masa vzorca (g)	Faktor redčenja f
Restavracije	R1	0,1057	4
	R2	0,1037	8
	R3	0,1003	4
	R4	0,1008	4
	R5	0,1064	4
	R6	0,1003	4
	R7	0,1054	8
Trgovine z živili	T1	0,1054	2
	T2	0,1038	1
	T3	0,1006	4
	T4	0,1039	4
	T5	0,1014	1
	T6	0,1033	4
	T7	0,1011	2
Mešani računi	M1	0,1024	4
	M2	0,1023	4
	M3	0,1023	4
	M4	0,1022	1
Oblačila	O1	0,1019	4
	O2	0,1028	4
	O3	0,1023	1
Drogerije	D1	0,1012	2
	D2	0,1022	4
Vstopnice	V1	0,1035	2
	V2	0,1002	1
	V3	0,1025	4

3.6 Določitev BPS v termo papirju s ciklično voltametrij

3.6.1 Meritve

Za določanje vsebnosti BPS v termo papirju so bile uporabljene enake SPE-C kot za umeritveno premico. Vzorec je bil nanesen v obliki kapljice z ročno pipeto. Parametri CV so bili naslednji: potencialno območje od 0 do 1,2 V glede na Ag, hitrost preleta 50 mV/s, velikost potencialnega koraka 10 mV in volumen vzorca 150 μ L. Shema poteka meritve je prikazana na Sliki 14.

Najprej so bili posneti 4 cikli v PBS z namenom stabilizacije bazne linije elektrode, nato pa en cikel v vzorcu. Tok je bil odčitán kot razlika med vrhom in bazno linijo elektrode (uporaba programa Excel). Med posameznimi meritvami je bila elektroda dobro sprana z MQ vodo in stabilizirana s 4 cikli v PBS, da se je bazna linija znižala na prvotno vrednost. Vse meritve so bile ponovljene vsaj dvakrat.



Slika 14: Shema instrumentov in postopka meritve

3.6.2 Izračuni

Koncentracija BPS v vzorcih je bila določena iz enačbe umeritvene premice. Na podlagi tega rezultata je bila izračunana vsebnost BPS v termo papirju, in sicer tako, da je bila najprej izračunana masa BPS po enačbi:

$$m(BPS) = f * c * 0,02 L * M(BPS)$$

pri čemer so f faktor redčenja (1, 2, 4 ali 8), c izmerjena koncentracija BPS v vzorcu v mol/L in M molska masa BPS, ki znaša 250,3 g/mol. Iz dobljene mase smo izračunali še masni delež BPS v vzorcu papirja po enačbi:

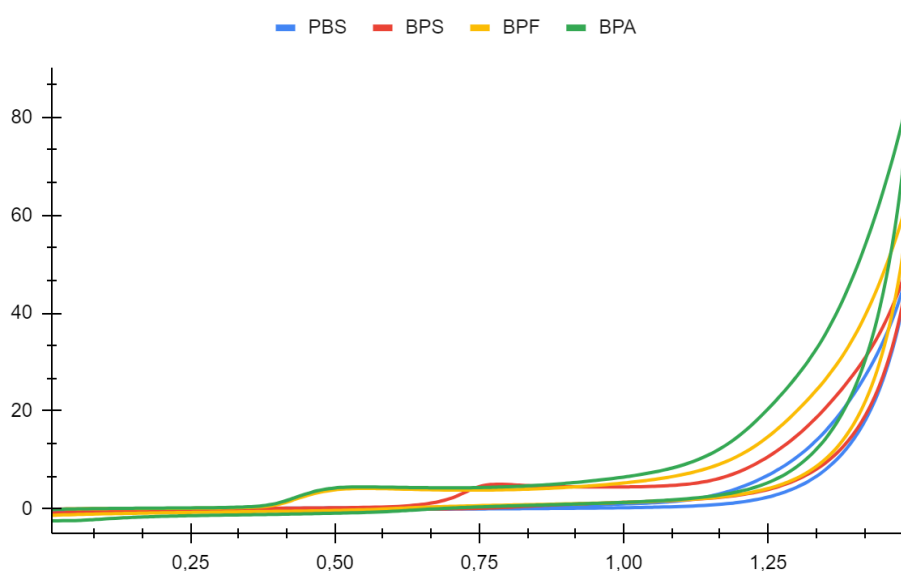
$$w(BPS) = \frac{m(BPS)}{m(vzorec)}$$

pri čemer sta $m(BPS)$ izračunana masa BPS v vzorcu in $m(vzorec)$ masa papirja, uporabljenega za ekstrakcijo.

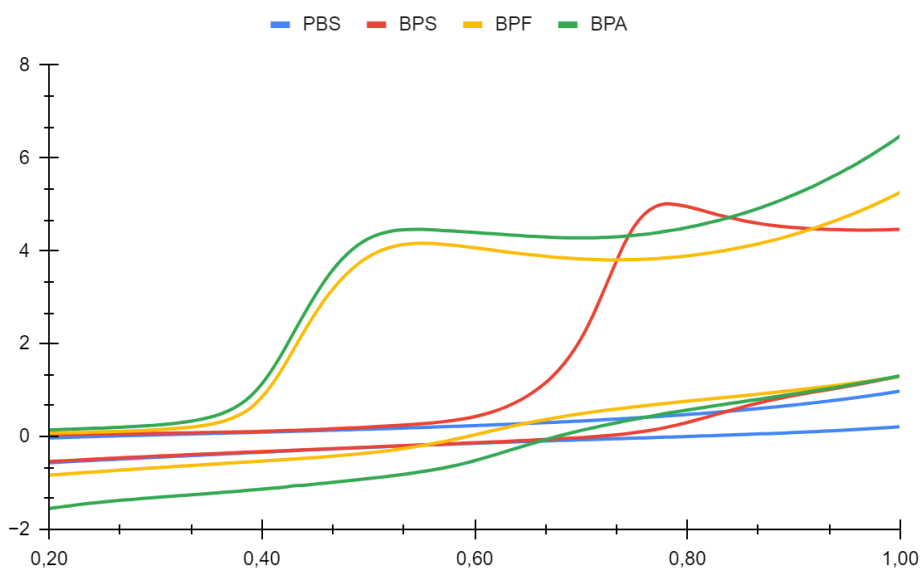
4 REZULTATI in RAZPRAVA

4.1 Ciklični voltamogrami standardnih raztopin BPA, BPF in BPS

Posneti so bili ciklični voltamogrami slepe raztopine oziroma PBS pufru in bisfenolov A, F in S s koncentracijo $100 \mu\text{M}$. Merili smo v širokem potencialnem območju od 0 do 1,5 V proti Ag, saj smo želeli ugotoviti, kje ima posamezni bisfenol vrh. Meritve so prikazane na Grafu 1, na Grafu 2 pa vidimo iste meritve približane, da lažje razločimo vrhove bisfenolov in razlike med njimi. Ugotovili smo, da imata BPF in BPA vrh pri isti karakteristični napetosti 0,5 V proti Ag, medtem ko ima BPS vrh pri napetosti 0,8 V proti Ag. To pomeni, da s CV ni mogoče ločevati med BPA in BPF, je pa mogoče ločiti med BPS in ostalima dvema.



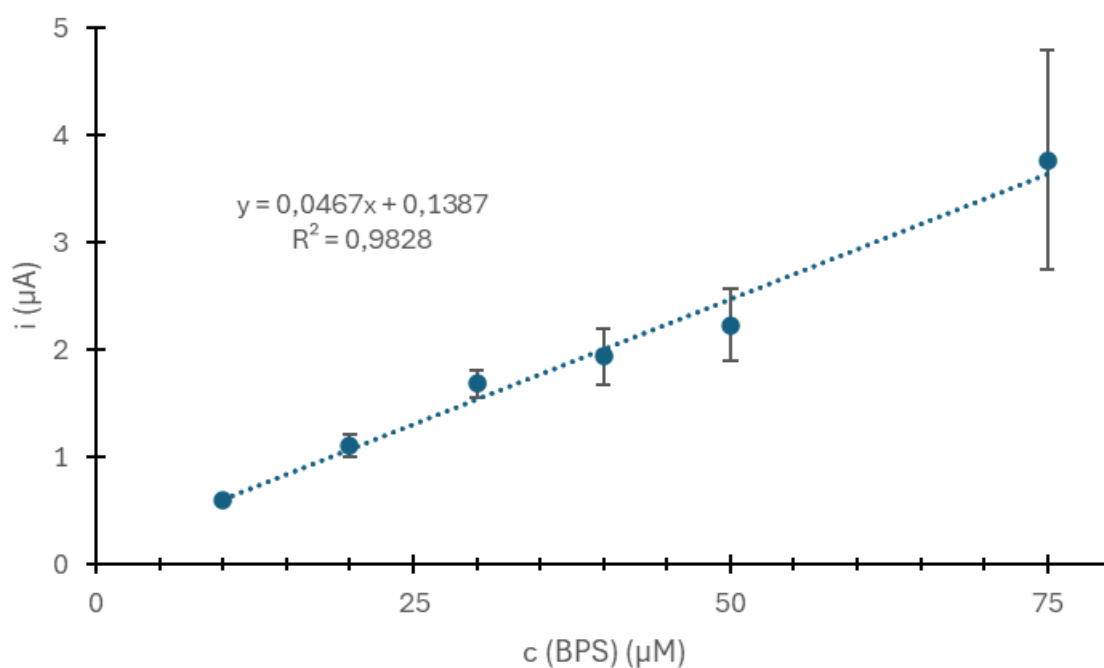
Graf 1: Ciklični voltamogram PBS in $100 \mu\text{M}$ BPA, BPF, BPS



Graf 2: Približan ciklični voltamogram PBS in $100 \mu\text{M}$ BPA, BPF, BPS

4.2 Umeritvena premica

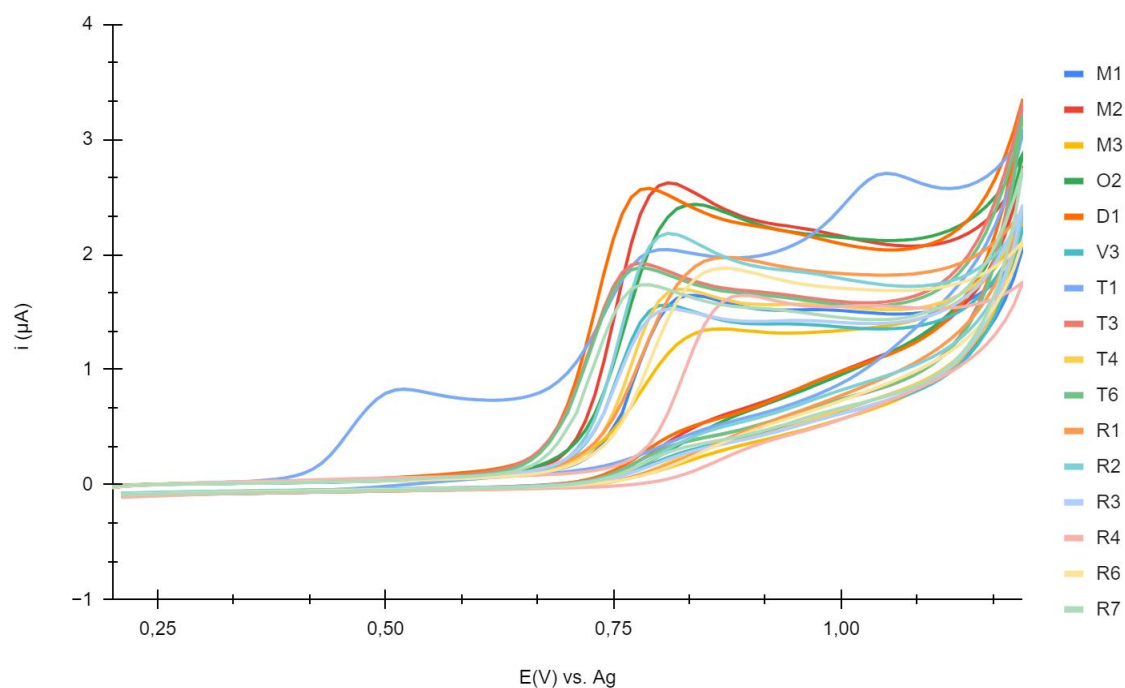
Ko smo izmerili tokovni odziv za raztopine BPS s koncentracijami 10 μM , 20 μM , 30 μM , 40 μM , 50 μM in 75 μM ter izračunali povprečje in napako, smo izrisali umeritveno premico. Z umeritveno premico smo določili območje, v katerem višina vrhov linearno narašča s koncentracijo BPS. Ker voltometrija ni absolutna tehnika, potrebujemo umeritveno premico, s pomočjo katere lahko kasneje določimo neznano koncentracijo realnih vzorcev. Umeritvena premica je prikazana na Grafu 3 in ima enačbo premice $y = 0,0467x + 0,1387$ ter $R^2 = 0,9828$, kar odraža dobro linearnost (saj $R^2 = 1$ pomeni idealno linearnost).



Graf 3: Umeritvena premica za BPS na SPE-C

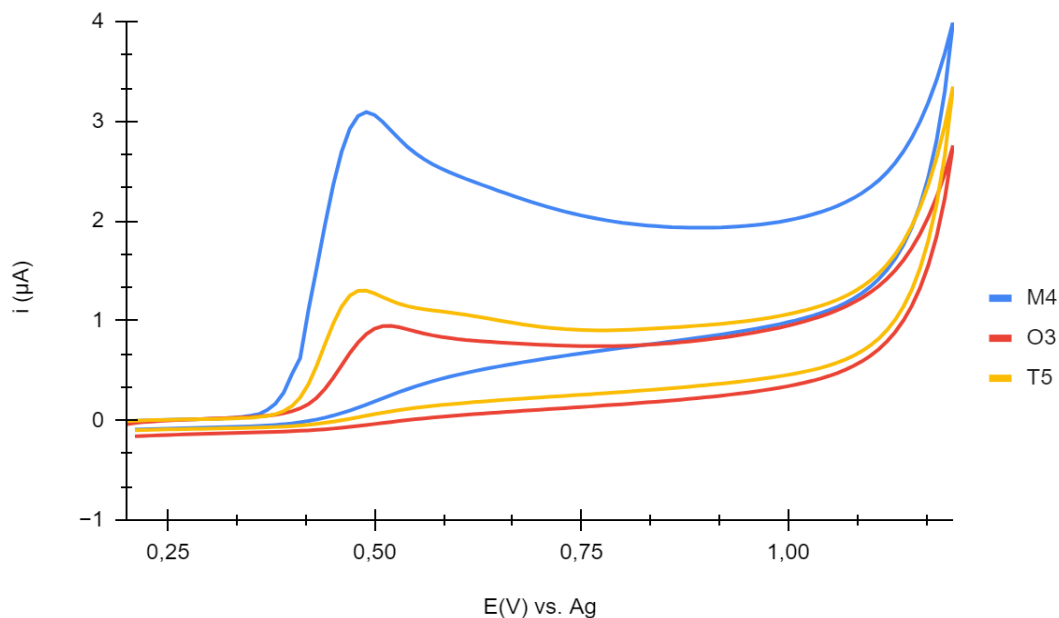
4.3 Vsebnost BPS v termo papirju

4.3.1 Analiza vzorcev s CV



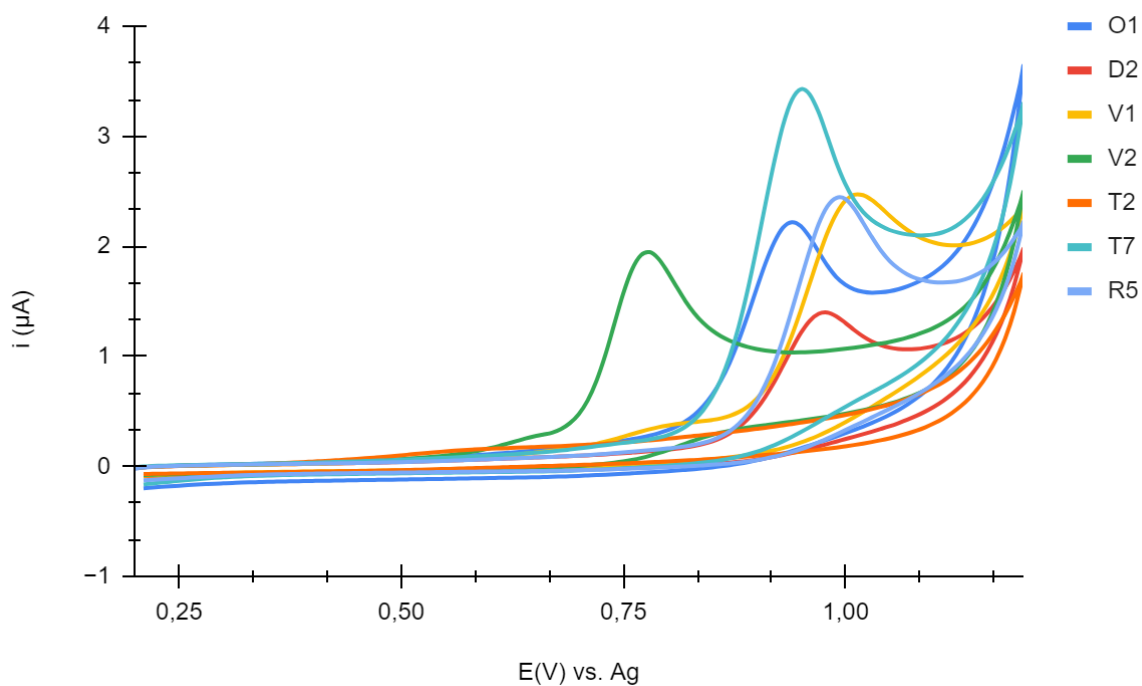
Graf 4: Vzorci, v katerih je prisoten BPS

Na Grafu 4 so prikazani ciklični voltamogrami vzorcev, v katerih je prisoten BPS. Oksidacijski vrh je opazen pri približno 0,8 V proti Ag, kar ustreza oksidacijskemu potencialu BPS, ki smo ga opazili pri meritvah standardnih raztopin. Prisotnost BPS je bila potrjena v računih šestih restavracij od sedmih (R1, R2, R3, R4, R5, R6) in v štirih živilskih trgovinah od šestih (T1, T3, T4, T6). Prav tako smo BPS zaznali v enem vzorcu vstopnic od treh (V3), v enem vzorcu iz drogerij od dveh (D1) in v enem vzorcu iz trgovin z oblačili od treh. V kategoriji mešano je bila prisotnost BPS potrjena v treh vzorcih od štirih (M1, M2, M3).



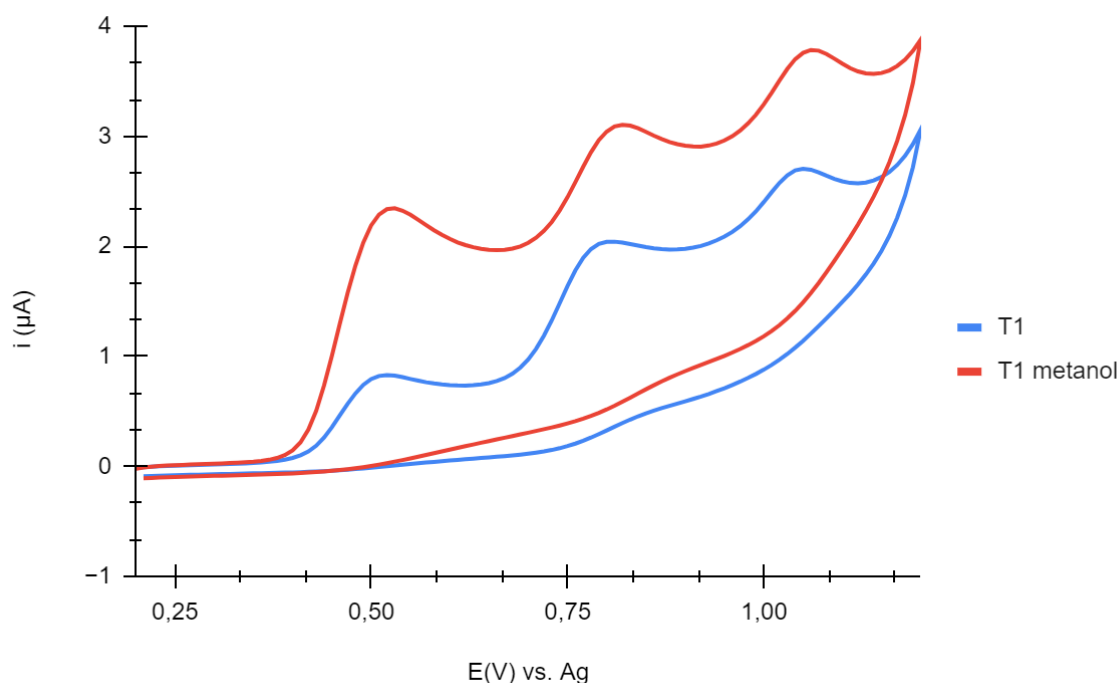
Graf 5: Vzorci, v katerih BPS ni prisoten, je pa najverjetneje prisoten BPF

Pri treh vzorcih (M4, O3, T5), ki so prikazani na Grafu 5, opazimo vrh okrog 0,5 V proti Ag, kar ustreza oksidacijskemu potencialu BPA ali BPF. Zaradi prepovedi uporabe BPA sklepamo, da je v teh vzorcih namesto BPA uporabljen BPF, vendar samo z elektrokemijskimi tehnikami tega ne moremo potrditi.



Graf 6: Vzorci, v katerih BPS in BPF nista prisotna

Poleg treh vzorcev, ki so vsebovali samo BPF, je bilo še sedem vzorcev, ki niso vsebovali niti BPS niti BPF (Graf 6). Pri šestih vzorcih od teh je viden en vrh, torej vsebujejo vsaj eno elektroaktivno snov, vendar teh snovi samo z elektrokemijskimi tehnikami ne moremo identificirati. Pri enem izmed vzorcev (T2) ni viden noben vrh, torej ne vsebuje nobene elektroaktivne snovi. En vzorec (V2) ima vrh pri približno 0,8 V proti Ag, kar bi lahko ustrezalo BPS, vendar je vrh očitno drugačne oblike, zato vseeno sklepamo, da BPS ni prisoten. Sklepamo, da so v teh vzorcih prisotni drugi, alternativni razvijalci barve, ki na evropskem trgu predstavljajo približno tretjinski delež (Slika 3, poglavje 2.4).



Graf 7: Primerjava vzorca T1, ekstrahiranega v PBS, in T1 MeOH, ekstrahiranega v metanolu

Zanimalo nas je, ali se bo vsebnost BPS v vzorcu, ki je bil ekstrahiran s pufrom, razlikovala od vsebnosti v vzorcu, ki je bil ekstrahiran z metanolom. Graf 7 prikazuje vzorec T1, ki je bil ekstrahiran v PBS, in vzorec T1 MeOH, ki je bil ekstrahiran v metanolu. Obe krivulji prikazujeta isti vzorec, vendar pri vzorcu T1 MeOH opazimo višje vrhove, kar pomeni, da se z uporabo metanola ekstrahira več. V vzorcu opazimo tri vrhove, kar pomeni, da poleg BPS vzorec vsebuje še vsaj dve elektroaktivni snovi, ki pa ju z voltometrijo ne moremo identificirati. Napetost prvega vrha (0,5 V vs. Ag) ustreza prisotnosti BPF.

4.3.2 Izračuni

Primer izračuna koncentracije vzorcev iz umeritvene premice

Iz umeritvene premice smo izračunali koncentracijo vseh vzorcev po naslednjem postopku (primer za vzorec R1):

$$c = \frac{\text{višina vrha (el. tok) po redčenju} - n}{k}$$

$$c(\text{R1, razredčeno}) = \frac{2,2412 \mu\text{A} - 0,1387 \mu\text{A}}{0,0467 \mu\text{A}/\mu\text{M}} = 45 \mu\text{M}$$

$$c(\text{R1}) = c(\text{R1, razredčeno}) * f = 45 \mu\text{M} * 4 = 180 \mu\text{M}$$

$$m(\text{BPS}) = c(\text{R1}) * 0,02 \text{ L} * M = 0,9 \text{ mg}$$

$$m(\text{BPS}) = c(\text{R1}) * 0,02 \text{ L} * 250,3 \text{ g/mol} = 0,9 \text{ mg}$$

$$\text{masni delež} = \frac{m(\text{BPS})}{m(\text{papir})} = \frac{0,9 \text{ mg}}{0,1057 \text{ g}} = 0,0085 = 0,85 \%$$

pri čemer so c izmerjena koncentracija BPS v vzorcu v mol/L, f faktor redčenja, n začetna vrednost umeritvene premice v μA , k smerni koeficient umeritvene premice v $\mu\text{A}/\mu\text{M}$, m masa v g in w masni delež BPS v vzorcu.

V nadaljevanju so prikazane tri preglednice, saj smo vzorce razdelili v tri skupine – trgovine, restavracije in ostalo, ki vsebujejo vzorce iz kategorij Mešano, Oblačila, Drogerije in Vstopnice. Preglednice prikazujejo izmerjene in izračunane podatke, potrebne za dobljeni rezultat, ki nas zanima – koncentracijo BPS v vzorcih. Vzorci, označeni z modro barvo, vsebujejo BPS; vzorci, označeni z rumeno barvo, pa verjetno vsebujejo BPF.

Preglednica 2: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltometrijo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija RESTAVRACIJE. Vzorce, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).

Vzorec	Masa vzorca (g)	Faktor redčenja	Višina vrha po redčenju (μA)	Izračunana koncentracija (μM)	Koncentracija pred redčenjem (μM)	Masni delež	Masni delež (%)
R1	0,1057	4	2,24	45	180	0,0085	0,85
R2	0,1037	8	2,18	44	350	0,0169	1,69
R3	0,1003	4	1,39	27	107	0,0053	0,53
R4	0,1008	4	1,67	33	132	0,0065	0,65
R5	0,1064	4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
R6	0,1003	8	2,01	40	160	0,0080	0,80
R7	0,1054	2	1,60	31	251	0,0119	1,19

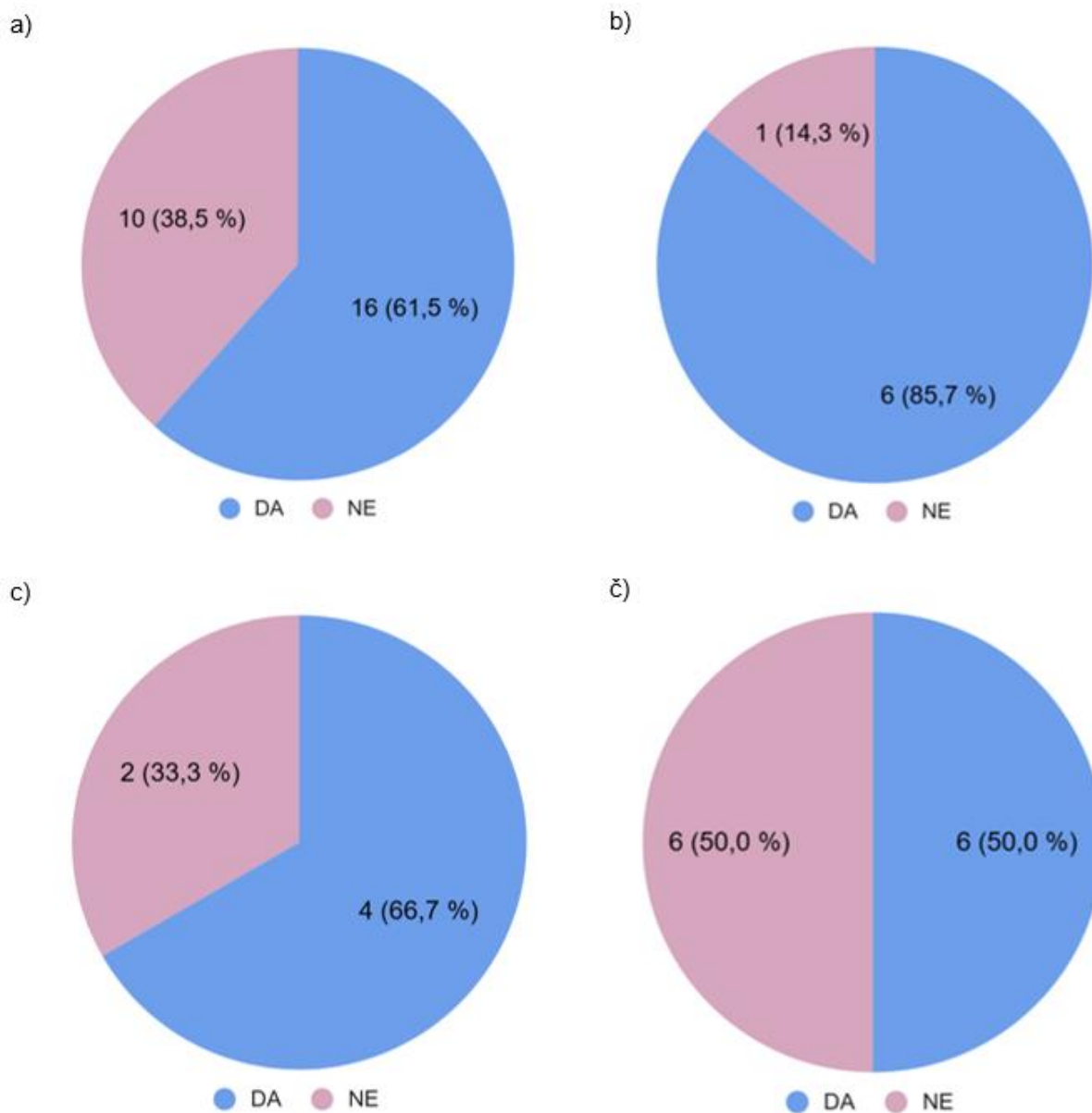
Preglednica 3: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltametrijjo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija TRGOVINE Z ŽIVILI. Vzorci, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).

Vzorec	Masa vzorca (g)	Faktor redčenja	Višina vrha po redčenju (μA)	Izračunana koncentracija (μM)	Koncentracija pred redčenjem (μM)	Masni delež	Masni delež (%)
T1	0,1054	2	1,97	39	78	0,0037	0,37
T2	0,1038	1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
T3	0,1006	4	1,83	36	145	0,0072	0,72
T4	0,1039	4	1,53	30	119	0,0057	0,57
T5	0,1014	1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
T6	0,1033	4	1,78	35	141	0,0068	0,68
T7	0,1011	2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.

Preglednica 4: Rezultati analize vzorcev s ciklično voltametrijjo – vsebnost BPS v termo papirju; kategorija DRUGO. Vzorci, v katerih BPS ni bil zaznan, so označeni z "n. d." (ni določeno).

Vzorec	Masa vzorca (g)	Faktor redčenja	Višina vrha po redčenju (μA)	Izračunana koncentracija (μM)	Koncentracija pred redčenjem (μM)	Masni delež	Masni delež (%)
M1	0,1024	4	1,65	32	129	0,0063	0,63
M2	0,1023	4	2,65	54	215	0,0105	1,05
M3	0,1023	4	1,42	27	109	0,0054	0,54
M4	0,1022	1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
O1	0,1019	4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
O2	0,1028	4	2,03	41	162	0,0079	0,79
O3	0,1023	1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
D1	0,1012	2	2,42	49	98	0,0048	0,48
D2	0,1022	4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V1	0,1035	2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V2	0,1002	1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V3	0,1025	4	n. d.	28	111	0,0054	0,54

Slika 15 prikazuje delež vzorcev termo papirja, ki vsebujejo BPS. Skupno 62 % oziroma 16 vzorcev od 26 vsebuje BPS (Slika 15a), pri čemer je največ takih vzorcev pod kategorijo *Restavracije* (85,7 %, Slika 15b). V kategoriji trgovinskih računov je 66,7 % vzorcev vsebovalo BPS (Slika 15c), medtem ko je pojavnost BPS med ostalimi vzorci 50-odstotna (Slika 15d).



Slika 15: a) Vsebnost BPS pri vseh vzorcih, **b)** Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije RESTAVRACIJE, **c)** Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije TRGOVINE Z ŽIVILI in **č)** Vsebnost BPS pri vzorcih kategorije DRUGO

Opazimo 66 pri kategoriji restavracij (R), kjer je največ vzorcev, ki vsebujejo BPS. To kaže na povečano izpostavljenost BPS v restavracijah, kjer je tveganje za izpostavljenost tem motilcem še večje, saj se v restavracijah hrana lahko hitro kontaminira s snovmi iz okolja, še posebej če računi vsebujejo BPS. Na tak način smo še bolj izpostavljeni, saj je, kot smo že omenili, glavni vir, s katerim dobimo bisfenole v telo, prav hrana.

4.4 Ocenjen dnevni vnos BPS prek ravnanja s papirjem

Analiza termo papirja nam je omogočila oceniti dnevni vnos (angl. estimated daily intake, EDI) bisfenolov, ki izhaja iz rokovanja s termo papirjem. Na vnos vplivajo različni dejavniki, kot so pogostost rokovanja s termo papirjem, stanje in staranje kože, trajanje stika ter pogostost umivanja in razkuževanja rok, zato so navedene vrednosti zgolj okvirne ocene. Kljub temu so podatki o transdermalni izpostavljenosti, čeprav zgolj okvirni, pomembna osnova za ustrezno oceno in zmanjšanje tveganja.

Dnevni vnos je bil ocenjen tako za splošno populacijo kot tudi za posameznike, ki poklicno rokujejo s termo papirjem, kot so trgovci, gostinski delavci in delavci v pakirnicah. Izračunan je bil po enačbi:

$$EDI = K * C * HF * HT * AF$$

pri čemer so k koeficient prenosa BPS s papirja na kožo (21,5224 ng/s), C koncentracija BPS v termo papirju ($\mu\text{g/g}$), HF frekvenca rokovanja (2/dan za splošno populacijo in 150/dan za poklicno izpostavljene ljudi), HT čas rokovanja (5 s za vsako rokovanje) in AF delež BPS, ki se absorbira v kožo (27 %). Ker za BPS obstaja malo podatkov o prenosu s papirja na kožo, uporabljene vrednosti temeljijo na podatkih za BPA. [2]

Preglednica 5: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo RESTAVRACIJE

Vzorec	C(BPS) [ng/g]	EDI(spl) [ng/dan]	EDI(pok) [ng/dan]	EDI(spl) [ng/dan/kg bw]	EDI(pok) [ng/dan/kg bw]
R1	8,529	0,00000050	0,00003717	0,007	0,53
R2	16,907	0,00000098	0,00007369	0,014	1,05
R3	5,345	0,00000031	0,00002330	0,004	0,33
R4	6,535	0,00000038	0,00002848	0,005	0,41
R5	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
R6	7,989	0,00000046	0,00003482	0,007	0,50
R7	11,902	0,00000069	0,00005187	0,010	0,74
Povprečje	9535	0,0000005	0,000036	0,007	0,51

Preglednica 6: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo TRGOVINE Z ŽIVILI

Vzorec	C(BPS) [ng/g]	EDI(spl) [ng/dan]	EDI(pok) [ng/dan]	EDI(spl) [ng/dan/kg bw]	EDI(pok) [ng/dan/kg bw]
T1	3,728	0,00000022	0,00001625	0,003	0,23
T2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
T3	7,213	0,00000042	0,00003144	0,006	0,45
T4	5,733	0,00000033	0,00002499	0,005	0,36
T5	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
T6	6,810	0,00000040	0,00002968	0,006	0,42
T7	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Povprečje	3,355	0,0000002	0,015	0,003	0,21

Preglednica 7: Ocenjen dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem za kategorijo OSTALO

Vzorec	C(BPS) [ng/g]	EDI(spl) [ng/dan]	EDI(pok) [ng/dan]	EDI(spl) [ng/dan/kg bw]	EDI(pok) [ng/dan/kg bw]
M1	6,313	0,00000037	0,00002751	0,005	0,39
M2	10,537	0,00000061	0,00004592	0,009	0,66
M3	5,352	0,00000031	0,00002333	0,004	0,33
M4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
O1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
O2	7,906	0,00000046	0,00003446	0,007	0,49
O3	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
D1	4,836	0,00000028	0,00002108	0,004	0,30
D2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V1	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
V3	5,402	0,00000031	0,00002354	0,004	0,34
Povprečje	3,362	0,0000002	0,000015	0,003	0,21

Preglednica 8: Ocenjen SKUPNI dnevni vnos BPS v telo zaradi stika s termo papirjem

VSI VZORCI	C(BPS) [ng/g]	EDI(spl) [ng/dan]	EDI(pok) [ng/dan]	EDI(spl) [ng/dan/kg bw]	EDI(pok) [ng/dan/kg bw]
Skupno povprečje	5,417	0,0000003	0,000022	0,004	0,31

V Preglednicah 5, 6 in 7 so podane vrednosti EDI za splošno populacijo ED (spl) (stik dvakrat na dan) in poklicno populacijo EDI (pokl) (150 stikov na dan). V Preglednici 8 so izračunana povprečja. Vrednost EDI za splošno populacijo znaša 0,0000003 ng/dan, povprečna vrednost za poklicno izpostavljene ljudi pa znaša nad 0,00002 ng/dan. To za osebo, ki tehta 70 kg, pomeni približno 0,004 ng/kg telesne teže/dan (splošna izpostavljenost) oziroma 0,31 ng/kg telesne teže/dan (poklicna izpostavljenost).

Dopustni dnevni vnos (TDI) za BPS v EU še ni določen. Glede na raziskave, ki kažejo, da ima BPS podobne učinke na zdravje kot BPA, bi bilo smiselno uvesti enake omejitve glede njegovega vnosa. Če bi bil TDI za BPS določen na enako raven kot za BPA, tj. 0,2 ng/kg telesne teže/dan, bi lahko že stik s termo papirjem presegel dovoljeno dnevno količino vnosa BPS, pri čemer je treba upoštevati, da to ne vključuje drugih možnih virov izpostavljenosti.

6 ZAKLJUČEK

V raziskovalni nalogi smo ugotavljali prisotnost bisfenolov, predvsem bisfenola S, v termo papirju, s katerim se vsakodnevno srečujemo v trgovinah, restavracijah, barih, drogerijah, na bencinskih črpalkah in drugih podobnih mestih.

Dela smo se lotili s pripravo standardnih raztopin BPS, BPA in BPF. Uporabili smo ciklično voltometrijo na sitotiskanih elektrodah SPE-C za analizo standardnih raztopin in realnih vzorcev termo papirja, ki smo jih zbrali na različnih lokacijah. Z merjenjem standardnih raztopin BPS različnih koncentracij smo narisali umeritveno premico, realne vzorce smo ekstrahirali s PBS in izmerili CV. Na koncu smo iz umeritvene premice izračunali koncentracijo.

Ugotovili smo, da 62 % vseh analiziranih vzorcev vsebuje BPS, pri čemer je bil največji delež tovrstnih vzorcev zaznan v restavracijah. V šestih vzorcih od sedmih restavracijskih in v štirih vzorcih od šestih živilskih trgovin smo potrdili prisotnost BPS. Prav tako BPS vsebujejo vzorci vstopnic, drogerij, oblačil in mešanih izdelkov. Pri treh vzorcih, v katerih BPS ni bil prisoten, smo verjetno zaznali BPF, medtem ko sedem vzorcev ni vsebovalo niti BPS niti BPF, pri čemer so nekateri vsebovali druge elektroaktivne snovi. Ekstrakcija z metanolom je pokazala višje vrhove pri ciklični voltometriji, kar nakazuje, da se z metanolom ekstrahira več elektroaktivnih snovi v primerjavi s PBS.

Ovrednotimo lahko tudi hipoteze, ki smo jih postavili pred eksperimentalnim delom. Prva hipoteza, ki pravi, da bo BPS prisoten v večini vzorcev, ker se ta čedalje pogosteje uporablja pri proizvodnji termo papirja, je potrjena, saj smo prisotnost BPS potrdili v 16 vzorcih, kar je 62 % vseh vzorcev. Druge hipoteze, ki je predvidevala, da BPA zaradi prepovedi v EU v vzorcih ne bo prisoten, ne moremo ne potrditi ne zanikati, saj smo vrh pri napetosti 0,5 V proti Ag, ki lahko pripada BPA, opazili v treh vzorcih, vendar ima pri isti napetosti vrh tudi BPF. Zaradi prepovedi uporabe BPA lahko sklepamo, da ta vrh pripada BPF in ne BPA, vendar samo z elektrokemijskimi tehnikami tega ne moremo potrditi. Če bi želeli ločiti med BPA in BPF, bi se morali poslužiti drugih analiznih tehnik, kot je kromatografija.

Med raziskovanjem so se seveda pojavili številni izzivi in ovire, kot so težave pri pridobivanju natančnih podatkov, kompleksnost eksperimentalnih postopkov in potreba po natančni analizi rezultatov. Zato smo zaradi potrebe po natančnosti nekatere vzorce merili večkrat.

Vsako raziskovalno delo je mogoče nadaljevati. Menimo, da bi bilo smiselno to raziskovalno delo nadaljevati z večjim številom vzorcev. Smiselno bi bilo tudi raziskati, kakšna je prisotnost bisfenolov v termo papirju v drugih državah.

7 VIRI IN LITERATURA

- [1] Pregled – Evropska komisija https://health.ec.europa.eu/endocrine-disruptors/overview_sl (accessed Oct 10, 2024).
- [2] N. Sodnik: Uporaba Sitotiskanih Elektrod Za Elektrokemijsko Določitev Bisfenola S v Vodnem Mediju, FKKT, Ljubljana, 2024.
- [3] NIJZ: Bisfenoli: Kaj Morate Vedeti? *Program OBZORJE 2020*.
- [4] BPA, strupena snov in hormonski motilec. | Fin4Green <https://www.fin4green.si/bpa/> (accessed Oct 10, 2024).
- [5] Substance Information – 4,4'-sulphonyldiphenol <https://echa.europa.eu/de/substance-information/-/substanceinfo/100.001.137> (accessed May 23, 2023).
- [6] N. Franko, M. Sollner Dolenc: Toksikološki Vidiki Izpostavitve Bisfenolom v Termičnem Papirju. *Farm Vestn* **2024**, 220–229.
- [7] K. Fras: Citotoksično in Genotoksično Delovanje Bisfenola A in Njegovih Analogov, Univerza v Ljubljani, Ljubljana, 2022.
- [8] Bisphenol S – Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphenol_S (accessed Oct 10, 2024).
- [9] Bisfenoli – ECHA <https://echa.europa.eu/sl/hot-topics/bisphenols> (accessed Oct 10, 2024).
- [10] Kaj zares pomeni »BPA free« na plastenkah za vodo? <https://www.spoznajprehrano.com/post/2017/06/23/kaj-zares-pomeni-bpa-free-na-plastenkah-za-vodo> (accessed Oct 10, 2024).
- [11] INTERNAL MARKET, INDUSTRY, ENTREPRENEURSHIP AND SMES – New safety requirements for toys <https://ec.europa.eu/newsroom/growth/items/47671/en> (accessed Oct 10, 2024).
- [12] BPA and BPS in thermal paper | Minnesota Pollution Control Agency <https://www.pca.state.mn.us/business-with-us/bpa-and-bps-in-thermal-paper> (accessed Oct 10, 2024).
- [13] G. Z. Miller, D. T. Pizzu, M. C. Sargent, J. Gearhart: Bisphenols and Alternative Developers in Thermal Paper Receipts from the U.S. Market Assessed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Environmental Pollution* **2023**, 335, 122232.
- [14] Elektrokemija – Wikipedija, prosta enciklopedija <https://sl.wikipedia.org/wiki/Elektrokemija> (accessed Oct 10, 2024).
- [15] Znanost o elektrokemiji: od osnov do praktične uporabe <https://www.instrukcije-blog.si/znanost-o-elektrokemiji-raziskovanje-redoks-reakcij-baterij-in-se-vec/> (accessed Oct 10, 2024).
- [16] M. Hadolin: Elektrokemijska Določitev Benzotriazola Na Sitotiskanih Elektrodah v Vodnem Mediju, FKKT, Ljubljana, 2024.
- [17] What is Electrochemical System ? The most classic knowledge of electrochemistry organized - Zensor R&D <https://www.zensorrd.com/Article09.html> (accessed Oct 10, 2024).
- [18] Reference electrode – Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Reference_electrode (accessed Oct 10, 2024).
- [19] Screen-printed electrodes - Wikipedia https://en.wikipedia.org/wiki/Screen-printed_electrodes (accessed Oct 10, 2024).
- [20] B. Petovar, M. Finšgar: SPE-ELEKTRODE V ANALITIKI. *Vakuumist* **2017**, 37, 4–7.

- [21] Electrode packs - Metrohm <https://metrohm-dropsens.com/category/electrodes/electrode-packs/> (accessed Oct 10, 2024).