

Determinação de bisfenol A em fórmulas infantis

Determination of bisphenol A in infant formulas

Marcus Vinicius Justo Bomfim*

Fábio Bazílio Silvestre

Helena Pereira da Silva Zamith

Shirley de Mello Pereira

Abrantes

RESUMO

Desreguladores endócrinos, como o bisfenol A (BFA), podem representar um sério risco toxicológico e de saúde pública, principalmente pela ação em baixas doses e, por isso, tem recebido atenção da comunidade científica e de organizações relacionadas à segurança alimentar. É utilizado principalmente na produção de um tipo de plástico denominado policarbonato (PC) e na formação de resinas epóxi. O PC está presente em produtos de uso diário recipientes e materiais de cozinha e garrafas de água. As resinas epóxi são utilizadas como revestimento interno de latas de alimentos e bebidas. Em contato com o alimento, a substância pode ser transferida a partir do material plástico. O objetivo do trabalho foi quantificar a presença de BFA em amostras de fórmula infantil em pó. As concentrações oscilaram entre 0,2 a 10,2 µg/kg da amostra. Os resultados obtidos atestam que as amostras analisadas estão abaixo do limite de migração específica (LME) para o BFA definido pela União Europeia e pelo Brasil. Contudo, não exclui a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos sobre a saúde humana em decorrência da exposição ao BFA mesmo em baixas doses. O cenário é complexo, envolve outras formas de exposição e ainda é alvo de preocupação de autoridades e entidades envolvidas com a prevenção de riscos e segurança alimentar.

PALAVRAS-CHAVE: Disruptores Endócrinos; Cromatografia Líquida de Alta Pressão; Eficiência; Fórmula Infantil; Segurança Alimentar e Nutricional

ABSTRACT

Bisphenol A (BPA) is an endocrine disruptor and may present a serious toxicological and public health risk even at low doses. This problem has received widespread attention from the scientific community and food safety organizations. BPA is mainly used in the production of polycarbonate and epoxy resins, and can be transferred from plastic materials to food. The aim of the present study was determine the amount of BPA in samples of infant formula powder. The concentrations ranged from 0.2 to 10.2 µg/kg of sample, which is below the specific migration limit of BPA established by the European Union and Brazil. However, adverse effects on human health due to exposure to BPA are still possible at low doses. The scenario is complex, involves other forms of exposure and it still raises concern of authorities and entities involved in risk prevention and food safety.

KEYWORDS: Endocrine Disrupter; High Pressure Liquid Chromatography; Infant Formula; Food and Nutrition Security

Instituto Nacional de Controle de
Qualidade em Saúde, Fundação
Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: marcusjb80@hotmail.com

Recebido: 30 ago 2014

Aprovado: 19 mai 2015



INTRODUÇÃO

A presença de determinadas substâncias químicas pode representar risco ao meio ambiente e seres humanos pela capacidade de mimetizar a ação de hormônios¹. Desreguladores endócrinos, como o bisfenol A (BFA), podem tornar-se um sério problema toxicológico e de saúde pública, principalmente pela ação em baixas doses. O BFA tem recebido atenção da comunidade científica e de organizações relacionadas à segurança alimentar também em razão de sua larga produção, aplicação industrial e possíveis fontes de exposição². O BFA é utilizado, como monômero ou aditivo, na produção de materiais como o policarbonato (PC), poliésteres, policloreto de vinila (PVC), papel térmico, resinas epóxi para revestimento de latas, tubulações, recipientes e materiais para utilização pelo setor alimentício, automotivo, construção civil, materiais médico-hospitalares, dentários^{3,4}. A exposição ao BFA pode ser dietética ou não dietética, como, por exemplo, ar ou poeira, água de consumo e de efluentes industriais, tornando-os fonte de exposição que não deve ser desconsiderada na avaliação de risco à substância³.

Apesar disso, a dieta ainda constitui a mais relevante forma de exposição. O BFA pode ser transferido do material plástico para o alimento e bebida consumidos pela população. Quando em contato com alimentos e bebidas, recipientes plásticos constituídos de PC e latas revestidas internamente com resina epóxi representam a principal fonte relacionada à exposição dietética⁵. Há registros de BFA em fórmulas infantis, leite humano, produtos enlatados como vegetais, peixe, leite e soluções provenientes de ensaio de migração com PC^{6,7,8,9,10,11}. As principais técnicas cromatográficas utilizadas foram a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a fluorescência^{11,12,13,14,15,16,17}, ao espectrômetro de massas^{18,19,20} e cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas^{21,22,23,24,25,26}.

As estimativas de níveis de exposição dietética de bebês até o segundo ano de vida ao BFA associava-os como o grupo etário mais exposto, pois, como relatado, alguns produtos destinados à esta faixa etária eram bastante suscetíveis à presença da substância⁵. Em 2011, esse fato culminou na proibição da produção e comercialização de mamadeiras fabricadas em PC pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pela União Europeia^{27,28}. Até março de 2014, a *European Food Safety Authority* (EFSA) realizou uma consulta pública para a elaboração e aprovação de documento sobre potenciais riscos aos consumidores provenientes da exposição ao BFA³. Portanto, existe uma preocupação no que diz respeito aos níveis de exposição humana ao BFA e à segurança alimentar, e há necessidade de produção de resultados confiáveis que subsidiem estimativas de exposição e a tomada de decisões por parte das agências e autoridades competentes. O objetivo do trabalho foi determinar os níveis de BFA presentes em amostras de fórmula infantil em pó.

MATERIAL E MÉTODO

Padrões e Reagentes

Bisfenol A (2,2-bis(4-hidroxifenil)propano) e trietilamina, pureza de 99%, foram fornecidos pela Sigma-Aldrich. Solução de amônia

38%, ácido acético 100%, acetato de sódio, fornecidos pela Merck. Solventes com grau para cromatografia líquida de alta eficiência como hexano e acetonitrila, da Merck; metanol, da Vetec; acetona, da Macron Chemicals e heptano, da Tedia. O derivatizante DIB-Cl (4-(4,5-difenil-imidazol-2-il)cloreto de benzoila) provenientes da Genaxxon BioSciences. Água foi deionizada pelo sistema de purificação Milli-Q (Milli Q) e filtrada em disco de extração em fase sólida Envi 18 (Supelco).

Condições cromatográficas

O equipamento consiste num cromatógrafo líquido de alta eficiência contendo uma bomba quaternária modelo L-7100 com degaseificador acoplado, um detector de fluorescência L-7485, um injetor automático L-7200 com 200 µL de *loop*, interface D-7000, forno para colunas L-7300, todos do fabricante Merck-Hitachi. A fase móvel compreendeu acetonitrila 55%/acetato de sódio 0,1M /Metanol 33% (Isocrática) permanecendo em velocidade constante de 0,4 mL/min. As amostras foram analisadas em coluna octadecil em fase reversa Lichrospher, da fabricante Merck, com 4,6 x 250 mm (5,0 µm), mantida a 35°C, sendo o analito eluído em aproximadamente 9,95 min. O tempo de corrida foi de 20 min. Foram monitorados os comprimentos de 475 e 350 nm para emissão e excitação, respectivamente.

Amostras

Trata-se de fórmulas infantis à base de leite para lactentes, comercializadas em pó e designadas legalmente como de “partida” (0 a 5 meses e 29 dias) e de “seguimento” (6 a 11 meses e de 29 dias). Foram analisadas trinta amostras de cada designação ou classificação, de cinco diferentes fabricantes, adquiridas no comércio da região metropolitana do Rio de Janeiro e Niterói. As amostras foram identificadas, catalogadas e armazenadas sob refrigeração entre 6 e 10°C, até o momento dos ensaios.

Preparo da Amostras

As amostras, mantidas sob refrigeração, foram retiradas e homogeneizadas por agitação mecânica. Três gramas de amostra passaram pela extração do analito de interesse com 15 mL dos solventes acetonitrila e n-hexano (1/1, v/v), com auxílio de ultrassom por 20 minutos. A fase inferior da mistura (com acetonitrila e o BFA) foi submetida à centrifugação, objetivando a perfeita separação das fases. As condições utilizadas foram 10.000 rpm/15°C durante 30 min. O material foi evaporado até secagem total por fluxo de gás N₂. Ao extrato seco foram acrescidos 15 mL de solvente 3:97 acetona:n-heptano e transferido para um cartucho SPE Florisil 500 mg/3cc, em vazão de 2,0 mL/min. Adiciona-se 10 mL do solvente de lavagem 5:95 acetona:n-heptano e outros 10 mL de solvente para eluição do analito, 20:80 acetona:n-heptano. Em seguida, o material foi evaporado até secagem total com fluxo de N₂ e ressuspenso em 150 µL de acetonitrila. Ao final, o extrato seco foi armazenado em refrigerador a 4°C, na ausência de luminosidade e umidade, aguardando procedimento de derivatização.



Derivatização

A reação ocorre pela adição de uma alíquota de 150 µL de solução 10 mM de DIB-Cl (1,2% TEA/acetonitrila) ao extrato seco. A solução é extremamente instável, devendo ser imediatamente utilizada. A reação foi paralisada após 20 min em temperatura ambiente pelo acréscimo de 15 µL de solução aquosa 12,5% de amônia. Após 10 minutos de repouso, adicionou-se 15 µL de solução aquosa 5,0% de ácido acético. O produto da derivatização foi filtrado através de uma seringa de vidro com capacidade de 1 mL acoplada a filtro de membrana 0,45 µm e acondicionado em frasco com capacidade de 350 µL para injeção posterior.

RESULTADOS

O método analítico desenvolvido foi considerado sensível e adequado para determinação de BFA em fórmulas infantis. A Figura apresenta os cromatogramas de uma amostra branca e de uma fortificada com BFA.

O método utilizado na determinação das concentrações de BFA presente em amostras de fórmula infantil foi validado e considerado adequado ao propósito. Conforme apresentado na Tabela, as concentrações oscilaram entre 0,2 a 10,2 µg/kg da amostra. Dessa forma, os resultados de determinações de BFA em fórmulas infantis disponibilizadas pela literatura e aquelas obtidas nesse trabalho apresentam-se abaixo do limite de migração específica (LME) definido pela União Europeia e pelo Brasil de 0,6 mg/kg^{29,30}.

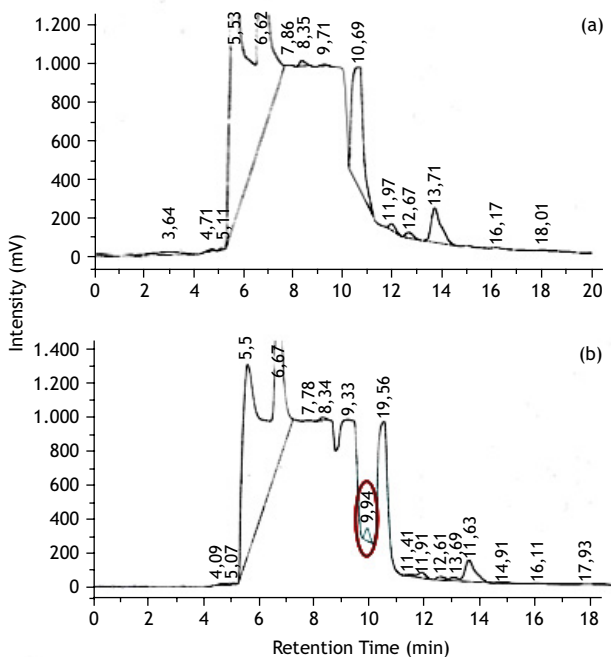


Figura. (a) Cromatograma típico da amostra branca; (b) cromatograma típico de uma amostra fortificada correspondente ao nível de 4,5 µg/kg, $t_r = 9,94$ min.

DISCUSSÃO

O BFA é inerentemente onipresente no meio ambiente. A contaminação residual por BFA ou *background* ocorre em níveis da ordem de ng/L e decorre, principalmente, de solventes, colunas de extração em fase sólida (EFS), copos, utensílios de plástico e outros reagentes e instrumentos de laboratório. Em geral, os artigos de vidro tratados termicamente (400 °C por 4 h) e os materiais lavados com solvente são utilizados como uma medida de precaução para evitar a contaminação³¹. Nesse estudo, a possibilidade de contaminação por BFA foi eliminada através da adoção de procedimentos adequadas de lavagem, como aplicação de etanol 95% e ultrassom.

Os valores encontrados mostram-se compatíveis com trabalhos disponibilizados na literatura. A concentração de BFA em amostras de frutas e vegetais variou entre 5 a 35 µg/kg^{16,25,31}; vinho, entre 0,2 e 2,1 µg/kg¹⁷; bebidas como água mineral e potável, inferior a 0,01 ng/L¹⁸; carne, entre 0,3 e 22 µg/kg¹⁹; ovos, 0,5 µg/kg²⁰; peixe, entre 0,3 a 43 µg/kg^{16,31}; leite, entre 0,4 e 10 µg/kg³². Existem

Tabela. Resultados analíticos provenientes da determinação de bisfenol A em fórmulas infantis comercializadas no Rio de Janeiro.

Fórmulas de partida	Resultados analíticos (µg/kg)	Fórmulas de seguimento	Resultados analíticos (µg/kg)
01	0,47 ± 0,08	01	0,16 ± 0,05
02	0,50 ± 0,01	02	3,53 ± 1,02
03	0,60 ± 0,07	03	9,14 ± 1,36
04	4,70 ± 0,93	04	5,03 ± 0,83
05	5,92 ± 0,83	05	4,26 ± 0,58
06	3,69 ± 0,37	06	9,64 ± 0,89
07	6,13 ± 0,59	07	6,84 ± 0,67
08	3,30 ± 0,13	08	0,21 ± 0,10
09	0,93 ± 0,27	09	8,65 ± 0,69
10	5,27 ± 0,74	10	0,58 ± 0,01
11	3,17 ± 0,30	11	1,68 ± 0,37
12	0,30 ± 0,11	12	0,42 ± 0,13
13	8,91 ± 0,83	13	7,23 ± 0,51
14	5,10 ± 0,66	14	7,06 ± 1,37
15	5,32 ± 0,52	15	1,69 ± 0,22
16	4,81 ± 0,63	16	6,69 ± 0,78
17	5,41 ± 0,89	17	6,53 ± 0,86
18	8,85 ± 0,76	18	6,78 ± 0,45
19	1,56 ± 0,40	19	1,29 ± 0,30
20	6,72 ± 0,95	20	1,37 ± 0,27
21	6,97 ± 0,79	21	7,88 ± 0,71
22	8,84 ± 0,64	22	0,51 ± 0,08
23	1,36 ± 0,38	23	1,65 ± 0,24
24	0,66 ± 0,24	24	1,83 ± 0,16
25	7,57 ± 0,53	25	6,45 ± 0,85
26	5,17 ± 0,33	26	5,12 ± 0,43
27	1,33 ± 0,13	27	10,20 ± 1,25
28	4,84 ± 0,30	28	4,99 ± 1,03
29	4,17 ± 0,65	29	0,16 ± 0,05
30	7,26 ± 0,94	30	3,53 ± 0,41



poucos trabalhos com fórmula infantil disponíveis na literatura. Três trabalhos apresentaram resultados semelhantes, com concentrações de BFA em fórmulas infantis entre 0,1 e 13,2 µg/kg⁸, inferiores a 2 µg/kg³¹ e 2,2 a 10,3 µg/kg³³. Ao contrário, outro estudo relatou valores superiores, entre 44 e 113 µg/kg²⁴.

Dessa forma, os resultados de determinações de BFA em fórmulas infantis disponibilizadas pela literatura e aquelas obtidas nesse trabalho apresentam-se abaixo do limite de migração específica (LME) definido pela União Europeia e pelo Brasil de 0,6 mg/kg^{29,30}. Não obstante, existe uma tendência à revisão do limite em razão da recente alteração do valor de ingestão diária tolerada (IDT) do BFA³. O valor foi reduzido de 0,05 para 0,005 mg/kg de peso corpóreo/dia, o que deve refletir no limite de migração específica estabelecido em 2011. A alteração do valor da IDT reflete uma preocupação latente da comunidade científica internacional em relação aos efeitos sobre a saúde humana pela exposição, mesmo que em doses baixas, ao BFA. Em testes *in vivo*, ratos e camundongos expostos a baixas doses de BFA durante gestação, período pós-natal, puberdade e vida adulta produziram alterações na atividade de receptores estrogênicos RE α e RE β ; nos níveis séricos de inúmeros hormônios como testosterona, somatostatina, TSH, além de T4 livre; comportamentos sexuais modificados em relação ao grupo-controle, alterações sobre morfologia-histologia de células e diversos aspectos envolvidos na reprodução e desenvolvimento^{34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47}. Ainda, estudos relacionam a exposição ao BFA à redução da atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase, catalase, glutatona redutase e glutatona peroxidase nas mitocôndrias e frações microsossomais hepáticas^{48,49}. Esses fatores estão envolvidos no controle, estabilização e desativação de radicais livres, espécies relacionadas amplamente no processo de envelhecimento e na ocorrência de doenças degenerativas, como o câncer.

As incertezas são inúmeras e a produção de dados confiáveis, fruto de investigação minuciosa, deve fundamentar a pesquisa científica sobre o tema, abrangendo todo o processo produtivo, desde a produção até consumidor final. O resultado subsidiará as ações e tomada de decisão por parte das autoridades competentes.

CONCLUSÃO

O método de ensaio mostrou-se sensível e eficaz na quantificação do BFA em amostras de fórmulas infantis adquiridas no comércio local do Rio de Janeiro. A possibilidade de contaminação foi minimizada pela adoção de práticas experimentais adequadas.

Os resultados analíticos obtidos permitem concluir que a quantidade de BFA presente nas fórmulas infantis foi inferior ao limite de migração específica vigente para a substância. Isso não afasta a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos sobre a saúde humana em decorrência da exposição ao BFA, principalmente, em baixas doses, uma vez que o cenário é complexo e envolve outras possibilidades de exposição, não somente de origem dietética. E a comunidade científica tem manifestado, frequentemente, preocupação com o problema devido à existência de incertezas em relação aos dados e informações produzidos até momento.

Recomenda-se a realização de estudos adicionais para o desenvolvimento de métodos confiáveis visando à quantificação de BFA no ar, água e demais matrizes alimentares. A base de dados produzida configura importante etapa para a elaboração de estimativas de exposição e a construção de medidas e ações de caráter fiscal e regulamentador que minimizem ou eliminem o eventual dano à saúde da população.

REFERÊNCIAS

1. Kavlock R, Perreault S. Multiple chemical exposure and risks of adverse reproductive function and outcome. In: Yang RSH, editors. Toxicological of chemical mixtures: from real life examples to mechanisms of toxicology interactions. Orlando: Academic Press; 1994. p. 245-97.
2. Markey CM, Rubin BS, Soto AM, Sonnenschein C. Endocrine disruptors: from wingspread to environmental developmental biology. *J Steroid Bio Mol Biol.* 2003;83(1-5):235-44. [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-0760\(02\)00272-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-0760(02)00272-8)
3. European Food Safety Authority - EFSA. Public consultation on the draft opinion on bisphenol A (BPA): assessment of human health risks [Internet]. Parma: European Food Safety Authority; 2014 Jan 17 [acesso em: 30 ago 2014]. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/consultationsclosed/call/140117.htm>
4. Izzotti A, Kanitz S, D'Agostini F, Camoirano A, Flora S. Formation of adducts by bisphenol A, an endocrine disruptor, in DNA in vitro and in liver and mammary tissue of mice. *Mutat Res.* 2009;679(1-2):28-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.07.011>
5. European Food Safety Authority - EFSA. 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane (Bisphenol A). *EFSA J.* 2006;428:1-75.
6. Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Pedraza V, Olea N. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ Health Perspect.* 1995;103(6):608-12. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.95103608>
7. Yoshida T, Horie M, Hoshino Y, Nakazawa H, Horie M, Nakazawa H. Determination of bisphenol A in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. *Food Addit Contam.* 2001;18(1):69-75. <http://dx.doi.org/10.1080/026520301446412>
8. Biles JE, McNeal TP, Begley TH. Determination of Bisphenol A migrating from epoxy can coatings to infant formula liquid concentrates. *J Agric Food Chem.* 1997;45(12):4697-700. <http://dx.doi.org/10.1021/jf970518v>
9. Munguía-López EM, Gerardo-Lugo S, Peralta E, Bolumen S, Soto-Valdez H. Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings into a fatty-food simulant and tuna fish. *Food Addit Contam.* 2005;22(9):892-8. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030500163674>



10. Ehlert KA, Beumer CWE, Groot MCE. Migration of bisphenol A into water from polycarbonate baby bottles during microwave heating. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2008;25(7):904-10. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030701867867>
11. Nerin C, Philo MR, Salafranca J, Castle L. Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 2002;963(1-2):375-80. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00554-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00554-X)
12. Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Importance of control of enzymatic degradation for determination of bisphenol A from fruits and vegetables. *Anal Chim Acta*. 2006;555(1):114-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.08.050>
13. Kang, JH, Kondo F. Determination of bisphenol A in milk and dairy products by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Food Prot*. 2003;66(8):1439-43.
14. Sun C, Leong LP, Barlow PJ, Chan SH, Bloodworth BC. Single laboratory validation of a method for the determination of Bisphenol A, Bisphenol A diglycidyl ether and its derivatives in canned foods by reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 2006;1129(1):145-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.018>
15. Inoue K, Kato K, Yoshimura Y, Makino T, Nakazawa H. Determination of bisphenol A in human serum by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2000;749(1):17-23. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00351-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00351-0)
16. Braunrath R, Cichna M. Sample preparation including sol-gel immunoaffinity chromatography for determination of bisphenol A in canned beverages, fruits and vegetables. *J Chromatogr A*. 2005;1062(2):189-98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2004.11.009>
17. Brenn-Struckhofova Z, Cichna-Markl M. Determination of bisphenol A in wine by sol-gel immunoaffinity chromatography, HPLC and fluorescence detection. *Food Addit Contam*. 2006;23(11):1227-35. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030600654382>
18. Shao B, Han H, Hu J, Zhao J, Wu G, Xue Y et al. Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2005;530(2):245-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2004.09.086>
19. Shao B, Han H, Li D, Ma Y, Tu X, Wu Y. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in meat by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Chem*. 2007;105(3):1236-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.040>
20. Shao B, Han H, Tu X, Huang L. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in eggs and milk by matrix solid phase dispersion extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* *Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007;850(1-2):412-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.12.033>
21. Salafranca J, Batlle R, Nerin C. Use of solid-phase microextraction for the analysis of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether in food simulants. *J Chromatogr A*. 1999;864(1):137-44. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00987-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00987-5)
22. Varelis P, Balafas D. Preparation of 4,4'-(1-(2)H6] methylethylidene)bis-[2,3,5,6-(2)H4]phenol and its application to the measurement of bisphenol A in beverages by stable isotope dilution mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2000;883(1-2):163-70. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00385-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00385-X)
23. D'Antuono A, Dall'Orto VC, Lo Balbo A, Sobral S, Rezzano I. Determination of bisphenol A in food-simulating liquids using LCED with a chemically modified electrode. *J Agric Food Chem*. 2001;49(3):1098-101. <http://dx.doi.org/10.1021/jf000660n>
24. Kuo HW, Ding WH. Trace determination of bisphenol A and phytoestrogens in infant formula powders by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2004;1027(1-2):67-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2003.08.084>
25. Thomson BM, Grounds PR. Bisphenol A in canned foods in New Zealand: an exposure assessment. *Food Addit Contam*. 2005;22(1):65-72. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030400027920>
26. Chang CM, Chou CC, Lee MR. Determining leaching of bisphenol A from plastic containers by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2005;539(1-2):41-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.03.051>
27. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC n° 41, de 16 de setembro de 2011. Dispõe sobre a proibição de uso de bisfenol A em mamadeiras destinadas a alimentação de lactentes e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 17 set 2011.
28. União Européia (UE). Comissão Directive 2011/8/EU, de 28 de janeiro de 2011. Amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles. *Official Journal of the European Union*. 2011 mar 28;26:11-4.
29. União Européia (UE). Comissão Regulation n° 10/2011, de 14 janeiro de 2011. On plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Official Journal of the European Union*. 2011 jan 15;12:1-89.
30. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC N° 51, de 26 de novembro de 2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. *Diário Oficial União*. 22 dez. 2010.
31. Goodson A, Summerfield W, Cooper I. Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Addit Contam*. 2002;19(8):796-802. <http://dx.doi.org/10.1080/02652030210146837>



32. Maragou NC, Lampi EN, Thomaidis NS, Koupparis MA. Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2006;1129(2):165-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.06.103>
33. Cao XL, Dufresne G, Belisle S, Clement G, Falicki M, Beraldin F et al. Levels of bisphenol A in canned liquid infant formula products in Canada and dietary intake estimates. *J Agric Food Chem*. 2008;56(17):7919-24. <http://dx.doi.org/10.1021/jf8008712>
34. Tsutsui T, Tamura Y, Suzuki A, Hirose Y, Kobayashi M, Nishimura H et al.. Mammalian cell transformation na aneuploidy induced by five bisphenols. *Int J Cancer*. 2000;86(2):151-4. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(20000415\)86:2<151::AID-IJC1>3.0.CO;2-0](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(20000415)86:2<151::AID-IJC1>3.0.CO;2-0)
35. Ceccarelli I, Della Seta D, Fiorenzani P, Farabollini F, Aloisi AM. Estrogenic chemicals at puberty change ERalpha in the hypothalamus of male and female rats. *Neurotoxicol Teratol*. 2007;29(1):108-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2006.10.011>
36. Kawai K, Murakami S, Senba E, Yamanaka T, Fujiwara Y, Arimura C et al.. Changes in estrogen receptors a and b expression in the brain of mice exposed prenatally to bisphenol A. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2007;47(2):166-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.04.002>
37. Facciolo RM, Alò R, Madeo M, Canonaco M, Dessi-Fulgheri F. Early cerebral activities of the environmental estrogen bisphenol A appear to act via the somatostatin receptor subtype sst2. *Environ Health Perspect*. 2002;110(suppl 3):397-402. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.02110s3397>
38. Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM. Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. *Environ Health Perspect*. 2001;109(7):675-80. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.01109675>
39. Talsness C, Fialkowski O, Gericke C, Merker HJ, Chahoud I. The effects of low and high doses of bisphenol A on the reproductive system of female and male rat offspring. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2000;40:S94-107.
40. Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology*. 2005;146(2):607-12. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2004-1018>
41. Kubo K, Arai O, Ogata R, Omura M, Hori T, Aou S. Exposure to bisphenol A during the fetal and suckling periods disrupts sexual differentiation of the locus coeruleus and of behavior in the rat. *Neurosci Lett*. 2003;304(1/2):73-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)01760-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3940(01)01760-8)
42. Kubo K, Aria O, Omura M, Watanabe R, Ogata R, Aou S. Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neurosci Res*. 2003;45(3):345-56. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-0102\(02\)00251-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-0102(02)00251-1)
43. Farabollini F, Porrini S, Della Seta D, Bianchi F, Dessi-Fulgheri F. Effects of perinatal exposure to bisphenol A on sociosexual behavior of female and male rats. *Environ Health Perspect*. 2002;110(suppl 3):409-14. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.02110s3409>
44. Aloisi AM, Della Seta D, Rendo C, Ceccarelli I, Scaramuzzino A, Farabollini F. Exposure to the estrogenic pollutant bisphenol A affects pain behavior induced by subcutaneous formalin injection in male and female rats. *Brain Res*. 2002;937(1-2):1-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02446-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02446-0)
45. Dessi-Fulgheri F, Porrini S, Farabollini F. Effects of perinatal exposure to bisphenol A on play behavior of female and male juvenile rats. *Environ Health Perspect*. 2002;110(suppl 3):403-7. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.02110s3403>
46. Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, Saal FS. Exposure to bisphenol a advances puberty. *Nature*. 1999;401(6755):763-4. <http://dx.doi.org/10.1038/44517>
47. Schonfelder G, Friedrich K, Paul M, Chahoud I. Developmental effects of prenatal exposure to bisphenol A on the uterus of rat offspring. *Neoplasia*. 2004;6:584-94. <http://dx.doi.org/10.1593/neo.04217>
48. Kabuto H, Hasuike S, Minagawa N, Shishibori T. Effects of bisphenol A on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues. *Environ Res*. 2003;93(1):31-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00062-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00062-8)
49. Bindhumol V, Chitra KC, Mathur PP. Bisphenol A induces reactive species generation in the liver of male rats. *Toxicology*. 2003;188(2-3):117-23. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00056-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00056-8)

Agradecimentos

Agradecimentos ao auxílio financeiro proporcionado pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Rio de Janeiro - FAPERJ, no âmbito do programa Bolsa Nota 10.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.

Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.