

ZANIECZYSZCZENIE ŚRODOWISKA BISFENOLEM A

Dominika Łaszczycza*, Katarzyna Paradowska, Katerina Makarova

Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny z Oddz. Medycyny Laboratoryjnej,
Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

* autorka korespondująca, tel/faks: +48 22 572 0951, e-mail: d.laszczycza@interia.pl

Otrzymano 3.10.2014, zaakceptowano 19.01.2015, zamieszczony 5.02.2015

STRESZCZENIE

W związku z szybkim rozwojem technologii wytwarzania plastikowych opakowań artykułów spożywczych, a także artykułów chemii gospodarczej i kosmetycznej, rośnie zainteresowanie związkami używanymi lub powstającymi w trakcie produkcji tych opakowań. Do związków tych zalicza się bisfenol A (BPA), który wykorzystywany jest przy utwardzaniu tworzyw sztucznych. Wiele badań wskazuje na jego szkodliwy wpływ, zarówno na organizm ludzki, jak i zwierzęcy. Toksyczne oddziaływanie związane jest głównie z właściwościami ksenoestrogennymi, mającymi wpływ na pracę układu endokrynnego. Bisfenol A łatwo przenika do żywności, napojów czy kosmetyków w podwyższonej temperaturze lub w wyniku uszkodzenia opakowania produktu. Należy zwrócić uwagę, że ryzyko narażenia na toksyczny wpływ BPA dotyczy szczególnie kobiet w ciąży, ponieważ bisfenol A ma zdolność migracji z organizmu matki do płodu, co może prowadzić do ujawnienia wad wrodzonych i niedoboru odporności u dzieci. U osób dorosłych główne objawy długiej ekspozycji na ten czynnik to zaburzenia wydzielania hormonów płciowych, prowadzące do bezpłodności, chorób nowotworowych, tj. raka piersi, jajnika i prostaty, a także ryzyka rozwoju endometriozy.

SŁOWA KLUCZOWE: bisfenol A, BPA, ksenoestrogeny, układ hormonalny

ABSTRACT

ENVIRONMENTAL CONTAMINATION WITH BISPHENOL A

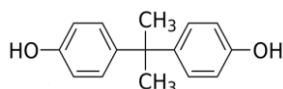
Due to the fast development of the plastic food and multi-purpose containers producing technologies, close attention is paid to the compounds used or formed during the production. Bisphenol A (BPA) is one of such compounds used as hardening agent for plastics. Large number of research papers reveal that BPA has adverse effect on humans and animals due to its xenoestrogen nature. Xenoestrogen compounds are also known as Endocrine Disrupting Compounds. It was reported that in special conditions (i.e. high temperature, damages of container) BPA can easily migrate from container to stored food, beverages and cosmetics. Also, the risk of exposure to the toxic effects of BPA to human fetus was reported. For adults, the major symptoms of prolonged exposure of BPA are infertility, breast, ovarian and prostate cancer as well as increased risk of developing endometriosis.

KEYWORDS: bisphenol A, BPA, xenoestrogens, endocrine (hormonal) system

Niniejsza praca przeglądowa dotyczy toksycznego wpływu związku chemicznego - bisfenolu A - na ludzi i zwierzęta, warunków sprzyjających jego migracji, a także obecnie stosowanych metod jego detekcji i biodegradacji.

Bisfenol A w otoczeniu człowieka

Bisfenol A (BPA, dian, 2,2-bis(*p*-hydroksyfenylo) propan) został po raz pierwszy zsyntezowany w 1891r. przez rosyjskiego chemika Aleksandra Dianina [1], jako produkt kondensacji acetonu i dwóch cząsteczek fenolu (Ryc.1).



Ryc. 1. Budowa chemiczna bisfenolu A.

Bisfenol A może być polimeryzowany do poliestrów, np. poliwęglanów używanych w produkcji plastikowych butelek, a także polieterów, polisulfonów oraz żywic epoksy-

dowych stosowanych przy produkcji metalowych puszek powlekanych od wewnętrznej strony [2,3]. Popularność wyrobów z tworzyw sztucznych powoduje rozpowszechnienie BPA. Wyroby te są lekkie i wygodne w użyciu, jak np. butelki dla niemowląt, oraz bardziej odporne na uszkodzenia w transporcie niż produkty szklane. Okazuje się, że BPA znajduje się na powierzchni papieru do drukarek termicznych, który używany jest do drukowania paragonów, faktów czy wydruków z bankomatu [4]. Od kilku lat na terenie Unii Europejskiej wprowadzane są ograniczenia w stosowaniu BPA, ale nie dotyczy to firm z Dalekiego Wschodu, głównie z Chin [5], skąd wyprodukowane towary trafiają na rynek naszego kraju. Inne przykłady wyrobów zawierających bisfenol A to opakowania żywności oraz kosmetyki (dezodoranty, szampony, perfumy), laki dentystyczne, a także smoczki, butelki, talerzyki i zabawki dla dzieci [6]. Mnogość produktów sugeruje wszechobecność opisywanego związku w różnych obszarach życia codziennego.

Tak duże zapotrzebowanie na produkty wykonane z tworzyw sztucznych i masowa ich produkcja powodują emisję ponad stu ton BPA do atmosfery każdego roku [2].

Podjęte badania w kierunku oceny zawartości BPA dotyczyły m.in.: butelkowanej wody pitnej, wód powierzchniowych, osadów rzecznych oraz artykułów spożywczych [7]. Dokonane pomiary wynosiły: w wodach powierzchniowych (w granicach 0,0005 do 0,41 µg/l), w ściekach (od 0,018 do 0,702 µg/l), osadach rzecznych (0,01-0,19 mg/kg) oraz osadach ściekowych (0,004- 1,363 mg/kg) [7]. Prace dotyczące substancji wywołującej zaburzenia endokrynologiczne obecnej w butelkowanej wodzie pitnej wykazały, że ponad 90% ogółu populacji jest narażone na toksyczne działanie BPA [8]. W najnowszych badaniach oceniono zawartość BPA w produktach spożywczych i odnotowano stężenie bisfenolu A w granicach od 0,23 do 65,0 ng/g w 63 na 100 próbek poddanych analizie. Wśród badanych próbek były m.in. zielona fasola w puszcze, konserwy warzywne i mięsne, świeży indyk czy mieszanki dla niemowląt [9]. Przeprowadzono również badanie statystyczne wśród Amerykanów powyżej szóstego roku życia, z których wynika, że 95% badanych osób ma w moczu wykrywalne ilości BPA, kształtujące się na średnim poziomie 1,36 µg/g [10].

Bisfenol A jako przykład związku ksenoestrogennego

Przynależność poszczególnych związków do grupy ksenoestrogenów determinowana jest nie przez strukturę chemiczną, ale przez sposób działania na organizmy żywe. Wiadomo, że wpływają one na funkcjonowanie układu dokrewnego poprzez modulację wydzielania, metabolizmu i transportu hormonów [11]. Mechanizm działania tych związków polega na przyłączeniu do receptorów estrogennych [12]. Ksenoestrogeny znajdujące się w stężeniach rzędu 10^{-9} - 10^{-6} mol/l w wodzie pitnej [13], w wodach powierzchniowych [14,15] czy w ściekach [7]. Nawet w bardzo niskich stężeniach, rzędu 10^{-9} czy 10^{-12} mol/l, stanowią potencjalne środowiskowe zagrożenie dla zdrowia człowieka [16], dlatego powinny być usuwane ze ścieków zanim przedostaną się do wód powierzchniowych i dalej do wód gruntowych, będących źródłem wody pitnej.

Pierwsze doniesienia o ksenoestrogennym działaniu BPA opublikowano na podstawie eksperymentu przeprowadzonego przez Doddsa i jego współpracowników w 1936 roku, w którym otrzymano syntetyczne estrogeny i przebadano ich działanie [17]. Późniejsze badania z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych potwierdziły, że najbardziej narażone jest ich potomstwo, u którego wykryto wady rozwojowe takie jak niedorozwój mózgu, nadpobudliwość, tendencję do rozwoju nowotworów i zaburzeń płodności [18,19]. Stwierdzono także, że nawet małe ilości BPA mają zdolność toksycznego oddziaływania na układ endokrynny [20]. Do najbardziej znanych i najlepiej udokumentowanych zaburzeń w funkcjonowaniu organizmu związanych z obecnością BPA należą: zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia raka piersi i macicy oraz raka prostaty, zaburzenia płodności oraz przedwczesne poronienia [21]. BPA wywołuje także szereg innych zaburzeń, jak zaburzenia układu nerwowego, zmniejszona odporność (szczególnie u nowonarodzonych dzieci), ryzyko rozwoju cukrzycy, często powiązanej z otyłością [22], a także choroby układu krążenia, układu pokarmowego (toksyczny wpływ na wątrobę) [23], zaburzenia wydzielania i transportu hormonów tarczycy [24], i wiele innych.

Wpływ BPA na mężczyzn

Ze względów oczywistych, większość badań nad szkodliwością BPA prowadzona jest na zwierzętach (szczurach), jed-

nak wieloletnie doświadczenie wskazuje, że to co szkodzi laboratoryjnym szczurom szkodzi też człowiekowi. Wyniki badań doświadczalnych na samcach szczurów wskazują na możliwość wystąpienia efektów niepożądanych także u mężczyzn. W przypadku badań wykonanych w okresie prenatalnym i okołoporodowym, ekspozycja tych zwierząt na BPA skutkowałą wzrostem masy prostaty w połączeniu z obniżeniem wielkości najądrzy i spadkiem objętości produkowanej spermy [25]. Natomiast w wyniku narażenia na BPA osobników w fazie wzrostu i w okresie dojrzewania stwierdzono obniżenie poziomu testosteronu i liczby produkowanych plemników [25]. Przeprowadzono również sondażowe badanie wśród mężczyzn, pracujących w warunkach szczególnego narażenia na ten związek, jak osoby zatrudnione w chińskich fabrykach. Wyniki potwierdziły zależność pomiędzy zwiększoną ilością BPA w moczu, a zmniejszeniem popędu płciowego związanego głównie ze zwiększoną trudnością w osiągnięciu erekcji, mniejszą siłą wytrysku i niższym poziomem ogólnego zadowolenia z życia seksualnego [26,27]. Do najgroźniejszych powikłań po długiej ekspozycji na BPA należy rozwój raka prostaty. Wykazano, że zwiększona podaż tej substancji nawet w ilości nanomolowej jest zdolna do stymulowania proliferacji komórek nowotworowych [28].

Wpływ BPA na płód, niemowlęta i kobiety

Układ odpornościowy zaczyna kształtować się już w okresie życia płodowego. Młody organizm nie jest przygotowany na kontakt z toksycznymi substancjami, gdyż jego mechanizmy obronne nie są w pełni wykształcone. Na właściwy rozwój i procesy wzrostowe ma wpływ prawidłowa praca układu endokrynny, a zaburzenia hormonalne mogą być przyczyną późniejszych poważnych skutków ubocznych. Często objawy mogą pojawić się w późniejszym okresie życia, bądź nawet po wielu latach od ekspozycji na toksynę. Niepożądane objawy mogą występować u kobiet w wieku rozrodczym, które były narażone na oddziaływanie BPA w okresie prenatalnym. Stwierdzono, że u tych kobiet po narodzinach wystąpił stan zapalny w komórkach tłuszczowych, co sprzyjało rozwojowi cukrzycy, otyłości a także zespołu metabolicznego [20]. Do najczęściej spotykanych objawów związanych z układem rozrodczym można zaliczyć raka jajnika i macicy [29], zespół policystycznych jajników [30], przedwczesne dojrzewanie, trudność z zająciem i/lub utrzymaniem ciąży, zaburzenia w rozwoju narządów rodnych i płodności [31-33].

Migracja BPA z zewnętrznego opakowania do produktu

Dopiero po wielu latach od wprowadzenia bisfenolu A jako utwardzacza tworzyw sztucznych, na szeroką skalę rozpoczęto badania nad możliwością migracji tego związku z opakowań do produktów. Dowiedziono, że BPA może rozpuszczać się w płynie, znajdującym się w opakowaniu, np. w wodzie, soku owocowym czy mleku dla niemowląt [34]. Prawdopodobieństwo zanieczyszczenia produktu przez BPA jest większe w wyższych temperaturach (podgrzewanie produktu przed spożyciem lub wlewanie gorących cieczy), w przypadku kwaśnych lub zasadowych płynów, przy wielokrotnym użytkowaniu, np. częstym przemywaniu wodą prowadzącym do wyplukiwania BPA z materiału, a także przy mechanicznych obciążeniach, np. zgniataniu [34].

Ekspozycja na toksyczne działanie następuje w wyniku spożycia pokarmu lub napojów zawierających BPA, a także przez stosowanie zanieczyszczonych toksyną kosmetyków

ze względu na jej łatwą przenikalność przez skórę [34]. W jednym z badań wykazano przenikanie mikrogramowych ilości BPA (4-23 µg z jednej puszkii) zarówno do produktów spożywczych jak i płynów, a także podobne ilości uwalniające się z wypełnień dentystycznych w jamie ustnej do śliny [35]. W innych badaniach porównano migrację BPA z butelek poliwęglanowych, aluminiowych pokrytych żywicą epoksydową oraz butelek, dla których nie odnotowano obecności bisfenolu A w zawartości opakowania. W temperaturze pokojowej stężenie migrującego BPA z butelek poliwęglanowych wynosiło od 0,2 do 0,3 mg/l. W aluminiowych, powlekanych butelkach wartość była zmienna zależnie od producenta i oscylowała w granicach 0,08 do 1,9 mg/l [36]. Zanieczyszczenia bisfenolem A nie wykryto natomiast w produktach przechowywanych w butelkach wykonanych z kopoliestru Tritan, w butelkach wykonanych z niepowlekanej stali nierdzewnej oraz w butelkach aluminiowych pokrytych tworzywem EcoCare [36]. Potwierdzono, że migracja BPA wzrasta wraz z podwyższeniem temperatury. Wyniki tego badania wskazują, że alternatywne materiały mogą służyć do produkcji opakowań wolnych od bisfenolu A, tzw. BPA FREE [36]. Zbadano również możliwość migracji BPA w temperaturze pokojowej i obojętnym pH z poliwęglanowych i polisulfonowych klatek dla zwierząt. Obydwa rodzaje klatek umieszczono w wodzie, a w celach kontrolnych zastosowano klatki szklane i polipropylenowe. Wykrywalne stężenie BPA migrującego z klatek poliwęglanowych do wody wynosiło do 0,3 µg/l, polisulfonowych do 5 mg/l, natomiast nie wykryto BPA w wodzie, w której inkubowano klatki szklane i polipropylenowe [37]. Porównano również zmiany fizjologiczne u zwierząt trzymanyh przez pewien okres w klatkach poliwęglanowych i polipropylenowych. W przeprowadzonym eksperymencie odnotowano 16% wzrost masy macicy w okresie dojrzewania płciowego u samic myszy umieszczonych w klatkach poliwęglanowych względem samic trzymanyh w klatkach polipropylenowych [37].

Przeprowadzono również badania na zawartość BPA w smoczkach. Wyniki potwierdziły tezę, że BPA posiada zdolność migracji z plastikowych tarczki dziecięcych smoczków do silikonu i lateksu smoczka, skąd przechodzi do organizmu dziecka [38]. Obecnie producenci opakowań przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci zobowiązani są do ścisłej kontroli zawartości stosowanych związków przy produkcji smoczków, butelek dla dzieci bądź tzw. „kubków-niekapków”, jak również puszek służących do przechowywania mleka w postaci płynnej lub w proszku.

Opinia Komisji Europejskiej i Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności na temat BPA

Stosowanie BPA jest dozwolone w Unii Europejskiej na mocy rozporządzenia 10/2011/UE [39], w odniesieniu do materiałów i wyrobów wykonanych z tworzyw sztucznych, które mają kontakt ze środkami spożywczymi. Unia Europejska wprowadziła zakaz stosowania BPA w produkcji butelek poliwęglanowych do karmienia niemowląt, o czym poinformował unijny komisarz ds. zdrowia John Dalli powołując się na nowe badania [39], w których wykazano negatywny wpływ bisfenolu A na organizm człowieka. Produkcja butelek dla dzieci z wykorzystaniem BPA została zakazana od marca 2011 roku, natomiast zakaz importu i sprzedaży tego typu butelek obowiązuje na terenie wszystkich państw należących do UE od czerwca 2011 roku, zgodnie z dyrektywą 2011/8/EU [40]. Europejski Urząd do spraw Bezpie-

czeństwa Żywności (EFSA) ustanowił tolerowane dzienne pobranie (TDI - tolerable daily intake) na poziomie 0,05 miligramów na kilogram masy ciała na dobę. Taka dawka BPA może być spożywana dziennie w trakcie całego życia, bez znacznego zagrożenia. W badaniach przeprowadzonych przez EFSA dotyczących spożycia żywności i napojów przez dorosłych, niemowlęta i dzieci dowiedziono, że we wszystkich badanych grupach nie przekroczono TDI [41]. W latach 2008-2011 nie było nowych przesłanek do skorygowania ustalonej wartości dziennej dawki dla bisfenolu A. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności nie zmniejszył TDI ani nie wprowadził żadnych restrykcji w stosunku do producentów tworzyw sztucznych.

Nowoczesne metody wykorzystywane w detekcji BPA

Ze względu na to, że nawet niewielkie ilości BPA mogą mieć toksyczny wpływ na organizm człowieka, przykładano wagę do rozwoju i udoskonalania metod wykrywania i zwiększenia czułości detekcji tego związku. W 1991 roku górna granica wykrywalności BPA z wykorzystaniem wysokiejchromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem elektrochemicznym (ED) wynosiła 0,2 ng/ml, natomiast przy zastosowaniu HPLC ze spektrometrią mas (MS) 0,1 ng/ml [42]. Obecnie przy zastosowaniu nowoczesnych metod detekcji, do których należą chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrią mas (LC-MS), chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas (LG-MS), HPLC z metodami fluorescencyjnymi, a także technika ELISA, można wykrywać bisfenol A już na poziomie 0,01 ng/ml [43]. Spośród wymienionych technik analitycznych spektrometria mas, a zwłaszcza spektrometria mas z wykorzystaniem rozcieńczenia izotopowego, jest uznawana za najbardziej dokładną i precyzyjną do pomiaru nawet śladowych ilości bisfenolu A w próbkach biologicznych [44]. Część badaczy uważa natomiast, że technika ELISA nie powinna być stosowana w analizie tego związku w próbkach pozyskanych od człowieka ze względu na małą czułość i potencjalne czynniki zakłócające przy przygotowywaniu matrycy próbki [45]. Oznaczanie poziomu BPA można wykonać bezpośrednio z próbek wody bez użycia dodatkowych odczynników. W przypadku zastosowania procedury rozcieńczania należy użyć wody wolnej od BPA, otrzymywanej np. przez przepuszczanie wody dejonizowanej przez specjalne dyski, uprzednio przemyte metanolem w celu usunięcia BPA z żywic stosowanych w ich produkcji [46].

Bisfenol A jest często oznaczany w próbkach moczu, ale ze względu na to, że w większości tych próbek występuje w formie sprzężonej jako glukuronid BPA i siarczan BPA, przy detekcji należy wykorzystać enzymy (np. glukuronidazę i/lub sulfatazę), dzięki czemu można oznaczyć łącznie formy sprzężone i wolne tego związku [44].

Wiele badań dotyczy ludzkiego mleka. Okazuje się, że w próbkach mleka pobieranych od kobiet ciężarnych i karmiących, bardzo łatwo o zanieczyszczenie bisfenolem A podczas kompletowania wystarczającej ilości do oznaczeń. Należy je odpowiednio przechowywać, np. zamrożone w temperaturze -20° C do przeprowadzenia analizy, w której wykorzystywana jest ekstrakcja do fazy stałej (SPE) oraz dwuetapowa ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE) [46]. Wpływ na detekcję BPA ma również materiał, z którego wykonane są pojemniki na pobrane próbki. Pojemniki powinny być wykonane ze szkła lub innego materiału niezawierającego bisfenolu A, w przeciwnym razie, np. wykorzystując pojemniki z tworzyw sztucznych można doprowadzić do migracji

BPA do wnętrza próbki i w ten sposób zafałszować końcowy wynik. W przypadku zastosowania metod fluorescencyjnych stosowany materiał powinien dodatkowo być bezbarwny.

Degradacja BPA

Oprócz analizy zawartości samego bisfenolu A coraz więcej uwagi poświęca się metabolitom tego związku oraz przebiegowi jego degradacji w warunkach laboratoryjnych i środowiskowych. Do najnowszych proponowanych metod usuwania BPA ze środowiska należy fotodegradacja z zastosowaniem reakcji Fentona, w wyniku której BPA o początkowym stężeniu 10 mg/l uległ w optymalnych warunkach całkowitej degradacji już po 9 minutach. Proces ten w przyszłości może być wykorzystany w oczyszczaniu ścieków zawierających bisfenol A [47].

Opracowany został również system Fentona dotyczący degradacji BPA. Zaproponowany mechanizm obejmuje reakcję redoks pomiędzy $Au^{1+} \leftrightarrow Au^0$ podczas rozkładu H_2O_2 . Zastosowanie tego układu spowodowało obniżenie początkowego stężenia BPA równego 110 ppm do poziomu 10 ppm w ciągu 12 godzin [48]. Wydaje się zatem, iż zaproponowany system (Au - Fenton) może być doskonałą alternatywą dla oczyszczania wody pitnej, zanieczyszczonej toksycznymi i nierozkładającymi się związkami organicznymi.

W badaniach wody naturalnej oraz dejonizowanej pokazano skuteczne wykorzystanie systemów ultradźwiękowych, które przekształcają BPA w biodegradowalne kwasy alifatyczne. Kwasy te mogą zostać wyeliminowane w późniejszym oczyszczaniu biologicznym, stąd systemy ultradźwiękowe mogą stanowić innowacyjną metodę w uzdatnianiu wody skażonej bisfenolem A [49].

Wnioski

Bisfenol A nawet przy niskim stężeniu może wywierać szkodliwy wpływ na zdrowie człowieka. Obecnie prowadzone badania dotyczą oddziaływania BPA i jego metabolitów na ludzi (kobiety, mężczyźni, dzieci) oraz zwierzęta, migracji BPA z opakowania do produktu, poprawy stosowanych metod detekcji (podwyższenie rozdzielczości i poziomu wykrywalności nawet przy nanomolowym stężeniu substancji) oraz procesów degradacji BPA (mechanizmu i skuteczności poszczególnych metod). Do tej pory stosowanie BPA zostało zakazane w Korei Południowej, Japonii, Kanadzie i niektórych stanach USA, np. w Kalifornii. Prawdopodobnie niedługo zakaz obejmie całe Stany Zjednoczone. Niektóre kraje europejskie również wprowadzają zakaz stosowania BPA. Jednakże w Polsce decyzję o ochronie przed toksycznym oddziaływaniem BPA na razie musimy podejmować sami, świadomie wybierając kupowane produkty. Należy pamiętać, że produkty nie zawierające BPA oznakowane są napisem: *BPA free* lub *Bisphenol A Free*. Informacja najczęściej umieszczana jest na spodzie opakowania. Przy produkcji opakowań często stosowany jest znacznie bezpieczniejszy polipropylen, oznaczony symbolem *PP* lub polietylen oznaczany jako *PE*, w tym samym miejscu (spód opakowania). Z kolei produkty w których skład wchodzi BPA można poznać po oznaczeniu symbolem *PC* (polycarbonate plastic - plastik poliwęglanowy) lub cyfrze 7 znajdującej się w trójkącie, symbolizującym recykling. Racjonalnym wyborem na pewno będą szklane butelki i opakowania. Należy także przestrzegać zasad prawidłowego postępowania z opakowaniami z tworzyw sztucznych, np. unikać podgrzewania w kuchenke mikrofalowej, ewentualnie podgrzewać po przelożeniu do bezpieczniejszego szkla-

nego naczynia, a także unikać ostrych środków czyszczących i szorstkich zmywaków zdolnych do uszkodzenia powierzchni opakowania. Rozsądne jest także przeznaczenie do szybkiego spożycia produktów w puszkach, ponieważ długie przetrzymywanie sprzyja migracji BPA do wnętrza opakowania.

Skróty

BPA	bisphenol A
ED	electrochemical detection
EFSA	European Food Safety Authority
EL	electroluminescence
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GC	gas chromatography
HPLC	high performance liquid chromatography
LC-MS	liquid chromatography - mass spectrometry
LG-MS	gas chromatography - mass spectrometry
LLE	liquid-liquid extraction
MS	mass spectrometry
PC	polycarbonate plastic
PE	polyethylene
PP	polypropylene
SPE	solid-phase extraction

Bibliografia

- Cooper-Roth, T. The Effects of Bisphenol A on Embryonic Development. Embryo Project Encyclopedia. 2010-09-07. ISSN: 1940-5030 <http://embryo.asu.edu/handle/10776/2068>.
- Staples C., P. B. Dome, G. M. Klecka, S. T. Oblock and L. R. Harris. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. Chemosphere. 1998, 36 (10), 2149-2173.
- Brunelle D.J. and T.G. Shannon. Preparation and polymerization of bisphenol A cyclic oligomeric carbonates. Macromolecules, 1991, 24(11), 3035-3044.
- Mendum T., E. Stoler, H. VanBenschoten and J. C. Warner. Concentration of bisphenol A in thermal paper. Green Chemistry Letters and Reviews. 2011, 4(1), 81-86.
- Huang Y. Q., C. K. C. Wong, J. S. Zheng, H. Bouwman, R. Barra, B. Wahlström, L. Neretin and M. H. Wong. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. Environment international. 2012,42, 91-99.
- Calafat, A. M., X. Ye, L. Wong, J. A. Reidy and L. L. Needham. Exposure of the US population to Bisphenol A and 4-tertiary-Octylphenol: 2003-2004. Environmental health perspectives. 2008, 39-44.
- Fromme, H., T. Küchler, T. Otto, K. Pilz, J. Müller and A. Wenzel. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. Water Research. 2002, 36(6), 1429-1438.
- Dhaini, H.R. and R.M. Nassif. Exposure assessment of endocrine disruptors in bottled drinking water of Lebanon. Environmental monitoring and assessment. 2014, 1-8.
- Schechter A., N. Malik, D. Haffner, S. Smith, T.R. Harris, O. Paepke and L. Birnbaum. Bisphenol A (BPA) in US Food. Environmental science and technology. 2010, 44(24), 9425-9430.
- Calafat A. M., Z. Kuklennyik, J. A. Reidy, S. P. Caudill, J. Ekong and L. L. Needham. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. Environmental health perspectives. 2005, 391-395.
- Sonnenschein C. and A.M. Soto. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 1998, 65(1), 143-150.
- Singleton, D.W. and S.A. Khan. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. Front Biosci. 2003, 8, 110-118.

13. Van Leeuwen J. A., D. Waltner-Toews, T. Abernathy, B. Smit, and M. Shoukri. Associations between stomach cancer incidence and drinking water contamination with atrazine and nitrate in Ontario (Canada) agroecosystems, 1987-1991. *International Journal of Epidemiology*. 1999, 28(5), 836-840.
14. Hayes T., K. Haston, M. Tsui, A. Hoang, C. Haeffele and A. Vonk. Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. *Environmental Health Perspectives*. 2003, 111(4), 568.
15. Rajendran R.B. and A. Subramanian. Pesticide Residues in Water From River Kaveri, South India. *Chemistry and Ecology*. 1997, 13(4), 223-236.
16. Wozniak A.L., N.N. Bulayeva and C.S. Watson. Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor- α -mediated Ca^{2+} fluxes and prolactin release in GH3/B6 pituitary tumor cells. *Environmental health perspectives*. 2005, 431-439.
17. Dodds E. and W. Lawson. Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*. 1936, 137 (3476), 996.
18. Vom Saal F. S., B. G. Timms, M. M. Montano, P. Palanza, K. A. Thayer, S. C. Nagel, M. D. Dhar, V. K. Ganjam, S. Parmigiani and W. V. Welshons. Prostate enlargement in mice due to fetal exposure to low doses of estradiol or diethylstilbestrol and opposite effects at high doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1997, 94(5), 2056-2061.
19. Markey C. M., P. R. Wadia, B. S. Rubin, C. Sonnenschein and A. M. Soto. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biology of reproduction*. 2005, 72(6), 1344-1351.
20. Sekizawa, J. Low-dose effects of bisphenol A: a serious threat to human health? *The Journal of toxicological sciences*. 2008, 33(4), 389-403.
21. O'Connor J.C. and R.E. Chapin. Critical evaluation of observed adverse effects of endocrine active substances on reproduction and development, the immune system, and the nervous system. *Pure and applied chemistry*. 2003, 75(11-12), 2099-2123.
22. Trasande L., T.M. Attina and J. Blustein. Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *Jama*. 2012, 308(11), 1113-1121.
23. Babu S., S. Uppu, M.O. Claville and R.M. Uppu. Prooxidant actions of bisphenol A (BPA) phenoxyl radicals: implications to BPA-related oxidative stress and toxicity. *Toxicology mechanisms and methods*. 2013, 23(4), 273-280.
24. Hiroi T., K. Okada, S. Imaoka, M. Osada and Y. Funae. Bisphenol A binds to protein disulfide isomerase and inhibits its enzymatic and hormone-binding activities. *Endocrinology*. 2006, 147(6), 2773-2780.
25. Howdeshell K.L. and F.S. vom Saal. Developmental exposure to bisphenol A: interaction with endogenous estradiol during pregnancy in mice. *American Zoologist*. 2000, 40(3), 429-437.
26. Li D., Z. Zhou, D. Qing, Y. He, T. Wu, M. Miao, J. Wang, X. Weng, J.R. Ferber, L.J. Herrinton, Q. Zhu, E. Gao, H. Checkoway and W. Yuan. Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction. *Human reproduction*. 2009, 381.
27. Li D. K., Z. Zhou, M. Miao, Y. He, D. Qing, T. Wu, J. Wang, X. Weng, J. Ferber, L. J. Herrinton, Q. Zhu, E. Gao and W. Yuan. Relationship Between Urine Bisphenol A Level and Declining Male Sexual Function. *Journal of andrology*. 2010, 31(5), 500-506.
28. Wetherill, Y. B., C. E. Petre, K. R. Monk, A. Puga and K. E. Knudsen. The Xenoestrogen Bisphenol A Induces Inappropriate Androgen Receptor Activation and Mitogenesis in Prostatic Adenocarcinoma Cells. *Molecular cancer therapeutics*. 2002, 1(7), 515-524.
29. Keri R. A., S. Ho, P. A. Hunt, K. E. Knudsen, A. M. Soto and G. S. Prins. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A. *Reproductive Toxicology*. 2007, 24(2), 240-252.
30. Rutkowska A. and D. Rachon. Bisphenol A (BPA) and its potential role in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecological Endocrinology*. 2014, 30(4), 260-265.
31. Elobeid M.A. and D.B. Allison. Putative environmental-endocrine disruptors and obesity: a review. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2008, 15(5), 403.
32. Richter C. A., L. S. Birnbaum, F. Farabollini, R. R. Newbold, B. S. Rubin, C. E. Talsness, J. G. Vandenberg, D. R. Walser-Kuntz and F. S. vom Saal. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive toxicology*. 2007, 24(2), 199-224.
33. Soto, A. M., C. Sonnenschein, K. L. Chung, M. F. Fernandez, N. Olea and F. O. Serrano. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental health perspectives*. 1995, 103(7), 113.
34. Gibson R.L. Toxic Baby Bottles. Environment California Research and Policy Center. <http://www.environmentcalifornia.org/reports/environmental-health/environmental-health-reports/toxic-baby-bottles>. 2007.
35. Salachan P.V., D.N.C. Teja and A.P. Rajan. How safe are our babies? An insight on effect of bisphenol A (BPA) on development. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2014, 4(1), 92-96.
36. Cooper J.E., E. L. Kendig, and S. M. Belcher. Assessment of bisphenol A released from reusable plastic, aluminium and stainless steel water bottles. *Chemosphere*. 2011, 85(6), 943-947.
37. Howdeshell K. L., P. H. Peterman, B. M. Judy, J. A. Taylor, C. E. Orazio, R. L. Ruhlen, F. S. VomSaal, and W. V. Welshons. Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental Health Perspectives*, 2003. 111(9): 1180.
38. Aliprandini P., F. B. Ferreira, L. S. Bertol and W. Kindlein Júnior. Comparison of design, materials selection and characterization of pacifiers produced in Brazil. *The Australasian medical journal*. 2011, 4(2), 76.
39. Dyrektywa Komisji 2011/8/UE z dnia 28 stycznia 2011 r w odniesieniu do ograniczenia stosowania bisfenolu A w butelkach z tworzyw sztucznych do karmienia niemowląt
40. ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (WE) NR 10/2011z dnia 14 stycznia 2011 r. w sprawie materiałów i wyrobów z tworzyw sztucznych przeznaczonych do kontaktu z żywnością.
41. Opinia panelu naukowego ds. dodatków do żywności, środków aromatyzujących, substancji pomocniczych w przetwórstwie materiałów przeznaczonych do kontaktu z żywnością, wydana na wniosek Komisji, dotycząca 2,2-BIS(4-HYDROKSYFENYLO) PROPANU (bisfenolu A) pytanie nrEFA-Q-2005-100, przyjęta dnia 29 listopada 2006 r., *The EFSA Journal* (2006) 428, 1.
42. Sajiki J., K. Takahashi and J. Yonekubo. Sensitive method for the determination of bisphenol-A in serum using two systems of high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1999, 736(1), 255-261.
43. Ballesteros-Gómez A., S. Rubio and D. Pérez-Bendito. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. *Journal of Chromatography A*. 2009, 1216(3), 449-469.
44. Vandenberg L. N., R. Hauser, M. Marcus, N. Olea and W. V. Welshons. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*. 2007, 24(2), 139-177.
45. Fukata H., H. Miyagawa, N. Yamazaki and C. Mori. Comparison of ELISA and LC-MS-based methodologies for the exposure assessment of bisphenol A. *Toxicology mechanisms and methods*. 2006, 16(8), 427-430.
46. Sun Y., M. Irie, N. Kishikawa, M. Wada, N. Kuroda and K. Nakashim. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column switching and fluorescence detection. *Biomedical Chromatography*. 2004, 18(8), 501-507.
47. Katsumata H, S. Kawabe, S. Kaneco, T. Suzuki and K. Ohta. Degradation of bisphenol A in water by the photo-Fenton reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2004, 162(2-3), 297-305.
48. Yang X., P. Tian, C. Zhang, Y. Deng, J. Xu, J. Gong and Y. Han. Au/carbon as Fenton-like catalysts for the oxidative degradation of bisphenol A. *Applied Catalysis B: Environmental*. 2013, 134, 145-152.
49. Torres R. A., F. Abdelmalek, E. Combet, C. Pétrier and C. Pulgarin. A comparative study of ultrasonic cavitation and Fenton's reagent for bisphenol A degradation in deionised and natural waters. *Journal of hazardous materials*. 2007, 146(3), 546-551.