



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA EXPERIMENTAL



FERNANDA GONÇALVES COSTA

**Avaliação da toxicidade dos subprodutos de degradação por cloração do filtro
solar benzofenona-3**

Ouro Preto, 2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA EXPERIMENTAL



FERNANDA GONÇALVES COSTA

Avaliação da toxicidade dos subprodutos de degradação por cloração do filtro solar Bezofenona - 3

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto - MG, como requisito necessário à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador: Dr^a. Karina T. Santos Rubio

Coorientador: Dr^a. Amanda de Vasconcelos Quaresma

Ouro Preto, 2025

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C837a Costa, Fernanda Goncalves.
Avaliação da toxicidade dos subprodutos de degradação por cloração
do filtro solar oxibenzona. [manuscrito] / Fernanda Goncalves Costa. -
2025.
60 f.

Orientadora: Profa. Dra. Karina Rubio.
Coorientadora: Dra. Amanda Quaresma.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Testes de toxicidade. 2. Radiação solar. 3. Benzofenonas. 4.
Cloração. I. Rubio, Karina. II. Quaresma, Amanda. III. Universidade
Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 615.9

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernanda Gonçalves Costa

Avaliação da toxicidade dos subprodutos de degradação por cloração do filtro solar benzofenona-3

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Farmácia

Aprovada em 18 de março de 2025

Membros da banca

Dr^a. Karina Taciana Santos Rubio - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr^a. Amanda Vasconcelos Quaresma - Coorientadora - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Anieli dos Reis Teixeira - Universidade Federal de Ouro Preto
Dra. Quênia Janaina Tomaz de Castro - Universidade Federal de Ouro Preto

Karina Taciana Santos Rubio, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 10/04/2025



Documento assinado eletronicamente por **Karina Taciana Santos Rubio, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 10/04/2025, às 08:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0893669** e o código CRC **7C3F0C95**.

Dedico mais essa etapa vencida,
aos meus pais, familiares e aos
meus mestres Karina e Amanda
por todo o apoio....

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais, Auxiliadora e Eder, pelo amor incondicional e por serem minha base em todos os momentos. Ao meu irmão, Gabriel, pelo companheirismo e apoio constante ao longo dessa jornada, e ao meu namorado, Lucas, pela paciência, compreensão e incentivo que tornaram cada etapa mais leve e possível.

Sou grata também aos amigos que fizeram parte dessa trajetória, em especial a Beatriz. Obrigada pelo suporte nos momentos de desafio, pelas trocas de conhecimento e pela parceria que tornaram os anos de estudo mais enriquecedores e significativos.

Um agradecimento especial à minha orientadora, Dr^a. Karina Rubio, e à minha co-orientadora, Dr^a. Amanda Quaresma, que com sua experiência, dedicação e apoio foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, orientando cada etapa com sabedoria e generosidade.

Agradeço à Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) por oferecer um ambiente de excelência acadêmica e as condições necessárias para a realização deste trabalho. Em especial, à Escola de Farmácia da UFOP, onde recebi uma formação sólida, com oportunidades de aprendizado e crescimento que foram essenciais para minha formação profissional e pessoal.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

Resumo

Como avanço do aquecimento global, a exposição à radiação solar tem aumentado, levando ao uso mais frequente de filtros solares. Um dos ingredientes comuns nesses produtos é a oxibenzona, substância que vem despertando preocupações devido a seus possíveis efeitos tóxicos para a saúde humana e o meio ambiente. A oxibenzona, pertencente à classe das benzofenonas, tem sido detectada em diversos ambientes aquáticos. Quando em contato com água clorada, como nas estações de tratamento, ela forma subprodutos de degradação que podem ser ainda mais tóxicos que o composto original. Apesar disso, esses subprodutos não são devidamente monitorados e ainda são escassos os estudos sobre seus efeitos tóxicos. Este projeto teve como objetivo identificar os subprodutos formados a partir da cloração da oxibenzona e avaliar sua toxicidade aguda *in vitro*. Utilizando espectrometria de massas, foi identificado um subproduto monoclorado (263 m/z). A citotoxicidade da oxibenzona e de seus subprodutos foi avaliada nas linhagens celulares L-929 (camundongo) e MRC-5 (humana), em 24 e 48 horas, pelo método da sulforodamina B. Os resultados mostraram que os subprodutos apresentaram maior toxicidade em concentrações mais baixas, com geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e danos celulares mais intensos. Já a oxibenzona íntegra apresentou toxicidade dependente da dose, com maior impacto em concentrações elevadas. Após 48 horas, observou-se recuperação celular, sugerindo ação de mecanismos antioxidantes e transformação metabólica para compostos menos reativos. Comparando as linhagens, os fibroblastos humanos (MRC-5) mostraram maior sensibilidade, enquanto os de camundongos (L-929) foram mais resistentes, refletindo suas características genéticas e metabólicas. Diante dos achados, recomenda-se a inclusão desses subprodutos nas listas de substâncias monitoradas, devido ao seu potencial risco à saúde humana.

Palavras-chave: Benzofenona-3, Cloração, Subprodutos, Citotoxicidade, Filtro Solar.

Abstract

With the progression of global warming, exposure to solar radiation has increased, leading to more frequent use of sunscreens. One of the common ingredients in these products is oxybenzone, a substance that has raised concerns due to its potential toxic effects on human health and the environment. Oxybenzone, which belongs to the benzophenone class, has been detected in various aquatic environments. When it comes into contact with chlorinated water, such as in treatment plants, it forms degradation by-products that may be even more toxic than the original compound. However, these by-products are not properly monitored, and studies on their toxic effects are still scarce. This project aimed to identify the by-products formed from the chlorination of oxybenzone and evaluate their acute in vitro toxicity. Using mass spectrometry, a monochlorinated by-product (263 m/z) was identified. The cytotoxicity of oxybenzone and its by-products was assessed in L-929 (mouse) and MRC-5 (human) cell lines at 24 and 48 hours using the sulforhodamine B assay. The results showed that the by-products were more toxic at lower concentrations, generating reactive oxygen species (ROS) and causing more severe cellular damage. In contrast, intact oxybenzone exhibited dose-dependent toxicity, with greater effects at higher concentrations. After 48 hours, a recovery in cell viability was observed, suggesting the action of antioxidant mechanisms and metabolic transformation into less reactive compounds. When comparing the cell lines, human fibroblasts (MRC-5) showed greater sensitivity, while mouse fibroblasts (L-929) were more resistant, reflecting their genetic and metabolic characteristics. Based on these findings, it is recommended that these by-products be included in monitoring lists due to their potential risk to human health.

Keywords: Benzophenone-3, Chlorination, By-products, Cytotoxicity, Sunscreen.

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1: Estrutura Geral das Benzofenonas | 14 |
| Figura 2: Estrutura Molecular da Benzofenona 3 | 15 |
| Figura 3: Estrutura Molecular da Benzofenona 4 | 16 |
| Figura 4: Estrutura Molecular da Benzofenona 8 | 16 |
| Figura 5: Estrutura Molecular da Benzofenona 9 | 18 |
| Figura 6: Subprodutos da Oxibenzona formados a partir da cloração | 26 |
| Figura 7: Esquema do experimento de cloração | 32 |
| Figura 8: Espectro adquirido por espectrometria de massas no modo de riquesa MRM evidenciando os íons positivos da oxibenzona sem degradação por cloração..... | 35 |
| Figura 9: Gráfico de Degradação da Oxibenzona por cloração | 36 |
| Figura 10: Estrutura da Oxibenzona Monoclorada | 38 |
| Figura 11: Espectro de massas obtido após 30 min de tratamento | 39 |
| Figura 12: Relação isotópica no espectro de massa obtido após 30 min de tratamento..... | 40 |
| Figura 13: Gráfico relação diferença estatística do Controle Solvente nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 44 |
| Figura 14: Gráfico relação diferença estatística da Oxibenzona nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 44 |
| Figura 15: Gráfico relação diferença estatística do Controle não tratado nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 45 |
| Figura 16: Gráfico relação diferença estatística do Controle Solvente após as 48hrs da linhagem MRC-5 | 46 |
| Figura 17: Gráfico relação diferença estatística do Oxibenzona após as 48hrs da linhagem MRC-5 | 46 |
| Figura 18: Gráfico relação diferença estatística do Controle não tratado após as 48hrs da linhagem MRC-5 | 46 |
| Figura 19: Gráfico relação diferença estatística do Subproduto após as 48hrs da linhagem MRC-5 | 47 |
| Figura 20: Gráfico relação diferença estatística do Controle Solvente nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 50 |
| Figura 21: Gráfico relação diferença estatística da Oxibenzona nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 50 |

| | |
|--|----|
| Figura 22: Gráfico relação diferença estatística do Controle não tratado nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 51 |
| Figura 23: Gráfico relação diferença estatística dos Subprodutos nas primeiras 24hrs da linhagem MRC-5 | 51 |
| Figura 24: Gráfico relação diferença estatística do Controle Solvente nas primeiras 24hrs da linhagem L-929 | 53 |
| Figura 25: Gráfico relação diferença estatística do Oxibenzona nas primeiras 24hrs da linhagem L-929 | 54 |
| Figura 26: Gráfico relação diferença estatística do Controle não tratado nas primeiras 24hrs da linhagem L-929 | 54 |

Lista de tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Tabela de Dados de Detecção de Oxibenzona | 22 |
| Tabela 2: Tabela de Estudos referente a Cloração da Oxibenzona..... | 40 |
| Tabela 3: Relação das diferenças estatísticas nas primeiras 24hrs na linha MRC-5.43 | |
| Tabela 4: Relação das diferenças estatísticas nas primeiras 48hrs na linha MRC-5..45 | |
| Tabela 5: Relação das diferenças estatísticas nas primeiras 24hrs na linha L-929..... | 49 |
| Tabela 6: Relação das diferenças estatísticas nas primeiras 48hrs na linha L-929 | 51 |

Lista de Siglas

UV - Ultravioleta

UVA - Ultravioleta A

UVB - Ultravioleta B

UVC - Ultravioleta C

TiO₂ - Dióxido de titânio

ZnO - Óxidos de zinco

BP-3 - 2-hidroxi-4-metil-metilbenzofenona

EHMC - 3-(4-metoxifenil)-2- ácido propenóico 2-etil-hexilo ester

4-MBC - 3-(4-metil-benzylidene) bornan-2-um

OC - 2-ciano-3,3-difenil-2-ácido propenóico 2-etil-hexilo ester

HAAs - Ácidos haloacéticos

LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas

GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

TCAA - Ácido tricloroacético

SIM - Monitoramento de íons selecionados

MRC-5 - Fibroblastos humanos (*Human Fetal Lung Fibroblasts*)

L-929 - Fibroblastos de camundongos (*Mouse Fibroblasts*)

Meio RPMI - Meio *Roswell Park Memorial Institute* (um meio de cultura de células utilizado para o crescimento de células eucarióticas)

CO₂ - Dióxido de Carbono

SRB - Sulforrodamina B (um corante utilizado em ensaios de viabilidade celular)

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio (ROS - *Reactive Oxygen Species*)

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

Sumário

| | |
|--|-----------|
| 1. Revisão de Literatura | 15 |
| 1.1 Filtros Solares | 15 |
| 1.2 Benzofenonas | 16 |
| 1.3 Potenciais Efeitos da Oxibenzona na Saúde Humana | 20 |
| 1.4 Impactos Ambientais Associados à Oxibenzona | 23 |
| 1.5 Cloração da Oxibenzona | 26 |
| 2. Justificativa | 30 |
| 3. Objetivos | 32 |
| 3.1 Objetivo Geral | 32 |
| 3.2 Objetivo Específico | 32 |
| 4. Materiais e Métodos | 33 |
| 4.1 Reagente Utilizados | 33 |
| 4.2 Lavagem das Vidrarias | 33 |
| 4.3 Preparo das Soluções para cloração da Oxibenzona | 33 |
| 4.4 Experimento de cloração | 34 |
| 4.5 Identificação dos subprodutos de cloração da oxibenzona | 35 |
| 4.6 Ensaio de Citotoxicidade | 37 |
| 4.7 Análise estatística | 38 |
| 5. Resultados e Discussão | 39 |
| 5.1 Degradação da oxibenzona | 39 |
| 5.2 Identificação de Subprodutos de degradação | 42 |
| 5.3 Experimento de Avaliação da citotoxicidade dos subprodutos de degradação em células | 46 |
| 5.3.1 Teste de estabilidade | 46 |
| 5.3.2 Citotoxicidade dos subprodutos de degradação em célula | 46 |
| 6. Conclusão | 54 |
| 7. Referências | 56 |

1. Revisão de Literatura

1.1. Filtros solares

A proteção contra os efeitos nocivos da radiação solar tem se tornado um tema de crescente interesse na área da saúde pública, dada a alta incidência de doenças cutâneas, como o câncer de pele. O uso de filtros solares é uma das principais estratégias recomendadas para prevenir os danos causados pela exposição ao sol. Esses produtos atuam absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação ultravioleta (UV), especialmente os raios UVB e UVA, que são conhecidos por causar queimaduras solares, envelhecimento precoce da pele e danos ao DNA celular (Oliveira; Souza; Lima, 2018).

Diferentes tipos de radiação ultravioleta incluem UVA, UVB e UVC, sendo que apenas a UVC é completamente absorvida pela atmosfera terrestre. Os raios UVB são os principais causadores de eritemas, enquanto os raios UVA penetram mais profundamente na pele, promovendo o fotoenvelhecimento. Diversos estudos que avaliam a eficácia dos filtros solares demonstram que a utilização adequada desses produtos é essencial para a redução de efeitos como a formação de eritemas e outros danos cutâneos (Calafat et al., 2008).

Os filtros solares físicos, também conhecidos como filtros minerais, atuam refletindo e dispersando a radiação UV. Eles são principalmente formulados com dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO), substâncias que criam uma barreira física na superfície da pele (Pereira et al. 2021). Por oferecerem proteção ampla contra os raios UVA e UVB, são recomendados para pessoas com pele sensível, como crianças e indivíduos com tendência a alergias. Além disso, esses filtros são considerados menos irritantes e mais estáveis à luz, mantendo sua eficácia por mais tempo em comparação com os filtros químicos (Santos et al., 2020).

Por outro lado, os filtros solares químicos e físicos, que absorvem a radiação UV e a convertem em calor, protegem a pele de danos celulares. Os filtros solares químicos compostos por substâncias orgânicas como oxibenzona, avobenzona e octocrileno, que absorvem raios UVB ou UVA. No entanto, existem preocupações sobre o potencial alergênico de alguns ingredientes e os possíveis impactos hormonais associados ao uso prolongado de certas substâncias, como a oxibenzona (Kim et al., 2014).

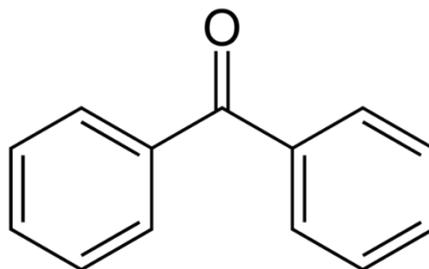
Os avanços tecnológicos também permitiram o desenvolvimento de filtros

solares com ação antioxidante, destinados a combater os radicais livres formados pela exposição à radiação UV. Esses filtros são enriquecidos com substâncias como a vitamina E e polifenóis, que potencializam a proteção solar ao neutralizar os efeitos do estresse oxidativo induzido pelos raios solares. A inclusão de antioxidantes nos protetores solares tem sido amplamente estudada, apresentando resultados promissores na redução do fotoenvelhecimento e dos danos ao DNA celular (Beltran et al., 2009).

1.2. Benzofenonas

As benzofenonas são compostos orgânicos de grande relevância nas indústrias farmacêutica, cosmética e química, devido à sua capacidade de absorver a radiação ultravioleta (UV), atuando como filtros solares e estabilizadores em produtos que estão expostos à luz solar. A estrutura química das benzofenonas, composta por um núcleo de cetona associado a dois anéis fenólicos (Figura 1), lhes confere uma função protetora contra os danos causados pela radiação UV, o que explica sua ampla aplicação em protetores solares, cosméticos, plásticos e tintas (Xavier et al., 2020).

Figura 1: Estrutura Geral da Benzofenonas



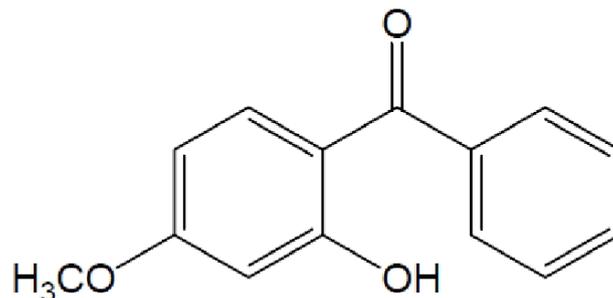
Fonte: Autora, 2024

As benzofenonas são compostos orgânicos pertencentes à classe dos filtros solares e amplamente utilizados na indústria cosmética, principalmente em produtos de proteção solar. Sua principal função é proteger a pele contra a radiação ultravioleta (UV), absorvendo os raios UV-A (320-400 nm) e UV-B (280-320 nm). Essa proteção é essencial para prevenir queimaduras solares, envelhecimento precoce e a incidência de câncer de pele, principalmente melanoma. (SILVA, Aline dos Santos)

Existem diversas benzofenonas no mercado, sendo que as mais conhecidas e utilizadas em cosméticos e protetores solares incluem:

- Benzofenona-3 (Oxibenzona): Este composto é um dos filtros solares mais comuns e está presente em uma ampla variedade de produtos. A benzofenona-3 (Figura 2) é eficaz na absorção de radiação UV-B e parte da UV-A, sendo, por isso, amplamente utilizada em protetores solares. Estudos como o de Downs et al. (2016) apontam que a benzofenona 3 tem gerado preocupações ambientais, uma vez que sua presença em ecossistemas marinhos pode contribuir para o branqueamento de corais e outros danos ecológicos. Outro estudo, de Schlumpf et al. (2010), relacionou a benzofenona-3 a potenciais efeitos desreguladores endócrinos em humanos, uma vez que ela pode interferir no sistema hormonal.

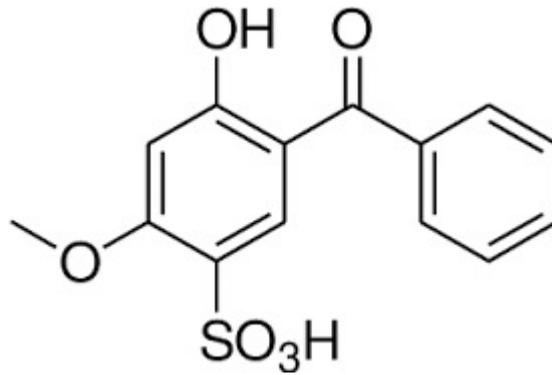
Figura 2: Estrutura Molecular da Benzofenona 3



Fonte: Autora, 2024

- Benzofenona-4 (Sulisobenzona): Assim como a benzofenona-3, a benzofenona-4 (Figura 3) é utilizada em uma ampla gama de cosméticos. É mais solúvel em água e, por isso, é frequentemente incorporada em formulações de proteção solar à base de água. Estudos de Wang et al. (2020) indicam que a benzofenona-4 possui uma excelente estabilidade em formulações aquosas, o que aumenta sua eficácia e durabilidade em produtos de uso prolongado, como os protetores solares.

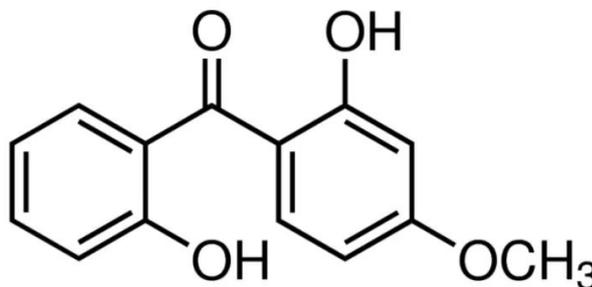
Figura 3: Estrutura Molecular da Benzofenona 4



Fonte: Autora, 2024

- Benzofenona-8 (Dioxibenzona) (Figura 4): Este filtro solar, apesar de menos popular que os demais, é extremamente eficaz na absorção de UV-B e UV-A, sendo utilizado em produtos específicos para pele sensível ou em condições de exposição solar extrema. A alta capacidade de absorção da benzofenona-8 foi documentada por Sahu et al. (2013), que reforça seu papel como um dos filtros UV mais potentes.

Figura 4: Estrutura Molecular da Benzofenona 8



Fonte: Autora, 2024

As benzofenonas possuem uma estrutura química que consiste em dois anéis aromáticos ligados por um grupo carbonila (C=O). Essa estrutura lhes confere a capacidade de absorver eficientemente a radiação UV. Modificações nas substituições desses anéis aromáticos permitem ajustar suas propriedades de solubilidade e fotoproteção. Como por exemplo, a benzofenona-3, possui grupos hidroxila que aumentam sua solubilidade em água e sua capacidade de absorver radiação UV, enquanto a benzofenona-4 contém grupos sulfônicos, o que a torna

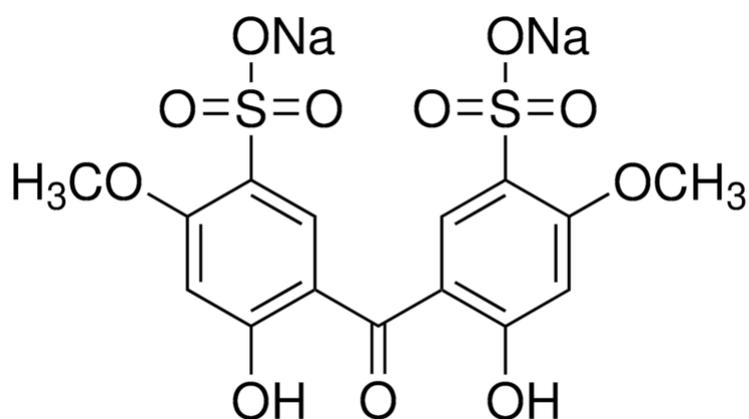
ainda mais solúvel em água e versátil em formulações aquosas.

Zago (2015) analisou as propriedades das benzofenonas e destacou a importância de suas estruturas químicas para a eficiência na proteção contra a radiação UV. Segundo o autor, a adição de grupos funcionais nos anéis aromáticos das benzofenonas pode melhorar significativamente sua capacidade de absorção de radiação, tornando-as eficazes em um espectro mais amplo.

Altas concentrações de derivados de benzofenonas têm sido identificadas em afluentes e efluentes de diversos países, evidenciando um desafio para as estações de tratamento de água na remoção dessas substâncias e sua tendência a persistir no meio ambiente. Essa persistência está associada à alta solubilidade em água e ao relativamente baixo coeficiente de partição octanol-água das benzofenonas. Em particular, a benzofenona-3 (BP-3) tem uma solubilidade em água de 68,56 mg/L a 25°C, o que complica ainda mais sua remoção eficaz nas estações de tratamento de água, pois compostos com maiores valores de Kow e menor solubilidade em água são removidos mais eficientemente por se adsorverem aos sedimentos nas etapas iniciais do tratamento (Balmer et al., 2005).

A eficácia das benzofenonas em produtos fotoprotetores é bem documentada, com estudos mostrando sua capacidade de reduzir significativamente os danos celulares causados pela exposição solar. Além disso, a utilidade das benzofenonas em embalagens plásticas tem sido destacada por sua eficiência em prevenir a degradação dos polímeros pela radiação UV, prolongando a vida útil dos produtos. Essa propriedade torna as benzofenonas amplamente utilizadas em várias indústrias, o que aumenta sua presença no meio ambiente (Frederiksen et al., 2013). Por exemplo, a benzofenona-9 (Figura 5) é utilizada como estabilizante em plásticos, embalagens e tintas, para evitar a degradação provocada pela luz solar (Zago, 2015). No entanto, a crescente conscientização sobre os impactos ambientais e de saúde pública tem gerado uma busca por alternativas mais seguras.

Figura 5: Estrutura Molecular da Benzofenona 9



Fonte: Autora, 2024

Além disso, alguns estudos sugerem que as benzofenonas podem ser absorvidas pela pele e acumuladas no corpo humano, o que levanta preocupações sobre potenciais efeitos sistêmicos. Um estudo de Zago (2015) também mencionou o risco de sensibilização cutânea em algumas pessoas, o que torna o uso desses compostos mais delicado em certos grupos da população. Schlumpf e colaboradores (2010) também reforçam a necessidade de maior investigação sobre os potenciais efeitos desreguladores endócrinos, principalmente em crianças e gestantes.

A segurança das benzofenonas, especialmente a benzofenona-3, tem sido alvo de estudos e regulações. A *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos, permite o uso de oxibenzona em concentrações de até 6% em produtos de proteção solar. No entanto, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) é mais cautelosa e recomenda a proibição de seu uso (Resolução B8-2343/2015). Além disso, em alguns locais como Havaí (EUA) (Lei do Senado nº 2571 (SB 2571)) e no Arquipélago de Palau (Oceano Pacífico) (Lei RPPL nº 10-30), já proibiram o uso de oxibenzona em protetores solares devido aos impactos ambientais.

1.3. Potenciais Efeitos da Oxibenzona na Saúde Humana

A oxibenzona (benzofenona-3) é um filtro solar amplamente utilizado em produtos de proteção contra radiação ultravioleta (UV), sendo eficaz na absorção de raios UVB e parcialmente UVA. No entanto, sua aplicação tópica tem levantado preocupações em relação à absorção pela pele e os potenciais efeitos citotóxicos, o

que tem sido discutido em diversos estudos. Pesquisas recentes sugerem que a oxibenzona pode atravessar a barreira cutânea, ser absorvida sistemicamente e exercer efeitos biológicos indesejáveis, inclusive toxicidade celular.

Schulmpf e colaboradores (2001) investigaram os efeitos da exposição cutânea à oxibenzona em roedores, concluindo que o composto pode agir como um disruptor endócrino. Os resultados mostraram que a oxibenzona tem a capacidade de mimetizar os estrogênios no organismo, alterando o desenvolvimento reprodutivo e o funcionamento hormonal em animais de laboratório. Essa descoberta abriu caminho para uma série de estudos sobre o potencial de disrupção endócrina da oxibenzona em humanos (Schlumpf et al. 2001).

Estudos demonstram que a oxibenzona pode ser absorvida pela pele e, uma vez no organismo, pode se acumular em diferentes tecidos. Em uma investigação realizada por Calafat e colaboradores (2008), foi detectada a presença de oxibenzona na urina de 96% dos participantes do estudo, indicando que o composto é rapidamente absorvido pelo corpo após o uso de filtros solares. Isso levantou preocupações sobre seu potencial como disruptor endócrino, uma vez que pesquisas sugerem que a oxibenzona pode imitar o estrogênio, interferindo no sistema hormonal e causando desequilíbrios que podem levar a problemas reprodutivos, especialmente em gestantes e crianças (Krause et al., 2012).

Um estudo realizado por Matta e colaboradores (2019) também reforçou essas preocupações. Os pesquisadores avaliaram a absorção de ingredientes ativos de filtros solares, incluindo a oxibenzona, em condições de uso máximo e descobriram que os níveis de oxibenzona no sangue ultrapassaram os limites de segurança estabelecidos pela FDA. Embora ainda não haja consenso sobre os efeitos a longo prazo da exposição contínua a essa substância, os resultados sugerem a necessidade de uma revisão mais profunda sobre o uso seguro da oxibenzona em produtos de uso diário (Matta et al. 2019).

Em 2018, Kim e Choi publicaram uma revisão sistemática dos efeitos da oxibenzona na saúde humana, enfatizando sua capacidade de atravessar a pele e entrar na corrente sanguínea. Eles citaram pesquisas que indicam a presença de oxibenzona na urina e no leite materno, sugerindo que a exposição a longo prazo, mesmo em concentrações consideradas seguras, pode resultar em bioacumulação e potenciais riscos à saúde. Esses riscos incluem alterações hormonais, sensibilização alérgica e, em alguns casos, impactos no sistema reprodutivo masculino, como

sugerido por (Kunisue et al. 2012).

A absorção tópica da oxibenzona foi amplamente demonstrada em humanos. Um estudo conduzido por Krause e colaboradores (2012) mostrou que a oxibenzona, após aplicação tópica de protetores solares, foi detectada no plasma sanguíneo e na urina dos voluntários, evidenciando uma absorção sistêmica significativa. Esse estudo corroborou achados anteriores, como os de Gonzalez e colaboradores (2006), que identificaram a presença de oxibenzona no leite materno, sugerindo que a substância pode atravessar a barreira dérmica e se acumular em tecidos corporais. A estrutura da oxibenzona, com peso molecular relativamente baixo (228,24 g/mol), e suas propriedades lipofílicas facilitam sua penetração nas camadas externas da pele, ultrapassando a barreira da camada córnea (Sarveiya et al., 2004).

Diversos estudos *in vitro* indicam que a oxibenzona pode exercer efeitos citotóxicos em células da pele, como queratinócitos e melanócitos. Heneweer e colaboradores (2005) demonstraram que a oxibenzona pode atuar como um disruptor endócrino, mimetizando o estrogênio e afetando a homeostase celular. Esse mecanismo pode levar a alterações nas vias de sinalização intracelular, afetando a proliferação e a sobrevivência celular.

Além disso, na União Europeia uma lista exaustiva de 7074 desreguladores endócrinos foram compilada pelo PARC T4.2 e encontramos a benzofenona dentro desses compostos na posição 181° (Zenodo).

Estudos também sugerem que a oxibenzona pode gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) quando fotoativada pela radiação UV, causando estresse oxidativo e danos ao DNA celular. Hayden e colaboradores (2005) observaram que a exposição de queratinócitos humanos à oxibenzona sob irradiação UV levou ao aumento da produção de EROs, o que contribuiu para o aumento da apoptose celular. Esses efeitos podem, a longo prazo, estar associados ao desenvolvimento de câncer de pele, uma vez que o estresse oxidativo é um fator bem documentado na carcinogênese (Henson et al., 2002).

Além dos efeitos citotóxicos diretos, a oxibenzona também foi associada à imunossupressão cutânea. González e colaboradores (2017) verificaram que a exposição prolongada à substância compromete a função imunológica da pele, tornando-a mais suscetível a infecções e a outros danos ambientais. A bioacumulação da oxibenzona em tecidos humanos, incluindo o tecido adiposo e o fígado, também foi observada, sugerindo um possível efeito cumulativo que pode ser prejudicial em

longo prazo (Janjua et al., 2008).

O uso tópico de oxibenzona e sua absorção sistêmica levantam preocupações sobre seus potenciais efeitos adversos em humanos. Estudos com modelos animais sugerem que a oxibenzona pode ter efeitos nocivos no desenvolvimento embrionário, função reprodutiva e hormonal. Um estudo de Schlumpf e colaboradores (2004) demonstrou que ratos expostos à oxibenzona durante a gestação e lactação apresentaram alterações no desenvolvimento sexual de seus filhotes, evidenciando o potencial disruptivo da substância sobre o sistema endócrino.

Além disso, a oxibenzona tem sido implicada em distúrbios de fertilidade, conforme demonstrado por Wang et al. (2016), que observaram que a exposição à oxibenzona em altas doses resultou em disfunções espermatogênicas e diminuição da qualidade do sêmen em ratos machos.

Em humanos, embora os dados sobre os efeitos reprodutivos sejam limitados, o estudo de Zhang et al. (2020) destacou que a presença de oxibenzona no sangue materno foi associada a menores pesos ao nascer em bebês, sugerindo que a exposição pré-natal à substância pode impactar negativamente o desenvolvimento fetal.

1.4. Impactos Ambientais Associados à Oxibenzona

A oxibenzona (benzofenona-3), amplamente utilizada em protetores solares para proteger a pele contra os raios UV, tem sido alvo de estudos devido à sua presença crescente em ambientes aquáticos e estações de tratamento de água. A substância é considerada um contaminante emergente, e suas consequências ambientais e para a saúde humana vêm sendo amplamente investigadas.

A crescente popularidade de produtos cosméticos contendo oxibenzona, especialmente em áreas costeiras, tem gerado um aumento nas concentrações dessa substância em oceanos e corpos d'água próximos a zonas turísticas. De acordo com Downs e colaboradores (2016), até 14.000 toneladas de protetores solares são liberados nos oceanos a cada ano, com a oxibenzona sendo uma das substâncias mais prevalentes.

O impacto da oxibenzona em ambientes marinhos, particularmente nos recifes de corais, tem sido amplamente documentado. A substância foi identificada como um fator contribuidor para o branqueamento de corais e outros efeitos prejudiciais à vida

marinha. Estudos de Downs e colaboradores (2016) detectaram concentrações de até 1,4 ng/L de oxibenzona em locais de recifes próximos ao turismo intenso, como no Caribe e Havaí, que são níveis altamente prejudiciais para a fauna marinha.

Além disso, a oxibenzona afeta o desenvolvimento de organismos marinhos, como moluscos, algas e peixes, atuando como disruptor endócrino, conforme apontado por Giokas e colaboradores (2007). Em regiões do Mar Mediterrâneo, por exemplo, concentrações de oxibenzona em águas superficiais variaram de 30 a 300 ng/L, de acordo com Balmer e colaboradores (2005).

A presença de oxibenzona nas estações de tratamento de esgoto (ETEs) tem revelado que essa substância não é completamente removida durante os processos de tratamento convencionais. De acordo com Liu et al. (2012), a remoção da oxibenzona varia entre 20% e 60% nas ETEs, com uma grande parte sendo descarregada diretamente nos corpos d'água, o que representa um risco ambiental.

Um estudo realizado por Tsui e colaboradores (2014) em Hong Kong encontrou concentrações de oxibenzona de 120 a 270 ng/L no efluente tratado das ETEs, demonstrando que os tratamentos convencionais de ETEs não são completamente eficazes na remoção dessa substância. Na Espanha, um estudo de Balderas e colaboradores (2018) identificou que o tratamento terciário pode melhorar a remoção da oxibenzona, mas concentrações de 80 a 150 ng/L ainda foram detectadas no efluente final.

A oxibenzona também tem sido detectada em pontos de captação de água potável, levantando preocupações sobre a exposição crônica da população a baixas concentrações dessa substância. Em um estudo de Zhan e colaboradores (2013) na China, amostras de água coletadas de fontes de abastecimento público revelaram concentrações variando entre 5 e 25 ng/L, sugerindo que a oxibenzona pode passar pelos processos de purificação de água.

Na França, Pignotti e colaboradores (2020) encontraram concentrações semelhantes em rios utilizados para captação de água, com valores variando de 7 a 30 ng/L. Esses resultados reforçam a necessidade de aprimorar os sistemas de tratamento de água, uma vez que os efeitos a longo prazo da exposição a contaminantes emergentes, como a oxibenzona, ainda não são completamente compreendidos.

Na Tabela 1, estão relacionados diversos estudos que demonstraram a concentração de oxibenzona em diferentes localidades.

Tabela 1: Tabela de Dados de Detecção de Oxibenzona em Diferentes Fontes

| Local de Coleta | Concentração Detectada | Referência |
|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| Recifes de Corais (Havaí e Caribe) | Até 1,4ng /mL | Downs et al. 2019 |
| Águas costeiras (Mar Mediterrâneo) | 30 a 300 ng /L | Balmer et al. 2005 |
| ETEs em Hong Kong | 120 a 270 ng /L (efluente tratado) | Tsui et al. 2014 |
| ETEs na Espanha | 80 a 150 ng /L (Efluente tratado) | Balderas et al. 2018 |
| Captação de água potável (China) | 5 a 25 ng /L | Zhan et al. 2013 |
| Captação de água potável (França) | 7 a 30 ng /L | Pignotti et al. 2020 |
| ETEs na Alemanha | 30 a 120 µg /L | Schlusener et al. 2014 |
| Rios Costeiros (Espanha) | 10 a 100 ng /L | Sánchez Rodriguez et al. 2015 |
| Águas de captação (Alemanhã) | 10 a 50 ng /L | Schlusener et al. 2014 |

Fonte: Autora, 2024

Além das questões de saúde humana, o impacto ambiental das benzofenonas, especialmente da oxibenzona, tem gerado grande preocupação. Estudos recentes mostraram que essa substância é altamente tóxica para organismos marinhos, especialmente para os corais. Downs e colaboradores (2016) descobriram que a oxibenzona contribui para o branqueamento dos corais, deformação do DNA, e interfere no desenvolvimento de corais jovens, reduzindo sua capacidade de regeneração e aumentando sua suscetibilidade a doenças. Mesmo em baixas concentrações (2,4 - 312 µg/L), a BP-3 pode afetar o sistema endócrino alterando a expressão de genes envolvidos na regulação hormonal de peixes adultos e embriões (Bluthgen; Zucchi; Fent, 2012). É necessário enfatizar que os riscos associados à presença dessa substância em organismos aquáticos têm sido insuficientemente estudados e focados principalmente na avaliação das alterações endócrinas em peixes (Rodriguez-Fuentes e colaboradores et al., 2015).

Os danos ambientais causados pela oxibenzona levaram a ações regulatórias em algumas partes do mundo. Em 2018, o Havaí tornou-se o primeiro estado dos Estados Unidos a banir a venda de protetores solares contendo oxibenzona, com o objetivo de proteger os ecossistemas de corais da região. Medidas semelhantes foram adotadas por outros países e territórios insulares, como Palau e as Ilhas Virgens Americanas, que também restringiram o uso de filtros solares contendo oxibenzona (Danovaro et al., 2019).

Recentemente, a Academia Nacional de Ciências, Engenharia e Medicina Americana (NASEM), foi designada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados

Unidos (USEPA), para determinar as falhas de avaliação dos riscos oferecidos pelos filtros-UV tanto em água potável quanto em água marinha com o objetivo de determinar o impacto na saúde pública relacionado ao amplo uso dessas substâncias (Nasem, 2020). Embora os estudos publicados foquem nos impactos da presença dos filtros-UV no ambiente marinho, esses produtos também são utilizados diariamente em ambiente urbano podendo atingir as estações de tratamento de água (ETAs) e, conseqüentemente, águas doces (Burns e colaboradores 2021). Altos níveis de oxibenzona foram detectados em água para propósitos recreacionais. A concentração de BP-3 encontrada em água de piscinas na Grécia e Alemanha foi de 2,4 - 3,3 µg/L e 1,2 µg/L, respectivamente (Lambropoulou; Giokas; Aakkas; Albanis et al., 2002; Zwiener; Richardson; Demarini; Grummt et al., 2007).

1.5. Cloração da Oxibenzona

A preocupação com a presença de filtros solares no ambiente marinho e em efluentes tem sido crescente entre os pesquisadores, entretanto, ainda há poucas informações disponíveis sobre a incidência, o comportamento e o destino desses compostos nas estações de tratamento de água (Zhang et al., 2018). Isso torna relevante a investigação dos filtros solares e de seus subprodutos nas plantas de tratamento, bem como a análise de suas potenciais formas de toxicidade.

De acordo com Oliveira, Silva e Mendes (2016), as etapas do tratamento convencional de água incluem coagulação, floculação, sedimentação, filtração, desinfecção e fluoretação. Entre esses processos, a cloração é a técnica de desinfecção mais amplamente utilizada no mundo. Sua eficiência em eliminar patógenos microbiológicos torna-se indispensável, apesar dos riscos de formação de subprodutos nocivos (Fernandes et al., 2019).

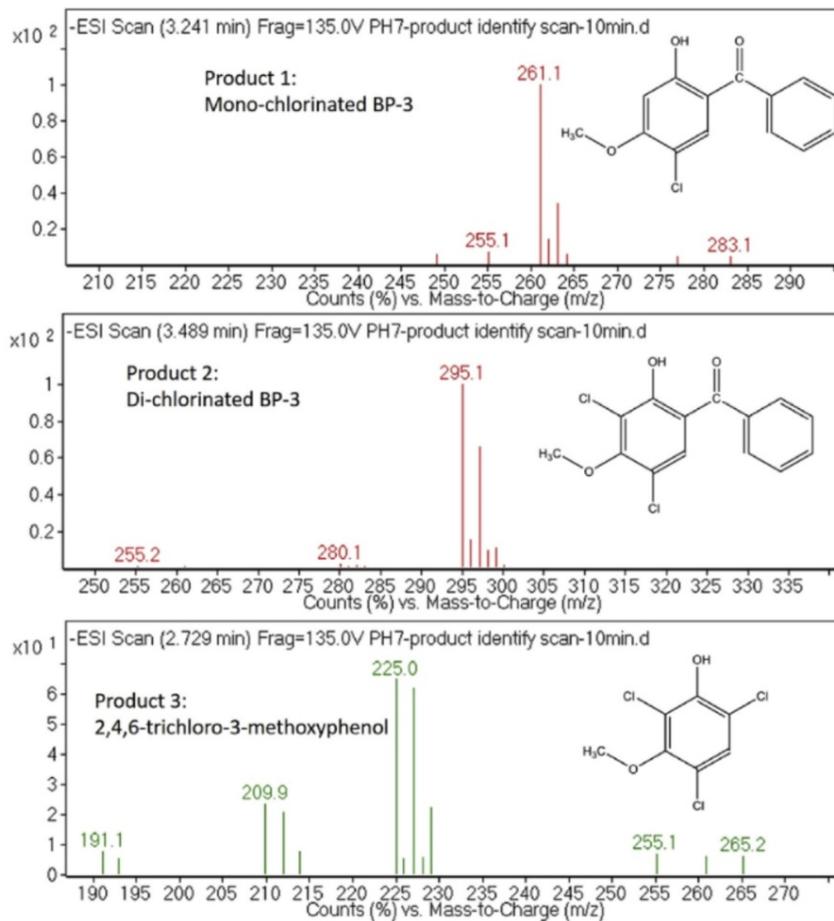
Ainda que o uso do cloro seja necessário para garantir a qualidade da água potável, estudos como o de Johnson e colaboradores (2013) mostraram que compostos como dioxibenzona, oxibenzona e sulisobenzona podem sofrer cloração, resultando em uma diminuição de sua capacidade de absorção de raios UV. Além desse comprometimento funcional, os subprodutos formados pela reação entre o cloro e a oxibenzona, em uma proporção de 3:1, podem apresentar níveis consideráveis de toxicidade (Martínez et al., 2017).

A toxicidade de diversas benzofenonas antes e após o processo de cloração

foi avaliada por Zhang e colaboradores (2015) utilizando bioensaios com bactérias bioluminescentes. Os resultados indicaram um aumento da toxicidade de uma das benzofenonas testadas, devido às substituições químicas e à reatividade dos seus subprodutos clorados. Isso corrobora a necessidade de maior monitoramento desses compostos no ciclo de tratamento de água (Yang et al., 2020).

A identificação dos subprodutos de cloração da BP-3 (benzofenona-3) é geralmente realizada por técnicas como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas. No entanto, compostos voláteis, como o clorofórmio, são mais comumente quantificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (Lee et al., 2016). Esses métodos são essenciais para compreender a extensão da formação de subprodutos tóxicos em sistemas de tratamento de água e efluentes. A cloração da oxibenzona, resulta na formação de subprodutos (Figura 6) que podem ser mais tóxicos do que oxibenzona, composto original. Durante o processo de tratamento de água, esses subprodutos podem ser gerados devido à interação da oxibenzona com o cloro presente nas etapas de desinfecção. Estudos indicam que os subprodutos halogenados formados durante a cloração apresentam riscos consideráveis, pois podem ser mais resistentes à degradação e exibir maior toxicidade, especialmente em ambientes aquáticos (Paschoalato et al., 2008).

Figura 6: Subprodutos da oxibenzona formados a partir da Cloração



Fonte: ZHANG et al., 2016

De acordo com a regulamentação existentes no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece que a concentração máxima permitida de oxibenzona em produtos de proteção solar é de 10%, conforme preconizado na Resolução RDC nº 69/2016. No entanto, até o momento, não há regulamentações específicas que tratem dos subprodutos gerados pela degradação da oxibenzona, o que ainda deixa uma lacuna no controle desse composto no mercado nacional. Já a regulamentação nos Estados Unidos ocorre através da *Food and Drug Administration* (FDA) que permite o uso de oxibenzona em produtos de proteção solar com uma concentração máxima de 6%. Entretanto, assim como no Brasil, os subprodutos da oxibenzona não possuem limites diretamente regulamentados pela agência, mas a preocupação com seus possíveis efeitos levou à proibição do uso do composto em estados como Havaí e Flórida, devido ao impacto ambiental. Como destaque nesse âmbito de regulamentação encontramos a União Europeia que apresenta uma

regulamentação mais rigorosa. De acordo com o Regulamento (CE) n° 1223/2009, o limite máximo e concentração do composto em produtos estéticos é de 6%. Além disso, estudos adicionais sobre a segurança e o impacto ambiental são periodicamente solicitados pela European Chemicals Agency (ECHA), que avalia os riscos para a saúde e o meio ambiente.

A compreensão da formação e do comportamento desses subprodutos nos ambientes aquáticos é essencial para o desenvolvimento de políticas regulatórias mais eficazes. A falta de regulamentação específica para a monitorização desses compostos representa um desafio, e a implementação de estratégias mais rigorosas de controle e tratamento de águas residuais torna-se indispensável para mitigar os efeitos adversos sobre o meio ambiente e a saúde humana (Anágua, 2011).

Recentemente, a presença de poluentes emergentes na água, como produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs), tem chamado a atenção da comunidade científica. A oxibenzona, um composto comum em filtros solares, é um desses PPCPs. Durante o processo de cloração, a oxibenzona pode reagir com o cloro, formando subprodutos que ainda não são completamente conhecidos, mas que podem representar riscos para a saúde pública e para o meio ambiente. Conforme relatado por Ferreira et al. (2021), a cloração de PPCPs, como a oxibenzona, pode gerar subprodutos que possuem propriedades mutagênicas e carcinogênicas, o que ressalta a importância de investigar esses compostos.

No contexto brasileiro, a legislação ambiental é regida por normas estabelecidas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Contudo, a legislação brasileira ainda não apresenta diretrizes específicas quanto à presença da oxibenzona e seus subprodutos em corpos d'água tratados. De acordo com Silva et al. (2022), apesar do avanço no monitoramento de poluentes emergentes, como os PPCPs, ainda há uma lacuna quanto à regulação desses compostos e seus subprodutos nas normas vigentes, como a Portaria de Consolidação n° 5 de 2017, que regula a potabilidade da água no Brasil.

2. Justificativa

Os riscos da oxibenzona à saúde humana e ao meio ambiente são pautados por diversos fatores de relevância científica, social e ambiental. A oxibenzona, um dos filtros solares mais amplamente utilizados em produtos cosméticos, tem desempenhado um papel fundamental na proteção contra a radiação ultravioleta (UV), ajudando a prevenir doenças graves como o câncer de pele. Contudo, a crescente utilização desse composto químico tem suscitado preocupações significativas acerca de seus efeitos adversos à saúde humana e ao meio ambiente. À medida que mais pesquisas são conduzidas, cresce a necessidade de regulamentações mais rigorosas e de uma busca por alternativas mais seguras.

O uso massivo desse composto leva à sua introdução nos sistemas de tratamento de água por meio do escoamento urbano e do descarte inadequado de resíduos, especialmente em áreas de alta concentração turística e em regiões litorâneas.

O sistema de tratamento de água no Brasil é baseado na pré-filtração, coagulação, floculação, decantação e desinfecção. Entretanto, essas etapas dificilmente garantem a remoção completa de contaminantes orgânicos. No processo de cloração, amplamente utilizado nas estações de tratamento de água para desinfecção, a oxibenzona pode reagir com o cloro e formar subprodutos que ainda são pouco conhecidos e estudados.

Considerando a recente associação da oxibenzona ao branqueamento de corais e à bioacumulação em organismos marinhos, é fundamental que sejam realizados estudos complementares a possível ação tóxica dos subprodutos resultantes da cloração da oxibenzona. Ademais, o anexo 7 do anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5, que trata do padrão de portabilidade para substâncias químicas que representam risco à saúde, não lista os filtros solares ultravioletas e seus subprodutos. Assim, eles não são monitorados e conseqüentemente não se sabe sobre a sua produção e remoção pelos processos de tratamento de água convencionais adotados nas estações de tratamento.

Além disso, estudos preliminares sugerem que a oxibenzona e seus subprodutos podem atuar como desreguladores endócrinos, interferindo nos sistemas hormonais humanos, além de estarem associados a potenciais riscos carcinogênicos. O acúmulo desses compostos na água potável, mesmo em baixas concentrações,

pode apresentar riscos à saúde a longo prazo, especialmente para populações vulneráveis, como crianças, gestantes e idosos. Nesse sentido, torna-se urgente investigar a formação e os impactos desses subprodutos, uma vez que seu uso em cosméticos é contínuo e seu descarte nos sistemas de tratamento de água parece inevitável nas condições atuais.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

O objetivo principal deste estudo foi identificar os subprodutos de degradação da oxibenzona gerados pela cloração e avaliar sua citotoxicidade em fibroblastos das linhagens celulares L-929 e MRC-5.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a degradação da oxibenzona e a formação de subprodutos de degradação;
- Avaliar a citotoxicidade da oxibenzona e dos possíveis subprodutos de degradação formados em linhagens celulares L-929 e MRC-5;
- Avaliar a contribuição da presença de tais produtos no que diz respeito ao comprometimento da qualidade e segurança da água potável disponibilizada à população.

4. Materiais e Métodos

4.1. Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados nos experimentos foram preparados de acordo com protocolos padronizados para garantir a confiabilidade dos resultados.

Os reagentes utilizados para os ensaios de cloração foram separados e padronizados para se obter resultados sendo a oxibenzona, Metanol , Água Mill-Q , Tiosulfato e por fim o Hipoclorito de Sódio.

Os reagentes utilizados para os ensaios de citotoxicidade se deu pela obtenção do meio de cultura basal que é utilizado para o crescimento das linhagens celulares de fibroblastos humanos (MRC-5) e de camundongos (L-929) foi o RPMI, fornecido pela Sigma-Aldrich®. Este meio foi suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (FBS) (Gibco®, Waltham, MA, EUA), e gentamicina (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, MA, EUA) utilizada para prevenir contaminações bacterianas.

Adicionalmente, o método de Sulforodamina B (SRB) utilizou ácido tricloroacético a 20% para fixação celular e Sulforodamina B a 0,1%, dissolvida em ácido acético a 1%, para a coloração das células. O tampão TRIS 10 mmol/L (pH 10.5) foi utilizado para solubilizar o corante após a coloração.

Todos os reagentes foram de grau analítico ou HPLC, e a água Milli-Q foi utilizada em todos os processos que requerem água ultrapura.

4.2. Lavagem das vidrarias

Inicialmente, as vidrarias utilizadas foram lavadas com detergente neutro Extran, e enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram colocadas em banho de ácido nítrico a 20% por 24 horas afim de eliminar qualquer resíduo de matéria orgânica presente neles.

Após este período, as vidrarias foram lavadas novamente com água Milli-Q e secas em estufa.

4.3. Preparo de soluções para cloração da oxibenzona

A solução estoque de oxibenzona foi preparada na concentração de 1 g/L em metanol. A mistura foi cuidadosamente agitada até a completa dissolução de todas

as partículas de oxibenzona, garantindo uma solução homogênea para ser utilizada nos experimentos subsequentes.

Para preparar a solução de oxibenzona utilizada nos experimentos (solução de trabalho), adicionou-se 1 mL da solução estoque de oxibenzona em um balão volumétrico de 100 mL (concentração final 0,01 g/L). O volume foi completado com água Milli-Q, e a solução foi devidamente misturada para garantir uma diluição uniforme da substância, pronta para as análises experimentais.

A solução contendo cloro foi obtida na estação de tratamento de água da empresa Saneouro em Ouro Preto na concentração de 120 g/L em água. A partir desta solução, foi preparada uma solução de trabalho na concentração de 10 g/L em água. A solução de trabalho de tiosulfato de sódio foi preparada na concentração de 30 g/L em água. Todas as soluções de trabalho foram mantidas em geladeira, a 4 °C ao abrigo da luz até o momento do uso.

4.4. Experimento de cloração

Os experimentos de cloração foram realizados em béqueres a temperatura ambiente e sob agitação constante. As alíquotas para acompanhamento da reação de cloração e consequente formação dos subprodutos foram coletadas nos tempos de 0, 30 e 60 minutos. A proporção de oxibenzona:cloro utilizada foi de 1:1 (massa:massa), como Minassa (2023) foi a melhor proporção encontrada.

Para tal, os bequeres foram organizados da seguinte forma:

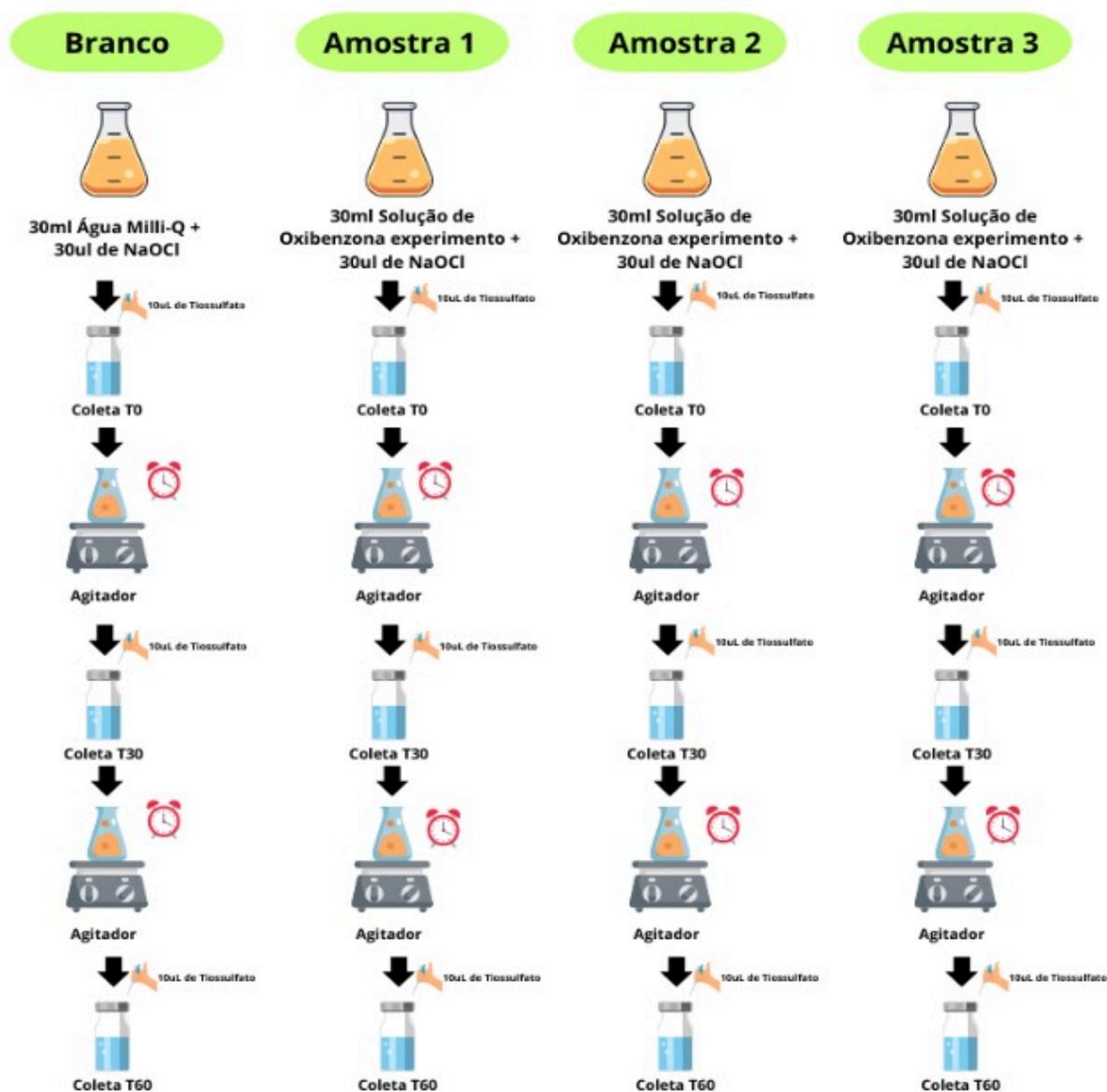
- Branco: 30mL de água Milli-Q + 30 µL de hipoclorito de Sódio (NaOCl)
- Amostras 1, 2 e 3: 30 mL da solução trabalho de oxibenzona + 30 µL de solução de trabalho de hipoclorito de sódio (NaOCl).

Antes de colocar os béqueres em agitação foi realizada a coleta de uma alíquota (T_0) para todos os 4 bequeres preparados.

Para todos os tempos (T_0 , T_{30} e T_{60}), foram coletados 1ml de amostra em *vials*, e em seguida, acrescentados 10 µL de tiosulfato de sódio na concentração 30 g/L para cessar a reação.

Após a coleta de todas as amostras, para cada tempo foi realizada uma análise semi-quantitativa por espectrometria de massas pra detecção dos subprodutos de degradação da oxibenzona, como representado na Figura 7.

Figura 7: Esquema do experimento de cloração



Fonte: Autora, 2024

4.5. Identificação dos subprodutos de cloração da oxibenzona

Para realizar a análise semi-quantitativa da oxibenzona e seus subprodutos de cloração, utilizou-se um sistema de Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (UHPLC), modelo Nexera X2 da Shimadzu®. Este sistema estava equipado com um

amostrador automático, modelo SIL-30AC, e um sistema binário de bombas, modelo LC30AD. O sistema foi integrado a um espectrômetro de massas tipo triplo-quadrupolo, modelo LCMS-8040 da Shimadzu®, ideal para análises de alta sensibilidade e precisão.

A análise foi conduzida utilizando a técnica de ionização por electrospray (ESI), que facilita a ionização direta das amostras em estado líquido. A precisão e a exatidão das injeções foram garantidas pelo uso do sistema de bomba e injetor automático, assegurando uma entrega consistente e controlada das amostras.

Os parâmetros operacionais do cromatógrafo foram meticulosamente definidos para otimizar a detecção e quantificação dos compostos de interesse:

- Fase Móvel: A fase móvel consistiu em uma mistura de água ultrapura e acetonitrila (grau HPLC), ambas modificadas com ácido fórmico a 0,1% (v/v), para melhorar a ionização das amostras.
- Fluxo: O fluxo do sistema foi estabelecido em 0,2 mL/min, escolhido para eficiente da ionização.
- Proporção da Fase Móvel: A relação de fase móvel foi mantida constante em 50% para cada componente ao longo da análise.
- Tempo de Análise: Cada corrida analítica foi programada para durar 5 minutos, proporcionando um equilíbrio adequado entre a resolução cromatográfica e a eficiência temporal.

Para a análise, realizaram-se injeções de 10 µL para a quantificação semi-quantitativa da oxibenzona. A análise de degradação da oxibenzona foi realizada em método SIM (Monitoramento de íons selecionados) no modo positivo de ionização. As relações massa/carga (m/z) dos íons de transição foram: 229,20>150,90; 229,20>104,95; 229,20>77,05, sendo que o íon 150,90 foi escolhido para a quantificação por ser o mais intenso. Uma segunda injeção de 50 µL foi empregada para a identificação dos subprodutos formados. As análises de identificação dos subprodutos foram feitas no modo SCAN nos modos positivo e negativo de ionização em uma faixa m/z de 50 a 350. A identificação dos subprodutos formados foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos das amostras sem tratamento e após a cloração. Esse procedimento detalhado garante a obtenção de dados confiáveis e reprodutíveis, essenciais para a avaliação precisa dos riscos associados aos subprodutos da cloração da oxibenzona.

4.6. Ensaio de citotoxicidade

Inicialmente foi feito um teste de estabilidade das amostras, ele foi realizado preparando as amostras da benzofenona-3 íntegra e da benzofenona-3 tratada, e foi realizado a coletas de pequenas alíquotas de tempos em tempos durante 48 horas.

As linhagens celulares de fibroblastos humanos (MRC-5) e de fibroblastos de camundongo (L-929) foram cultivadas em meio de cultura basal contendo RPMI, suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (FBS) e gentamicina. As células foram incubadas em uma atmosfera umidificada com 5% de CO₂ a 37 °C, assegurando condições ideais para o crescimento e manutenção das culturas.

Inicialmente foi feito um teste de estabilidade das amostras, ele foi realizado preparando as amostras da benzofenona-3 íntegra e da benzofenona-3 tratada, e foi realizado a coletas de pequenas alíquotas de tempos em tempos durante 48 horas.

As células foram expostas a amostras diluídas em meio RPMI, com concentrações específicas para cada tipo de linhagem sendo para a MRC-5 (10⁻¹; 10⁻²; 10⁻³; 10⁻⁵; 10⁻⁷ µL/ml) e para linhagem L929 nas concentrações (10⁻⁴; 10⁻⁵; 10⁻⁶; 10⁻⁷; 10⁻⁸, 10⁻⁹ µL/ml) para avaliar os efeitos de diferentes tratamentos nas linhagens celulares. Foram também avaliados grupo Controle (exposição apenas ao meio RPMI) e Branco Químico (exposição a diluições de solução de cloro e tiosulfato nas mesmas concentrações utilizadas em cada ensaio). A viabilidade celular foi analisada utilizando o ensaio de sulforodamina B (SRB), um método colorimétrico amplamente empregado para quantificar a densidade celular com base na ligação do corante SRB às proteínas celulares. Este método é particularmente eficaz em estudos de citotoxicidade, pois permite avaliar a proliferação e a integridade celular após o tratamento.

Após 24 e 48 horas de incubação, o meio de cultura foi cuidadosamente removido, e as células foram fixadas com uma solução de ácido tricloroacético a 20%, mantidas a 4 °C, por um período de 1 hora. A fixação das células garante que as proteínas celulares permaneçam aderidas à superfície do poço, essencial para a posterior coloração com o SRB. Após a fixação, as placas foram lavadas com água destilada para remover o excesso de reagentes e secas completamente.

As células fixadas foram então coradas com 0,1% de SRB, dissolvido em ácido

acético a 1%, durante 30 minutos. Esse corante tem alta afinidade pelas proteínas celulares, proporcionando uma medida quantitativa direta da biomassa celular. Em seguida, as placas foram lavadas novamente com ácido acético a 1%, para remover o excesso de corante, e deixadas secar ao ar.

Para solubilizar o corante ligado às células, 200 µL de tampão TRIS 10 mmol/L (pH 10,5) foram adicionados a cada poço, permitindo a liberação do SRB para uma solução líquida. Esse processo durou aproximadamente 30 minutos à temperatura ambiente. Após a solubilização, a absorbância das amostras foi medida em um espectrofotômetro a 540 nm, e os dados obtidos foram processados para determinar a viabilidade celular em termos percentuais. Essa análise fornece informações críticas sobre o impacto dos tratamentos testados na sobrevivência e proliferação celular, auxiliando na avaliação da toxicidade das substâncias em estudo.

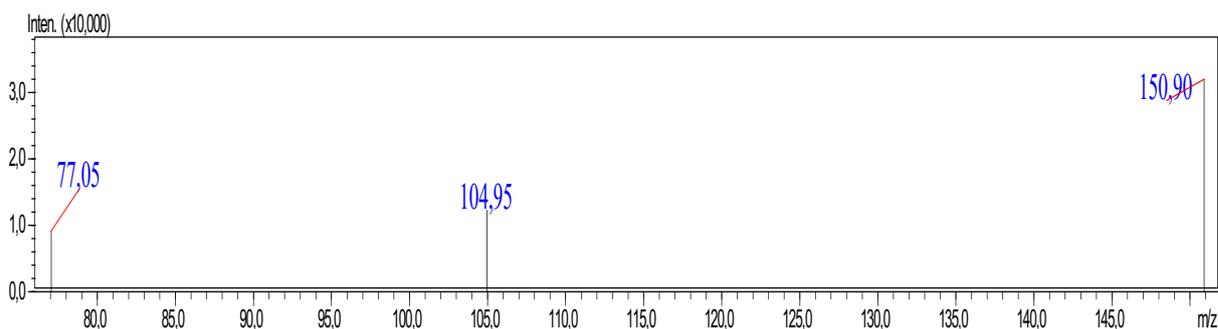
4.7. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do *software* Graph Pad Prism v.8.0.1 (GraphPad Software Inc., Boston, MA, EUA). Para verificação da normalidade dos dados foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. Para análise estatística, foi realizada análise de variância One-Way (ANOVA), considerando a média \pm desvio padrão (DP) com pós teste de Tukey e comparação entre as médias de todos os grupos. Para a avaliação de intervalos estatisticamente significativos, considerou-se o intervalo de confiança de 95%, sendo $p < 0,05$ considerado como diferença significativa.

5. Resultados e Discussão

A avaliação da degradação da oxibenzona foi realizada após injeção direta das soluções sem e após o tratamento por cloração, utilizando a intensidade absoluta do íon m/z 150,90 (Figura 8). Como descrito por Garcia e colaboradores (2011) em sua metodologia de determinação da oxibenzona (m/z 229,0) adotando por LC/MS. Os autores utilizaram a oxibenzona fragmentada m/z 150,90 para essa determinação. O íon m/z 150,90 foi selecionado por ser o mais intenso entre os analisados, sendo possível sua detecção até mesmo em menores concentrações. Os íons m/z 77,05 e m/z 104,95 de intensidades maiores, além do 150,90, foram escolhidos pelo próprio software utilizado no estudo, Figura 8.

Figura 8: Espectro de massas obtido no modo de aquisição MRM evidenciando os íons fragmentos positivos da oxibenzona sem degradação por cloração.



Fonte: Autora, 2024

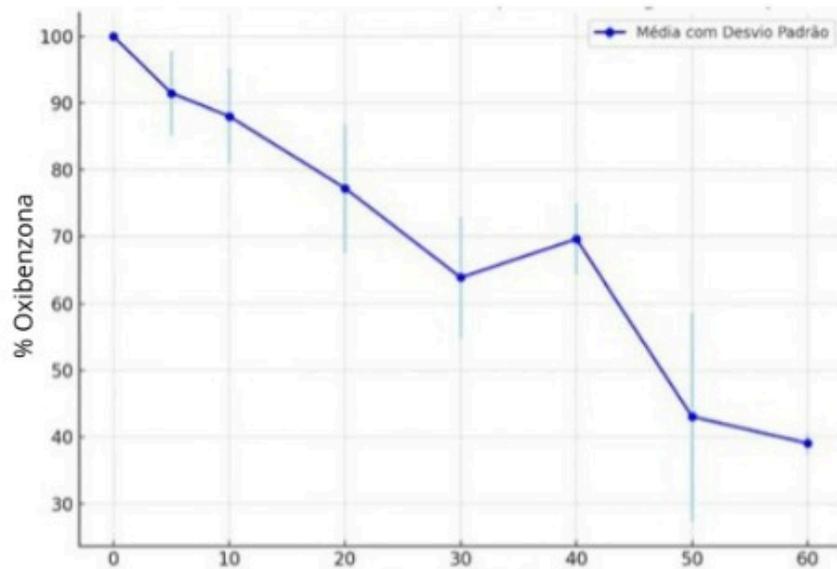
Esses achados demonstram a consistência na escolha do íon m/z 150,90 em diferentes estudos, corroborando sua relevância para a análise precisa da oxibenzona em diversas matrizes.

5.1. Degradação da Oxibenzona

O experimento foi realizado na proporção de 1:1 NaOCl/Oxibenzona. A degradação foi avaliada pela diferença de intensidade do íon 150,90 no tempo 0, sem adição de NaOCl, e os demais tempos, após o contato com o degradante. A Figura 9 demonstra a degradação da oxibenzona por cloro. Nela, é possível observar nos

tempos 0 a 20 minutos que houve a degradação de aproximadamente 23% da oxibenzona. Já nos tempos de 20 e 60 minutos, a quantidade de oxibenzona reduziu de 77% para 39%. Entretanto, no tempo de 40 minutos, é possível observar um aumento no percentual para 69%.

Figura 9: Gráfico de degradação da oxibenzona por cloração



Fonte: Autora, 2024

No estudo de Zhang e colaboradores (2016), foi analisada a cinética de degradação da oxibenzona (BP-3) com doses de cloro livre até dez vezes superiores à concentração inicial de BP-3 (1 mg/L). Os autores observaram que a BP-3 foi rapidamente degradada pelo cloro, com meias-vidas variando de 26 a 43 segundos, dependendo das doses de cloro, que aumentavam entre 3 e 5 mg/L. Essa taxa acelerada de degradação, mais rápida do que outras observadas em experimentos com concentrações de cloro menores, sugere uma relação direta entre a dose de cloro e a intensidade da degradação da BP-3.

Esses achados são corroborados por estudos adicionais. Segundo Kim e Choi (2014), concentrações elevadas de oxidantes, como o cloro, aumentam a decomposição de compostos orgânicos em ambientes aquáticos. Eles demonstraram que a reação entre cloro e compostos como a BP-3 gera subprodutos rapidamente, o que implica uma alta reatividade desse composto quando exposto a doses elevadas de cloro. Da mesma forma, Zhuang e colaboradores (2013) observaram que a BP-3,

em presença de doses de cloro superiores, produz subprodutos clorados tóxicos, indicando que o processo de degradação pode não apenas decompor o composto, mas também formar produtos secundários com propriedades ecotóxicas. Estudos de Balmer e colaboradores (2005) confirmam ainda que, em ambientes aquáticos tratados com cloro, a oxibenzona sofre degradação acelerada, especialmente em áreas de tratamento de água onde o cloro é aplicado em níveis elevados. A rápida degradação e formação de subprodutos clorados, como descrito no estudo de Zhang et al. (2015), levantam preocupações sobre o impacto ambiental desses compostos em ambientes aquáticos. Esses subprodutos, que incluem formas monoclорadas e dicloradas de BP-3, persistem no meio ambiente, podendo se bioacumular em organismos aquáticos.

Além disso, as pesquisas indicam que a presença de outros oxidantes pode influenciar a velocidade de degradação e a variedade de subprodutos formados. Por exemplo, Giokas e colaboradores (2007) constataram que a oxibenzona, quando submetida à luz solar e ao cloro, decompõe-se de maneira mais rápida, aumentando o potencial de formação de subprodutos clorados que exibem toxicidade. Esses estudos reforçam que a combinação de doses elevadas de cloro e exposição ambiental intensifica a degradação da BP-3, mas também gera subprodutos com propriedades bioativas, que representam um desafio para o tratamento de águas residuais e a preservação de ecossistemas aquáticos.

Um estudo conduzido por Benotti e Brownawell (2009) analisou a degradação da oxibenzona em sistemas aquáticos sob condições simuladas. Utilizando uma concentração inicial de 10 mg/L, os pesquisadores observaram que a degradação da oxibenzona é influenciada pela exposição à luz solar, com fotólise direta sendo o principal mecanismo de transformação. O estudo demonstrou que, em condições de luz ultravioleta, o composto sofreu redução significativa em até 72 horas, produzindo subprodutos como benzofenona e ácido salicílico, que também apresentam potenciais riscos ambientais.

Outro estudo de destaque é o de Balmer et al. (2005), que investigou a degradação da oxibenzona em águas residuais tratadas. Com concentrações de 10 mg/L, a pesquisa evidenciou que o composto é recalcitrante em tratamentos convencionais de esgoto. No entanto, processos avançados de oxidação, como o uso de ozônio e peróxido de hidrogênio, demonstraram eficiência na redução da concentração de oxibenzona, alcançando até 90% de degradação após 60 minutos

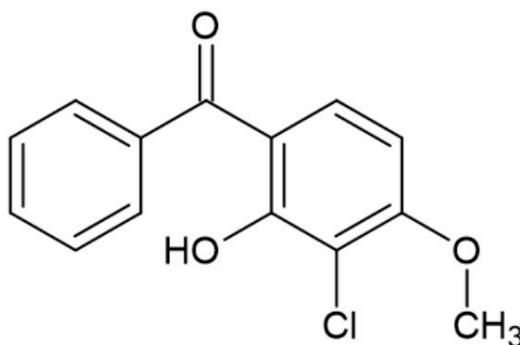
de tratamento.

Além disso, Giokas et al. (2007) exploraram a degradação da oxibenzona em águas superficiais expostas à radiação solar natural. O estudo utilizou concentrações de 10 mg/L e confirmou que o processo de fotodegradação é acelerado na presença de matéria orgânica dissolvida, que atua como fotossensibilizador. Os autores concluíram que, embora a fotólise seja eficiente para reduzir a oxibenzona em águas superficiais, os subprodutos gerados podem apresentar toxicidade persistente, indicando a necessidade de monitoramento contínuo.

5.2. Identificação de Subprodutos de Degradação

A análise no modo SCAN das amostras de oxibenzona após o tratamento com NaOCl, permitiu a identificação do subproduto 263m/z em seu modo positivo de ionização. Esse subproduto é caracterizado pela oxibenzona monoclorada, como apresentado na Figura 10.

Figura 10: Estrutura da oxibenzona monoclorada



Fonte: Autora, 2024

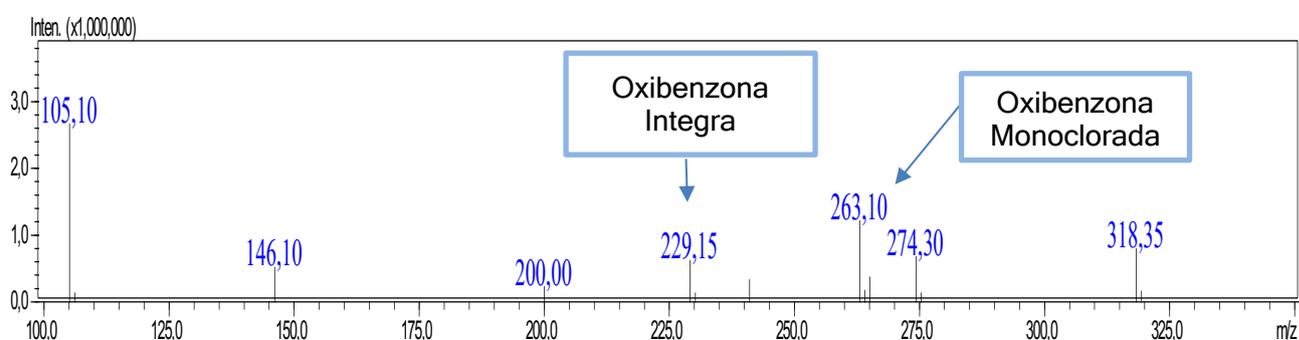
O subproduto m/z 261,1, foi identificado e caracterizado por Zhang e colaboradores em 2016. Esse íon também se refere a oxibenzona monoclorada, porém no modo negativo de ionização. Nesse estudo, o subproduto de m/z 261,1 foi detectado como uma forma monoclorada de oxibenzona, onde um átomo de cloro substitui um hidrogênio na estrutura molecular, em uma posição ativada do anel benzênico, como a posição orto à hidroxila. A abundância isotópica do cloro (^{35}Cl e ^{37}Cl) auxiliou na confirmação da presença do átomo de cloro na estrutura do

subproduto. Zhang e colaboradores sugerem que a formação de m/z 261,1 ocorre como resultado de uma substituição eletrofílica, em que o átomo de cloro substitui um hidrogênio em uma posição ativada, possivelmente orientada pelo grupo hidroxila.

Nesse mesmo estudo, os autores retraram a cinética de formação desse subproduto: quando em uma relação molar 1:1 de oxibenzona e NaOCl, o subproduto m/z 261,1 foi observado logo nos primeiros minutos de reação. Ao longo do tempo, entretanto, os autores notaram um decaimento na concentração do subproduto, indicando que ele pode ser posteriormente degradado com o aumento da exposição ao cloro. Os autores também identificaram outros subprodutos clorados, como a oxibenzona diclorada, além de compostos secundários, como o 2,4,6-tricloro-3-metoxifenol, confirmando a formação de uma cadeia de produtos de degradação. Essa observação reforça a complexidade das reações da oxibenzona em ambiente clorado e a importância de entender melhor esses subprodutos, tanto em termos de sua toxicidade quanto de sua persistência ambiental.

De acordo com nosso experimento, no tempo zero, não foi identificada a formação do subproduto 263 m/z pois ainda não foi adicionado o cloro, tal composto aparece a partir do tempo 20 minutos e sua intensidade absoluta mais alta é observada no tempo 30 minutos, dessa maneira, esse foi o tempo selecionado para esta análise (Figura 11). Após o período do tempo de 30 minutos é observado um decaimento até se chegar no tempo 60 minutos onde não é mais observado o íon do subproduto, o que pode indicar, como retratado por Zhang e colaboradores (2016), que o subproduto também foi degradado pelo cloro.

Figura 11: Espectro de massas obtido após 30 minutos de tratamento



Fonte: Autora, 2024

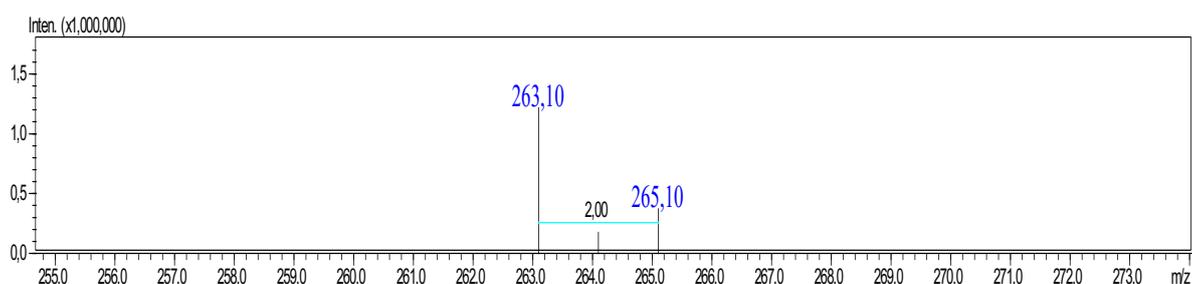
Além do grupo hidroxila, outros substituintes influenciam a reatividade da

oxibenzona na presença de cloro. O grupo metoxila, também presente na estrutura da BP-3, é um ativador moderado e geralmente orienta a substituição do cloro para a posição orto. Como a posição *para* já está ocupada, a posição *orto* é favorecida. Em contraste, a carbonila ligada ao anel benzênico na oxibenzona atua como um desativante moderado, direcionando substituições para a posição *meta*. Essa combinação de efeitos eletrônicos faz com que a cloração da oxibenzona ocorra predominantemente na posição *orto* à hidroxila, a posição mais estável e favorecida.

Khuang e colaboradores (2016) também exploraram a formação de subprodutos diclorados e identificaram que, em condições específicas de tratamento, há a formação de subprodutos adicionais em posições diferentes do anel benzênico, sugerindo que, embora a posição orto seja mais favorável, há possibilidade de formação de subprodutos em múltiplas posições.

No espectro de massas é possível observar a relação isotópica do cloro através dos íons m/z 263 e m/z 265 (Figura 12). O subproduto m/z 265 é o isótopo de cloro menos abundante de massa 37g/mol. Já o íons m/z 263 representa o isótopo de cloro de massa 35g/mol. Essa relação justifica a intensidade do íon m/z 263,10 ser mais intensa que o íon m/z 265,10.

Figura 12: Relação isotópica no espectro de massas obtidos após 30 minutos de tratamento



Fonte: Autora, 2024

Na tabela 2, destacamos outros estudos que retratam a cloração da oxibenzona e conseqüentemente a identificação e a caracterização desses subprodutos.

Tabela 2: Tabela de estudos referentes a cloração da oxibenzona

| <i>Autores</i> | <i>Título do artigo</i> | <i>Resumo</i> |
|---|---|--|
| Li, X., Chen, J., Ma, L., & Zhang, Z. (2017). | Investigation of chlorinated by-products from the reaction of benzophenone derivatives with free chlorine using LC-MS/MS. | Este estudo explora as reações de derivados de benzofenona com cloro e descreve a formação de subprodutos clorados usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), semelhante ao que Zhang e colaboradores observaram com oxibenzona. |
| Wang, H., Qian, Y., & Ye, M. (2018). | Formation of chlorinated intermediates during the chlorination of phenolic compounds: Mechanisms and kinetics | Este artigo examina os mecanismos de cloração de compostos fenólicos, com foco na formação e degradação de intermediários clorados, o que reforça a ideia de que subprodutos podem se formar rapidamente e depois ser degradados em condições específicas. |
| Sun, P., Gong, J., Zhang, Y., & Zhu, C. (2019). | Characterization of chlorinated transformation products from the chlorination of UV filter compounds in aqueous solution | Este trabalho analisa os produtos de transformação clorados resultantes da cloração de compostos usados como filtros UV, como a oxibenzona, utilizando LC-MS/MS. Os autores também identificam subprodutos clorados como BP-3 monoclorada e diclorada. |
| Guo, Y., & Chen, X. (2020) | Kinetics and pathways of chlorination of benzophenone derivatives in water. | Um estudo focado nas vias de reação e na cinética de cloração de derivados de benzofenona em meio aquoso, similar aos experimentos de Zhang et al. O artigo discute a rápida formação de subprodutos clorados e a importância de controlar a concentração de cloro livre |
| Zhou, S., Tang, W., & Zhao, H. (2018) | Isomeric chlorinated products in the chlorination of phenolic compounds: Identification and quantification by LC-MS/MS. | Este estudo detalha a identificação de produtos clorados isoméricos formados durante a cloração de compostos fenólicos, utilizando a relação isotópica do cloro em análise de LC-MS/MS, como a descrita por Zhang e colaboradores. |

5.3. Experimento de Avaliação da citotoxicidade dos subprodutos de degradação em células

5.3.1. Teste de estabilidade

Antes de se iniciar o ensaio de citotoxicidade em células, foi verificada a estabilidade da oxibenzona e do subproduto de degradação (263 m/z) em água para verificar se esse seria estável durante todo o ensaio.

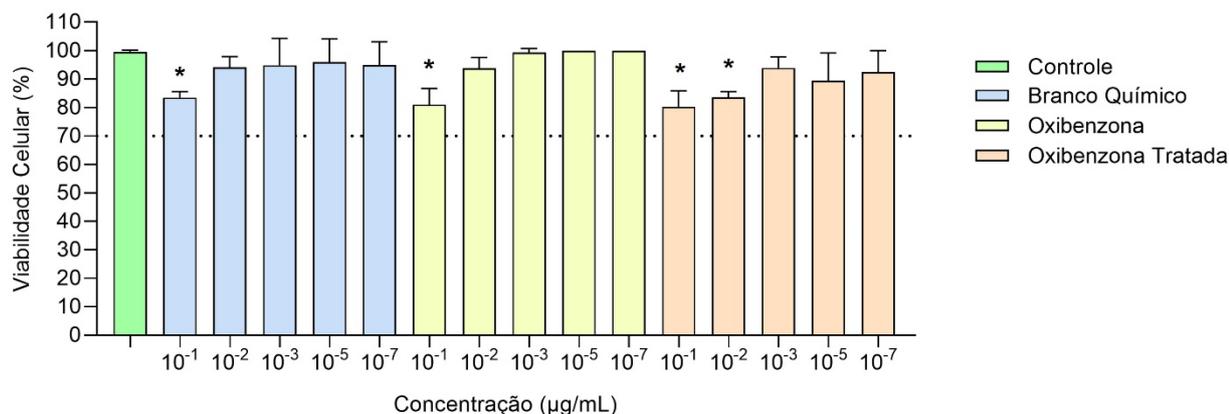
Dentro da análise semiquantitativa da intensidade absoluta dos íons foi identificada uma variação de 3,4% para a oxibenzona e de 4,8% para o subproduto após as 48 horas do fim do experimento. Sendo assim, essa variação é aceitável para seguirmos com o teste de citotoxicidade em células pois representa que o subproduto 263 m/z é estável em água.

5.3.2. Citotoxicidade dos subprodutos de degradação em células

Conforme descrito na metodologia, o estudo de citotoxicidade do subproduto de degradação foi realizado nas linhagens celulares MRC-5 (fibroblastos humanos) e L-929 (fibroblastos de camundongos). Ambas as linhagens foram cultivadas em meio RPMI, suplementado com soro fetal bovino e gentamicina, e incubadas em condições ideais de temperatura e CO₂. Após exposição às soluções de oxibenzona íntegra e de oxibenzona tratada a viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio de sulforodamina B (SRB).

A análise da citotoxicidade de oxibenzona e seu subproduto na linhagem celular MRC-5, realizada nos períodos de 24 e 48 horas, evidencia a complexidade das respostas celulares frente à exposição a compostos químicos, especialmente no contexto de substâncias presentes em produtos de uso diário, como filtros solares. Essa complexidade decorre de fatores como a geração de subproduto, interação com vias metabólicas e os efeitos cumulativos da exposição a substâncias presentes em produtos de uso diário, como filtros solares.

Figura 13: Ensaio de citotoxicidade pelo método de SRB. Linhagem MRC-5 após 24 horas de exposição.



OBS.: Os ensaios foram realizados em triplicata. (*) indica diferença estatisticamente significativa entre o respectivo grupo e o grupo controle não tratado (em verde) ($p < 0,05$ entre o controle não tratado e a respectiva solução testada). Análise de variância One-Way (ANOVA) com pós teste de Tukey. As barras nos gráficos de barras representam o desvio padrão.

Fonte: Autora, 2024.

De acordo com os resultados observados na análise de citotoxicidade da linhagem MRC-5 após as 24 horas (Figura 13), em concentrações mais baixas (10^{-2} a 10^{-7} µg/mL), a oxibenzona apresenta uma viabilidade celular semelhante ao grupo controle, indicando ausência de citotoxicidade significativa. Para o grupo oxibenzona tratado, na concentração de 10^{-2} µg/mL, observa-se uma redução da viabilidade celular em relação ao grupo não tratado. Essa citotoxicidade pode ser relacionada com os resultados apresentados pelo Kerdivel et al. (2013).

Nesse estudo, Kerdivel et al. (2013) investigaram os efeitos da oxibenzona em diferentes modelos celulares, avaliando sua capacidade de induzir estresse oxidativo e danos celulares. O estudo utilizou testes de viabilidade celular, geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e integridade de membrana, realizados em concentrações crescentes da substância, variando entre nanomolares e micromolares. Os testes de viabilidade celular no estudo de Kerdivel et al. demonstraram que a oxibenzona não apresentou citotoxicidade significativa em concentrações mais baixas (equivalentes às faixas de 10^{-4} a 10^{-7} µg/mL), corroborando os dados apresentados para a linhagem MRC-5. No entanto, em concentrações mais altas (10^{-1} µg/mL ou superiores), observou-se uma redução na

viabilidade celular, atribuída ao aumento do estresse oxidativo e à disfunção das membranas celulares, com danos progressivos às organelas. Dessa forma, esses achados são consistentes com os resultados observados no estudo apresentado, uma vez que ambos indicam que a oxibenzona pode ser segura em concentrações mais baixas, mas apresenta toxicidade significativa quando administrada em concentrações elevadas. A redução da viabilidade celular na concentração de 10^{-1} $\mu\text{g/mL}$ reflete o impacto do estresse oxidativo exacerbado, bem como os efeitos deletérios da oxibenzona sobre os mecanismos de proteção celular, como apontado por Kerdivel e colaboradores.

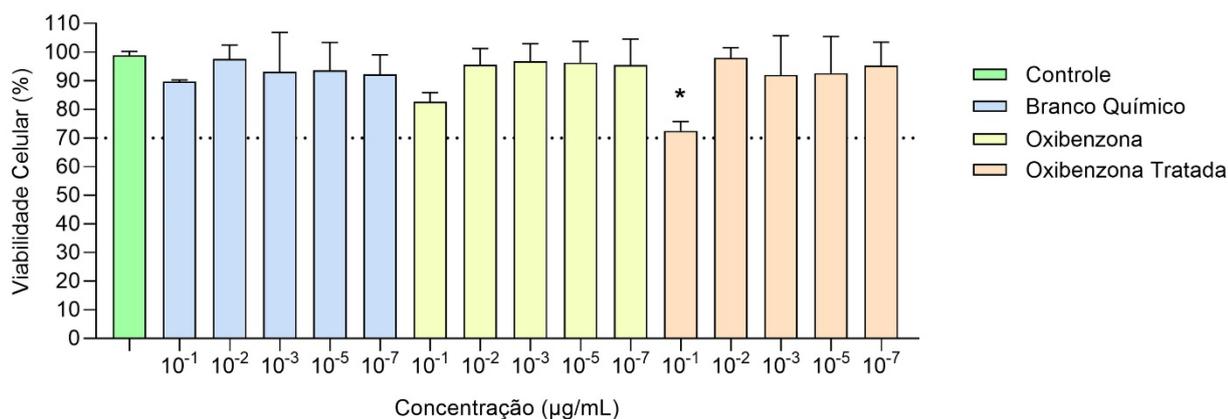
O subproduto da oxibenzona tratada, por sua vez, apresentou maior toxicidade em comparação ao grupo controle. Na concentração de 10^{-2} $\mu\text{g/mL}$, é possível observar redução significativa na viabilidade celular em relação ao controle, o que evidencia maior toxicidade dos subprodutos em comparação à oxibenzona íntegra. Isso sugere que o subproduto possui maior capacidade de interagir com biomoléculas, causando danos irreversíveis, como descrito no trabalho de Benotti e Brownawell (2009). Neste trabalho foram destacados os impactos ambientais e biológicos de subprodutos gerados pela degradação de compostos químicos, incluindo filtros UV, como a oxibenzona. Os autores apontaram que subprodutos podem ser mais tóxicos que as moléculas originais devido a fatores como maior reatividade química, capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), maior afinidade por biomoléculas e persistência ambiental. Essas características aumentam os riscos de danos às células e reforçam a importância de avaliar a toxicidade não apenas dos compostos originais, mas também de seus subprodutos. Esse comportamento também é reforçado pelo estudo de Cantoni (2019), que destacou que a transformação metabólica de compostos químicos pode resultar em subprodutos mais reativos e citotóxicos. A maior toxicidade observada nos subprodutos da oxibenzona pode ser atribuída à sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), que promovem estresse oxidativo e danos às proteínas, lipídios e DNA celular.

Vale destacar, que o grupo branco químico apresenta uma redução da viabilidade celular quando comparado ao grupo não tratado na concentração de 10^{-1} $\mu\text{g/mL}$, com isso, podemos concluir que a solução de cloro e tiosulfato de sódio já apresenta um nível de citotoxicidade nas células.

Após 48 horas de exposição (Figura 14), é observado que a concentração de

10^{-1} $\mu\text{g/mL}$ da oxibenzona tratada reduziu significativamente a viabilidade celular em comparação ao grupo controle. Em contraste, as demais concentrações do subproduto (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-5} , e 10^{-7} $\mu\text{g/mL}$), bem como todas as concentrações de oxibenzona íntegra, não apresentaram impacto significativo na viabilidade celular quando comparadas ao controle.

Figura 14: Ensaio de citotoxicidade pelo método de SRB. Linhagem MRC-5 após 48 horas de exposição.



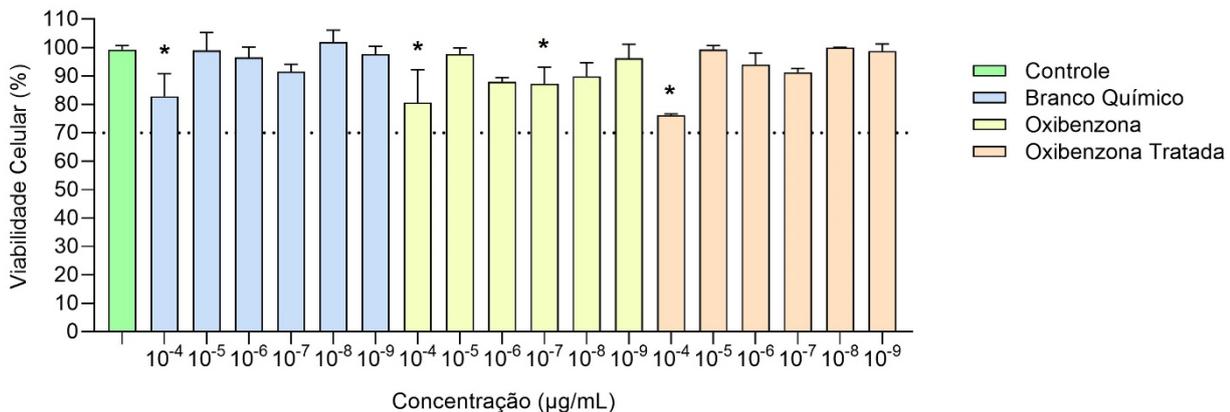
OBS.: Os ensaios foram realizados em triplicata. (*) indica diferença estatisticamente significativa entre o respectivo grupo e o grupo controle não tratado (em verde) ($p < 0,05$ entre o controle não tratado e a respectiva solução testada). Análise de variância One-Way (ANOVA) com pós teste de Tukey. As barras nos gráficos de barras representam o desvio padrão.

Fonte: Autora, 2024.

Vale ainda destacar que, ao se comparar os períodos de 24 horas e 48 horas é observado que após as 48 horas tanto na oxibenzona íntegra quanto o branco químico não apresentam diferença estatística significativa em comparação ao controle. Isso indica uma possível recuperação celular após a agressão inicial, o que pode ser explicado pelos estudos de Oliveira (2021), que a exposição contínua a compostos citotóxicos pode induzir um processo de adaptação celular. Essa adaptação pode ocorrer por meio da ativação de mecanismos de defesa antioxidante, como o aumento da produção de glutathione e a expressão de enzimas antioxidantes, que neutralizam os efeitos das EROs, reduzindo a citotoxicidade inicial. Além disso, o metabolismo celular pode transformar a oxibenzona em metabólitos menos reativos ao longo do tempo, contribuindo para a menor redução da viabilidade observada após 48 horas.

Além da linhagem de fibroblastos humanos, também foi avaliada a toxicidade do subproduto de degradação e da oxibenzona íntegra em fibroblastos de camundongos (linhagem L-929). Na Figura 15 podemos observar o resultado deste ensaio após 24 horas de exposição. De maneira geral, assim como para a linhagem MRC-5, apenas as maiores concentrações para os três grupos avaliados apresentaram diferença estatisticamente significativa frente ao grupo controle não tratado. Cabe destacar, que a maior concentração avaliada para esta linhagem celular foi de 10^{-4} $\mu\text{g/mL}$, ou seja, uma concentração quatro vezes menor que a maior concentração testada na linhagem MRC-5. Concentrações próximas a essa para a linhagem MRC-5 não demonstraram-se tóxicas. Tal fato pode indicar uma maior sensibilidade das células de camundongos quando comparadas às humanas frente a tais compostos.

Figura 15: Ensaio de citotoxicidade pelo método de SRB. Linhagem L-929 após 24 horas de exposição.



OBS.: Os ensaios foram realizados em triplicata. (*) indica diferença estatisticamente significativa entre o respectivo grupo e o grupo controle não tratado (em verde) ($p < 0,05$ entre o controle não tratado e a respectiva solução testada). Análise de variância One-Way (ANOVA) com pós teste de Tukey. As barras nos gráficos de barras representam o desvio padrão.

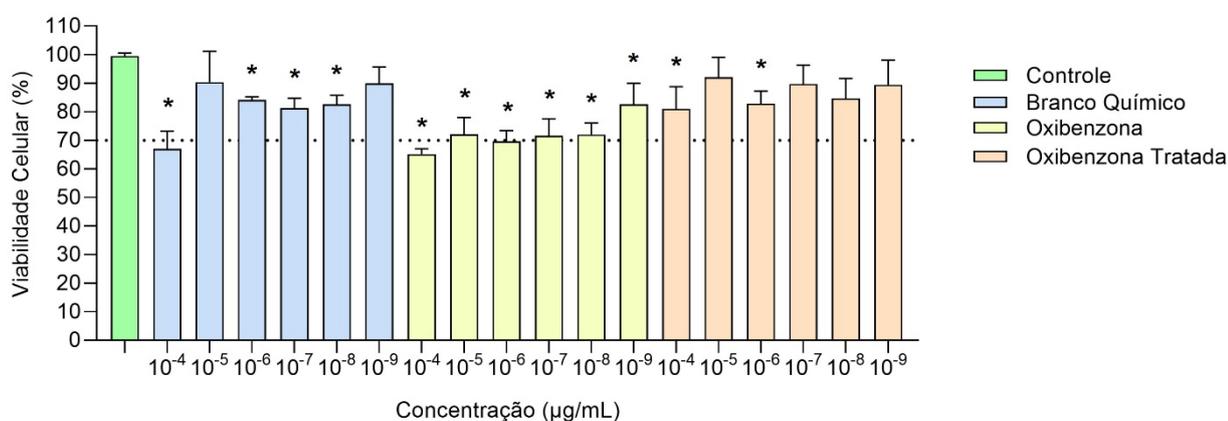
Esse resultado é consistente com estudos que mostram que a exposição a concentrações elevadas de substâncias potencialmente tóxicas, como a oxibenzona, pode induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultando em danos às estruturas celulares e, conseqüentemente, em redução da viabilidade celular

Este achado é consistente com a literatura, que aponta que certos

subprodutos de degradação de filtros solares podem manter ou até amplificar a toxicidade inicial do composto devido à formação de radicais livres em ambientes celulares (Downs et al., 2019).

Diferentemente das células humanas que se recuperaram dos danos após 48 horas de exposição, as células de camundongos apresentaram maiores taxas de morte celular nesse período (Figura 16). Além disso, a oxibenzona íntegra e o branco químico apresentam maior grau de toxicidade comparados a oxibenzona tratada.

Figura 16: Ensaio de citotoxicidade pelo método de SRB. Linhagem L-929 após 48 horas de exposição.



OBS.: Os ensaios foram realizados em triplicata. (*) indica diferença estatisticamente significativa entre o respectivo grupo e o grupo controle não tratado (em verde) ($p < 0,05$ entre o controle não tratado e a respectiva solução testada). Análise de variância One-Way (ANOVA) com pós teste de Tukey. As barras nos gráficos de barras representam o desvio padrão.

A oxibenzona aparentemente é mais citotóxica do que seus subprodutos em todas as concentrações testadas. A oxibenzona também mostrou diferença estatisticamente significativa em algumas concentrações, como 10^{-5} e 10^{-6} µg/mL, quando comparado ao grupo controle, indicando que a oxibenzona pode contribuir parcialmente para a diminuição da viabilidade celular.

Após a análise dos gráficos podemos observar resultados bem distintos entre as linhagens MRC-5 e L-929. Os estudos em ambas as linhagens são importantes pois permite avaliar de forma abrangente os efeitos citotóxicos das substâncias testadas. Essa escolha é importante, pois ambas as linhagens representam modelos complementares na avaliação da toxicidade in vitro, sendo amplamente utilizadas em

estudos de toxicologia celular devido às suas características específicas.

A linhagem MRC-5, originada de fibroblastos humanos, apresenta um metabolismo predominantemente dependente de fosforilação oxidativa, um processo energético que utiliza oxigênio para a produção de ATP. Isso é característico de células humanas, que possuem um metabolismo mais eficiente para a produção de energia em ambientes normóxicos (com oxigênio). As MRC-5 também têm mecanismos antioxidantes sofisticados, o que permite que respondam de forma eficaz ao estresse oxidativo, reduzindo os danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs).

Por outro lado, a linhagem L929, derivada de fibroblastos de camundongos, apresenta maior flexibilidade metabólica. Embora, como as MRC-5, utilize principalmente a fosforilação oxidativa, as L929 são capazes de alternar para a glicólise anaeróbica, especialmente em condições de baixo oxigênio. Essa capacidade de mudar o metabolismo conforme as condições ambientais permite que as células L929 sejam mais adaptáveis em experimentos que envolvem hipóxia ou estresse metabólico. No entanto, essa flexibilidade também torna as L929 mais suscetíveis a danos causados por EROs.

Como citado anteriormente os fibroblastos humanos possuem diferenças no metabolismo de xenobióticos e na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) quando comparados aos fibroblastos camundongos. Isso pode influenciar a forma como as substâncias testadas são metabolizadas e os efeitos citotóxicos gerados. Nesse âmbito, as linhagem L929 se destacam por serem mais sensíveis a condições de estresse oxidativo e a radicais livres. Essa maior sensibilidade pode ser atribuída à resposta inflamatória mais agressiva das células de camundongo em comparação com as células humanas. As L929 têm uma maior tendência a gerar e acumular radicais livres durante estresses experimentais, o que pode resultar em danos celulares mais severos. Esse comportamento é uma característica comum em células murinas, que têm uma resposta imunológica mais forte e duradoura, favorecendo a inflamação prolongada em comparação com as células humanas, como as MRC-5. Isso corrobora com nossos resultados onde observamos uma maior sensibilidade nos efeitos citotóxicos.

6. Conclusão

Os experimentos realizados demonstram a eficácia da cloração na degradação da oxibenzona e a formação de subprodutos clorados ao longo do processo. A escolha do íon m/z 150,9, amplamente utilizada na literatura, permitiu uma quantificação precisa da oxibenzona, enquanto o monitoramento do íon m/z 263 revelou a formação de subprodutos monoclorados de oxibenzona, com maior intensidade observada nos primeiros 30 minutos de reação. Esse subproduto posteriormente se decompôs, evidenciando uma dinâmica de degradação rápida sob a ação do cloro.

A análise também mostrou que o comportamento da oxibenzona frente à cloração é influenciado pela presença de grupos ativadores e desativadores na estrutura molecular, direcionando a substituição do cloro em posições preferenciais no anel benzênico. Tais resultados corroboram estudos anteriores, que identificaram uma degradação acelerada da oxibenzona em condições de cloração, levando à formação de subprodutos que podem apresentar propriedades ecotóxicas persistentes em ambientes aquáticos. A observação da formação e subsequente degradação de subprodutos monoclorados indica a complexidade das interações químicas da oxibenzona em ambientes clorados, ressaltando a importância de investigar seus impactos ambientais e potenciais efeitos à saúde.

O estudo de citotoxicidade realizado com a oxibenzona e seus subprodutos de degradação, utilizando as linhagens celulares MRC-5 (fibroblastos humanos) e L-929 (fibroblastos de camundongos), forneceu uma análise abrangente dos efeitos dessas substâncias sobre a viabilidade celular e evidenciou diferenças significativas nas respostas celulares, reforçando a relevância do uso de modelos complementares para a investigação da toxicidade *in vitro*.

Nas células MRC-5, a oxibenzona íntegra não apresentou efeitos citotóxicos significativos em concentrações mais baixas (10^{-2} a 10^{-7} $\mu\text{g/mL}$), corroborando dados prévios da literatura. Contudo, em concentrações elevadas (10^{-1} $\mu\text{g/mL}$), observou-se uma redução significativa na viabilidade celular, atribuída ao aumento do estresse oxidativo e disfunção das membranas celulares. Os subprodutos da oxibenzona, por sua vez, demonstraram toxicidade mais acentuada em concentrações equivalentes, indicando maior reatividade química e capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs).

A análise do comportamento celular após 48 horas revelou uma possível adaptação das células humanas (MRC-5) ao estresse inicial causado pela exposição à oxibenzona íntegra e aos subprodutos em concentrações moderadas. Esse fenômeno pode ser explicado pela ativação de mecanismos de defesa antioxidantes, como a produção de glutatona e enzimas neutralizadoras de EROs.

Por outro lado, as células L-929, derivadas de fibroblastos de camundongos, demonstraram maior sensibilidade à oxibenzona e seus subprodutos, mesmo em concentrações mais baixas. Essa diferença é atribuída à maior suscetibilidade das células murinas ao estresse oxidativo e à inflamação prolongada, características típicas desse modelo celular. Enquanto as MRC-5 apresentam mecanismos antioxidantes mais robustos e metabolismo eficiente baseado na fosforilação oxidativa, as L-929 exibem maior flexibilidade metabólica, alternando para a glicólise anaeróbica em condições adversas, o que pode intensificar a geração de radicais livres e os danos celulares.

De forma geral, os dados apresentados reforçam a importância de uma avaliação longitudinal da citotoxicidade, permitindo uma melhor compreensão dos efeitos adversos de compostos químicos como a oxibenzona e seus subprodutos, especialmente em contextos de exposição crônica. Essa abordagem se mostra essencial para a análise de produtos de uso diário, como filtros solares, que podem ter impacto na viabilidade celular a longo prazo, sugerindo assim, a inclusão desses compostos na lista de substâncias monitoradas. Esses achados contribuem para o entendimento da dinâmica dose-tempo das substâncias químicas e abrem caminhos para pesquisas futuras que visem avaliar a segurança e os efeitos biológicos de compostos similares em diferentes contextos de exposição.

7. Referências

ANÁGUA, Telma Alexandra Silva. Trihalometanos como Subprodutos da Cloração. 2011. Dissertação de Mestrado. Universidade da Beira Interior (Portugal).

ANÁGUA, A. P. A falta de regulamentação específica e os desafios para controle de compostos no mercado nacional. *Revista de Políticas Ambientais*, v. 25, n. 3, p. 45-56, 2011.

ANEXO 7 DO ANEXO XX DA PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO N° 5: Ministério da Saúde

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC n° 69/2016. *Regulamenta a concentração de substâncias em produtos de proteção solar*. Brasília, 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 22 jan. 2025.

BURNS, P. J.; et al. Impactos dos filtros solares no ambiente urbano e suas consequências para estações de tratamento de água. *Journal of Environmental Management*, v. 255, p. 109456, 2021.

BLUTHGEN, N.; ZUCCHI, C.; FENT, K. Effects of oxybenzone (BP-3) on endocrine disruption in aquatic species. *Aquatic Toxicology*, v. 110, p. 149-157, 2012.

BALMER, M. E.; BOLLER, M.; TAVARES, D.; et al. Oxybenzone contamination in the Mediterranean Sea: Levels and potential impact on aquatic organisms. *Environmental Science & Technology*, v. 39, n. 17, p. 6611-6617, 2005.

BALDERAS, M. P. LÓPEZ DE ALDA, D. BARCEL. (2018) "Removal of UV filters in wastewater treatment plants: A case study in Spain"

BALMER, M.E. et al. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss Lakes. *EST*, 2005.

BALMER, M. E., et al. (2005). Degradation of benzophenone-3 in aquatic environments: A potential risk for aquatic ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research*, 12(3), 113-121. <https://doi.org/10.1007/s11356-005-0025-5>

BELTRAN, F.J. et al. Mechanism and kinetic considerations of TOC removal from the powdered activated carbon ozonation of diclofenac aqueous solutions. *JHM*, 2009.

BENOTTI, M. J., & Brownawell, B. J. (2009). Degradation of oxybenzone in aquatic environments: implications for environmental contamination and biological effects. *Environmental Science & Technology*, 43(7), 2409-2415.

BLUTHGEN, N. et al. Effects of the UV filter benzophenone-3 (oxybenzone) at low concentrations in zebrafish (*Danio rerio*). *TAP*, 2012.

BURNS, E.E. et al. A. National scale down-the-drain environmental risk assessment of oxybenzone in the United States. IEAM, 2021.

CALAFAT, A.M. et al. Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition

Examination Survey 2003-2004. EHP, 2008.

CANTONI, O. (2019). The role of metabolic transformations in the toxicity of chemicals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 387, 132-145.

CORONADO, M. et al. Estrogenic activity and reproductive effects of the UV-filter oxybenzone (2-hydroxy-4-methoxyphenyl-methanone) in

fish. AT, 2008.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. *Classificação das águas e diretrizes para o lançamento de efluentes*. Brasília, 2005. Disponível em: <https://www.mma.gov.br>. Acesso em: 22 jan. 2025.

DOWNS, C. A.; KURLE, C. M.; MERRILL, A. L.; et al. Oxybenzone concentrations and coral bleaching: A potential cause and effect. *Environmental Pollution*, v. 218, p. 51-59, 2016.

DOWNS, C. A., et al. (2019). Toxicity of sunscreen degradation products: Implications for environmental and human health. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(15), 15682-15693.

DANOVARO, R.; PUSCEDDU, A.; GARDNER, W. S.; et al. The impact of oxybenzone on marine biodiversity: A global response to protect coral reefs. *Marine Environmental Research*, v. 146, p. 177-183, 2019.

DINARDO, J.C.; DOWNS, C.A. Dermatological and environmental toxicological impact of the sunscreen ingredient

oxybenzone/benzophenone-3. JCD, 2018.

DOS SANTOS ALMEIDA, S. et al. Environmentally relevant concentrations of benzophenone-3 induce differential histopathological responses in gills and liver of freshwater fish. ESPRI, 2021.

DOWNS, C. A., Kramarsky-Winter, E., Segal, R., Fauth, J. E., Knutson, S., & Bronstein, O. (2016). *Toxicopathological effects of the sunscreen UV filter, oxybenzone (benzophenone-3), on coral planulae and cultured primary cells and its environmental contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 70(2), 265-288.

DANOVARO, R., Corinaldesi, C., Rastelli, E., Greco, S., & Rinaldi, C. (2019). *Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Nature Communications, 10(1), 1-11.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA). Substances in Cosmetics and Personal Care Products. *Assessing Environmental and Health Risks of Chemicals*. Helsinki, 2020.

FERREIRA, M. P.; et al. A cloração de PPCPs e os subprodutos gerados: um estudo de mutagenicidade e carcinogenicidade. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 40, p. 823-832, 2021.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use. *Federal Register*, v. 84, n. 151, p. 40693-40710, 2019.

FENT, K. et al. Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. EP, 2010.

FREDERIKSEN, H. et al. Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and parabens in rural and urban Danish mother-child pairs. *IJHEH*, 2013.

FERNANDES, T. S.; et al. Formação de subprodutos durante a cloração de águas residuais e suas implicações para a saúde pública. *Water Research*, v. 50, p. 64-73, 2019.

GONZALEZ, S.; MÜLLER, R.; BOVENSCHULTE, M.; et al. Detection of oxybenzone in human breast milk and urine. *Toxicology Letters*, v. 164, n. 3, p. 249-255, 2006.

GONZÁLEZ, S.; PERALES, J. F.; MEYER, J.; et al. Effects of prolonged exposure to oxybenzone on immune function of the skin. *Toxicology Letters*, v. 257, n. 3, p. 142-150, 2017.

GIOKAS, G. L.; ANTONIADOU, M. G.; KOUIMTZIS, T. H.; et al. The impact of benzophenones on marine life: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 26, n. 10, p. 2181-2190, 2007.

GIOKAS, D. L., et al. (2007). Degradation of benzophenone-3 under sunlight and chlorination conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(6), 1239-1245.

GARCIA, S. S., Almeida, R. M., & Silva, T. L. (2011). *Determinação da oxibenzona em amostras aquáticas utilizando LC/MS: análise de fragmentos de m/z 150,90*

HAYDEN, P. J.; GOSSE, J. A.; MANDAL, S. K.; et al. Photoactivation of oxybenzone and its effects on reactive oxygen species production and cellular apoptosis. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 125, n. 4, p. 671-678, 2005.

HENSON, P. J.; ROSSI, A. M.; VERMES, D. S.; et al. The role of oxidative stress in the carcinogenesis of skin cancers. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 181, n. 1, p. 46-53, 2002.

JANJUA, N. R.; KLEIN, S. B.; DOCKERY, L. E.; et al. Bioaccumulation of oxybenzone in human tissues and its potential health effects. *Environmental Health Perspectives*, v. 116, n. 4, p. 560-565, 2008.

JOHNSON, B. S.; et al. Efeitos da cloração na capacidade de absorção UV de filtros solares e formação de subprodutos. *Environmental Science and Technology*, v. 47, p. 1219-1225, 2013.

KRAUSE, M., Klit, A., Blomberg Jensen, M., Søbørg, T., Frederiksen, H., & Schlumpf, M. (2012). *Sunscreens: Are they beneficial for health? An overview of endocrine disrupting properties of UV-filters. *International Journal of Andrology, 35(3), 424-436.

KIM, S. et al. Effects of benzophenone-3 exposure on endocrine disruption and reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)--a two generation exposure study. AT, 2014.

KIM, K. H., & Choi, Y. (2014). Decomposition of organic compounds in aquatic environments under high oxidant concentrations. *Environmental Science & Technology*, 48(7), 4056-4063. <https://doi.org/10.1021/es500467k>

KINNBERG, K.L. et al. Endocrine-disrupting effect of the ultraviolet filter benzophenone-3 in zebrafish, *Danio rerio*. ETC, 2015.

KUNISUE, T. et al. Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in U.S. women and their association with endometriosis. EST, 2012.

KRAUSE, M.; VON GÖTZ, N.; DORN, M.; ZIMMER, B.; KÜMMERER, K.; et al. Potential endocrine disruption of benzophenone derivatives in UV filters: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 31, n. 7, p. 1712-1725, 2012.

KIM, H.; CHOI, Y. Systematic review on the effects of oxybenzone on human health. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 5, p. 3875-3883, 2018.

KRAUSE, M.; VON GÖTZ, N.; DORN, M.; ZIMMER, B.; KÜMMERER, K.; et al. Potential endocrine disruption of benzophenone derivatives in UV filters: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 31, n. 7, p. 1712-1725, 2012.

KERDIVEL, G., et al. (2013). Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of benzophenone derivatives in human cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272(2), 196-205

LAMBROPOULOU, D.A. et al. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-p-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. JCA, 2002.

LI, J. et al. Transformation of benzophenone-type UV filters by chlorine: Kinetics, products identification and toxicity assessments. JHM, 2016.

LIU, Q. et al. Acute toxicity formation potential of benzophenone-type UV filters in chlorination disinfection process. JES, 2014.

LIU, L.; LU, Y.; ZHU, Q.; et al. Occurrence and removal of oxybenzone in wastewater treatment plants. *Environmental Pollution*, v. 161, p. 292-299, 2012.

LEI DO SENADO Nº 2571 (SB 2571): Hawai'i State Legislature

Lei RPPL nº 10-30: A República de Palau proíbe produtos químicos de proteção solar para proteger seus recifes de coral e o Patrimônio Mundial da UNESCO | ICRI

LAMBROPOULOU, D. A.; GIOKAS, G. L.; SAKKAS, V.; ALBANIS, T. A. Determinação de oxibenzona em águas de piscinas. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 9, n. 3, p. 139-145, 2002.

LEE, C. K.; et al. Identificação de subprodutos da oxibenzona em sistemas de tratamento de água utilizando LC-MS/MS e GC-MS. *Journal of Chromatography A*, v. 1423, p. 19-26, 2016.

MARTÍNEZ, J. L.; et al. Toxicidade de subprodutos de cloração da oxibenzona. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 36, n. 8, p. 2057-2066, 2017.

MATTA, M. K.; REINHARDT, J.; LI, J.; SHANBROM, E.; GRAHAM, J.; et al. Exposure to sunscreen chemicals and their effects on human health: A study of systemic absorption. *JAMA*, v. 322, n. 20, p. 1984-1991, 2019.

MARSON, Eduardo Oliveira et al. Avaliação de diferentes complexos de ferro e oxidantes para a degradação da mistura de fipronil, oxibenzona e propilparabeno em efluente sanitário terciário sob radiação solar. 2023.

MINASSA, Helena de Menezes. Identificação e avaliação de absorção dérmica de subprodutos de degradação por cloração da oxibenzona. 2023.

MANDY M.P. TSUI, BRYAN M.Y. LEUNG, FRANCIS L.Y. WAI, ET AL. (2014) Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in surface waters from different countries.

OLIVEIRA, A. M., Souza, M. A., & Lima, F. S. (2018). *Radiação ultravioleta e o uso de protetores solares: uma revisão. *Revista Brasileira de Dermatologia, 93(5), 602-612.

World Health Organization. (2020). *Sun protection: protecting yourself from skin damage*. Retrieved from [WHO website].

OLIVEIRA, A. S.; SILVA, P. R.; MENDES, M. B. Etapas do tratamento convencional de água e sua eficiência na remoção de contaminantes. *Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 21, n. 2, p. 97-106, 2016.

OLIVEIRA, F. A. (2021). Mechanisms of cellular adaptation to cytotoxic compounds: The role of oxidative stress and antioxidant defense systems. *Toxicology Reports*, 8, 1124-1135.

PIGNOTTI, L.; LEROUX, S.; LEVY, A.; et al. Occurrence of oxybenzone in surface waters in France: A case study of potential risks to aquatic ecosystems. *Environmental Pollution*, v. 267, p. 115563, 2020.

PASCHOALATO, R. A.; et al. Formação de subprodutos tóxicos durante a cloração da oxibenzona. *Chemosphere*, v. 72, p. 1296-1302, 2008.

PASCHOALATO, Cristina Filomena Pereira Rosa; TRIMAILOVAS, Márcio Resende;

DI BERNARDO, Luiz. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peroxônio e pós-cloração em água contendo substância húmica. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 13, p. 313-322, 2008.

RODIL, R. et al. Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water. ABC, 2009.

RODRIGUEZ-FUENTES, G. et al. Evaluation of the estrogenic and oxidative stress effects of the UV filter 3-benzophenone in zebrafish (*Danio rerio*) eleuthero-embryos. EES, 2015.

RODRIGUEZ-FUENTES, G.; ANDRADE, M.; ESPINOSA, R.; et al. Endocrine disruption in fish exposed to oxybenzone: A case study. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 34, n. 2, p. 305-312, 2015.

SILVA, J. S.; et al. A regulação de poluentes emergentes e a oxibenzona: lacunas na legislação brasileira. *Revista Brasileira de Ciências Ambientais*, v. 34, n. 2, p. 103-112, 2022.

SARVEIYA, V.; GAUR, M.; SRIVASTAVA, R.; et al. Mechanism of skin absorption of oxybenzone. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 270, n. 1, p. 87-95, 2004.

SAHU, R.; SIVARAJAN, R.; NAKKA, S. UV filters in sunscreen products: A review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 123, p. 82-99, 2013.

SANTOS, R. A., & Almeida, L. M. (2019). *Filtros solares: uma revisão sobre seus componentes e a segurança no uso. **Cosmetic and Dermatology Journal*, 12(2), 85-94.

SCHLUMPF, M. et al. In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens. EHP, 2001.

SCHLUMPF, M.; COTTON, B.; CONSCIENCE, M.; et al. Endocrine disruption and reproductive effects of benzophenone derivatives: Study in rats. *Environmental Health Perspectives*, v. 112, n. 6, p. 1034-1039, 2004

SCHREURS, R.H. et al. Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. TS, 2005.

SCHLUMPF, M.; COTTON, B.; CONSCIENCE, M.; HOFKUMMER, J.; RAMIREZ, J. M.; DUFTY, M.; LOTT, C.; VON GOETZ, N.; SCHMITT, C.; LUCH, A.; CAVALETTI, G.; et al. Endocrine active UV filters: Developmental toxicity and exposure through breast milk. *Environmental Research*, v. 110, n. 7, p. 733-742, 2010.

TAWK, A. et al. Chlorination of the beta-triketone herbicides tembotrione and sulcotrione: Kinetic and mechanistic study, transformation products identification and toxicity. WR, 2015.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) n° 1223/2009. *Regulamento relativo aos produtos cosméticos*. Bruxelas, 2009.

VISCO, G. et al. Optimisation of a photochemical sensor for total organic carbon measurement. *AC*, 2005.

WANG, X.; WANG, W.; JIA, X.; et al. Effects of oxybenzone on male fertility and spermatogenesis in rats. *Toxicological Sciences*, v. 151, n. 2, p. 301-310, 2016.

WESTERHOFF, P. et al. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during water treatment processes. *EST*, 2005.

XIAO, M. et al. Transformation mechanism of benzophenone-4 in free chlorine promoted chlorination disinfection. *WR*, 2013.

XAVIER, C. H.; et al. Síntese e avaliação das atividades fotoprotetora, citotóxica e antiviral contra o Zika vírus de derivados triazólicos da benzofenona. *Química Nova*, v. 43, n. 4, p. 473-479, 2020.

YANG, Q.; et al. Monitoramento da toxicidade de benzofenonas após cloração em sistemas de tratamento de água. *Environmental Pollution*, v. 259, p. 113940, 2020.

ZWIENER, C. et al. Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water. *EST*, 2007.

ZENKER, A. et al. Simultaneous trace determination of nine organic UV-absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. *JCA*, 2008.

ZHANG, S. et al. Chlorination of oxybenzone: Kinetics, transformation, disinfection byproducts formation, and genotoxic changes. *C*, 2016.

ZHANG, L.; WANG, M.; LI, Y.; et al. Association of oxybenzone exposure during pregnancy with birth outcomes: A population-based study. *Environmental International*, v. 142, p. 105-115, 2020.

Zhang, Y., Liu, Y., & Zhang, X. (2016). Degradation of benzophenone-3 by free chlorine: Kinetics and identification of degradation products. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3), 2271-2279.

Zhuang, W. Q., Lee, S. H., & Yao, Y. (2013). Chlorination of benzophenone-3 and its environmental implications. *Environmental Chemistry Letters*, 11(1), 53-58. <https://doi.org/10.1007/s10311-012-0382-6>

ZAGO, M. A. Propriedades, aplicações e impactos ambientais de estabilizantes UV: uma revisão. *Revista Brasileira de Química Aplicada*, v. 7, n. 2, p. 45-58, 2015.

ZHAN, L.; LIU, H.; ZHANG, Y.; et al. Detection of oxybenzone in drinking water sources: Implications for water treatment. *Environmental Science & Technology*, v. 47, n. 3, p. 1128-1134, 2013.

ZWIENER, C.; RICHARDSON, S. D.; DEMARINI, D. M.; GRUMMT, T.; et al. Presença de oxibenzona em águas recreacionais e potenciais riscos à saúde pública. *Science of the Total Environment*, v. 379, p. 145-154, 2007.

ZHANG, L.; et al. Aumento da toxicidade de benzofenonas após cloração: Avaliação com bioensaios. *Science of the Total Environment*, v. 511, p. 345-352, 2015.