

## **AValiação DO POTENCIAL TÓXICO DA BENZOFENONA-3 EM *Artemia salina*.**

**Sthéfanne Rezende da Conceição<sup>1</sup> (IC)\*, Patrícia Sales Neves<sup>1</sup> (IC), Hévelyn Yasmine Damaceno Sousa<sup>1</sup> (IC) e Elisa Flávia Luiz Cardoso Bailão<sup>1</sup> (PQ)**

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Farmácia, Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, UEG, Anápolis, GO. (sthefanne\_rezende@hotmail.com)

<sup>2</sup>Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, UEG, Anápolis, GO

Resumo: O desenvolvimento e o uso de filtros solares aumentou consideravelmente nas últimas décadas por permitir uma proteção apropriada contra a radiação solar ultravioleta, contribuindo para a prevenção de algumas doenças, como o câncer de pele. Porém, pouco se sabe sobre o efeito das substâncias presentes nos filtros solares no ambiente aquático. A contaminação do ambiente aquático com essas substâncias pode ocorrer por duas vias, direta ou indireta. A forma direta envolve a realização de atividades recreativas no ambiente aquático. A forma indireta ocorre pelo lançamento dessas substâncias nas estações de tratamento de águas residuais. Sendo assim, é de fundamental importância a realização de estudos que identifiquem e caracterizem os efeitos dos filtros solares no ambiente aquático. O microcrustáceo *Artemia salina* é uma espécie muito utilizada como bioindicador em ensaios de toxicidade aguda em laboratórios. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial tóxico de um dos componentes mais utilizados em filtro solares, a benzofenona-3, sobre o microcrustáceo *Artemia salina*.

Palavras-chave: bioindicador, contaminantes emergentes, filtro solar.

### **Introdução**

O desenvolvimento e o uso de filtros solares aumentou consideravelmente nas últimas décadas por ser uma forma eficaz de proteção aos efeitos causados pela radiação solar (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). Os protetores solares são preparações cosméticas e possuem diversas moléculas ou complexos moleculares que funcionam como filtros da radiação ultravioleta (UV) (BALOGH, 2011). Estes podem ser classificados em filtros orgânicos, que são formados por compostos aromáticos possuindo a capacidade de absorver a radiação UV, e transformar em radiação com energia menor (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007). E inorgânicos, que possuem compostos metálicos em sua composição que refletem e dispersam a radiação, sendo os compostos mais utilizados óxido de zinco (ZnO), dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), silicatos e óxido de ferro (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012).

Os principais filtros UVA incluem as benzofenonas, avobenzona, ácido tereftalideno dicânfora sulfônico, drometrisol trisiloxano, metileno-bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol e bis-etilexiloxifenol-metoxi-feniltriazina (BALOGH, 2011).

As benzofenonas são cetonas aromáticas. A oxibenzona (benzofenona-3) absorve bem UVB/UVA2 sendo considerado um filtro de amplo espectro (LOPES; CRUZ; BATISTA, 2012). A classe é responsável por várias reações alérgicas ou dermatite de contato (CABRAL; PEREIRA; PARTATA, 2011).

Atualmente, já foi demonstrado que componentes de agentes tópicos, inclusive filtros solares, podem ser encontrados no ambiente aquático. Essa contaminação pode ocorrer por duas vias: direta ou indireta. A forma direta se dá pela remoção dessas substâncias da pele humana ao se realizar atividades recreativas no ambiente aquático, como natação. A forma indireta ocorre por meio do lançamento dessas substâncias nas estações de tratamento de águas residuais, durante o banho doméstico ou lavagem de roupas (KIM; CHOI, 2014). O impacto dessas substâncias nesse ecossistema ainda é pouco elucidado e necessita ser investigado. Tendo em vista que muitos biomarcadores são indicadores rápidos de efeitos adversos crônicos, podendo permitir uma intervenção antes que efeitos prejudiciais irreversíveis tornem-se inevitáveis (RIBEIRO; MARQUES, 2003). O microcrustáceo *Artemia salina* é uma espécie de fácil manipulação em laboratório e de baixo custo. Estudos comprovam a ação tóxica de várias substâncias naturais ao crustáceo (RIOS, 1995; NASCIMENTO et al., 2008).

## Material e Métodos

- **Incubação dos cistos em ambiente laboratorial**

O ensaio de toxicidade foi realizado através da adaptação da metodologia de Meyer et al. (1982). Preparou-se uma solução salina, com sal marinho na concentração de 40 g/L acrescido de 0,0006% de extrato de levedura. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *A. salina* e no preparo das demais diluições. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 36 h, com aeração constante e temperatura ambiente.

- **Ensaio de letalidade da substância estudada em *Artemia salina***

Após 36 h de incubação, com a eclosão dos ovos, dez náuplios de *Artemia salina* foram colocados em cada poço de uma placa de 96 poços. Os microcrustáceos foram expostos a 5 µl de concentrações crescentes de benzofenona-3 diluída em etanol: 10, 100, 1.000, 10.000, 100.000, 1.000.000 ng/l. Utilizou-se a solução de sal marinho para completar o volume final dos poços para 200 µl. Foi utilizado como

controle negativo solução de sal marinho contendo 5 µl de etanol. E como controle positivo, foram utilizadas diferentes concentrações de dicromato de potássio. Os testes foram realizados em triplicata experimental e biológica. Os espécimes foram expostos na substância teste por 24 h. Ao final deste tempo, realizou-se a contagem de náuplios vivos e mortos, sendo que foram considerados vivos aqueles que apresentaram algum movimento.

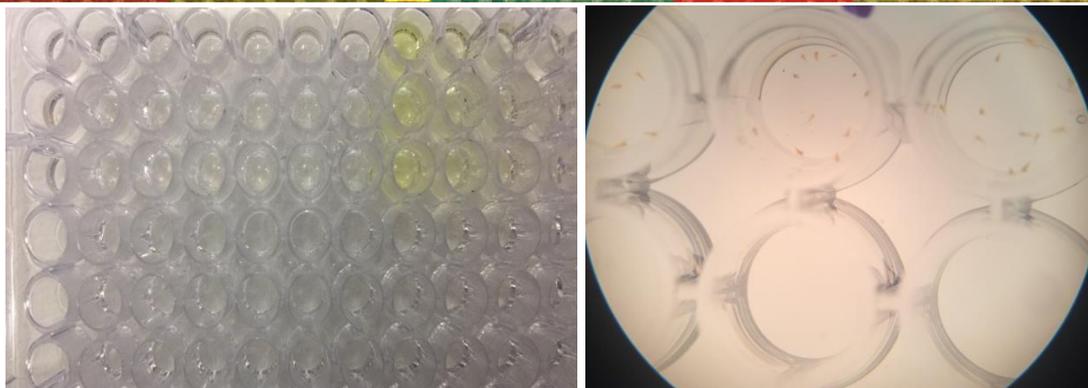
## Resultados e Discussão

Os náuplios de *A. salina* foram obtidos com sucesso após 36 h de incubação dos ovos em solução de sal marinho (Figura 1).



**Figura 1** – Ovos incubados para eclosão.

Após a eclosão dos ovos, os microcrustáceos foram expostos à benzofenona-3 em várias concentrações, além do controle negativo e positivo. Após 24 h de exposição, foi realizada a contagem de náuplios vivos e mortos (Figura 2).



**Figura 2** – Exposição à substância teste e contagem dos náuplios.

Até o momento, foram obtidos os dados de sobrevivência de *A. salina* frente a diferentes concentrações de benzofenona-3 (Tabela 1). Esses resultados estão sendo analisados e organizados para cálculo da DL50. Estudos apontam concentrações até 620 ng/l de benzofenona-3 em ambientes aquáticos (Grabicova et al., 2013), o que sugere que essa dose ainda não é tóxica para algumas espécies aquáticas. Porém, mais estudos devem ser realizados utilizando outros bioindicadores para confirmar essa hipótese.

Tabela 1. Taxa de sobrevivência de *A. salina* exposta a diferentes doses de benzofenona-3 e aos controles negativo (C-) e positivo (C+).

	BP3						$K_2Cr_2O_7$				
	1.000.000 mg/L	100.000 mg/L	10.000 mg/L	1.000 mg/L	100 mg/L	10 mg/L	C- 5µl etanol	C+ 0,4 mg/mL	C+ 0,2 mg/mL	C+ 0,1 mg/mL	C+ 0,05 mg/mL
1º bateria	0 % vivos	3,33 % vivos	100% vivos	93,3% Vivos	100% Vivos	100% Vivos	100% vivos	13,3% vivos	40% vivos	96,6% vivos	100% vivos
2º bateria	0 % vivos	0 % vivos	100% Vivos	96,6% vivos	100% Vivos	100% Vivos	100% vivos	33,3% vivos	50% vivos	93,3% vivos	100% vivos
3º bateria	0 % vivos	16,6 % Vivos	96,6% Vivos	96,6% vivos	96,6% Vivos	100% Vivos	100% vivos	13,3% vivos	50% vivos	96,6% vivos	100% vivos

### Considerações Finais

Os protetores solares podem afetar negativamente os organismos aquáticos. Nesse sentido, a avaliação da exposição do microcrustáceo *Artemia salina* à benzofenona-3 pode ser um indicativo da toxicidade dessa substância ao ambiente aquático. Outros bioindicadores e outras substâncias precisam ser estudados para dimensionamento do impacto causado pelos filtros solares ao ambiente aquático.

## Agradecimentos

À Universidade Estadual de Goiás pelo incentivo e suporte financeiro por meio do Programa de Bolsas de Iniciação Científica (VIC-UEG), Bolsa de Incentivo ao Pesquisador (BIP-UEG) e Pró-Projetos Pesquisa (Edital nº 029/2016).

## Referências

BALOGH, Tatiana Santana et al. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 4, p. 732-742, Agosto, 2011. Disponível em. Acesso em 08 de Julho de 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962011000400016>.

CABRAL, L.D.S; PEREIRA, S.O; PARTATA, A.K. Filtros solares e fotoprotetores mais utilizados nas formulações no Brasil. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.4, n.3, Pub.4, Julho 2011. Disponível em. Acesso em 05 de Julho de 2017.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antonio. Protetores solares. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 153-158, Fev. 2007. Disponível em. Acesso em 06 de Julho de 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000100027>.

GRABICOVA, K., FEDOROVA, G., BURKINA, V., STEINBACH, C., SCHMIDT-POSTHAUS, H., ZLABEK, V., et al. Presence of UV filters in surface water and the effects of phenylbenzimidazole sulfonic acid on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following a chronic toxicity test. **Ecotoxicol Environ Saf** 96: 41-47, 2013.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. **Environ Int** 70: 143- 157, 2014.

LOPES, F.M.; CRUZ, R.O.; BATISTA, K.A. Radiações ultravioletas e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Vol. 16, Nº. 4, Ano 2012, p. 183-199. Disponível em < <http://www.redalyc.org/pdf/260/26029236014.pdf>>. Acesso em 05 de Julho de 2017.

MEYER, B.N. et al. A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, p.31-34, 1982.

RIBEIRO, L. R.; MARQUES, E. K. A importância da mutagênese ambiental na carcinogênese humana. In: \_\_\_\_\_. **Mutagênese ambiental**. L. R. RIBEIRO, D. M. F. SALVADORI and E. K. MARQUES. Canoas: Ulbra, 2003. 21-28.

RIOS, F. J. B. Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia* sp.1995. **Dissertação (Mestrado em Bioquímica)** – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-Ce.