

# Análise do impacto dos protetores solares na vida aquática

Lara Guerreiro, Maria Paulino, Sofia Reis

Escola Secundária Dr. Manuel Candeias Gonçalves – Agrupamento de Escolas de Odemira – Prof. Paula Canha

Ano letivo 2021-2022

## Resumo

Os protetores solares desempenham um papel fundamental na diminuição do risco de doenças na pele causadas pelos raios UV. Contudo, têm impactes negativos na vida aquática. Têm surgido no mercado fotoprotetores com selo *reef-safe*. Estudámos a influência de 4 protetores solares, dois com selo *reef-safe* e dois sem esse selo, na mortalidade, regeneração e eventuais malformações nas planárias (*Dugesia gonocephala*). Todos os protetores solares provocaram elevada mortalidade nas planárias exceto o Avène (com selo *reef-safe*) nas concentrações 25mL/Kg e 10mL/Kg. Contudo, em concentrações superiores, até esse protetor causa 100% de mortalidade nas planárias. Um dos protetores sem *reef-safe* provocou um atraso na regeneração das planárias, mesmo em concentração muito baixa (10mL/Kg). Ensaaios com medidor de UV mostraram que o protetor Avène, que se revelou mais inofensivo para as planárias, tem uma proteção de radiação UV ligeiramente menor que os outros protetores solares. É necessária mais investigação para aumentar o grau de proteção destes produtos, mas simultaneamente garantir que estes não prejudicam os ecossistemas aquáticos.

**Palavras-chave** - protetores solares; raios UV; reef-safe; planárias

## Abstract

Sunscreens play a key role in decreasing the risk of skin diseases caused by UV rays. However, they have negative impacts on aquatic life. Photoprotectors with *reef-safe* seal have appeared on the market. We studied the influence of 4 sunscreens, two with reef-safe and two without this seal, on mortality, regeneration and eventual malformations in planarians (*Dugesia gonocephala*). All sunscreens caused high mortality in planarians except Avène (with reef-safe) at concentrations of 25mL/Kg and 10mL/Kg. However, at higher concentrations, even this protector causes 100% mortality in planarians. One of the protectors without reef-safe caused a delay in the regeneration of planarians, even at very low concentrations (10mL/Kg). Tests with a UV meter showed that Avène sunscreen, which proved to be more harmless to planarians, has slightly less UV radiation protection than other sunscreens. More research is needed to increase the degree of protection of these products, while ensuring that they do not harm aquatic ecosystems.

**Keywords** - sunscreens; UV rays; reef-safe; planarians

## Introdução

A radiação solar que chega à superfície terrestre compreende raios UV, radiação visível e raios infravermelhos. A exposição solar moderada oferece um número de efeitos benéficos, incluindo produção de vitamina D, atividade antimicrobiana e promoção da saúde cardiovascular. No entanto, a exposição a longo prazo aos raios UV é considerada como potencial causa de cancro da pele e lesões crónicas na vista (Ngoc, et al., 2019).

Os fotoprotetores (filtros solares e protetor solar) desempenham um papel fundamental na diminuição do risco de incidência de doenças na pele causadas pelos raios UV (Ngoc, et al., 2019). Os protetores solares contêm filtros UV, substâncias cuja função é refletir, refratar e dissipar os comprimentos de onda de luz solar que podem causar danos na pele humana (Caloni, et al., 2021). Os filtros UV podem ser divididos em duas categorias, orgânicos e inorgânicos (Ngoc, et al., 2019).

Filtros orgânicos ou químicos são substâncias sintetizadas que absorvem os raios UV de alta energia, atenuando a sua transmissão quando estes atingem a pele. Estas moléculas ganham muita energia após serem atingidas por radiação UV, libertando-a como fluorescência ou calor, e, desta forma, são capazes de dissipar uma parte da

radiação e transformar o resto num comprimento de onda não prejudicial para a pele (Caloni, et al., 2021). Estes filtros são divididos em derivados do ácido paraaminobenzóico (PABA), derivados da cânfora, benzofenonas, salicilatos, cinamatos entre outros (Singer, et al., 2019).

Filtros inorgânicos ou físicos fornecem ação filtrante contra a luz solar através de dois mecanismos: os cristais refratam e espalham parte da radiação incidente, ou as próprias moléculas chegam a um estado excitado e então, estabilizam da mesma forma que os filtros orgânicos. Existem apenas dois filtros minerais amplamente aprovados e utilizados em todo o mundo: dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ) (Caloni, et al., 2021).

Durante os últimos anos, a quantidade de turistas tem vindo a aumentar nas regiões costeiras e também em rios e lagos. Entre os impactes negativos do turismo no ambiente aquático, a exposição a compostos químicos que fazem parte da composição do protetor solar e de outros cosméticos tem merecido a atenção da comunidade científica (Caloni, et al., 2021).

Nos ecossistemas aquáticos, os filtros orgânicos costumam apresentar maiores concentrações nas microcamadas da superfície da água, e podem, portanto, influenciar a disponibilidade de luz solar para os organismos fotossintéticos, um fenómeno especialmente prejudicial em áreas onde estão presentes recifes de coral. Alguns filtros UV orgânicos têm atividade fotocatalítica, um recurso que os torna co-responsáveis pela superprodução de ROS (espécies reativas de oxigénio) em ambientes aquáticos (Caloni, et al., 2021). As espécies reativas de oxigénio (ROS) são moléculas, radicais ou não radicais, que contêm oxigénio na sua composição (Nunes, 2014). As ROS são potencialmente tóxicas para organismos vivos por danificarem componentes celulares como o DNA, proteínas e membranas (Caloni, et al., 2021; Pais, 2011).

Filtros inorgânicos, como  $\text{TiO}_2$  e  $\text{ZnO}$ , dependendo do tamanho utilizado (micrométrico ou nanoestruturado), apresentam diferentes comportamentos na água. Foi descrito que filtros minerais micrométricos podem ser libertados na água do mar em até 49% da quantidade utilizada dos mesmos, o que significa que são extremamente laváveis, pois são hidrofílicos (Caloni, et al., 2021). A presença de determinadas condições, como o teor em matéria orgânica na água, representam uma contribuição importante para a estabilização das partículas de  $\text{nTiO}_2$  (nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ ), que, uma vez dispersas em água, podem permanecer isoladas ou formar agregados juntamente com macromoléculas capazes de formar complexos (por exemplo, ácidos húmicos) que perduram no meio ambiente (Caloni, et al., 2021).

A toxicidade de vários filtros UV para os organismos marinhos varia consideravelmente dependendo do filtro UV e da fisiologia do organismo. Muitos estudos enfatizaram respostas biológicas e toxicológicas, que podem afetar a sobrevivência, comportamento, crescimento, desenvolvimento e reprodução, que foram observados em vários níveis tróficos (Caloni, et al., 2021).

Corais pedregosos (*Acropora* spp.), que são importantes construtores de recifes e ajudam a proteger as costas da erosão das ondas, aumentaram as infeções virais e a atividade de branqueamento após exposição a protetor solar. As infeções virais também aumentaram no bacterioplâncton, na presença de protetor solar. O coral *Stylophora pistillata* aumentou a mortalidade larvar e a atividade de branqueamento quando exposto a benzofenona-2 e benzofenona-3, que são frequentemente usados em protetores solares e loções; nanopartículas (NPs) metálicas encontradas em alguns protetores solares são tóxicas para o peixe *Oryzias melastigma*, alguns crustáceos (*Tigriopus japonicus* spp. e *Elasmopus rapax* spp.), bem como diatomáceas marinhas (*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana* e *Chaetoceros gracilis*). Químicos presentes em protetores demonstraram toxicidade aguda nos crustáceos do género *Daphnia* e no fitoplâncton da espécie *Desmodesmus subspicatus* (McCoshum, et al., 2016). Larvas de ouriço do mar (*Paracentrotus lividus*), alimentadas com microalgas expostas a nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos, apresentam baixa sobrevivência e deformações morfológicas (Gambardella, et al., 2014).

Os efeitos adversos dos componentes dos protetores solares nos seres vivos são atribuídos principalmente aos filtros UV orgânicos. Consequentemente, têm sido introduzidas no mercado alternativas *reef-safe*. A maioria

destes produtos não contêm filtros UV orgânicos. Usam filtros UV à base de minerais como ZnO e TiO<sub>2</sub>. Investigações recentes sugerem que estes protetores solares são uma alternativa amiga do ambiente e essas informações têm sido usadas em programas de consciencialização sobre o assunto ao redor do mundo (Slijkerman & Keur, 2018). No entanto, a ausência de padrões de rotulagem claros é um dos maiores desafios para o uso da educação e consciencialização do consumidor como estratégia para reduzir o uso de protetores solares que contêm produtos químicos que foram documentados como prejudiciais aos ecossistemas aquáticos. Muitos protetores solares são vendidos como sendo *reef-safe*, mas não existem requisitos ou processos de certificação para definir o que *reef-safe* realmente significa, e alguns protetores com este rótulo ainda contêm produtos químicos com ingredientes que já foram banidos por lei nalguns países por não serem seguros para corais e para a biota marinha. A literatura científica, por exemplo, refere que, dos protetores solares mais populares com um rótulo *reef-safe* vendidos pela loja online Amazon, 4% continha oxibenzona ou octinoxato e 44% continham outros ingredientes que representavam uma potencial preocupação para os recifes de coral (Levine, 2021).

Este assunto é relevante, atual e com várias lacunas no conhecimento, nomeadamente no que diz respeito aos ecossistemas dulçaquícolas. Deste modo, interessou-nos estudar o impacto dos protetores solares nos ecossistemas dulçaquícolas pois: (1) estão menos estudados que os estuarinos e marinhos e (2) existem vários locais balneares dulçaquícolas no nosso concelho, como é o caso do Pêgo das Pias, do espelho de água de Santa Clara e da barragem de Santa Clara. Adicionalmente é fundamental perceber se os protetores com selo reef-safe disponíveis para venda no nosso concelho são realmente inofensivos para o meio aquático e se os mesmos são tão eficazes como os outros a proteger a pele da radiação UV.

A primeira questão que investigámos foi: os protetores solares disponíveis nas farmácias e supermercados locais são seguros para ambientes aquáticos dulçaquícolas? Decidimos usar como indicador um verme aquático abundante nos nossos ecossistemas, a planária *Dugesia gonocephala*.

As planárias são vermes planos (*Platyhelminthes*) com uma enorme capacidade regenerativa. Podem ser terrestres, mas a maioria são aquáticas (dulçaquícolas e marinhas). Apresentam uma única abertura ligada à faringe, um tubo extensível para o exterior do animal, usado na ingestão do alimento e na defecação, e uma cavidade gastrovascular ramificada. Apresentam dois ocelos (que percecionam a luz) e um sistema nervoso muito simples. Um fragmento de uma planária adulta regenera um verme inteiro (Faria, 2021). Esta extraordinária capacidade de regeneração das planárias deve-se à presença de células estaminais, totipotentes, designadas neoblastos. Estes encontram-se dispersos por quase todo o corpo da planária adulta. As planárias são usadas como modelos para o estudo de regeneração e da biologia das células estaminais, pois conseguem regenerar um indivíduo completo de praticamente qualquer fragmento do seu corpo, num tempo relativamente curto - seis a doze dias (Faria, 2021). No anexo III encontram-se imagens de planárias.

## Experiência 1- Estudo da influência de quatro protetores solares na planária *D. gonocephala*

### Objetivo

Estudar a influência de quatro protetores solares na mortalidade, na velocidade de regeneração e nas eventuais malformações das partes regeneradas das planárias da espécie *D. gonocephala*.

### Organismos

As planárias da espécie *D. gonocephala* para esta atividade foram colhidas no canal do Perímetro de Rega do Mira. Todas as planárias usadas tinham tamanho idêntico. As planárias foram aclimatadas pelo menos durante 3 dias antes da experiência. Durante a aclimação foram alimentadas, com moluscos cortados em pequenos pedaços (1 caracol em cada 5 dias). As condições de aclimação foram: fotoperíodo natural, temperatura variável entre 14 e 18°C, recipientes de plástico com água do local de colheita contendo pedras também provenientes do local de colheita, arejamento assegurado por compressor e pedra difusora.

## Protetores utilizados

Decidimos investigar quatro protetores solares, dois com rótulo *reef-safe* (Bioderma Photoderm Max e o Eau Thermale Avène) e dois sem esse rótulo (Garnier Ambre Solaire e Nivea SunKids). O ID de cada protetor é, respetivamente, BA, A, G e N.

Na Tabela I encontram-se alguns dos principais compostos presentes nos protetores utilizados.

Tabela I- Compostos presentes nos protetores utilizados

Protetor	Compostos
Bioderma Photoderm Max SPF 50+ <b>BA - reef-safe</b>	octocrylene, dicaprylyl carbonate, dipropyleneglycol, methylenebis-benzotriazolyltetramethylbutylphenol (TinosorbM - Nano), butylmethoxydibenzoylmethane, cyclopentasiloxane, bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, iron oxides, titaniumdioxide
Avène Eau Thermale SPF 50+ <b>A - reef-safe</b>	dicaprylyl carbonate, methyleneBIS-benzotriazolyltetramethylbutylphenol, bis-Ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, diethylhexylbutamidotriazone, butilmetoxidibenzoilmetano, laurylglucoside, acrylates/C10-30 alkylacrylatecrosspolymer, sodiumhydroxide, tocoferol, tocopherylglucoside
Garnier Ambre Solaire SPF 30 <b>G</b>	octocrylene, homosalate, ethylhexylsalicylate (octisalate), butylmethoxydibenzoylmethane, styrene/acrylatescopolymer, diisopropylsebacate, dicaprylyl carbonate, ethylhexyltriazone, bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, parfum/fragrance, drometrizoletrisiloxane, triethanolamine, terephthalylidenedicamphorsulfonicacid.
Nivea SunKids SPF 50+ <b>N</b>	butylmethoxydibenzoylmethane (avobenzene), bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine (Tinosorb S), ethylhexylsalicylate (octisalate), dibutyladipate, ethylhexyltriazone, coperniciacerifera cera, panthenol, vp/hexadecenecopolymer, phenylbenzimidazolesulfonicacid (ensulizole), tocopherylacetate.

## Experiência principal

Foram realizados ensaios preliminares que se encontram no Anexo I.

### Material e métodos

1. Rotularam-se 18 tratamentos com a sigla de cada tratamento (Tabela II).

Tabela II - Síntese do conteúdo dos tratamentos e dos controlos

Tratamento (3 cxs por tratamento)	Meio	Planárias (3 por caixa, 9 por tratamento)
<b>Cc</b>	Controlo (Água)	Corte transversal
<b>Ci</b>	Controlo (Água)	Inteiras
<b>N25c</b>	25mL/Kg do protetor N	Corte transversal
<b>A25c</b>	25mL/Kg do protetor A	Corte transversal
<b>G25c</b>	25mL/Kg do protetor G	Corte transversal
<b>BA25c</b>	25mL/Kg do protetor BA	Corte transversal
<b>N25i</b>	25mL/Kg do protetor N	Inteiras
<b>A25i</b>	25mL/Kg do protetor A	Inteiras
<b>G25i</b>	25mL/Kg do protetor G	Inteiras
<b>BA25i</b>	25mL/Kg do protetor BA	Inteiras
<b>N60c</b>	60mL/Kg do protetor N	Corte transversal
<b>A60c</b>	60mL/Kg do protetor A	Corte transversal
<b>G60c</b>	60mL/Kg do protetor G	Corte transversal
<b>BA60c</b>	60mL/Kg do protetor BA	Corte transversal
<b>N60i</b>	60mL/Kg do protetor N	Inteiras
<b>A60i</b>	60mL/Kg do protetor A	Inteiras
<b>G60i</b>	60mL/Kg do protetor G	Inteiras
<b>BA60i</b>	60mL/Kg do protetor BA	Inteiras

2. Pesaram-se 240g de areia lavada para cada conjunto de 3 réplicas.
3. Numa tina de plástico, os protetores foram adicionados, com a ajuda de uma seringa, a areia lavada na proporção necessária para obter as duas concentrações pretendidas (25 e 60mL/Kg de areia).

4. Em cada recipiente experimental colocaram-se 80g de areia lavada aditivada com protetor e 300mL de água natural. Nos recipientes de controlo colocaram-se 80g de areia lavada e 300mL de água natural.
5. Cortaram-se 81 planárias (corte transversal na zona média do corpo, com bisturi (n=6 fragmentos por tratamento)).
6. Introduziram-se as planárias nos recipientes de acordo com o esquema da Tabela II.

Monitorizaram-se a mortalidade (em todas as caixas) e o estado da regeneração das planárias ao fim de uma semana (nas caixas com planárias fragmentadas), por observação à lupa estereoscópica. Considera-se que uma parte posterior completou a regeneração da parte anterior do corpo quando surgem os ocelos. Considera-se que uma parte anterior da planária regenerou a parte posterior quando esta apresenta a sua forma típica. Eventuais anomalias no processo de regeneração foram anotadas e fotografadas.

## Resultados

Como podemos observar na Tabela III, existiu uma taxa de sobrevivência de 94,4% no controlo com planárias cortadas e de 100% no controlo com planárias inteiras. No controlo Cc, observou-se uma taxa de sobrevivência de 94,40%. O facto de, nos controlos Ci e Cc, a percentagem de sobrevivência e regeneração dos fragmentos ser tão alta, prova que as condições experimentais permitiam a sobrevivência e regeneração das planárias da espécie *D. gonocephala*.

Nas réplicas experimentais houve uma taxa de mortalidade de 100%, exceto no protetor Avène (A) com a menor concentração (25ml/Kg). Neste tratamento as réplicas cortadas (A25c) tiveram uma taxa de mortalidade de 89% e as réplicas inteiras (A25i) uma taxa de mortalidade de 33% (Tabela III). Aplicaram-se T-test aos valores da sobrevivência das planárias inteiras e da regeneração dos fragmentos. Os resultados foram que não há diferenças significativas na sobrevivência das planárias inteiras entre o controlo e o A15 ( $P=0,158$ ), mas as planárias regeneraram significativamente menos no A25 do que no Controlo ( $P=0,003$ ).

Tabela III- Taxa de sobrevivência e mortalidade em cada tratamento

Tratamento	Taxa de sobrevivência	Taxa de mortalidade	Média de sobrevivência (desvio padrão)
Cc	94,40%	5,60%	5,667 (0,577)
Ci	100%	0%	3 (0)
N25c	0%	100%	0
A25c	11,10%	88,90%	0,667(1,155)
G25c	0%	100%	0
BA25c	0%	100%	0
N25i	0%	100%	0
A25i	66,70%	33,30%	2 (1)
G25i	0%	100%	0
BA25i	0%	100%	0
N60c	0%	100%	0
A60c	0%	100%	0
G60c	0%	100%	0
BA60c	0%	100%	0
N60i	0%	100%	0
A60i	0%	100%	0
G60i	0%	100%	0
BA60i	0%	100%	0

Os resultados do teste de regeneração, demonstraram que à exceção do controlo e do A25c, em todos os outros tratamentos os fragmentos tiveram 100% de mortalidade. Nas três réplicas do controlo, foi observada uma mortalidade de 5,60%, apenas um fragmento de planária morreu, e logo não se regenerou. Todos os restantes fragmentos do controlo regeneraram-se, parcialmente ou totalmente, em uma semana. No A25c, os dois fragmentos sobreviventes regeneraram parcialmente, no mesmo intervalo de tempo. Não foram observadas malformações nas planárias regeneradas.

## Discussão

A necessidade de proteção contra os raios UV levou ao aumento do uso de protetores solares cujos impactos no ambiente aquático têm vindo a merecer atenção, sendo particularmente alarmantes nalgumas regiões do globo onde a pressão turística é maior, como por exemplo o Havai. O reconhecimento do potencial tóxico dos protetores solares tem vindo a promover a elaboração de formulações mais amigas do ambiente. No entanto, e apesar dos esforços, ainda há muitas limitações tanto na formulação dos produtos como na eco-consciencialização dos consumidores sendo por isso crucial que a segurança dos novos filtros com selo *reef-safe* seja testada, em particular em organismos não modelo e em ecossistemas dulçaquícolas.

Apesar de não existir uma definição formal de *reef-safe*, tipicamente, o termo significa que o protetor solar contém apenas ingredientes minerais que bloqueiam a radiação UV como o óxido e o dióxido de titânio, sendo estes compostos considerados seguros para corais (Save the reef Project, s.d.).

Tanto o protetor da Avène (A) como o da Bioderma (BA) estão classificados como sendo *reef-safe*, sendo por isso esperada nesta experiência uma taxa de mortalidade nula ou baixa para ambos os produtos. No entanto, os resultados não confirmaram essa previsão. As planárias expostas ao protetor da Bioderma apresentaram mesmo uma taxa de mortalidade de 100%.

Uma vez que todos os tratamentos à exceção dos controlos apresentavam turbidez elevada podemos sugerir que a elevada mortalidade se possa dever à turbidez. No entanto, a taxa de mortalidade no A25 não foi tão severa o que sugere que a toxicidade também poderá estar associada à composição dos protetores solares.

O protetor da Bioderma (BA) tem na sua composição octocrileno (OC), uma substância que, de acordo com alguns autores, se degrada em benzofenona (agente mutagénico, cancerígeno e desregulador endócrino) e se acumula rapidamente com a passagem do tempo (Downs, et al., 2021). Este estudo identificou que o OC sofre uma reação de condensação retro-aldólica que dá origem à benzofenona. Essa reação ocorreu em todos os protetores que continham OC, resultando no aumento da concentração da benzofenona à medida que o produto envelhece. Outro estudo observou que a exposição a OC, numa concentração de 50 µg/L, induzia disfunção mitocondrial nos corais da espécie *Pocillopora damicornis* (Stien, et al., 2020). (Meng, et al., 2021) concluiu que, apesar de o OC não ter nenhum efeito óbvio na toxicidade fenotípica das larvas do peixe zebra, a substância interferia com o metabolismo de oxidação-redução e tinha uma citotoxicidade significativa nas células do fígado da espécie. De acordo, a mortalidade observada nas planárias sujeitas ao protetor Bioderma (BA) poderá dever-se à presença de OC neste protetor, o que sugere que o selo *reef-safe* talvez não seja adequado a este produto.

Na composição dos protetores com selo reef-safe utilizados por nós, Avène (A) e Bioderma (BA), está presente butil-metoxidibenzoilmetano (BMDM). Relativamente a este composto, não se encontraram muitos impactes negativos em seres aquáticos. De facto, nenhum branqueamento foi observado quando o coral *Acropora* spp esteve em contacto com um protetor solar (33 µl/L) que continha BMDM (Silva, et al., 2021). No entanto, um outro estudo mostrou que a exposição do coral *Xenia elongata* a água salgada contendo protetor solar com BMDM (3%), levava à redução do crescimento da população e a um decréscimo do pulso dos pólipos por minuto (Silva, et al., 2021). Assim, esta substância parece ser mais inofensiva que o OC, o que poderá explicar a menor taxa de mortalidade observada no Avène (A), que contém somente BMDM.

A capacidade de regeneração das planárias é comumente utilizada para avaliar o efeito de contaminantes (Rodrigues Macêdo, et al., 2019). Na presente experiência a capacidade de regeneração da *D.gonocephala* foi afetada pelos protetores solares. Uma das causas possíveis poderá dever-se à formação de ROS pelos filtros solares que, como já mencionado anteriormente, têm atividade fotocatalítica podendo promover a formação

destes compostos (Caloni, et al., 2021). De acordo com (Pirotte, et al., 2015), num estudo utilizando planárias como modelo (*Schmidtea mediterranea*), as ROS afetam os processos que regulam a neuroregeneração.

Testar os dois componentes, OC e BMDM, separadamente, permitiria perceber qual deles poderá estar a causar a mortalidade das planárias. Testar o efeito dos quatro protetores em concentrações inferiores às testadas neste trabalho também nos pareceu ser um bom caminho para continuar esta investigação, pelo que foi o ponto de partida para a nossa experiência número 2.

Uma das maiores dificuldades que tivemos em trabalhar com protetores *reef-safe* foi a sua textura espessa, que dificultou bastante a sua entrada na seringa e acabou por atrasar a nossa montagem da experiência.

Gostaríamos ainda de ter testado organismos de outros níveis tróficos, nomeadamente produtores, para podermos compreender o impacto dos protetores no ecossistema e não apenas num dos níveis tróficos. Trabalhos posteriores poderão utilizar outras espécies abundantes (por exemplo camarão-de-água-doce, caracol aquático e larvas de libélulas) nos nossos ecossistemas de água doce.

Também nos parece importante testar a adição do protetor em contexto mais próximo do real, nomeadamente por lavagem a partir da pele.

## Experiência 2- Repetição da Experiência 1 com menores concentrações

A elevada mortalidade presente nos resultados da experiência 1 levou a uma repetição da mesma utilizando uma concentração mais baixa.

### Material e métodos

O procedimento usado nesta experiência foi semelhante ao utilizado na experiência 1, apresentando diferenças na concentração utilizada que foi de 10mL/Kg. Apenas os protetores da Avène (A) e da Garnier (G) foram testados pois foram aqueles que apresentaram, respetivamente, menos e mais impacto nas planárias. Na Tabela IV encontra-se o esquema da experiência. Monitorizou-se a velocidade de regeneração das planárias a cada 3-4 dias.

Tabela IV - Síntese do conteúdo dos tratamentos

Tratamento (4 recipientes por tratamento)	Meio	Planárias (3 por caixa, 12 por tratamento)
<b>Ci</b>	Água	Inteiras
<b>Cc</b>	Água	Cortadas
<b>A10i</b>	10mL/Kg do protetor A	Inteiras
<b>G10i</b>	10mL/Kg do protetor G	Inteiras
<b>A10c</b>	10mL/Kg do protetor A	Cortadas
<b>G10c</b>	10mL/Kg do protetor G	Cortadas

### Resultados

Como podemos observar na Tabela V, nos tratamentos com planárias inteiras, existiu uma taxa de sobrevivência de 100% no tratamento com protetor com selo *reef-safe* (A10i) e de 83% no tratamento com o protetor sem reef-safe (G10i). Foi também possível verificar que ocorreu reprodução espontânea de uma das planárias, numa das réplicas de Avène.

Tabela V - Taxa de sobrevivência e mortalidade em cada tratamento

Tratamento	Taxa de sobrevivência	Taxa de mortalidade
<b>Ci</b>	100%	0%
<b>A10i</b>	100%	0%
<b>G10i</b>	83%	17%

Nos tratamentos com as planárias cortadas, a sobrevivência dos fragmentos foi de 100% no controlo e em todas as réplicas com Avène (A), exceto numa, onde houve uma mortalidade de 17%. A taxa de mortalidade com o protetor Garnier (G) foi muito variável entre réplicas - Tabela VI.



Após 4 dias em regeneração, os fragmentos de todas as planárias estavam parcialmente regenerados. Passada uma semana, apenas os fragmentos do controle e de todas as réplicas do Avène (A) estavam completamente regenerados. Nos tratamentos com o Garnier (G) não ocorreu regeneração total de nenhuma das planárias no prazo de uma semana.

*Tabela VI - Taxa de regeneração e mortalidade em cada tratamento*

Tratamento	Regeneradas	Não regeneradas	Mortas
<b>Cc</b>	100%	0%	0%
<b>A10c 1</b>	100%	0%	0%
<b>A10c 2</b>	100%	0%	0%
<b>A10c 3</b>	100%	0%	0%
<b>A10c 4</b>	83,33%	0%	17%
<b>G10c 1</b>	0%	100%	0%
<b>G10c 2</b>	0%	83%	17%
<b>G10c 3</b>	0%	50%	50%
<b>G10c 4</b>	0%	0%	100%

Passadas três semanas, as planárias cortadas sujeitas ao protetor Avène (A) (10mL/Kg) estavam completamente regeneradas e observou-se uma planária com uma malformação – Figura 1.



*Figura 1- Planária com deformação (apresenta três ocelos) no tratamento A10c3*

## Discussão

Os resultados do protetor Garnier (G) na concentração de 10ml/Kg apresentaram resultados pouco consistentes. No entanto, os resultados observados no parâmetro da sobrevivência foram melhores em relação à experiência 1. Apesar disso, não se podem tirar conclusões, uma vez que, relativamente à mortalidade, o desvio padrão (44%) foi superior à média (41,75%), apresentando assim uma grande variabilidade. Na experiência 1 todos os protetores, exceto o Avène (A), provocaram uma cor esbranquiçada na água que dificultou a observação dos resultados. Com a concentração de 10mL/Kg, não ocorreu qualquer turbidez na água, podendo ser essa uma das razões para o aumento da taxa de sobrevivência em ambos os tratamentos.

O Avène (A) teve uma taxa de mortalidade 0% em todas as réplicas, logo, este protetor, nesta concentração, não parece afetar a sobrevivência das planárias. Uma planária de uma destas réplicas reproduziu-se espontaneamente, o que sugere que se encontrava em condições experimentais favoráveis à sua reprodução.

Quanto às planárias cortadas, percebemos que o Garnier (G) atrasou o processo de regeneração das planárias, uma vez que nas réplicas onde sobreviveram fragmentos de planárias, estas não se regeneraram no prazo de uma semana, embora tenham iniciado o processo regenerativo. Por outro lado, no Avène (A) e no controle, ao fim de uma semana, as planárias que sobreviveram encontravam-se completamente regeneradas, provando que este protetor, numa concentração de 10 mL/Kg, não parece afetar negativamente a regeneração desta espécie.

A ausência de um selo *reef-safe* no protetor da Garnier (G) levou-nos a esperar uma taxa de mortalidade mais elevada que no Avène (A), uma vez que esse protetor não apresenta qualquer compromisso em permitir a sobrevivência de seres vivos aquáticos. Esta hipótese foi confirmada pelos resultados. O protetor Garnier (G), tem na sua composição, várias substâncias prejudiciais como o octocrileno, o mesmo composto presente no Bioderma



(BA), e que apresenta diversos efeitos negativos. No entanto, não podemos afirmar que a toxicidade se deve a este composto isolado, uma vez que este protetor é uma mistura de substâncias.

O facto de ter surgido uma planária com 3 ocelos nas planárias regeneradas sob a influência do protetor Avène (A) (10mL/Kg) leva-nos a levantar a hipótese de algum componente deste protetor (ou a ação sinérgica de mais do que um componente) interferir nos processos regenerativos; seria interessante investigar esta hipótese utilizando grande número de planárias em regeneração sob influência de cada componente desse protetor e, posteriormente, se esses ensaios não produzissem malformações, diferentes combinações desse componentes.

De uma forma geral, olhando para os resultados das experiências 1 e 2, parece-nos que os protetores com reef-safe não são completamente inofensivos para os ecossistemas de água doce; embora os testes tenham sido feitos apenas com planárias, sabemos que os impactos numa população acabam por repercutir-se na comunidade. Por outro lado, os resultados sugerem ainda que diferentes protetores com reef-safe têm diferente composição e diferentes impactos nas planárias.

Nos dias de hoje, os consumidores que querem fazer uma decisão ecologicamente consciente não conseguem encontrar os detalhes adequados do produto que estão a comprar então precisam de confiar nas informações fragmentadas ou nos artigos científicos. O mesmo acontece para os desenvolvedores de protetores solar, que atualmente trabalham com as substâncias recomendadas ou omitem alguns compostos químicos que foram utilizados na criação do protetor.

Por tanto, seria benéfico para os criadores de protetor solar ter um parâmetro de caracterização, das substâncias utilizadas, que escala com um único parâmetro para a eco-compatibilidade de uma fórmula de protetor solar, estabelecendo assim um mínimo de impacto para o ambiente. Este parâmetro deve ser criado com acesso aberto e ser baseado nas contribuições individuais de diferentes filtros UV, eliminando assim a necessidade de uma análise detalhada e manual de risco ambiental a cada vez da toxicidade das substâncias (Kunze, et al., 2021).

Entretanto colocámos uma segunda questão: será que os protetores com reef-safe são tão eficazes como os restantes, em termos de proteção contra as radiações UV? Esta questão deu origem à nossa experiência número 3.

## Experiência 3- Eficácia dos protetores solares com reef-safe na proteção contra os raios UV

### Objetivo

Descobrir se os protetores com reef-safe são tão eficientes na proteção contra a radiação UV como os que não possuem esse selo.

### Material e métodos

#### Teste com medidores UV (quantitativo)

Para esta experiência foi utilizado um controlo e quatro tratamentos (cada um com duas réplicas). Começou-se por etiquetar os dez medidores UV (da marca Bigger Stock, modelo BX03137) com a sigla do respetivo protetor ou do controlo. De seguida envolveram-se os medidores UV em película aderente, com o intuito de não causar danos aos aparelhos. Com o auxílio de uma seringa mediu-se um volume de 0,1 ml de cada protetor, que se espalhou sobre a película aderente correspondente ao protetor utilizado. Expuseram-se os medidores ao sol direto durante 10 segundos, que é o tempo que os medidores demoram a medir a radiação UV. Registaram-se os valores de radiação UV que passava através da película com protetor em cada réplica de cada tratamento.

### Resultados

Os resultados da medição da radiação UV nas duas réplicas (1 e 2) de cada protetor e no controlo (C) apresentam-se na Tabela VII.

Tabela VII- Resultados da medição de UV nos protetores e controlo, réplicas 1 e 2

Dados	C1	A1	G1	N1	BA1	C2	A2	G2	N2	BA2
UV obtido	14	1	0	0	0	14	1	0	0	0
Total protegido	0	13	14	14	14	0	13	14	14	14

Como podemos observar na Tabela VII, o controlo deu-nos um valor de 14, que é o valor máximo da escala UV. Todos os protetores à exceção do Avène (A) filtraram a totalidade das radiações UV. O Avène (A) protegeu apenas 13, sendo por isso o menos eficaz contra a radiações, embora esta diferença não seja muito grande relativamente ao outro protetor solar com reef-safe.

## Discussão

A presença de um rótulo reef-safe levou-nos a crer que ambos os protetores com esse selo, Avène e Bioderma, demonstrariam proteção reduzida contra os raios solares, uma vez que, a presença desse selo se costuma refletir na ausência de compostos, que apesar de tóxicos para o meio ambiente, apresentam um índice de proteção contra os raios UV superior. No entanto, os resultados não confirmaram essa previsão. A presença de octocrileno no protetor da Bioderma pode ter levado à maior proteção observada nas réplicas sujeitas a este protetor. Um estudo realizado com o objetivo de sintetizar novos candidatos para protetores inovadores e determinar o seu FPS (Fator de Proteção Solar), mostrou que o octocrileno apresentava um valor de FPS mais elevado na proteção contra os raios UVB (Polonini, et al., 2014).

Assim, apesar do octocrileno apresentar impactes negativos no meio ambiente, parece ser muito eficaz na proteção solar. A ausência de octocrileno e outros compostos semelhantes, pode ter levado à proteção solar mais reduzida observada no Avène (A).

## Conclusão

Na concentração de 60mL/Kg todos os protetores causaram 100% de mortalidade das planárias (*Dugesia goniocephala*), incluindo os dois que têm reef-safe. Na concentração de 25mL/Kg apenas o protetor Avène (A) (reef-safe) permitiu a sobrevivência de algumas planárias (33%). Com uma concentração de 10mL/Kg, com o protetor Avène (A) ocorreu uma sobrevivência de 100% e uma regeneração de quase todos os fragmentos de planária em apenas uma semana. Nas mesmas condições, com o protetor Garnier (G) (sem reef-safe) ocorreu uma sobrevivência de 83% e um atraso na regeneração das planárias. O protetor solar Avène (A) é ligeiramente menos eficiente do que os restantes na proteção da radiação UV, no entanto foi o único a apresentar taxa de sobrevivência das planárias mesmo com concentrações moderadamente elevadas. É necessária mais investigação de modo a aumentar o grau de conhecimento acerca dos efeitos adversos dos compostos utilizados na formulação destes produtos, simultaneamente garantir que estes não prejudicam os ecossistemas e que apresentam uma boa proteção da radiação UV. Haver uma escala de proteção UV, bem como da biossegurança destes compostos seriam vantajosas para os produtores e para os consumidores.

## Contribuições do trabalho

Gostaríamos de agradecer à nossa professora de Biologia, Paula Canha e a nossa tutora Cláudia Mieirol, da Universidade de Aveiro, por toda a disponibilidade e ajuda que nos forneceram.

## Lista de Anexos

Anexo I - Ensaios preliminares

Anexo II - Protetores utilizados

Anexo III - Imagens de planárias

## Bibliografia

Araújo, C. V. et al., 2020. Repellency and mortality effects of sunscreens on the shrimp. *Chemosphere*, 257(127190).

- Caloni, S., Durazzano, T., Franci, G. & Marsili, L., 2021. Sunscreens' UV Filters Risk for Coastal Marine Environment Biodiversity: A Review. *Diversity*, 13(374).
- Downs, C. A. et al., 2021. Benzophenone Accumulates over Time from the Degradation of Octocrylene in Commercial Sunscreen Products. *Chemical Research in Toxicology*, Volume 34, pp. 1046-1054.
- Faria, H., 2021. Planária. *Ciência Elementar*, Volume 9(1).
- Gambardella, C. et al., 2014. Toxicity and transfer of metal oxide nanoparticles from microalgae to sea urchin larvae. *Chemistry and Ecology*, 30(4), pp. 308-316.
- Kunze, G. et al., 2021. *A Novel, Benchmark-Centered, Eco-Impact Rating System for Sunscreens and Sunscreen Formulation Design*, s.l.: s.n.
- Levine, A., 2021. Reducing the prevalence of chemical UV filters from sunscreen in aquatic environments: regulatory, public awareness, and other considerations. 17(5), pp. 982-988.
- McCoshum, S. M., Schlarb, A. M. & Baum, K. A., 2016. Direct and indirect effects of sunscreen exposure for reef biota. *Hydrobiologia*.
- Meng, Q., Yeung, K. & Chan, K. M., 2021. Toxic effects of octocrylene on zebrafish larvae and liver cell line (ZFL). *Aquatic Toxicology*.
- Ngoc, L. T. N. et al., 2019. Recent Trends of Sunscreen Cosmetic: An Update Review. *Cosmetics*, 6(64).
- Nunes, R. F., 2014. *Resposta à atrazina por S. cerevisiae UE-ME3*, Évora: s.n.
- Pais, R. J., 2011. *Bioquímica de sistemas das espécies reactivas de oxigénio: estudo sobre a origem do stress oxidativo na evolução*, Lisboa: s.n.
- Pirotte, N. et al., 2015. Reactive Oxygen Species in Planarian Regeneration: An Upstream Necessity for Correct Patterning and Brain Formation. *Oxid Med Cell Longev*, Volume 2015.
- Polonini, H. C. et al., 2014. SYNTHESIS AND EVALUATION OF OCTOCRYLENE-INSPIRED COMPOUNDS FOR UV-FILTER ACTIVITY. *Quim. Nova*, 37(6).
- Rodrigues Macêdo, L. P. et al., 2019. Comparative ecotoxicological evaluation of peracetic acid and the active chlorine of calcium hypochlorite: Use of *Dugesia tigrina* as a bioindicator of environmental pollution. *Chemosphere*, Volume 233, pp. 273-281.
- Save the reef Project, s.d.. *REEF SAFE SUNSCREEN GUIDE*. [Online]  
Available at: <https://savethereef.org/about-reef-save-sunscreen.html>
- Sendra, M. et al., 2017. Toxicity of TiO<sub>2</sub>, in nanoparticle or bulk form to freshwater and marine microalgae under visible light and UV-A radiation. *Environmental Pollution*, Volume 227, pp. 39-48.
- Silva, A. C. d., Santos, B. A., Castro, H. C. & Rodrigues, C. R., 2021. Ethylhexyl methoxycinnamate and butylmethoxydibenzoylmethane: Toxicological effects on marine biota and human concerns. *Journal of Applied Toxicology*.
- Singer, S., Karrer, S. & Berneburg, M., 2019. Modern sun protection. *Current Opinion in Pharmacology*, Volume 46, pp. 24-28.
- Slijkerman, D. & Keur, M., 2018. Sunscreen ecoproducts - Product claims, potential effects and environmental risks of applied UV filters.
- Stien, D. et al., 2020. A unique approach to monitor stress in coral exposed to emerging pollutants. *Scientific Reports*, Volume 10.