

**UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AUDITORIA AMBIENTAL
MESTRADO EM AUDITORIA AMBIENTAL**

LUCIANO CRISTIAN CABRAL

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS PRESENTES EM
PRODUTOS DE USO PESSOAL: METILPARABENO, PROPILPARABENO E
BUTILHIDROXITOLUENO**

SANTOS/SP

2019

LUCIANO CRISTIAN CABRAL

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS PRESENTES EM
PRODUTOS DE USO PESSOAL: METILPARABENO, PROPILPARABENO E
BUTILHIDROXITOLUENO**

Dissertação apresentada à
Universidade Santa Cecília como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre no Programa de Pós-
Graduação em Auditoria Ambiental,
sob orientação do Prof. Dr. Fernando
Sanzi Cortez e Prof. Dra. Luciana
Lopes Guimarães.

SANTOS

2019

Autorizo a reprodução parcial ou total deste trabalho, por qualquer que seja o processo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos.

615.902 Cabral, Luciano Cristian.
C119a Avaliação ecotoxicológica de substâncias presentes em produtos de uso pessoal: Metilparabeno, Propilparabeno e Butilhidroxitolueno./ Luciano Cristian Cabral.
- 2019.
_f.:71

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sanzi Cortez
Orientadora: Prof. Dra. Luciana Lopes Guimarães

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Santa Cecília, Programa de Pós-Graduação em Auditoria Ambiental, Santos, SP, 2019.

1.Sucesso reprodutivo. 2.Parabenos. 3.Embriolarval. 4. Toxicidade. 5. Ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*. Orientador I. Cortez, Fernando Sanzi. Orientador II. Guimarães, Luciana Lopes. III. Avaliação ecotoxicológica de substâncias presentes em produtos de uso pessoal: Metilparabeno, Propilparabeno e Butilhidroxitolueno.

Elaborada pelo SIBi – Sistema Integrado de Bibliotecas – Unisanta



**Ata da Apresentação Final de Dissertação do Programa de Pós-Graduação
em Auditoria Ambiental
Mestrado em Auditoria Ambiental nº 04/2019**

Aos vinte e três dias do mês de agosto de dois mil e dezenove, às quatorze horas, na Universidade Santa Cecília, reuniram-se os membros da Banca Examinadora, composta por **Prof. Dr. Fernando Sanzi Cortez, orientador; Profa. Dra. Luciana Lopes Guimarães**, indicada pelo orientador, indicada também a presidir a Banca; **Prof. Dr. Fábio Hermes Pusceddu, Prof. Dr. Ronaldo José Torres**, membro externo – UNIFESP - indicado pela CPG; a fim de avaliarem a Apresentação Final de Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Auditoria Ambiental - Mestrado em Auditoria Ambiental do discente **LUCIANO CRISTIAN CABRAL** sob o tema: **“AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE SUBSTÂNCIAS PRESENTES EM PRODUTOS DE USO PESSOAL: METILPARABENO, PROPILPARABENO E BUTILHIDROXITOLUENO”**. Aberta a sessão pelo presidente da mesma, coube ao candidato, na forma regimental, expor o tema de sua dissertação, dentro do tempo regulamentar, sendo em seguida questionada pelos membros da Banca, tendo dado as explicações que foram necessárias. Após debaterem a Apresentação Final de Dissertação em seção fechada, os membros da Banca consideram o candidato: Aprovado; ___ Aprovado com Exigências; ___ Reprovado. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, assinada pelos membros da Banca na ordem de arguição.

Prof. Dr. Ronaldo José Torres
UNIFESP

Prof. Dr. Fernando Sanzi Cortez
Orientador

Prof. Dr. Fábio Hermes Pusceddu
Indicado pelo orientador

Profa. Dra. Luciana Lopes Guimarães
Presidente

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a minha mamãe Maria
Anunciação Cabral, in memoriam.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, ao nosso Mestre Jesus Cristo e à Nossa Senhora do Mont'Serrat, por ter saúde, sabedoria e todas as condições para a realização destes estudos. À minha amada esposa e minha família que sempre acreditaram e me incentivaram na realização dos meus sonhos.

Agradeço ao Professor e Coordenador Dr. Roberto Pereira Borges, ao Dr. Fábio Giordano, ao Dr. Mohamed Habib e todos os Professores, Doutores e Mestres convidados e efetivos, que participaram com todo o seu empenho e dedicação. Agradeço ao Professor Hélio Hallite, que juntos com o Professor Miraguaia e Professor Matheus Rotundo, me orientaram no estágio de Docência.

Agradeço em especial aos meus Orientadores, Professora Doutora Luciana Lopes Guimaraes e Professor Dr. Fernando Sanzi Cortez, por todo o apoio, dedicação, confiança, pela ajuda nos estudos e pela oportunidade que me foi concedida.

Agradeço ao Professor Dr. Fábio Hermes Pusceddu, do laboratório de ecotoxicologica que me auxiliou nos estudos, com seus conhecimentos. Agradeço aos colegas dos cursos de Mestrado, pela oportunidade de compartilhar deste conhecimento e desenvolvimento.

Agradeço também a todos os dirigentes, as secretárias Sra. Imaculada e a Sandra, bem como todos os funcionários da Univesidade Santa Cecilia, que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

RESUMO

Os produtos de higiene e cuidados pessoais (PCPs) são amplamente utilizados pela sociedade e os resíduos desses produtos atingem as Estações de Tratamento de Esgoto (ETE), sendo essa a principal via de introdução para o ambiente aquático, uma vez que essas não possuem tecnologia para reter ou degradar na totalidade essas substâncias. Os PCPs são considerados poluentes emergentes, uma vez que não possuem regulamentação na legislação vigente. Dentre os PCPs, a classe dos conservantes, tais como Metilparabeno (MP), Propilparabeno (PP) e o Butilhidroxitolueno (BHT) compreendem produtos comumente utilizados em formulações de xampus, condicionadores, filtro solar e creme dental, devido a eficiente ação antimicrobiana e antioxidante. No presente estudo foi utilizado o ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* para avaliação de toxicidade aguda (taxa de fertilização) e crônica (desenvolvimento embriolarval) do MP, PP e BHT, de acordo com o protocolo da USEPA e a norma técnica NBR 15350. Além disso, com os resultados obtidos nos ensaios, as substâncias podem ser classificadas quanto à toxicidade no âmbito da diretiva 93/67/CEE da União Européia. Nos ensaios para avaliação de toxicidade aguda, o BHT apresentou o menor valor de Cl_{50} (38,14 mg/L), enquanto MP e PP apresentaram valores de 74,47 e 73,20 mg/L, respectivamente, sendo as três substâncias classificadas como “nocivas”. Nos ensaios para avaliação de toxicidade crônica, o BHT novamente apresentou maior toxicidade de Cl_{50} (6,85 mg/L) sendo este classificado como “tóxico”, enquanto MP e PP apresentaram valores de 20,09 e 15,57 mg/L, respectivamente, sendo estes classificados como “nocivos”. Os resultados obtidos contribuem para um melhor entendimento do potencial tóxico das substâncias estudadas sobre o sucesso reprodutivo de invertebrado marinho e podem subsidiar avaliações de riscos e decisões com relação à continuidade do uso desses conservantes. As empresas de produtos de higiene e cosméticos tem a necessidade de desenvolver moléculas menos perigosas ao ambiente e buscarem avaliar os efeitos das substâncias.

Palavras-chaves: Sucesso reprodutivo. Parabenos. Embriolarval. Toxicidade. Ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*.

ABSTRACT

Personal hygiene and care products (PCPs) are widely used by society and the waste from these products reaches the Sewage Treatment Stations (STS), which is the main route of introduction to the aquatic environment, since they do not have technology to retain or completely degrade such substances. PCPs are considered emerging pollutants as they have no regulation in current legislation. Among the PCPs, the class of preservatives such as Methylparaben (MP), Propylparaben (PP) and Butylhydroxytoluene (BHT) comprise products commonly used in shampoo, conditioner, sunscreen and toothpaste formulations due to their efficient antimicrobial and antioxidant action. In the present study, the *Echinometra lucunter* sea urchin was used to evaluate acute (fertilization rate) and chronic (embryolarval development) toxicity of MP, PP and BHT, according to the USEPA protocol and the technical standard NBR 15350. In addition, with the results obtained in the tests, substances can be classified for toxicity under European Union Directive 93/67 / EEC. In tests for acute toxicity assessment, BHT presented the lowest IC₅₀ value (38.14 mg / L), while MP and PP presented values of 74.47 and 73.20 mg / L, respectively, and the three substances were classified as "harmful". In the tests for chronic toxicity evaluation, BHT again showed higher IC₅₀ toxicity (6.85 mg / L), which was classified as "toxic", while MP and PP presented values of 20.09 and 15.57 mg / L, respectively, which are classified as "harmful". These results contribute to a better understanding of the toxic potential of the studied substances on the reproductive success of marine invertebrates and may support risk assessments and decisions regarding the continued use of these preservatives. Hygiene and cosmetics companies have the need to develop less environmentally hazardous molecules and seek to assess the effects of substances.

Keywords: Reproductive success. Parabens. Embryolarval. Toxicity Sea urchin *Echinometra lucunter*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Possíveis rotas de fármacos e PCPs no ambiente.....	2
Figura 2 - Exemplo de formulação típica de creme base para condicionador	7
Figura 3 - Países com relatos de presença de PCPs em águas.....	10
Figura 4 - Estrutura química do Metilparabeno.....	12
Figura 5 - Estrutura química do Propilparabeno.....	13
Figura 6 - Estrutura química do Butilhidroxitolueno.....	13
Figura 7 - Ouriço do Mar <i>Echinometra lucunter</i>	15
Figura 8 - Tanque/aquário de Ouriços do mar.....	15
Figura 9 – Estímulo elétrico no Ouriço do mar <i>Echinometra lucunter</i>	16
Figura 10 – Espermatozóides de <i>Echinometra lucunter</i>	16
Figura 11 – Obtenção e coleta de óvulos.....	17
Figura 12 – Câmara de Sedgwick-Rafter e microscópio óptico.....	18
Figura 13 - Ensaio de toxicidade no interior da câmara incubadora.....	19
Figura 14 - Desenvolvimento de embriolarval de <i>Echinometra lucunter</i> .	19
Figura 15 – Resultado do 1º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Metilparabeno.....	21
Figura 16 – Resultado do 2º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Metilparabeno.....	22
Figura 17 – Resultado do 3º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Metilparabeno.....	22
Figura 18 – Resultado do 1º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Propilparabeno.....	23
Figura 19 – Resultado do 2º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Propilparabeno.....	24
Figura 20 – Resultado do 3º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Propilparabeno.....	24
Figura 21 – Resultado do 1º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Butilhidroxitolueno.....	25
Figura 22 – Resultado do 2º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Butilhidroxitolueno.....	26
Figura 23 – Resultado do 3º ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Butilhidroxitolueno.....	26

Figura 24 - Resultado do 1° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Metilparabeno.....	27
Figura 25 - Resultado do 2° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Metilparabeno.....	28
Figura 26 - Resultado do 3° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Metilparabeno.....	28
Figura 27 - Resultado do 1° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Propilparabeno.....	29
Figura 28 - Resultado do 2° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Propilparabeno.....	30
Figura 29 - Resultado do 3° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Propilparabeno.....	30
Figura 30 - Resultado do 1° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Butilhidroxitolueno.....	31
Figura 31 - Resultado do 2° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Butilhidroxitolueno.....	32
Figura 32 - Resultado do 3° ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Butilhidroxitolueno.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação baseada na diretiva 93/67/CEE da União Europeia.....	5
Tabela 2 – Características físico-químicas outras informações ambientais relevantes das três substâncias selecionadas no presente estudo.....	14
Tabela 3 – Controle positivo de solvente Dimetilsufóxido DMSO.....	20
Tabela 4 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Metilparabeno.....	21
Tabela 5 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Propilparabeno.....	23
Tabela 6 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Butilhidroxitolueno	25
Tabela 7 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Metilparabeno.....	27
Tabela 8 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Propilparabeno.....	29
Tabela 9 – Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico para o Butilhidroxitolueno.....	31
Tabela 10 - Valores de log kow e log BCF parra as três substâncias testadas.....	34
Tabela 11 – Estudos realizados empregando organismos aquáticos	36
Tabela 12 – Resumo dos valores obtidos de Cl ₅₀ (para efeitos agudo) e Cl ₅₀ (para efeito crônico) e a classificação em relação à diretiva 93/67/CEE da União Européia (CEC,1996)	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	- American Society for Testing and Materials
AWWA	- American Water Work Association
BCF	- Bioconcentração
BHT	- Butilhidroxitolueno
CECR	- Concentração do Efluente no Corpo Receptor
CENO	- Concentração de Efeito Não Observado
CEO	- Concentração de Efeito Observado
CETESB	- Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	- Coeficiente de Variação
DDT	- DicloroDifenil-Tricloroetano
DMSO	- Dimetilsufóxido
DP	- Desvio Padrão
EPA's	- Office of Pollution Prevention Toxics
ETE	- Estação de Tratamento de Esgoto
FDA	- Food and Drug Administration
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISSO	- International Organization Standardization
MP	- Metilparabeno
NBR	- Norma Técnica Brasileira
NIH	- U.S. National Institutes of Health (U S institutos nacionais de saúde)
OD	- Oxigênio Dissolvido
ONU	- Organização das Nações Unidas
ONUBR	- Organização das Nações Unidas no Brasil
PCB	- Policloradas
pH	- Potencial Hidrogeniônico
POP	- Poluentes Orgânicos Persistentes
PCPs	- Produtos de Cuidados Pessoais

- PPCPs - Pharmaceuticals and Personal Care Products (Produtos Farmacêuticos e Cuidados Pessoais)
- PP - Propilparabeno
- UNESCO - Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura
- U.S. EPA - Environment Protection Agency
- VTG - Vitelogenina

LISTA DE SIMBOLOS

CE ₅₀	- Concentração Efetiva
CL ₅₀	- Concentração Letal Mediana
CI ₅₀	- Concentração de Inibição
K _{OW}	- Coeficiente de Partição (octanol / água)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1 Aspectos legais.....	03
2.2 Ecotoxicologia aquática.....	05
2.3 Produtos de higiene e cuidados pessoais.....	06
2.4 Produtos de higiene e cuidados pessoais como poluentes emergentes	08
3 OBJETIVO GERAL	11
3.1 Objetivo Especifico.....	11
4. MATERIAIS E MÉTODOS	11
4.1 Substância- teste.....	11
4.1.1 Metilparabeno.....	11
4.1.2 Propilparabeno.....	12
4.1.3 Butilhidroxitolueno.....	13
4.2 Preparo das soluções e concentrações-teste.....	14
4.3 Organismo-teste.....	14
4.4 Obtenção e coleta de gametas.....	16
4.5 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo com ouriço do mar <i>Echinometra lucunter</i> (taxa de fertilização)	17
4.6 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico com ouriço do mar <i>Echinometra lucunter</i> (desenvolvimento embriolarval)	18
4.7 Análise estatística.....	20
5. RESULTADOS	20
5.1 Ensaio de sensibilidade.....	20
5.2 Controle positivo de solvente Dimetilsufóxido DMSO.....	20
5.3 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito agudo.....	21
5.3.1 Metilparabeno.....	21
5.3.2 Propilparabeno.....	23
5.3.3 Butilhidroxitolueno.....	25
5.4 Ensaio de toxicidade para avaliação de efeito crônico.....	27
5.4.1 Metilparabeno.....	27
5.4.2 Propilparabeno.....	29
5.4.3 Butilhidroxitolueno.....	31
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÕES	39
8. TRABALHO SUBMETIDO OU ACEITO PARA PUBLICAÇÃO	40
REFERÊNCIAS	41
APENDICE	52
ANEXOS	53

1. INTRODUÇÃO

Recentemente a Organização das Nações Unidas - ONU, que compreende 193 Estados-membros, aprovou a Agenda 2030 que prevê 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, os quais devem ser cumpridos até 2030 (ONUBR, 2015).

Especificamente o Objetivo do Desenvolvimento Sustentável 14, estipula como meta conservar e utilizar de forma sustentável os oceanos, os mares e os recursos marinhos. A destinação de poluentes de qualquer natureza nos oceanos enseja danos a vida marinha, prejudicando a diversidade da fauna e flora oceânicas e a sustentabilidade global. O objetivo 6 por sua vez, visa assegurar a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos, revelando a importância do tema água e sua proteção para a Agenda 2030 (ONUBR, 2015).

O crescimento populacional e a ocupação urbana, são uma das ameaças à suficiência e qualidade da nossa água doce e águas costeiras, que compromete a saúde, a economia e a qualidade de vida. Estima-se que entre 2017 e 2050 a população mundial crescerá cerca de 33%, aumentando de 7,7 bilhões para aproximadamente 10,2 bilhões de pessoas (UNESCO, 2018).

De acordo com a ONU (2018) a população das áreas urbanas, nesse mesmo período, passará de 3,6 bilhões para 6,3 bilhões, com isso aumentará a demanda por alimentos, energia, água potável, consumo de medicamentos e por produtos de higiene e cuidados pessoais, tais como, cremes de barba, sabonetes, dentífricos, shampoos, maquiagens, protetores solares e perfumes.

Segundo o IBGE-Cidades, em todo o Brasil, a poluição aquática geralmente ocorre devido à ausência ou insuficiência de adequado tratamento de esgoto, sendo despejado diretamente detritos e produtos químicos nos corpos hídricos. No Brasil, em fevereiro de 2019, com uma população estimada de 209.510.900 pessoas e 5570 municípios, apenas 3069 municípios possuem serviços de esgotamento sanitário (IBGE, 2019), isso significa que apenas 55,10% possuem rede coletora. Em razão disso, poluentes de diferentes classes são destinados diretamente nas águas.

A emissão constante desses poluentes revela grande preocupação, uma vez que em 44,90% dos municípios do Brasil, o esgoto não possui nenhum tratamento (IBGE, 2019).

O avanço da química analítica nas últimas décadas, permitiu a identificação de poluentes orgânicos, denominados Substâncias Químicas Emergentes (TERNES, 1998). Estão inseridos nessa classe de poluentes ambientais, os fármacos e os produtos de higiene e cuidados pessoais (PPCPs – *Pharmaceuticals and Personal Care Products*).

De acordo com BILA e DEZOTTI (2003), a contaminação dos ambientes aquáticos por resíduos de Produtos de Higiene e Cuidados Pessoais (PCPs), podem ser provenientes dos esgotos domésticos, efluentes domésticos e hospitalares (figura 1). Destaca-se que também podem ocorrer contaminações por outras fontes, por despejo de resíduos e descartes inadequados desses produtos (NARVAEZ & JIMENEZ, 2012).

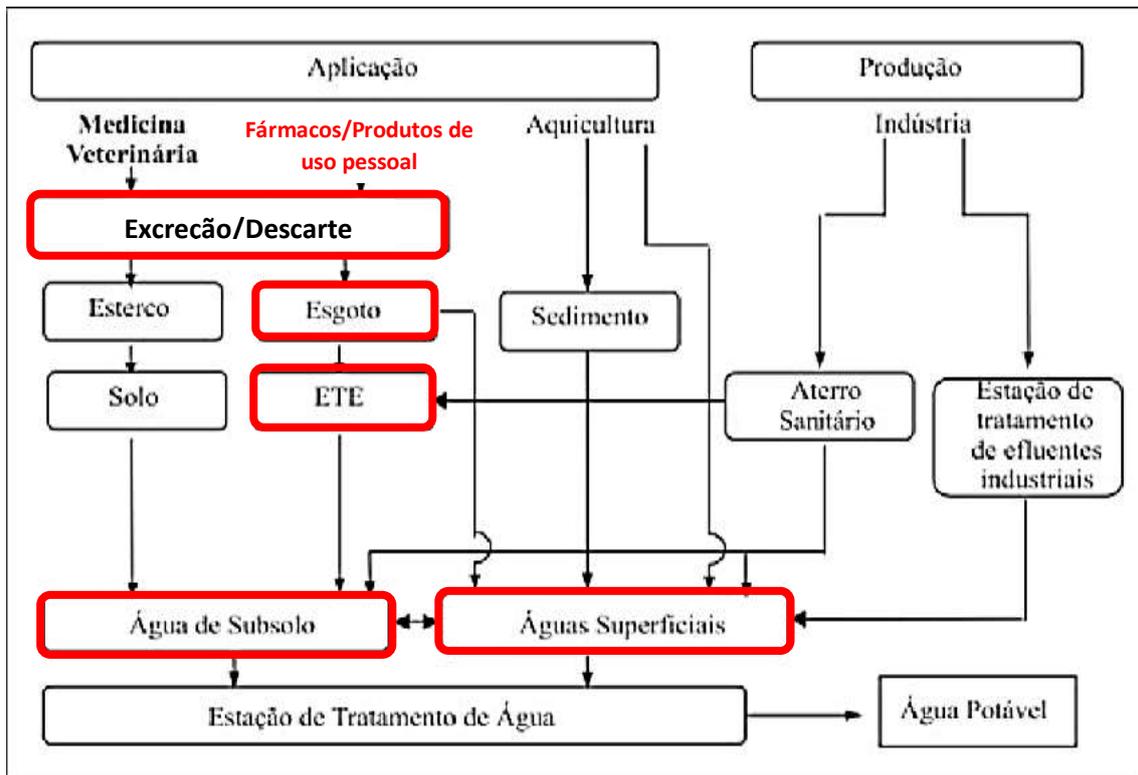


Figura 1: Possíveis rotas de PCPs no ambiente, com destaque à rota de eliminação de PCPs pelo uso humano destas substâncias.

Fonte: modificado de VETTORELLO, 2017.

Os PCPs são continuamente inseridos no meio ambiente, em razão de sua larga utilização na sociedade. Esses produtos, uma vez lançados no meio ambiente aquático, podem ser acumulados em sedimentos e/ou organismos. Os PCPs são considerados poluentes emergente, uma vez que não possui regulamentação

dessas substâncias na legislação brasileira (VETTORELLO et al, 2017; BRAUSCH e RAND, 2011).

Em adição a esses fatos, evidências das últimas duas décadas apontam para os organismos aquáticos como importantes organismos-alvo para a ação tóxica dessas substâncias químicas (SANTOS et al., 2010).

Dentre os PCPs, tornam-se importante ressaltar o amplo uso de substâncias com função conservante, antimicrobiana e antioxidante em suas formulações. O Metilparabeno (MP), Propilparabeno (PP) e o Butilhidroxitolueno (BHT) presentes em muitos PCPs, são substâncias químicas utilizadas pela indústria de cosméticos desde 1930 (GRAJALE et al., 2017).

O amplo uso de PCPs pela sociedade moderna, associado à ineficiência ou ausência de tratamento de esgoto, gera a ocorrência dessas substâncias de preocupação emergente em efluentes municipais, bem como em diferentes matrizes ambientais, tais como águas e sedimentos de ambientes dulcícolas, estuarinos e marinhos (BILA e DEZOTI, 2007, GRAJALE et al., 2017).

Diante desse cenário, cabe ressaltar que ainda não se tem conhecimento sobre a toxicidade e é de suma importância conhecer os possíveis efeitos biológicos adversos dessa classe de contaminantes em organismos não alvo. Nesse sentido, no presente estudo, foi realizada uma avaliação ecotoxicológica do MP, PP e BHT, empregando o ouriço do mar *Echinometra Lucunter*, para avaliar os efeitos agudos e crônicos das substâncias de interesse.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Aspectos legais

A água é fundamental para o desenvolvimento sustentável, inserida dentre os bens ambientais protegidos para a presente e futura gerações, como prevê o artigo 225 da Constituição Federal, que merece especial atenção através da legislação vigente (BRASIL, 1988).

Cabe destacar que no ano de 1930 a indústria química produzia cerca de 1 milhão de toneladas, passando para 400 milhões de toneladas em 1999, com projeção para 2020, que a produção seja 85% maior e dentre essas substâncias

inseridas no mercado, há pouca informação sobre os riscos à saúde humana e meio ambiente (OECD, 2001).

A Lei Federal 9.433, de 08 de janeiro de 1997 que instituiu a Política Nacional de Recursos Hídricos, em seu artigo 9º, inciso I e II, visa assegurar às águas de qualidade compatível com os usos mais exigentes a que forem destinadas; e busca diminuir os custos de combate à poluição das águas, mediante ações preventivas permanentes (BRASIL, 1997).

Anteriormente, a Lei Federal 6.938, de 31 de agosto de 1981, já previa a necessidade de controlar o lançamento no meio ambiente de poluentes, proibindo o lançamento em níveis nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras formas de vida (BRASIL, 1981).

Dessa forma, o Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA editou a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, para garantir a qualidade das águas e com isso o meio ambiente ecologicamente equilibrado, em benefício da saúde e vida, estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes (BRASIL, 2005).

Além disso, a Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011, dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para gestão do lançamento de efluentes em corpos de água receptores, alterando parcialmente e complementando a Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2011).

Como estabelece o artigo 1, parágrafo único da Resolução CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011):

O lançamento indireto de efluentes no corpo receptor deverá observar o disposto nesta Resolução quando verificada a inexistência de legislação ou normas específicas, disposições do órgão ambiental competente, bem como diretrizes da operadora dos sistemas de coleta e tratamento de esgoto sanitário.

A Resolução CONAMA 430/11 incluiu definições tais como: águas costeiras; capacidade de suporte do corpo receptor, concentração de efeito não observado (CENO); concentração do efluente no corpo receptor (CECR) expressa em porcentagem; concentração letal mediana (CL_{50}) ou concentração efetiva mediana (CE_{50}); efluente; emissário submarino; esgotos sanitários; lançamento direto; lançamento indireto; nível trófico; parâmetro de qualidade do efluente; testes de ecotoxicidade e zona de mistura e, promoveu maior flexibilidade no uso da norma para atuação dos órgãos de controle ambiental (BRASIL, 2011).

No entanto, essa regulamentação não supriu a ausência de parâmetros claros quanto a destinação e limites de concentrações de PCPs nos corpos hídricos. De acordo com Ceron (2012), para o detalhamento e atualização dos parâmetros de lançamento de efluentes, em razão da evolução tecnológica ocorrida nos tratamentos, é necessário dar ênfase ao estabelecimento de novas condições e padrões (BRASIL, 2011).

Em âmbito internacional, a União Européia, nos termos da Diretiva 2008/105/CE (política da água), estabeleceu uma lista de vigilância de substâncias químicas a serem monitoradas em águas, que contempla contaminantes de preocupação emergente tais como, hormônios sintéticos e antibióticos (CE, 2018).

Além disso, o Parlamento Europeu e o Conselho da Comunidade Europeia, elaborou um sistema integrado sobre o registro, autorização, avaliação e restrição de substâncias químicas denominado REACH. Esse sistema criou a Agência Europeia de Produtos Químicos (ABIQUIM, 2007). Conforme estabelece mencionada legislação, os dados obtidos em estudos de toxicidade podem ser interpretados de acordo com a Diretiva 93/67/CEE, a qual classifica as substâncias químicas de acordo com as concentrações de efeito estimadas (QUINN et al., 2008). As substâncias químicas podem ser classificadas como extremamente tóxico, muito tóxico, tóxico, nocivo e não tóxico (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação baseada na diretiva 93/67/CEE da União Europeia.

Não tóxico	Nocivo	Tóxico	Muito tóxico	Extremamente tóxico
$Cl_{50} > 100$ mg/L	Cl_{50} 10 e 100 mg/L	Cl_{50} entre 1,0 e 10 mg/L	Cl_{50} entre 0,1 e 1,0 mg/L	$Cl_{50} < 0,1$ mg/L

Fonte: Quinn et al., 2008

2.2 Ecotoxicologia aquática

A análise da toxicidade de PCPs e substâncias químicas em geral, pode ser realizada por meio da ciência denominada “Ecotoxicologia”. Esse termo foi utilizado pela primeira vez, em 1969, pelo toxicologista francês, Dr. René Truhaut, durante a reunião do Committee of the International Council of Science, em Estocolmo (JOLLEY et al., 2003). É uma ciência relativamente nova em relação à toxicologia clássica, da qual evoluiu por ser uma ciência que estuda os efeitos em substâncias

naturais ou sintéticas, sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos. (CAIRNS e NIEDERLEHNER, 1995).

A Ecotoxicologia Aquática, um dos campos da ecotoxicologia, se caracteriza como uma ciência multidisciplinar, por envolver estudos e conhecimentos de outras áreas das ciências, como legislação ambiental, estatística, análises químicas, matemática, que são utilizadas para quantificar e prever os efeitos biológicos no ambiente (RAND et al., 1995).

No presente estudo, o modelo biológico adotado para os ensaios de toxicidade foi o ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*, uma vez que essa espécie é um representante do ambiente marinho e possui sensibilidade adequada para detectar efeitos biológicos adversos de diferentes grupos de poluentes. (VENTURA et al., 2007).

2.3 Produtos de higiene e cuidados pessoais

Os PCPs são definidos como produtos de higiene para uso externo, destinados ao asseio ou à desinfecção, como os sabonetes, dentífrícios, condicionadores, desodorantes, xampus e cosméticos em geral (BRASIL², 2019).

Para garantir ao consumidor a aquisição de produtos seguros e de qualidade, a ANVISA é responsável por autorizar a comercialização desses artigos, mediante a concessão de registro ou notificação, bem como a fiscalização de sua aplicação.

A Resolução 237/2018 e 288/2019, mencionam os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes alterando e complementando a Resolução 7/2015. A Agenda Regulatória Quadriênio 2017-2020 da ANVISA, menciona que a regularização de produtos de higiene e cuidado pessoal, cosméticos e perfumes ocorre por meio de registro ou notificação. Os processos de registro são avaliados previamente à comercialização e avaliam a adequação da documentação aos padrões de qualidade, segurança e eficácia de cada produto. Já a notificação é uma condição em que os produtos são isentos de registro precisando apenas de um comunicado à ANVISA para que possam ser comercializados. Os produtos notificados também apresentam documentação técnica que pode ser avaliada a qualquer momento. A ANVISA atua na regularização dos produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes para que a população tenha acesso a produtos seguros. Considerando que o Brasil faz parte do

Grupo Mercado Comum (GMC) Mercosul, resoluções deste tema podem ter interface com o Grupo (BRASIL², 2019).

Os conservantes, são substâncias adicionadas aos PCPs, cosméticos e perfumes com a finalidade primária de preservá-los de danos e/ou deteriorações causados por microrganismos durante sua fabricação e estocagem, bem como proteger o consumidor de contaminação inadvertida durante o uso do produto. O anexo desta resolução, no Art.1º, menciona a aprovação da lista de conservantes permitidos para PCPs, cosméticos e perfumes. É permitida a associação de substâncias conservantes obedecidos seus limites individuais. Em casos especiais, quando houver necessidade de utilizar-se uma concentração que ultrapasse os valores individuais estipulados na lista, a empresa deverá apresentar documentação técnico-científico justificando o seu uso (BRASIL²,2019).

A função do BHT é atuar como antioxidante, que são substâncias capazes de atrasar ou inibir a oxidação de um substrato oxidável, já os parabenos, obtém a ação antimicrobiana, antibacteriana e antifúngica, que tem a função de manter-se livres de microrganismos nocivos.

Na figura 2 a um exemplo de uma formulação de creme base para condicionador.

FÓRMULA

<i>Componentes</i>	<i>Quantidade</i>
Fase A (aquosa)	
edetato dissódico	0,1 g
<i>solução conservante de parabenos</i>	3,3 g
água purificada qsp	100 g
Fase B (oleosa)	
petrolato líquido	2,0 g
álcool cetoestearílico 30/70	4,0 g
álcool cetoestearílico etoxilado 20 OE	0,8g
butil-hidroxitolueno	0,05 g
Fase C (complementar)	
cloreto de cetiltrimetilamônio a 50%	2,0g

Figura 2: Exemplo de formulação típica de creme base para condicionador .
Fonte: (BRASIL¹, 2019)

2.4 Produtos de higiene e cuidados pessoais como poluentes emergentes

Os PCPs são continuamente inseridos no meio ambiente, contudo, ainda há relativamente poucas pesquisas conduzidas para avaliar as ocorrências dessas substâncias no ambiente aquático bem como os efeitos nocivos à biota (BRAUSCH e RAND, 2011).

Considerando os estudos realizados por Montes-Grajales et al. (2017), 43 PCPs foram constatados em águas superficiais de países em todo o mundo, tais como a Austrália, Alemanha, a Antártida, Coreia do Sul, China, República Checa, Dinamarca, Espanha, França, Índia, Japão, Romênia, Cingapura, Suíça, Taiwan, Reino Unido e Estados Unidos (figura 3). Além disso, foi reportado a presença de 23 PCPs em águas subterrâneas de oito países, sendo que o maior número de produtos químicos pertencentes a este grupo foi encontrado na China e na Espanha.

Conforme levantamento realizado em águas residuais foi constatada a presença de um total de 64 PCPs, encontrados na Antártida, Austrália, Áustria, Canadá, China, Colômbia, Croácia, Bósnia-Herzegovina, Sérvia, França, Alemanha, Grécia, Índia, Itália, Japão, Holanda, Portugal, Cingapura, Coreia do Sul, Espanha, Suécia, Suíça, Taiwan, Estados Unidos e Reino Unido. A maior variedade de produtos químicos emergentes de PCPs foi reportada na Espanha com 36 compostos, seguido pelos Estados Unidos e Reino Unido, com 34 e 21, respectivamente (MONTES-GRAJALES et al, 2017).

No Sul do Brasil, apesar de terem sido constatados a presença de parabenos, apresentou baixo risco para os organismos aquáticos (SANTOS et al, 2016).

Países como a Dinamarca, mencionam que a tecnologia de tratamento convencional de águas residuais, são inadequadas para a remoção de parabenos e uma grande quantidade de PCPs são continuamente liberadas no ambiente por meio de efluentes domésticos e industriais. Portanto, as descargas de águas residuais poderiam ser a principal forma indireta de os parabenos entrarem no meio aquoso (FENG et al, 2019).

Como os parabenos têm o potencial de prejudicar a saúde humana e o ambiente aquático, a investigação de sua ocorrência, exposição, toxicidade e remoção de diferentes matrizes ambientais tem recebido atenção global. O MP e o PP, que são os parabenos mais comumente usados, bem como outros ingredientes

ativos utilizados em PCPs, têm sido detectados em diferentes matrizes ambientais ao redor do globo (figura3) (DARBRE e CHARLES, 2010; MEEKER et al., 2011; WU et al., 2017).

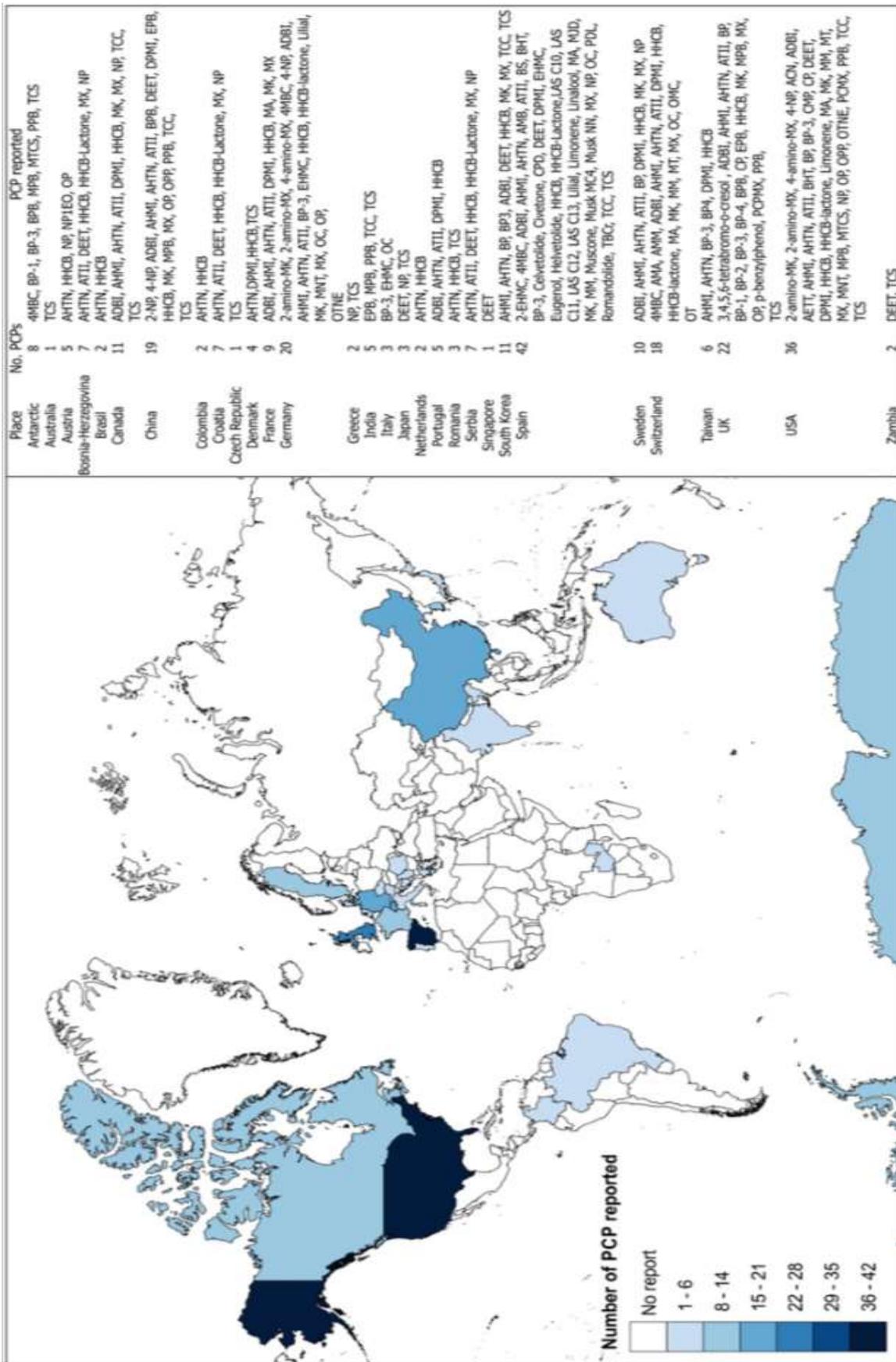


Figura 3: Países com relatos de presença de PCPs em águas.
 Fonte: MONTES-GRAJALES et al, 2017.

Em um estudo realizado na China (FENG et al., 2019) foi observado que, em comparação com outros ambientes aquáticos de outras partes do mundo, os níveis de parabenos foram relativamente altos nos sedimentos e mais abundantes nas águas superficiais, entretanto os riscos ecológicos foram considerados de baixo nível.

Embora a ocorrência de PCPs (parabenos) tenha sido observada em zonas costeiras (LEE et al., 2019; ZHAO et al., 2019), há na literatura científica uma lacuna de estudos sobre a toxicidade dessas classes de substâncias com organismos representantes desses ecossistemas.

3. Objetivo geral

Estudar a toxicidade de substâncias utilizadas na produção de produtos de higiene e cuidados pessoais por meio de ensaios biológicos.

3.1 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos biológicos adversos dos conservantes MP, PP e BHT por meio de ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo (taxa de fertilização) e efeito crônico (desenvolvimento embriolarval) com a espécie de ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*.

4. Materiais e Métodos

4.1 Substância- teste

4.1.1 Metilparabeno

O metilparabeno (CAS 99-76-3), é um agente antimicrobiano utilizado como conservante em medicamentos e cosméticos. Pertence a classe dos parabenos, que são ésteres derivados do ácido p-hidroxibenzoico, apresenta um amplo espectro de ação antimicrobiana, sendo efetivo contra bactérias tanto gram-positivas quanto gram-negativas, leveduras e fungos, é um dos conservantes de cosméticos de maior

aceitação em todo o mundo (FERNANDES et al, 2013). A figura 4 apresenta a estrutura química do metilparabeno.

O metilparabeno utilizado no presente estudo foi adquirido do fabricante Salicylates And Chemicals Pvt. Ltd (Mumbai, Índia). Apresenta aspecto de pó fino cristalino branco ou cristais brancos.

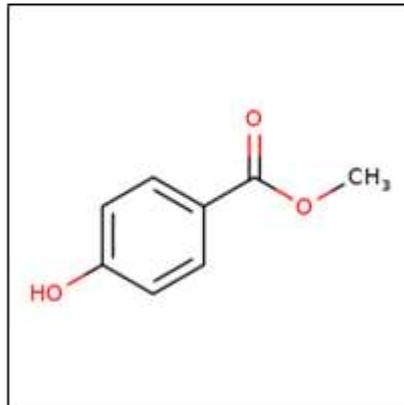


Figura 4. Estrutura química do metilparabeno.
Fonte: TOXNET¹, 2019.

4.1.2 Propilparabeno

Pertencente à classe dos parabenos, o propilparabeno (CAS 94-13-3) é um conservante antimicrobiano derivado do ácido p-hidroxibenzóico, frequentemente conhecido pelo nome comercial “Nipazol” (TOXNET, 2019). É utilizado nas indústrias cosméticas e farmacêuticas, sendo o preservante cosmético, juntamente com o metilparabeno, de maior aceitação em todo o mundo. A figura 5 apresenta a estrutura química do propilparabeno.

O propilparabeno utilizado no presente estudo foi adquirido do fabricante Ueno Fine Chemicals Industry (Hyogo, Japão). Apresenta aspecto de pó branco cristalino.

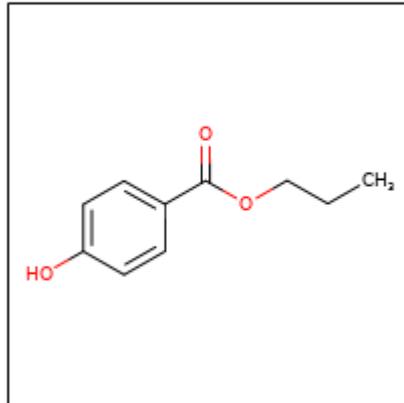


Figura 5. Estrutura química do propilparabeno.
 Fonte: TOXNET², 2019.

4.1.3 Butilhidroxitolueno

O BHT (CAS 128-37-0) é uma substância orgânica lipossolúvel e antioxidante usado como aditivo e conservante utilizados na indústria de cosméticos com função , que impedem a oxidação e sequestram radicais livres, sendo utilizado na produção de batons, sombras para os olhos, cosméticos para cabelos, como condicionadores e xampus, protetores solares, antitranspirante, perfumes e cremes (TOXNET, 2019). A figura 6 apresenta a estrutura química do BHT.

O BHT utilizado no presente estudo foi adquirido do fabricante Fagron (Barsbüttel, Alemanha). Apresenta aspecto de pó branco cristalino.

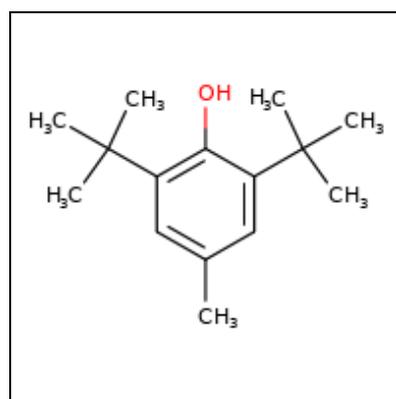


Figura 6. Estrutura química do BHT.
 Fonte: TOXNET³, 2019.

A tabela 2 apresenta as principais características físico-químicas e outras informações ambientalmente relevantes das três substâncias selecionadas no presente estudo, a partir de dados obtidos do Hazardous Substances Data Bank

(HSDB, 2019). Outros dados foram obtidos a partir da Interface EPI SUITE® v.4.11 (ANEXOS A, B e C), que consiste num pacote de programas de estimativas de propriedades físico-químicas e destinos ambientais desenvolvido pelo EPA's Office of Pollution Prevention Toxics e o Syracuse Research Corporation (USEPA¹, 2012).

Tabela 2. Características físico-químicas outras informações ambientalmente relevantes das três substâncias selecionadas

	Metilparabeno	Propilparabeno	BHT
Número CAS	99-76-3	94-13-3	128-37-0
Fórmula molecular	C ₈ H ₈ O ₃	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	C ₁₅ H ₂₄ O
Peso molecular	152,15	180,20	220,35
Solubilidade em água 25°C (mg/L)	2,5x10+3 mg/L	5 x10+2 mg/L	0,6
log Kow	1,96	3,04	5,10
Log BCF	0,96	1,67	2,81

*Fonte: TOXNET, 2019.

4.2. Preparo das soluções e concentrações-teste.

Antes do preparo da amostra, é necessário ter o conhecimento das características físico-químicas, a fim de se tomar os cuidados necessários no manuseio, bem como, contribuir na interpretação dos resultados.

Em uma balança analítica foram pesados 100mg de MP, 100mg de PP e 100mg de BHT, posteriormente as respectivas concentrações foram diluídas em 0,5 mL de DMSO e posteriormente diluídas em 1 litro de água do mar natural em um frasco de vidro volumétrico e foram registrados os teores de oxigênio dissolvido, pH e salinidade, nas respectivas fichas de controle.

4.3. Organismo-teste

O ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*, (figura 7) apresenta espinhos grossos, bastante resistentes, coloração negra e normalmente é encontrado nas rochas e sua alimentação provém de animais incrustantes e algas (MIGOTTO, 2009).



Figura 7. Ouriço do Mar *Echinometra lucunter*.
Fonte: Arquivo pessoal.

A coleta dos ouriços-do-mar foi realizada através de mergulho livre na Ilha das Palmas e também foi realizada a coleta da água do mar natural, utilizada nos ensaios de toxicidade com ouriço do mar *Echinometra lucunter*, que fica situada no Município do Guarujá, SP, Brasil.

Os ouriços foram posteriormente colocados em caixa térmica e cobertos com algas e transportados para o laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília, onde foram mantidos em tanque/aquário com água do mar até o momento do início dos ensaios (figura 8).

Para ser utilizada na diluição de amostras, controle dos ensaios, manuseio de gametas bem como a manutenção dos organismos, foram realizadas a troca das águas, mantendo os parâmetros físico químicas do aquário, com análises de pH, oxigênio dissolvido (OD), salinidade e temperatura de acordo com a norma técnica NBR15350.



Figura 8. Tanque/aquário de Ouriços do mar.
Fonte: Arquivo pessoal.

4.4. Obtenção e coleta dos gametas

Como estes organismos não apresentam dimorfismo sexual externo, foi realizada uma triagem, através do método que consiste em estímulo elétrico de um transformador, com voltagem próxima a 35 volts, contra suas conchas por 30 segundos, para a obtenção dos gametas (óvulos e os espermatozoides) (figura 9).



Figura 9. Estímulo elétrico no Ouriço do mar *Echinometra lucunter*.

Fonte: Arquivo pessoal

Os espermatozoides dos ouriços-do-mar, que são identificados pela cor branca, foram coletados com uma pipeta Pasteur de ponta fina, diretamente dos poros genitais e colocados em um béquer e mantido dentro de uma placa de Petri com gelo (figura 10).



Figura 10. Espermatozoides de *Echinometra lucunter*.

Fonte: Arquivo Pessoal.

Os óvulos identificados pela cor laranja, foram coletados em um béquer de 600 mL com água de diluição à temperatura de $(25 \pm 2^\circ\text{C})$, com a superfície aboral

do ouriço-do-mar *Echinometra lucunter* voltada para baixo, de forma que os gonóporos ficassem imersos na água (figura 11).



Figura 11. Obtenção e coleta de óvulos.

Fonte: Arquivo Pessoal.

4.5. Ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo com ouriço do mar *Echinometra lucunter* (taxa de fertilização)

O método utilizado no presente estudo seguiu o protocolo da USEPA (2009) e também foi utilizada a NBR 15350 (ABNT 2012), para a espécie de ouriço-do-mar *Echinometra lucunter*.

Para a avaliação dos ensaios agudos com o MP, PP e BHT, os espermatozoides foram expostos às respectivas concentrações: 100; 50; 25; 12,50; 6,25; 3,12; 1,56 e 0,78 mg/L, e também um controle com água e um controle com DMSO. Importante estabelecer neste método, uma proporção de espermatozoides/óvulo, que propicie uma taxa de fertilização adequada superior a 70%.

Os espermatozoides, após a exposição às respectivas concentrações teste, foram colocadas em câmara incubadora, com temperatura controlada entre 24 e 28°C por 1 (uma) hora, posteriormente, foram adicionados os óvulos aos frascos teste e colocadas novamente em câmara incubadora por mais 20 minutos. Após o tempo mencionado, os ensaios foram encerrados, adicionando 0,5mL de formol tamponado com bórax, em todas as réplicas do teste.

As leituras dos ensaios foram realizadas através da contagem dos 100 primeiros ovos (identificados com a presença da membrana de fecundação para os

ovos fertilizados) que foram utilizadas uma câmara de Sedgwick-Rafter e um microscópio óptico (figura 12). O número de óvulos fertilizados e não fertilizados, foram anotados em uma planilha.

As análises físico-químicas (pH, oxigênio dissolvido, salinidade) das soluções-teste e controle dos ensaios de toxicidade aguda e crônica estão inseridas no Apêndice A.



Figura 12. Câmara de Sedgwick-Rafter e microscópio óptico.
Fonte: Arquivo pessoal

4.6. Ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico com ouriço do mar *Echinometra lucunter* (Desenvolvimento embriolarval)

O método adotado nos ensaios para avaliação de efeito crônico foi de acordo com a NBR 15350 (ABNT, 2012).

Para a avaliação dos ensaios crônicos com o MP, PP e BHT, as concentrações estabelecidas foram de 0,78; 1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 mg/L e também um controle com água e um controle com DMSO.

No momento da fecundação, foi preparado uma solução de espermatozoides na proporção de 0,5mL para 25 mL de água de diluição, misturando bem para a dissolução de grumos, posteriormente para utilizarmos no processo de fecundação, acrescentamos 1mL de solução de espermatozoides nos 600 mL de solução de óvulos. Após verificar-se a fecundação de no mínimo 80%, através de leitura em três alíquotas de 10 μ L para contagem em câmara de Sedgwick-Rafter, agitamos levemente por 2 horas e posteriormente adicionamos aos tubos de ensaios com as

respectivas concentrações e foram colocadas em câmara incubadora com temperatura controlada entre 24 e 28°C por 42 horas (figura 13).



Figura 13. Ensaios de toxicidade no interior da câmara incubadora
Fonte: Arquivo pessoal.

Ao término das 42 horas, foram finalizados adicionando 0,5mL de formol tamponado com bórax e foi realizado a leitura do estágio de desenvolvimento dos 100 primeiros organismos de cada réplica.

Os resultados foram considerados válidos no término do período de ensaio, devido a porcentagem de pluteus normais no controle que foram superiores a 80% NBR 15350 (ABNT,2012). São considerados anormal os estágios anteriores à larva plúteos, ovo, mórula, blástula e gástrula, organismos deformados ou plúteos com atraso no desenvolvimento em relação ao controle (figura 14).



Figura 14. Desenvolvimento embriolarval de *Echinometra lucunter*.
Fonte: Arquivo pessoal.

4.7. Análise estatística

Para os ensaios de toxicidade foram utilizados o *software TOXSTAT 3.5* (WEST & GULLEY, 1996). e *software ICPIN* (USEPA, 1988). Os resultados foram expressos em concentrações de efeito não observado (CENO), que é a maior concentração nominal do agente tóxico que não causa efeito significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos, concentrações de efeito observado (CEO), que é a menor concentração nominal do agente tóxico, que causa efeito estatisticamente significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos, em concentração de inibição a 50% dos organismos (CI₅₀), intervalo de confiança (IC) superior e inferior e calculados o valor médio e o desvio padrão.

5. Resultados

5.1 Ensaio de sensibilidade

Os resultados dos ensaios de sensibilidade com os lotes de organismos empregados no presente estudo estiveram dentro dos limites da carta-controle do Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Santa Cecília (Anexo D).

5.2 Controle positivo de solvente Dimetilsufóxido DMSO

Com o propósito de avaliação de possíveis efeitos nos organismos-teste relacionados ao solvente DMSO utilizado nas diluições do MP, PP e BHT, foram realizados um controle positivo do solvente com a maior concentração utilizada em todos os ensaios.

O resultado mostra que não houve diferença estatística significativa entre o controle de água e a maior concentração do solvente DMSO onde (Teste *t* de Student ($p \leq 0,05$)), (Tabela 3).

Tabela 3. Controle positivo de solvente Dimetilsufóxido DMSO

Tratamentos	Desenvolvimento embrionarval médio (%)	Desvio padrão	<i>P</i>
Controle de água	93,25	4,03	-
Controle de DMSO	98,25	1,25	0,122

5.3 Ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo

5.3.1 Metilparabeno

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda (taxa de fertilização) com metilparabeno estão apresentados nas figuras 15, 16 e 17. Os resultados e os valores de Cl_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, com metilparabeno, revelaram um valor médio de Cl_{50} de 74,47 mg/L (tabela 4).

Tabela 4. Resultado dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Metilparabeno

Ensaios	$Cl_{50;1h}$ (mg/L)
1	74,19 (73,92 - 74,45)
2	74,55 (74,29 - 74,87)
3	74,68 (74,42 - 74,85)
Média	74,47
Desvio padrão	0,25
Coeficiente de variação (%)	0,33

() - Intervalo de confiança

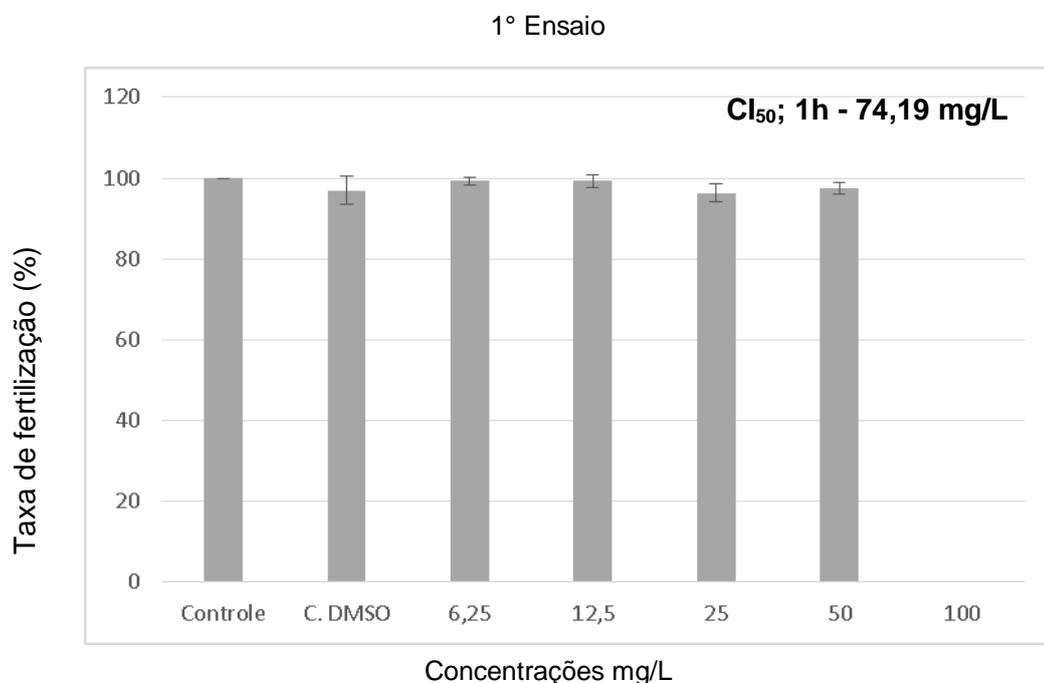


Figura 15. Resultado do 1º ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

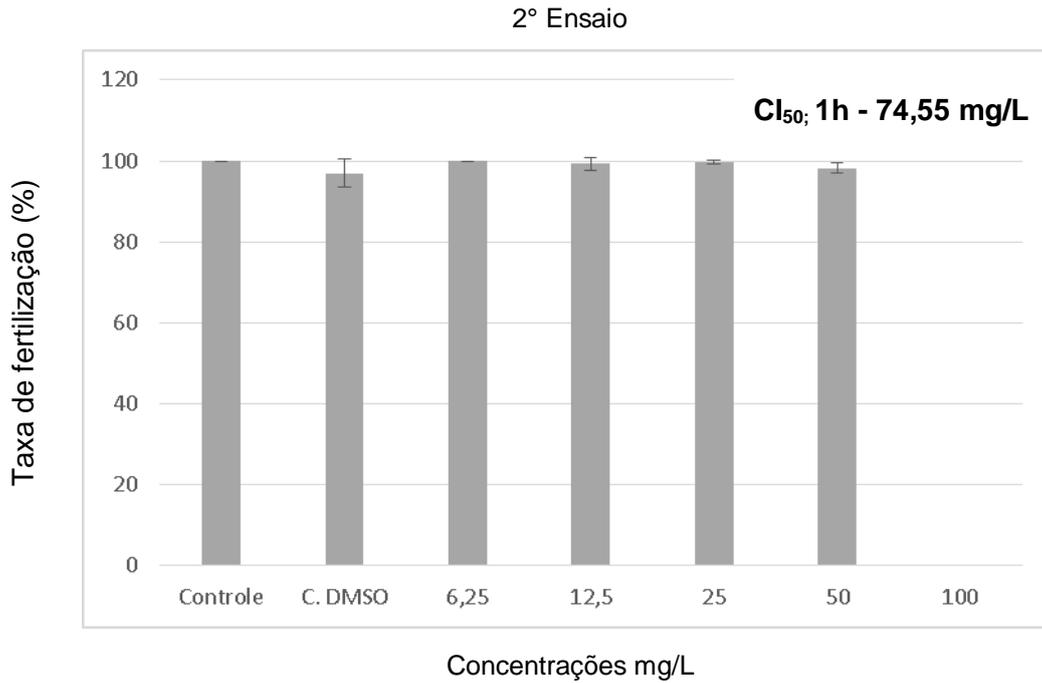


Figura 16. Resultado do 2° ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

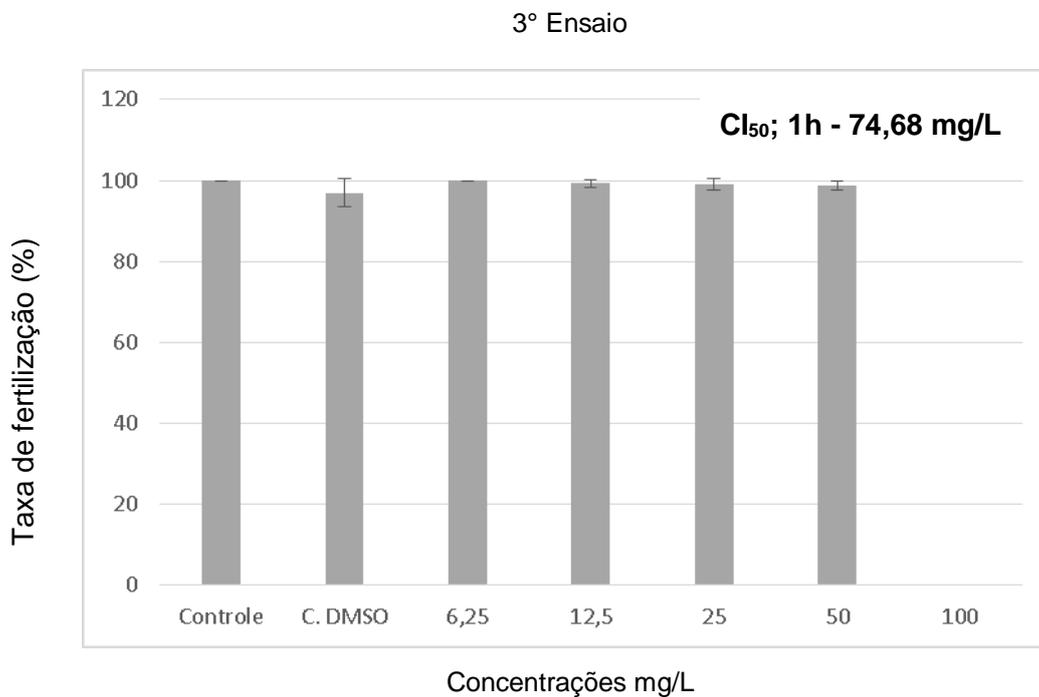


Figura 17. Resultado do ensaio 3° de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

5.3.2 Propilparabeno

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda (taxa de fertilização) com propilparabeno estão apresentados nas figuras 18, 19 e 20. Os resultados e os valores de CI_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, com propilparabeno, observando-se o valor médio de CI_{50} de 73,20 mg/L (tabela 5).

Tabela 5. Resultado dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Propilparabeno

Ensaio	$CI_{50;1h}$ (mg/L)
1	73,67 (73,33 - 74,22)
2	73,74 (72,96 - 74,48)
3	72,20 (70,96 - 73,18)
Média	73,20
Desvio padrão	0,87
Coeficiente de variação (%)	1,19

() - Intervalo de confiança

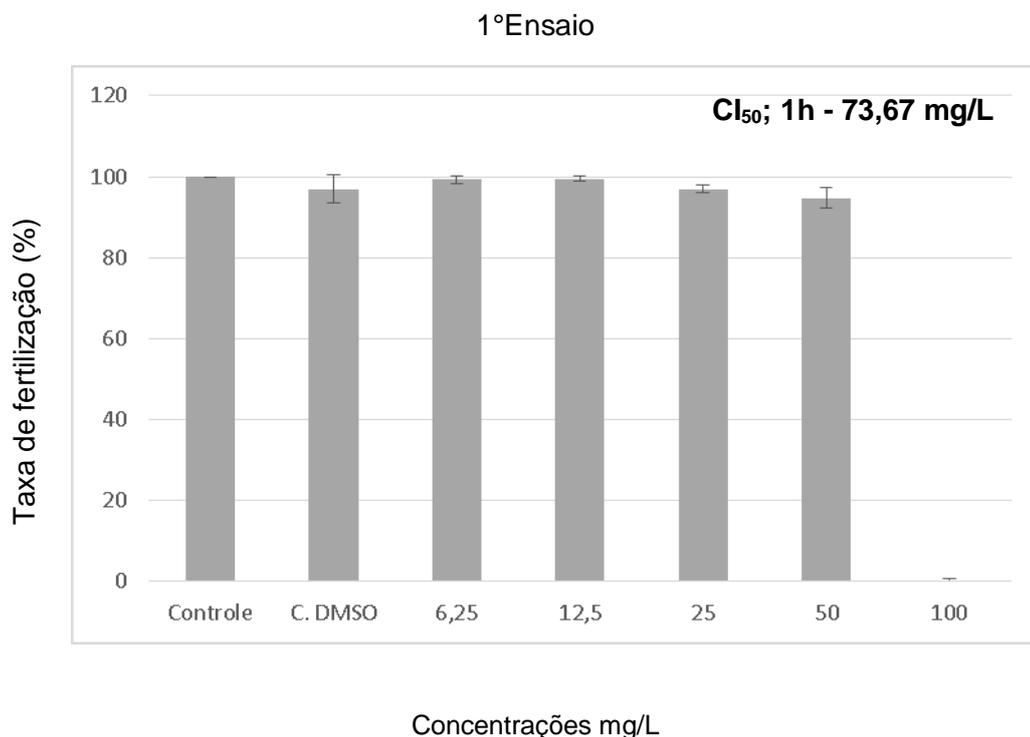


Figura 18. Resultado do 1º ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

2°Ensaio

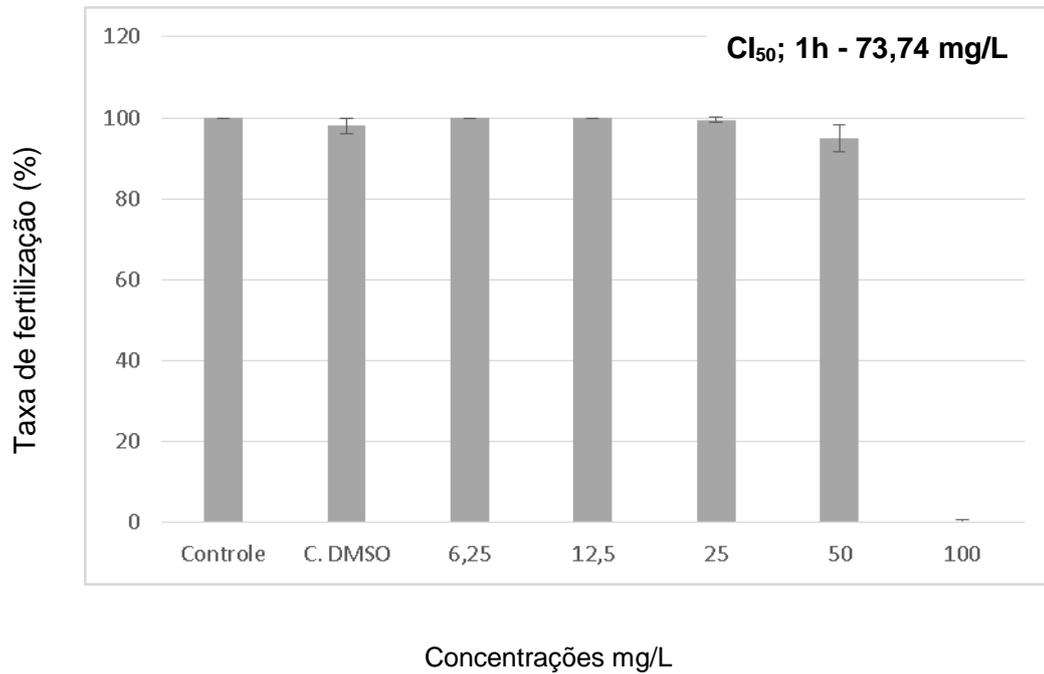


Figura 19. Resultado do 2° ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

3° Ensaio

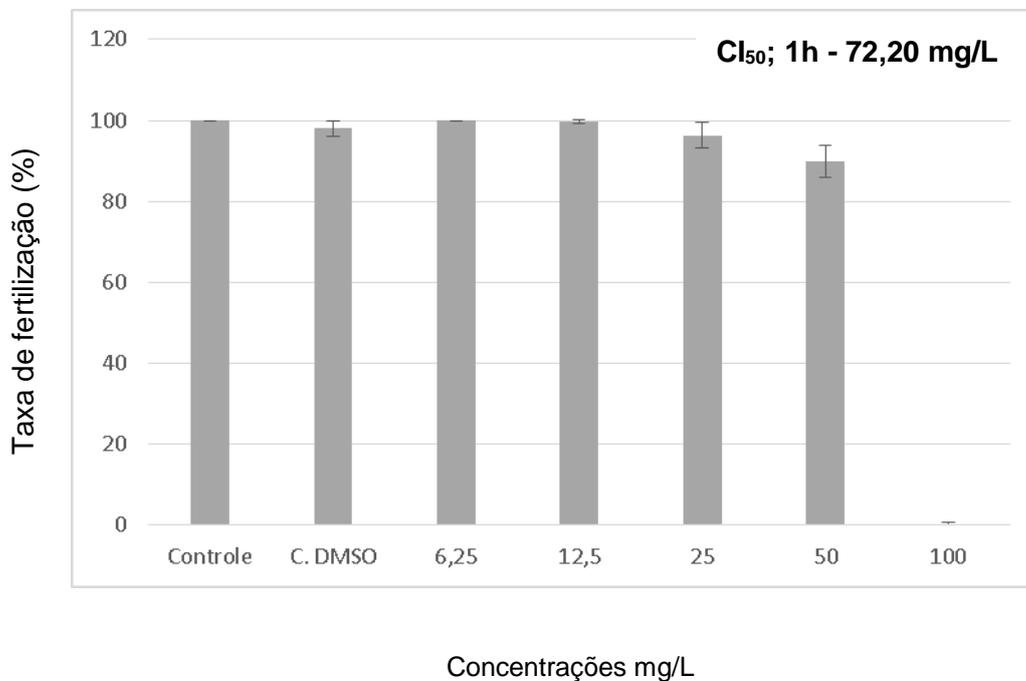


Figura 20. Resultado do 3° ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

5.3.3 Butilhidroxitolueno

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda (taxa de fertilização) com BHT estão apresentados nas figuras 21, 22 e 23. Os resultados e os valores de CI_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, com BHT, observando-se o valor médio de CI_{50} de 38,14 mg/L (tabela 6).

Tabela 6. Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito agudo para o Butilhidroxitolueno

Ensaios	$CI_{50};1h$ (mg/L)
1	37,82 (36,52 – 39,11)
2	39,85 (37,54 - 42,41)
3	36,75 (34,77 - 38,14)
Média	38,14
Desvio padrão	1,57
Coeficiente de variação (%)	4,11

() - Intervalo de confiança

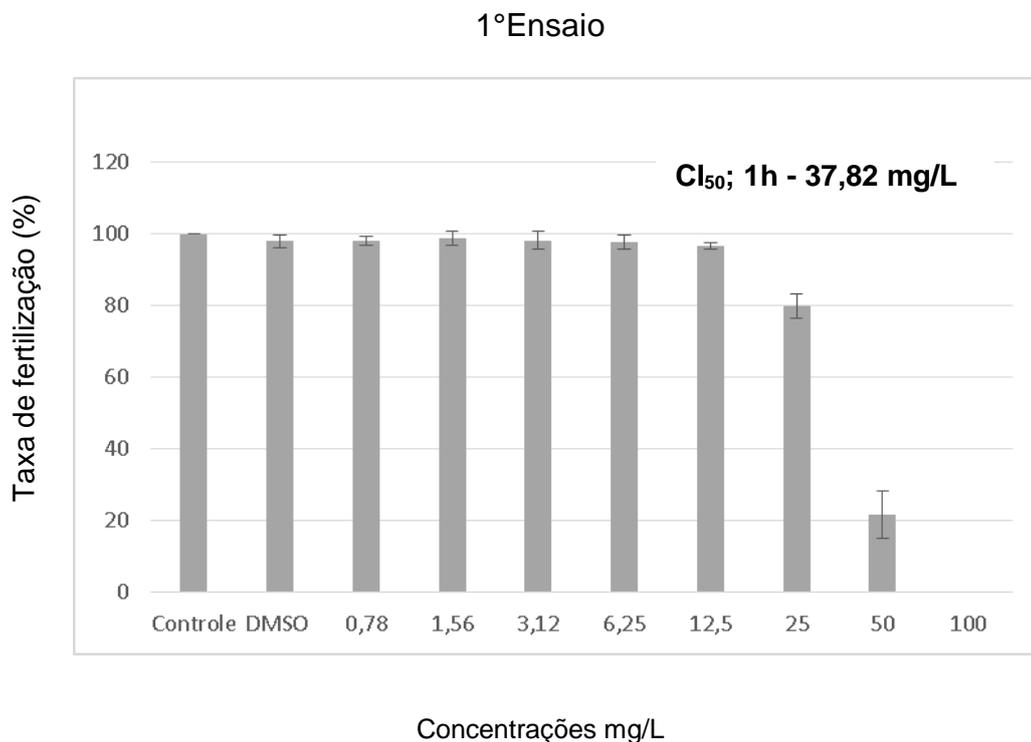


Figura 21. Resultado do 1º ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

2° Ensaio

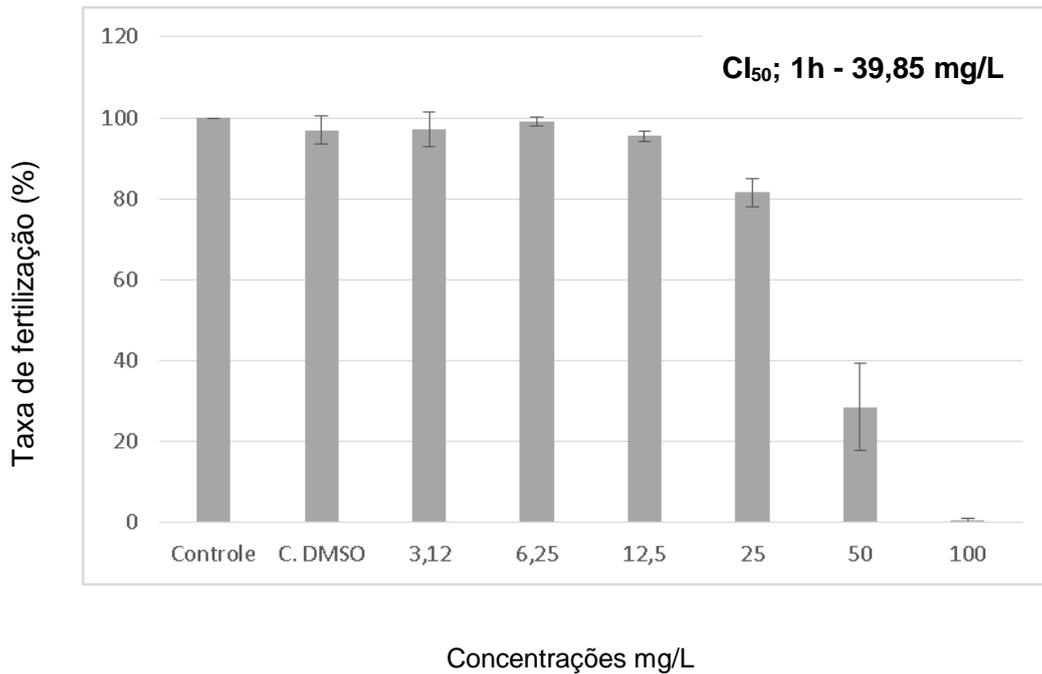


Figura 22. Resultado do 2° ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

3° Ensaio

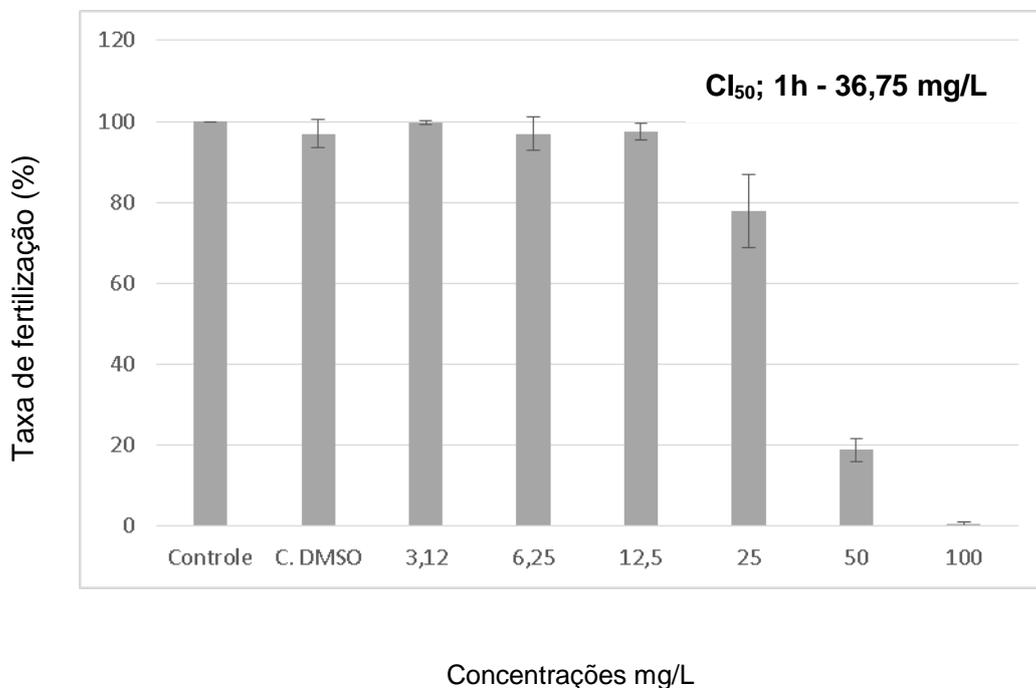


Figura 23. Resultado do 3° ensaio de toxicidade aguda em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

5.4 Ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico

5.4.1 Metilparabeno

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica (taxa de desenvolvimento embrionário) com metilparabeno estão apresentados nas figuras 24, 25 e 26. Os resultados e os valores de CI_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, CENO e CEO, observou-se com o metilparabeno os valores médios de CI_{50} de 20,09 mg/L, CENO de 3,12 mg/L e CEO de 6,25 mg/L (tabela 7).

Tabela 7. Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico com Metilparabeno.

Ensaio	CENO	CEO	$CI_{50;42h}$
1	3,12	6,25	35,19 (34,02 - 36,21)
2	3,12	6,25	9,52 (8,99 - 10,17)
3	3,12	6,25	15,57 (15,00 - 16,07)
Média	3,12	6,25	20,09
DP	-	-	15,06
CV (%)	-	-	74,96

CI_{50} - Concentração Inibitória 50%; CEO- Concentração de Efeito Observado; CENO- Concentração de Efeito Não Observado; DP - Desvio Padrão; CV – Coeficiente de Variação

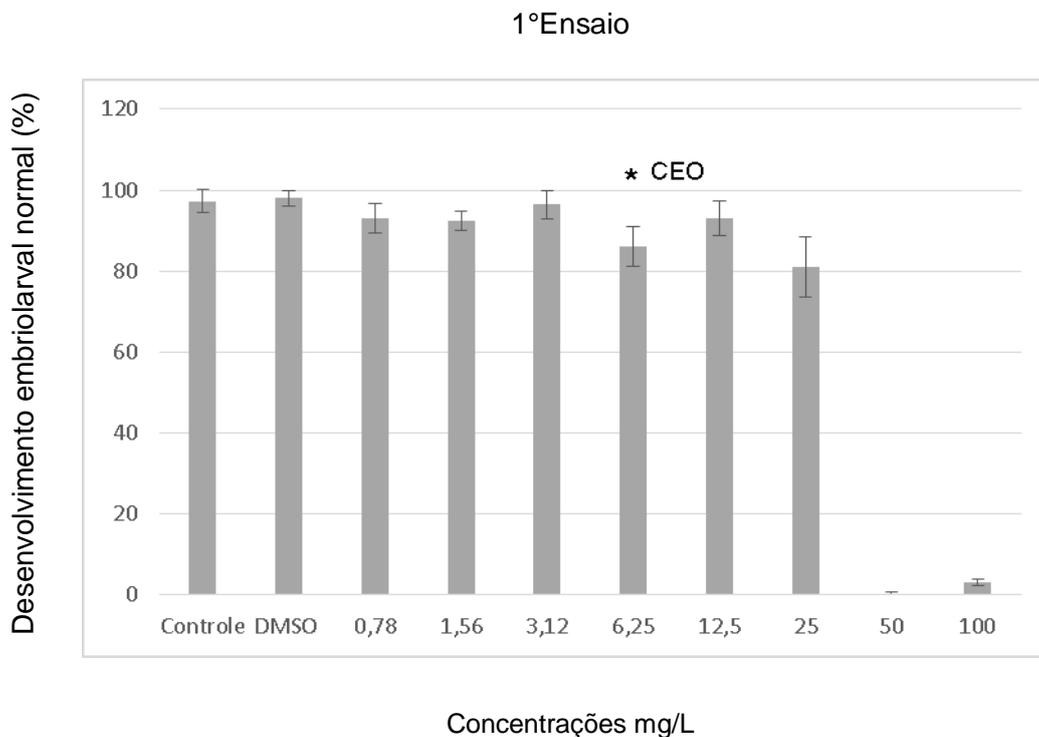


Figura 24. Resultado do 1º ensaio de toxicidade crônico em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

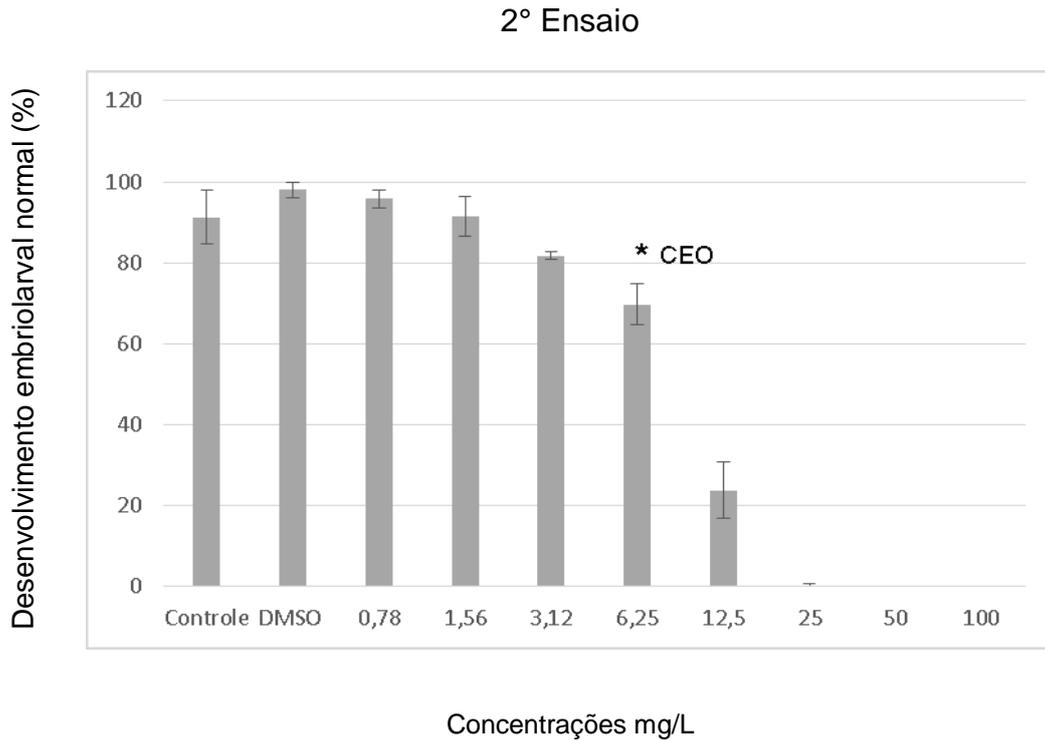


Figura 25. Resultado do 2° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: $*p < 0.05$

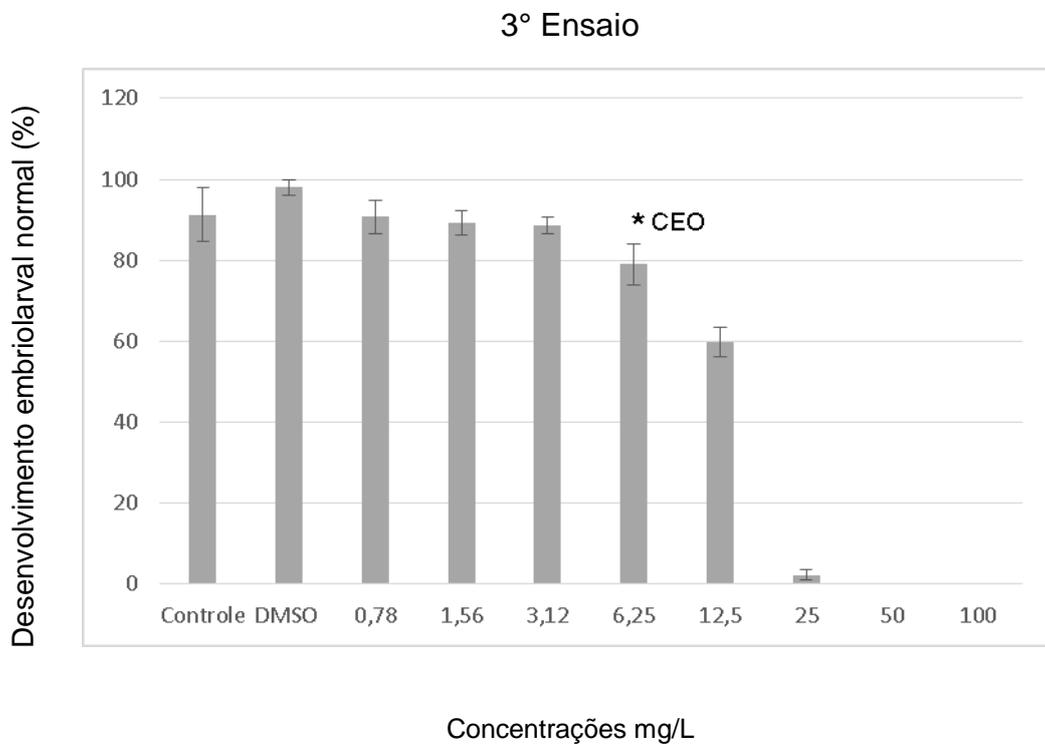


Figura 26. Resultado do 3° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do metilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: $*p < 0.05$

5.4.2 Propilparabeno

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica (taxa de desenvolvimento embrionário) com propilparabeno estão apresentados nas figuras 27, 28 e 29. Os resultados e os valores de CI_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, CENO e CEO, observando-se com o propilparabeno os valores médios de CI_{50} de 15,57 mg/L, CENO de 3,12 mg/L e CEO de 5,21 mg/L (tabela 8).

Tabela 8. Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico com Propilparabeno.

Ensaio	CENO	CEO	$CI_{50;42h}$
1	3,12	6,25	30,79 (29,27 - 32,73)
2	< 3,12	3,12	5,78 (5,40 - 6,51)
3	3,12	6,25	10,14 (9,75 - 10,47)
Média	3,12	5,21	15,57
DP	-	1,81	10,50
CV (%)	-	34,74	67,43

CI_{50} - Concentração Inibitória 50%; CEO- Concentração de Efeito Observado; CENO- Concentração de Efeito Não Observado; DP - Desvio Padrão; CV – Coeficiente de Variação

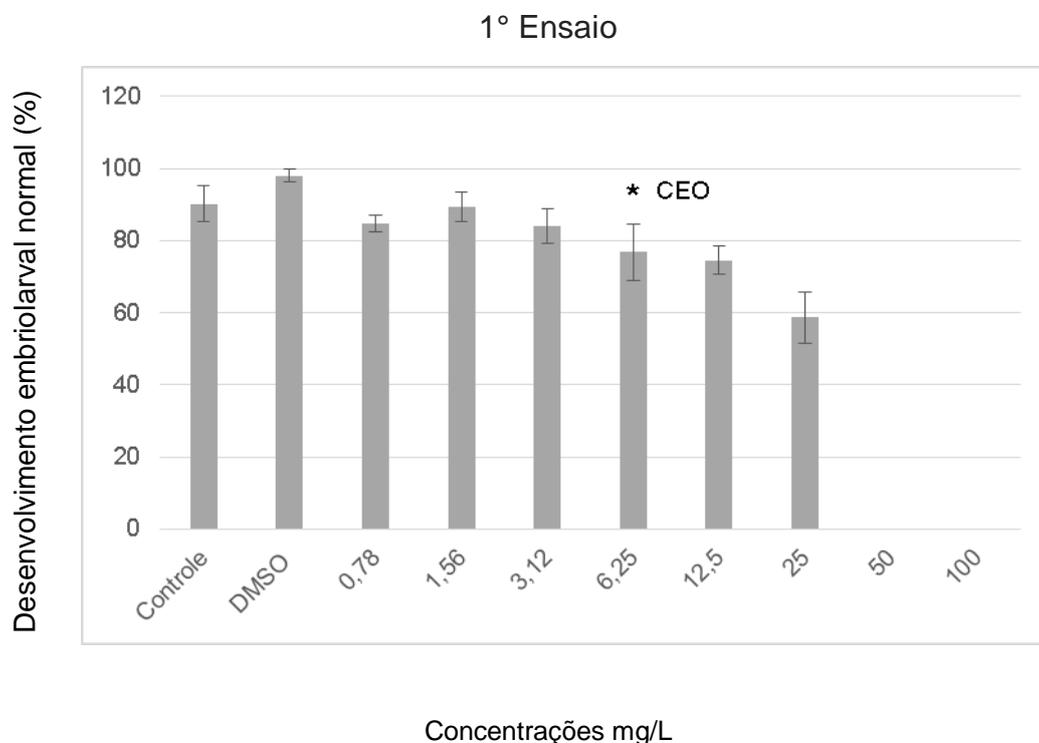


Figura 27. Resultado do 1° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0,05$.

2° Ensaio

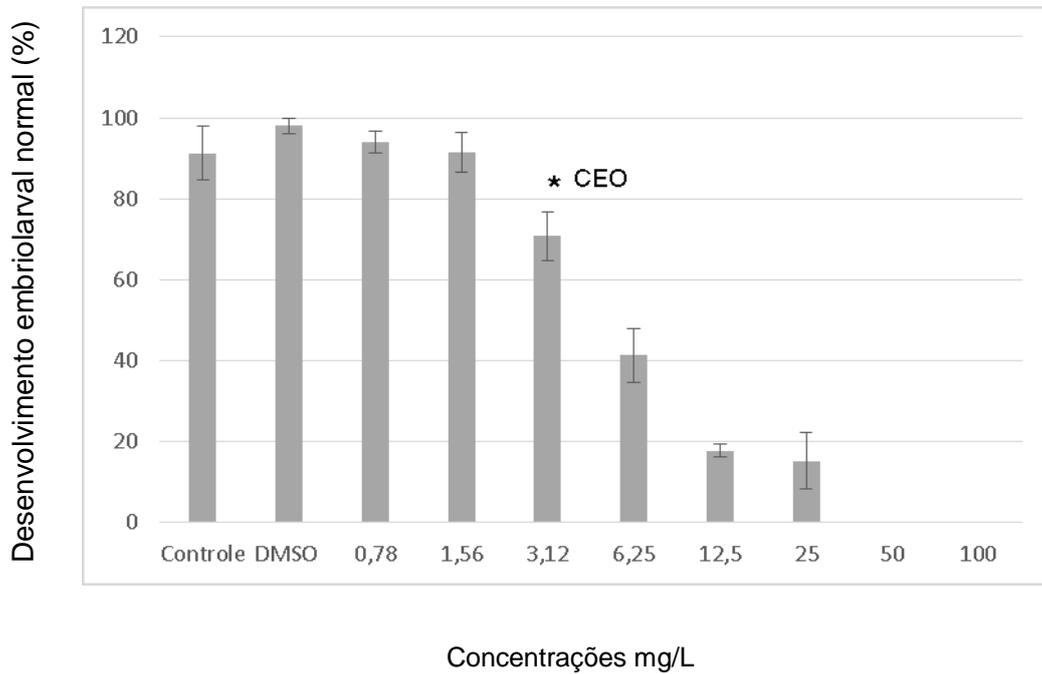


Figura 28. Resultado do 2° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

3° Ensaio

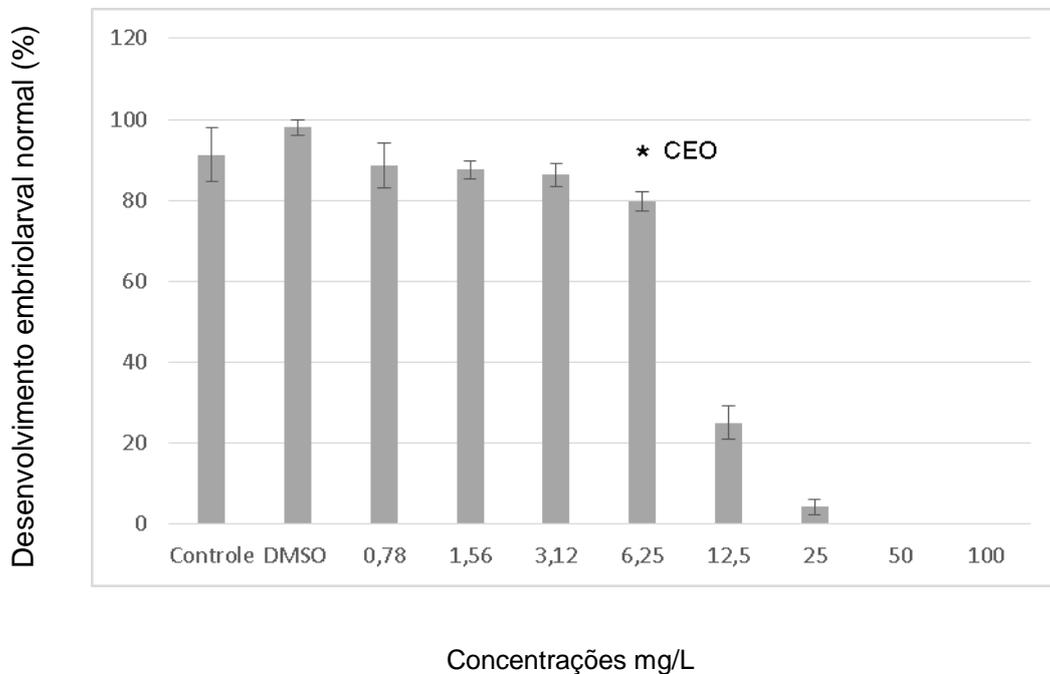


Figura 29. Resultado do 3° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do propilparabeno. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: * $p < 0.05$.

5.4.3 Butilhidroxitolueno

Os resultados dos ensaios de toxicidade crônica (taxa de desenvolvimento embrionário) com BHT estão apresentados nas figuras 30, 31 e 32. Os resultados e os valores de CI_{50} , a média, DP (desvio padrão), CV (coeficiente de variação), o IC (intervalos de confiança) superiores e inferiores, CENO e CEO, observando-se com o BHT os valores médios de CI_{50} de 6,85 mg/L, CENO de 3,38 mg/L e CEO de 6,77 mg/L (tabela 9).

Tabela 9. Resultados dos ensaios de toxicidade para avaliação de efeito crônico com Butilhidroxitolueno

Ensaio	CENO	CEO	$CI_{50;42h}$
1	0,78	1,56	5,76 (5,16 – 6,60)
2	6,25	12,5	5,78 (5,40 - 6,51)
3	3,12	6,25	9,01 (8,75 - 9,28)
Média	3,38	6,77	6,85
DP	4,25	8,51	1,87
CV (%)	125,7	125,7	27,29

CI_{50} - Concentração Inibitória 50%; CEO- Concentração de Efeito Observado; CENO- Concentração de Efeito Não Observado; DP - Desvio Padrão; CV – Coeficiente de Variação

1° Ensaio

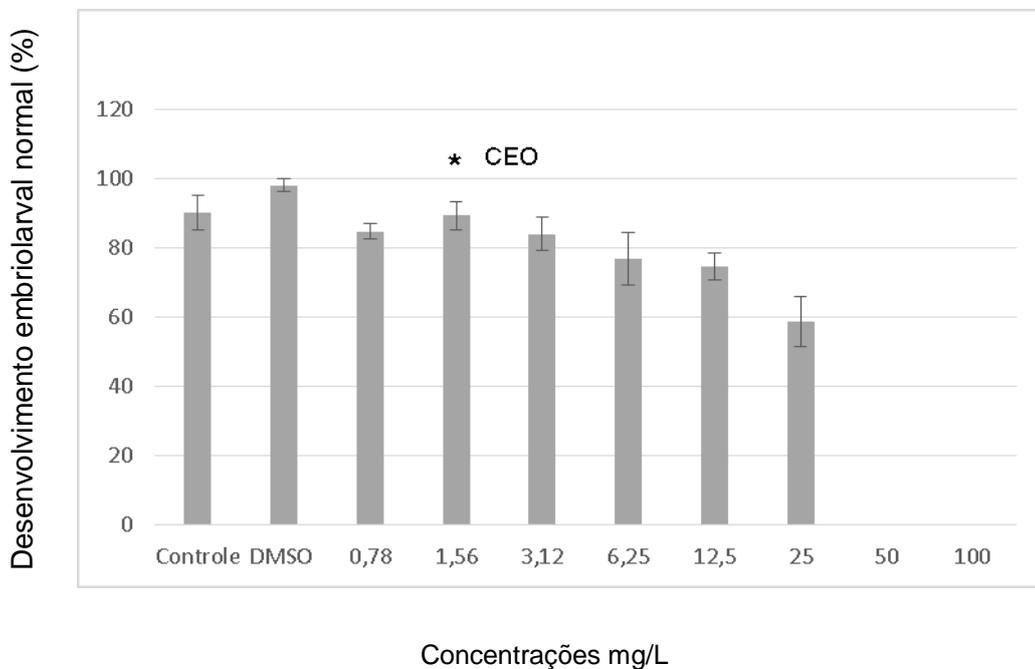


Figura 30. Resultado do 1° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: $*p < 0.05$.

2° Ensaio

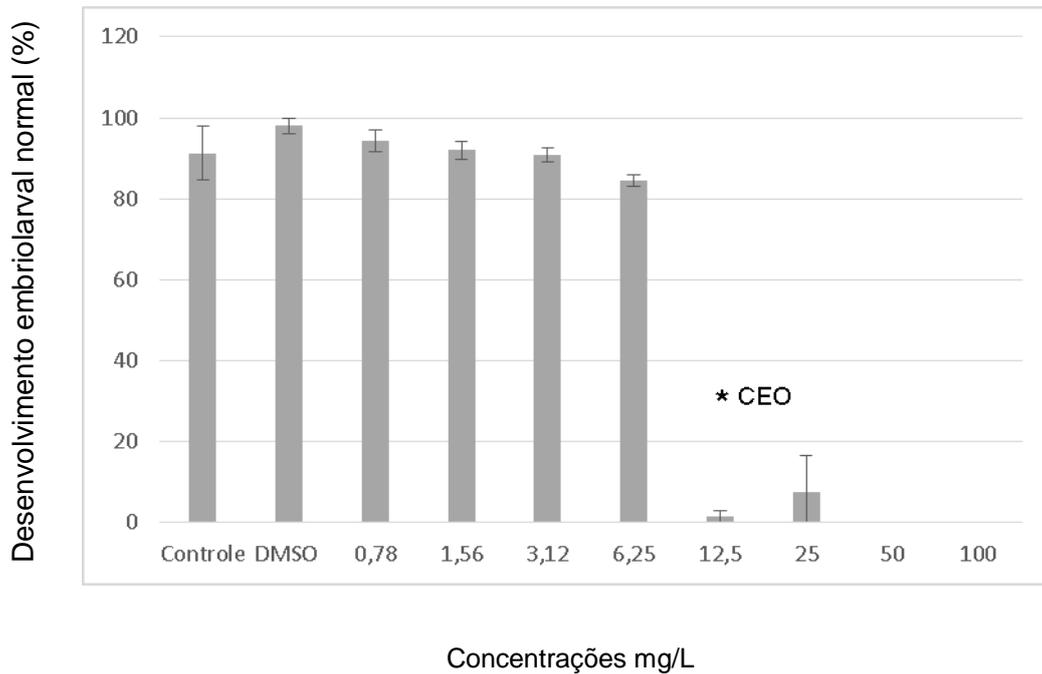


Figura 31. Resultado do 2° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: $*p < 0.05$.

3° Ensaio

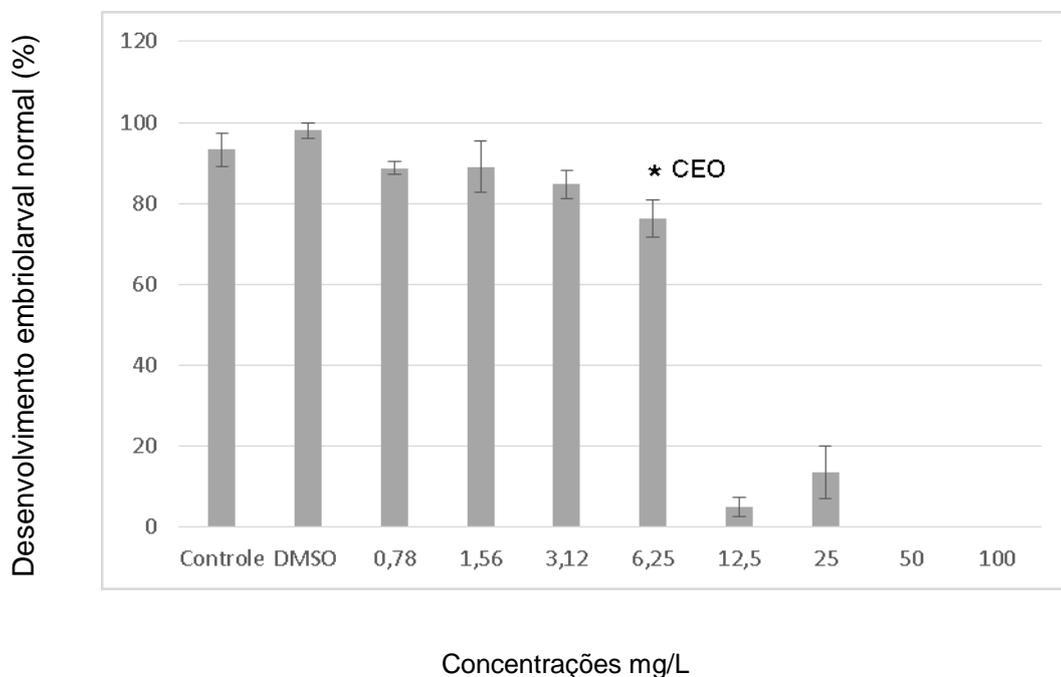


Figura 32. Resultado do 3° ensaio de toxicidade crônica em *E. lucunter* frente à exposição de diferentes concentrações do BHT. Os valores expressados representam a média \pm erro padrão para cada concentração testada. ANOVA com teste posteriori de Dunnett: $*p < 0.05$.

6. Discussão

No presente estudo, o BHT foi a substância que apresentou a maior toxicidade aguda e crônica. Esses dados podem estar relacionados com os maiores valores de logKow e BCF dentre as moléculas estudadas.

Além dessas características físico-químicas, de acordo com Soni et al. (2005), o tamanho do grupo alquil na estrutura química dos parabenos pode influenciar nos efeitos tóxicos da molécula, uma vez que essa característica está relacionada à maior hidrofobicidade, biodisponibilidade e redução da biodegradação. No presente estudo, a maior toxicidade do PP em relação ao MP, pode estar relacionada também ao fato dessa molécula possuir uma cadeia alquil mais longa.

Com relação à toxicidade dos parabenos e conservantes em geral, torna-se importante ressaltar que há na literatura uma escassez de estudos realizados com invertebrados marinhos.

Os dados obtidos nos estudos para a avaliação de efeito agudo, demonstraram inibição na taxa de fertilização de *Echinometra lucunter* em concentrações na ordem de mg/L, para todos os conservantes analisados. Nesse caso, o BHT foi a substância mais tóxica (CI₅₀^{1h} 38,14 mg/L), seguido do PP (CI₅₀^{1h} 73,20 mg/L) e MP (CI₅₀^{1h} 74,74 mg/L). Kang et al. (2019), em estudo conduzido com o copépodo *Tigriopus japonicus*, também observaram maior toxicidade aguda do PP (CL₅₀^{96h} - 0,11 mg/L) em relação ao MP (CL₅₀^{96h} - 29,75 mg/L).

A toxicidade do MP empregando o organismo *Artemia franciscana* foi avaliada por Comeche et al. (2017). Nesse estudo os autores estimaram uma concentração letal (CL₅₀^{24h}) de 36,70 mg/L e consideraram o MP prejudicial para *Artemia franciscana*.

Embora no presente estudo tenha sido empregado células espermáticas para avaliação do efeito agudo, é possível observar uma maior sensibilidade do copépodo *T. japonicus* aos parabenos analisados, bem como da *Artemia franciscana*, fato que pode estar relacionado ao maior tempo de exposição dos crustáceos em relação aos espermatozóides de ouriço-do-mar.

Os dados obtidos com os ensaios de toxicidade para a avaliação de efeito crônico demonstraram inibição do desenvolvimento embriolarval de *Echinometra lucunter* também em concentrações na ordem de mg/L, para todos os conservantes analisados. Esses resultados seguiram a mesma tendência que os dados de efeito

agudo, uma vez que o BHT apresentou maior toxicidade (Cl_{50}^{42h} 6,85 mg/L), seguido do PP (Cl_{50}^{42h} 15,57 mg/L) e MP (Cl_{50}^{42h} 20,09 mg/L).

As regiões costeiras recebem contribuições de contaminantes provenientes dos lançamentos de esgotos residenciais e industriais. Diversos estudos têm detectado variadas substâncias químicas em diferentes matrizes ambientais, entre elas os conservantes MP, PP e BHT (MONTES-GRAJALES et al., 2017; ZHAO et al., 2019).

Alguns aspectos físico-químicas das substâncias de interesse do presente estudo podem influenciar diretamente no grau de toxicidade. O coeficiente de partição octanol-água ($\log Kow$) e o fator de bioconcentração (BCF) (tabela 10) representam importantes indicadores, pois esses parâmetros possuem relação com o grau de afinidade de um poluente a organismos vivos (RAND et al., 1995).

Tabela 10. Valores de $\log kow$ e $\log BCF$ parra as três substâncias testadas.

Substância	$\log Kow^*$	$\log BCF^{**}$
Metilparabeno	1,96	0,960
Propilparabeno	3,04	1,673
BHT	5,10	2,810

* Log Octanol-Water Partition Coef. ** Log BCF from regression-based method. valor estimado pelo software BCFBAF v3.01

O coeficiente de partição $\log Kow$ é uma variável físico química amplamente utilizada. Esta variável possui aplicações práticas, dentre as quais a semelhança no comportamento da dispersão de poluentes em sistemas, seres vivos, ambiente aquático e octanol-água. Além disso, o $\log Kow$ é uma fase substituta para os lipídios em organismos biológicos e representa como um produto químico que seria distribuído entre os lipídios dos organismos biológicos e a água (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2014).

Os valores do BCF são estimados dividindo a concentração de equilíbrio (mg/Kg) de uma substância química em um organismo ou tecido, pela concentração da mesma molécula no meio externo (ISNARD e LAMBERT, 1988).

Comeche et al. (2017), também analisaram efeitos crônicos do MP sobre o microcrustáceo *Artemia franciscana*, no entanto não foram observados efeitos

significativos na sobrevivência e crescimento dos organismos com 9 dias de exposição sob concentrações de 0,0085 mg/L e 0,017 mg/L, respectivamente. No presente estudo a concentração de efeito não observado do MP (CENO) para espermatozoides de ouriço-do-mar foi de 3,12 mg/L.

Efeitos do MP e PP sobre o desenvolvimento e fecundidade de machos e fêmeas da espécie de copépodo *Tigriopus japonicus* foram observados por Kang et al. (2019). Nesse estudo os machos apresentaram maior sensibilidade, com valores de CENO para o MP e PP de 20 mg/L e 0,1 mg/L, respectivamente, enquanto as fêmeas apresentaram valores de CENO para MP e PP de 30 mg/L e 0,2 mg/L, respectivamente. Os dados obtidos no presente estudo com relação ao MP demonstram uma maior sensibilidade dos embriões de ouriço-do-mar em relação a machos e fêmeas de *T. japonicus*, uma vez que o valor de CENO estimado foi de 3,12 mg/L.

Os resultados obtidos com o PP no presente estudo, coincidem com os dados obtidos por Kang et al. (2019) uma vez que essa substância foi mais tóxica quando comparado ao MP, para ambos os organismos empregados nos estudos. Porém, o copépodo *T. japonicus* apresentou maior sensibilidade de machos e fêmeas ao PP em relação aos embriões de *Echinometra lucunter* (CENO - 3,12 mg/L).

Os dados sobre a toxicidade do BHT são escassos na literatura científica. No estudo realizado por Yang et al. (2018) foi observado os efeitos do BHT em diferentes *endpoints* com a espécie de peixe dulcícola *Danio rerio*. Concentrações a partir de 0,1 mg/L alteraram significativamente os batimentos cardíaco dos organismos expostos enquanto os efeitos adversos no desenvolvimento embrionário ocorreu na concentração máxima de 0,2 mg/L. Efeitos agudos tais como mortalidade (embriões e larvas), bem como eclodibilidade de ovos não foram observados (0,2 mg/L).

Com relação aos efeitos nocivos do MP e PP, a maioria dos estudos publicados foram realizados empregando organismos aquáticos dulcícolas (peixes, microcrustáceos, microalgas e nemátodo) com ênfase em diferentes *endpoints* (tabela 11).

Tabela 11. Estudos realizados empregando organismos aquáticos.

Substância	Espécie	Endpoint	Referências
MP	<i>Cyprinus carpio</i>	↑ níveis de vitelogenina, inibição de atividade enzimática	Barse et al. (2010)
PP	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	↑ níveis de vitelogenina	Bjerregaard et al. (2003)
MP / PP	<i>Oryzias latipes</i> <i>Daphnia magna</i> <i>P. subcapitata</i> <i>Daphnia magna</i>	Retardo no crescimento / ↑ níveis de vitelogenina	Yamamoto et al. (2011)
MP/PP	<i>Pimephales promelas</i>	Alterações no crescimento e reprodutivas	Dobbins et al. (2009)
PP	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Redução tamanho do corpo/ indução de estresse celular	García-Espineira et al. (2018)
MP / PP	<i>Danio rerio</i>	Mal formação / lipoperoxidação / feminização	Ates et al. (2017) Mikula et al. (2009)

A ocorrência de PCPs em efluentes de estações de tratamento de esgoto, bem como em matrizes ambientais (água e sedimento) tem sido demonstrada (MONTES-GRAJALES et al., 2017). No entanto, é necessário aprofundar o conhecimento sobre a ocorrência dessa classe de contaminantes, especialmente em zonas costeiras, estas muito menos investigadas que ambientes de água doce (UNESCO, 2017; Mezzelani et al., 2018).

De acordo com Lee et al. (2019) os estudos com parabeno e outros conservantes utilizados em cosméticos são limitados em zonas costeiras. Nesse mesmo estudo foi reportado pela primeira vez uma ampla ocorrência de MP em amostras de sedimento (100% de frequência de detecção) da costa da Coreia, com concentrações que variaram de 0,13 ng/g a 11,2 ng/g, enquanto o PP foi detectado na concentração máxima de 0,10 ng/g.

Em amostras de água superficial da costa da Antártica, Emnet et al. (2015) detectaram concentrações de MP e PP que variaram de 1,9 ng/L a 33,3 ng/L e 1,5 ng/L a 3,0 ng/L, respectivamente. Nesse mesmo estudo foi demonstrado a bioacumulação do MP na espécie de ouriço-do-mar *Sterichinus neumayeri* na concentração de 5,7 ng/g. Na região costeira de Portugal (Aveiro) MP e PP foram detectados em água marinha em um range de concentração que variou de 5,1 ng/L a 62 ng/L e 0,5 ng/L a 6,1 ng/L, respectivamente (JONKERS et al., 2010). Zhao et al. (2019), em um estudo conduzido em uma zona costeira do Sul da China, observaram em água superficial marinha, concentrações de MP e PP de 4,87 ng/L e 1,96 ng/L, respectivamente.

A ocorrência de parabenos e outros conservantes em águas e sedimentos de zonas costeiras, aponta para necessidade de se conhecer os efeitos biológicos adversos em organismos representantes desses ecossistemas. Porém, torna-se importante observar que as concentrações dessas substâncias detectadas até o momento, são ordens de grandeza menores que as concentrações de efeito agudo e crônico estimadas no presente estudo para ouriço-do-mar. Nesse sentido, é improvável que ocorram efeitos como inibição da taxa de fertilização e do desenvolvimento embrionário normal, no ambiente aquático.

Por outro lado, a estimativa de concentrações de efeitos biológico em organismos não alvo é fundamental para subsidiar avaliações de risco ambiental. Além disso, os dados de toxicidade obtidos podem ser interpretados usando a diretiva 93/67/CEE (QUINN et al., 2008), que classifica as substâncias de acordo com as concentrações de efeito estimadas (CEC, 1996). Considerando os dados obtidos com todas as substâncias analisadas, foi aplicado essa abordagem e, o MP, o PP e o BHT foram classificados como “Nocivos” quando contemplado os resultados dos ensaios de toxicidade aguda. A mesma tendência ocorreu quando considerado os resultados de toxicidade crônica, exceto para o BHT que foi classificado como “Tóxico”, conforme apresentado na Tabela 12.

Tabela 12. Resumo dos valores obtidos de Cl_{50} (para efeito agudo) e Cl_{50} (para efeito crônico) e a classificação em relação à diretiva 93/67/CEE da União Europeia (CEC, 1996).

	Não tóxico $Cl_{50} > 100$ mg/L	Nocivo Cl_{50} entre 10 e 100 mg/L	Tóxico Cl_{50} entre 1 e 10 mg/L	Muito tóxico Cl_{50} entre 0,1 e 1 mg/L	Extremamente tóxico $Cl_{50} < 0,1$ mg/L
MP					
PP					
BHT					

*a classificação é apresenta de acordo com o efeito agudo e efeito crônico, respectivamente.

Em geral, os resultados obtidos no presente estudo contribuem para um melhor entendimento do potencial tóxico das 3 substâncias estudadas sobre o sucesso reprodutivo (taxa de fertilização e desenvolvimento embrionário) de um invertebrado marinho. No entanto, novos estudos que visam à análise dos efeitos de

toxicidade são necessários para um melhor entendimento da dinâmica destas substâncias em ecossistemas aquáticos.

Conclusões

No presente estudo, os resultados dos ensaios de toxicidade aguda demonstraram que o BHT apresentou maior toxicidade no valor de CI_{50} (38,14 mg/L), enquanto MP e PP apresentaram valores de 74,47 e 73,20 mg/L, respectivamente, podendo ser as três substâncias classificadas como “nocivas” de acordo com a diretiva 93/67/CEE da União Européia (CEC, 1996).

Nos ensaios crônicos, o BHT novamente apresentou maior toxicidade no valor de CI_{50} (6,85 mg/L) sendo este classificado como “tóxico”, enquanto MP e PP apresentaram valores de 20,09 e 15,57 mg/L, respectivamente, sendo estes classificados como “nocivos”.

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciaram a necessidade do estabelecimento de concentrações seguras de PCPs em ambientes aquáticos para futura regulamentação na legislação ambiental brasileira, bem como a implementação de programas regulares que visem o monitoramento dos níveis de PCPs em Estações de Tratamento de Esgoto, buscando soluções que propiciem a redução/eliminação da carga de produtos de uso pessoal para o ambiente aquático.

Além disso, os dados podem subsidiar futuras avaliações de risco ambiental em relação aos conservantes de interesse em ambientes tropicais costeiros, bem como embasar o estabelecimento de limites de concentração para esse grupo de contaminantes na legislação pertinente.

TRABALHO SUBMETIDO OU ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

Química Nova - Manuscript ID QN-2019-0302

Admin QN <onbeta@of@manuscriptcentral.com>
para eu, conctzfs, fabiohp, lucianaferm

11:51 (há 3 horas) ☆ ↶ ⋮

inglês > português Traduzir mensagem Desativar para inglês ×

22-Jul-2019

Dear Sr. Cabral:

Your manuscript entitled "Avaliação ecotoxicológica de substâncias presentes em produtos de uso pessoal: Metiparabeno, Propilparabeno, Butilhidrotolueno," has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Química Nova.

Your manuscript ID is QN-2019-0302.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/qn-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/qn-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Química Nova.

Sincerely,
Química Nova Editorial Office

REFERÊNCIAS

ABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química. **A nova política de substâncias químicas da União Européia – REACH**. Disponível em: http://canais.abiquim.org.br/reach/inf_gerais.pdf. Acesso em: 09 mar. 2019.

ANSEL, H. C., POPOVIEH N. G., ALLEN JR, L. V. **Farmacotécnica Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos**, sexta edição, São Paulo, Br, Ed. Premier 2000.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. **Fármacos no meio ambiente**. Química Nova, v. 30 nº 3, 2007.

BJERREGAARD, P., HANSEN, P.R., LARSEN, K.J., ERRATICO, C., KORSGAARD, B., HOLBECH, H., 2008. **Vitellogenin as a biomarker for estrogenic effects in brown trout, *Salmo trutta*: laboratory and field investigations**. Environ. Toxicol. Chem. 27, 2387– 2396.

BLOPRESS, **Bula para o profissional da saúde**. 2013. Disponível em: https://www.abbottbrasil.com.br/abbott/upload/bulario/1372873458blopress_profissional_anvisa_jul.13.pdf. Acesso em: 17 fev. 2019.

BRASIL¹, ANVISA. **Biblioteca de Cosméticos**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/4967127/Biblioteca+dos+Temas+de+Cosméticos_Versão2018_Portal.pdf/75acd4c5-2926-4338-a692-8906cb76cd16. Acesso em: 18 jun. 2019.

BRASIL², ANVISA. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira**, 2ª edição Rev. 02 – 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/farmacopeia>. Acesso em: 18 jun. 2019.

BRASIL, **Constituição Federal**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/Constituicao.htm. Acesso em: 23 fev. 2019.

BRASIL, **Lei Federal 6938/91.** Disponível em:
http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/L6938.htm. Acesso em: 23 fev. 2019.

BRASIL, **Lei Federal 9433/97.** Disponível em:
http://www.planalto.gov.br/Ccivil_03/Leis/L9433.htm. Acesso em: 23 fev. 2019.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº 357/2005.** Disponível em:
<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>. Acesso em: 23 fev. 2019.

BRASIL, **Resolução CONAMA nº 430/2011.** Disponível em:
<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 23 fev. 2019.

BRAUSCH, J.M., RAND, G.M., 2011. **A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity.** *Chemosphere* 82, 1518–1532.

CAIRNS, J. JR., NIEDERLEHNER, B. R. **Ecological toxicity testing: scale, complexity and relevance.** Boca Raton, USA: Lewis Publisher, p. 228, 1995.

CEC (COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES). Technical guidance document in support of commission directive 93/67/ECC on risk assessment for new notified substances. Part. II, environmental risk assessment. **Luxembourg: Office for official publication of the European Communities, 1996.**

CERON, L. P. **Efluentes: Resolução CONAMA 430/2011, o que mudou?** Disponível em:
<http://www.revistatae.com.br/3704-noticias>. Acesso em: 09 mar. 2019.

COMECHE, A., VILLAMILB-M.M., PICÓC, Y., VARÓA, I., **Effect of methylparaben in Artemia franciscana Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C 199 (2017) 98-105. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.04.004>. Acesso em: 09 mar. 2019.

CORTEZ, F. S. **Avaliação ecotoxicológica do fármaco Triclosan para invertebrados marinhos.** São Paulo: IPEN, 2011, 60 p. Dissertação (Mestrado) – Programa apresentada no Instituto de Pesquisa Energética e Nucleares. Autarquia associada à Universidade de São Paulo.

CRANE, M. et al. **Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals.** Sci. Total Environ. 367, 2006.

DARBRE, P. D., CHARLES, A. K., 2010. **Environmental oestrogens and breast cancer: evidence for combined involvement of dietary, household and cosmetic xenoestrogens.** Anticancer Res. 30, 815–827.

DAUGHTON, C. G. Pharmaceuticals in the environment: sources and their management. In: BARCELO, D (editor). **Analyses, fate and removal of pharmaceuticals in the water cycle.** First edition. Elsevier, 2007.

DEPLEDGE, M., 2011. **Pharmaceuticals: reduce drug waste in the environment.** Nature 478, 7367.

EMNET, P., GAW, S., NORTH COTT, G., STOREY, B., GRAHAM, L., 2015. **Personal care products and steroid hormones in the Antarctic coastal environment associated with two Antarctic research stations, McMurdo Station and Scott Base.** Environ. Res. 136, 331–342.

FENG, J., ZHAOA, J., XIB, N., GUOC, W., SUNA, J. **Parabens and their metabolite in surface water and sediment from the Yellow River and the Huai River in Henan Province: Spatial distribution, seasonal variation and risk assessment.** Ecotoxicology and Environmental Safety. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.102>. Acesso em: 10 mar. 2019.

FENG, K., **UV filters in the aquatic environmental induce hormonal effects and affect fertility and reproduction in fish.** Chimia 62, 2018, 368-375.

FERNANDES, João Paulo dos Santos et al. **Estudo das relações entre estrutura e atividade de parabenos: uma aula prática.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000600026>. Acesso em: 09 mar. 2019.

GUO, Y., KANNAN, K., 2013. **A survey of phthalates and parabens in personal care products from the United States and its implications for human exposure.** Environ. Sci. Technol. 47, 14442–14449.

HALLING-SORENSEN et al.,. **Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review.** Chemosphere 36, 1998, 357 – 393.

HERNÁNDEZLEAL, L., VIENO, N., TEMMINK, H., ZEEMAN, G., BUISMAN, C. J., 2010. **Occurrence of xenobiotics in gray water and removal in three biological treatment systems.** Environ. Sci. Technol. 44, 6835–6842.

HSDB – **Hazardous Substances Data Bank. Toxnet.** Toxicology Data Network. 2019. Disponível em: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search>. Acesso em: 04 mar. 2019.

IBGE. **Cidades.** Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/30/30051>. Acesso em: 15 fev. 2019.

ISNARD, P.; LAMBERT, S. **Estimating bioconcentration factors from octanol-water partition-coefficient and aqueous solubility.** Chemosphere, v.17, p.21-34, 1988.

INUI, M., ADASHI, T., TAKENAKA, S., INUI, H., NAKAZAWA, M., UEDA, M., WATANABE, H., MORI, C., IGIISTUSHI, T., MIYATAKE, K., 2003. **Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Orizyas latipes*).** Toxicology 194, 43-50.

JOLLEY, D. F.; O'BRIEN, G.A. & MORRISON, R. J. **Evaluation of chemical contaminant and toxicology studies, part 1 – an overview.** South Pacific Journal of Natural Science, 21 p. 1-5, 2003.

JONKERS, N., SOUSA, A., GALANTE-OLIVEIRA, S., BARROSO, C.M., KOHLER, H.-P.E., GIGER, W., 2010a. **Occurrence and sources of selected phenolic endocrine disruptors in Ria de Aveiro, Portugal**. Environ. Sci. Pollut. Control Ser. 17, 834–843.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPÉIA. **Regulamento (CE) nº 1907, de 18 de Dezembro de 2006**. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:136:0003:0280:pt:PDF>. Acesso em: 23 fev.2019.

KANG, H. M., KIM M. S., HWANG, U. K., JEONG, C. B., LEE J. S. Effects of methylparaben, ethylparaben, and propylparaben on life parameters and sex ratio in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Chemosphere** (2019). Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.151>. Acesso em: 20 mar. 2019.

KUNG, T. A., LEE, S. H., Yang, T. C., WANG, W. H. **Survey of selected personal care products in surface water of coral reefs in Kenting National Park, Taiwan**. Sci. Total Environ. 635, 1302–1307.

LEE, J.-W., LEE, H.-K., MOON, H.-B. Contamination and spatial distribution of parabens, their metabolites and antimicrobials in sediment from Korean coastal waters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.012>. Acesso em: 20 mar. 2019.

LI, W., SHI, Y., GAO, L., LIU, J., CAI, Y., 2015. **Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant**. J. Hazard. Mater. 300, 29–38.

LIAO, C., CHEN, L., KANNAN, K., 2013. **Occurrence of parabens in foodstuffs from China and its implications for human dietary exposure**. Environ. Int. 57, 68–74.

MA, W.-L., ZHAO, X., ZHANG, Z.-F., Xu, T.-F., ZHU, F.-J., Li, Y.-F., 2018. **Concentrations and fate of parabens and their metabolites in two typical wastewater treatment plants in northeastern China.** *Sci. Total Environ.* 644, 754–761.

MADSEN, T., BOYD, H. B., NYLÉN, D., PEDERSEN, A. R., PETERSEN, G. I., SIMONSEN, F. **Environmental and health assessment of substances in household detergents and cosmetic detergent products.** *Environ. Proj.* 615, 221.

MEZZELANI, M., Gorbi, S., Regoli, F. 2018. Pharmaceuticals in the aquatic environments: Evidence of emerged threat and future challenges for marine organisms, **Marine Environmental Research**, doi: 10.1016/j.marenvres.2018.05.001.

MIGOTTO, A. E. **Cifonauta: banco de imagens de biologia marinha.** Disponível em: cifonauta.cebimar.usp.br/photo/699/. Acesso em: 13 fev. 2019.

MONTES-GRAJALES, D., AGUDELO M. F., CASTRO, W. M. **Occurrence of personal care products as emerging chemicals os concern in water resources: A review**, *Science of the total environment*, Elsevier, 2017, 601-614.

NARVAEZ, J. F. V. & JÍMENEZ, C. C. **Products in the environment Pharmaceutical: Sources, effects and risks.** *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmaceutica*, v. 19 nº 1, p. 93-108, 2012.

NCBI - National Center for Biotechnology Information. **Angiotensin-Converting Enzyme (Strongylocentrotus purpuratus).** Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/765056>. Acesso em: 17 fev. 2019.

OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development. **The application of biotechnology to industrial sustainability.** Paris OECD, 2001b.

OLIVEIRA, R; DOMINGUES, I; GRISOLIA, C. K; SOARES, A. M. V. M. **Effects of triclosan on zebrafish early-life stages and adults**. Environ. Sci. Pollut. Res. V16. p. 679-688, 2009.

ONU – Organização das Nações Unidas. **Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 2016**. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0024/002440/244041por.pdf>>. Acesso em 02 fev. 2019.

ONU BR – Nações Unidas no Brasil. **Conheça os novos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/conheca-os-novos-17-objetivos-de-desenvolvimento-sustentavel-da-onu/>. Acesso em: 15 fev. 2019.

ONU BR – Nações Unidas no Brasil. **Objetivo 6. Assegurar a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todas e todos**. <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods6/>. Acesso em: 15 fev. 2019.

ONU BR – Nações Unidas no Brasil. **Objetivo 14. Conservação e uso sustentável dos oceanos, dos mares e dos recursos marinhos para o desenvolvimento**. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/pos2015/ods14/>. Acesso em: 09 mar. 2019.

PECK, A. M. **Analytical methods for the determination of persistent ingredients of personal care products in environmental matrices**. Anal. Bioanal. Chem. 386, 2006, 907 – 939.

PEREIRA, C. D. S., MARANHO, L. A., CORTEZ, F. S., PUSCEDDU, F. H., SANTOS, A. R., RIBEIRO, D. A., CESAR, A., GUIMARÃES, L. L. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazil coastal zone. **Science of the Total Environment**, p. 148-154. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.106/j.scitotenv.2016.01.051>. Acesso em: 25 mar. 2019.

QUINN, B., GAGNÉ, F., BLAISE, C. An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in wastewater effluente

on the cnidarian, *Hydra attenuata*. **Science of the total environment**, p, 306-314. Acesso em: 12 mar 2019.

RAND, G. M., WELLS, P. G., McCARTY, L. S. Introduction to Aquatic Ecotoxicology. In: **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment**. Ecological Services Inc. North Palm Beach, Florida, 1995.

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; MCCARTY, L. S. Introduction to aquatic toxicology. In: RANDY, M.G. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. Florida: Taylor & Francis, 1995. p.3-67.

SANTOS, L. **Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceutical in the aquatic environment**. *Journal of Harzardous Materials*, 175, 2010, 45-95.

SANTOS, M. M., BREHM, F. A., FILLIPE, T. C., KNAPIK H. G., AZEVEDO, J. C. R. **Ocorrência e avaliação de risco de parabenos e triclosan em águas superficiais na região sul do Brasil: um problema de poluentes emergentes em um país emergente**. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/2318-0331.011616018>. Acesso em: 20 mar. 2019.

SASSEVILLE, D. **Hypersensitivity to preservatives**. *Dermatol Ther.* 2004;17(3):251-63.

U.S. EPA, 2014. **Integrated Risk Information System (IRIS). National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency**. Disponível em: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0356_summary.pdf#nameddest=rfc. Acesso em: 15 mar. 2019.

UNESCO - **The United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization**. 2017. *The United Nations World Water Development Report. World Water Assessment Programme - Wastewater - The Untapped Resource*. pp 12

TERNES, T. A. **Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers.** Water Research, v. 32 n^o 11 p. 3245-3260, 1998.

THE MERCK INDEX. **An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.** 13th. Edition. O'Neil, M.J. (ed.). Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., 2001.

TOXNET¹. **Estrutura química do metilparabeno.** Disponível em: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~AoJb5S:1>. Acesso em: 13 fev. 2019.

TOXNET². **Estrutura química do propilparabeno.** Disponível em: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~lzuvcF:3> Acesso em: 13 fev. 2019.

TOXNET³. **Estrutura química do BHT.** Disponível em: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13835296.html?rid=71489028-a67e-4f0a-9272-192c21163689> Acesso em: 13 fev.2019.

UNESCO. **Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos 2018.** Disponível em: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000261579_por. Acesso em: 09 mar. 2019.

USEPA. U.S. Environmental Protection Agency. **Sperm Cell Toxicity Tests Using the Sea Urchin (Arbacia punctulata) EPA 833-C-09-001.** <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/seaurchintesting.pdf> . Acesso em: 04 mar. 2019.

VENTURA, C. R. R., VERÍSSIMO, I., LIMA, R. N. P., BARCELLOS, C. F., OIGMAN-PSZCZOL, S. S. Echinodermata. In: **Biodiversidade marinha da Baía da Ilha Grande.** Org. Joel C. Creed; Débora O. Pires e Marcia A. de O. Figueiredo. Ministério do Meio Ambiente. Brasília, 416 p. 2007.

VETTORELLO, G., BRANDT, V., DALLAZEN, M. C., KUNH, D., ETGETON, H. P., SPELLMEYER, J. G., CARLESSO, W. M., HOEHNE, L. Micropoluentes em Água – O Novo Desafio Emergente. **Revista Caderno Pedagógico**, Lajeado, v. 14, n. 1, 2017. Disponível em: <http://univates.br/revistas/index.php/cadped/article/view/1410/1166>. Acesso em: 17 fev. 2019.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Editora UFMG, 1996.

WU, Y.; SUN, Q.; WANG, Y.W.; DENG, C.X, CHANG-PING YU, C.P. Comparative studies of aerobic and anaerobic biodegradation of methylparaben and propylparaben in activated sludge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 138 (2017) 25-31. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.106/j.ecoenv.2016.12.017>. Acesso em: 23 mar. 2019.

WU, Y., YU, C.P., YUE, M., LIU, S.P., YANG, X.Y. Occurrence of selected PPCPs and sulfonamide resistance genes associated with heavy metals pollution in surface sediments from Chao Lake, China. **Environ. Earth Sci.** 75, 1–8.

XUE, X., XUE, J., LIU, W., ADAMS, D.H., KANNAN, K. Trophic magnification of parabens and their metabolites in a Subtropical marine food web. **Environ. sci. technol.** 51, 780.

YANG, X., SUN, Z., WANG, W., ZHOU, Q., SHIC, G., WEI, F., JIANG, G., 2018. Developmental toxicity of synthetic phenolic antioxidant stothe early life stage of zebrafish. **Science of the Total Environment**. P. 559-568. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.213>. Acesso em: 18 mar. 2019.

YU, Y., HUANG, Q., WANG, Z., ZHANG, K., TANG, C., CUI, J., PENG, X., 2011. Occurrence and behavior of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in wastewater and the recipient river water of the Pearl River Delta, South China. **J. Environ. Monit.** 13, 871–878.

ZAGATTO, PEDRO A; BERTOLETTI, EDUARDO. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**, segunda edição, São Carlos, SP, Ed. Rima, 2014.

ZHAOA, X., QIUB, W, Zheng,Y, XIONG,J., GAO, C, HUB, S. Occurrence, distribution, bioaccumulation, and ecological risk of bisphenol analogues, parabens and their metabolites in the Pearl River Estuary, South China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Volume 180, 30 September 2019, Pages 43-52. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651319305226?via%3Dihub>.

Acesso em: 17 jun. 2019.

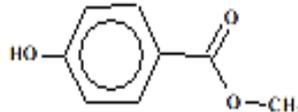
Apêndice

Ensaio ouriço-do-mar 12/12/2018			pH		OD		Salinidade	
			inicial	final	inicial	final	Inicial	Final
Metilparabeno - F/Q								
		Controle	8,31	7,8	7,5	6,1	37	39
início	12/12/18 às 17h15min	0,78	8,21	7,86	7,4	6,1	37	39
término	14/12/18 às 11h15min	1,56	8,38	7,75	7,2	6,2	36	39
		3,12	8,36	7,84	8,1	6	36	38
		6,25	8,33	7,92	8,3	5,9	35	38
		12,5	8,29	7,8	8,8	5,9	35	39
		25	8,27	7,77	9,1	6	35	39
		50	8,24	7,76	8,1	5,6	34	37
		100	8,14	7,8	9,3	5,9	33	36
Propilparabeno F/Q								
		Controle	8,3	7,85	8,7	6,1	36	38
		0,78	8,29	7,94	8,4	6,1	36	37
início	12/12/18 às 17h15min	1,56	8,32	7,91	8,5	6,2	35	39
término	14/12/18 às 11h15min	3,12	8,44	7,91	8,6	6	35	38
		6,25	8,41	7,82	8,6	5,9	35	38
		12,5	8,35	7,75	8,4	5,9	35	37
		25	8,32	7,86	8,3	6	36	38
		50	8,3	7,87	8,1	5,6	35	38
		100	8,18	7,89	8,4	5,9	35	36
BHT Butilhidroxitolueno								
		Controle	8,25	8,32	9,1	9,8	34	35
		0,78	8,23	8,12	8,8	9,4	34	35
início	23/01/18 às 17h45min	1,56	8,24	8	8,7	9,7	34	35
término	25/01/18 às 11h45min	3,12	8,23	8,23	8,9	9,5	35	35
		6,25	8,25	8,24	9,1	8,9	35	35
		12,5	8,25	8,24	9,2	8,8	35	35
		25	8,24	8,34	9,1	8,7	34	36
		50	8,3	8,34	9,6	8,7	37	36
		100	8,4	8,37	9,4	8,7	37	35

ANEXOS

ANEXO A - Relatório gerado pela Interface EPI SUITE para o metilparabeno

EPI Suite Results For CAS 99-76-3



SMILES : COC(=O)c1ccc(O)cc1
 CHEM :
 MOL FOR: C8 H8 O3
 MOL WT : 152.15

----- EPI SUMMARY (v4.11) -----

Physical Property Inputs:

Log Kow (octanol-water): -----
 Boiling Point (deg C) : -----
 Melting Point (deg C) : -----
 Vapor Pressure (mm Hg) : -----
 Water Solubility (mg/L): -----
 Henry LC (atm-m3/mole) : -----

Log Octanol-Water Partition Coef (SRC):

Log Kow (KOWWIN v1.69 estimate) = 2.00
 Log Kow (Exper. database match) = 1.96
 Exper. Ref: HANSCH,C ET AL. (1995)

Boiling Pt, Melting Pt, Vapor Pressure Estimations (MPBPVP v1.43):

Boiling Pt (deg C): 252.18 (Adapted Stein & Brown method)
 Melting Pt (deg C): 51.47 (Mean or Weighted MP)
 VP (mm Hg, 25 deg C): 0.000855 (Modified Grain method)
 VP (Pa, 25 deg C) : 0.114 (Modified Grain method)
 MP (exp database): 131 deg C
 BP (exp database): 275 dec deg C
 Subcooled liquid VP: 0.00986 mm Hg (25 deg C, Mod-Grain method)
 : 1.31 Pa (25 deg C, Mod-Grain method)

Water Solubility Estimate from Log Kow (WSKOW v1.42):

Water Solubility at 25 deg C (mg/L): 5981
 log Kow used: 1.96 (expkow database)
 no-melting pt equation used
 Water Sol (Exper. database match) = 2500 mg/L (25 deg C)
 Exper. Ref: YALKOWSKY,SH & HE,Y (2003)

Water Sol Estimate from Fragments:

Wat Sol (v1.01 est) = 4250.6 mg/L

ECOSAR Class Program (ECOSAR v1.11):

Class(es) found:

Esters
Phenols

Henry's Law Constant (25 deg C) [HENRYWIN v3.20]:

Bond Method : 3.61E-009 atm-m3/mole (3.66E-004 Pa-m3/mole)

Group Method: 2.23E-009 atm-m3/mole (2.26E-004 Pa-m3/mole)

For Henry LC Comparison Purposes:

User-Entered Henry LC: not entered

Henry's LC [via VP/WSol estimate using User-Entered or Estimated values]:

HLC: 2.862E-008 atm-m3/mole (2.900E-003 Pa-m3/mole)

VP: 0.000855 mm Hg (source: MFBFVP)

WS: 5.98E+003 mg/L (source: WSKCWIN)

Log Octanol-Air Partition Coefficient (25 deg C) [KOWWIN v1.10]:

Log Kow used: 1.96 (exp database)

Log Kaw used: -6.831 (HenryWin est)

Log Koa (KOWWIN v1.10 estimate): 8.791

Log Koa (experimental database): 8.570

Probability of Rapid Biodegradation (BIOWIN v4.10):

Biowin1 (Linear Model) : 0.9651

Biowin2 (Non-Linear Model) : 0.9971

Expert Survey Biodegradation Results:

Biowin3 (Ultimate Survey Model): 3.0595 (weeks)

Biowin4 (Primary Survey Model) : 3.8969 (days)

MITI Biodegradation Probability:

Biowin5 (MITI Linear Model) : 0.6261

Biowin6 (MITI Non-Linear Model): 0.7786

Anaerobic Biodegradation Probability:

Biowin7 (Anaerobic Linear Model): 0.6274

Ready Biodegradability Prediction: YES

Hydrocarbon Biodegradation (BioHCwin v1.01):

Structure incompatible with current estimation method!

Sorption to aerosols (25 Deg C) [AEROWIN v1.00]:

Vapor pressure (liquid/subcooled): 1.21 Pa (0.00986 mm Hg)

Log Koa (Exp database): 8.570

Kp (particle/gas partition coef. (m3/ug)):

Mackay model : 2.28E-006

Octanol/air (Koa) model: 9.12E-005

Fraction sorbed to airborne particulates (phi):

Junge-Pankow model : 8.24E-005

Mackay model : 0.000183

Octanol/air (Koa) model: 0.00724

Atmospheric Oxidation (25 deg C) [AopWin v1.92]:

Hydroxyl Radicals Reaction:

OVERALL OH Rate Constant = 11.0649 E-12 cm3/molecule-sec

Half-Life = 0.967 Days (12-hr day: 1.5E6 OH/cm3)

Half-Life = 11.600 Hrs

Ozone Reaction:

No Ozone Reaction Estimation

Reaction With Nitrate Radicals May Be Important!

Fraction sorbed to airborne particulates (phi):

0.000132 (Junge-Pankow, Mackay avg)

0.00724 (Koa method)

Note: the sorbed fraction may be resistant to atmospheric oxidation

Soil Adsorption Coefficient (KOCWIN v2.00):

Koc : 86.29 L/kg (MCI method)
 Log Koc: 1.936 (MCI method)
 Koc : 129 L/kg (Kow method)
 Log Koc: 2.110 (Kow method)

Aqueous Base/Acid-Catalyzed Hydrolysis (25 deg C) [HYDROWIN v2.00]:

Total Kb for pH > 8 at 25 deg C : 6.365E-003 L/mol-sec
 Kb Half-Life at pH 8: 3.451 years
 Kb Half-Life at pH 7: 34.506 years
 (Total Kb applies only to esters, carbamates, alkyl halides)

Bioaccumulation Estimates (BCFBAP v3.01):

Log BCF from regression-based method = 0.960 (BCF = 9.124 L/kg wet-wt)
 Log Biotransformation Half-life (HL) = -1.6752 days (HL = 0.02112 days)
 Log BCF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 0.589 (BCF = 3.883)
 Log BAF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 0.589 (BAF = 3.883)
 log Kow used: 1.96 (expkow database)

Volatilization from Water:

Henry LC: 2.22E-009 atm-m³/mole (estimated by Group SAR Method)
 Half-Life from Model River: 3.229E+005 hours (1.349E+004 days)
 Half-Life from Model Lake : 3.523E+006 hours (1.472E+005 days)

Removal In Wastewater Treatment:

Total removal: 2.21 percent
 Total biodegradation: 0.10 percent
 Total sludge adsorption: 2.12 percent
 Total to Air: 0.00 percent
 (using 10000 hr Bio P,A,S)

Level III Fugacity Model: (MCI Method)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.0401	23.2	1000
Water	20	360	1000
Soil	79.9	720	1000
Sediment	0.106	3.24e+003	0

Persistence Time: 720 hr

Level III Fugacity Model: (MCI Method with Water percents)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.0401	23.2	1000
Water	20	360	1000
water	(20)		
biota	(9.11e-005)		
suspended sediment	(0.00259)		
Soil	79.9	720	1000
Sediment	0.106	3.24e+003	0

Persistence Time: 720 hr

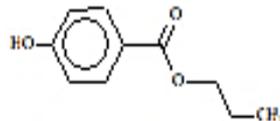
Level III Fugacity Model: (EQC Default)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
--------------------------	-------------------	----------------------	--

Air	0.0422	23.2	1000
Water	23.4	260	1000
water	(23.4)		
biota	(0.000107)		
suspended sediment	(0.00131)		
Soil	76.5	720	1000
Sediment	0.0792	2.24e+003	0
Persistence Time: 695 hr			

ANEXO B - Relatório gerado pela interface EPI SUITE para o propilparabeno

EPI Suite Results For CAS 94-13-3



SMILES : CCCOC(=O)c1ccc(O)cc1

CHEM :

MOL FOR: C10 H12 O3

MOL WT : 180.21

----- EPI SUMMARY (v4.11) -----

Physical Property Inputs:

Log Kow (octanol-water): -----
 Boiling Point (deg C) : -----
 Melting Point (deg C) : -----
 Vapor Pressure (mm Hg) : -----
 Water Solubility (mg/L): -----
 Henry LC (atm-m3/mole) : -----

Log Octanol-Water Partition Coef (SRC):

Log Kow (KOWWIN v1.69 estimate) = 2.98
 Log Kow (Exper. database match) = 3.04
 Exper. Ref: HANSCH,C ET AL. (1995)

Boiling Pt, Melting Pt, Vapor Pressure Estimations (MPBPVP v1.43):

Boiling Pt (deg C): 285.14 (Adapted Stein & Brown method)
 Melting Pt (deg C): 71.81 (Mean or Weighted MP)
 VP(mm Hg, 25 deg C): 0.000207 (Modified Grain method)
 VP (Pa, 25 deg C) : 0.0409 (Modified Grain method)
 MP (exp database): 97 deg C
 Subcooled liquid VP: 0.00153 mm Hg (25 deg C, Mod-Grain method)
 : 0.205 Pa (25 deg C, Mod-Grain method)

Water Solubility Estimate from Log Kow (WSKOW v1.42):

Water Solubility at 25 deg C (mg/L): 529.3
 log Kow used: 3.04 (expkow database)
 no-melting pt equation used
 Water Sol (Exper. database match) = 500 mg/L (25 deg C)
 Exper. Ref: YALKOWSKY,SH & HE,Y (2003)

Water Sol Estimate from Fragments:

Wat Sol (v1.01 est) = 424.53 mg/L

ECOSAR Class Program (ECOSAR v1.11):

Class(es) found:
 Esters
 Phenols

Henry's Law Constant (25 deg C) [HENRYWIN v3.20]:
 Bond Method : 6.37E-009 atm-m³/mole (6.45E-004 Pa-m³/mole)
 Group Method: 4.25E-009 atm-m³/mole (4.31E-004 Pa-m³/mole)
 For Henry LC Comparison Purposes:
 User-Entered Henry LC: not entered
 Henry's LC [via VP/WSol estimate using User-Entered or Estimated values]:
 HLC: 1.375E-007 atm-m³/mole (1.394E-002 Pa-m³/mole)
 VP: 0.000307 mm Hg (source: MPBPVP)
 WS: 529 mg/L (source: WSKOWWIN)

Log Octanol-Air Partition Coefficient (25 deg C) [KOWWIN v1.10]:
 Log Kow used: 3.04 (exp database)
 Log Kaw used: -6.584 (HenryWin est)
 Log Koa (KOWWIN v1.10 estimate): 9.624
 Log Koa (experimental database): None

Probability of Rapid Biodegradation (BIOWIN v4.10):
 Biowin1 (Linear Model) : 0.9517
 Biowin2 (Non-Linear Model) : 0.9957
 Expert Survey Biodegradation Results:
 Biowin3 (Ultimate Survey Model): 2.9975 (weeks)
 Biowin4 (Primary Survey Model) : 3.8564 (days)
 MITI Biodegradation Probability:
 Biowin5 (MITI Linear Model) : 0.6329
 Biowin6 (MITI Non-Linear Model): 0.7758
 Anaerobic Biodegradation Probability:
 Biowin7 (Anaerobic Linear Model): 0.6793
 Ready Biodegradability Prediction: YES

Hydrocarbon Biodegradation (BioHCwin v1.01):
 Structure incompatible with current estimation method!

Sorption to aerosols (25 Deg C) [AEROWIN v1.00]:
 Vapor pressure (liquid/subcooled): 0.204 Pa (0.00153 mm Hg)
 Log Koa (Kowin est): 9.624
 Kp (particle/gas partition coef. (m³/ug)):
 Mackay model : 1.47E-005
 Octanol/air (Koa) model: 0.00103
 Fraction sorbed to airborne particulates (phi):
 Junge-Pankow model : 0.000531
 Mackay model : 0.00118
 Octanol/air (Koa) model: 0.0762

Atmospheric Oxidation (25 deg C) [AopWin v1.92]:
 Hydroxyl Radicals Reaction:
 OVERALL OH Rate Constant = 14.0678 E-12 cm³/molecule-sec
 Half-Life = 0.760 Days (12-hr day: 1.5E6 OH/cm³)
 Half-Life = 9.124 Hrs
 Ozone Reaction:
 No Ozone Reaction Estimation
 Reaction With Nitrate Radicals May Be Important!
 Fraction sorbed to airborne particulates (phi):
 0.000852 (Junge-Pankow, Mackay avg)

0.0763 (Koa method)

Note: the sorbed fraction may be resistant to atmospheric oxidation

Soil Adsorption Coefficient (KOCWIN v2.00):

Koc : 286.6 L/kg (MCI method)
 Log Koc: 2.457 (MCI method)
 Koc : 510.2 L/kg (Kow method)
 Log Koc: 2.708 (Kow method)

Aqueous Base/Acid-Catalysed Hydrolysis (25 deg C) [HYDROWIN v2.00]:

Total Kb for pH > 8 at 25 deg C : 5.102E-003 L/mol-sec
 Kb Half-Life at pH 8: 4.305 years
 Kb Half-Life at pH 7: 43.052 years

(Total Kb applies only to esters, carbamates, alkyl halides)

Bioaccumulation Estimates (BCFBAF v3.01):

Log BCF from regression-based method = 1.673 (BCF = 47.08 L/kg wet-wt)
 Log Biotransformation Half-life (HL) = -1.3669 days (HL = 0.04297 days)
 Log BCF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 1.194 (BCF = 15.62)
 Log BAF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 1.194 (BAF = 15.62)
 log Kow used: 2.04 (expkow database)

Volatilisation from Water:

Henry LC: 4.25E-009 atm-m3/mole (estimated by Group SAR Method)
 Half-Life from Model River: 1.849E+005 hours (7706 days)
 Half-Life from Model Lake : 2.018E+006 hours (8.407E+004 days)

Removal In Wastewater Treatment:

Total removal: 6.04 percent
 Total biodegradation: 0.13 percent
 Total sludge adsorption: 5.92 percent
 Total to Air: 0.00 percent

(using 10000 hr Bio P,A,S)

Level III Fugacity Model: (MCI Method)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.0714	18.2	1000
Water	17.7	360	1000
Soil	82.1	720	1000
Sediment	0.222	2.24e+003	0

Persistence Time: 746 hr

Level III Fugacity Model: (MCI Method with Water percents)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.0714	18.2	1000
Water	17.7	360	1000
water (17.6)			
biota (0.000968)			
suspended sediment (0.00759)			
Soil	82.1	720	1000
Sediment	0.222	2.24e+003	0

Persistence Time: 746 hr

Level III Fugacity Model: (EQC Default)

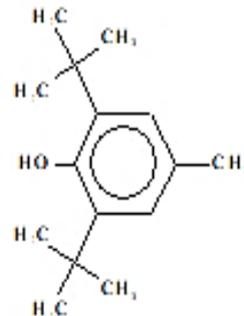
Mass Amount	Half-Life	Emissions
-------------	-----------	-----------

(percent)	(hr)	(kg/hr)	
Air	0.0708	18.2	1000
Water	17.2	360	1000
water	(17.2)		
biota	(0.000941)		
suspended sediment	(0.0116)		
Soil	82.4	720	1000
Sediment	0.31	3.24e+003	0

Persistence Time: 751 hr

ANEXO C - Relatório gerado pela interface EPI SUITE para o BHT

EPI Suite Results For CAS 128-37-0



SMILES : Cc1cc(c(c(c1)C(C)(C)O)C(C)(C)C
 CHEM :
 MOL FOR: C15 H24 O1
 MOL WT : 220.36

----- EPI SUMMARY (v4.11) -----

Physical Property Inputs:

Log Kow (octanol-water): -----
 Boiling Point (deg C) : -----
 Melting Point (deg C) : -----
 Vapor Pressure (mm Hg) : -----
 Water Solubility (mg/L): -----
 Henry LC (atm-m³/mole) : -----

Log Octanol-Water Partition Coef (SRC):

Log Kow (KOWWIN v1.69 estimate) = 5.02
 Log Kow (Exper. database match) = 5.10
 Exper. Ref: TSCATS

Boiling Pt, Melting Pt, Vapor Pressure Estimations (MPBPVP v1.43):

Boiling Pt (deg C): 296.49 (Adapted Stein & Brown method)
 Melting Pt (deg C): 83.01 (Mean or Weighted MP)
 VP (mm Hg, 25 deg C): 0.00177 (Modified Grain method)
 VP (Pa, 25 deg C): 0.236 (Modified Grain method)
 MP (exp database): 71 deg C
 BP (exp database): 265 deg C
 VP (exp database): 5.16E-03 mm Hg (6.88E-001 Pa) at 25 deg C
 Subcooled liquid VP: 0.0147 mm Hg (25 deg C, exp database VP)
 : 1.96 Pa (25 deg C, exp database VP)

Water Solubility Estimate from Log Kow (WSKOW v1.42):

Water Solubility at 25 deg C (mg/L): 5.748
 log Kow used: 5.10 (expkow database)
 no-melting pt equation used
 Water Sol (Exper. database match) = 0.6 mg/L (25 deg C)
 Exper. Ref: INUI,H ET AL. (1979A)

Water Sol Estimate from Fragments:

Wat Sol (v1.01 est) = 10.351 mg/L

ECOSAR Class Program (ECOSAR v1.11):

Class(es) found:
Phenols

Henry's Law Constant (25 deg C) [HENRYWIN v3.20]:

Bond Method : 4.12E-006 atm-m³/mole (4.18E-001 Pa-m³/mole)

Group Method: 3.38E-006 atm-m³/mole (3.42E-001 Pa-m³/mole)

For Henry LC Comparison Purposes:

User-Entered Henry LC: not entered

Henry's LC [via VP/WSol estimate using User-Entered or Estimated values]:

HLC: 8.928E-005 atm-m³/mole (9.047E+000 Pa-m³/mole)

VP: 0.00177 mm Hg (source: MPEPVP)

WS: 5.75 mg/L (source: WSKOWWIN)

Log Octanol-Air Partition Coefficient (25 deg C) [KOAWIN v1.10]:

Log Kow used: 5.10 (exp database)

Log Kaw used: -3.774 (HenryWin est)

Log Koa (KOAWIN v1.10 estimate): 8.874

Log Koa (experimental database): None

Probability of Rapid Biodegradation (BIOWIN v4.10):

Biowin1 (Linear Model) : 0.4453

Biowin2 (Non-Linear Model) : 0.1109

Expert Survey Biodegradation Results:

Biowin3 (Ultimate Survey Model): 2.2695 (weeks-months)

Biowin4 (Primary Survey Model) : 3.1941 (weeks)

MITI Biodegradation Probability:

Biowin5 (MITI Linear Model) : 0.2532

Biowin6 (MITI Non-Linear Model): 0.0419

Anaerobic Biodegradation Probability:

Biowin7 (Anaerobic Linear Model): -0.7917

Ready Biodegradability Prediction: NO

Hydrocarbon Biodegradation (BioHCwin v1.01):

Structure incompatible with current estimation method!

Sorption to aerosols (25 Deg C) [AEROWIN v1.00]:

Vapor pressure (liquid/subcooled): 1.96 Pa (0.0147 mm Hg)

Log Koa (Kowwin est): 8.874

Kp (particle/gas partition coef. (m³/ug)):

Mackay model : 1.52E-004

Octanol/air (Koa) model: 0.000184

Fraction sorbed to airborne particulates (phi):

Junge-Pankow model : 5.52E-005

Mackay model : 0.000122

Octanol/air (Koa) model: 0.0145

Atmospheric Oxidation (25 deg C) [AopWin v1.92]:

Hydroxyl Radicals Reaction:

OVERALL OH Rate Constant = 18.2887 E-12 cm³/molecule-sec

Half-Life = 0.585 Days (12-hr day; 1.5E6 OH/cm³)

Half-Life = 7.018 Hrs

Ozone Reaction:

No Ozone Reaction Estimation

Reaction With Nitrate Radicals May Be Important!

Fraction sorbed to airborne particulates (phi):

8.89E-005 (Junge-Pankow, Mackay avg)

0.0145 (Koa method)

Note: the sorbed fraction may be resistant to atmospheric oxidation

Soil Adsorption Coefficient (KOCWIN v2.00):

Koc : 1.475E+004 L/kg (MCI method)
 Log Koc: 4.169 (MCI method)
 Koc : 8183 L/kg (Kow method)
 Log Koc: 3.913 (Kow method)

Aqueous Base/Acid-Catalyzed Hydrolysis (25 deg C) [HYDROWIN v2.00]:
 Rate constants can NOT be estimated for this structure!

Bioaccumulation Estimates (BCFBAP v3.01):

Log BCF from regression-based method = 2.810 (BCF = 645.6 L/kg wet-wt)
 Log Biotransformation Half-life (HL) = 0.0623 days (HL = 1.154 days)
 Log BCF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 2.902 (BCF = 798)
 Log BAF Arnot-Gobas method (upper trophic) = 2.914 (BAF = 820.5)
 log Kow used: 5.10 (expkow database)

Volatilization from Water:

Henry LC: 3.38E-006 atm-m³/mole (estimated by Group SAR Method)
 Half-Life from Model River: 258.7 hours (10.78 days)
 Half-Life from Model Lake : 2946 hours (122.8 days)

Removal In Wastewater Treatment:

Total removal: 80.64 percent
 Total biodegradation: 0.70 percent
 Total sludge adsorption: 79.92 percent
 Total to Air: 0.03 percent
 (using 10000 hr Bio P,A,S)

Level III Fugacity Model: (MCI Method)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.462	14	1000
Water	14.7	900	1000
Soil	72.3	1.8e+003	1000
Sediment	12.5	8.1e+003	0

Persistence Time: 1.21e+003 hr

Level III Fugacity Model: (MCI Method with Water percents)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.462	14	1000
Water	14.7	900	1000
water	(14.2)		
biota	(0.0902)		
suspended sediment	(0.317)		
Soil	72.3	1.8e+003	1000
Sediment	12.5	8.1e+003	0

Persistence Time: 1.21e+003 hr

Level III Fugacity Model: (EQC Default)

Mass Amount (percent)	Half-Life (hr)	Emissions (kg/hr)	
Air	0.273	14	1000
Water	10.7	900	1000
water	(9.89)		

```
biota      (0.0622)
suspended sediment (0.765)
Soil       58.5          1.8e+003    1000
Sediment   30.4          8.1e+003     0
Persistence Time: 1.5e+003 hr
```

....

ANEXO D - Carta controle de sensibilidade de organismos

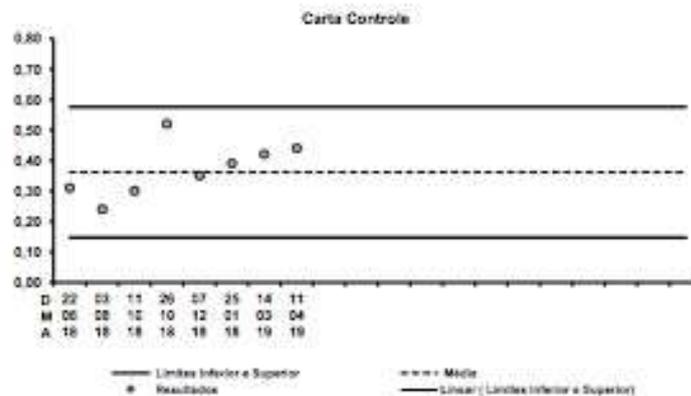
	UNIVERSIDADE SANTA CECÍLIA - UNISANTA INSTITUTO SUPERIOR DE EDUCAÇÃO SANTA CECÍLIA - ISESC Departamento de Ecotoxicologia
CARTA CONTROLE DE SENSIBILIDADE DE ORGANISMOS - TESTE	

Organismo - teste: *Echinoreta caudata*
 Método empregado: AGNT NBR 15350
 Substância de referência: Sulfato de Zinco

Data de atualização: 11/04/2019

Dados dos testes de sensibilidade utilizados no cálculo da carta controle										
DATA	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4	Teste 5	Teste 6	Teste 7	Teste 8	Teste 9	Teste 10
Resultados	0,58	0,29	0,59	0,36	0,36	0,27	0,52	0,26	0,28	0,33
DATA	Teste 11	Teste 12	Teste 13	Teste 14	Teste 15	Teste 16	Teste 17	Teste 18	Teste 19	Teste 20
Resultados	0,31	0,26	0,38	0,51	0,27	0,55	0,32	0,28	0,58	0,43

Dados estatísticos obtidos na carta controle				
MÉDIA mg/L	DESVIO PADRÃO	LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO (%)
0,36	0,11	0,15	0,58	30



ANÁLISE CRÍTICA:


 Eng. Aldo Ramos Santos
 Coordenador do DET / ISESC


 Fernando Santos Cortez
 Biólogo Responsável

LET PLQ2-REV00-02/11