

Diana Maria Antunes Crista

Degradação dos filtros UV 4-*terc*-butil-4'-
metoxidibenzoilmetano e 2-etilhexil-4-
metoxicinamato em águas cloradas



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO
SETEMBRO/2012

Diana Maria Antunes Crista

Degradação dos filtros UV 4-*terc*-butil-4'-metoxidibenzoilmetano e 2-etilhexil-4-metoxicinamato em águas cloradas



Composição do Júri:

Maria Clara Ramalho Monteiro Pires Basto, Professora Auxiliar do Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (Representante da Comissão do 2º Ciclo de Estudos em Química) – Presidente

João Leitão, Professor Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Baltazar Manuel Romão de Castro, Professor Catedrático do Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Joaquim Esteves da Silva, Professor Associado do Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (orientador)

Tese submetida à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre em Química

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DO PORTO
SETEMBRO/2012

“Life without science is a form of death”
Sócrates

Aos meus pais

Agradecimentos

A realização deste trabalho, só foi possível, em grande parte, graças ao apoio e colaboração de algumas pessoas às quais quero mostrar todo o meu apreço.

Aos meus pais por me terem proporcionado esta oportunidade, sendo assim possível a realização de um dos meus sonhos.

Ao meu orientador, Prof Doutor Joaquim Esteves da Silva agradeço a oportunidade que me concedeu para efetuar este trabalho. Um muito obrigado pelos ensinamentos transmitidos, pela sua disponibilidade, apoio e incentivo dado ao longo deste ano de trabalho.

À minha co-orientadora Dra Margarida Miranda, um muito obrigado, por toda a ajuda, apoio e paciência essenciais na realização deste trabalho.

À Helena, obrigado por toda a tua boa disposição e amizade. Contigo aprendi a ver sempre o lado bom das coisas. Obrigada por toda a ajuda que me deste. Sem ti não teria sido igual.

À Simone por toda a sua disponibilidade e ajuda. Uma verdadeira amiga e conselheira.

Ao Abel por todos os seus ensinamentos e conversas enriquecedoras. Há sempre uma explicação para tudo. És um verdadeiro génio.

Ao Emanuel pela sua energia e boa disposição contagiante. Obrigado por todas as tuas ajudas fundamentais e por todos os momentos bem passados.

Ao Joel por todo o apoio, incentivo incondicionais. A tua ajuda foi fundamental.

Ao Luís por toda a calma e encorajamento transmitidos.

Ao Filipe que mostrou ser um verdadeiro amigo, surpreendendo sempre pela positiva. Um muito obrigado por toda a tua ajuda e amizade.

Ao Paulo, por todo o seu apoio, amor e paciência. Obrigado por toda a tua compreensão, e por naqueles momentos menos bons me fazeres sempre levantar a cabeça e seguir em frente. És um verdadeiro companheiro.

Agradeço ainda a todos aqueles amigos e familiares que com a sua ajuda contribuíram para que tudo isto fosse possível e que não são aqui explicitamente mencionados.

Resumo

Os filtros ultravioleta (UV) constituem a base da indústria de cosmética de proteção solar. Estes compostos têm a capacidade de absorver e/ou refletir a radiação UV, protegendo-nos assim dos seus efeitos nocivos. No entanto, sabe-se que estes compostos sofrem degradação na presença de luz (foto-degradação) e por reação com produtos desinfetantes como é o caso do cloro. A partir destes processos de degradação são produzidos outros compostos que exibem diferentes propriedades dos compostos parentais e que poderão ser mais tóxicos constituindo um fator de risco para a saúde humana. Assim, tem sido crescente a realização de investigação com o intuito de identificar e quantificar a presença de filtros UV e dos seus produtos de degradação no ambiente, assim como perceber quais os fatores que poderão influenciar essa mesma degradação.

O presente trabalho está focado no estudo da foto-degradação e reação com cloro livre de dois filtros UV: o 4-*terc*-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano (BMDM) e o 2-Etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC). Numa primeira etapa do trabalho foi estudado o efeito de quatro fatores na degradação dos dois filtros UV: o pH, a temperatura, a concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida (MOD) e numa segunda etapa foi acrescentado aos fatores anteriores o tempo de exposição à radiação solar artificial mantendo constante a temperatura. Numa terceira etapa foi também estudado o efeito da concentração de cloro e de MOD na degradação do BMDM em dois protetores solares comerciais de diferentes marcas. A análise quantitativa foi feita através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detetor ultravioleta.

Dos quatro fatores estudados na primeira etapa os que mostraram ter um efeito mais significativo na degradação do BMDM foram a concentração de cloro e de MOD, e no caso do EHMC foi a temperatura. Na segunda etapa, dos quatro fatores estudados, os que mostraram ter um efeito mais significativo na degradação do BMDM foram a concentração de cloro e o pH, e no caso do EHMC foi o tempo de exposição à radiação solar artificial. Na terceira etapa verificou-se que os dois fatores estudados mostraram um efeito significativo na degradação do filtro UV inserido nas duas formulações cosméticas estudadas.

Abstract

The ultraviolet filters (UV) form the basis of the cosmetics industry for sun protection. These compounds have the ability to absorb and/or reflect UV radiation, thus protecting us from its harmful effects. However, it is known that these compounds undergo degradation under light (photo-degradation) and reaction with disinfectants such as chlorine. From these degradation processes other compounds are formed which exhibit different properties of the parent compounds and which may be more toxic, constituting a risk factor for human health. Thus, there has been growing realization of research in order to identify and quantify the presence of UV filters and their degradation products in the environment, as well as understand what factors may influence this same degradation.

This work is focused on the study of photo-degradation and reaction with free chlorine of two UV filters: 4-tert-Butyl-4'-methoxydibenzoylmethane (BDM) and 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate (EHMC). In a first step of the work we have studied the effect of four factors in the degradation of two UV filters: pH, temperature, concentration of chlorine and dissolved organic matter (DOM) and in the second stage we have added to the above factors the time of exposure to artificial solar radiation maintaining constant temperature. Lastly was also studied the effect of chlorine concentration and DOM concentration on degradation of the BDM two sunscreens commercial brands. Quantitative analysis was performed by high performance liquid chromatography coupled to a UV detector.

Of the four factors tested in the first stage of this work the ones that have shown a more significant effect in the BMDM degradation were the chlorine concentration and DOM, and in the case of EHMC was the temperature. In the second step, the four factors tested, those which showed to have a more significant effect in BMDM degradation were the chlorine concentration and pH, and in the case of EHMC was the time of exposure to artificial sunlight. In the third step it was found that the two factors tested showed a significant effect on the degradation of the UV filter inserted in the two cosmetic formulations studied.

Résumé

Les filtres ultraviolets (UV) constituent la base de l'industrie des produits cosmétiques de protection solaire. Ces composés ont la capacité d'absorber et/ou de refléter les rayons UV, nous protégeant ainsi de ses effets nocifs. Cependant, il est connu que ces composés se dégradent en présence de la lumière (photo-dégradation) et par réaction avec des produits tels que les désinfectants comme le cas du chlore. De ces processus de dégradation sont produits d'autres composés qui présentent différentes propriétés des composés mères et qui sont en général plus toxiques. Ainsi, il y a une augmentation de la conduite de la recherche dans le but d'identifier et de quantifier la présence de filtres UV et de ses produits de dégradation dans l'environnement, ainsi que de comprendre quels sont les facteurs qui peuvent influencer cette même dégradation.

Ce travail est axé sur l'étude de la dégradation de la situation des deux filtres UV : le 4-tert-Butyl-4'-methoxydibenzoilmetano (BMDM) et 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate (EHMC) et sa dégradation dans l'eau contenant du chlore. Dans la phase initiale du travail il a été étudié l'effet des quatre facteurs de la dégradation des deux filtres UV : pH, température, la concentration de chlore et de matière organique dissoute (MOD) et dans une deuxième étape il a été ajoutée aux facteurs précédant le temps d'exposition au rayonnement solaire artificiel en maintenant constante la température. Enfin il a été également étudié l'effet de la concentration du chlore et MOD dans la dégradation du BMDM dans deux écrans solaires commerciaux de marques différentes. L'analyse quantitative a été réalisée par chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à un détecteur UV.

Pour les quatre facteurs étudiés au cours de la première étape, ceux qui ont démontré être un effet majeur sur la dégradation des BMDM étaient la concentration de chlore et de MOD, et dans le cas du EHMC était la température. Dans la deuxième étape, les quatre facteurs étudiés, ceux qui ont démontré être un effet majeur sur la dégradation des BMDM étaient la concentration de chlore et le pH, et dans le cas du EHMC était le temps d'exposition au rayonnement solaire artificielle. Dans la troisième phase, il a été vérifié que les deux facteurs étudiés ont montré un effet significatif dans la dégradation du filtre UV inséré dans les deux formulations cosmétiques étudié.

Índice

Agradecimentos	IV
Resumo	V
Abstract	VI
Résumé	VII
Índice	VIII
Índice de Figuras	X
Índice de Tabelas	XII
Lista de Abreviaturas	XIV
Capítulo 1 – Introdução	1
1.1. Introdução	2
1.1.1. Radiação Ultravioleta	2
1.1.2. Filtros Ultravioleta	2
1.1.3. Classificação e estrutura de filtros UV	3
1.1.4. Filtros UV estudados	4
1.1.4.1. 4.- terc-Butil-4`-metoxidibenzoilmetano	4
1.1.4.2. 2.-Etilhexil-4-metoxicinamato	5
1.1.5. Degradação de filtros UV	5
1.1.5.1. Foto-degradação de filtros UV	6
1.1.5.2. Degradação induzida por desinfecção	9
1.1.6. Filtros UV e o ambiente	12
1.2. Objetivos do presente trabalho	14
1.3. Estrutura da Tese	15
Capítulo 2 – Metodologia Experimental	16
2.1. Reagentes e Instrumentação	17
2.2. Procedimento Experimental	18
2.2.1. Preparação das amostras	18
2.2.1.1. Preparação das soluções de filtro UV	18
2.2.1.2. Preparação da solução de hipoclorito de sódio (NaClO)	18
2.2.1.3. Preparação da solução de matéria orgânica dissolvida (MOD)	18
2.2.2. Condições cromatográficas	19

2.2.3. Estudo do efeito do pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC	19
2.2.4. Estudo do efeito do pH, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida e tempo de exposição à irradiação UV artificial na degradação do BMDM e do EHMC	21
2.2.5. Cremes Solares	23
2.2.5.1. Estudo do efeito da concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM em dois protetores solares comerciais	23
Capítulo 3 – Resultados e Discussão	26
3.1. Estudo do efeito do pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e EHMC	27
3.2. Estudo do efeito do pH, concentração de cloro e de concentração de matéria orgânica dissolvida e do tempo de exposição à irradiação UV artificial na degradação do BMDM e EHMC	35
3.3. Estudo do efeito da concentração de cloro e da concentração de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC em formulações cosméticas	42
Capítulo 4 – Conclusões e Trabalho Futuro	47
4.1. Conclusões	48
4.2. Trabalho Futuro	49
Referências Bibliográficas	50
Apêndices	57
AP.1 – Determinação do fator de proteção solar (FPS) de nano partículas de carbono	58
AP.2 – Tabelas com respectivas percentagens de degradação obtidas em cada uma das etapas do presente trabalho	60

Índice de Figuras

Figura 1.1 -	Fórmula de estrutura do BMDM.	4
Figura 1.2 -	Fórmula de estrutura do EHMC.	5
Figura 1.3 -	Tautomerismo ceto-enol do BMDM.	6
Figura 1.4 -	Fotoisomerização cis (Z)-trans (E) do EHMC.	7
Figura 3.1 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da temperatura vs pH sobre a percentagem de degradação do BMDM.	30
Figura 3.2 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação de BMDM.	31
Figura 3.3 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da temperatura vs pH sobre a percentagem de degradação do EHMC.	33
Figura 3.4 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs pH sobre a percentagem de degradação do EHMC.	34
Figura 3.5 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs temperatura sobre a percentagem de degradação do EHMC.	34
Figura 3.6 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs temperatura sobre a percentagem de degradação do EHMC.	35
Figura 3.7 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs pH sobre a percentagem de degradação de BMDM.	37
Figura 3.8 -	Superfície de resposta obtida para o efeito do tempo de irradiação vs pH sobre a percentagem de degradação de BMDM.	38
Figura 3.9 -	Superfície de resposta obtida para o efeito do tempo de irradiação vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação de BMDM.	38
Figura 3.10 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs tempo de irradiação sobre a percentagem de degradação do EHMC.	40
Figura 3.11 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs pH sobre a percentagem de degradação do EHMC.	41

Figura 3.12 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação do BMDM.	44
Figura 3.13 -	Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação do BMDM.	46
AP. 1.1.-	Espectro UV-Vis para uma solução aquosa de carbon-dots	58

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Reagentes utilizados.	17
Tabela 2.2 - Valores de pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida estudados na degradação do BMDM e do EHMC.	19
Tabela 2.3 - Conjunto de ensaios a realizar definido pelo planejamento experimental selecionado.	20
Tabela 2.4 - Valores de pH, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida e tempo de irradiação estudados na degradação do BMDM e do EHMC.	22
Tabela 2.5 - Valores de concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida estudados na degradação do BMDM numa formulação cosmética.	24
Tabela 2.6 - Características dos protetores solares estudados.	24
Tabela 2.7 - Conjunto de ensaios a realizar definido pelo planejamento experimental selecionado.	25
Tabela 3.1 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.	29
Tabela 3.2 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do EHMC obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.	32
Tabela 3.3 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.	36
Tabela 3.4 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do EHMC obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.	39
Tabela 3.5 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando um desenho experimental Compósito Central.	43
Tabela 3.6 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando um desenho experimental Compósito Central.	45
AP.2.1 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência do pH, temperatura, concentração de cloro e concentração de MOD para o BMDM.	60

- AP.2.2** - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a 61
influência do pH, temperatura, concentração de cloro e concentração de
MOD para o EHMC.
- AP.2.3** - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a 62
influência do pH, concentração de cloro, concentração de MOD e
tempo de irradiação para o BMDM.
- AP.2.4** - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a 63
influência do pH, concentração de cloro, concentração de MOD e
tempo de irradiação para o EHMC.
- AP.2.5** - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a 64
influência da concentração de cloro e concentração de MOD na
degradação do BMDM no protetor solar A.
- AP.2.6** - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a 65
influência da concentração de cloro e concentração de MOD na
degradação do BMDM no protetor solar B.

Lista de abreviaturas

ANOVA	análise de variância
BMDM	4-terc-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano
BZ3	3-benzofenona
DAD	detetor diode array
DBPs	disinfection by-products
EDP	etilhexil dimetil para-aminobenzoato
EHMC	2-Etilhexil-4-metoxicinamato
ES	etilhexil salicilato
F	razão de Fisher
FPS	fator de proteção solar
GC-MS	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa
gl	graus de liberdade
HPLC-UV-DAD	cromatografia líquida de alta performance com detecção ultravioleta
IMC	p-metoxicinamato de isoamilo
LC	cromatografia líquida
LC-MS	cromatografia líquida acoplada a um espectrofotômetro de massa
MOD	matéria orgânica dissolvida
MQ	média dos quadrados
MS	espectrometria de massa
p	probabilidade de F para a condição de hipótese nula
SE _β	erro padrão de β
SPE	extração em fase sólida
SQ	soma dos quadrados
UV	ultravioleta
β	coeficiente de regressão para a análise de regressão linear múltipla

Capítulo 1

Introdução

1.1. Introdução

1.1.1. Radiação Ultravioleta

O espectro solar que atinge a superfície terrestre engloba a zona de radiação ultravioleta (UV) (100-400 nm), visível (400-800 nm) e infravermelho (superior a 800 nm).

A radiação de maior energia que atinge a superfície terrestre é a radiação UV que é dividida em três zonas diferentes: UVA (320 a 400 nm), UVB (290 a 320 nm) e UVC (100 a 290 nm).

A zona UVC, de maior energia, é absorvida quase na totalidade pela camada de ozono, de modo que a quantidade deste tipo de radiação que atinge a superfície terrestre é praticamente inexistente.^[1]

Assim sendo, as células da pele humana encontram-se essencialmente expostas às radiações UVA e UVB. A penetração da radiação solar na pele depende do comprimento de onda da radiação incidente, ou seja, a radiação UV de menor energia (maior comprimento de onda) penetra mais profundamente na pele. A radiação UVA é então, a que atinge em maior profundidade, alcançando a derme, provocando assim, a estimulação da melanina (filtro solar natural) que leva ao bronzeamento da pele. Contudo a excessiva exposição à radiação solar altera este mecanismo de proteção levando ao aparecimento de queimaduras.^[2]

A radiação UVB, com comprimento de onda menor, possui uma energia mais elevada e por isso é causadora de graves queimaduras solares, envelhecimento precoce das células (fotoenvelhecimento) e em casos de exposição mais intensa e frequente pode mesmo causar cancro de pele.^[1]

1.1.2. Filtros Ultravioleta

Com o objetivo de proteger a nossa saúde dos efeitos nefastos provocados pela exposição à radiação UV foram criados protetores solares que podem ser neste momento abundantemente encontrados no mercado. Inicialmente estes foram desenvolvidos com o intuito de proteger a pele das queimaduras do sol (radiação UVB), permitindo o bronzeamento por meio da radiação UVA. No entanto, com o aumento do conhecimento dos efeitos negativos provocados pela radiação UV (principalmente radiação UVA e UVB) foram criados protetores solares que fossem eficientes na proteção contra toda a faixa de radiação UVA/UVB.^[3,4]

Assim, um protetor solar deve não só proteger a pele contra possíveis queimaduras, mas também contra todas as possíveis lesões que poderão aumentar o risco de alterações fatais, como o aparecimento do cancro de pele.

A base desta proteção é conferida pelos filtros ultravioleta (UV) que são aplicados em protetores solares com o objetivo de conceder à nossa pele a máxima proteção contra a radiação UV. Para tal, estes absorvem a radiação UV convertendo-a em outra forma de energia que não seja prejudicial à saúde. De um modo mais específico, os filtros UV absorvem a radiação UV, evoluindo para um estado excitado, retornando depois ao seu estado fundamental por emissão de energia através de transições vibracionais, fenómenos de fluorescência da própria molécula, fosforescência ou mesmo reações fotoquímicas.^[5,6]

Existem sensivelmente 55 filtros UV atualmente aprovados e utilizados numa perspetiva global.^[7]

Dependendo do grau de proteção e da zona UV pretendida, muitos filtros UV são geralmente combinados e usados em protetores solares e produtos de cuidado pessoal em concentrações que geralmente não ultrapassam os 10% em combinação também com um filtro UV inorgânico.

1.1.3. Classificação e estrutura de filtros UV

Os filtros UV podem ser classificados em filtros orgânicos (também conhecidos por filtros químicos) e filtros inorgânicos (também conhecidos por filtros físicos). Os filtros orgânicos exercem a função de absorção da radiação UV, enquanto, os filtros inorgânicos têm a capacidade de refletir e dispersar essa mesma radiação.

No que diz respeito aos filtros UV inorgânicos, estes são geralmente óxidos metálicos e é conhecida a existência de apenas dois. São eles o dióxido de titânio (TiO_2) e o óxido de zinco (ZnO). Este tipo de filtros UV proporciona uma melhor proteção face à radiação UV, quando comparados aos filtros orgânicos, para além de não serem solúveis em água. No entanto, não são muito bem aceites pela opinião pública, uma vez que são mais viscosos e difíceis de espalhar formando uma camada branca sob a pele que não é muito apreciada a nível estético. Em adição a este fato, a preparação de cosméticos baseados em filtros inorgânicos é complexa e exige um prévio tratamento químico.^[7]

Os filtros orgânicos englobam várias classes de compostos, sendo as mais comuns os *para*-aminobenzoatos, cinamatos, salicilatos, dibenzoilmetanos, benzofenonas, derivados de

camphor e benzimidazóis.^[7,8] No geral estes compostos possuem uma estrutura composta por um ou mais anéis aromáticos conjugados com grupos doadores e/ou aceitadores de elétrons em posições *orto* e *para*, o que lhes confere uma eficiente deslocalização eletrônica que lhes permite absorver num comprimento de onda específico. São o tipo de filtros mais usados em formulações cosméticas, uma vez que são muito melhor aceites pela opinião pública em geral, tendo em conta a sua baixa viscosidade e facilidade de aplicação.

1.1.4. Filtros UV estudados

No presente trabalho foram estudados dois filtros UV orgânicos denominados por 4-*tert*-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano (BMDM) e 2-Etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC). Nos subcapítulos seguintes serão discriminadas as principais características destes filtros.

1.1.4.1. 4-*tert*-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano

Os dibenzoilmetanos são moléculas que absorvem principalmente na zona UVA e que possuem elevados coeficientes de absorção molares.^[7]

O BMDM, também denominado por avobenzona, é um filtro orgânico muito usado pertencente ao grupo dos dibenzoilmetanos, cuja fórmula de estrutura está representada na Figura 1.1. Tem uma massa molecular de 310.30 g/mol e um comprimento de onda de máxima de absorção aos 357 nm, absorvendo assim na zona UVA.

No entanto, esta molécula é foto-instável e a sua combinação com outros filtros é restrita.^[7,9]

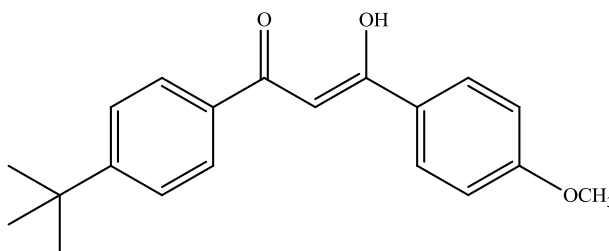


Figura 1.1 - Fórmula de estrutura do BMDM.

1.1.4.2. 2-Etilhexil-4-metoxicinamato

Os cinamatos são moléculas que possuem estruturas aromáticas dissubstituídas com um grupo aceitador de elétrons (grupo éster) e um grupo dador de elétrons (OCH_3), o que lhes confere uma elevada deslocalização eletrônica, permitindo assim, que absorvam na região dos 310 nm (região UVB).^[7] No entanto, este grupo de moléculas estão sujeitas a uma fotoisomerização entre a sua forma *cis* (*Z*) e *trans* (*E*).

O EHMC é também um filtro orgânico, pertencente ao grupo dos cinamatos, cuja fórmula de estrutura está representada na Figura 1.2. Tem uma massa molecular de 290,40 g/mol e um comprimento de onda de máxima de absorção aos 305 nm.^[9, 10]

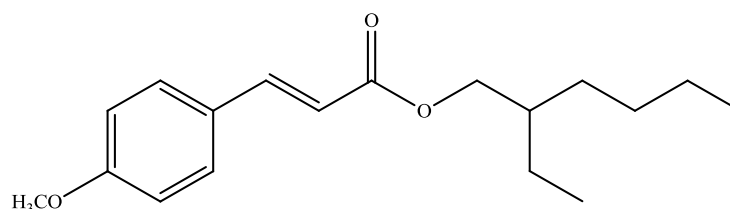


Figura 1.2 - Fórmula de estrutura do EHMC.

1.1.5. Degradação de filtros UV

Como já foi referido no subcapítulo 1.2 os filtros UV têm como objetivo a proteção da nossa pele contra a radiação UV e contra os seus efeitos negativos na nossa saúde. Como tal, espera-se que estes sejam estáveis quando expostos à radiação UV ou a outros fatores como produtos de desinfecção usados em águas de piscinas ou espécies presentes na água do mar de modo a não pôr em causa essa mesma proteção.

No entanto, vários estudos revelam que os filtros UV não são estáveis e sofrem degradação através de vários mecanismos, mas fundamentalmente através de fotólise e reações subsequentes ao contacto e exposição a agentes de desinfecção como o cloro utilizado em águas de piscinas e também em contacto com água do mar.

Nos subcapítulos seguintes irão ser abordados os diferentes mecanismos de degradação de filtros UV, dando especial ênfase a estudos de degradação já realizados para os filtros UV em estudo neste trabalho.

1.1.5.1. Foto-degradação de filtros UV

Estudos já realizados relatam que os filtros UV sofrem degradação quando expostos à radiação UV natural ou artificial através de reações de foto-degradação, comprometendo assim as suas propriedades físicas (como o comprimento de onda de absorção máxima ou o coeficiente de absorvância) e levando à formação de foto-produtos indesejáveis que se acumulam na pele humana. Como tal, sofrem também degradação através da luz solar quando são descarregados em ambiente aquático por intervenção da atividade humana, como o banho.

Existem já alguns estudos publicados, que se dedicaram ao estudo da foto-degradação de filtros UV, da formação dos subprodutos dessa degradação, bem como, aos fatores que poderão afetar e/ou favorecer essa mesma degradação, mostrando, por exemplo, que a presença de fotossensibilizadores como o oxigénio, hidroxilos e/ou radicais peróxido na água, formados na fotólise de ácidos húmicos, cloreto de sódio e nitrato em solução, induzem o processo de foto-degradação e portanto influenciam a cinética de foto-degradação dos filtros UV.^[8,11] Sabe-se também que estes originam espécies reativas de oxigénio e outros radicais livres após a irradiação em solução aquosa.^[12-14]

O BMDM, como já foi referido anteriormente, é um dos mais comuns filtros UV usados em formulações cosméticas de proteção solar pertencente ao grupo dos dibenzoilmetanos. No entanto, os estudos de foto-degradação já realizados para este filtro mostram a sua elevada foto-instabilidade.^[7]

Em formulações cosméticas o BMDM encontra-se predominantemente na sua forma enol (Figura 1.3), no entanto, quando exposto à irradiação solar este sofre um tautomerismo ceto-enol.^[7]

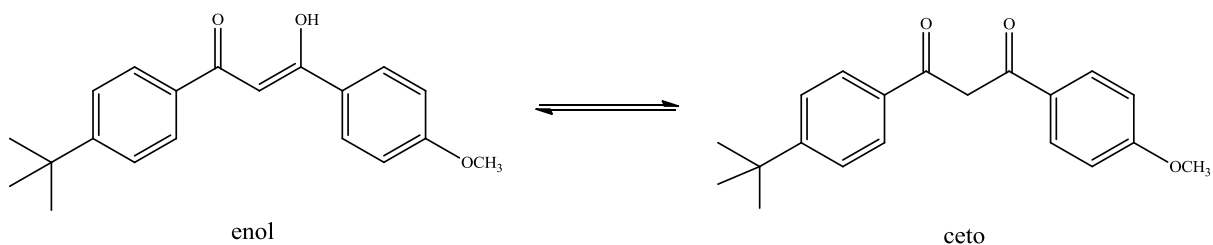


Figura 1.3 - Tautomerismo ceto-enol do BMDM.

Huong *et al.*^[15] elaborou um estudo no qual demonstrou a ocorrência de um tautomerismo ceto-enol e degradação do BMDM em diferentes contextos experimentais: irradiação artificial de soluções diluídas do filtro UV em solventes de diferentes polaridades; irradiação artificial de soluções concentradas de filtro UV em solventes não voláteis e irradiação artificial de porções de protetores solares comerciais. A metodologia experimental incidiu numa análise em HPLC da reação de foto-degradação do BMDM assim como na deteção dos seus subprodutos de degradação. A identificação dos subprodutos foi feita através de LC-MS e o estudo do efeito da foto-degradação no FPS foi feita através de espectroscopia. As soluções foram irradiadas usando um simulador solar com uma lâmpada de xénon, com a temperatura mantida entre os 25 e os 45°C dependendo do tempo de irradiação. Os resultados mostraram que a fotossensibilidade do BMDM é dependente das condições experimentais particularmente do meio em questão, ocorrendo também uma quase total reversibilidade dessa foto-degradação quando a solução foto-degradada é mantida no escuro. Os autores identificaram vários foto-produtos como ácidos benzoicos substituídos, benzilos, dibenzoilmetanos e dibenzoiletanos que já tinham sido anteriormente propostos num estudo realizado por Schwack e Rudolph.^[16] Estes autores argumentam que a formação destes foto-produtos envolvem a clivagem de uma ligação α primária dos grupos carbonilo na forma 1,3-diceto seguida pela saída do hidrogénio, oxidação e/ou recombinação do radical.

No que diz respeito ao EHMC, este pode existir como um isómero *cis* (*Z*) ou *trans* (*E*) na ligação dupla carbono-carbono (Figura 1.4). Em protetores solares o EHMC encontra-se na sua forma *trans* (*E*). No entanto, estudos realizados por Serpone *et al.*^[12] e Huong *et al.*^[17] mostram que em água e sob irradiação, o EHMC fotoisomeriza-se da sua forma *trans* (*E*) para a sua forma *cis* (*Z*), ocorrendo assim a sua foto-degradação.

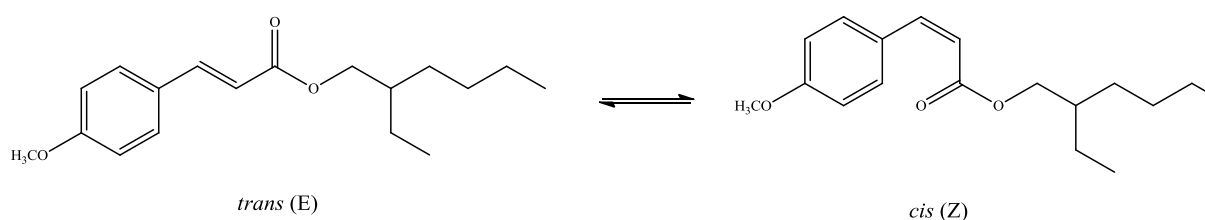


Figura 1.4 – Fotoisomerização *cis* (*Z*)-*trans* (*E*) do EHMC.

Serpone *et al.*^[12] e Huong *et al.*^[17] estudaram a fotoisomerização do EHMC da sua forma *E* para a sua forma *Z* em solução aquosa e sob irradiação. Serpone *et al.*^[12] procederam ao estudo da foto-estabilidade do EHMC sob irradiação solar artificial usando uma lâmpada de xénon, a comprimentos de onda superiores a 290 nm cuja radiação emitida foi filtrada através de um filtro de água de modo a remover a radiação infravermelha. No estudo de Huong *et al.*^[17] a fotoisomerização do EHMC foi estudada em três condições experimentais: irradiação artificial de soluções diluídas do filtro UV em diferentes solventes; irradiação artificial de soluções concentradas de filtro UV em solventes não voláteis e irradiação artificial de porções de cosméticos protetores solares comerciais. A irradiação foi levada a cabo por um simulador solar artificial com uma lâmpada de xénon, com a temperatura regulada automaticamente e mantida entre 25 e 45°C dependendo do tempo de irradiação. Foi estudada a fotoisomerização *cis – trans* do EHMC e as características espectroscópicas da forma *Z* foram assim determinadas bem como a razão de cada isómero em cada contexto experimental referido. Os resultados espectroscópicos demonstraram uma perda da capacidade da absorção após irradiação havendo uma total fotoisomerização do isómero *E*-EHMC para o *Z*-EHMC que se mostrou menos acentuada em amostras comerciais. O facto de o isómero *Z* ter um comprimento de onda semelhante ao do isómero *E* e um coeficiente de absorção molar mais baixo resulta numa diminuição da eficiência do EHMC como filtro UV que já tinha sido anteriormente referida qualitativamente e quantitativamente por Pattanaargson *et al.*^[18] e Berset *et al.*^[19]. Para além disso, os autores também reportaram que em soluções aquosas não ocorre apenas a fotoisomerização do filtro UV em questão mas também a sua degradação o que pressupõe a formação e aparecimento de subprodutos de degradação que foram detetados numa análise por HPLC, na qual se observaram dois novos picos com tempos de retenção mais longos.

Rodil *et al.*^[20] estudaram, recentemente, a fotoisomerização da forma *trans* (*Z*) para a forma *cis* (*E*) do EHMC e do IMC (*p*-metoxicinamato de isoamilo) em solução aquosa sob irradiação solar artificial. Este estudo foi combinado com a determinação e avaliação da toxicidade dos seus produtos de degradação em micro-organismos aquáticos. As amostras foram expostas à luz solar artificial com uma lâmpada de halogénio com comprimento de onda entre os 290 e os 800 nm, cobrindo assim a região UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm) juntamente com a gama de radiação fotossintética ativa (400-700 nm, região onde os organismos fotossintéticos estão aptos a serem usados na fotossíntese).

Paralelamente ao estudo da fotoisomerização do EHMC e do IMC foi também estudada a formação de dímeros ciclobutanos. A formação destes dímeros, cuja capacidade de absorção é menor do que a dos filtros UV, já tinha sido anteriormente estudada para o EHMC.^[21,22]

Recentemente outros produtos da foto-degradação do EHMC sob irradiação artificial em solução aquosa foram identificados incluindo o 4-metoxibenzaldeído, o 2-etilhexanol, ciclodímeros e um dímero resultante da hidrólise.^[23]

1.1.5.2. Degradação induzida por desinfecção

Depois de referida e abordada a foto-degradação dos filtros UV, a segunda vertente, através da qual estes compostos sofrem degradação, é através da reação com agentes de desinfecção de água, mais especificamente as espécies de cloro, tendo em conta que representa o mais importante e vulgar agente desinfetante de água.

Como é sabido, as piscinas necessitam de desinfecção, a fim de proteger os seus utilizadores de micro-organismos patogénicos. Existem vários tipos de desinfetantes de águas de piscinas que são aplicados de acordo com as características da piscina a desinfetar, entre os quais está o ozono, bromo ou radiação UV.^[24] No entanto, os agentes desinfetantes de cloro são os mais usados a nível mundial devido ao facto de serem facilmente e prontamente disponíveis em fase sólida, líquida ou gasosa, para além de representar um método simples e económico, extremamente tóxico para a maior parte dos micro-organismos.^[25]

Adicionalmente aos percursores naturais já existentes na água, os utilizadores das piscinas introduzem vários outros compostos vindos da urina, suor, saliva, cabelo, células da pele e produtos de cuidado pessoal incluindo os filtros UV.^[26,27]

A matéria orgânica, que é assim introduzida nas piscinas por intermédio dos seus utilizadores, reage com os agentes de desinfecção dando origem aos denominados subprodutos de desinfecção (DBPs - Disinfection by-products), que são na sua maioria compostos organoclorados.^[28]

A utilização de uma piscina após a colocação de protetor solar vai favorecer a reação entre os agentes desinfetantes utilizados nessa piscina e os filtros UV contidos no protetor solar em questão. A reação entre estes compostos terá como consequência a degradação do filtro UV originando também DBPs.^[28]

Atualmente mais de mil DBPs foram identificados em água de piscinas incluindo trihalometanos, haloácidos, haloaldeídos, halocetonas, halonitrometanos, haloaminas, haloamidas, haloalcoois e derivados halogenados dos filtros UV.^[24,29,30]

A identificação dos subprodutos da degradação é importante, na medida em que nos permite, posteriormente, determinar os seus efeitos na saúde humana e no ambiente, uma vez que estes subprodutos da desinfecção são normalmente mais tóxicos que os compostos que lhes deram origem.^[8,30-35]

Os tipos e os níveis de DBPs formados dependem de vários fatores como a origem da água, do tipo e quantidade de desinfetantes usados, da quantidade residual de desinfetante avaliada na água, do tempo de contato entre os reagentes, da temperatura, do pH, da concentração de bromo, da concentração de nitrato e da concentração de matéria orgânica dissolvida.

São ainda escassos os estudos que revelem qual o efeito que a matéria orgânica dissolvida tem na degradação dos filtros UV, no entanto, no estudo realizado por Sakkas *et al.*^[36] a matéria orgânica dissolvida revelou ter influência na degradação do filtro UV em estudo, na medida em que, retardou a foto-degradação e a formação dos DBPs uma vez que compete diretamente com os compostos pelo cloro ativo em solução.

Existem ainda poucos estudos sobre a degradação de filtros UV em águas de piscinas e consequente formação e identificação de subprodutos da desinfecção.

Sakkas *et al.*^[36], como já foi anteriormente referido, realizou um estudo no qual avaliaram a foto-degradação, sob luz solar e artificial, do etilhexil dimetil *para*-aminobenzoato (EDP) (pertencente ao grupo dos *para* aminobenzoatos) em diferentes soluções aquosas (água do mar, água de piscina e água desionizada) bem como a formação e identificação dos seus subprodutos. As reações de foto-degradação foram acompanhadas por cromatografia líquida de alta performance com detecção ultravioleta (HPLC-UV-DAD) e a identificação dos subprodutos de degradação foi efetuada por cromatografia gasosa associada a espectrometria de massa (GC-MS). No que diz respeito à análise das soluções de água de piscina foram identificados cinco DBPs (ácido etilhexil-*p*-amino-clorobenzoico, ácido etilhexil-*p*-amino-diclorobenzoico, ácido etilhexil-dimetil-*p*-amino-diclorobenzoico, ácido etilhexil-metil-*p*-amino-clorobenzoico e ácido etilhexil-metil-*p*-amino-diclorobenzoico).

Negreira *et al.*^[37] também elaborou um estudo onde avaliou a estabilidade de três filtros UV: etilhexilsalicilato (ES), EDP e 3-benzofenona (BZ3) em águas cloradas com posterior identificação dos seus DBPs através de GC-MS. No que diz respeito ao estudo de cloração, as

reações tiveram lugar em recipientes de âmbar contendo uma quantidade de água desionizada ou água da torneira. No estudo em água desionizada foi adicionada uma diferente quantidade de uma solução de NaOCl previamente preparada e de concentração conhecida. No caso das soluções com água da torneira, tal procedimento não foi necessário tendo em conta que já contém uma determinada quantidade em cloro livre devido à desinfecção da água nas estações de tratamento. Deste modo foi apenas determinada a sua concentração inicial em cloro livre através do método de deteção fotométrica. Todas as soluções foram ajustadas a diferentes pHs de modo a cobrir o intervalo de pHs espectáveis de ocorrer na natureza, em águas de piscinas e estações de tratamento. Foram também adicionadas determinadas quantidades de cada um dos filtros UV preparados em metanol. Após o período reacional as amostras foram pré-concentradas por extração em fase sólida (SPE) e posteriormente analisadas por GC-MS para determinar os diferentes filtros e os seus DBPs. Os resultados mostraram um aumento da cinética de degradação proporcional ao aumento de cloro livre em solução bem como a formação de vários subprodutos de degradação, sendo estes compostos mono-halogenados e di-halogenados.

No que diz respeito aos filtros UV estudados neste trabalho, existem ainda poucos trabalhos publicados sobre a degradação induzida por desinfecção com subsequente identificação dos seus DBPs.

Nakajima *et al.*^[38] procedeu à investigação dos filtros EHMC e EDP em águas cloradas focando o seu estudo na determinação da cinética de cloração dos dois filtros UV na presença de cloro livre a vários valores de pH, na identificação dos DBPs formados durante a reação e ainda na mutagenicidade de ambos os filtros UV e correspondentes DBPs. As reações de cloração foram levadas a cabo através da técnica de extração líquido-líquido e a determinação dos subprodutos de desinfecção assim como dos filtros UV foi levada a cabo através de GC-MS. Os resultados demonstraram que o consumo de cloro livre em solução é muito menor no caso do EHMC do que no EDP. No que respeita à quantidade de EHMC em solução, as análises em GC mostraram uma rápida degradação do mesmo estabilizando essa quantidade ao fim de uma hora de exposição ao cloro livre em solução. O aumento do pH mostrou diminuir o consumo de cloro livre por ambos os filtros UV. Os subprodutos identificados para o EHMC foram, na sua maioria, espécies monocloradas.

Santos *et al.*^[39] realizaram também um estudo no qual identificaram os subprodutos de degradação do EHMC e do BMDM após reação em águas contendo cloro. No caso do EHMC foi possível identificar seis subprodutos de degradação, quatro deles monoclorados e dois

diclorados. Já no caso do BMDM apenas foram identificados dois subprodutos, um monoclorado e um diclorado.

Adicionalmente foi também estudada a influência do pH, temperatura e concentrações de cloro em solução na degradação dos filtros EHMC e BMDM, realizando para tal um desenho experimental multivariável. Para o EHMC os resultados mostram que a temperatura tem um papel preponderante na degradação do filtro UV, na medida em que maiores temperaturas induzem a uma maior percentagem de degradação, assim como menores valores de pH e maiores concentrações de cloro em solução mostram uma maior degradação. No que diz respeito ao BMDM, os resultados mostram que a concentração de cloro em solução é a variável que mostra uma maior influência na degradação, ou seja, maiores concentrações de cloro correspondem a uma maior percentagem de degradação.

1.1.6. Filtros UV e o ambiente

A crescente preocupação face aos efeitos nefastos que a radiação UV poderia provocar na nossa saúde levou a que, durante muito tempo, as investigações se focassem, essencialmente, no desenvolvimento de filtros UV capazes de providenciar uma eficaz proteção da nossa pele face à radiação UV, descurando de certa forma dos seus potenciais efeitos na saúde e no ambiente.

Apenas muito recentemente se obteve a perceção quanto ao potencial de disseminação e acumulação destes compostos não só no organismo mas também no ambiente.

Os filtros UV podem ser incorporados no ambiente direta ou indiretamente. A incorporação direta pode ocorrer através de atividades como a natação ou banho em lagos e rios, assim como por descargas de resíduos e desperdícios industriais. A incorporação indireta está relacionada com descargas de águas domésticas (banho, lavagem de roupa e excreção de urina) e através de estações de tratamento de água.^[8]

O crescente aumento de filtros UV no ambiente levou a que fossem considerados uma nova classe de poluentes. Como tal, é necessária a existência de técnicas capazes de determinar e quantificar estes compostos sendo estas principalmente técnicas cromatográficas, espectroscópicas e eletroquímicas.^[40]

As principais preocupações ambientais relativamente a estes compostos estão relacionadas com os seus coeficientes octanol/água, fatores de bioconcentração e coeficiente de absorção. Estes compostos são assim significativamente lipofílicos e têm uma tendência

particular para se acumularem em ambientes aquáticos, solos e sedimentos, assim como na cadeia alimentar.^[8,31,32]

Existem já alguns estudos nos quais foram detetadas concentrações consideráveis de filtros UV no ambiente, que variam consoante a localização da amostragem, a intensidade das atividades de recreio bem como consoante a época sazonal.

Díaz-Cruz *et al.*^[32] no seu estudo detetaram concentrações de 10 mg/L de filtro UV em águas de rios, lagos e mar. As concentrações máximas foram encontradas em dias quentes de verão nos quais é mais frequente e abundante o uso de protetores solares. Foram também detetados em águas de esgoto, lamas, sedimentos e solos em concentrações que atingem mg/L assim como em peixes de rios e lagos em concentrações que atingem g/Kg.

No que diz respeito à presença de filtros UV em águas de piscinas, os dados são ainda muito escassos. Lambropoulou *et al.*^[41] detetaram a presença de filtros UV em águas de piscinas e em águas residuais de chuveiros perto de piscina com concentrações entre 2 e 10 mg/L. Num outro estudo Giokas *et al.*^[42] e Vidal *et al.*^[43] também detetaram a presença de filtros UV em águas de piscinas públicas e em águas residuais de chuva perto das mesmas. Num outro estudo realizado por Zwiener *et al.*^[30] foram determinados cinco filtros muito usados (entre os quais o EHMC) em piscinas, encontrando-se maiores quantidades em piscinas para bebés, sendo o nível máximo detetado de 40 µg/L.

Um outro aspeto a ter em conta é o potencial perfil toxicológico dos filtros UV e dos seus subprodutos de degradação. Estes não podem ser usados a níveis superiores a 10% em formulações cosméticas uma vez que existem estudos que parecem apontar para um significativo potencial tóxico destes compostos quando encontrados em concentrações superiores a esta.^[31] Existem indícios que indicam a alteração de sinais de terminação endócrinos reprodutores de diversas espécies como peixes ou anfíbios muito embora, seja em concentrações superiores às encontradas no ambiente. No entanto, é necessário ter em conta a tendência para a acumulação destes compostos no ambiente o que poderá levar à deteção de níveis superiores.^[31,44]

A absorção percutânea dos protetores solares aplicados na pele, aumenta a preocupação face aos efeitos que estes compostos poderão ter no nosso organismo uma vez que são assim absorvidos pelo nosso organismo e distribuídos pelo mesmo podendo depois ser excretados.

Nakajima *et al.*^[38] no seu estudo, avaliou o potencial dos filtros EHMC e EDP para conferir alterações mutagénicas em espécies de bactérias da estirpe TA100 da *Salmonella typhimurium*, não só dos filtros UV mas também dos seus DBPs. Relativamente aos

resultados obtidos e no que diz respeito ao EHMC este não mostrou possuir atividade mutagénica, no entanto, quando exposto a cloro livre geraram-se espécies mutagénicas do EHMC para com a estirpe de bactéria usada. Foi também estudada a evolução, em função do tempo, das alterações mutagénicas experimentadas pelos compostos, em solução com excesso de cloro livre, a pH 7 e à temperatura ambiente, mostrando que há um aumento da mutagenicidade durante a primeira etapa reacional de cloração do EHMC. Por outro lado, 6 horas após as reações terem sido completadas observou-se um decréscimo da mutagenicidade da solução contendo EHMC e os seus correspondentes DBPs.

Num outro estudo realizado *in vitro* foi estudada uma linha celular de linfoma de rato, com vista a determinar o perfil toxicológico dos potenciais subprodutos da foto-degradação do EHMC e do BMDM sendo demonstrado que as soluções de EHMC irradiadas exibiam maior toxicidade que as não irradiadas.^[45] No que diz respeito ao BMDM os resultados não foram significativos.

Existem dados recentes relativos à presença de filtros UV em leite materno e urina humana.^[46,47]

1.2. Objetivos do presente trabalho

Os filtros UV são usados em protetores solares com o objetivo de proteger a nossa pele dos efeitos negativos da radiação UV.

No presente trabalho foram estudados dois dos filtros UV mais usados em cremes de proteção solar: o 4-*terc*-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano (BMDM) e o 2-Etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC), pertencentes ao grupo dos dibenzoilmetanos e dos cinamatos, respetivamente.

Os filtros UV sofrem degradação quando expostos à radiação UV e reagem com agentes de desinfeção como é o caso do cloro normalmente usado na desinfeção de águas de piscinas, dando origem a subprodutos de degradação clorados que são normalmente mais tóxicos do que os compostos parentais.

O objetivo desta dissertação de mestrado é estudar a degradação destes dois filtros UV em águas contendo cloro. Em adição a este fator existem ainda vários outros que influenciam a degradação de filtros UV, como é o caso da matéria orgânica dissolvida, do pH, da temperatura da água, e do tempo de exposição à radiação solar UV. Como tal, neste trabalho decidiu-se não só estudar o efeito do cloro na degradação dos dois filtros UV bem como

estudar o efeito da matéria orgânica dissolvida (MOD), do pH, da temperatura da água e do tempo de exposição à radiação UV artificial. Numa segunda etapa estudou-se o efeito do cloro e da matéria orgânica dissolvida na degradação dos mesmos filtros UV, desta vez inseridos em dois cremes protetores solares comerciais.

A análise quantitativa deste estudo foi levada a cabo por cromatografia líquida de alta performance acoplada a um detetor ultravioleta (HPLC-UV-DAD).

1.3. Estrutura da Tese

Além deste capítulo introdutório, esta dissertação de Mestrado compreende um segundo capítulo, onde se descreve a metodologia experimental utilizada, um terceiro capítulo onde se apresentam os resultados obtidos e respetiva discussão dos mesmos, e um quarto capítulo de conclusões e propostas de trabalho futuro. Para além destes quatro capítulos são também apresentados dois apêndices, nos quais se referencia a determinação do FPS de nano partículas de carbono e são apresentadas as tabelas com as respetivas percentagens de degradação obtidas em cada etapa do presente trabalho.

Capítulo 2

Metodologia Experimental

2.1. Reagentes e Instrumentação

Na Tabela 2.1 estão discriminados todos os reagentes utilizados ao longo da execução do trabalho experimental, bem como pormenores quanto ao seu estado físico, marca e utilização.

Tabela 2.1 - Reagentes utilizados.

Nome	Fórmula Molecular	Estado Físico	Marca	Utilização
BMDM	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	Sólido	Merck	Filtro UV
EHMC	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	Líquido	Aldrich	Filtro UV
Metanol	CH ₃ OH	Líquido	Merck	Solvente/eluente
Iodato de potássio	KIO ₃		-	Iodometria
Ácido clorídrico	HCl	Aquoso	-	Acerto de pH/Iodometria
Hidróxido de sódio	NaHO	Aquoso	-	Acerto de pH
Iodeto de potássio	KI	Sólido	Pronalab	Iodometria
Cozimento de amido	-	Líquido		Iodometria
Ácido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	Sólido	Merck	Iodometria
Ácido acético glacial	-	Líquido	Pronalab	Iodometria
Água desionizada	H ₂ O	Líquido	-	Solvente/eluente
MOD	-	Sólido	-	Ensaio a realizar
Hipoclorito	NaClO	Aquoso	-	Ensaio a realizar

Os instrumentos utilizados e respetivas características foram os seguintes:

- Balança analítica Mettler Toledo, modelo AG245, para pesagem rigorosa dos reagentes;
- Centrifugadora Eppendorf, modelo 5415D;
- Agitador magnético com aquecimento Heidolph, modelo MR Hei-Tec;
- Simulador solar Newport Oriel 96000 a 150W;
- Banho termostaticado, modelo GLF 1086.

Sistema de HPLC-UV-DAD:

- Seringa Hamilton, modelo 80639;
- Bomba isocrática, Hewlett-Packard 1100 Series;
- Injetor manual, Rheodyne 7725i;
- Detetor Thermo Scientific, modelo 6000 LP;
- Coluna de fase reversa de sílica C18, Thermo Scientific, com dimensões de 150 mm x 2.1 mm e tamanho de partícula de 5 µm;
- O programa usado para tratamento de dados foi o X-Calibur.

2.2. Procedimento experimental

2.2.1. Preparação de soluções

2.2.1.1. Preparação das soluções de filtro UV

Como já foi referido no capítulo anterior, os filtros UV em estudo foram o 4-*tert*-Butil-4'-metoxidibenzoilmetano (BMDM) e o 2-Etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC).

Foram preparadas soluções de cada um dos filtros UV com concentrações na ordem das 100-200 mg/L em metanol. O solvente foi escolhido tendo em conta a solubilidade e estabilidade dos filtros UV. No caso do BMDM, tendo em conta que o seu estado físico era sólido, a solução era posteriormente colocada no ultra-sons durante 5 minutos a fim de dissolver toda a quantidade de filtro existente em solução. É de salientar que estas soluções eram preparadas novamente todos os dias, uma vez que poderia ocorrer degradação ou alteração das propriedades do filtro UV ao longo do tempo.

2.2.1.2. Preparação da solução de hipoclorito de sódio (NaClO)

Para a realização do estudo da cloração dos filtros UV foi necessária a prévia preparação de uma solução de cloro ativo. A solução inicial era uma lixívia comercial com 5% de cloro ativo em solução. A partir dessa solução foram preparadas duas novas soluções por diluição cujas concentrações em cloro ativo foram posteriormente determinadas por iodometria. As concentrações rigorosas em cloro ativo das duas soluções de NaClO são 712 e 12.75 mg/L, respetivamente.

2.2.1.3. Preparação da solução de matéria orgânica dissolvida (MOD)

Foram preparadas soluções de matéria orgânica dissolvida, extraídas do solo de pinhal^[48-50] com concentrações na ordem das 100 mg/L e 1000 mg/L em água, dependendo das concentrações requeridas no estudo a realizar.

2.2.2. Condições cromatográficas

A análise quantitativa foi realizada num cromatógrafo com as características descritas no subcapítulo 2.1, com um fluxo constante de 0.25 mL/min e uma fase móvel metanol/água (80:20).

2.2.3. Estudo do efeito do pH, temperatura, concentração cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC

Como já foi abordado no Capítulo 1, os filtros UV sofrem degradação quando expostos a produtos de desinfecção como é o caso do cloro normalmente aplicado em águas de piscinas. No entanto, é sabido, que em águas de piscinas não existe apenas água e cloro mas também vários outros compostos, como é o exemplo de matéria orgânica. Como tal, é de grande interesse saber qual o efeito que a matéria orgânica tem na degradação dos filtros UV em estudo e assim aproximarmo-nos mais do que acontecerá na realidade.

Neste estudo, o filtro UV a analisar é então colocado em água contendo diferentes concentrações em cloro ativo e matéria orgânica dissolvida, fazendo também variar as condições de pH e temperatura.

Devido à complexidade deste estudo, uma vez que há a associação de diferentes variáveis (pH, temperatura, concentração de cloro e concentração de matéria orgânica dissolvida) foi necessário recorrer a um planeamento experimental informático (Unscrambler, da Camo *Software*) de modo a obter o esquema de experiências a realizar. A Tabela 2.2 especifica as variáveis e contextos cobertos para cada filtro UV.

Tabela 2.2 - Valores de pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida estudados na degradação do BMDM e do EHMC.

Filtro UV	Fator	Valores estudados		
EHMC	pH	4.00	7.00	10.00
	Temperatura	15.00	25.00	35.00
	Cloro (mg/L)	2.00	3.00	4.00
	MOD (mg/L)	0.01	5.00	10.00
	EHMC (mg/L)		1.00	
BMDM	pH	4.00	7.00	10.00
	Temperatura	15.00	25.00	35.00
	Cloro (mg/L)	0.01	0.05	0.10
	MOD (mg/L)	0.01	5.00	10.00
	BMDM (mg/L)		1.00	

Tendo em conta as variáveis em estudo e os respetivos intervalos de variação de cada parâmetro o programa definiu um total de 27 ensaios a realizar, que estão apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Conjunto de ensaios a realizar definido pelo planeamento experimental selecionado.

Ensaio	pH	T/°C	Cloro /mg/L		MOD /mg/L
			Para o BMDM	Para o EHMC	
1	4.00	15.00	0.06	3.00	5.01
2	10.00	15.00	0.06	3.00	5.01
3	4.00	35.00	0.06	3.00	5.01
4	10.00	35.00	0.06	3.00	5.01
5	4.00	25.00	0.01	2.00	5.01
6	10.00	25.00	0.01	2.00	5.01
7	4.00	25.00	0.10	4.00	5.01
8	10.00	25.00	0.10	4.00	5.01
9	4.00	25.00	0.06	3.00	0.01
10	10.00	25.00	0.06	3.00	0.01
11	4.00	25.00	0.06	3.00	10.00
12	10.00	25.00	0.06	3.00	10.00
13	7.00	15.00	0.01	2.00	5.01
14	7.00	35.00	0.01	2.00	5.01
15	7.00	15.00	0.10	4.00	5.01
16	7.00	35.00	0.10	4.00	5.01
17	7.00	15.00	0.06	3.00	0.01
18	7.00	35.00	0.06	3.00	0.01
19	7.00	15.00	0.06	3.00	10.00
20	7.00	35.00	0.06	3.00	10.00
21	7.00	25.00	0.01	2.00	0.01
22	7.00	25.00	0.10	4.00	0.01
23	7.00	25.00	0.01	2.00	10.00
24	7.00	25.00	0.10	4.00	10.00
25	7.00	25.00	0.06	3.00	5.01
26	7.00	25.00	0.06	3.00	5.01
27	7.00	25.00	0.06	3.00	5.01

As quantidades de cloro a adicionar foram selecionadas após a realização de vários ensaios aos quais foram adicionadas diferentes concentrações de cloro de modo a avaliar a percentagem de degradação do filtro UV em estudo e assim definir o intervalo de concentrações de cloro a estudar de modo a que a percentagem de degradação do filtro se encontre num intervalo de valores possíveis de quantificar.

No caso do BMDM, face à sua elevada reatividade quando na presença de cloro foi necessário usar concentrações de cloro mais baixas (Tabela 2.3).

O tempo de reação foi definido tendo como base a realização de ensaios cinéticos de cloração para cada um dos filtros UV usando para tal o nível máximo de cloro. O tempo de

reação escolhido foi de 20 min de forma a ser possível acompanhar as reações de degradação e ser possível a quantificação dos filtros UV após o período reacional correspondente.

Todos os ensaios a realizar foram levados a cabo em *falcons* de 50 mL com um volume de água desionizada de 20 mL, aos quais era adicionada a respetiva quantidade de filtro UV (1 mg/L) e correspondentes concentrações de cloro e matéria orgânica. Após ajustar as condições de pH e temperatura de cada ensaio, cada amostra era sujeita a 20 min de reação sendo posteriormente quantificada a quantidade de filtro ainda existente por HPLC-UV-DAD.

Os valores de pH foram ajustados pela adição de soluções 0.1 mol/L em HCl ou NaOH. No que diz respeito aos valores de temperatura, estes foram controlados usando um banho termostaticado, com agitação constante.

Para obter o valor da percentagem de degradação do filtro UV em cada uma das amostras, a área do pico correspondente ao filtro em estudo, dado o tempo de reação, era comparada com a área de um ensaio contendo apenas o filtro UV em água (ensaio branco).

A análise dos efeitos de cada uma das variáveis têm na degradação de cada filtro UV foi feita recorrendo a uma análise de variância ANOVA.

2.2.4. Estudo do efeito do pH, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida e do tempo de exposição à irradiação UV artificial na degradação do BMDM e do EHMC

No seguimento do estudo anterior, e tendo em conta os resultados obtidos decidiu-se avaliar também qual o efeito do tempo de exposição à irradiação solar na degradação dos mesmos filtros UV, uma vez que, como já referido no capítulo 1, existem vários estudos que comprovam que a exposição à irradiação solar provoca um aumento da percentagem de degradação dos filtros UV. Para este estudo e tendo em conta a complexidade do sistema, decidiu-se manter a temperatura constante. O estudo foi então feito, com quatro variáveis à semelhança do anterior como é possível observar na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Valores de pH, concentração de cloro, de matéria orgânica dissolvida e de tempo de irradiação estudados na degradação do BMDM e EHMC.

Filtro UV	Fator	Valores estudados		
EHMC	pH	4.00	7.00	10.00
	 Cloro (mg/L)	2.00	3.00	4.00
	 MOD (mg/L)	0.01	5.00	10.00
	Tempo de Irradiação (min)	15.00	30.00	45.00
	 EHMC (mg/L)		1.00	
	pH	4.00	7.00	10.00
BMDM	 Cloro (mg/L)	0.01	0.05	0.10
	 MOD (mg/L)	0.01	5.00	10.00
	Tempo de Irradiação (min)	10.00	20.00	30.00
	 BMDM (mg/L)		1.00	
	pH	4.00	7.00	10.00

As condições experimentais deste estudo foram em tudo semelhantes às do estudo anterior. No entanto, desta vez, os ensaios foram realizados em gobelés de 50 mL e com agitação constante, de modo a proporcionar um melhor ajuste da lâmpada e assim manter as condições constantes de ensaio para ensaio.

À semelhança do que aconteceu no estudo descrito no subcapítulo 2.2.3. foi também necessário reduzir o tempo de exposição à irradiação solar artificial para o BMDM, tendo em conta também a sua elevada reatividade.

A lâmpada foi colocada em suspenso a 1 cm de distância da amostra.

A temperatura foi medida no início e no fim de cada ensaio sendo posteriormente calculada a respetiva média e desvio padrão no final do estudo.

2.2.5. Cremes Solares

2.2.5.1. Estudo do efeito da concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM em dois protetores solares comerciais

Depois de perceber qual o efeito da matéria orgânica dissolvida na degradação dos filtros UV em estudo, decidiu-se aplicar o mesmo estudo à análise dos filtros UV desta vez num creme solar comercial.

Antes de selecionar o protetor solar a estudar, foi tido em conta que este não tivesse na sua composição os dois filtros em simultâneo (EHMC e BMDM) a fim de ser possível avaliar a degradação de cada um deles em separado. Assim sendo, foram selecionados dois protetores solares, um deles contendo o EHMC na sua composição e outro contendo o BMDM.

Após a seleção dos protetores solares a estudar foram preparadas soluções a partir dos mesmos com concentrações entre [2000-3000] mg/L em água e colocadas em agitação constante.

Numa primeira fase foi realizado um estudo da cinética de solubilização do filtro UV em água. Para tal, a períodos de tempo definidos, era retirada uma pequena quantidade da solução inicialmente preparada, que era diluída a 100 mg/L e colocada numa centrífuga durante 2 minutos para ser posteriormente analisada por HPLC-UV-DAD. A partir do cálculo da área do pico correspondente ao filtro foi possível perceber se a quantidade de filtro solar que se dissolvia na água era constante ao longo do tempo.

Numa segunda fase foram adicionadas diferentes concentrações de cloro (as mesmas que constam na Tabela 2.3) a uma solução de 100 mg/L de protetor solar a fim de perceber se ocorria ou não a degradação do filtro em estudo. No caso do protetor solar contendo o EHMC e após a adição de diferentes concentrações de cloro (até superiores às utilizadas no estudo descrito no ponto 2.2.3) não foi observada qualquer degradação no filtro.

Assim sendo, e após a verificação da existência de degradação do BMDM no protetor solar em estudo, foi realizado um estudo semelhante ao referido no ponto 2.2.3. fazendo apenas variar as concentrações de cloro e de matéria orgânica dissolvida (Tabela 2.5) e assim perceber se estas variáveis tinham o mesmo efeito na degradação dos filtros UV em estudo quando estes estão numa formulação cosmética de proteção solar.

Tabela 2.5 - Valores de concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida estudados na degradação do BMDM numa formulação cosmética.

Filtro Solar	 Cloro mg/L	 MOD mg/L
BMDM	0.189	0.757
	0.500	2.000
	1.250	5.000
	2.000	8.000
	2.311	9.243

Posteriormente foi realizado o mesmo estudo para outro protetor solar comercial, com as mesmas características fazendo apenas variar a marca a fim de perceber se a haveria alguma variação na percentagem de degradação do filtro BMDM de marca para marca.

Os protetores solares comerciais estudados e respetivas características estão representados na Tabela 2.6:

Tabela 2.6 - Características dos protetores solares estudados.

Marca	Características
Protetor Solar A	Spray contínuo
	Ambre Solaire UVA+UVB
	Para crianças
	Pele frágil
Protetor Solar B	FPS 30
	Leite
	Proteção solar profunda UVA+UVB
	Para adultos e crianças
	Pele sensível
	FPS 30

O planeamento experimental selecionado para definir o número de amostras a realizar foi o mesmo que foi utilizado nos estudos anteriores. No entanto, neste caso a metodologia de desenho experimental utilizada foi a Compósito Central. Assim sendo, o número de ensaios a realizar são 21 como se pode observar na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 - Conjunto de ensaios a realizar definido pelo planeamento experimental selecionado.

Ensaio	 Cloro mg/L	 MOD mg/L
1	0.19	5.00
2	0.19	5.00
3	2.31	5.00
4	2.31	5.00
5	1.25	0.76
6	1.25	0.76
7	1.25	9.24
8	1.25	9.24
9	0.50	2.00
10	0.50	2.00
11	2.00	2.00
12	2.00	2.00
13	0.50	8.00
14	0.50	8.00
15	2.00	8.00
16	2.00	8.00
17	1.25	5.00
18	1.25	5.00
19	1.25	5.00
20	1.25	5.00
21	1.25	5.00

Os estudos para os dois protetores solares foram realizados nas mesmas condições experimentais a fim de ser possível a comparação de resultados.

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3. Resultados e Discussão

O presente trabalho foi realizado em três etapas. Numa primeira etapa foi avaliado o efeito de quatro variáveis (pH, temperatura, concentração cloro e MOD) na degradação do EHMC e BMDM. Na segunda etapa foi acrescentada uma nova variável (irradiação solar artificial) ao estudo realizado na primeira etapa de modo a avaliar qual o efeito desta, em conjunto com as variáveis já avaliadas. Por fim, na terceira etapa foram escolhidos dois protetores solares comerciais, de diferentes marcas, contendo os filtros UV em estudo, a partir dos quais foi avaliado qual o efeito da concentração de cloro e da MOD na degradação dos filtros UV quando integrados numa formulação cosmética.

Nos subcapítulos seguintes serão apresentados e discutidos os resultados obtidos em cada uma das etapas realizadas no presente trabalho.

3.1. Estudo do efeito do pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC

Como já foi referido no Capítulo 1, os filtros UV sofrem degradação na presença de cloro que é usado como produto desinfetante em águas de piscinas.

Santos *et al.*^[39] realizaram um estudo onde foi avaliado o efeito do pH, temperatura e concentração de cloro na degradação do EHMC e do BMDM. Estes degradam-se na presença de cloro, dando origem a subprodutos de degradação mono e di-clorados. No caso do BMDM, a concentração de cloro em solução é a variável que mostra ter uma maior influência na degradação do filtro pelo que maiores concentrações de cloro resultam em maiores percentagens de degradação. No que ao EHMC diz respeito, as amostras realizadas a temperaturas mais elevadas com concentrações de cloro também elevadas e a valores de pH baixos foram as que mostraram maiores percentagens de degradação.

Tendo tudo isto em conta, na primeira etapa deste trabalho, foi realizado um estudo, em tudo semelhante mas inserindo mais uma variável ao estudo: a MOD e assim perceber qual o efeito desta variável na degradação dos filtros em estudo.

Foram então realizados 27 ensaios para cada um dos filtros, seguindo a metodologia experimental descrita no capítulo 2, secção 2.2.3.

Os valores obtidos para a degradação dos filtros UV em estudo, foram sujeitos a uma análise de variância (ANOVA). A ANOVA permite avaliar se um dado fator independente

tem algum efeito significativo numa dada variável dependente, ou seja, se os diferentes valores influenciam de algum modo as médias populacionais da variável dependente.^[51] Neste caso, podemos então perceber, através dos dados apresentados pela ANOVA, quais são os fatores que têm um efeito significativo na degradação dos dois filtros UV.

Os resultados são apresentados em tabelas onde:

SQ significa a soma dos quadrados;

gl são os graus de liberdade;

MQ representa a média dos quadrados;

F é a razão de Fisher

p a probabilidade de F para a condição de hipótese nula;

β é o coeficiente de regressão para a análise de regressão linear múltipla e

SE_{β} representa o erro padrão de β

Tendo em conta os valores de F apresentados nas Tabelas ANOVA para cada um dos fatores em estudo podemos perceber qual deles tem um efeito mais significativo na degradação, uma vez que, se valor de F teórico (consultado em tabelas da literatura) é menor que F experimental (apresentados nas tabelas obtidas após a ANOVA) então esse fator afeta de um modo significativo essa mesma degradação. O valor de F experimental obtido para o modelo, pelo mesmo raciocínio, dá-nos informação sobre a validade do modelo.

Nas Tabelas 3.1 a 3.6 serão apresentados os resultados ANOVA obtidos para a degradação de cada um dos filtros em estudo em cada uma das etapas bem como serão discutidos os valores nelas apresentados.

Estudo do BMDM

Na Tabela 3.1. são apresentados os resultados obtidos na ANOVA para a influência do pH, temperatura, concentração de cloro e de MOD para o BMDM.

Tabela 3.1 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	β	SE $_{\beta}$
Sumário	Modelo	1486	14	106.163	1.994	0.1188		
	Erro	638.782	12	53.232				
	Ajuste total	2125	26	81.733				
Fator	Interceção	997.364	1	997.364	18.736	0.0010	18.233	4.212
	pH	184.867	1	184.867	3.473	0.0870	1.308	0.702
	T	40.701	1	40.701	0.765	0.3991	-0.184	0.211
	Cl	475.021	1	475.021	8.924	0.0113	139.815	46.804
	MOD	384.201	1	384.201	7.218	0.0198	-1.133	0.422
	pH x T	73.960	1	73.960	1.389	0.2614	-1.985	1.684
	pH x Cl	81.902	1	81.902	1.539	0.2385	2.088	1.684
	pH x MOD	0.640	1	0.640	0.0120	0.9145	0.185	1.684
	T x Cl	28.622	1	28.622	0.538	0.4775	1.235	1.684
	T x MOD	0.640	1	0.640	0.0120	0.9145	-0.185	1.684
	Cl x MOD	138.062	1	138.062	2.594	0.1333	-2.712	1.684
	pH x pH	13.796	1	13.796	0.259	0.6199	0.742	1.458
	T x T	26.601	1	26.601	0.500	0.4931	1.031	1.458
	Cl x Cl	71.378	1	71.378	1.341	0.2694	1.688	1.458
	MOD x MOD	12.134	1	12.134	0.228	0.6416	0.696	1.458
Verificação do Modelo	Principal	1085	4	271.198				
	Int	323.828	6	53.971	1.014	0.4607		
	Int + Squ	77.664	4	19.416	0.365	0.8291		
	Squ	77.664	4	19.416	0.365	0.8291		
	Erro	638.782	12	53.232				
Falta de Ajuste	Falta de ajuste	637.075	10	63.707	74.657	0.0133		
	Erro puro	1.707	2	0.853				
	Erro total	638.782	12	53.232				

Pela análise da Tabela 3.1, em primeiro lugar, não é possível concluir que o modelo é válido uma vez que o valor de *F* (1.994) é mais baixo que o valor teórico de *F* (2.637) para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$). Este resultado poderá ser devido à complexidade do modelo de degradação do BMDM uma vez que existe um número relativamente elevado de fatores experimentais em análise e também talvez devido à química deste filtro UV.

Em segundo lugar, podemos concluir que apenas as concentrações de cloro e de MOD parecem ter um efeito significativo na degradação do BMDM: para um nível de significância

de 5% ($\alpha=0.05$): apenas as concentrações de cloro e de MOD demonstram valores de F (8.924 e 7.218) superiores ao valor teórico (4.747), do mesmo modo que os valores de p para as concentrações de cloro e de MOD (0.0113 e 0.0198, respectivamente) são inferiores ao nível de significância de 5%. Para além disso não existem efeitos significativos de segunda ordem ou interações entre os quatro fatores. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (SE_{β}) para estas duas variáveis são Cl (140 ± 47) e MOD (-1.1 ± 0.4). A concentração de cloro mostra ser o principal fator que afeta a degradação do BMDM. A MOD também tem um efeito significativo embora mais reduzido.

As Figuras 3.1 e 3.2 mostram as superfícies de resposta da degradação do BMDM. Na Figura 3.1 onde está representada a temperatura em função do pH, podemos observar que os maiores valores de degradação do filtro UV acontecem a valores de pH elevados.

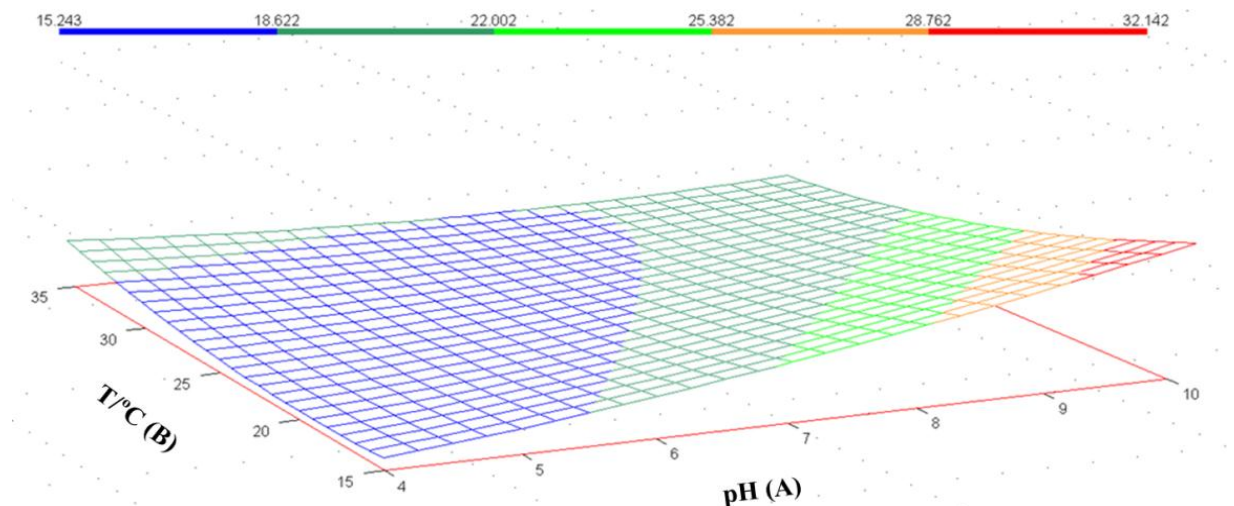


Figura 3.1 - Superfície de resposta obtida para o efeito da temperatura vs pH sobre a percentagem de degradação do BMDM.

Na Figura 3.2 está representada a concentração de cloro em função da concentração de MOD. Como se pode observar na figura, a percentagem de degradação do BMDM é superior a concentrações de cloro mais elevadas e inferior a concentrações de MOD também mais elevadas. Esta diminuição na percentagem de degradação do BMDM na presença de MOD pode ser explicada por um processo de competição entre o filtro UV e a MOD pelo cloro ativo disponível em solução diminuindo assim a percentagem de degradação do filtro UV. Subsequentemente, à medida que aumenta a concentração de MOD em solução, existe menos

cloro disponível em solução, o que significa então que há menos cloro disponível para reagir com filtro UV.

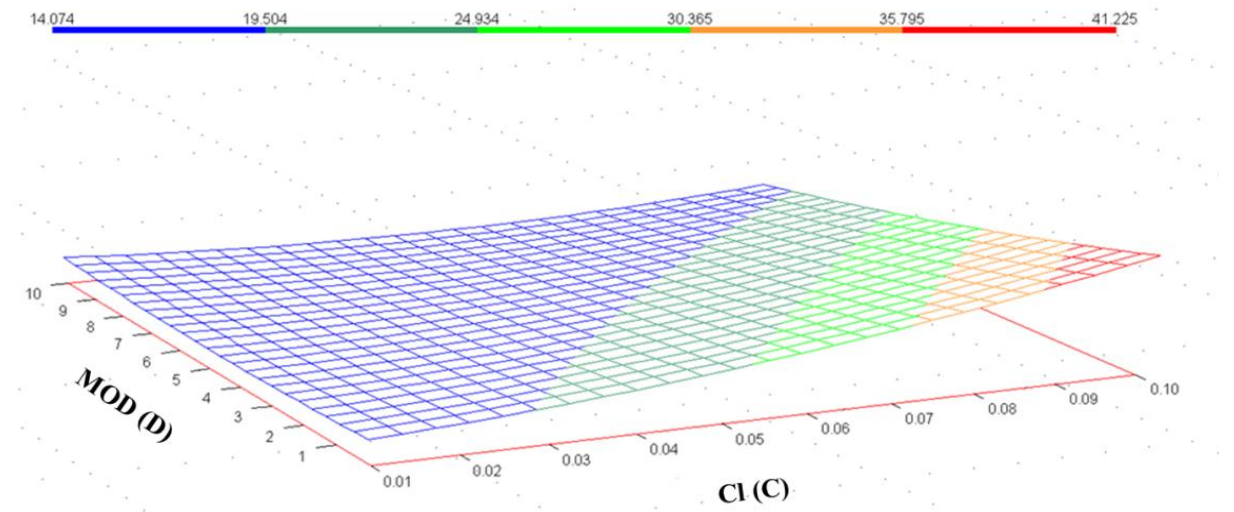


Figura 3.2 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs Cl sobre a percentagem de degradação de BMDM.

Estudo do EHMC

Quanto aos resultados obtidos para a degradação do EHMC, estes estão representados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do EHMC obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor F	Valor p	β	SE_{β}
Sumário	Modelo	5406	14	386.128	16.705	0.0000		
	Erro	277.372	12	23.114				
	Ajusto total	5683	26	218.583				
Fator	Interceção	3287	1	3287	142.199	0.0000	33.100	2.776
	pH (A)	1.688	1	1.688	0.073	0.7916	-0.125	0.463
	T (B)	4536	1	4536	196.231	0.0000	1.944	0.139
	Cl (C)	4.687	1	4.687	0.203	0.6605	0.625	1.388
	MOD (D)	1.401	1	1.401	0.0606	0.8097	0.0684	0.278
	pH x T	1.562	1	1.562	0.0676	0.7993	0.288	1.109
	pH x Cl	8.703	1	8.703	0.376	0.5509	-0.681	1.109
	pH x MOD	460.102	1	460.102	19.906	0.0008	-4.950	1.109
	T x Cl	16.810	1	16.810	0.727	0.4105	-0.946	1.109
	T x MOD	25.000	1	25.000	1.082	0.3188	1.154	1.109
	Cl x MOD	10.890	1	10.890	0.471	0.5055	-0.762	1.109
	pH x pH	233.496	1	233.496	10.102	0.0079	3.054	0.961
	T x T	0.926	1	0.926	0.040	0.8447	0.192	0.961
	Cl x Cl	136.913	1	136.913	5.923	0.0315	2.338	0.961
	MOD x MOD	84.978	1	84.978	3.676	0.0793	1.842	0.961
Verificação do Modelo	Principal	4544	4	1136				
	Int	523.068	6	87.178	3.772	0.0240		
	Int + Squ	339.212	4	84.803	3.669	0.0356		
	Squ	339.212	4	84.803	3.669	0.0356		
	Erro	277.372	12	23.114				
Falta de ajuste	Falta de ajuste	230.252	10	23.025	0.977	0.6058		
	Erro Puro	47.120	2	23.560				
	Erro Total	277.372	12	23.114				

Pela análise da Tabela 3.2 podemos concluir, em primeiro lugar, que o modelo é válido uma vez que o valor de F (16.705) é superior ao valor teórico (2.637) para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$).

Em segundo lugar, podemos observar que a temperatura parece ser o único fator que influencia a degradação do EHMC de um modo mais significativo: para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) o valor de F para o pH é de 0.07301, para a concentração de cloro de 0.203 e para a MOD de 0.06060 mostrando serem significativamente menores que o

valor teórico de F (4.747). Por outro lado, a temperatura apresenta um valor de F de 196.231 que é significativamente superior ao F teórico. Do mesmo modo os valores de p para o pH (0.7916), para a concentração de cloro (0.6605) e para a MOD (0.8097) estão um pouco acima do nível de significância de 5% e apenas a temperatura mostra um valor inferior (0.000) ao nível de significância referido. A análise dos efeitos de segunda ordem e interações mostram uma significativa interação entre o pH e a MOD (valor de $F=19.906$) bem como um efeito de segunda ordem para o pH e a concentração de cloro (valores de $F=10.102$ e 5.923, respectivamente).

Assim sendo, as variáveis que afetam significativamente a percentagem de degradação do EHMC são o coeficiente linear da temperatura, o coeficiente quadrático do pH e da concentração de cloro e o coeficiente pH x MOD. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (Se_{β}) para estas variáveis são T (1.9 ± 0.1); pH x pH (3.0 ± 1.0); Cl x Cl (2.3 ± 1.0); pH x MOD (-5.0 ± 1.1).

As Figuras 3.3 a 3.6 mostram todas as superfícies de resposta obtidas para a degradação do EHMC.

Pela análise da Figura 3.3 onde está representada a temperatura em função do pH podemos observar que as percentagens de degradação do EHMC são maiores a maiores temperaturas independentemente dos valores de pH estudados.

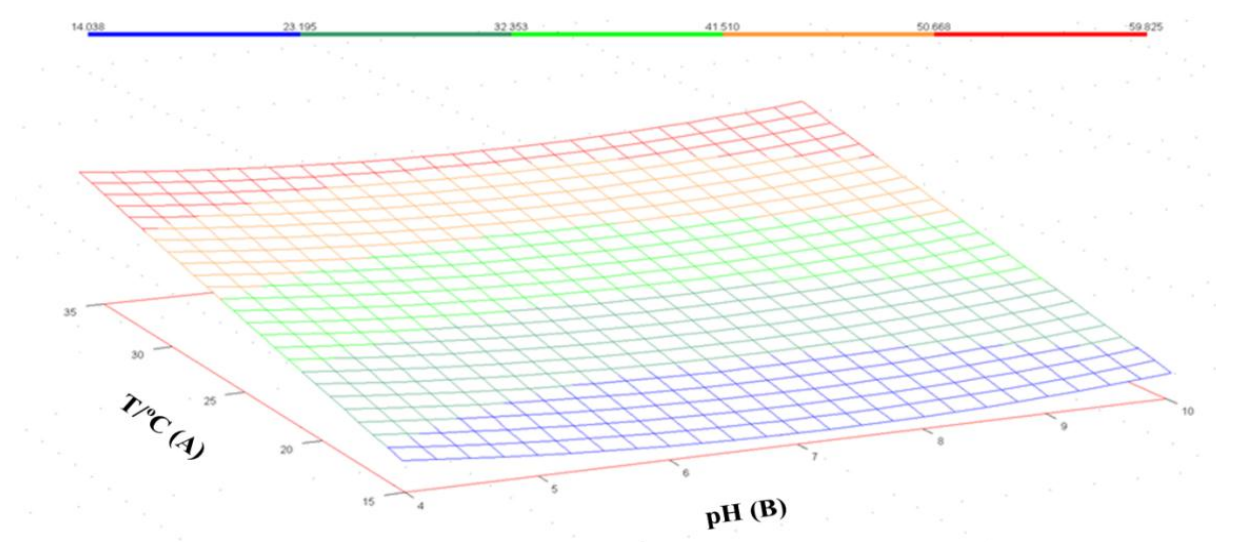


Figura 3.3 - Superfície de resposta obtida para o efeito da temperatura vs pH sobre a percentagem de degradação do EHMC.

Na Figura 3.4. está representada a superfície de resposta correspondente à MOD em função do pH relativa à degradação do EHMC. Nesta figura podemos observar que as percentagens de degradação do filtro UV são mais altas a maiores concentrações de MOD e a maiores valores pH.

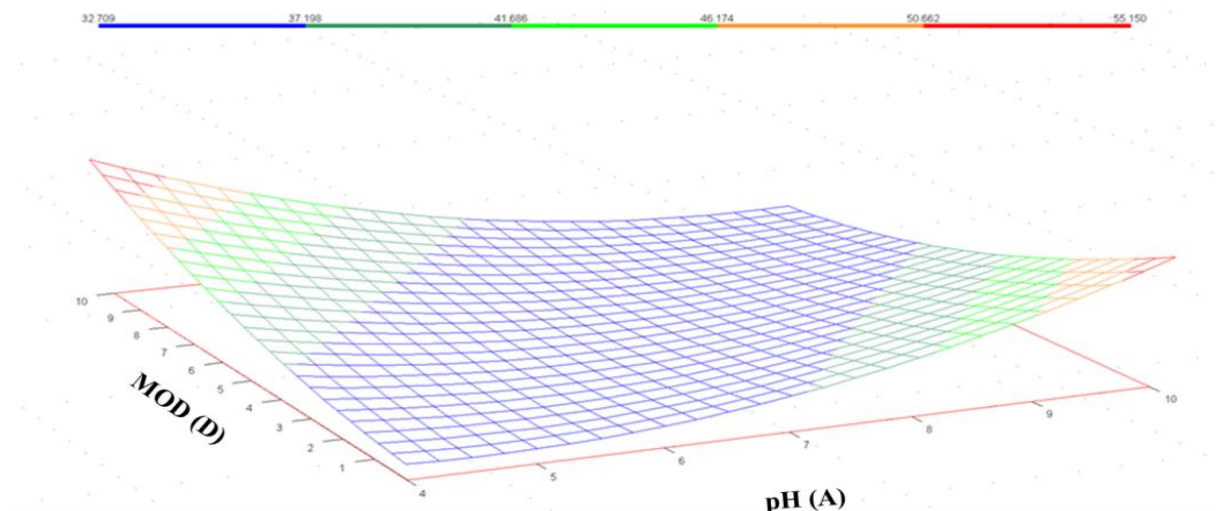


Figura 3.4 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs pH sobre a percentagem de degradação do EHMC.

Na Figura 3.5 está representada a MOD em função da temperatura. Uma vez mais podemos observar que as percentagens de degradação são maiores a temperaturas mais altas, independentemente dos valores de concentração da MOD. Isto acontece porque a temperatura é a variável com o efeito mais significativo sob a degradação do EHMC.

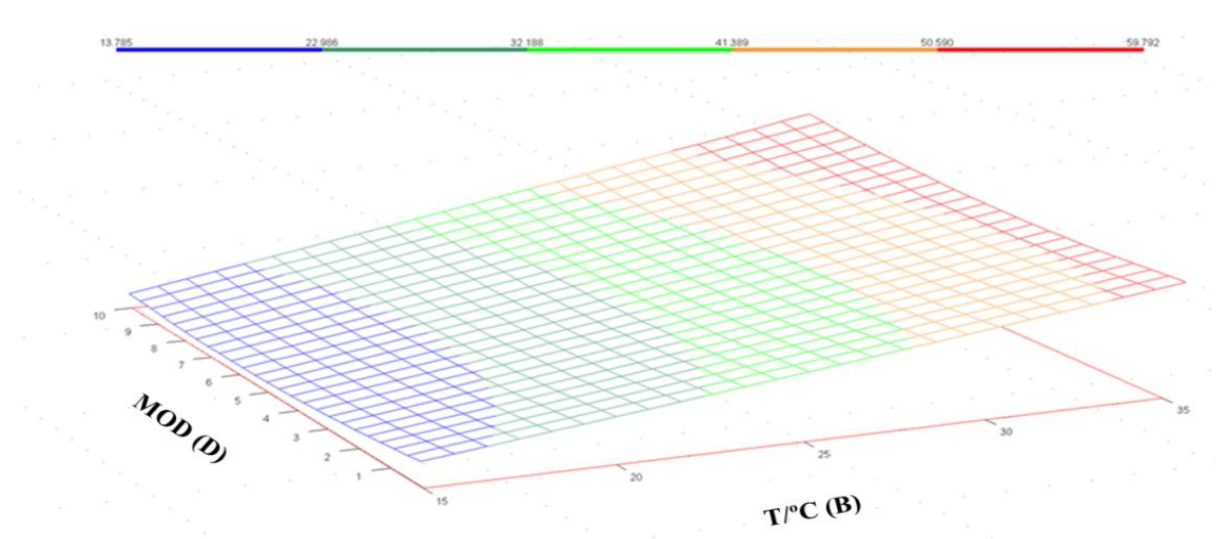


Figura 3.5 - Superfície de resposta obtida para o efeito da MOD vs temperatura sobre a percentagem de degradação do EHMC.

Por último na Figura 3.6. onde está representada a concentração de Cl em função da temperatura podemos observar uma vez mais que as maiores percentagens de degradação acontecem a valores de temperatura mais altos, independentemente da concentração de cloro.

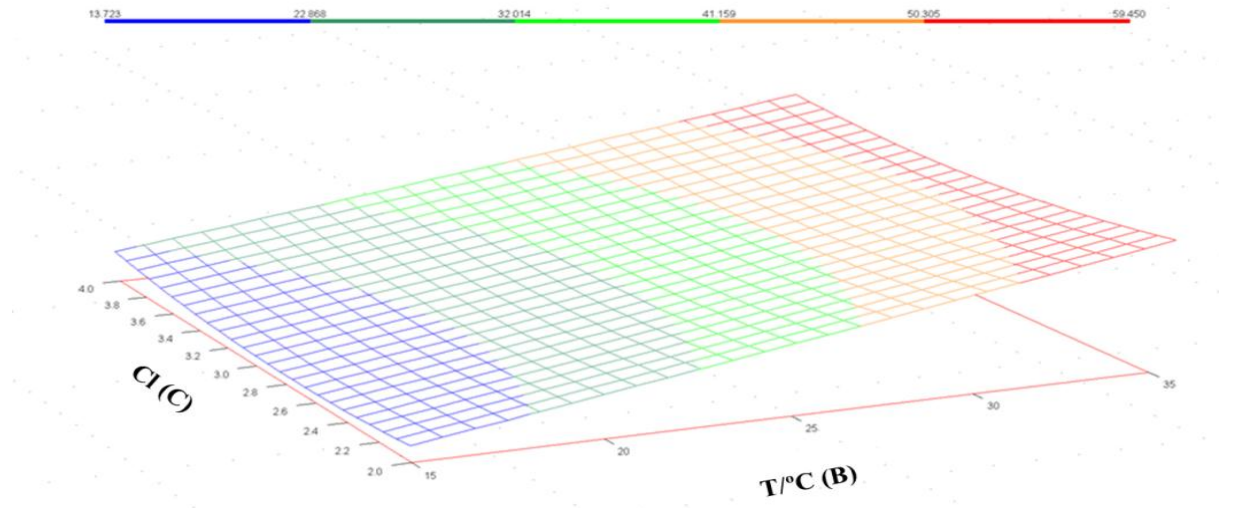


Figura 3.6 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs temperatura sobre a percentagem de degradação do EHMC.

3.2. Estudo do efeito do pH, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida e tempo de exposição à irradiação solar artificial na degradação do BMDM e EHMC

Na segunda etapa deste trabalho foi avaliado o efeito do pH, concentração de cloro, MOD e tempo de exposição à irradiação solar artificial com a temperatura constante (temperatura ambiente), na percentagem de degradação dos filtros UV.

Estudo do BMDM

Os resultados da análise do ANOVA obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken para o BMDM estão presentes na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	β	SE $_{\beta}$
Sumário	Modelo	6544	14	467.39	3.532	0.0173		
	Erro	1588	12	132.33				
	Ajuste Total	8132	26	312.75				
Fator	Interceção	43.320	1	43.320	0.327	0.5778	3.800	6.642
	pH (A)	1791	1	1791	13.534	0.0032	4.072	1.107
	Cl (B)	720.753	1	720.75	5.447	0.0378	172.2	73.796
	MOD (C)	1.613	1	1.613	0.0122	0.9139	0.073	0.665
	Temp. de irrad. (D)	0.653	1	0.653	0.0049	0.9451	0.023	0.332
	pH x Cl	24.503	1	24.503	0.185	0.6746	1.142	2.655
	pH x MOD	60.839	1	60.839	0.460	0.5106	1.800	2.655
	pH x T. de irrad.	30.802	1	30.802	0.233	0.6382	-	2.655
	Cl x MOD	299.291	1	299.29	2.262	0.1585	-	2.655
	Cl x T. de irrad.	6.502	1	6.502	0.049	0.8283	0.588	2.655
	MOD x T de irrad.	635.044	1	635.04	4.799	0.0490	-	2.655
	pH x pH	2426	1	2426	18.335	0.0011	9.844	2.299
	Cl x Cl	250.559	1	250.55	1.893	0.1940	3.163	2.299
	MOD x MOD	302.335	1	302.33	2.285	0.1565	3.475	2.299
	T. irrad. x T. irrad.	1396	1	1396	10.550	0.0070	7.467	2.299
Verificação do modelo	Principal	2514	4	628.49				
	Int	1057	6	176.16	1.331	0.3162		
	Int + Squ	2973	4	743.15	5.616	0.0088		
	Squ	2973	4	743.15	5.616	0.0088		
	Erro	1588	12	132.33				
Falta de ajuste	Falta de ajuste	1587	10	158.68	278.396	0.0036		
	Erro puro	1.140	2	0.570				
	Erro Total	1588	12	132.33				

O estudo para o BMDM foi feito a uma temperatura média de $(23.0 \pm 0.7) ^\circ\text{C}$.

Pela análise da Tabela 3.3 é possível concluir, em primeiro lugar, que o modelo é válido uma vez que o valor de *F* obtido (3.532) é superior ao valor de *F* teórico (2.637) para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$).

Em segundo lugar e tendo em conta os valores presentes na tabela, podemos concluir que a concentração de cloro e o pH são as variáveis com um efeito mais significativo nas

percentagens de degradação do BMDM uma vez que os valores de F (5.447 e 13.534 respectivamente) são superiores ao valor teórico referido anteriormente ($F=4.747$).

Em relação aos fatores de segunda ordem, o pH x pH (com um valor de F de 18.335) e o tempo de irradiação x tempo de irradiação (com um valor de F de 10.550) têm também um efeito significativo na degradação do BMDM. Uma outra importante interação parece ser entre MOD vs Tempo de irradiação (com um valor de F de 4.799).

Assim sendo, no caso do BMDM as variáveis que afetam de um modo mais significativo a sua degradação são os coeficientes lineares pH e concentração de cloro, os coeficientes quadráticos pH x pH e coeficiente de irradiação x tempo de irradiação e o produto MOD x tempo de irradiação. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (Se_{β}) para estas variáveis são pH (4.1 ± 1.1); Cl (172 ± 74); pH x pH (9.8 ± 2.3); tempo de irradiação x tempo de irradiação (7.5 ± 2.3); MOD x tempo de irradiação (-5.8 ± 2.7).

Estes resultados mostram que a concentração de cloro é o principal fator que afeta a degradação do BMDM. Os outros fatores mostram também um efeito significativo, no entanto, mais reduzido do que a concentração de cloro.

As Figuras 3.7 a 3.9 mostram as superfícies de resposta obtidas para a degradação do BMDM.

Na Figura 3.7 está representada a superfície de resposta da concentração de cloro vs pH. Como é possível observar na figura as maiores percentagens de degradação do filtro UV ocorrem a maiores concentrações de cloro independentemente do valor de pH.

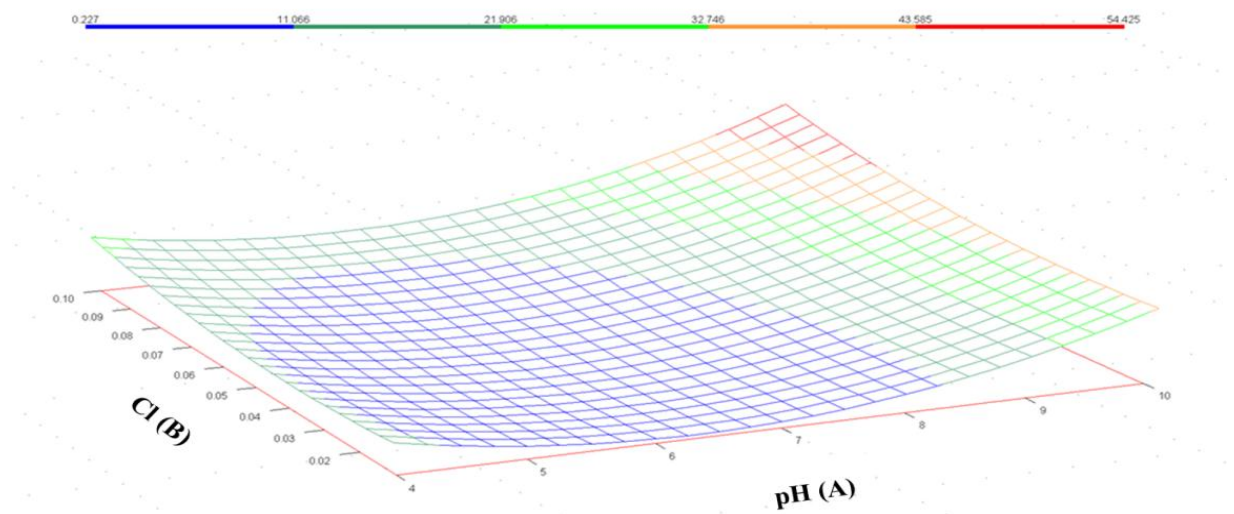


Figura 3.7 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs pH sobre a percentagem de degradação de BMDM.

Já na Figura 3.8 onde observamos a superfície de resposta que representa a influência do tempo de irradiação solar artificial vs pH podemos concluir que a degradação é mais elevada a níveis de pH mais elevados independentemente do tempo de exposição à irradiação.

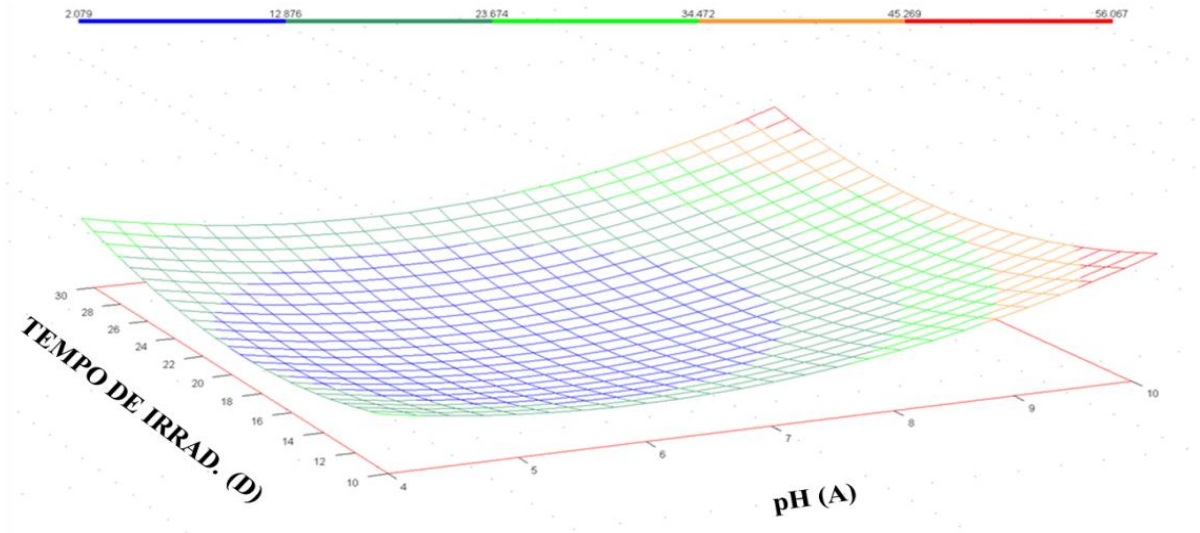


Figura 3.8 - Superfície de resposta obtida para o efeito do tempo de irradiação vs pH sobre a percentagem de degradação de BMDM.

Por último na Figura 3.9 onde está representada a influência do tempo de irradiação vs concentração de cloro podemos observar que as percentagens de degradação do BMDM são mais significativas a concentrações de cloro mais elevadas.

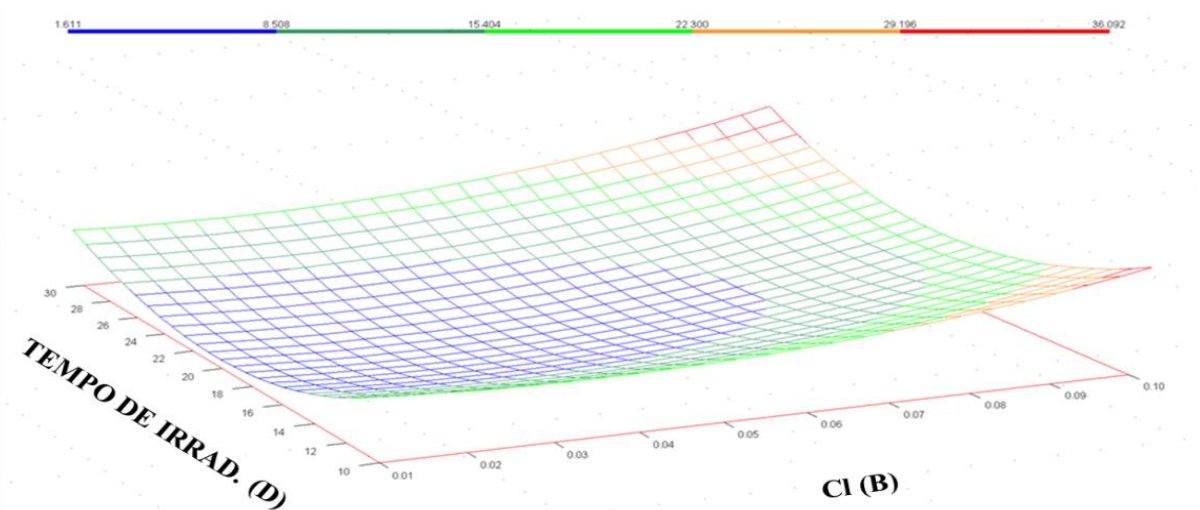


Figura 3.9 - Superfície de resposta obtida para o efeito do tempo de irradiação vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação de BMDM.

Estudo do EHMC

No que diz respeito aos resultados obtidos para a degradação do EHMC, estes estão presentes na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do EHMC obtidos usando desenhos experimentais Box Behnken.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	β	SE β
Sumário	Modelo	5253	14	375.234	1.442	0.2655		
	Erro	3122	12	260.200				
	Ajuste Total	8376	26	322.141				
Fator	Interceção	3066	1	3066	11.782	0.0060	31.967	9.313
	pH (A)	1.613	1	1.613	0.006	0.9385	0.122	1.552
	Cl (B)	209.168	1	209.168	0.804	0.3876	-4.175	4.657
	MOD (C)	224.467	1	224.467	0.863	0.3713	-0.866	0.932
	Temp. de irrad. (D)	1496	1	1496	5.751	0.0336	-0.744	0.310
	pH x Cl	1436	1	1436	5.520	0.0367	-8.746	3.722
	pH x MOD	171.610	1	171.610	0.660	0.4325	3.023	3.722
	pH x T. irrad.	0.160	1	0.160	0.0006	0.9806	-0.0923	3.722
	Cl x MOD	492.840	1	492.840	1.894	0.1939	5.123	3.722
	Cl x T. de irrad.	7.563	1	7.563	0.029	0.8675	0.635	3.722
	MOD x T. irrad	36.602	1	36.602	0.141	0.7142	1.396	3.722
	pH x pH	603.974	1	603.974	2.321	0.1535	4.912	3.224
	Cl x Cl	32.122	1	32.122	0.123	0.7314	1.133	3.224
	MOD x MOD	308.391	1	308.391	1.185	0.2977	3.510	3.224
	T. irrad. x T. irrad.	86.761	1	86.761	0.333	0.5743	-1.862	3.224
Verificação do modelo	Principal	1932	4	482.896				
	Int	2145	6	357.531	1.374	0.3004		
	Int + Squ	1177	4	294.126	1.130	0.3879		
	Squ	1177	4	294.126	1.130	0.3879		
	Error	3122	12	260.200				
Falta de ajuste	Falta de ajuste	3091	10	309.060	19.434	0.0499		
	Erro puro	31.807	2	16.903				
	Erro total	3122	12	260.200				

O estudo para o EHMC foi realizado a uma temperatura média de $(21.3 \pm 0.7) ^\circ\text{C}$.

Pela análise da Tabela 3.4, em primeiro lugar, não é possível concluir que o modelo é válido uma vez que o valor de *F* (1.442) é mais baixo que o valor teórico de *F* para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) que é igual a 2.637.

Em segundo lugar, podemos concluir que o tempo de irradiação solar artificial parece ser o único fator com um efeito significativo na degradação do EHMC com um valor de *F* igual a 5.751, que é superior ao *F* teórico (4.747). No que diz respeito a termos de segunda

ordem ou interações entre fatores, o fator pH x Cl parece ser o único que mostra um efeito significativo com um valor de F igual a 5.520.

Assim sendo, para o EHMC, as variáveis que afetam de um modo significativo a sua degradação são o coeficiente linear do tempo de irradiação artificial e a interação pH x Cl. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (Se_{β}) para estas variáveis são: tempo de irradiação (-0.7 ± 0.3) e pH x Cl (-8.7 ± 3.7).

As Figuras 3.10 e 3.11 mostram as superfícies de resposta para a degradação do EHMC.

Na Figura 3.10 onde está representada a concentração de MOD em função do tempo de irradiação, podemos observar que as percentagens de degradação são mais elevadas para tempos de exposição à irradiação solar artificial elevados independentemente do valor da concentração de MOD. O EHMC é conhecido pela sua fotoisomerização da sua forma E para a sua forma Z quando exposto à irradiação^[12,17] solar pelo que maiores tempos de irradiação solar conduzem a uma maior degradação do EHMC.

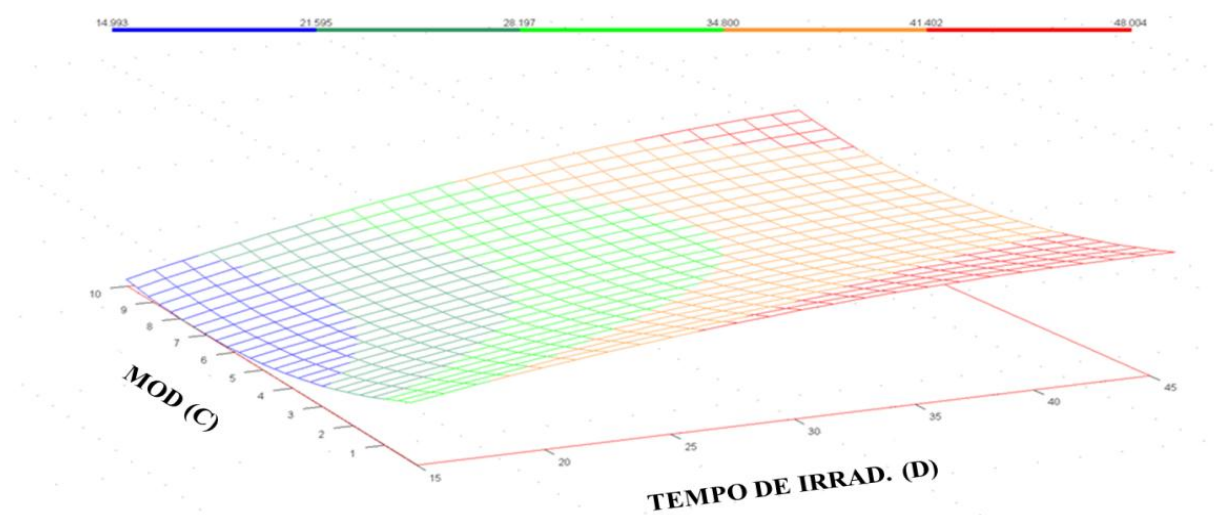


Figura 3.10 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs tempo de irradiação sobre a percentagem de degradação do EHMC.

Por último na Figura 3.11, onde está a representação da superfície de resposta concentração de MOD vs tempo de irradiação, pode-se dizer que as maiores percentagens de degradação ocorrem para maiores concentrações de MOD e maiores valores de pH.

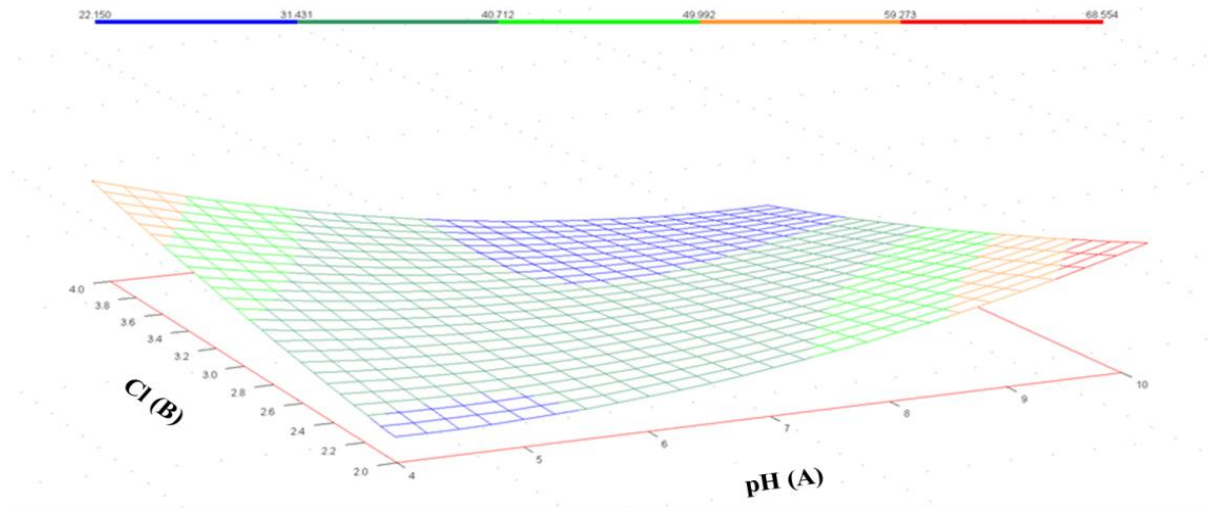


Figura 3.11 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de cloro vs pH sobre a percentagem de degradação do EPMC.

3.3. Estudo do efeito da concentração de cloro e da concentração de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC em formulações cosméticas.

Na terceira etapa deste trabalho foi realizado um estudo do efeito da concentração de cloro e de MOD na degradação dos mesmos filtros anteriormente estudados mas desta vez inseridos em formulações cosméticas de proteção solar, de marcas comerciais amplamente usadas.

Numa primeira fase foi feita a seleção dos protetores comerciais a estudar de modo a que cada um contivesse apenas um dos filtros UV em estudo, e não a sua mistura, a fim de conseguir ver qual o efeito das duas variáveis na degradação de cada filtro UV quando inserido numa formulação cosmética. Assim sendo, foram selecionados dois protetores solares, da mesma marca e com o mesmo fator de proteção solar (FPS), onde um deles continha o BMDM na sua composição e o outro continha o EHMC.

Numa segunda fase, uma determinada quantidade de cada protetor solar foi dissolvida em água desionizada e foi feito um estudo da cinética de solubilização dos mesmos em água. Em determinados períodos de tempo, uma quantidade de cada uma das amostras era analisada por HPLC a fim de perceber se a área do pico correspondente ao filtro UV estabilizava, significando assim que a quantidade de filtro UV na amostra já tinha sido totalmente dissolvida e se mantinha constante ao longo do tempo e assim poder avançar para a fase seguinte.

Na fase seguinte foram então adicionadas diferentes quantidades de cloro às amostras a fim de determinar qual o intervalo de concentrações a estudar bem como o tempo de reação a fim de que a percentagem de degradação obtida no final fosse quantificável. No entanto, no caso do EHMC e após adição de diferentes quantidades de solução de cloro, verificou-se que este não se degradava dentro do intervalo de concentrações de cloro expectáveis de encontrar em águas de piscinas. Por este motivo, decidiu-se não fazer o estudo para o EHMC, fazendo apenas para o protetor solar contendo o BMDM.

Decididos então quais os intervalos de cloro e de MOD a estudar e uma vez mais com o auxílio do planeamento experimental informático já referido, foram determinados um total de 21 ensaios a realizar seguindo a metodologia descrita no Capítulo 2, secção 2.2.5.

Os resultados obtidos para a degradação do BMDM numa formulação cosmética comercial estão apresentados na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando um desenho experimental Compósito Central.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor F	Valor p	β	SE_{β}
Sumário	Modelo	3432	5	686.314	34.523	0.0000		
	Erro	298.195	15	19.880				
	Ajuste Total	3730	20	186.488				
Fator	Interceção	4584	1	4584	230.607	0.0000	30.280	1.994
	Cl (A)	1203	1	1203	60.497	0.0000	11.560	1.486
	MOD (B)	1299	1	1299	65.323	0.0000	-3.003	0.372
	Cl x MOD	256.511	1	256.511	12.903	0.0027	-4.530	1.261
	Cl x Cl	563.261	1	563.261	28.334	0.0001	-5.910	1.110
	MOD x MOD	1.981	1	1.981	0.0997	0.7566	0.350	1.110
Verificação do modelo	Principal	2501	2	1251				
	Int	256.511	1	256.511	12.903	0.0027		
	Int + Squ	673.789	2	336.894	16.947	0.0001		
	Squ	673.788	2	336.894	16.947	0.0001		
	Error	298.195	15	19.880				
Falta de ajuste	Falta de ajuste	271.092	3	90.364	40.009	0.0000		
	Erro puro	27.103	12	2.259				
	Erro total	298.195	15	19.880				

Pela análise da Tabela 3.5, é possível concluir que o modelo é válido uma vez que o valor de F (34.523) é superior ao valor teórico de F para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) que é igual a 2.901.

Em segundo lugar, e pela análise dos valores apresentados na tabela podemos ver que as concentrações de cloro e de MOD parecem ter um efeito significativo na degradação do BMDM: para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) as concentrações de cloro e de MOD demonstram valores de F (60.497 e 65.323 respetivamente) superiores ao valor teórico (4.543), do mesmo modo que os valores de p para as concentrações de cloro e de MOD (0.0000 e 0.0000 respetivamente) são inferiores ao nível de significância de 5%. Quanto aos coeficientes de segunda ordem, o coeficiente quadrático da concentração de cloro (Cl x Cl) e o produto Cl x MOD também apresentam um efeito significativo na degradação do BMDM, uma vez que os seus valores de F (28.334 e 12.903) são relativamente superiores ao valor teórico referido anteriormente. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (SE_{β}) para estas duas variáveis são Cl (11.6 ± 1.5) e MOD (-3.0 ± 0.4).

A Figura 3.12 representa a superfície de resposta obtida para a degradação do BMDM. Nela está representada a concentração de MOD em função da concentração de cloro. Pode-se

observar que as maiores percentagens de degradação acontecem a concentrações de cloro elevadas independentemente da concentração de MOD.

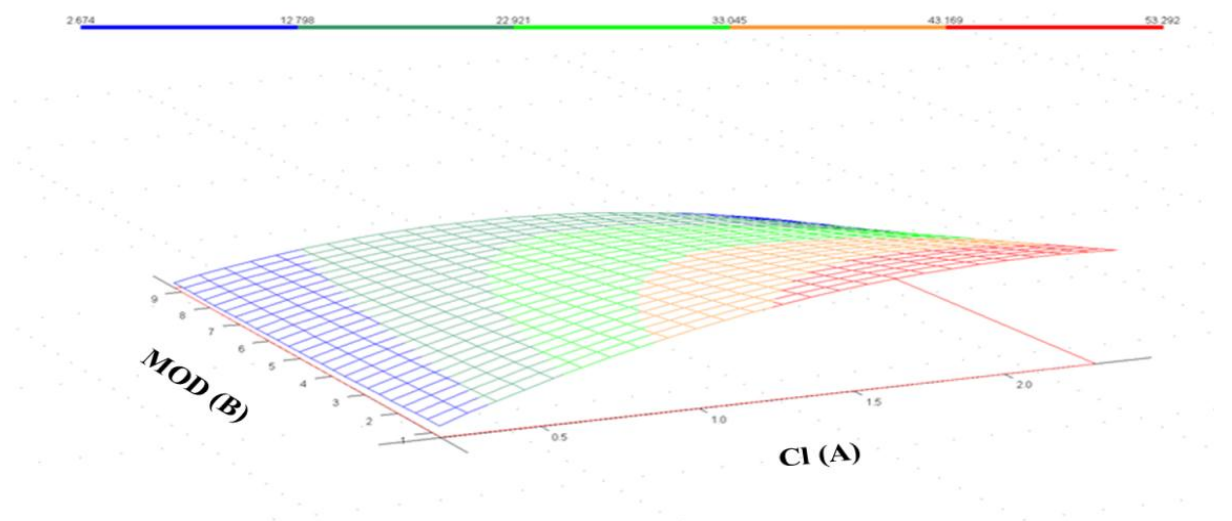


Figura 3.12 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação do BMDM.

Em semelhança com os resultados obtidos no ponto 3.1., onde foi avaliado o efeito da temperatura, pH, concentração de cloro e de MOD na degradação do BMDM isoladamente, os resultados obtidos para a degradação do mesmo filtro UV mas desta vez inserido numa formulação cosmética parecem confirmar os já obtidos anteriormente, ou seja, maiores concentrações de cloro evidenciam levar a uma maior degradação do filtro UV e maiores concentrações de MOD levam a uma diminuição dessa mesma degradação, tendo em conta que esta compete com o filtro UV pelo cloro livre em solução.

Posto isto, poder-se-á dizer que apesar de o filtro UV estar inserido numa formulação cosmética sofre igual degradação quando posto em contato com o cloro, confirmando assim os resultados obtidos nas etapas anteriores.

Tendo em conta que não foi possível realizar o mesmo estudo para uma formulação cosmética contendo o EHMC, uma vez que este não sofria degradação quando exposto a concentrações de cloro aceitáveis, optou-se por realizar o mesmo estudo para um outro protetor solar comercial, de diferente marca, contendo igualmente o BMDM.

O objetivo deste segundo estudo foi comparar a degradação do BMDM nas diferentes marcas de protetores solares. Assim sendo, foi escolhido um protetor solar em tudo semelhante ao estudado anteriormente (mesmo FPS) cujas características estão descritas na Tabela 2.6 do Capítulo 2.

Os resultados obtidos estão presentes na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - ANOVA para análise dos efeitos das variáveis estudadas na degradação do BMDM obtidos usando um desenho experimental Compósito Central.

	Variável	SQ	gl	MQ	Valor <i>F</i>	Valor <i>p</i>	β	SE $_{\beta}$
Sumário	Modelo	3209	5	641.790	26.854	0.0000		
	Erro	358.489	15	23.899				
	Ajuste Total	3567	20	178.372				
Fator	Interceção	8921	1	8921	373.279	0.0000	42.240	2.186
	Cl (A)	1271	1	1271	53.169	0.0000	11.882	1.630
	MOD (B)	986.933	1	986.933	41.296	0.0000	-2.618	0.407
	Cl x MOD	407.551	1	407.551	17.053	0.0009	-5.710	1.383
	Cl x Cl	11.018	1	11.018	0.461	0.5075	0.827	1.217
	MOD x MOD	517.891	1	517.891	21.670	0.0003	5.666	1.217
	Principal	2258	2	1129				
Verificação do modelo	Int	407.552	1	407.552	17.053	0.0009		
	Int + Squ	543.767	2	271.883	11.376	0.0010		
	Squ	543.767	2	271.883	11.376	0.0010		
	Error	358.489	15	23.899				
Falta de ajuste	Falta de ajuste	293.322	3	97.774	18.004	0.0001		
	Erro puro	65.167	12	5.431				
	Erro total	358.489	15	23.899				

Uma vez mais, pela análise da Tabela 3.6, é possível concluir que o modelo é válido uma vez que o valor de *F* (26.854) é superior ao valor teórico de *F* para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) que é igual a 2.901.

Pelos valores apresentados na tabela podemos ver que as concentrações de cloro e de MOD parecem ter um efeito significativo na degradação do BMDM: para um nível de significância de 5% ($\alpha=0.05$) as concentrações de cloro e de MOD demonstram valores de *F* (53.169 e 41.296 respectivamente) superiores ao valor teórico (4.543), do mesmo modo que os valores de *p* para as concentrações de cloro e de MOD (0.0000 e 0.0000 respectivamente) são inferiores ao nível de significância de 5%. Quanto aos coeficientes de segunda ordem, o coeficiente quadrático da concentração de MOD (MOD x MOD) e o produto Cl x MOD também apresentam um efeito significativo na degradação do BMDM, uma vez que os seus valores de *F* (21.670 e 17.053) são relativamente superiores ao valor teórico referido anteriormente. O coeficiente de regressão (β) e correspondente desvio padrão (SE $_{\beta}$) para estas duas variáveis são Cl (11.9 ± 1.6) e MOD (-2.6 ± 0.4).

A Figura 3.13 representa a superfície de resposta obtida para a degradação do BMDM. Nela está representada a concentração de MOD em função da concentração de cloro. Pode-se

observar que as maiores percentagens de degradação acontecem, também, a concentrações de cloro elevadas independentemente da concentração de MOD.

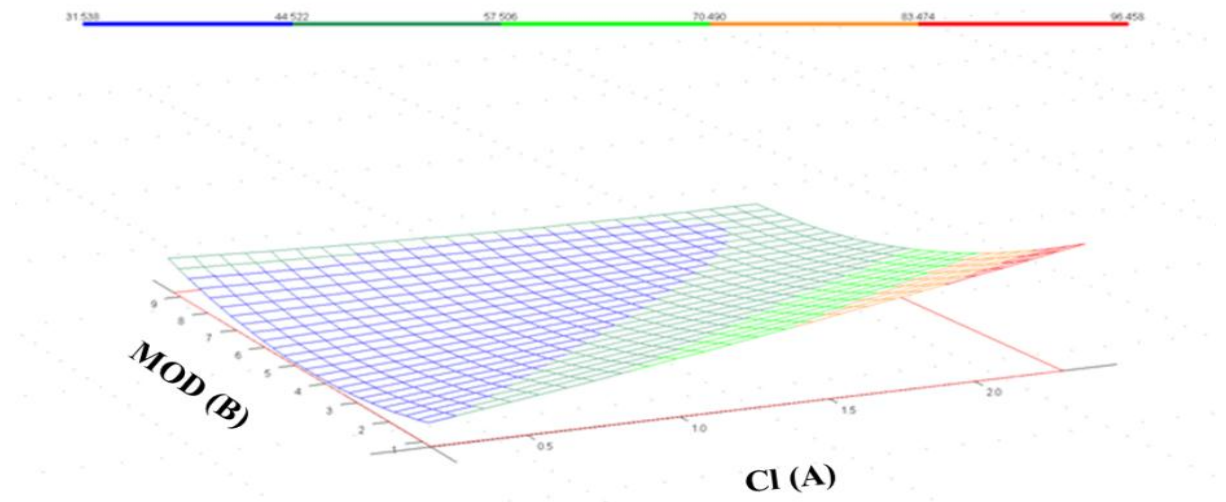


Figura 3.13 - Superfície de resposta obtida para o efeito da concentração de MOD vs concentração de cloro sobre a percentagem de degradação do BMDM.

Com este estudo, foi possível confirmar que o BMDM sofre igual degradação quando inserido numa formulação cosmética de proteção solar. Em adição a este fato, ao realizarmos este segundo estudo para a degradação do BMDM num outro protetor solar, foi possível observar que as percentagens de degradação variam de marca para marca provavelmente devido aos outros componentes presentes na formulação cosmética que poderão ou não influenciar a degradação do mesmo.

Capítulo 4

Conclusões e Trabalho Futuro

4. Conclusões e Trabalho Futuro

4.1. Conclusões

Após a realização deste trabalho experimental podemos retirar as seguintes conclusões:

Na primeira etapa deste trabalho onde foi avaliada a influência do pH, temperatura, concentração de cloro e de matéria orgânica dissolvida na degradação do BMDM e do EHMC é possível concluir que:

Para o BMDM os fatores que evidenciam ter um efeito mais significativo na sua degradação são as concentrações de cloro e de matéria orgânica dissolvida, mostrando que maiores concentrações de cloro conduzem a uma maior percentagem de degradação enquanto maiores concentrações de MOD conduzem a menores percentagens de degradação.

No caso do EHMC o fator com o efeito mais significativo na sua percentagem de degradação é a temperatura, na medida em que temperaturas mais elevadas levam a maiores percentagens de degradação.

Na segunda etapa onde foi avaliada a influência do pH, concentração de cloro, de matéria orgânica dissolvida e do tempo de exposição à irradiação solar artificial, mantendo a temperatura constante, podemos concluir que:

Para o BMDM podemos concluir que a concentração de cloro e o pH são os fatores com maior influência na degradação do filtro UV, na medida em que maiores concentrações de cloro e maiores pHs conduzem a uma maior degradação.

Para o EHMC o fator com efeito mais significativo é o tempo de exposição à irradiação solar artificial sendo que tempos de exposição mais elevados levam a uma maior degradação do filtro UV.

Na terceira e última etapa deste trabalho onde foi avaliado a influência da concentração de cloro e de MOD na degradação do BMDM em duas formulações cosméticas de diferentes marcas, podemos concluir que os dois fatores têm um efeito significativo na degradação do filtro, na medida em que maiores concentrações de cloro conduzem a maiores percentagens de

degradação e maiores concentrações de MOD conduzem a menores percentagens de degradação.

4.2. Trabalho Futuro

A degradação de filtros UV e respetiva formação dos subprodutos de degradação é um tema sob o qual deve incidir ainda muitos estudos.

Primeiramente seria necessário estabelecer quais os fatores que influenciam essa degradação e em que circunstâncias esta é mais evidente.

De seguida, seria necessário determinar e identificar todos os subprodutos de degradação formados e perceber se estes têm efeitos tóxicos para a saúde humana e do ambiente e quais as consequências que poderão surgir após a exposição a este tipo de compostos.

Seria ainda importante a análise de amostras reais de águas de piscina na época sazonal de maior utilização de modo a determinar e quantificar a presença de filtros UV e dos seus subprodutos de degradação, percebendo assim o que acontece na realidade.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- [1] Rougier, A.; Schaefer, H.; **1998**; *Protection of the Skin against Ultraviolet Radiations*; John Libbey Eurotext; France; 3-14.
- [2] Granger, K. Lee; Brown, P. R.; **2001**; *The Chemistry and HPLC Analysis of Chemical Sunscreen Filters in Sunscreens and Cosmetics*; J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.; 24; 2895-2924.
- [3] Taylor, C.R., Stern, S., Leyden, J.J., Gilchrest, B.A.; **1990**; *Photoaging/photodamage and photoprotection*; J. Am. Acad. of Dermatol.; 22, 1.
- [4] Ziegler, A., Jonason, A.S., Leffeti, D.J., Simon, J.A., Sharma, H.W., Kimmelman, J., Remington, L., Jacks, T., Brash, D.A.; **1994**; *Sunburn and p53 in the onset of skin cancer*; Nature; 372,773.
- [5] Kimbrough, D.R.; **1997**; *The Photochemistry of Sunscreens*; J. Chem. Educ.; 74; 51.
- [6] Shaath, N.A.; **2005**; *The chemistry of ultraviolet filters, in Sunscreens: Regulations and Commercial Development*; 3rd Edition; Taylor & Francis; New York, USA; 217-238.
- [7] Shaath, N.A.; **2010**; *Ultraviolet filters*; Photochem. Photobiol. Sci. 9 (4); 464, 469.
- [8] Giokas, D.L., Salvador, A., Chisvert, A.; **2007**; *UV filters: from sunscreens to human body and the environment*; Trends Anal. Chem.; 26 (5); 360, 374.
- [9] Granger, K.Lee and Brown, P.R.; **2001**; *The Chemistry and HPLC Analysis of Chemical Sunscreen Filters in Sunscreens and Cosmetics*; J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.; 24:19; 2895-2924.
- [10] www.sigmaaldrich.com (consultado a 10-07-2012).
- [11] Giokas, D.L., Vlessidis, A.G.; **2007**; *Application of a novel chemometric approach to the determination of aqueous photolysis rates of organic compounds in natural waters*; Talanta; 71 (1); 288, 295.
- [12] Serpone, N., Salinaro, A., Emeline, A.V., Horikoshi, S., Hidaka, H., Zhao, J.; **2002**; *An in vitro systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of*

commercial sunscreen lotions and their chemical UVB/UVA agents; Photochem. Photobiol. Sci.; 1 (12); 970, 981.

[13] Inbaraj, J.J., Bilski, P., Chignell, C.F.; **2002**; *Photophysical and photochemical studies of 2-phenylbenzimidazole and UVB sunscreen 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid*; Photochem. Photobiol.; 75 (2); 107, 116.

[14] Zhang, S., Chen, J., Qiao, X., Ge, L., Cai, X., Na, G.;**2010**; *Quantum chemical investigation and experimental verification on the aquatic photochemistry of the sunscreen 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid*; Environ. Sci. & Technol.; 44 (19); 7484, 7490.

[15] Huong, S.P., Rocher, E., Fourneron, J.-D., Charles, L., Monnier, V., Bund, H., Andrieu, V.; **2008**; *Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions*; J. Photochem. Photobiol. A; 196 (1); 106,112.

[16] Schwack, W., Rudolph, T.; **1995**; *Photochemistry of dibenzoyl methane UVA filters, part I*; J. Photochem. Photobiol. B; 28 (3); 229,234.

[17] Huong, S.P., Andrieu, V., Reyner, J.-P., Rocher, E., Fourneron, J.-D.; **2007**; *The photoisomerization of the sunscreen ethylhexyl p-methoxy cinnamate and its influence on the sun protection factor*; J. Photochem. Photobiol. A; 186 (1); 65,70.

[18] Pattanaargson, S. and Limphong, P.; **2001**; *Stability of octyl methoxycinnamate and identification of its photo-degradation product*; Int. J. Cosmet Sci.; 23; 153-160.

[19] Berset, G., Gonzenbach, H., Christ, R., Martin, R., Deflandre, A., Mascotto, R.E., Jolley, J.D.R., Lowell, W., Pelzer, R., Stiehm, T.; **1996**; *Proposed protocol for determination of photostability Part I: cosmetic UV filters*; Int. J. Cosmet Sci.; 18; 167-177.

[20] Rodil, R., Moeder, M., Altenburger, R., Schmitt-Jansen, M.; **2009**; *Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water*; Anal. Bioanal. Chem.; 395 (5); 1513,1524.

[21] Broadbent, J.K., Martincigh, B.S., Raynor, M.W., Salter, L.F., Moulder, R., Sjoberg, P., Markides, K.E.; **1996**; *Capillary supercritical fluid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for the investigation of photoproduct formation in the sunscreen absorber 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate*; J. Chromatogr. A; 732 (1); 101,110.

- [22] Dondi, D., Albini, A., Serpone, N.; **2006**; *Interactions between different solar UVB/UVA filters contained in commercial suncreams and consequent loss of UV protection*; Photochem. Photobiol. Sci.; 5 (9); 835,843.
- [23] MacManus-Spencer, L.A., Tse, M.L., Klein, J.L., Kracunas, A.E.; **2011**; *Aqueous photolysis of organic ultraviolet filter chemical octyl methoxycinnamate*; Environ. Sci. Technol.; 45 (9); 3931,3937.
- [24] World Health Organization (WHO); **2006**; *Swimming Pools and Similar Environments; Guidelines for Safe Recreational Water Environments*; vol. 2; 60,79 (Chapter 4).
- [25] Thebbutt, T.H.Y.; **1997**; *Principles of Water Quality Control*; 5th Edition, Elsevier; Amsterdam, The Netherlands; 203-211.
- [26] Kim, H., Shim, J., Lee, S.; **2002**; *Formation of disinfection byproducts in chlorinated swimming pool water*; Chemosphere; 46 (1); 123,130.
- [27] Kanan, A., Karanfil, T.; **2011**; *Formation of disinfection by-products in indoor swimming pool water: the contribution from filling water natural organic matter and swimmer body fluids*; Water Res.; 45 (2); 926,932.
- [28] Lakind, J.S., Richardson, S.D., Blount, B.C.; **2010**; *The good, the bad, and the volatile: can we have both healthy pools and healthy people?*; Environ. Sci. Technol.; 44 (9); 3205,3210.
- [29] Richardson, S.D., DeMarini, D.M., Kogevinas, M., Fernandez, P., Marco, E., Lourencetti, C., Balleste´, C., Heederik, D., Meliefste, K., McKague, A.B., Marcos, R., Font-Ribera, L., Grimalt, J.O., Villanueva, C.M.; **2010**; *What's in the pool? A comprehensive identification of disinfection by-products and assessment of mutagenicity of chlorinated and brominated swimming pool water*; Environ. Health Perspect.; 118 (11); 1523,1530.
- [30] Zwiener, C., Richardson, S.D., De Marini, D.M., Grummt, T., Glauner, T., Frimmel, F.H.; **2007**; *Drowning in disinfection byproducts? Assessing swimming pool water*; Environ. Sci. Technol.; 41 (2); 363,372.
- [31] Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D.; **2009**; *Chemical analysis and ecotoxicological effects of organic UV-absorbing compounds in aquatic ecosystems*; Trends Anal. Chem.; 28 (6); 708,717.

- [32] Díaz-Cruz, M.S., Llorca, M., Barceló, D.; **2008**; *Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment*; Trends Anal. Chem.; 27 (10); 873,887.
- [33] La Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L., Barceló, D.; **2008**; *Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment*; Trends Anal. Chem.; 27 (11); 991,1007.
- [34] Richardson, S.D., Plewa, M.J., Wagner, E.D., Shoeny, R., DeMarini, D.M.; **2007**; *Occurrence, genotoxicity and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research*; Mutation Research: Reviews in Mutat. Res.; 636 (1e3); 178,242.
- [35] Hrudey, S.E.; **2009**; *Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me*; Water Res.; 43 (8); 2057,2092.
- [36] Sakkas, V.A., Giokas, D.L., Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A.; **2003**; *Aqueous photolysis of the sunscreen agent octyldimethyl- p-aminobenzoic acid. Formation of disinfection byproducts in chlorinated swimming pool water*; J. Chromatogr. A; 1016 (2); 211,222.
- [37] Negreira, N., Canosa, P., Rodríguez, I., Ramil, M., Rubí, E., Cela, R.; **2008**; *Study of some UV filters stability in chlorinated water and identification of halogenated by-products by gas chromatography and mass spectrometry*; J. Chromatogr. A; 1178 (1e2); 206,214.
- [38] Nakajima, M., Kawakami, T., Niino, T., Takahashi, Y., Onodera, S.; **2009**; *Aquatic fate of sunscreen agents octyl-4- methoxycinnamate and octyl-4-dimethylaminobenzoate in model swimming pools and the mutagenic assays of their chlorination by-products*; J. Health Sci.; 55 (3); 363,372.
- [39] Santos, A. Joel M., Crista, Diana M.A., Miranda, Margarida S., Almeida, I.F., Sousa e Silva, J.P., Costa, P.C., Amaral, M.H., Lobão, P.A.L., Sousa Lobo, J.M., Esteves da Silva, Joaquim C.G.; **2012**; *Degradation of UV filters 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate and 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane in chlorinated water: effect of pH, temperature, chlorine concentration, dissolved organic matter and artificial sunlight irradiation*; (artigo submetido).

- [40] Chisvert, A., Salvador, A.; **2007**; *UV filters in sunscreens and other cosmetics. Tanning and whitening agents; Analytical methods*: In: Chisvert, A., Salvador, A. (Eds.), *Analysis of Cosmetic Products*, Chapter 3.1 e UV Filters in Sunscreens and Other Cosmetics; Regulatory Aspects and Analytical Methods; Elsevier, Amsterdam, The Netherlands: 83,120.
- [41] Lambropoulou, D.A., Giokas, D.L., Sakkas, V.A., Albanis, T.A., Karayannis, M.I.; **2002**; *Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-paminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid phase microextraction*; J. Chromatogr.;A; 967 (2); 243,253.
- [42] Giokas, D.L., Sakkas, V.A., Albanis, T.A.; **2004**; *Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatographyephotodiode array detection and gas chromatographyemass spectrometry*; J. Chromatogr. A; 1026 (1e2); 289,293.
- [43] Vidal, L., Chisvert, A., Canals, A., Salvador, A.; **2010**; *Ionic liquidbased single-drop microextraction followed by liquidchromatographyeultraviolet spectrophotometry detection to determine typical UV filters in surface waters*; Talanta; 81 (1e2); 549,555.
- [44] European Commission (EC); **2008**; Amendment of Annex X to Directive 2000/60/EC; Table 2; Off. J. Eur. Un. C102E; 105.
- [45] Butt, S.T. and Christensen, T.; **2000**; *Toxicity and phototoxicity of chemical sun filters*; Radiat. Prot. Dosim.; 91; 283-286.
- [46] Schlumpf, M., Kypke, K., Wittassek, M., Angerer, J., Mascher, H., Mascher, D., Vokt, C., Birchler, M., Lichtensteiger, W.; **2010**; *Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: correlation of UV filters with use of cosmetics*; Chemosphere; 81 (10); 1171,1183.
- [47] León, Z., Chisvert, A., Balaguer, A', Salvador, A.; **2010**; *Development of a fully automated sequential injection solid phase extraction procedure coupled to liquid chromatography to determine free 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulphonic acid in human urine*; Analytica Chimica Acta; 664 (2); 178,184.

[48] Esteves da Silva, J. C. G.; Machado, A. A. S. C.; **1995** *Self-Modeling curve resolution analysis of synchronous fluorescence spectroscopy data for the characterization of acid mixtures and study of acid-base equilibria*; Analyst; 120; 2553-2560.

[49] Esteves da Silva, J. C. G.; Machado, A. A. S. C.; **1996**; *Interaction of fulvic acids with Al(III) studied by self-modelling curve resolution of second derivative synchronous fluorescence spectra*; Appl. Spectrosc; 50, 436-443.

[50] Esteves da Silva, J. C. G.; Machado, A. A. S. C.; Oliveira, C. J. S.; **1996**; *Study of the interaction of a soil fulvic acid with UO_2^{2+} by self-modeling mixture analysis of synchronous molecular fluorescence spectra*; Analyst; 121; 1373-1379.

[51] Cordeiro, N., Magalhães, A.; *Introdução à Estatística – Uma perspectiva química*; **2004**; Lidel; 140.

Apêndices

AP.1 - Determinação do fator de proteção solar (FPS) de nano partículas de carbono

Os nano materiais são atualmente alvo de grande interesse na investigação científica.

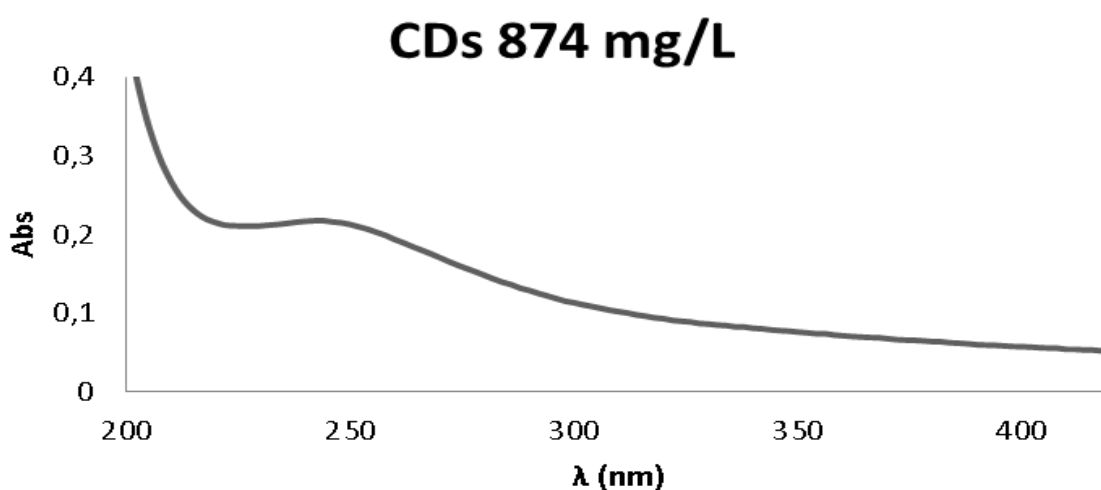
Recentemente os carbon dots (CDs) foram descobertos.^[1,4] São nano partículas constituídas principalmente por carbono, com hibridação sp^2 e com elevado teor de oxigênio. São facilmente solúveis em água, com uma enorme vantagem de serem constituídos por elementos não tóxicos.

As nano partículas de carbono podem ser obtidas a partir de diferentes vias sintéticas.^[54] Geralmente não são fluorescentes, como tal são feitos tratamentos químicos na sua superfície a fim de aumentar o seu rendimento quântico e /ou alterar as suas propriedades fluorescentes.^[1-4]

Ao longo deste trabalho experimental foi realizada a purificação de algumas frações de CD previamente sintetizados, usando para tal mangas de diálise.

O objetivo principal seria determinar qual o fator de proteção destas nano partículas a fim de serem futuramente usadas como filtro UV, uma vez que não são constituídas por elementos tóxicos, bem como poderiam ser menos propícias a sofrerem degradação quando expostas à irradiação solar e a produtos de desinfecção como é o caso dos filtros UV atualmente utilizados.

Primeiramente foi realizado um espectro UV-Vis de uma solução de CD, com uma concentração de 874 mg/L usando água como solvente. O resultado obtido está presente no gráfico AP.1.1.



AP 1.1 – Espectro UV-Vis para uma solução aquosa de carbon dots

Pela observação do espectro AP.1.1 podemos concluir que apenas é evidenciada uma banda entre os 200-280 nm (zona UVC) concluindo assim que estas nano partículas não absorvem na zona UVA e UVB (que são as zonas de maior interesse).

No entanto, e com a colaboração da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto (FFUP) foram realizados testes para a determinação do FPS destes compostos. No entanto após a homogeneização destas nano partículas numa formulação cosmética a absorvância máxima obtida foi inferior a 0.02, o que conduziria a um FPS sensivelmente igual a 1, o que do ponto de vista de proteção solar é insignificante.

Posto isto, estas nano partículas, apesar de promissoras, teriam de ser devidamente funcionalizadas, de modo a aumentar a sua absorvância na zona UVA e UVB, e assim poderem futuramente ser usadas como filtro UV em formulações cosméticas de proteção solar.

Referências Bibliográficas

- [1] J.Fan, P.K. Chu; **2010**; *Group IV Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Biological Applications*, Small 6; pp. 2080–2098.
- [2] S.N. Baker, G.A. Baker; **2010**; *Luminescent Carbon Nanodots: Emergent Nanolights*; *Angewandte Chemie International Edition* 49; pp. 6726 – 6744.
- [3] J.C. G. Esteves da Silva and H. Gonçalves; **2011**; *Analytical and bioanalytical applications of carbon dots*; *TrAC - Trends Anal. Chem.* 30; pp. 1327-1336.
- [4] A.B. Bourlinos, A. Stassinopoulos, D. Anglos, R. Zboril, M. Karakassides and E.P. Giannelis; 2008; *Surface Functionalized Carbogenic Quantum Dots*; Small 4; pp. 455.

AP.2 – Tabelas com respectivas percentagens de degradação obtidas em cada uma das etapas do presente trabalho.

AP.2.1 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência do pH, temperatura, concentração de cloro e concentração de MOD para o BMDM

Ensaio	pH	T/°C	Cl /mg/L	MOD /mg/L	t _r /min	Área do Pico /UA	% Degradação
1	4.00	15.00	0.06	5.01	12.63	490664	11.6
2	10.00	15.00	0.06	5.01	12.59	373908	32.6
3	4.00	35.00	0.06	5.01	10.93	374287	21.5
4	10.00	35.00	0.06	5.01	10.86	356142	25.3
5	4.00	25.00	0.01	5.01	10.87	367499	29.1
6	10.00	25.00	0.01	5.01	10.83	412413	20.5
7	4.00	25.00	0.10	5.01	10.79	382585	26.2
8	10.00	25.00	0.10	5.01	10.78	333466	35.7
9	4.00	25.00	0.06	0.01	10.76	445503	14.1
10	10.00	25.00	0.06	0.01	10.72	394404	24.0
11	4.00	25.00	0.06	10.00	10.71	478201	7.8
12	10.00	25.00	0.06	10.00	10.70	418455	19.3
13	7.00	15.00	0.01	5.01	12.56	448146	19.2
14	7.00	35.00	0.01	5.01	10.79	440190	7.6
15	7.00	15.00	0.10	5.01	12.54	414830	25.2
16	7.00	35.00	0.10	5.01	10.69	360653	24.3
17	7.00	15.00	0.06	0.01	12.45	357786	35.5
18	7.00	35.00	0.06	0.01	10.63	332468	30.2
19	7.00	15.00	0.06	10.00	12.48	425661	23.3
20	7.00	35.00	0.06	10.00	10.64	398520	16.4
21	7.00	25.00	0.01	0.01	10.73	436907	15.8
22	7.00	25.00	0.10	0.01	10.62	270930	47.8
23	7.00	25.00	0.01	10.00	10.67	455808	12.1
24	7.00	25.00	0.10	10.00	10.70	411918	20.6
25	7.00	25.00	0.06	5.01	10.78	427102	17.7
26	7.00	25.00	0.06	5.01	10.64	426866	17.7
27	7.00	25.00	0.06	5.01	10.74	418429	19.3

AP.2.2 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência do pH, temperatura, concentração de cloro e concentração de MOD para o EHMC

Ensaio	pH	T/°C	Cl /mg/L	MOD /mg/L	t _r /min	Área do Pico/UA	% Degradação
1	4.00	15.00	3.00	5.01	14.42	348711	26.2
2	10.00	15.00	3.00	5.01	14.37	392464	17.0
3	4.00	35.00	3.00	5.01	14.87	198650	64.9
4	10.00	35.00	3.00	5.01	14.79	236756	58.2
5	4.00	25.00	2.00	5.01	14.37	356820	42.9
6	10.00	25.00	2.00	5.01	14.58	319353	48.9
7	4.00	25.00	4.00	5.01	14.43	347637	44.4
8	10.00	25.00	4.00	5.01	14.39	346736	44.5
9	4.00	25.00	3.00	0.01	14.33	455373	27.2
10	10.00	25.00	3.00	0.01	14.36	304207	51.3
11	4.00	25.00	3.00	10.00	14.60	282987	53.9
12	10.00	25.00	3.00	10.00	14.53	398133	35.1
13	7.00	15.00	2.00	5.01	14.36	399092	15.6
14	7.00	35.00	2.00	5.01	14.81	244902	56.7
15	7.00	15.00	4.00	5.01	14.33	373975	20.9
16	7.00	35.00	4.00	5.01	14.62	261429	53.8
17	7.00	15.00	3.00	0.01	14.33	384243	18.7
18	7.00	35.00	3.00	0.01	14.61	263641	53.4
19	7.00	15.00	3.00	10.00	14.38	390606	17.4
20	7.00	35.00	3.00	10.00	14.58	214463	62.1
21	7.00	25.00	2.00	0.01	14.40	347329	43.4
22	7.00	25.00	4.00	0.01	14.40	232860	50.7
23	7.00	25.00	2.00	10.00	14.35	369674	39.8
24	7.00	25.00	4.00	10.00	14.42	364878	40.5
25	7.00	25.00	3.00	5.01	14.28	341855	27.7
26	7.00	25.00	3.00	5.01	14.20	385729	37.1
27	7.00	25.00	3.00	5.01	14.30	402185	34.5

AP.2.3 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência do pH, concentração de cloro, concentração de MOD e tempo de irradiação para o BMDM

Ensaio	pH	[Cl]/mg/L	[MOD]/mg/L	Tempo de irradiação/min	t _r /min	Área do Pico/UA	% Degradação
1	4.00	0.01	5.01	20.00	10.59	362299	14.9
2	10.00	0.01	5.01	20.00	10.68	289740	31.9
3	4.00	0.10	5.01	20.00	10.63	299432	29.7
4	10.00	0.10	5.01	20.00	10.74	142360	56.6
5	4.00	0.06	0.01	20.00	10.72	291548	11.1
6	10.00	0.06	0.01	20.00	10.74	172456	47.4
7	4.00	0.06	10.00	20.00	10.75	306131	6.6
8	10.00	0.06	10.00	20.00	10.66	135994	58.5
9	4.00	0.06	5.01	10.00	10.81	305743	28.2
10	10.00	0.06	5.01	10.00	10.78	251180	41.0
11	4.00	0.06	5.01	30.00	11.33	198006	48.1
12	10.00	0.06	5.01	30.00	11.51	191474	49.8
13	7.00	0.01	0.01	20.00	10.75	291013	11.2
14	7.00	0.10	0.01	20.00	11.27	225150	41.0
15	7.00	0.01	10.00	20.00	11.36	329485	13.6
16	7.00	0.10	10.00	20.00	11.43	347921	8.8
17	7.00	0.01	5.01	10.00	10.86	346422	18.6
18	7.00	0.10	5.01	10.00	10.81	296776	30.3
19	7.00	0.01	5.01	30.00	11.31	315574	17.3
20	7.00	0.10	5.01	30.00	11.44	251232	34.1
21	7.00	0.06	0.01	10.00	10.73	355843	16.4
22	7.00	0.06	10.00	10.00	10.59	189782	55.4
23	7.00	0.06	0.01	30.00	11.35	276897	27.4
24	7.00	0.06	10.00	30.00	11.23	320568	16.0
25	7.00	0.06	5.01	20.00	11.22	367179	3.7
26	7.00	0.06	5.01	20.00	11.2	363768	4.6
27	7.00	0.06	5.01	20.00	11.28	369686	3.1

AP.2.4 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência do pH, concentração de cloro, concentração de MOD e tempo de irradiação para o EHMC

Ensaio	pH	[Cl]/mg/L	[MOD]/mg/L	Tempo de irradiação/min	t _r /min	Área do Pico/UA	% Degradação
1	4.00	2.00	5.01	30.00	14.47	161381	50.2
2	10.00	2.00	5.01	30.00	14.3	82352	74.6
3	4.00	4.00	5.01	30.00	14.32	73691	77.2
4	10.00	4.00	5.01	30.00	14.35	224145	25.8
5	4.00	3.00	0.01	30.00	14.25	149447	50.6
6	10.00	3.00	0.01	30.00	14.19	135865	55.0
7	4.00	3.00	10.00	30.00	14.19	202275	33.1
8	10.00	3.00	10.00	30.00	14.13	109639	63.7
9	4.00	3.00	5.01	15.00	13.93	263532	13.3
10	10.00	3.00	5.01	15.00	13.92	267600	11.9
11	4.00	3.00	5.01	45.00	14.64	208839	41.1
12	10.00	3.00	5.01	45.00	14.69	216537	38.9
13	7.00	2.00	0.01	30.00	14.34	143493	52.8
14	7.00	4.00	0.01	30.00	14.34	257374	15.3
15	7.00	2.00	10.00	30.00	14.26	237149	22.0
16	7.00	4.00	10.00	30.00	14.12	215950	28.9
17	7.00	2.00	5.01	15.00	13.86	230856	24.0
18	7.00	4.00	5.01	15.00	13.88	235764	22.4
19	7.00	2.00	5.01	45.00	14.33	225417	36.4
20	7.00	4.00	5.01	45.00	14.31	211735	40.3
21	7.00	3.00	0.01	15.00	13.88	168123	44.7
22	7.00	3.00	10.00	15.00	13.83	225812	25.7
23	7.00	3.00	0.01	45.00	14.27	130893	63.1
24	7.00	3.00	10.00	45.00	14.33	155359	56.2
25	7.00	3.00	5.01	30.00	14.13	289500	29.0
26	7.00	3.00	5.01	30.00	14.09	283695	30.4
27	7.00	3.00	5.01	30.00	14.03	192841	36.5

AP.2.5 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência da concentração de cloro e concentração de MOD na degradação do BMDM no protetor solar A

Ensaio	Cl /mg/L	MOD /mg/L	t _r /min	Área do pico/UA	% Degradação
1	0.19	5.00	11.91	478500	7.6
2	0.19	5.00	11.75	470516	9.2
3	2.31	5.00	11.77	405406	21.7
4	2.31	5.00	11.76	405288	21.7
5	1.25	0.76	11.74	284668	45.0
6	1.25	0.76	11.71	286436	44.7
7	1.25	9.24	11.59	427806	17.4
8	1.25	9.24	11.56	452522	15.7
9	0.50	2.00	11.52	456442	15.0
10	0.50	2.00	11.71	455993	12.0
11	2.00	2.00	11.93	276785	48.4
12	2.00	2.00	11.81	258939	51.8
13	0.50	8.00	11.53	486391	9.4
14	0.50	8.00	11.77	492904	8.2
15	2.00	8.00	11.63	415876	22.5
16	2.00	8.00	11.73	413284	23.0
17	1.25	5.00	11.65	360001	32.9
18	1.25	5.00	11.73	370051	31.1
19	1.25	5.00	11.68	376454	29.9
20	1.25	5.00	11.73	378873	29.4
21	1.25	5.00	11.69	385727	28.1

AP.2.6 - Ensaios realizados e respectivas percentagens de degradação para a influência da concentração de cloro e concentração de MOD na degradação do BMDM no protetor solar B

Ensaio	[Cl]/mg/L	[MOD]/mg/L	t _r /min	Área do pico/UA	% Degradação
1	0.19	5.00	10.96	233609	38.6
2	0.19	5.00	10.97	237861	37.5
3	2.31	5.00	10.93	171561	54.9
4	2.31	5.00	10.87	164036	56.9
5	1.25	0.76	10.8	134553	64.7
6	1.25	0.76	10.83	115209	69.7
7	1.25	9.24	10.75	180941	52.5
8	1.25	9.24	10.73	192641	49.4
9	0.50	2.00	10.73	237261	37.7
10	0.50	2.00	10.71	227466	40.3
11	2.00	2.00	10.83	100142	73.7
12	2.00	2.00	10.8	80468	78.9
13	0.50	8.00	10.73	253636	33.4
14	0.50	8.00	10.72	253971	33.3
15	2.00	8.00	10.75	219228	42.4
16	2.00	8.00	10.73	221442	41.8
17	1.25	5.00	10.91	199667	43.9
18	1.25	5.00	10.81	216497	39.2
19	1.25	5.00	10.73	197369	44.6
20	1.25	5.00	10.81	215570	39.5
21	1.25	5.00	10.78	199409	44.0