

SPF – super problematična formula? Aktivni sastojci krema za sunčanje u vodenom okolišu

I. Blažević,^a K. Kos,^a M. Kovačević,^a T. Marković,^b L. Sović^a i M. Miloloža^{a*}

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



^aSveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Trg Marka Marulića 19, 10 000 Zagreb, Hrvatska

^bSveučilište u Zagrebu, Filozofski fakultet, Ul. Ivana Lučića 3, 10 000 Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Porastom osviještenosti čovjeka o negativnim učincima Sunčeva zračenja znatno se povećala proizvodnja i uporaba krema za sunčanje. Posljedica toga je akumulacija UV zaštitnih filtara, aktivnih sastojaka krema za sunčanje, u vodenom okolišu. Istraživanja su pokazala da su UV filtri, osobito organski filtri poput oksibenzona, oktinoksata i 4-MBC-a opasnost za čitav niz različitih organizama. Odabrana istraživanja u ovom radu usredotočena su na toksični učinak navedenih spojeva na morske i slatkovodne organizme te ukazuju na to da njihova prisutnost u vodenom okolišu rezultira inhibicijom rasta i fotosinteze, reproduktivnim i razvojnim poremećajima, izbjeljivanjem pa čak i smrću ispitivanih organizama. Anorganski UV filtri, čiji su predstavnici nanočestični oblici TiO₂ i ZnO, u provedenim ispitivanjima ekotoksičnosti pokazuju slabo toksičan ili gotovo nikakav učinak na ispitivane organizme. Međutim, u istraživanjima u kojima su se pokazali slabo toksičnima, ta toksičnost nije uzrokovana samo prisutnošću nanočestica nego i stvaranjem reaktivnih vrsta kisika, što kod pojedinih organizama izaziva inhibiciju rasta, izbjeljivanje, abnormalnu embriogenezu i oksidativni stres. Daljnja istraživanja nužna su za bolje shvaćanje toksičnog učinka tih spojeva i precizniju procjenu rizika za vodeni okoliš te čitav ekosustav.

Ključne riječi

Krema za sunčanje, UV filtri, toksičnost, vodeni okoliš

1. Uvod

U današnje vrijeme kreme za sunčanje neizostavan su proizvod za njegu kože, osobito u ljetnim mjesecima. Osim što nas štite od Sunčeva UV zračenja i opekline, vrlo su važne za prevenciju raka kože. Negativan učinak dugotrajnog izlaganja suncu u izvjesnoj je mjeri bio poznat i drevnim civilizacijama koje su upotrebljavale različita sredstva za zaštitu od sunca tisućama godina prije otkrića UV zračenja. Prema prijevodima papirusa otkrivenih u grobnicama, svjetlija se boja kože za vrijeme drevnog Egipta smatrala standardom ljepote.¹ Da bi to postigli, Egipćani su pod svaku cijenu izbjegavali izlaganje suncu, a neki tad upotrebljavani sastojci za liječenje opekline od Sunčeva zračenja i sprečavanje tamnjenja, poput jasmína, vučike i ekstrakta rižinih mekinja mogu se pronaći i danas u formuli pojedinih krema za sunčanje. Stari Grci u te su svrhe upotrebljavali maslinovo ulje, a neka indijanska plemena određenu vrstu borove iglice. Iako su naši preci u tom području bili daleko ispred svojeg vremena te otvorili put razvoju modernih krema za sunčanje kojima se preplavljene današnje trgovine, prva komercijalna krema za sunčanje pojavila se tek 1920-ih godina zahvaljujući otkriću specifičnih UV valnih duljina Sunčeva zračenja odgovornih za nastajanje oštećenja na koži.¹ Njemački znanstvenici Hausser i Vahle proveli su 1922. godine prva detaljna istraživanja spektra djelovanja za eritem i pigmentaciju na ljudskoj koži.² Upravo ta dva znanstvenika zaslužna su za

proizvodnju prve komercijalno dostupne krema za sunčanje 1928. godine. Nakon što su shvaćeni mehanizmi djelovanja Sunčeva zračenja, razvijeni su i razni prototipovi krema za sunčanje koje se upotrebljavaju i danas.¹ Međutim, u posljednje je vrijeme uslijed prekomjerne uporabe sve veći naglasak na štetnom utjecaju njihovih aktivnih sastojaka na sve sastavnice okoliša, a naročito vodeni okoliš. Uglavnom su to različite vrste organskih UV filtara poput oksibenzona, oktinoksata i 4-metilbenziliden kamfora (4-MBC) te najčešće upotrebljavanih anorganskih filtara TiO₂ i ZnO.^{3,4} Navedeni spojevi su, u kontekstu krema za sunčanje i drugih proizvoda za osobnu njegu koji ih sadrže, većinski odgovorni za rastuću razinu onečišćenja vodenog okoliša. Aktualna istraživanja pokazuju da UV filtri imaju mogućnost djelovanja kao endokrini disruptori, što je potvrđeno kod istraživanja učinka organskog UV filtra 4-MBC na gene zebrica (*Danio rerio*) koji su povezani s endokrinim sustavom.⁵ Također ih se nerijetko povezuje s fenomenom "izbjeljivanja" koralja koji je primijećen kod izlaganja različitih vrsta koralja organskom UV filtru oktinoksatu te anorganskim filtrima TiO₂ i ZnO.^{6,7} Ti se spojevi smatraju onečišćivačima u nastajanju i njihov utjecaj na vodene organizme još uvijek je nedovoljno istražen, posebice uzimajući u obzir različite ekološke faktore.⁸

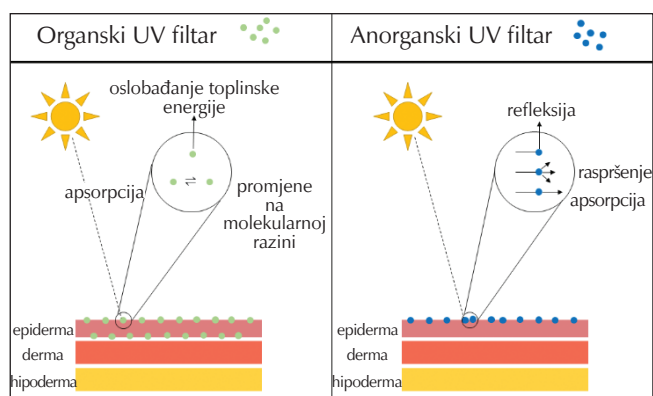
U ovom radu dat će se pregled primjene organskih i anorganskih UV filtara u kremama za sunčanje s naglaskom na njihov utjecaj na vodeni okoliš prema odabranim, dosad provedenim istraživanjima. Istraživanja su odabrana na temelju najnovijih spoznaja vezanih uz tu tematiku da bi se dobio uvid u ozbiljnost problema koji UV filtri trenutačno predstavljaju za vodeni okoliš.

* Autor za dopisivanje: Martina Miloloža, mag. ing. oecoinj. e-pošta: miloloza@fkit.hr

2. Teorijski dio

2.1. Kreme za sunčanje

Sredstva za zaštitu od Sunčeva zračenja općenito su kozmetički proizvodi koji mogu doći u obliku losiona, sprejeva, gelova i slično, no većinom se na sve te proizvode referiramo kao na kreme za sunčanje. One se najčešće klasificiraju prema specifičnim valnim duljinama koje filtriraju, a takve UV klasifikacije uključuju UVA (320 – 400 nm), UVB (290 – 320 nm) i UVC (200 – 280 nm) skupine.⁹ Važan pojam kod tih proizvoda je tzv. zaštitni faktor (engl. *Sun Protection Factor*, SPF). Taj faktor predstavlja količinu UV zračenja potrebnog za nastanak minimalno jednog eritema (crvenila kože ili opekline nastale izlaganjem Sunčevu zračenju) na zaštićenoj koži nakon nanošenja 2 mg cm⁻² proizvoda podijeljenog s količinom UV zračenja potrebnog da se proizvede minimalno jedan eritem na nezaštićenoj koži.¹⁰ Kreme za sunčanje u sebi sadrže brojne kemijske spojeve, silikate, fosfate, nitratre, potom i razne metale, poput Al, Cu, Cd, Co, Mn, Ti, Zn i nekih njihovih oksida, ali i organske spojeve poput oksibenzona, oktinoksata, 4-MBC-a i drugih.¹¹ Neki od tih spojeva imaju vrlo važnu ulogu – služe kao UV filtri (UVF). To su aktivni sastojci svake kreme za sunčanje te djeluju tako da blokiraju ili apsorbiraju ultraljubičasto zračenje.¹⁰ Analogno tome, prema mehanizmu djelovanja mogu se podijeliti u dvije kategorije: kemijske apsorbere i fizičke blokatore. Kemijske apsorbere još nazivamo organskim UV filtrima i u njih se svrstavaju konjugirani aromatski spojevi s karbonylnom skupinom koji posjeduju sposobnost apsorbiranja UV zraka.¹⁰ Kako su se 1990-ih razvijali razni načini sinteze nanočestica, to je dovelo do njihove uporabe i u kozmetičkim proizvodima, ponajprije u kremama za sunčanje.¹⁰ Nanočestice metalnih oksida, uglavnom titanijeva dioksida (*n-TiO₂*) i cinkovog oksida (*n-ZnO*), fizički su blokatori, odnosno anorganski UV filtri, i one su sastavni dijelovi nekih današnjih krema za sunčanje.¹⁰



Slika 1 – Mehanizmi djelovanja organskih i anorganskih UV filtera

Fig. 1 – Mechanisms of action of organic and inorganic UV filters

2.1.1. Organski UV filtri

Organski UV filtri još se nazivaju i kemijskim filtrima i u njih spadaju spojevi koji apsorbiraju UV zračenje zbog

svoje visoko konjugirane strukture. Najčešće se dijele na UVA (benzofenoni, antranilati i dibenzoilmetani) i UVB filtre (derivati paraaminobenzojeve kiseline (PABA), salicilati, cinamati i derivati kamfora).³ Svaki od tih spojeva ima ograničen raspon apsorpcije zračenja, pa se stoga oni pretežno upotrebljavaju u kombinaciji da bi se postigao sinergistički učinak koji rezultira povećanjem SPF faktora te proširenjem apsorpcijskog spektra.³ Poželjno je da su takvi filtri fotostabilni, jer u suprotnom može doći do manjka njihove učinkovitosti. Neki od spojeva koji često služe kao UV filtri su oksibenzon, oktinoksat, 4-MBC i drugi.

2.1.2. Anorganski UV filtri

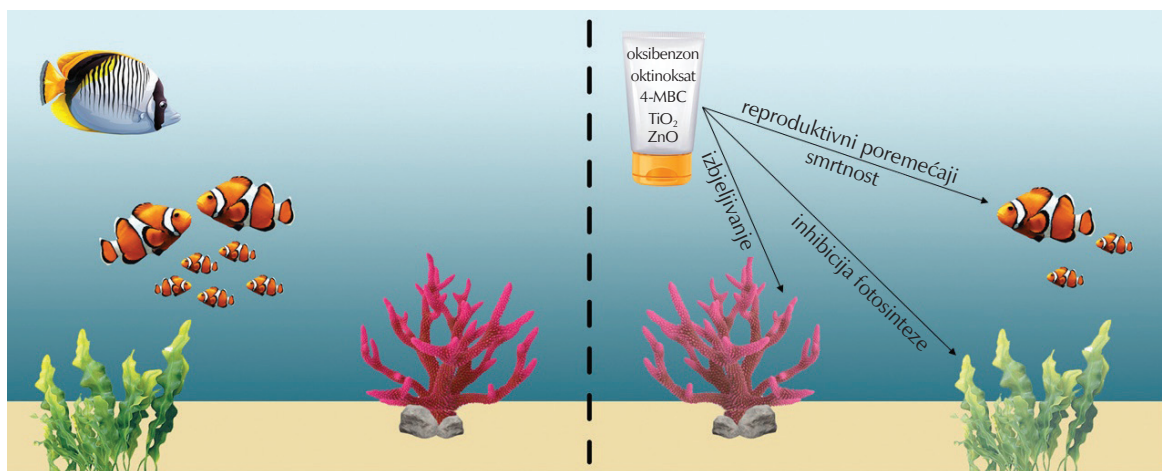
Anorganski UV filtri sastoje se, kako je prethodno spomenuto, uglavnom od nanočestica titanijeva dioksida ili cinkova oksida. Nanodimenzije tih spojeva počele su se upotrebljavati u kremama za sunčanje kao njihova alternativa u mikro dimenzijama da bi se iskoristile njihove mnoge prednosti – osim što su UV filtri učinkovitiji u odnosu na organske, oni ne narušavaju transparentnost krema te se njihovom uporabom omogućava dobivanje prozirnih krema bez nepoželjnih bijelih tragova prilikom nanošenja.^{12,13} *n-TiO₂* i *n-ZnO*, prema istraživanjima, vrlo slabo prodiru kroz kožu čovjeka, što ih čini idealnim aktivnim sastojcima u kremama za sunčanje i ostalim kozmetičkim proizvodima.¹⁴ *n-TiO₂* apsorbira UVB zrake, dok *n-ZnO* apsorbira i UVA i UVB zrake, a njihovom se kombinacijom može postići UV zaštita u širokom rasponu kao rezultat sinergističkog učinka.¹³ Što se tiče strukture, *n-ZnO* tvori oblik nanocjevčica, a *n-TiO₂* je najčešće u strukturi rutila.¹⁴ Za razliku od organskih filtera koji apsorbiraju specifičnu valnu duljinu, anorganski filtri su učinkovitiji zbog trostrukog mehanizma djelovanja koji uključuje apsorbiranje, refleksiju i raspršenje UV zračenja.¹⁵

2.1. UV filtri u vodenom okolišu

Općenito, postoje dva glavna načina na koje UV filtri iz krema za sunčanje dospijevaju u vodeni okoliš – izravno (ispiranjem s kupača) i neizravno (nepotpunim uklanjanjem prilikom obrade otpadnih voda) i na taj način postaju dostupni raznim algama te biljnim i životinjskim vrstama.¹⁶ Nazivamo ih onečišćivalima u nastajanju jer mnoga istraživanja iznova ukazuju na njihovu sposobnost stvaranja poremećaja endokrinog sustava kod organizama izloženih njihovom djelovanju, a osim toga mogu negativno utjecati na rast i reprodukciju te stvarati oksidativni stres. Također, ne treba zanemariti činjenicu da pojedini UV filtri imaju izraženu sposobnost bioakumulacije u vodenim organizmima te u konačnici dolaze i do drugih organizama putem hranidbenog lanca, pa tako i do čovjeka.¹⁷

2.3. Ispitivanje štetnih učinaka UV filtera

Za karakterizaciju potencijalnih štetnih učinaka određenih vrsta kemijskih spojeva i njihovih različitih oblika na zdravlje čovjeka, biljaka i životinja te na okoliš provodi se čitav niz ekotoksikoloških ispitivanja. Na taj način omogućuje se sigurna uporaba tih spojeva i proizvoda koji ih sadrže.¹⁸



Slika 2 – Utjecaj UV filtara iz krema za sunčanje na morski okoliš
Fig. 2 – Impact of sunscreen UV filters on marine environment

2.3.1. Ispitivanje štetnih učinaka organskog UV filtra bezofenon-3 (oksibenzon)

Benzofenon-3, kolokvijalnog naziva oksibenzon, organski je UV filtar i jedan je od glavnih sastojaka krema za sunčanje.¹⁹ Uz avobenzon, on je jedini organski filtar koji uz UVB zračenje apsorbira i UVA zračenje zaslužno za starenje kože.²⁰ Ipak, oksibenzon poznat je po svojoj izrazitoj toksičnosti prema slatkovodnim i morskim organizmima, zbog čega je u nekim dijelovima svijeta njegova uporaba zabranjena (Havaji, Republika Palau).²¹ Upravo je u zaljevu Hanauma Bay na Havajskom otočju, jednom od najpopularnijih turističkih odredišta unutar SAD-a, provedeno istraživanje kojim se pokazalo da se oksibenzon u morskom okolišu zadržava i do 50 sati od inicijalnog unošenja i time predstavlja značajnu prijetnju živim organizmima koji obitavaju na području tog zaljeva.²² Toksični učinak oksibenzona na koralje proučavan je na Sveučilištu u Marylandu u SAD-u, gdje se kao testni organizam upotrebljavao koralj *Galaxea fascicularis*. Provedena su tri različita testa ekotoksičnosti pri različitim koncentracijama oksibenzona uz proučavanje mortaliteta te promjena drugih bioloških obilježja koralja, odnosno simbionata koralja. U sva tri testa LC_{50} vrijednosti bile su slične i kretale su se u prosjeku oko $6,53 \text{ mg l}^{-1}$ oksibenzona. Uz pomoć proračunatih LC_{50} vrijednosti i izmjerenih koncentracija ksenobiotika dobiven je preliminarni koeficijent rizika za oksibenzon i on je iznosio 0,032. S obzirom na to da je dobiveni koeficijenta rizika iznosio manje od 0,050, može se smatrati da je rizik izlaganja tog koralja oksibenzonu prihvatljiv. Nadalje, pokazalo se da oksibenzon nije doveo do izbjeljivanja koralja niti je došlo do značajnijeg smanjenja broja simbionata unutar samoga koralja, no došlo je to retrakcije polipa koralja, što se pokazalo kao subletalni učinak izlaganja koralja oksibenzonu.²³ Nadalje, toksični učinak oksibenzona na prokariotske i eukariotske alge proučavan je u sklopu istraživanja provedenog u Kini. Kao eukariotski testni organizam upotrebljavala se alga *Chlorella* sp., dok se kao prokariotski testni organizam upotrebljavala alga *Arthrospira* sp. Oba mikroorganizma izlagana su različitim koncentracijama oksibenzona tijekom 20 dana te se po-

kazalo da i pri nižim koncentracijama oksibenzona dolazi do značajnije inhibicije fotosinteze, a i već kod vrlo niskih koncentracija ($22,8 \text{ ng l}^{-1}$) dolazilo je do značajnije inhibicije rasta i sinteze klorofila i kod eukariotske i kod prokariotske alge. Izbjeljivanje pigmenta primijećeno je kod izloženosti algi većim koncentracijama oksibenzona (veće od $2,28 \text{ mg l}^{-1}$) već nakon 7 dana.²⁴ U drugom istraživanju proučavan je utjecaj oksibenzona na ponašanje i kognitivne sposobnosti ribe zebrice (*Danio rerio*, engl. zebrafish). Odrasle jединke zebrice izložene su oksibenzonu pri tri različite koncentracije (10 ; 100 i $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$) tijekom 15 dana, nakon čega su podvrgnute različitim testovima lokomotornih i kognitivnih sposobnosti. Pokazalo se da je izloženost zebrica oksibenzonu negativno utjecala na njihovu percepciju okoline, povećalo se njihovo izlaganje opasnostima (smanjena mogućnost bijega od predatora), smanjio se odgovarajući agresivni odgovor na opasnost te se smanjila njihova sposobnost pamćenja.²⁵ U SAD-u je provedeno istraživanje u kojem se proučavao utjecaj oksibenzona prisutnih u kremama za sunčanje na smrtnost, sposobnost plivanja te sposobnost hranjenja ribe klauna (*Amphiprion ocellaris*).²⁶ Izlaganje testnog organizma kremi za sunčanje s koncentracijom oksibenzona od 100 mg l^{-1} dovelo je do 25,00 % smrtnosti vrste *Amphiprion ocellaris* nakon 97-satnog testnog razdoblja. Svi ispitivani organizmi pokazivali su smanjenu sposobnost hranjenja tijekom prvih 49 sati, dok su tijekom samog vremena testiranja pokazivali smanjenu sposobnost plivanja. U sklopu istraživanja provedenog na Sveučilištu u Splitu proučavan je utjecaj oksibenzona, kao i dva druga kemijska spoja, na embrije mediteranskih morskih ježinaca.²⁷ Embriji dviju vrsta morskih ježinaca, *Paracentrotus lividus* i *Arbacia lixula*, izloženi su utjecaju širokog raspona koncentracija oksibenzona ($0,1 - 100 \text{ } \mu\text{M}$), pri čemu je praćen postotak embrija koji su uspješno završili prvu staničnu diobu. Pokazalo se da izlaganje embrija *Paracentrotus lividus* oksibenzonu (do najviše proučavane koncentracije) ne utječe na uspješnost prve stanične diobe, dok su se embriji *Arbacia lixula* pokazali osjetljivijima, pri čemu je dvostaničnu fazu pri najvišoj upotrijebljenoj koncentraciji oksibenzona dostiglo 60 % embrija. Kroz na-

vedeno istraživanje proučavan je i utjecaj MRP proteina (proteina zaduženog za zaštitu organizma od različitih vrsta ksenobiotika) tijekom prve stanične diobe. Pri tome je zamijećeno da navedeni proteini nemaju ulogu u zaštiti stanice od utjecaja oksibenzona, jer oksibenzon kod tih vrsta u embrionalnoj fazi pokazuje vrlo nisku toksičnost, a veći toksični učinak može se očekivati u kasnijim stadijima razvoja.

2.3.2. Ispitivanje štetnih učinaka organskog UV filtra oktinoksat

Zbog nedovoljnog znanja o toksičnom učinku, oktinoksat je podvrgnut raznim testovima ekotoksičnosti. Kao primjer može se spomenuti utjecaj oktinoksata na morske mikroalge roda *Chlorella* sp.²⁸ čije su stanice bile osam dana izložene različitim koncentracijama oktinoksata (0,228; 2,28 i 11,4 mg l⁻¹) te je uočeno da je i najniža testirana doza UV filtra bila dovoljna za inhibiciju rasta. Također se znatno smanjio sadržaj klorofila i sadržaj karotenoida u stanicama testnog organizma. Utjecaj na proces fotosinteze mikroalge nije se mogao zanemariti, te se stoga oktinoksat smatra vrlo moćnim fototoksikantom, pogotovo pri duljem izlaganju organizma. Oktinoksat može potisnuti fotosintetski Calvinov ciklus, što rezultira viškom energije pobuđivanja i prekomjernog stvaranja reaktivnih vrsta kisika. Stanice mikroalge roda *Chlorella* sp. su tako izložene oksidativnom stresu, dodatno se ometa rast same stanice, a dolazi i do izbjeljivanja pigmenta u mikroalgama.²⁸

Oktinoksat se pokazao kao toksična kemikalija i za više vrsta morskih bakterija (*Arthrobacter aurescens*, *Dietzia maris*, *Halobacillus dabanensis*, *Paenibacillus glucanolytus*, *Pelagibacterium halotolerans*).²⁹ Kako se pokazalo da utječe i na gram negativne i gram pozitivne bakterije, može se zaključiti da oktinoksat kao UV filtar djeluje na različite membranske strukture prema njihovim fizikalno-kemijskim karakteristikama. Stoga oktinoksat može utjecati na višestruke stanične procese poput replikacije DNA i/ili na proces sinteze proteina.²⁹ Također je proveden test ekotoksičnosti na koralje, gdje se tijekom sedam dana pratila toksičnost i bioakumulacija UV filtra.⁶ Dvije vrste koralja, *Seriatopora caliendrum* i *Pocillopora damicornis*, izložene su oktinoksatu. Izlaganje koralja vrste *Seriatopora caliendrum* oktinoksatu koncentracije 1000 mg l⁻¹ rezultiralo je smrtnošću s 33,30 % te izbjeljivanjem s 83,30 %, dok se kod koralja vrste *Pocillopora damicornis* nije mogao uočiti znatan utjecaj samog UV filtra. Razlozi za tu razliku u toleranciji koralja prema filtrima nisu poznati, no tijekom testiranja uočilo se da UV filtri imaju kraće vrijeme poluraspada kod *Pocillopora damicornis* nego kod *Seriatopora caliendrum* i to za 0,03 i 0,20 dana. *Pocillopora damicornis* time ima veći kapacitet detoksikacije za testirane organske UV filtre za razliku od *Seriatopora caliendrum*. Tijekom testiranja koralji su bili podvrgnuti i kombinaciji UV filtara, pri čemu se uz oktinoksat upotrebljavao i oktokrilen. Kombinacija UV filtara rezultirala je većom smrtnosti za vrstu *Seriatopora caliendrum* od 66,70 do 83,30 %, dok je za vrstu *Pocillopora damicornis* smrtnost bila između 33,30 i 50,00 %. Koncentracije u tkivima koralja bile su znatno veće nego kod pojedinačnog izlaganja. Zajednički utjecaj tih dvaju filtara je time dakle znatno toksičniji upravo

zbog dobre bioakumulacije i povećanja bioraspoloživosti aktivnih tvari. Veće koncentracije u tkivu koralja također se mogu pridodati tome što su se upotrebljavale mješavine sastojaka kreme za sunčanje koje imaju veću lipofilnost i time povećavaju unos i oktinoksata i oktokrilen u koraljna tkiva.

2.3.3. Ispitivanje štetnih učinaka organskog UV filtra 4-metilbenziliden kamfor (4-MBC)

4-metilbenziliden kamfor jedan je od najčešće upotrebljavanih UV filtara te je glavni sastojak mnogih proizvoda namijenjenih zaštiti kože i kose od štetnog UV zračenja.^{30,31} Upravo zbog široke primjene 4-MBC-a zamijećeno je da dolazi do njegove akumulacije u okolišu, što predstavlja ozbiljan problem. Primijećeno je da se 4-MBC-a nalazi u velikim količinama u postrojenjima za obradu otpadnih voda, gdje se ne može u potpunosti razgraditi.³² Nadalje, s obzirom na to da je učestali sastojak krema za sunčanje, u okoliš ga nesvjesno unose kupaći, što je dovelo do pojave visokih koncentracija 4-MBC-a upravo u područjima obalnih voda raznih turističkih mjesta.³³ Da bi se istražio utjecaj 4-MBC-a na morski ekosustav, morski kopepodni račić (*Tigriopus japonicus*) izložen je različitim koncentracijama 4-MBC-a (0; 0,5; 1, 5 i 10 µg l⁻¹) tijekom četiri uzastopna generacijska ciklusa. Povećana smrtnost kopepodnog račića, pri čemu su osjetljiviji na 4-MBC bili račići u stadiju ličinke u odnosu na odrasle jedinke, primijećena je kod prve generacije kopepodnog račića pri koncentracijama od 5 i 10 µg l⁻¹. Kod preostale tri generacije kopepodnih račića izložene 4-MBC-u nije primijećena povećana smrtnost, no zabilježeno je smanjenje brzine izlijevanja i razvoja račića iz stadija ličinke do odrasle jedinke čak i kod najniže koncentracije 4-MBC-a (0,5 µg l⁻¹). Kod kasnijih generacija račića primijećene su promjene u brzini rasta koje su upućivale na moguće mutacije gena uzrokovane kromičnom izloženosti račića 4-MBC-u.³⁴ U drugom istraživanju proučavan je utjecaj 4-MBC-a na morski okoliš zaljeva Cadiz na jugu Španjolske.⁴ Kao testni organizam upotrijebljene su japanske školjke (*Ruditapes philippinarum*). Školjke su izložene različitim koncentracijama 4-MBC-a (0, 1; 10 i 100 µg l⁻¹) tijekom deset dana, pri čemu zadnja tri dana testa nije dodavan 4-MBC u testni sustav. Pri koncentraciji od 1 µg l⁻¹ nije zabilježeno povećanje smrtnosti, dok je s povećanjem koncentracije 4-MBC na 10 i 100 µg l⁻¹ zabilježeno povećanje smrtnosti od 38,75 %, odnosno 66,25 %. Smrtnost populacije testnih jedinki nastavila je rasti i tijekom razdoblja kad u sustav nije dodavan 4-MBC, sve dok nije dosegla 100 %. Iz tako dobivenih podataka proračunata je LC₅₀ vrijednost koja je iznosila 7,71 µg l⁻¹ za navedeni testni organizam.⁴ U istraživanju koje su proveli znanstvenici iz Kine proučavan je utjecaj 4-MBC-a na reproduktivnost i razvoj ribe japanske orizije ili japanske medake (*Oryzias latipes*).³⁵ Parovi muških i ženskih jedinki bili su izloženi koncentracijama 4-MBC-a od 5, 50 i 500 µg l⁻¹ tijekom 28 dana. Pri koncentraciji od 500 µg l⁻¹ primijećeno je značajnije smanjenje plodnosti jedinki, kao i smanjenje broja izlegnutih mladih jedinki, povećanje vremena potrebnog da se mlada jedinka izlegne te smanjenje duljine tijela mladih jedinki. Kod dugotrajne izloženosti koncentracijama 4-MBC-a primijećena je značajnija reproduktivna i razvojna toksičnost i kod koncentracije od

Tablica 1 – Zabilježeni štetni učinci organskih UV filtara na različitim vodenim organizmima
Table 1 – Adverse effects of organic UV filters observed on various aquatic organisms

UV filtar	Testni organizam (vrsta/e)	Učinak UV filtra	Lit.
Oktinoksat	morska alga (<i>Chlorella</i> sp.)	inhibicija rasta, smanjenje sadržaja klorofila i sadržaja karotenoida, potiskivanje fotosinteze, izbjeljivanje alge	28
	morske bakterije (<i>Arthrobacter aureescens</i> , <i>Dietzia maris</i> , <i>Halobacillus dabanensis</i> , <i>Paenibacillus glucanolytus</i> , <i>Pelagibacterium halotolerans</i>)	djeluje na višestruke stanične procese, replikaciju DNA, sintezu proteina	29
	koralji (<i>Seriatopora caliendrum</i> , <i>Pocillopora damicornis</i>)	bioakumulacija, smrtnost, izbjeljivanje	6
Oksibenzon	koralj (<i>Galaxea fascicularis</i>)	smrtnost, retrakcija polipa	23
	eukariotska alga <i>Chlorella</i> sp. i prokariotska alga <i>Arthrospira</i> sp.	inhibicija fotosinteze, rasta i sinteze klorofila, izbjeljivanje	24
	riba zebrica (<i>Danio rerio</i>)	poremećaji percepcije okoline i pamćenja, izostanak odgovarajućeg odgovora na opasnost	25
	riba klaun (<i>Amphiprion ocellaris</i>)	smrtnost, smanjena sposobnost hranjenja i plivanja	26
	morski ježinci (<i>Paracentrotus lividus</i> i <i>Arbacia lixula</i>)	Negativan utjecaj na uspješnost stanične diobe embrija <i>Arbacia lixula</i>	27
4-MBC	kopepodni račić (<i>Tigriopus japonicus</i>)	smrtnost (1. generacija), reproduktivni i razvojni poremećaji	34
	školjkaš (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	smrtnost (veće koncentracije)	4
	riba japanska orizija ili japanska medaka (<i>Oryzias latipes</i>)	reproduktivni i razvojni poremećaji, značajni kod dugotrajne izloženosti	35
	embriji ribe zebrice (<i>Danio rerio</i>)	razvojni poremećaji, povećanje sinteze AChE i GSTs	5
	embrionalni razvoj ribe list senegalski (<i>Solea senegalensis</i>)	smrtnost, razvojni poremećaji, poremećaji u ponašanju	39

50 $\mu\text{g l}^{-1}$.³⁴ Toksični učinak koji 4-MBC ima na biokemijske markere i gene povezane s endokrinim sustavom ispitivan je na zebreci (*Danio rerio*).⁵ Embriji zebrica izloženi su različitim koncentracijama 4-MBC-a (0,083 – 0,770 mg l^{-1}) tijekom 96 h od začeca te su proučavana svojstva izlijevanja, srčani otkucaji i malformacije embrija. Pokazalo se da izlaganje embrija 4-MBC-u uzrokuje pojavu morfoloških abnormalnosti tijekom razvoja embrija. Koncentracija od 0,77 mg l^{-1} uzrokovala je smanjenje broja srčanih otkucaja u prvih 48 h trajanja testa, dok je pri koncentracijama 4-MBC-a većim od 0,15 mg l^{-1} zapaženo povećanje sinteze enzima AChE zaduženog za prekid neurotransmisije. Zamijećeno povećanje sinteze enzima AChE bilo je u opreci s prethodno provedenim istraživanjem, gdje je uočena inhibicija sinteze navedenog enzima kod embrija zebrica izloženih koncentraciji 4-MBC-a od 3,82 mg l^{-1} .³⁶ Iz navedenog se može zaključiti da srednje vrijednosti koncentracija 4-MBC-a poboljšavaju sintezu enzima AChE, dok više vrijednosti koncentracija 4-MBC-a inhibiraju njegovu sintezu. Uz povećanje sinteze enzima AChE zamijećeno je i povećanje sinteze enzima GSTs zaduženog za proces detoksifikacije.^{5,37,38} U istraživanju provedenom u Portugalu proučavan je utjecaj 4-MBC-a na morske kraljevnjake nakon stadija embrija.³⁹ Kao testni organizam upotrebljavani su embrionalni stadiji morske ribe vrste *Solea senegalensis* (list senegalski). Embrionalni stadiji izlagani su rastućim koncentracijama 4-MBC-a od stadija jajeta do 96 h nakon oplodnje, a parametri koji su promatrani bili su stopa smrtnosti, promjena brzine rasta, malformacije gra-

de strukture embrija, promjene u ponašanju i biokemijski odgovori. Nakon 96-satne izloženosti 4-MBC-u primijećeno je povećanje smrtnosti, kao i malformacija strukture, a LC_{50} vrijednost iznosila je 0,439 mg l^{-1} . S povećanjem koncentracije 4-MBC-a zabilježeno je i smanjenje rasta, kao i poremećaji u ponašanju, odnosno smanjenje vremena aktivnog plivanja tijekom dana i noći.

2.3.4. Ispitivanje štetnih učinaka anorganskih UV filtara TiO_2 i ZnO

Intenzivnim napretkom znanosti u moderno doba omogućen je razvoj nanotehnologije, grane inženjerstva čiji je cilj razumijevanje i kontrola tvari u području dimenzija između približno 1 i 100 nm. Smanjivanje čestica na nanorazinu i povećanje reaktivne granične površine rezultira promjenom fizikalno-kemijskih, katalitičkih ili bioloških svojstava u odnosu na iste čestice većih dimenzija. Upravo zbog njihovih prilagodljivih karakteristika, pojedine nanočestice i nanomaterijali, konkretno $n\text{-ZnO}$ i $n\text{-TiO}_2$, upotrebljavaju se u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji. Međutim, zbog sve raširenije upotrebe, veliku pozornost privlači i njihova potencijalna štetnost za čovjeka, ali i čitav ekosustav.⁴⁰ Veličina, oblik i reaktivnost površine s okolnim tkivom utječe na interakciju nanočestica, a kako su mnoga istraživanja rađena pri različitim parametrima, teško je precizno definirati njihovu toksičnost. Nedavna istraživanja pokazuju da ako $n\text{-ZnO}$ i $n\text{-TiO}_2$ dos-

piju u krvotok, imaju mogućnost apsorpcije u određenim regijama mozga, što može dovesti do poremećaja u radu središnjeg živčanog sustava, odnosno uočena je smanjena sposobnost prepoznavanja, prostornog pamćenja i učenja kod glodavaca.^{41,42} Prilikom istraživanja utjecaja nanočestica na vodeni okoliš u primarnom fokusu nalaze se sintetizirane nanočestice, no važno je spomenuti da nanočestice također mogu biti i prirodnog porijekla. One dospijevaju na površinu Zemlje vulkanskim erupcijama ili kao produkt ili nusprodukt mikrobne aktivnosti te mogu biti sastavni dio minerala, a vrlo ih je teško razlikovati, pa se pretpostavlja da se u vodenom okolišu nalaze u ng l^{-1} .^{43–45} Većina nanočestica u okolišu rezultat je proizvodnje i potrošnje raznih kozmetičkih proizvoda u čijem sastavu se pretežito nalaze $n\text{-ZnO}$ i $n\text{-TiO}_2$.⁴⁴

Provedbom istraživanja u Nizozemskoj ustanovljene su koncentracije u površinskim vodama u vrijednosti od $0,8 \text{ ng l}^{-1}$ za nanočestice srebra i $2,7 \text{ ng l}^{-1}$ za nanočestice cerijeva oksida, dok su čestice titanijeva dioksida, prosječne veličine 300 nm, pronađene u svim uzorcima, a prosječna koncentracija iznosila je $3,1 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$. Veličine čestica $n\text{-TiO}_2$ koje su upotrijebljene u nanomaterijalima i različitim kozmetičkim proizvodima odgovaraju česticama pronađenim u uzorcima površinske vode.⁴⁴ Istraživanje u Austriji na jezeru Alte Donau u Beču pokazalo je da nije moguće razlikovati sintetizirane $n\text{-TiO}_2$ iz komercijalnih proizvoda za zaštitu od Sunčeva zračenja od prirodnih nanočestica.⁴⁶ Nanoznanost i nanotehnologija u svojim počecima nisu bile dovoljno razvijene za primjenu u istraživanju okoliša, no zahvaljujući napretku zadnjih godina, počinju se upotrebljavati pri detekciji, karakterizaciji prirodnih i sintetiziranih nanočestica i praćenju utjecaja nanočestica na okoliš.⁴³ Pomoću elektronske mikroskopije otkriveno je da nanočestice ne ostaju slobodno suspendirane u vodi, već se agregiraju i talože u sedimentu te se pretpostavlja da se isti proces događa i u morskoj vodi.⁴⁶ Provedeni su testovi na ribljim embrijima vrste *Danio rerio* (zebrici). Embriji su

bili izloženi otopinama $n\text{-ZnO}$ pri koncentracijama većim od 1 mg l^{-1} , što je znatno više od trenutačnih procijenjenih vrijednosti u okolišu. Rezultat je abnormalna embriogeneza i smrtnost, a smatralo se da je to posljedica povišene koncentracije Zn^{2+} , a ne konkretno utjecaj nanočestica.⁴⁷ No, provedbom testova ekotoksičnosti *in vitro*, dokazano je da je $n\text{-ZnO}$ ipak toksičniji za zebrice od samog Zn^{2+} .⁴⁷ Riblje larve vrste *Danio rerio* bile su izložene otopinama koncentracije 100 mg l^{-1} prilikom čega su se pratili subletalni učinci te je zamiječeno preuranjeno izlijeganje i abnormalni razvoj.⁴⁸ Ispitivao se i utjecaj $n\text{-TiO}_2$ na karipske koralje vrste *Montastraea faveolata*.⁷ Test je proveden s ciljem poboljšanja razumijevanja mehanizma izbjeljivanja koraljnog grebena. Koralji su bili izloženi koncentracijama $n\text{-TiO}_2$ u rasponu $0,1 - 10 \text{ mg l}^{-1}$ tijekom 17 dana. Zamiječeno je da koralj izbacuje alge, što rezultira izbjeljivanjem, no s vremenom je došlo i do prilagodbe na nove uvjete i djelomičnog oporavka. Nanočestice ZnO su pak uzrokovale brzo i jako izbjeljivanje *Acropora* spp., dok je $n\text{-TiO}_2$ uzrokovao neznajne promjene u simbiotskim interakcijama, bez izbjeljivanja, čime se sugerira potencijalno veća ekološka prihvatljivost nanočestica TiO_2 u odnosu na ZnO , no potrebno je provesti još istraživanja prije donošenja konkretnog zaključka.⁴⁹ Nadalje, provedeni su testovi ekotoksičnosti $n\text{-TiO}_2$ i $n\text{-ZnO}$ na različitim morskim organizmima – morskoj bakteriji (*Aliivibrio fischeri*), algi (*Phaeodactylum tricorutum*) i morskom crvu (*Ficopomatus enigmaticus*). Provedenim istraživanjem utvrđeno je da je najveća toksičnost $n\text{-TiO}_2$ na vrstu *Phaeodactylum tricorutum* ($\text{EC}_{50} = 0,043 \text{ mg l}^{-1}$), dok na ostala dva organizma nije zamijećen štetan utjecaj.⁵⁰ Manje toksične su se pak pokazale $n\text{-ZnO}$ za vrstu *Phaeodactylum tricorutum* ($\text{EC}_{50} = 4,55 \text{ mg l}^{-1}$), no više za vrste *Aliivibrio fischeri* i *Ficopomatus enigmaticus*. Također je proveden test ekotoksičnosti $n\text{-ZnO}$ na embrijima japanske orizija (*Oryzias javanicus*) i utvrđena je visoka akutna toksičnost u ultra-čistoj ($\text{LC}_{50} = 0,643 \text{ mg l}^{-1}$), deioniziranoj ($1,333 \text{ mg l}^{-1}$) i dekloriranoj ($2,370 \text{ mg l}^{-1}$) vodi.⁵¹ Utjecaj $n\text{-ZnO}$ ispitivan je i na

Tablica 2 – Zabilježeni štetni učinci anorganskih UV filtara na različitim vodenim organizmima

Table 2 – Adverse effects of inorganic UV filters observed on various aquatic organisms

UV filtar	Testni organizam	Učinak UV filtra	Lit.
TiO_2	koralj (<i>Montastraea faveolata</i>)	izbjeljivanje, odstranjenje simbionta	7
	morska bakterija (<i>Aliivibrio fischeri</i>)	nema učinka	50
	alga (<i>Phaeodactylum tricorutum</i>)	inhibicija rasta	50
	morski crv (<i>Ficopomatus enigmaticus</i>)	nema učinka	50
	larve ribe zebrice (<i>Danio rerio</i>)	razvoj abnormalnosti, preuranjeno izlijeganje	48
ZnO	koralj (<i>Acropora</i> spp.)	promjene u simbiotskim reakcijama	49
	koralj (<i>Acropora</i> spp.)	izbjeljivanje	49
	embriji ribe japanska orizija ili japanska medaka (<i>Oryzias javanicus</i>)	smrtnost	51
	embriji ribe zebrice (<i>Danio rerio</i>)	abnormalna embriogeneza, smrtnost	47
	morski račić (<i>Tigriopus japonicus</i>)	oksidativni stres	52
	morska bakterija (<i>Aliivibrio fischeri</i>)	inhibicija bioluminiscencije	50
	alga (<i>Phaeodactylum tricorutum</i>)	inhibicija rasta	50
	morski crv (<i>Ficopomatus enigmaticus</i>)	razvoj abnormalnosti	50

morskom račiću vrste *Tigriopus japonicus*.⁵² Testni organizam izložen je trima komercijalnim kremama za sunčanje pri realnim koncentracijama n -ZnO, odnosno onima koje odgovaraju koncentraciji izmjerenoj u njegovoj sredini. Nakon 96 h izloženosti došlo je do oslobađanja reaktivnih vrsta kisika (ROS), što potvrđuje da n -ZnO može uzrokovati oksidativni stres kod te vrste organizma.

S obzirom na već spomenutu neurotoksičnost, provedeni su i testovi na štakorima *in vivo* s n -TiO₂ intraperitonealnim unošenjem u organizam svaka dva dana tijekom 20 dana. Tom subkroničnom izloženošću promijenjene su neurobihevirolne karakteristike štakora.⁵³ Treba naglasiti da na temelju dostupnih podataka, anorganski UV filtri imaju neznatan učinak na čovjekovo zdravlje ili pak nemaju nikakav utjecaj.^{54,55} Istraživanjem *in vitro* dokazano je da n -TiO₂ i n -ZnO ne mogu prodrijeti u neoštećenu i oštećenu kožu i akumulirati se u organima čovjeka, no izravnim izlaganjem keratinocita n -TiO₂ utvrđen je nizak citotoksični učinak pri visokim dozama i duljoj izloženosti.^{55,56} Budući da je nekoliko ispitivanja *in vitro* i *in vivo* pokazalo toksičnost navedenih čestica, potrebna su daljnja istraživanja, pogotovo jer eksperimentalni parametri u istraživanjima nisu standardizirani, što rezultira oprečnim rezultatima, a važno je za unapređenje uporabe nanočestica.



Slika 3 – Gradacija toksičnosti pojedinih UV filtera prema provedenim istraživanjima

Fig. 3 – Toxicity gradation of individual UV filters based on conducted research

2.4. Prirodno sintetizirani UV filtri kao potencijalna alternativa

Da bi se smanjio štetan utjecaj aktivnih sastojaka krema za sunčanje na vodeni okoliš, sve više se pribjegava upotrebi prirodno sintetiziranih spojeva koji posjeduju svojstvo UV zaštite. Na taj način, kako će biti i vidljivo u nastavku teksta, može doći do povećanja zaštitnog faktora (SPF-a) krema za sunčanje i ostalih kozmetičkih proizvoda uz smanjenje njihovog negativnog utjecaja na okoliš.

Biljke i životinje, zahvaljujući evoluciji, razvile su učinkovitu zaštitu od učinaka štetnog UV zračenja. Prirodni spojevi imaju mogućnost poboljšanja fotoreaktivnih učinaka kroz antioksidativne učinke, kao i mogućnost zaštite kože od štetnog UV zračenja, sprečavanje oštećenja staničnih membrana i općenito starenja kože. Ipak, takvi spojevi ne mogu u potpunosti zamijeniti konvencionalne UV filtre,

već mogu u određenoj mjeri preuzeti apsorpciju UV zračenja i na taj način doprinijeti smanjenju uporabe konvencionalnih UV filtera.⁵⁷

Morske alge su se zbog mogućnosti sinteze posebnih bioaktivnih tvari koje ih štite od štetnog UV zračenja pokazale kao izvrsni prirodni zaštitni agensi. Ovdje se ponajprije misli na tzv. mikosporinske aminokiseline, sulfirane polisaharide, karotenoide i polifenole, koji su pokazali značajan raspon bioloških aktivnosti. Te tvari pokazale su se kao dobri apsorberi UV zračenja, antioksidansi, inhibitori matriks metaloproteinaze, agensi protiv starenja, ali i kao dobri imunomodulatori. Upravo zbog širokog raspona bioloških aktivnosti pokazale su potencijal kod primjene unutar različitih kozmetičkih i farmaceutskih proizvoda.⁵⁸ Jedna takva bioaktivna tvar, aminokiselina Porphyrin-334, izolirana je iz indijske alge vrste roda *Porphyrin* sp. te je podvrgnuta detaljnim istraživanjima.⁵⁹ Pokazalo se da krema za sunčanje koja sadrži Porphyrin-334 aminokiselinu pruža pet puta veću zaštitu od komercijalno dostupne kreme za sunčanje na bazi biljke aloe vera (*Aloe barbadensis*).

Uz algalno-sintetizirane spojeve, kao dobri UV filtri pokazali su se i biljno-sintetizirani spojevi. Jedan od takvih spojeva sintetiziran je iz obalne biljke vrste *Calophyllum inophyllum*. Ta obalna biljka pretežno raste u predjelu Pacifičkog prstena, a zbog izrazito surovih uvjeta koji tamo prevladavaju razvila je mogućnost sintetiziranja sekundarnih metabolita koji imaju dobro svojstvo apsorpcije UV zračenja. Provedena su istraživanja na većem broju uzoraka ekstrakata sjemena te biljke i pokazalo se da bi navedeni ekstrakt mogao poslužiti kao idealni sastojak visoko-účinkovitih krema za sunčanje.⁶⁰

U drugom istraživanju proučavan je utjecaj dodatka ekstrakta sjemenke grožđa na SPF vrijednosti komercijalnih krema za sunčanje koje sadrže organske i/ili anorganske UV filtre. Pokazalo se da je i mala količina ekstrakta dovela do povećanja SPF vrijednosti proizvoda, kao i poboljšanja njihovih antioksidativnih svojstava te samim time poboljšala kvalitetu same kreme za sunčanje u kojoj je upotrijebljena.⁶¹ Slično djelovanje na komercijalne kreme za sunčanje pokazao je i fino mljeveni drveni prah. Udio drvenog praha od samo 5 % doveo je do trostrukog povećanja SPF vrijednosti kreme za sunčanje.⁶²

Kao jedan od primjera gdje je kao glavni UV filter služila prirodno sintetizirana molekula mogu se navesti kreme za sunčanje s ligninom. Te kreme sadrže djelomično izmiješane kraft lignine (lignine dobivene u procesu dobivanja drvene pulpe iz crnogoričnog drveta) koji su se pokazali kao dobri apsorberi UVA i UVB zračenja, a njihovom pretvorbu u nanočestični oblik mogućnost apsorpcije štetnog UV zračenja dodatno je povećana.^{63,64}

3. Zaključak

Razvijanje svijesti o negativnim posljedicama Sunčeva štetnog UV zračenja, koje uključuju stvaranje opekline, ubrzano starenje i rak kože, rezultiralo je povećanom potrošnjom krema za sunčanje s različitim organskim i anorganskim UV filtrima. Kontinuiranom upotrebom navedenih proizvoda

štetni spojevi koje oni sadrže izravno se ispuštaju u vodeni okoliš te u njemu uzrokuju promjene. Prema rezultatima odabranih istraživanja, najveća toksičnost je primijećena kod organskih UV filtara oksibenzona te oktinoksata, dok je kod anorganskih potrebno provesti daljnja istraživanja s obzirom na to da su rezultati relativno neujednačeni te uvelike ovise o osjetljivosti testnog organizma. S obzirom na velik broj ispitivanja tijekom kojih je zamijećen negativan učinak na ispitivane morske i slatkovodne organizme, nužno je aktivno raditi na istraživanju utjecaja postojećih UV filtara i njihovom unapređenju te uvesti zakonske regulative vezane uz njihovu proizvodnju i uporabu. Također je korisno širiti svijest o alternativnim metodama čuvanja kože od UV zračenja poput pokrivala i izbjegavanja sunca, čime bismo ujedno sudjelovali i u čuvanju okoliša. Prirodno sintetizirani spojevi koji posjeduju svojstvo UV zaštite predlažu se kao potencijalna alternativa postojećim organskim i anorganskim UV filtrima, jer pružaju odgovarajuću zaštitu od UV zračenja, a ekološki su prihvatljiviji. Ipak, ti spojevi pokazali su se najučinkovitijima kad su upotrebljavani u kombinaciji s konvencionalnim UV filtrima, a za razvoj potencijalno visoko-účinkovitih krema za sunčanje na bazi prirodnih spojeva potrebno je provesti još istraživanja.

Popis kratica

List of abbreviations

MBC	– metilbenziliden kamfor – methylbenzylidene camphor
UV	– ultraljubičasto – ultraviolet
UVF	– ultraljubičasti filtar – ultraviolet filter
SPF	– zaštitni faktor – sun protection factor
PABA	– paraaminobenzojeva kiselina – para-aminobenzoic acid
LC ₅₀	– koncentracija koja izaziva smrtnost 50 % populacije – lethal concentration
EC ₅₀	– koncentracija koja izaziva vidljiv učinak kod 50 % populacije – effective concentration
ROS	– reaktivne vrste kisika – reactive oxygen species
NP	– nanočestice – nanoparticles

Literatura

References

1. A. S. Aldahan, V. V. Shah, S. Mlacker, K. Nouri, The History of Sunscreen, *JAMA Dermatol.* **151** (2015) 1316, doi: <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2015.3011>.
2. Y. Ma, J. Yoo, History of sunscreen: An updated view, *J. Cosmet. Dermatol.* **20** (2021) 1044–1049, doi: <https://doi.org/10.1111/jocd.14004>.
3. N. Serpone, D. Dondi, A. Albini, Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and sun-care products, *Inorg. Chim. Acta* **360** (2007) 794–802, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2005.12.057>.
4. M. Santonocito, B. Salerno, C. Trombini, F. Tonini, M. G. Pintado-Herrera, G. Martnez-Rodriguez, J. Blasco, P. A. Lara-Martin, M. Hampel, Stress under the sun: Effects of exposure to low concentrations of UV-filter 4- methylbenzylidene camphor (4-MBC) in a marine bivalve filter feeder, the Manila clam *Ruditapes philippinarum*, *Aquat. Toxicol.* **221** (2020) 105418, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105418>.
5. C. Quintaneiro, B. Teixeira, J. L. Benedé, A. Chisvert, A. M. V. M. Soares, M. S. Monteiro, Toxicity effects of the organic UV-filter 4-MBC in zebrafish embryos, *Chemosphere* **218** (2019) 273–281, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.096>.
6. T. He, M. M. P. Tsui, C. J. urTan, C. Y. Ma, S. K. F. Yiu, L. H. Wang, M. B. Murphy, Toxicological effects of two organic ultraviolet filters and a related commercial sunscreen product in adult corals, *Environ. Pollut.* **245** (2019) 462–471, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.029>.
7. B. Jovanovic, H. M. Guzman, Effects of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on Caribbean reef-building coral (*Montastraea faveolata*), *Environ. Toxicol. Chem.* **33** (2014) 1346–1353, doi: <https://doi.org/10.1002/etc.2560>.
8. M. Tapia-Salazar, V. R. Diaz-Sosa, D. L. Cárdenas-Chávez, Toxicological effect and enzymatic disorder of non-studied emerging contaminants in *Artemia salina* model, *Toxicol. Rep.* **9** (2022) 210–218, doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.01.007>.
9. T. Smijs, S. Pavel, A Case Study: Nano-sized Titanium Dioxide in Sunscreens, u P. I. Dolez (ur.), *Nanoengineering*, Rotterdam, Elsevier, 2015., str. 375–423.
10. S. Mori, S. W. Wang, Sunscreens, u S. E. Wolverton (ur.), *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy*. Vol. 4, Indianapolis, Elsevier, 2021., str. 565–575.
11. S. Yuan, J. Huang, X. Jiang, Y. Huang, X. Zhu, Z. Cai, Environmental Fate and Toxicity of Sunscreen-Derived Inorganic Ultraviolet Filters in Aquatic Environments: A Review, *Nanomater.* **12** (2022) 699, doi: <https://doi.org/10.3390/nano12040699>.
12. G. J. Nohynek, E. K. Dufour, Nano-sized cosmetic formulations or solid nanoparticles in sunscreens: a risk to human health?, *Arch. Toxicol.* **86** (2012) 1063–1075, doi: <https://doi.org/10.1007/s00204-012-0831-5>.
13. K. Schilling, B. Bradford, D. Castelli, E. Dufour, J. F. Nash, W. Pape, S. Schulte, I. Tooley, J. Van den Bosch, F. Schellau, Human safety review of “nano” titanium dioxide and zinc oxide, *Photochem. Photobiol. Sci.* **9** (2010) 495–509, doi: <https://doi.org/10.1039/b9pp00180h>.
14. P.-J. Lu, S.-C. Huang, Y.-P. Chen, L.-C. Chiueh, D. Y.-C. Shih, Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics, *JFDA* **23** (2015) 587–594, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.02.009>.
15. D. Sánchez-Quiles, A. Tovar-Sánchez, Are sunscreens a new environmental risk associated with coastal tourism?, *Environ. Int.* **83** (2015) 158–170, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.007>.
16. J. Sirois, Environmental Effects of Ultraviolet (UV) Filters, *Curr. Probl. Dermatol.* **55** (2021) 236–258, doi: <https://doi.org/10.1159/000517635>.
17. Y. Huang, J. C. F. Law, T. K. Lam, K. S. Y. Leung, Risks of organic UV filters: a review of environmental and human health concern studies, *Sci. Total Environ.* **755** (2021) 142486, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142486>.
18. A. P. Worth, Types of Toxicity and Applications of Toxicity Testing, u M. Balls, R. Combes, A. P. Worth (ur.), *The History*

- of Alternative Test Methods in Toxicology, London, 2019., str. 7–10.
19. C. Ávila, J. García, Chapter 6 – Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Environment and Their Removal from Wastewater through Constructed Wetlands, u E. Y. Zeng (ur.), Comprehensive Analytical Chemistry, Vol. 67, Elsevier, 2015., str. 195–244.
 20. A. Siller, S. C. Blaszkak, M. Lazar, H. E. Olasz, Update About the Effects of the Sunscreen Ingredients Oxybenzone and Octinoxate on Humans and the Environment, *Plast. Surg. Nurs.* **38** (2018) 158–161, doi: <https://doi.org/10.1097/PSN.0000000000000244>.
 21. C. Lozano, C. Lee, R. Wattiez, P. Lebaron, S. Matallana-Surget, *Sci. Total Environ.* **793** (2021) 148431, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148431>.
 22. C. A. Downs, E. Bishop, M. Silvia Diaz-Cruz, S. Abbas Haghshenas, D. Stien, A. M. S. Rodrigues, C. M. Woodley, A. Sunyer-Caldú, S. Nasser Doust, W. Espero, G. Ward, A. Farhangmehr, S. M. Tabatabaee Samimi, M. J. Risk, P. Lebaron, J. C. DiNardo, Oxybenzone contamination from sunscreen pollution and its ecological threat to Hanauma Bay, Oahu, Hawaii, U.S.A., *Chemosphere* **291** (2022) 132880, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132880>.
 23. A. J. Conway, M. Gonsior, C. Clark, A. Heyes, C. L. Mitchellmore, Acute toxicity of the UV filter oxybenzone to the coral *Galaxea fascicularis*, *Sci. Total Environ.* **796** (2021) 148666, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148666>.
 24. X. Zhong, C. A. Downs, X. Che, Z. Zhang, Y. Li, B. Liu, H. Gao, The toxicological effects of oxybenzone, an active ingredient in sunscreen personal care products, on prokaryotic alga *Arthrospira* sp. and eukaryotic alga *Chlorella* sp, *Aquat. Toxicol.* **216** (2019) 105295, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105295>.
 25. A. L. Pires Moreira, A. C. Luchiari, Effects of oxybenzone on zebrafish behavior and cognition, *Sci. Total Environ.* **808** (2022) 152101, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152101>.
 26. A. N. Barone, C. E. Hayes, J. J. Kerr, R. C. Lee, D. B. Flaherty, Acute toxicity testing of TiO₂-based vs. oxybenzone-based sunscreens on clownfish (*Amphiprion ocellaris*), *Environ. Sci. Pollut. Res.* **26** (2019) 14513–14520, doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04769-z>.
 27. I. Bošnjak, T. Šegvić, T. Smital, J. Franekić Čolić, I. Mladineo, Ivona, Sea Urchin Embryotoxicity Test for Determination of Environmental Contaminants–Potential Role of the MRP Proteins, *Water Air Soil Pollut.* **217** (2011) 627–636, doi: <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0615-6>.
 28. L. Tian, L. Huang, H. Cui, F. Yang, Y. Li, The toxicological impact of the sunscreen active ingredient octinoxate on the photosynthesis activity of *Chlorella* sp., *Mar. Environ. Res.* **171** (2021) 105469, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105469>.
 29. C. Lozano, S. Matallana-Surget, J. Givens, S. Nouet, L. Ar-buckle, Z. Lambert, P. Lebaron, Toxicity of UV filters on marine bacteria: Combined effects with damaging solar radiation, *Sci. Total Environ.* **722** (2020) 137803, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137803>.
 30. H. Hong, J. Wang, D. Shi, Effects of salinity on the chronic toxicity of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) in the marine copepod *Tigriopus japonicus*, *Aquat. Toxicol.* **232** (2021) 105742, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105742>.
 31. J. Zhang, Z. T. Pei, Y. N. Zhao, M. Zhang, L. L. Zhang, W. Q. Wang, J.-Y. Wu, R. Yu, L.-W. Sun, Mutagenicity evaluation to UV filters of benzophenone-6, benzophenone-8, and 4-methylbenzylidene camphor by Ames test, *PLoS One* **16** (2021) e0255504, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255504>.
 32. C. Ji, C. Wang, J. Sun, Y. Yu, Degradation of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) Using Fenton, UV Light Irradiation and Photo-Fenton, *MATEC Web Conf.* **100** (2017) 03006, doi: <https://doi.org/10.1051/mateconf/201710003006>.
 33. A. S. Rodríguez, M. R. Sanz, J. R. B. Rodríguez, Occurrence of eight UV filters in beaches of Gran Canaria (Canary Islands). An approach to environmental risk assessment, *Chemosphere* **131** (2015) 85–90, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.054>.
 34. L. Chen, X. Li, H. Hong, D. Shi, Multigenerational effects of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) on the survival, development and reproduction of the marine copepod *Tigriopus japonicus*, *Aquat. Toxicol.* **194** (2018) 94–102, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.008>.
 35. M. Liang, S. Yan, R. Chen, X. Hong, J. Zha, 3-(4-Methylbenzylidene) camphor induced reproduction toxicity and antiandrogenicity in Japanese medaka (*Oryzias latipes*), *Chemosphere* **249** (2020) 126224, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126224>.
 36. V. W. Li, M. P. Tsui, X. Chen, M. N. Hui, L. Jin, R. H. Lam, R. M. Yu, M. B. Murphy, J. Cheng, P. K. Lam, C. H. Cheng, Effects of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) on neuronal and muscular development in zebrafish (*Danio rerio*) embryos, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **23** (2016) 8275–8285, doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6180-9>.
 37. S. D. Richbart, J. C. Merritt, N. A. Nolan, P. Dasgupta, Acetylcholinesterase and human cancers, *Adv. Cancer Res.* **152** (2021) 1–66, doi: <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2021.05.001>.
 38. E. Čolak, L. Žorić, Antioxidants and Age-Related Macular Degeneration, u V. R. Preedy and R. R. Watson (ur.), Handbook of Nutrition, Diet, and the Eye, Vol. 2, Academic Press, 2019., str. 85–106.
 39. M. J. Araújo, R. J. M. Rocha, A. M. V. M. Soares, J. L. Benedé, A. Chisvert, M. S. Monteiro, Effects of UV filter 4-methylbenzylidene camphor during early development of *Solea senegalensis* Kaup, *Sci. Total Environ.* **628-629** (2018) 1395–1404, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.112>.
 40. I. Khan, K. Saeed, I. Khan, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arab. J. Chem.* **12** (2019) 908–931, doi: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>.
 41. B. Song, J. Liu, X. Feng, L. Wei, L. Shao, A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles, *Nanoscale Res. Lett.* **10** (2015) 342, doi: <https://doi.org/10.1186/s11671-015-1042-9>.
 42. L. Tian, B. Lin, L. Wu, K. Li, H. Liu, J. Yan, X. Liu, Z. Xi, Neurotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles: age-related differences and interaction, *Sci. Rep.* **3** (2015) 16117, doi: <https://doi.org/10.1038/srep16117>.
 43. A. Malakar, D. D. Snow, Nanoparticles as sources of inorganic water pollutants, u D. Pooja, S. Pardeep and K. K. Sushil (ur.), Inorganic Pollutants in Water, Elsevier, 2020., str. 337–370.
 44. R. J. B. Peters, G. van Bommel, N. B. L. Milani, G. C. T. den Hertog, A. K. Undas, M. van der Lee, H. Bouwmeester, Detection of nanoparticles in Dutch surface waters, *Sci. Total Environ.* **621** (2018) 210–218, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.238>.
 45. D. Hanigan, L. Truong, J. Schoepf, T. Nosaka, A. Mulchandani, R. L. Tanguay, P. Westerhoff, Trade-offs in ecosystem impacts from nanomaterial versus organic chemical ultraviolet filters in sunscreens, *Water Res.* **139** (2018) 281–290, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.062>.

46. A. P. Gondikas, F. von der Kammer, R. B. Reed, S. Wagner, J. F. Ranville, T. Hofmann, Release of TiO₂ nanoparticles from sunscreens into surface waters: a one-year survey at the old Danube recreational Lake, *Environ. Sci. Technol.* **48** (2014) 5415–5422, doi: <https://doi.org/10.1021/es405596y>.
47. X. Zhu, J. Wang, X. Zhang, Y. Chang, Y. Y. Chen, The impact of ZnO nanoparticle aggregates on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*), *Nanotechnology* **20** (2009) 195103, doi: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/19/195103>.
48. Z. Clemente, V. L. S. S. Castro, M. A. M. Moura, C. M. Jonsson, L. F. Fraceto, Toxicity assessment of TiO₂ nanoparticles in zebrafish embryos under different exposure conditions, *Aquat. Toxicol.* **147** (2014) 129–139, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.12.024>.
49. C. Corinaldesi, F. Marcellini, E. Nepote, E. Damiani, R. Danovaro, Impact of inorganic UV filters contained in sunscreen products on tropical stony corals (*Acropora* spp.), *Sci. Total Environ.* **637–638** (2018) 1279–1285, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.108>.
50. M. Vieira Sanches, M. Oliva, L. De Marchi, A. Cuccaro, D. Puppi, F. Chiellini, R. Freitas, C. Pretti, Ecotoxicological screening of UV-filters using a battery of marine bioassays, *Environ. Pollut.* **290** (2021) 118011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118011>.
51. N. Amin, S. Z. Zulkifli, M. N. A. Azmai, A. Ismail, Toxicity of Zinc Oxide Nanoparticles on the Embryo of Javanese Medaka (*Oryzias javanicus* Bleeker, 1854): A Comparative Study, *Animals* **11** (2021) 2170, doi: <https://doi.org/10.3390/ani11082170>.
52. S. W. Y. Wong, G. J. Zhou, P. T. Y. Leung, J. Han, J. S. Lee, K. W. H. Kwok, K. M. Y. Leung, Sunscreens containing zinc oxide nanoparticles can trigger oxidative stress and toxicity to the marine copepod *Tigriopus japonicus*, *Mar. Pollut. Bull.* **154** (2020) 111078, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111078>.
53. N. R. Ben Younes, S. Amara, I. Mrad, I. Ben-Slama, M. Jeljel, K. Omri, J. E. Choul, L. E. Mir, K. B. Rhouma, H. Abdelmelek, M. Sakly, Subacute toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in male rats: emotional behavior and pathophysiological examination, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22** (2015) 8728–8737, doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-014-4002-5>.
54. A. V. Zvyagin, X. Zhao, A. Gierden, W. Sanchez, J. A. Ross, M. S. Roberts, Imaging of zinc oxide nanoparticle penetration in human skin *in vitro* and *in vivo*, *J. Biomed. Opt.* **13** (2008), doi: <https://doi.org/10.1117/1.3041492>.
55. M. Crosera, A. Prodi, M. Mauro, M. Pelin, C. Florio, F. Bello-mo, F. Filon, Titanium Dioxide Nanoparticle Penetration into the Skin and Effects on HaCaT Cells, *Int. J. Environ. Health Res.* **12** (2015) 9282–9297, doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph120809282>.
56. Z. Khabir, AM. Holmes, Y. Lai, L. Liang, A. Deva, M. A. Polikarpov, M. S. Roberts, A. V. Zvyagin, Human Epidermal Zinc Concentrations after Topical Application of ZnO Nanoparticles in Sunscreens, *Int. J. Mol. Sci.* **22** (2022) 12372, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms222212372>.
57. H. He, A. Li, S. Li, J. Tang, L. Li, L. Xiong, Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF), *Biomed. Pharmacother.* **134** (2021) 111161, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111161>.
58. R. Pangestuti, E. A. Siahaan, S. K. Kim, Photoprotective Substances Derived from Marine Algae, *Mar. Drugs* **16** (2018) 399, doi: <https://doi.org/10.3390/md16110399>.
59. S. Bhatia, K. Sharma, A. G. Namdeo, B. B. Chaugule, M. Kavale, S. Nanda, Broad-spectrum sun-protective action of Porphyra-334 derived from *Porphyra vietnamensis*, *Pharmacogn. Res.* **2** (2010) 45–49, doi: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.60578>.
60. K. Wen-Jun, L. Cheng-Jung, L. Po-Heng, L. Po-Heng, UV-Protection Performance of *Calophyllum inophyllum* Seed Extracts: A Natural Ultraviolet Screening Agent, *Nat. Prod. Commun.* **16** (2021) 1–9, doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X20985650>.
61. T. Limsuwan, T. Amnuakit, Effect of Grape Seed Extract in Sunscreen Lotion on Sun Protection Factor (SPF) Determined by *in Vitro* Method, *ACM Int. Conf. Proceeding Ser.* **F1309** (2017) 109–112, doi: <https://doi.org/10.1145/3121138.3121192>.
62. S. C. Lee, S. H. Lee, K. Won, Wood Powder as a New Natural Sunscreen Ingredient, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **24** (2019) 258–263, doi: <https://doi.org/10.1007/s12257-018-0397-z>.
63. P. Widsten, T. Tamminen, T. Liitiä, Natural Sunscreens Based on Nanoparticles of Modified Kraft Lignin (CatLignin), *ACS Omega* **5** (2020) 13438–13446, doi: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01742>.
64. H. Chen, Lignocellulose biorefinery feedstock engineering, u: *Lignocellulose Biorefinery Engineering*, Vol. 1, Woodhead Publ., 2015., str. 37–86, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100135-6.00003-X>.

SUMMARY

SPF – Super Problematic Formula? Active Sunscreen Ingredients in the Aquatic Environment

Iva Blažević,^a Krešimir Kos,^a Mirela Kovačević,^a Tibor Marković,^b
Lucia Sović,^a and Martina Miloloža^{a*}

Increased awareness of the negative effects of sun radiation exposure has resulted in the increased production and use of sunscreens. This in turn has resulted in the accumulation of UV filters, sunscreen active ingredients, in the aquatic environment. Studies have shown that UV filters, especially those organic, such as oxybenzone, octinoxate, and 4-MBC, pose a danger to a wide range of organisms. Research findings discussed in this paper refer to the toxic effect of the stated chemicals on marine and freshwater organisms, and they indicate that the presence of these chemicals in the aquatic environment has resulted in inhibition of growth and photosynthesis, reproductive and developmental disorders, organism bleaching, and even death of test organisms. Inorganic UV filters, which are mostly nanoparticle forms of TiO₂ and ZnO, show lower toxicity or have hardly any effect on test organisms in the conducted ecotoxicological tests. However, in studies in which they have shown low toxicity, this toxicity is not only caused by the presence of nanoparticles, but also by the formation of reactive oxygen species, which in some organisms has caused growth inhibition, bleaching, abnormal embryogenesis, and oxidative stress. Further research is necessary to understand better the toxic effects of these compounds, and to assess more accurately the risks they pose to the aquatic environment as well as the entire ecosystem.

Keywords

Sunscreens, UV filters, toxicity, aquatic environment

^a University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology, Trg Marka Marulića 19, 10 000 Zagreb, Croatia

^b University of Zagreb, Faculty of Humanities and Social Sciences, Ul. Ivana Lučića 3, 10 000 Zagreb, Croatia

Review

Received September 2, 2022

Accepted November 15, 2022