

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
CAMPUS SÃO PAULO**

ADALÉIA REGINA PONTES SANT'ANA VAZARIN

**AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO E DO EFEITO PROTETOR UV DE PRODUTOS
CAPILARES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL**

**PERMEATION ASSESSMENT AND UV PROTECTIVE EFFECT OF HAIR
PRODUCTS BY RAMAN CONFOCAL SPECTROSCOPY**

São Paulo/SP

2022

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

ADALÉIA REGINA PONTES SANT'ANA VAZARIN

**AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO E DO EFEITO PROTETOR UV DE PRODUTOS
CAPILARES POR ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em *Stricto sensu* da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Prof. Dr. Airton Abrahão Martin

Orientador

Profa. Dra. Priscila Pereira Fávero

Coorientadora

São Paulo/SP

2022

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade
Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).**

V415a

VAZARIN, Adaléia Regina Pontes Sant'ana.

Avaliação da permeação e do efeito protetor UV de produtos capilares por Espectroscopia Raman Confocal / Adaléia Regina Pontes Sant'ana Varazin -- São Paulo: Universidade Brasil, 2023.

87 f.: il. color.

Tese de Doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Prof. Dr. Airton Abrahão Martin.

Coorientação: Profa. Dra. Priscila Pereira Fávero.

1. Radiação ultravioleta. 2. Permeação de ativo. 3. Espectroscopia Raman. 4. Fibra capilar. I. Martin, Airton Abrahão. II. Fávero, Priscila Pereira. III. Título.

CDD 610.28

TERMO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE
BRASIL

TERMO DE APROVAÇÃO

ADALÉIA REGINA PONTES SANT'ANA VAZARIN

"AVALIAÇÃO DA PERMEAÇÃO E DO EFEITO PROTETOR UV EM CABELOS HUMANOS
POR ESPECTROSCOPIA RAMAN CONFOCAL"

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof(a). Dr(a) Airton Abrahão Martin (presidente-orientador)

Prof(a). Dr(a) Laurita dos Santos (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a) Claudio Alberto Tellez Soto (UNIVERSIDADE BRASIL)

Prof(a). Dr(a). Gustavo Oliveira de Meira Gusmão (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ)

Prof(a). Dr(a). Lázaro Pinto Medeiros Neto (PROBES)

São Paulo, 22 de novembro de 2022.
Presidente da Banca Prof.(a) Dr.(a) Airton Abrahão Martin

Houve alteração do Título: sim () não (X):

**FOLHA DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DO TEXTO NA PÁGINA
UNIVERSIDADE BRASIL E CATÁLOGO DE TESES E DISSERTAÇÕES DA
CAPES E REPRODUÇÃO DO TRABALHO**

DEDICATÓRIA

“Porque o Senhor dá a sabedoria, e da sua boca vem o conhecimento e o entendimento”. Provérbios 2:6.

Ao meu esposo Fábio, por ter permanecido ao meu lado, me incentivando percorrer este caminho, compartilhando angústias e dúvidas e estendendo sua mão amiga nos momentos difíceis. Aos meus filhos, José Henrique e Ana Beatriz que souberam sempre esperar minha volta quando necessitei me ausentar. Sem vocês nenhuma conquista valeria a pena.

Aos meus pais Adélcio e Maria José que dignamente me apresentaram a importância da família e o caminho da honestidade e persistência. Às minhas irmãs Luciana e Daniella pelo apoio constante. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus, pela minha vida, que por sua infinita misericórdia me deu mais esta oportunidade de concluir essa etapa me abençoando em tudo durante toda esta longa caminhada.

Aos meus pais, Adelício e Maria José, meu infinito agradecimento por sempre acreditarem na minha capacidade. Isso só me fortaleceu e me fez tentar não ser a melhor, mas fazer o melhor de mim. Obrigado pelo amor incondicional.

Ao meu querido esposo, Fábio, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, elevando minha autoestima e me fazendo acreditar que posso mais do que imagino. O seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio financeiro e alegria foram primordiais para a concretização deste trabalho. Obrigada por ter me ajudado a concretizar mais este sonho.

Aos meus filhos José Henrique e Ana Beatriz, que trazem luz e gosto para minha vida, um amor especial. Perdão pelos momentos de ausência durante a formação de doutorado.

As minhas irmãs Luciana e Daniella, meus agradecimentos especiais, a seu modo, sempre se orgulharam de mim e confiaram em meu trabalho.

As minhas avós Inailde (*in memoriam*) e Petronilha que com tanta idade sempre souberam me incentivar e me apoiar. Vossas valentias de não desistir de lutar pela vida, serviram de exemplo para mim em mais esta conquista. Obrigada, vocês sempre serão exemplos para mim.

Aos meus amigos faço questão de agradecer a todos vocês que torceram e intercederam por mim nesta caminhada em especial ao Jailson (*in memoriam*). Obrigada de coração.

Aos professores Dra. Priscila Pereira Fávero e Dr. Airton Abrahão Martin, o meu maior agradecimento por toda disponibilidade e orientação prestada, pelo apoio incondicional e compreensão que sempre manifestou.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo de doutorado.

A todos os professores e colaboradores da Universidade Brasil do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, que de alguma forma contribuíram para minha formação.

À Unifev pela oportunidade e incentivo meu muito obrigado.

À minha amada família, que me apoiou incondicionalmente, que apostaram em mim, mais do que ninguém. Seguramente são hoje os que mais compartilham de minha alegria.

Meus respeitosos agradecimentos pela contribuição da banca examinadora do exame de qualificação e pela participação dos membros da banca examinadora de defesa.

Aos meus colegas de doutorado, pelos momentos difíceis e alegres que passamos juntos.

A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

A fibra do cabelo sofre inúmeras alterações estruturais em virtude da exposição a produtos químicos, bem como a ação da radiação solar, em especial a ultravioleta, UV. O objetivo deste trabalho foi analisar através da técnica de espectroscopia Raman Confocal, o efeito fotoprotetor e a manutenção das concentrações dos aminoácidos das fibras capilares, com a utilização de formulações dos ativos A e B e após exposição à radiação UV. Para as análises, foi utilizada a técnica de Espectroscopia Raman Confocal para investigar as alterações bioquímicas e estruturais da fibra capilar antes e após exposição à radiação solar, utilizando o sistema Raman River Diagnostics com laser de excitação em 785 nm e potência de 21 mW na amostra. O espalhamento Raman medido foi entre 400 - 1800 cm^{-1} , com a fibra capilar posicionada em um microscópio com lente objetiva de 40x, localizada sob uma janela de quartzo, sendo analisadas 15 fibras capilares por grupo de estudo, e coletados 21 espectros por fibra capilar, sendo obtidos espectros na região de 1575 cm^{-1} . A análise da homogeneidade das amostras de cabelo virgem, permitiu a avaliação da permeação dos ativos nas fibras capilares irradiadas e não irradiadas com luz UV. Como resultado, houve melhor eficácia de permeação do ativo A em relação ao ativo B, sendo possível comparar se a variação na eficácia dos ativos foi devido à irradiação, ou às características intrínsecas da fibra capilar. Foi concluído que a avaliação dos ativos A e B foi necessária para caracterizar as alterações espectrais devidas aos danos causados pela radiação UV incidente, e a determinação da permeação de produtos pela fibra capilar e seu papel protetor, utilizando a técnica de espectroscopia Raman Confocal, que contribuiu para verificar e comparar a eficácia dos produtos A e B propostos.

Palavras-chave: Radiação ultravioleta. Permeação de ativo. Espectroscopia Raman. Fibra capilar.

ABSTRACT

The hair fiber suffers a lot of structural changes due to the chemical products exposition and the solar radiation, being the ultraviolet radiation (UV) the principal. The goal of this thesis is analyzed the photo protection and maintenance of the aminoacids concentrations in the hair fibers after the A and B compound suffer UV radiation, using the Raman Confocal electroscopy to measure. The Raman Confocal electroscopy inquires the biochemical and structural alterations of the fiber before and after the solar radiation exposition. In the project, the Raman River Diagnostics system was used the laser with 785 nm excitation and 21 mW of potency. The Raman range measured was between 400 - 1800 cm^{-1} , besides that, the hair fiber was setted up in a 40x objective lens under a quartz window. 15 hair fibers for sample group were analyzed and 21 spectrums per fiber was collected, containing spectrum in the 1575 cm^{-1} zone. The homogeneity analysis of the virgin hair sample allowed the permeance evaluation in the samples irradiated and no irradiated with UV radiation. In the end, the compound A was more efficiency than the compound B. The efficiency variance of the samples due to the irradiation or the intrinsic features was possible to analysis too. The conclusion of the compound A and compound B analysis was necessary to describe the spectral alterations because of the UV radiation damages and the Raman Confocal electroscopy contributes in the comparison of the products A and products B efficiency.

Keyword. Ultraviolet radiation. Asset permeation. Raman spectroscopy. hair fiber.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da pele humana, ilustrando uma fibra de cabelo	24
Figura 2 - Ciclo de vida de uma fibra capilar	25
Figura 3 - Raiz de um fio de cabelo, indicando detalhes da papila dérmica, glândula sebácea, queratinócitos e melanócitos	26
Figura 4 - Melanócito e queratinócito	27
Figura 5 - Representação da haste capilar e suas quatro divisões distintas: cutículas, córtex, complexo da membrana celular - CMC e medula.....	29
Figura 6 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - Foco na Cutícula	30
Figura 7 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - foco no CORTÉX	31
Figura 8 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - Foco na MEDULA	33
Figura 9 - Vista de um corte seccional de três maiores grupos étnicos: (A) Cabelo Africano; (B) Cabelo Asiático; (C) Cabelo Caucasiano	34
Figura 10 - Classificação de cabelos de acordo com ondulação e parâmetros morfológicos	34
Figura 11 - (A) Estrutura geral da queratina; (B) forma ionizada da queratina	35
Figura 12 - Formação da ponte de enxofre entre dois aminoácidos de cisteína	37
Figura 13 - Ligações químicas presentes no cabelo: (1) Ligação dissulfídica; (2) Ponte salina ou ligação iônica (3) Ligação de hidrogênio.....	38
Figura 14 - Estrutura interna do cabelo	39
Figura 15 - Representação da Microscopia de Raman	41
Figura 16 - Esquema dos mecanismos de espalhamento Raman	42
Figura 17 - Representação do fóton incidente sobre um átomo excitando um elétron do estado fundamental para outro de maior energia.....	43
Figura 18 - Representação de movimento de vibração entre átomos	43
Figura 19 - Exemplo do uso da Espectroscopia Raman na identificação de biomoléculas.	44
Figura 20 - Produtos fornecidos para estudo	47
Figura 21 - Infraestrutura do Laboratório.....	47
Figura 22 - Equipamento Raman Confocal Rivers Diagnosis.....	48

Figura 23 - Posicionamento das fibras capilares sobre a janela de quartzo	48
Figura 24 - Esquema do total de espectros obtidos considerando a quantidade de fibras e grupos analisados.....	49
Figura 25 - Espectro Raman de um cabelo virgem albino.....	50
Figura 26 - Espectro Raman da fibra capilar com tratamento por radiação UV - Dano (vermelho) em comparação com a fibra capilar Virgem (preto) em função da profundidade da fibra.	52
Figura 27 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1)	54
Figura 28 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1).	54
Figura 29 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1)	55
Figura 30 - Análise por Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em 4 μm	56
Figura 31 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 4 μm	57
Figura 32 - Análise de Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em 14 μm	58
Figura 33 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 14 μm	58
Figura 34 - Análise de Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em 28 μm	59
Figura 35 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 28 μm	60
Figura 36 - Representação gráfica da distribuição dos padrões de permeação em função da amostragem das fibras tratadas com ativo A.....	61
Figura 37 - Padrão de permeação do ativo A representante de 7% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar	62
Figura 38 - Padrão de permeação do ativo A representante de 21% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar	62

Figura 39 - Padrão de permeação do ativo A representante de 57% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar.	63
Figura 40 - Padrão de permeação do ativo A representante de 15% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar	63
Figura 41 - Espectro característico do ativo A, e sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra.	65
Figura 42 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região 1002 cm^{-1}	66
Figura 43 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região de 1650 cm^{-1}	67
Figura 44 - Dendrograma, considerando a região de 509 cm^{-1} , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo A.....	68
Figura 45 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm^{-1} , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo A (G3).	69
Figura 46 - Intensidade média do pico 509 cm^{-1} , em 4 μm , para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1), fibras tratadas com placebo (grupo 2), fibras tratadas com ativo A (grupo 3) e fibras tratadas com ativo B (grupo 4).....	70
Figura 47 - Análise da intensidade do pico 509 cm^{-1} em função da profundidade da fibra capilar para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1) e fibras tratadas com ativo A (grupo 3).	71
Figura 48 - Dependência da variável E com a profundidade da fibra capilar para a média das amostras virgens, média das amostras com dano e média das amostras tratadas com ativo A.....	72
Figura 49 - Análise da intensidade do pico 509 cm^{-1} como uma função da profundidade em situação de melhor eficácia do ativo A, em comparação com o grupo de amostras virgens e fibras irradiadas com UV (grupo 1)	73

Figura 50 - Representação gráfica da permeação do ativo A em 7% das amostras. Este padrão de permeação foi obtido no caso de maior eficácia da proteção UV do ativo A.	74
Figura 51 - Espectro característico do ativo B, em preto, e sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo B em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra.	75
Figura 52 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região do pico 1650 cm ⁻¹	76
Figura 53 - Padrão médio de permeação do ativo B em função da profundidade da fibra capilar.	76
Figura 54 - Representação gráfica da permeação do ativo B.	77
Figura 55 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm ⁻¹ , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo B (G4).	78
Figura 56 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm ⁻¹ , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo B (G4).	79
Figura 57 - Análise da intensidade do pico 509 cm ⁻¹ , em função da profundidade da fibra capilar, para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1) e fibras tratadas com ativo A (grupo 4).	80
Figura 58 - Aumento relativo da intensidade do pico 509 cm ⁻¹ calculado pela equação de E descrita no texto, aplicada no grupo tratado com ativo B, grupo virgem e grupo com dano UV.	80
Figura 59 - Comparação do padrão de permeação do ativo A e do ativo B ao longo da fibra do cabelo.	81
Figura 60 - Comparação da variável E, associada à eficácia na proteção ao UV, entre as amostras de fibras de cabelo virgens, amostras tratadas com radiação UV (Dano), amostras tratadas com placebo, com ativo A e com ativo B.	82

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Estruturas químicas de aminoácidos na forma hidrolisada, encontrados no cabelo humano.....	36
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atribuição dos principais picos de cabelo.....	51
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3 REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1 FIO DE CABELO HUMANO: ESTRUTURA E MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA	23
3.1.1 Estrutura	23
3.2 MORFOLOGIA.....	26
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	35
3.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN	39
4 METODOLOGIA	46
4.1 PRINCÍPIOS DO ESTUDO	46
4.2 AMOSTRAS DO ESTUDO.....	46
4.3 LOCAL E PROCEDIMENTOS DO ESTUDO/AMOSTRA	47
4.4 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS	48
4.5 PRÉ-PROCESSAMENTO DOS ESPECTROS RAMAN	49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NO CABELO CAUSADAS PELO UV	52
5.1.1 Modos vibracionais Raman.....	52
5.1.2 Análise de cluster.....	53
5.1.3 Análise de componentes principais.....	55
5.2 ESTUDO DA PERMEAÇÃO E EFICÁCIA DO ATIVO A NA PROTEÇÃO DA FIBRA CAPILAR	60
5.2.1 Permeação do ativo A.....	60
5.2.2 Eficácia do ativo A	68
5.2.3 Análise das ligações de enxofre (509 cm ⁻¹)	69
5.2.4 Melhor resultado de eficácia do ativo A	72
5.3 ESTUDO DA PERMEAÇÃO E EFICÁCIA DO ATIVO B NA PROTEÇÃO DA FIBRA CAPILAR	74
5.3.1 Permeação do ativo B.....	74

5.3.2 Eficácia do ativo B	78
5.3.3 Análise das ligações de enxofre	79
6 RESUMO COMPARATIVO.....	81
7 CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

1 INTRODUÇÃO

Considerado pela sua miscigenação, o Brasil é um país que apresenta quase todos os tipos de cabelo, devido a isso possui elevada variedade. Culturalmente a população brasileira confere importância aos tratamentos cosméticos e capilares, levando o Brasil ostentar a terceira posição mundial de consumo de produtos para cabelo (ABIHPEC, 2017).

O cabelo é um elemento importante do corpo dos mamíferos, pois é um revestimento externo que colabora para criar uma barreira de proteção do animal no ambiente ao qual ele está inserido (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014). Embora não possua uma função biológica vital nos seres humanos, os cabelos possuem significados psicológicos consideráveis, tendo papel fundamental na construção da imagem e na identificação corporal de homens e mulheres.

Sendo assim, o cabelo é um item marcante para os indivíduos, para a sua autoestima e na sua inclusão social e autopercepção, fazendo parte da identidade das pessoas. Ainda, faz parte de suas características físicas que podem ser modificadas simplesmente com a alteração da cor ou mesmo comprimento e forma (BOLDUC; SHAPIRO, 2001).

A radiação solar pode provocar danos na fibra capilar, que está exposta diariamente à poluição, à ação de pentear, higienização e fatores endógenos, todavia também, está exposta a tratamentos químicos que podem ser responsáveis por diversas modificações da estrutura capilar, abrandando a resistência do fio à quebra e impactando no efeito ao toque e brilho do cabelo.

Outro dano essencial aos seguimentos da fibra capilar, é a retirada de uma camada de ácidos graxos, em que nos cabelos saudáveis, esta camada é encontrada unida covalentemente à cutícula. Sendo assim, a fibra pode ser mais vulnerável à eletricidade estática e frizz alterado pela umidade, além de perder extraordinárias características sensoriais, como sedosidade e brilho (MIRANDA-VILELA; BOTELHO; MUEHLMANN, 2014).

Dentre os danos, pode-se mencionar a diminuição da resistência mecânica e térmica, diminuição da substância proteica, visto a composição basicamente proteica da fibra capilar, e de brilho, sendo este pertinente aos danos causados às camadas de cutícula.

Portanto, os procedimentos capilares têm o desígnio de resguardar e tratar os fios dos acometimentos externos e dos processos químicos, e, em função do acréscimo e do avanço tecnológico, é imprescindível ter ciência dos possíveis danos, para que se encontre alternativas ao diagnóstico e tratamento modelo para a fibra capilar.

Entre as alternativas está a espectroscopia Raman, esta é uma técnica fotônica que proporciona informações químicas e estruturais de diversos materiais, de compostos orgânicos ou inorgânicos e na pesquisa biomédica de tecidos *in vivo*, como pele e cabelo, de forma seletiva e não destrutiva (FARIA; SANTOS, 1996). As técnicas de espectroscopia fornecem informações sobre os níveis de energia das ligações moleculares das espécies em estudo, como na espectroscopia vibracional consegue-se informações e detalhes dos níveis de energia vibracionais, representando a *impressão digital* das moléculas (FARIA; SANTOS, 1996). É uma técnica que tem sido extensivamente empregada, sobretudo no campo da bioquímica. A adaptação desta técnica para a análise capilar revelou inúmeras vantagens no que se refere a acréscimo de resolução e eficiência.

As aplicações da eletroforese capilar tem sido usadas em crescimento exponencial, pois diversas classes de íons e moléculas combinadas, são passíveis de serem estudados. Podem ser analisados desde simples íons inorgânicos e orgânicos, até ácidos nucleicos, proteínas e células (MIRANDA-VILELA; BOTELHO; MUEHLMANN, 2014). Assim, mesmo a espectroscopia Raman sendo uma técnica fundamental na caracterização de biomoléculas, ela também pode ser associada a outros métodos de diagnóstico e caracterização.

A hipótese deste estudo é evidenciar que a técnica da Espectroscopia Raman Confocal é capaz de evidenciar a permeação e a permeação e a eficácia da proteção UV quanto a aplicação dos produtos do ativo A e B.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar através da técnica de Espectroscopia Raman Confocal, o efeito fotoprotetor e a manutenção das concentrações dos aminoácidos das fibras capilares, com a utilização de formulações dos produtos A e B e após exposição à radiação UV.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Acompanhar a permeação dos ativos A e B nas fibras capilares, e o efeito fotoprotetor das formulações na manutenção das concentrações dos aminoácidos presentes nas fibras capilares, após exposição à radiação solar;
- Analisar a estrutura morfológica e composição química do fio capilar;
- Avaliar o efeito protetor UV dos produtos ativos no fio capilar humano.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FIO DE CABELO HUMANO: ESTRUTURA E MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

3.1.1 Estrutura

A estrutura do fio de cabelo humano tem sua formação iniciada a partir da papila dérmica e cresce na região denominada folículos, que são pequenas bolsas de células vivas localizadas abaixo da pele ou couro cabeludo. (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999). Conforme a figura 1, os folículos estendem-se da derme, passam pela epiderme até atingirem a superfície da pele.

De acordo com Robbins (2002) os cabelos são formados basicamente por um conjunto organizado de células altamente queratinizadas e se divide em quatro camadas: medula, córtex, cutícula e complexo de membrana celular (Figura 1).

A medula é a parte mais interna e fica localizada na parte central dos cabelos, e, geralmente é encontrada em cabelos mais grossos, ou seja, com diâmetro maior, e ausentes cabelos mais finos, onde, a medula é composta por células queratinizadas e sua estrutura é formada por inúmeros vacúolos, poros e cavidades, com espaços inter e intracelulares cheios de ar (ROBBINS, 2002, p. 13).

A medula capilar tem como função principal armazenar a melanina (proteína responsável por proporcionar coloração aos cabelos), produzida no bulbo, e não contribui com nenhuma propriedade química ou mecânica dos fios de cabelo e, essa medula está diretamente relacionada às características como brilho e tons de coloração dos cabelos.

A principal função dos fios capilares, considerados como anexo cutâneos, é a regulação térmica protegendo a cabeça da radiação solar. As características do cabelo variam de acordo com a genética de cada indivíduo, podendo ser liso, crespo, ondulado e de diferentes cores. O diâmetro também é outra variante, podendo variar entre 15 a 120 μm (RICHENA, 2015).

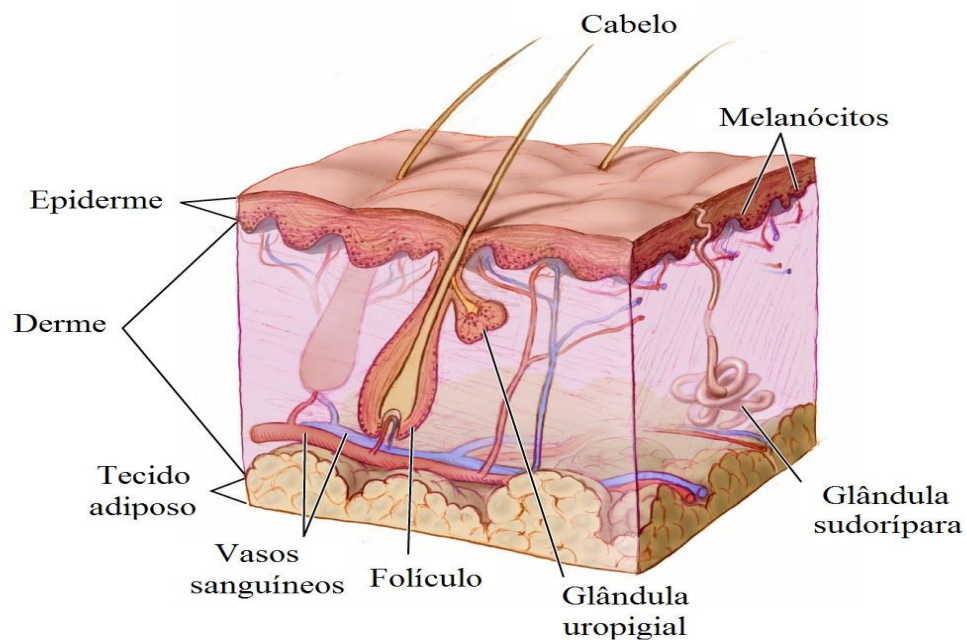
O folículo capilar cresce longitudinalmente, de forma contínua e inclinada, dentro do canal pilárico ou poro (região que compreende desde a entrada do ducto da glândula sebácea até a superfície da pele) até a parte externa da epiderme.

Na parte inferior, o folículo piloso, figura 1, apresenta uma região basal bastante dilatada, com um diâmetro maior em relação ao restante de sua estrutura, denominada de bulbo, que tem sua cavidade interna totalmente preenchida com um tecido conectivo denominado de papila dermal (RICHENA, 2015).

A parte do folículo superior ao bulbo, figura 1, que se estende através do canal pilárico, é denominada de haste. A haste do cabelo tem um formato cilíndrico e é bastante resistente as diferentes forças degenerativas como: fricção, tensão e radiação ultravioleta (ROBBINS, 2002).

Com relação ao comprimento, o crescimento do cabelo humano é de aproximadamente 1,0 a 1,5 cm por mês possuindo aproximadamente 100.000 folículos produtivos que são responsáveis pela reposição média de 50 a 100 fios de cabelos por dia de acordo com Chatt e Katz (1988 *apud* POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999).

Figura 1 - Representação da pele humana, ilustrando uma fibra de cabelo



Fonte: BORGES; BORGES; PINHEIRO (2018).

A composição dos fios ou fibras capilares é constituída basicamente por cerca de 65 a 95% de proteínas, com destaque para a queratina que está presente em maior quantidade (BORGES; BORGES; PINHEIRO, 2018).

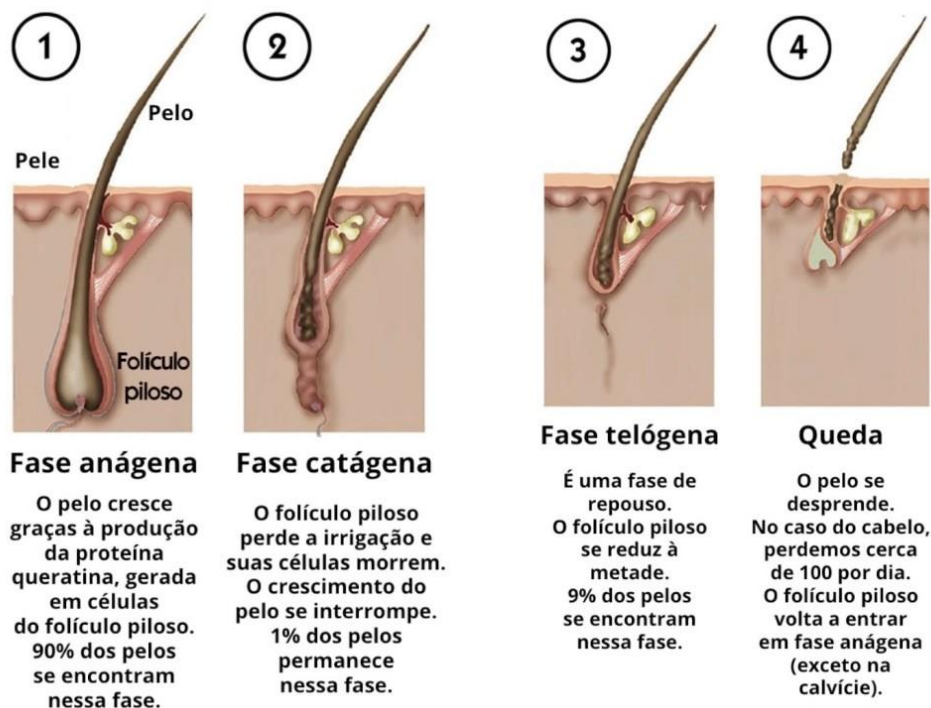
A estrutura capilar também possui outros componentes como água, lipídeos (estruturais e livres), elementos-traço, geralmente não livres e combinados

quimicamente com cadeias laterais de grupos proteicos ou com grupos de ácidos graxos, além de pigmentos (ROBBINS, 2002).

O ciclo de vida de uma fibra capilar consiste em três estágios: anágeno (estágio de crescimento), catágeno (estágio de transição) e telógeno (estágio de repouso quando ocorre a troca do fio de cabelo). Em um couro cabeludo saudável, aproximadamente 80% a 85% dos cabelos estão na fase anágena, 1% a 2% estão na fase catágena e 10% a 20% estão na fase telógena (ROBBINS, 2002).

- **O estágio anágeno:** é caracterizado por intensa atividade metabólica no bulbo capilar. Essa atividade geralmente dura de 4 a 6 anos, produzindo cabelos no couro cabeludo que podem crescer aproximadamente 100 cm de comprimento.
- **O estágio catágeno:** é um estágio de transição e pode durar várias semanas (2 a 4 semanas). Durante a fase catágena, a atividade metabólica diminui e a base do folículo migra para cima da pele em direção à superfície epidérmica.
- **O estágio telógeno ou de repouso:** é quando o crescimento do cabelo para e a base do bulbo capilar se aproxima do nível do canal sebáceo. Um novo cabelo começa a crescer sob o folículo telógeno e empurra o folículo velho para cima, que acaba sendo liberado, ocasionando a troca do fio de cabelo em um processo que pode durar de 3 a 4 meses.

Figura 2 - Ciclo de vida de uma fibra capilar



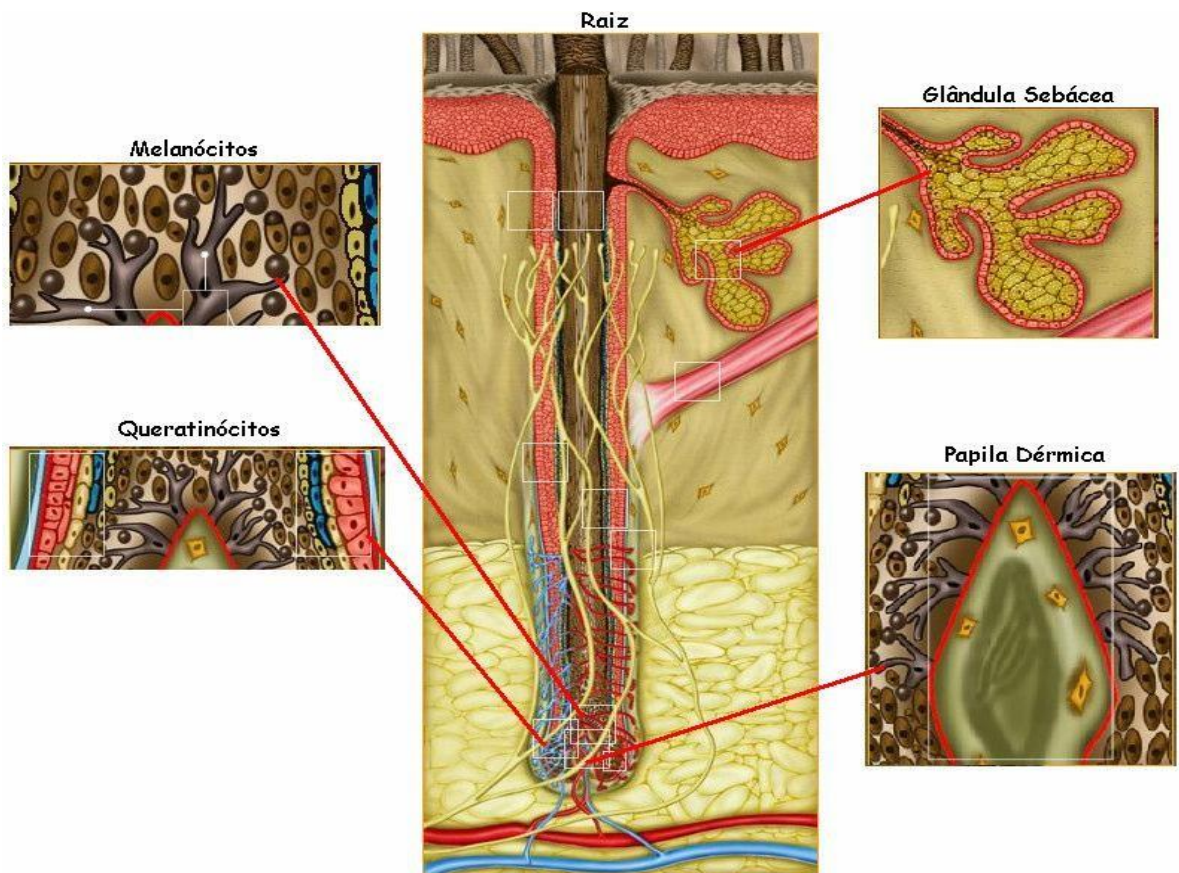
Fonte: AÑEL (2020).

Ainda, sobre a composição dos cabelos, Wilkinson e Moore (1990) destacam que na constituição dos fios capilares estão presentes pequenas quantidades de substâncias solúveis em água, tais como pentenos, fenóis, ácido úrico, glicogênio, ácido glutâmico, valina e leucina.

3.2 MORFOLOGIA

A produção dos fios de cabelo se dá no folículo piloso que é formado por um bulbo. Neste bulbo contém uma matriz germinal que formam a haste capilar por meio da divisão celular, onde, também inicia o crescimento e alongamento do fio capilar, e na parte superior do mesmo, a estabilização das células corticais começa a ficar visível a partir da raiz do cabelo (FEUGHELMAN, 1977).

Figura 3 - Raiz de um fio de cabelo, indicando detalhes da papila dérmica, glândula sebácea, queratinócitos e melanócitos



Fonte: TORRES *et al.* (2005).

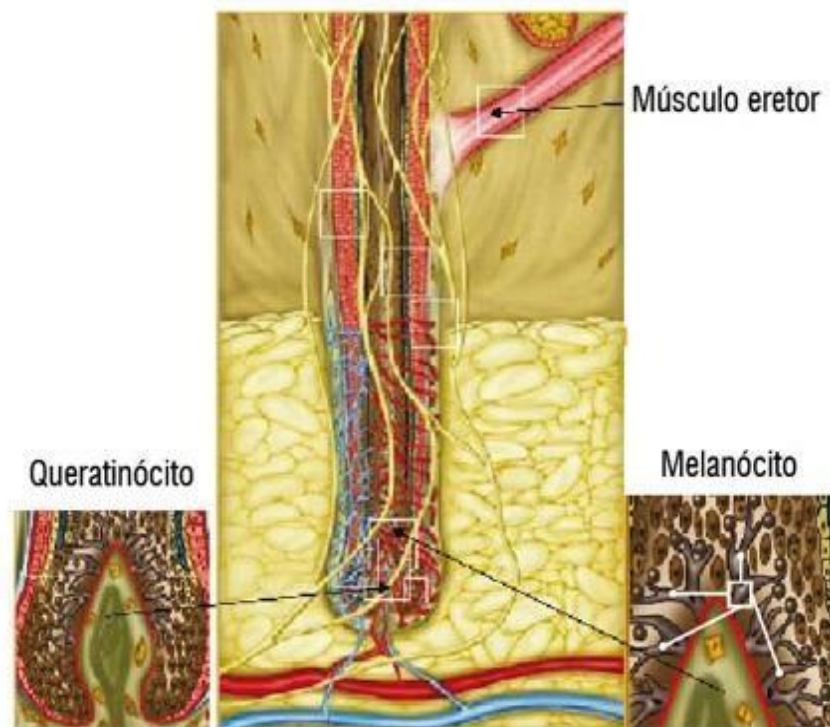
Por ter uma boa irrigação sanguínea, a raiz do cabelo conta com o auxílio de substâncias trazidas pelo sangue que são incorporadas na sua formação. Cada parte da raiz do cabelo apresentadas na figura 3 possuem funções específicas.

A papila dérmica é o local de aporte dos nutrientes da corrente sanguínea e tem a função de regular o ciclo de vida do cabelo, localizando-se a 4mm abaixo da pele. Inseridas na derme e hipoderme, as glândulas sebáceas são anexas dos folículos capilares. Essas glândulas secretam por um processo denominado secreção holócrina, onde a célula secretora morre tornando-se o próprio produto de secreção da glândula.

O produto da secreção (sebo) mantém a textura da pele e a flexibilidade do cabelo, por conter triglicérides e colesterol tipo cera. Outra parte importante da composição da raiz dos cabelos, os melanócitos, estão presos na parte superior da papila dérmica, conforme pode ser observado na Figura 4.

Por serem células de maior volume, estas injetam, utilizando seus dendritos, pequenos grânulos de pigmento (melanina) primeiramente no córtex, seguindo posteriormente para a haste capilar. Essa função dos melanócitos determina a cor do cabelo e a produção da melanina em organelas especializadas conhecidas como melanossomos (TORRES *et al.*, 2005).

Figura 4 - Melanócito e queratinócito



Fonte: TORRES *et al.* (2005).

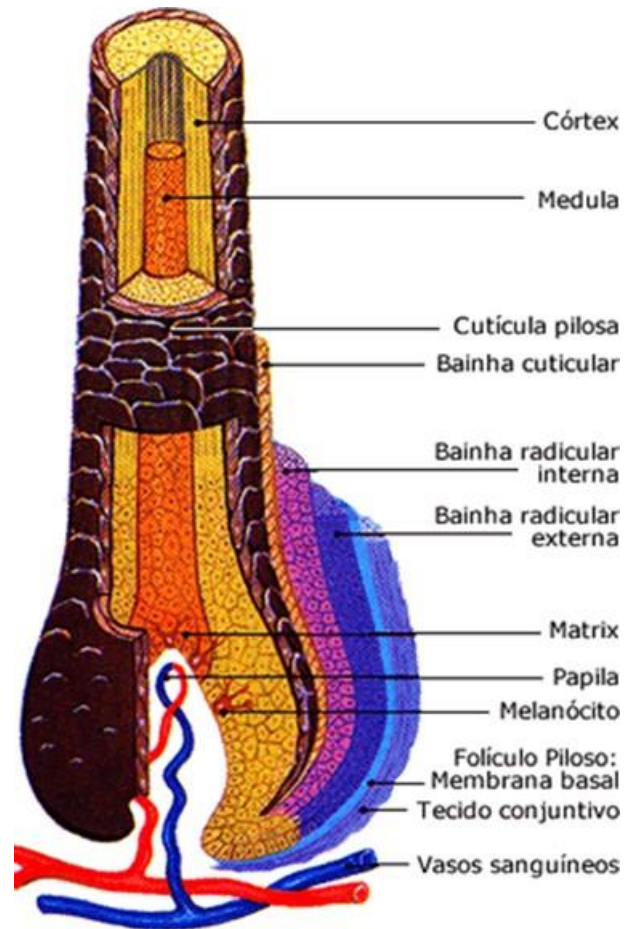
Sob a forma de grânulos ovais ou esféricos, as melaninas produzidas nos melanócitos estão distribuídas no córtex, sendo responsáveis pela pigmentação natural dos cabelos. Originadas da tirosina e da enzima tirosinase por meio de um processo oxidativo elas se apresentam em dois tipos: eumelanina e feomelanina (ROBBINS; CRAWFORD, 1991).

França (2014, p. 10) citando Robbins e Crawford (1991) assim classifica a eumelanina e feomelanina:

A eumelanina é um polímero presente como grânulos dentro dos melanossomos em forma semelhante a um grão de arroz e sua coloração varia de vermelho escuro a preto. A feomelanina ocorre em melanossomos sob uma forma menos precisa, sua formação inicia quando um produto intermediário da eumelanina reage com o aminoácido cisteína e a molécula resultante contém enxofre proveniente da cisteína. Pode ser vista na forma de pontos difusos e sua coloração varia de amarelo para vermelho.

Sobre a composição da eumelanina e feomelanina nas variadas cores de cabelo destaca-se que: 1) cabelos pretos: possuem aproximadamente 99% de eumelanina e 1% de feomelanina; 2) cabelos castanhos e loiros: cerca de 95% de eumelanina e 5% de feomelanina e 3) cabelos ruivos: contêm cerca de 67% de eumelanina e 33% de feomelanina. É a combinação entre os dois tipos de melaninas que gera infinitas cores, podendo variar do loiro mais claro até o negro mais escuro (TORRES *et al.*, 2005).

Figura 5 - Representação da haste capilar e suas quatro divisões distintas: cutículas, córtex, complexo da membrana celular - CMC e medula.



Fonte: COSTA (2010).

Conforme observado acima, a estrutura do cabelo é formada basicamente por três camadas:

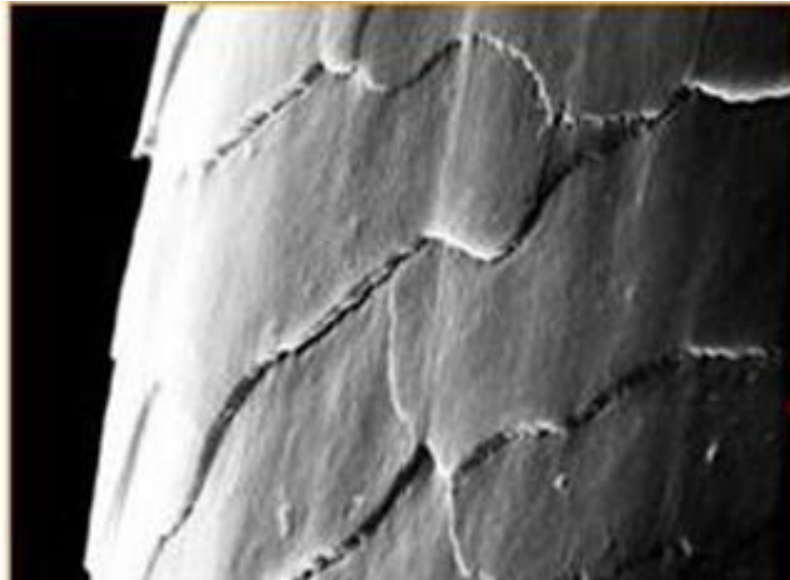
a) cutícula: que é uma camada externa formada por várias subcamadas e separadas por um complexo de células que se subdividem em endocutícula, epicutícula e exocutícula;

b) córtex: que é a principal componente do cabelo formado por células cilíndricas denominada de matriz e onde ficam armazenadas a queratina e outras proteínas e

c) medula: uma camada mais interna do folículo e que pode estar ausente em alguns tipos de cabelo (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999).

A Figura 6 apresenta a cutícula, uma região quimicamente resistente ao redor do córtex e a parte mais externa do fio. É constituída por material proteico e amorfo (ROBBINS; CRAWFORD, 1991).

Figura 6 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - Foco na Cutícula



Fonte: TORRES *et al.* (2005).

Sendo extremamente pequenas e incolores as células que constituem a cutícula apresentam-se sob forma de escamas, unidas por um cimento intercelular com alta concentração de lipídios, o qual sobrepõem umas às outras em camadas de 3 a 10 células como telhas sobrepostas. As extremidades livres destas células estão voltadas para a ponta do cabelo e desta forma protegem o córtex (TORRES *et al.*, 2005), e as que estão mais próximas do couro cabeludo são mais resistentes.

De acordo com Robbins (1994) as medidas de cada célula cuticular são de aproximadamente 0,5 a 1,0 μ m de espessura e 45 μ m de comprimento. Existem fatores que podem causar prejuízo a cutícula como a ação do tempo e danos mecânicos, tais como: pentear, escovar, uso de xampu em excesso e uso de outros produtos cosméticos de forma inadequada (ROBBINS; CRAWFORD, 1991).

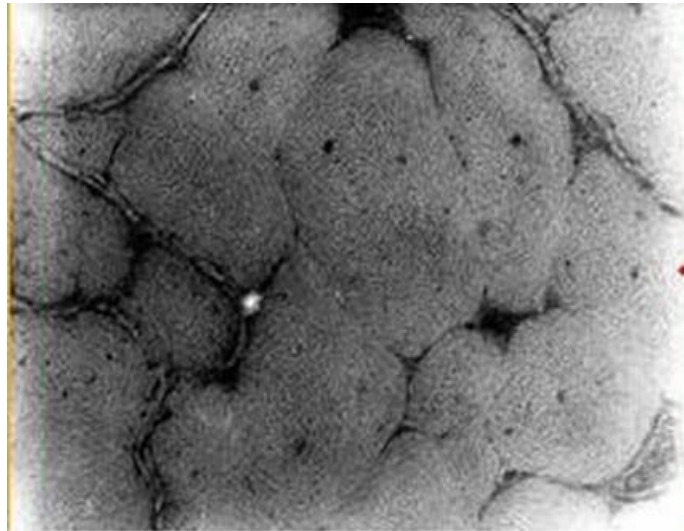
A epicutícula é uma membrana fina que envolve cada célula cuticular. Esta membrana possui aproximadamente 25 Å de espessura e contém acima de 30% de cistina que são geradas a partir de duas cisteínas, fato que lhe dá resistência física e aos ataques químicos (ROBBINS, 1994).

Sobre a epicutícula Ledder *et al.* (1985 *apud* FRANÇA, 2014) destacam que a mesma é uma membrana resistente quimicamente e que, mesmo após ataque químico, mantém as fibras de queratina e camada lipídica da superfície dos cabelos. Por ser a camada mais externa, pode ser considerada a parte mais importante da

cutícula sob o aspecto da exposição de polímeros e corantes capilares (DIAS *et al.*, 2007).

A exocutícula é fisicamente rígida e possui um alto nível de enxofre, além de ser rica em cistina (~15%) e correspondendo a 55% da área da cutícula (ROBBINS, 1994). Já a endocutícula apresenta aproximadamente 3% de cistina, nível considerado baixo e que é facilmente degradada por agentes alcalinos. Quando penteados ainda molhados os fios escamam e quebram, fato que pode ser explicado pelas evidências de que a exocutícula intumescce com a água devido ao seu aspecto mais macio quando comparado com as outras camadas (epicutícula e exocutícula) (DIAS *et al.*, 2007).

Figura 7 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - foco no CORTÉX



Fonte: TORRES *et al.* (2005).

Ao definir o córtex (Figura 7) Robbins e Crawford (1991) inferem que este é o principal componente do cabelo. Suas células cilíndricas de aproximadamente 1 a 6 μ m de espessura e 100 μ m de comprimento se unem para a formação da matriz, onde estão situadas a queratina e outras proteínas. É constituída por material intra e intercelular e compõe a maior parte da massa fibrosa do cabelo humano.

O córtex é formado por células com queratina e corresponde ao corpo real da fibra, representando 90% do peso total. As células corticais se alongam ao longo da maturação do cabelo atingindo cerca de 100 μ m ficando arranjadas ao longo de sua extensão por meio de uma substância intercelular de queratina flexível (TORRES *et al.*, 2005).

A matriz é uma região amorfa, porém apresenta pequenas partes com organização estrutural. Ela compreende grande parte da estrutura do cabelo e possui grande concentração de ligações dissulfídicas que sofrem inchamento considerável quando entra em contato com a água e forma um gel com forma reticulada que é próprio de ligações intracelulares. Caso fosse formado por ligações intercelulares seria formado por um polímero altamente reticulado (ROBBINS, 1994).

A cor do cabelo e sua fotoproteção são derivadas das macrofibrilas de queratina que ficam alinhadas na direção do fio e de grânulos de melanina. De acordo com Robbins (1994 *apud* FRANÇA, 2014, p. 14).

As macrofibrilas contém subfilamentos chamados filamentos intermediários ou microfibrilas (microfilamentos), arranjados de forma espiral nas células corticais. O radial de cada estrutura espiral é de aproximadamente 4.000 Å por unidade e o diâmetro de um filamento intermediário é próximo de 75 Å. Contém baixas frações de enxofre e pequenas seções de proteínas em forma de α -hélices em formação de bobinas enroladas intercaladas com estruturas não helicoidais.

O CMC (Complexo da Membrana Celular) é constituído de membranas celulares e material adesivo que produzem um efeito de “cola” ligando as células cuticulares e corticais.

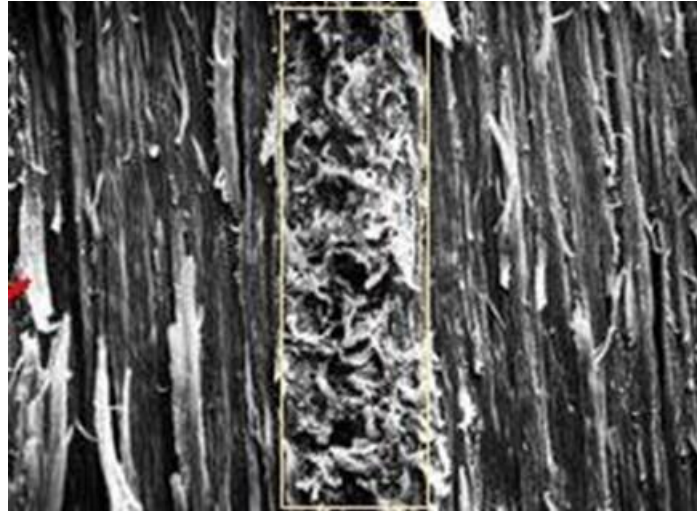
Também referido como região não queratinosa, o CMC é responsável pela umidade natural do cabelo que remete o aspecto brilhante, transparente e naturalmente hidratado. É quimicamente formado por proteínas, polissacarídeos e um tipo de lipídeos ou ceramidas (ROBBINS; CRAWFORD, 1991).

Representando 3% da composição do cabelo os lipídeos são formados a partir dos esteroides, ceramidas e ácidos graxos, sendo produzidos no bulbo capilar. São encontrados essencialmente no CMC do córtex e na cutícula, dando ao cabelo certa impermeabilidade. A flexibilidade e o brilho do cabelo são preservados pela mistura de lipídeos produzidos pela glândula sebácea que lubrifica o fio de cabelo (TORRES *et al.*, 2005).

Situada no centro da fibra e com uma presença descontínua e até mesmo ausente ao longo do cabelo, a medula (Figura 8), também conhecida como canal medular, é a camada mais fina do folículo e não interfere na estrutura do cabelo (TORRES *et al.*, 2005).

De acordo com Briki *et al.* em 2000 *apud* FRANÇA, 2014, em testes comparativos nas três partes estruturais do cabelo - cutícula, córtex e medula, verificado por micro espectroscopia de infravermelho com radiação síncroton, utilizando ondas na região de 3000 a 2800 cm^{-1} , ficou evidenciado que a concentração de lipídeos dentro da medula é maior que em qualquer outra região do cabelo.

Figura 8 - Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um fio de cabelo - Foco na MEDULA



Fonte: TORRES *et al.* (2005).

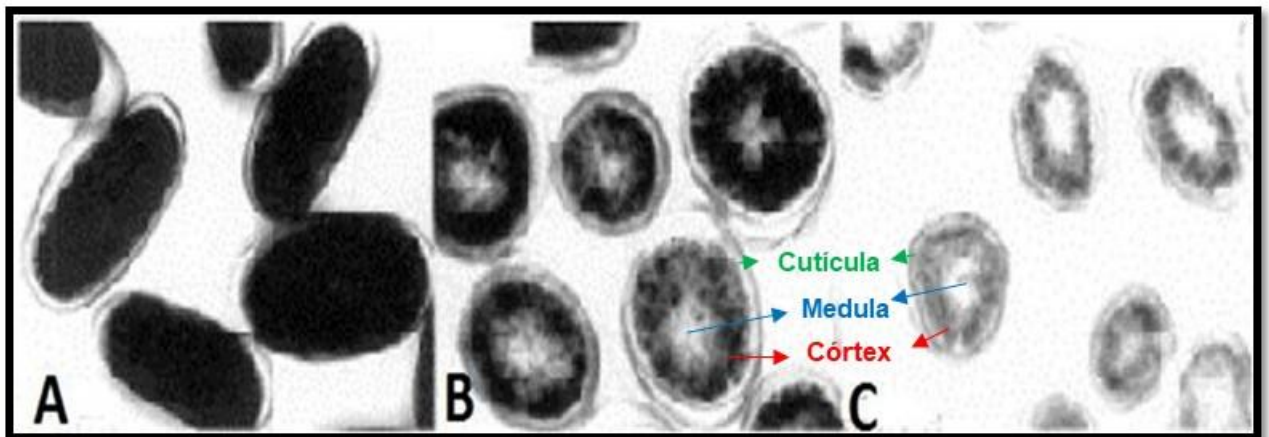
A medula não tem uma função definida como outras estruturas do cabelo. Mesmo não havendo comprovação, é atribuída a ela o envolvimento com as propriedades que definem a cor do cabelo. Em testes em animais, ficou constatado que esta estrutura alveolar, está relacionada com a termorregulação, já nos humanos o seu papel ainda é desconhecido (TORRES *et al.*, 2005).

Em cabelos com fraca pigmentação, por exemplo, louros ou grisalhos, ela se apresenta de forma contínua ou interrompida e com falhas durante a fibra. Na faixa azul do espectro visível a medula provoca aumento na dispersão da luz, dando um aspecto de cor mais branca nas fibras naturalmente amareladas (FEUGHELMAN, 1977).

A parte visível dos cabelos é a haste capilar, e é formada pelas células queratinizadas com grande quantidade de material organizado. Desta forma, a orientação espacial e a estrutura bioquímica, dão resistência a fibra e a outras ações como fricção, tensão, raios UV (ultravioleta), além de ataques químicos e outros. O comprimento varia muito de uma pessoa para outra, e possui o aspecto de um cilindro alongado (BOUILLON; WILKINSON, 2005).

Na Figura 9 é apresentado um corte seccional de três diferentes etnias, sendo que nos cabelos de origem asiática o formato cilindro desenvolve fibras diretas, enquanto nos cabelos cacheados ou crespos de origem africana, predomina a forma elíptica desenvolvendo fibras com desenvolvimento diagonal ao couro cabeludo (BOUILLON; WILKINSON, 2005).

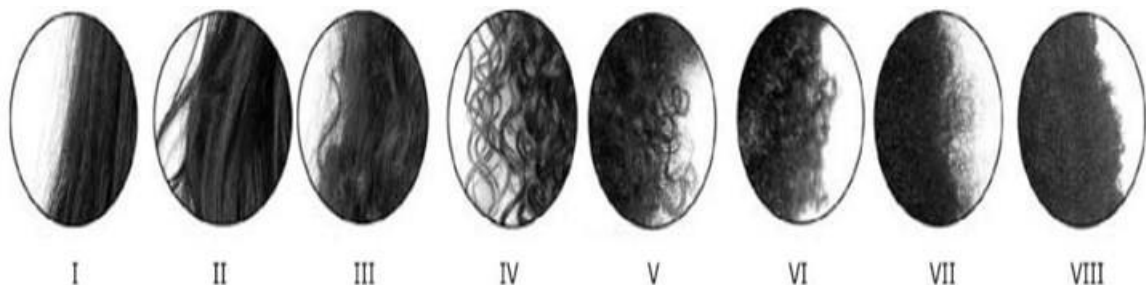
Figura 9 - Vista de um corte seccional de três maiores grupos étnicos: (A) Cabelo Africano; (B) Cabelo Asiático; (C) Cabelo Caucasiano



Fonte: BOUILLON; WILKINSON (2005).

Considerando a mistura de etnias de diferentes regiões do mundo, e a realização de diversos testes, foi lançada uma nova classificação de cabelos chegando a oito tipos de ondulação do mesmo, considerando parâmetros morfológicos, e não a origem étnica (LOUSSOUARN *et al.*, 2007) conforme demonstrado na Figura 10.

Figura 10 - Classificação de cabelos de acordo com ondulação e parâmetros morfológicos



Fonte: LOUSSOUARN *et al.* (2007).

3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

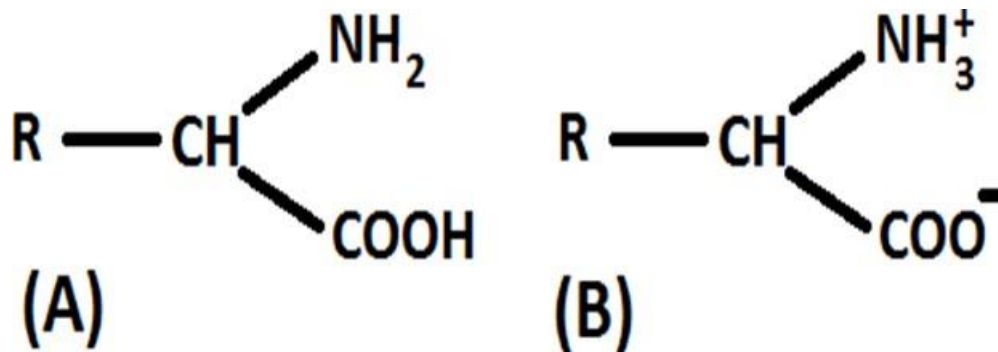
No que se refere a composição química do cabelo, ele é um tecido complexo, constituído por uma diversidade de componentes morfológicos formados por diferentes espécies químicas que, quando integradas, agem em conjunto ou individualmente realizando ações ou tendo funções específicas (ROBBINS, 1994).

A queratina com resíduos de membranas celulares, é a substância proteica insolúvel que constitui maior parte do cabelo (WILKINSON; MOORE, 1990).

A maior parte do cabelo, é constituída pela substância proteica insolúvel já definida anteriormente, como queratina com resíduos de membranas celulares, núcleos que formam uma pequena fração de substâncias solúveis em água (WILKINSON; MOORE, 1990).

Assim como outras proteínas, a queratina é composta de aminoácidos, mas também pode ser apresentada na forma de íon com carga positiva e negativa, conforme demonstrado na Figura 11.

Figura 11 - (A) Estrutura geral da queratina; (B) forma ionizada da queratina

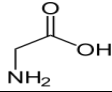
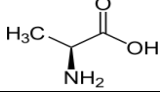
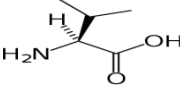
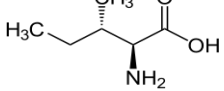
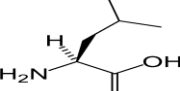
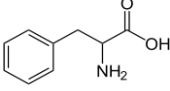
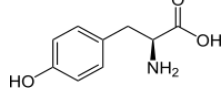
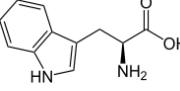
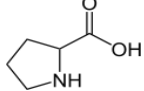
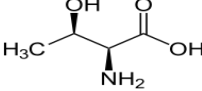
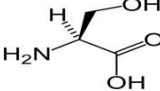
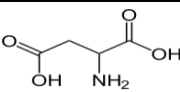
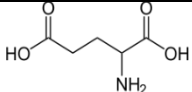
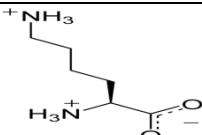
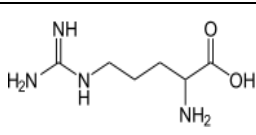
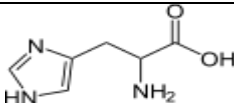
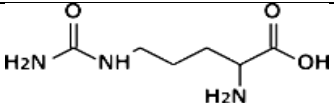
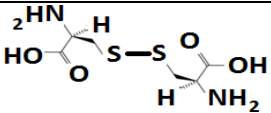
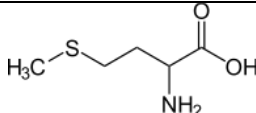
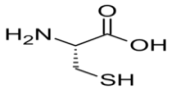
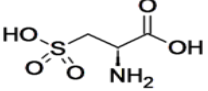


Fonte: WILKINSON; MOORE (1990).

Robbins em 1994, destacou que a umidade capilar corresponde cerca de 32% de seu peso e a presença de proteínas no cabelo humano varia de 65 a 95%, formadas a partir da condensação de aminoácidos além de outras substâncias como água, lipídeos livres e estruturais, pigmentos e traços de outros elementos ligados quimicamente, com ácidos graxos e outras cadeias de proteínas.

No Quadro 1 são apresentados as estruturas de aminoácidos e as respectivas porcentagens presentes nos cabelos.

Quadro 1 - Estruturas químicas de aminoácidos na forma hidrolisada, encontrados no cabelo humano

Hidrocarbonetos alifáticos ou acíclicos			
Glicina (4,5 - 5,2) %		Alanina (2,8 - 3,5) %	
Valina (5,0 - 5,8) %		Isoleucina (2,3 - 2,5) %	
Leucina (6,4 - 6,9) %			
Hidrocarbonetos Aromáticos			
Fenilalanina (2,2 - 2,8) %		Tirosina (2,1 - 2,7) %	
Hidrocarbonetos Heterocíclicos			
Triptofano (0,8 - 1,2) %		Prolina (7,0 - 7,8) %	
Hidroxilado			
Treonina (6,5 - 7,5) %		Serina (9,6 - 10,8) %	
Diácido			
Ácido aspártico (5,6 - 6,5) %		Ácido glutâmico (14,3 - 15,5) %	
Dibásico			
Lisina (2,6 - 3,1) %		Arginina (8,8 - 9,6) %	
Histidina (0,8 - 1,1) %		Citrulina	
Sulfúrico			
Cistina (14,0 - 16,5) %		Metionina (0,5 - 0,9) %	
Cisteína		Ácido Cistéico	

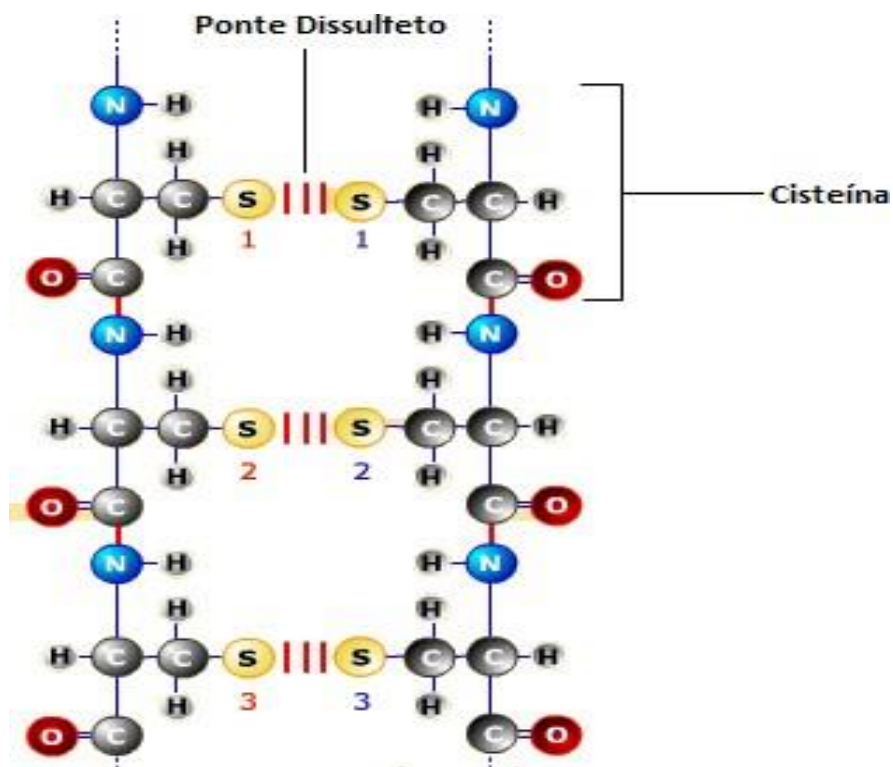
Fonte: BOUILLON; WILKINSON (2005).

A cistina é responsável pela solidez e insolubilidade da queratina do cabelo. Ela une-se a duas cadeias polipeptídicas através da ligação entre os enxofres por ser um aminoácido que contém grupos aminos e carboxílicos. Há também evidências de ligações cruzadas de éteres com serina, treonina e tirosina e como ligações principais

pode-se destacar as pontes salinas, pontes dissulfídicas e ligações de hidrogênio (WILKINSON; MOORE, 1990).

Ao discorrer sobre a estrutura de α -queratina, França (2014, p. 18) destacou que “as cadeias polipeptídicas em configuração helicoidal com 3,7 aminoácidos em volta da hélice e cada volta desta, está fixada por meio de pontes de hidrogênio entre os grupos carbonílico e amínico de aminoácidos separados dos outros”. Na Figura 12 é apresentada a formação das pontes dissulfídicas.

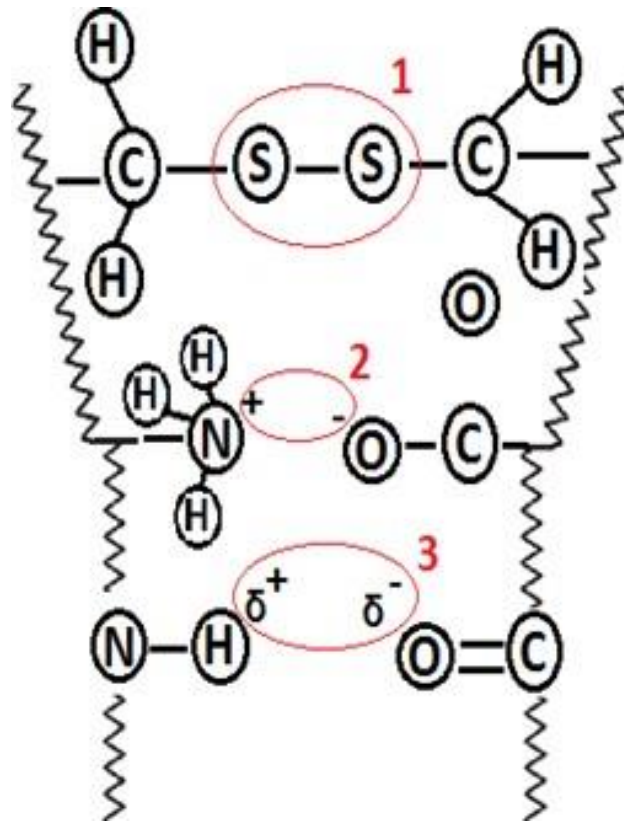
Figura 12 - Formação da ponte de enxofre entre dois aminoácidos de cisteína



Fonte: FRANÇA (2014, p. 8).

De acordo com Wilkinson e Moore em 1990, é possível haver várias regiões amorfas e cristalinas no cabelo, não sendo possível mensurar com exatidão a quantidade de material cristalino e amorfo existente. A α -queratina é uma estrutura bem-organizada diferentemente das demais. A irregularidade das cadeias laterais entre os mais de 20 aminoácidos presentes, e a total ausência de organização em algumas regiões que fazem ligações, acaba proporcionando maior proteção contra ataques químicos em virtude da complexidade na formação da hélice.

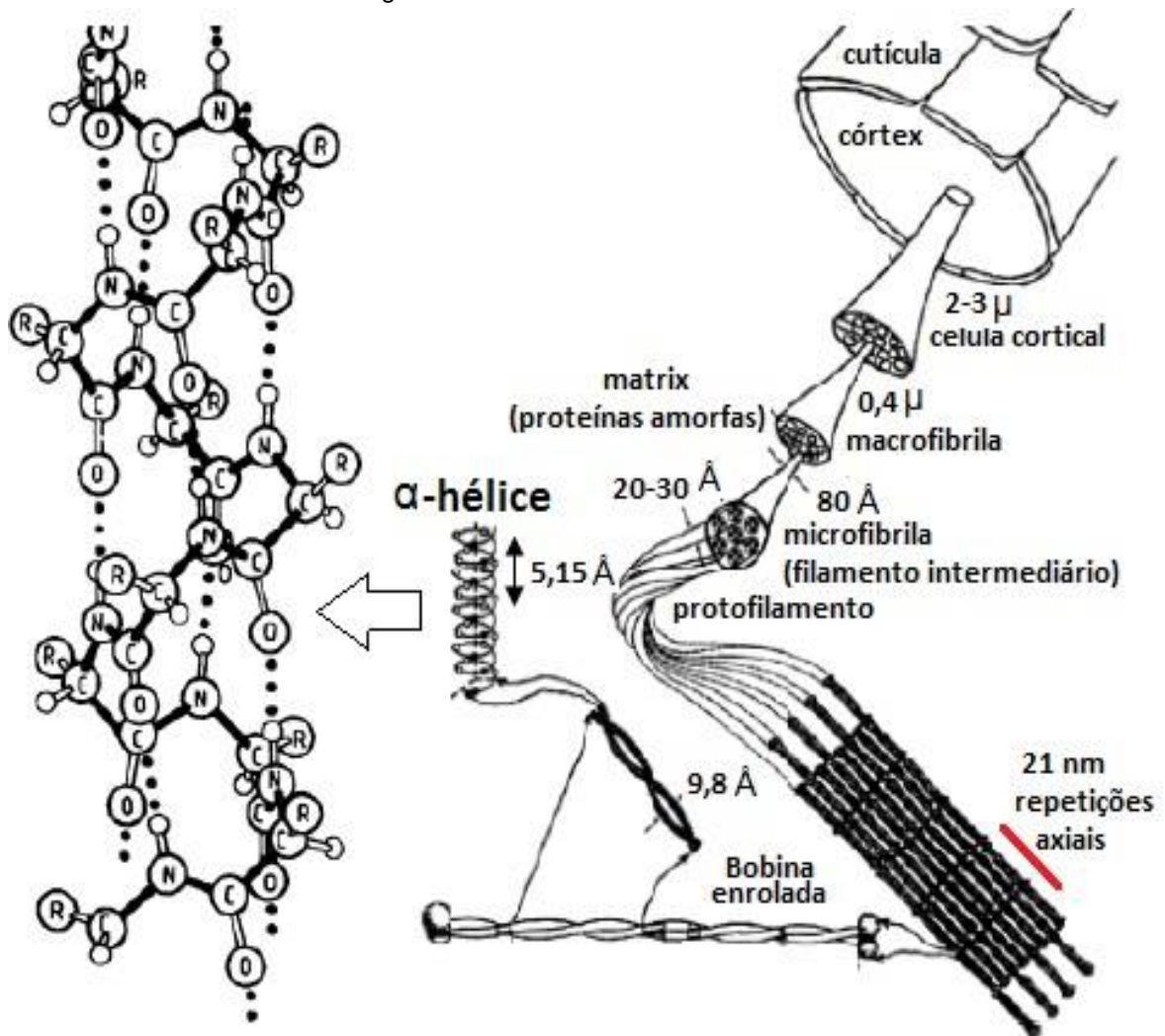
Figura 13 - Ligações químicas presentes no cabelo: (1) Ligação dissulfídica; (2) Ponte salina ou ligação iônica (3) Ligação de hidrogênio.



Fonte: FRANÇA (2014, p. 21).

A célula cortical destacada na Figura 14, situada na estrutura interna do cabelo, está dividida em matriz, macrofibrila, microfibrila, protofilamentos e a formação da estrutura helicoidal ou α -hélice.

Figura 14 - Estrutura interna do cabelo



Fonte: BOUILLON; WILKINSON (2005).

As macrofibrilas estão alinhadas ao longo do eixo do fio de cabelo e possuem aproximadamente de 0,1 a 0,4 μm de diâmetro. São hastes pequenas formadas através da união de filamentos intermediários ou microfibrilas fixados em uma base de proteína amorfa ou matriz e equivale a cerca de 40% do cabelo humano (BOUILLON; WILKINSON, 2005).

3.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN

A espectroscopia Raman é uma técnica no qual se emprega o estudo da física da matéria condensada, e em todo âmbito de aplicações em química, bioquímica, farmacologia, ciências biológicas e da saúde. Apesar da espectroscopia Raman se basear em um processo de dispersão (*scattering*), ele faz parte da espectroscopia

vibracional juntamente com a espectroscopia de absorção no infravermelho (SALA *et al.*, 1984).

É uma técnica precisa e sensível para o estudo da matéria em escala molecular, sendo, a Espectroscopia Raman, aplicada para auxiliar a caracterização da eficácia de produtos cosméticos na pele (OLIVEIRA, 2014).

Este efeito é usado em espectroscopia Raman para investigar os níveis de energia vibracional e rotacional das moléculas. Devido ao fato da intensidade da dispersão ser baixa, usa-se como fonte um laser na faixa do infravermelho.

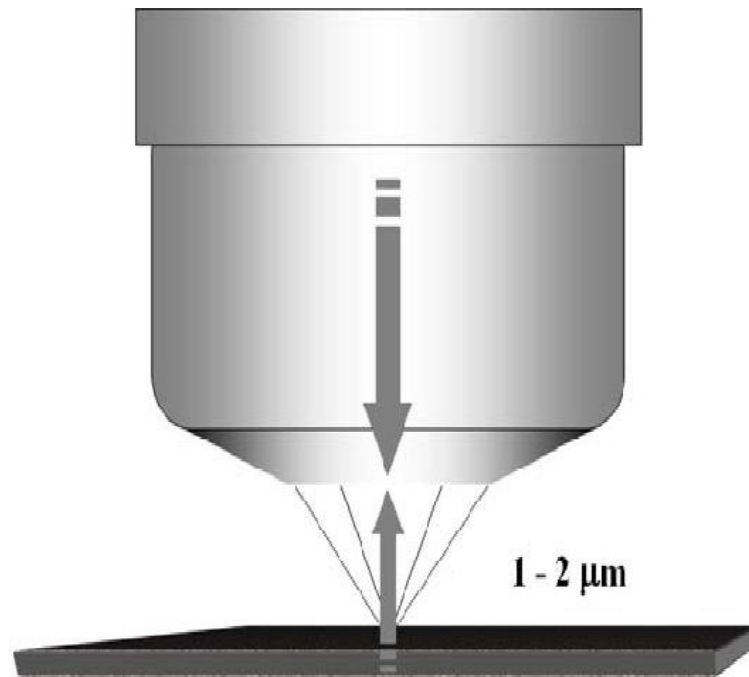
A espectroscopia de Raman pode ser aplicada ao estudo nos mais variados campos do conhecimento, e, por meio desta técnica, é possível identificar as informações químicas e estruturais de quase qualquer material, composto orgânico ou inorgânico em poucos segundos utilizando técnica fotônica de alta resolução. Em 1928, Chandrasekhara Venkata Raman realizou a primeira observação deste fenômeno na Índia (FARIA, 2011).

Em termos práticos esta técnica utiliza uma fonte monocromática de luz que, ao atingir o objeto de estudo, é espalhada por ele, gerando desta forma luz de energia igual ou diferente daquela eu foi incidida inicialmente.

Existem três mecanismos básicos de dispersão dos fótons quando incidem em uma molécula: espalhamento Stokes, espalhamento anti-Stokes e espalhamento Rayleigh. Os dois primeiros processos de dispersão são espalhamentos inelásticos da radiação monocromática que incide em uma molécula, no entanto, o espalhamento Rayleigh é do tipo elástico. Nos dois casos a molécula pode passar de um estado vibracional para outro e diferenciam-se nas grandezas de frequência $\nu_0 - \nu_v$ e $\nu_0 + \nu_v$, que correspondem aos espalhamentos Raman Stokes e Raman anti-Stokes, respectivamente (SOARES, 2017, p. 54).

O efeito Raman, como é conhecido o espalhamento inelástico, gera uma assinatura da composição química, conhecida como *fingerprint*, de cada material. A Microscopia Raman permite o estudo de áreas de até 1 μm (10^{-6} m) de diâmetro, utilizando um microscópio óptico convencional, onde a objetiva servirá tanto para focalizar o feixe incidente na amostra como também para coletar a radiação espalhada por ela (FARIA; SANTOS; GONÇALVES, 1997).

Figura 15 - Representação da Microscopia de Raman



Fonte: FARIA (2011).

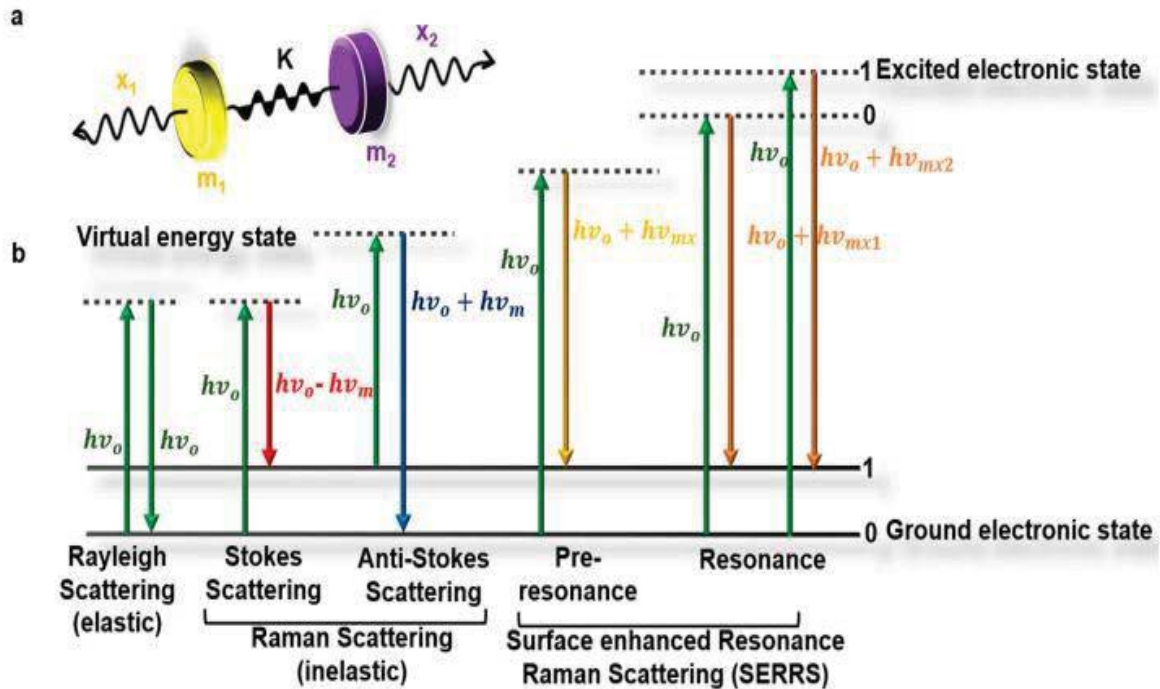
Como observado na figura 15 e destacado por Faria em 2011, o feixe de radiação laser monocromática e de baixa potência, é usado para iluminar pequenas áreas do objeto em estudo. Ao incidir sobre determinada área ele se espalha em todas as direções e uma pequena parcela se espalha inelasticamente, ou seja, com comprimento de onda diferente daquela que foi incidida inicialmente ($E = h\nu$ ou $E = h.c.\lambda^{-1}$).

A variação de energia entre a radiação incidente e a espalhada é a mesma da vibração dos átomos da área estudada. Esta frequência de vibração permite dentre outras coisas, obter informações sobre a geometria molecular, sobre a interação com o ambiente das espécies químicas presentes, e como os átomos estão ligados entre si.

Devido haver diversos tipos de vibração, em virtude da complexidade das espécies químicas presentes, a radiação inelástica é constituída por inúmeras e diferentes frequências, ou componentes espectrais, que precisam ser separadas e ter sua intensidade mensurada.

Ao destacar esta atividade Faria (2011, p. 2) infere que “o gráfico que representa a intensidade da radiação espalhada em função de sua energia (dada em uma unidade chamada de número de onda e expressa em cm^{-1}) é chamado de espectro Raman”. Esses tipos de espalhamento podem ser visualizados na figura 16.

Figura 16 - Esquema dos mecanismos de espalhamento Raman

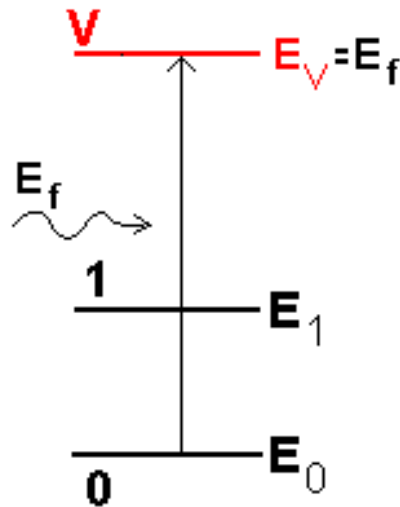


Fonte: CHAICHI *et al.* (2018).

Quando o fóton incidente tem uma energia E_f muito maior que a energia E_1 do modo normal, ao incidir sobre a molécula, o fóton pode excitá-la a um estado cuja energia E_V é muito maior que a energia E_1 do modo de vibração.

Entretanto, esses estados excitados são muito instáveis e a molécula rapidamente cai para estados de menor energia. A molécula pode, por exemplo, voltar ao estado fundamental (0), reemitindo um fóton com a mesma energia do fóton incidente em uma direção diferente da inicial. Para todos os efeitos, o fóton incidente foi simplesmente espalhado, sem perder nada de sua energia inicial, conhecido como espalhamento Rayleigh. Em alguns casos, a molécula não retorna ao estado fundamental. Depois de decair, ela fica no estado vibracional com energia E_1 . Nesse caso, o fóton que é reemitido em uma direção qualquer, terá sua energia diminuída para $E_f - E_1$.

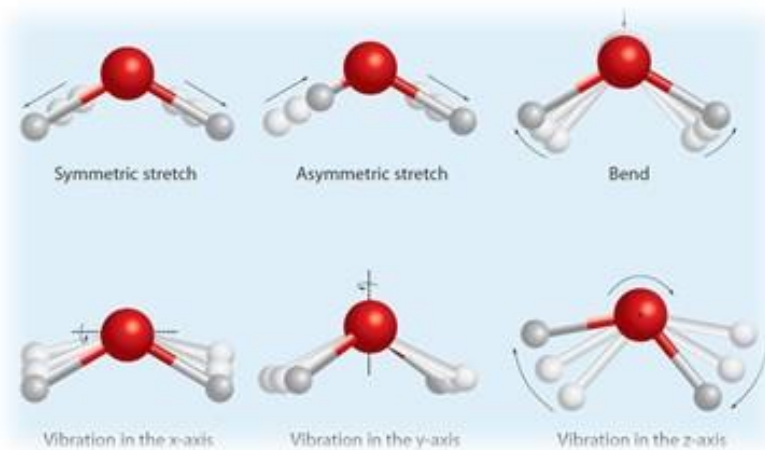
Figura 17 - Representação do fóton incidente sobre um átomo excitando um elétron do estado fundamental para outro de maior energia.



Fonte: CHAICHI *et al.* (2018).

A espectroscopia vibracional se baseia no estudo do espalhamento inelástico da luz incidente (RAMAN; KRISHNAN,1928). Cada grupo funcional constituinte das biomoléculas, vibra em uma frequência característica e espalha a luz em frequências específicas de cada molécula como uma impressão digital (Figura 18).

Figura 18 - Representação de movimento de vibração entre átomos

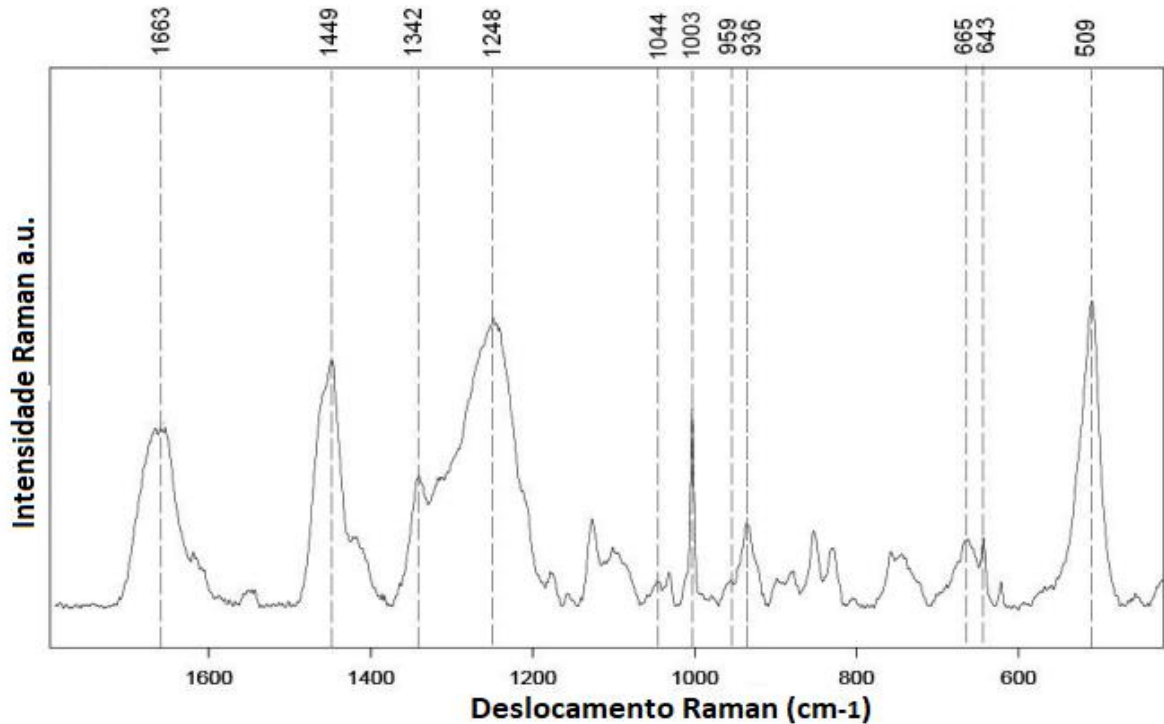


Fonte: Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil - PROBES (2022).

É interessante notar que, as moléculas diatômicas homonucleares, não apresentam absorção no infravermelho devido ao fato que não há variação nos seus momentos dipolares, no entanto elas apresentam atividade no espectro Raman pelo fato de que a incitação incidente de luz monocromática perturba o sistema, fazendo

variar a polarizabilidade da molécula (isto é, interage com a densidade eletrônica), criando o momento dipolar induzido (GANS, 1971). Em linhas gerais pode-se afirmar que ambas as espectroscopias se complementam e abrangem a espectroscopia vibracional como um todo.

Figura 19 - Exemplo do uso da Espectroscopia Raman na identificação de biomoléculas.



Pico (cm-1)	Atribuição
1663	Amida I
1448/1449	CH ₂ (Lipídeos)
1248	Amida III (desordenada)
1003	Fenilalanina
643	C-S (Tirosina)
509	S-S (Cistina)

Fonte: Adaptado de SANTOS (2016).

Na Figura 19 Exemplo de espectro Raman do fio de cabelo branco natural com as principais bandas identificadas na faixa espectral de 1900 – 360 cm⁻¹ com $\lambda = 785$ nm.

Existem hoje no mercado microscópios Raman dedicados para realizar este tipo de estudo. Não há necessidade de preparações ou qualquer tipo de manipulação

para realizar a análise da microespectroscopia de Raman (pulverizações, por exemplo).

No caso da amostra ser muito grande, a mesma pode ser analisada através de um sistema especial de lentes ou através de fibras ópticas. Tanto na utilização de equipamento dedicado, quanto no uso convencional, a utilização de fibras ópticas é essencial para análises de objetos grandes e que não cabem no compartimento, ou então quando o transporte até o laboratório é inviável (FARIA, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 PRINCÍPIOS DO ESTUDO

A espectroscopia Raman é uma técnica precisa e sensível para o estudo da matéria em escala molecular. Recentemente, a Espectroscopia Raman Confocal é aplicada para auxiliar a caracterização da eficácia de produtos cosméticos em pele (OLIVEIRA *et al.*, 2012), cabelos (MCMULLEN; ZHANG; GILLECE, 2015) e unhas (CUMMINS *et al.*, 2010).

4.2 AMOSTRAS DO ESTUDO

- Amostras do ativo A e ativo B
- Cistina
- Cisteína
- Felilalamina
- Tritofano
- Tirosina
- Monidrato de ácido cistênico.
- Amostras de cabelo branco virgem (sem tratamento e sem exposição à radiação UV).
 - Amostras de fibras capilares de cabelos brancos após 110 horas de exposição à radiação UV:
 - Grupo 1 - sem tratamento, mas após radiação UV - (G1);
 - Grupo 2 - Tratado com formulações Placebo (Shampoo, Condicionador e Leave on) - (G2);
 - Grupo 3 - Tratado com formulações acrescidas do ativo A - (G3);
 - Grupo 4 - Tratado com formulações acrescidas do ativo B - (G4).
 - Grupo 5 - Cabelo virgem (V.F).

Figura 20 - Produtos fornecidos para estudo



Fonte: Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil - PROBES (2022).

4.3 LOCAL E PROCEDIMENTOS DO ESTUDO/AMOSTRA

Neste sentido, a Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil (Figura 21) já realizou vários estudos e publicaram diversos artigos indexados internacionais desde 2012 (SANTOS *et al.*, 2016; MENDES *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2015; TOSATO *et al.*, 2015; TÉLLEZ *et al.*, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2014; TOSATO *et al.*, 2012).

Figura 21 - Infraestrutura do Laboratório



Fonte: Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil - PROBES (2022).

4.4 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS

Desta forma, a coleção de espalhamentos provenientes das interações com as diferentes moléculas traz uma assinatura sobre a constituição química e estrutural do tecido. Como o foco da luz incidente, do equipamento utilizado neste estudo, apresenta uma resolução espacial de $2\mu\text{m}$ (Figura 22), pode-se afirmar que a Espectroscopia Raman Confocal resulta em um mapeamento bioquímico e espacial.

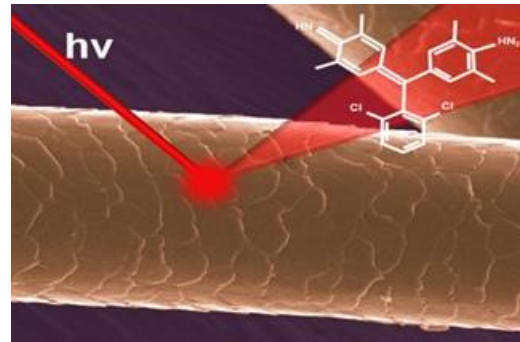
Figura 22 - Equipamento Raman Confocal Rivers Diagnosis



Fonte: Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil - PROBES (2022).

As medidas foram realizadas pelo método da Espectroscopia Raman Confocal, utilizando o sistema da *River Diagnostics* (modelo 3510 skin composition analyzer) com laser de excitação 785 nm e potência de 21 mW na amostra. O espalhamento Raman medido foi entre $400\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$. A fibra capilar é posicionada no foco de uma lente objetiva de microscópio (40x) localizada sob uma janela de quartzo, como mostrado na Figura 23.

Figura 23 - Posicionamento das fibras capilares sobre a janela de quartzo



Fonte: Laboratório de Espectroscopia Vibracional Biomédica da Universidade Brasil - PROBES (2022).

Foram feitas medidas das fibras capilares de 0 a 60 μm sendo 2 procedimentos de coleta:

- De 0 a 20 μm , os passos de medida se deram a cada 2 μm , com tempo de integração de 10 segundos e 3 acumulações em cada profundidade.
- De 20 a 60 μm , os passos foram de 4 em 4 μm , com tempo de integração de 20 segundos e 4 acumulações em cada profundidade.

Foram analisadas 15 fibras capilares por grupo de estudo e coletados 21 espectros para cada fibra com total de espectros obtidos de $1575 = 15 \text{ fibras} \times 5 \text{ grupos} \times 21 \text{ espectros}$.

Figura 24 - Esquema do total de espectros obtidos considerando a quantidade de fibras e grupos analisados.



Fonte: Autora (2022).

Para a análise dos espectros Raman, os dados espectrais foram comparados com o espectro dos produtos e aminoácidos utilizando o software SkinTools[®] e utilizando o software OriginPro[®].

4.5 PRÉ-PROCESSAMENTO DOS ESPECTROS RAMAN

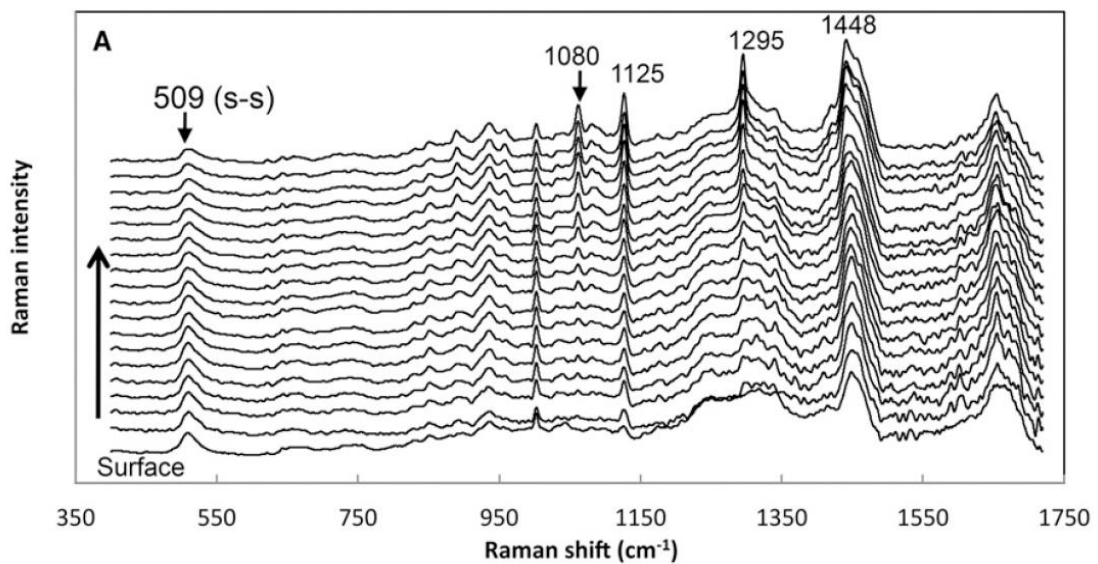
Para a análise dos espectros Raman, os dados espectrais foram comparados com o espectro dos produtos e aminoácidos utilizando o software SkinTools[®] e utilizando o software OriginPro[®].

Este estudo foi monocêntrico e realizado de acordo com o procedimento operacional da Probes, estabelecido para a do teste.

Os principais modos vibracionais dos constituintes do cabelo virgem podem ser observados na Figura 25 e Tabela 1. O rastreamento de um produto que permeia pela fibra capilar depende da identificação deste produto no espectro Raman, através de um pico não coincidente, ou pela variação de intensidade de algum dos picos característicos.

A alteração bioquímica devido ao dano causado pela radiação UV, ou devido aos produtos aplicados, é avaliada pelas intensidades dos modos vibracionais dos constituintes bioquímicos.

Figura 25 - Espectro Raman de um cabelo virgem albino



Pico (cm-1)	Atribuição
1663	Amida I
1448/1449	CH ₂ (Lipídeos)
1295	Amida III (desordenada)
1125	v(CC)espinha dorsal de acil em lipídeos
1080	v(CC)
509	S-S (Cistina)

Fonte: Espectro Raman de um cabelo virgem albino. (MCMULLEN et al, 2015)

Tabela 1 - Atribuição dos principais picos de cabelo

Número de onda / cm^{-1}	Atribuições
422	$\delta(\text{CCC})$ corrente
506 (L)	$\nu(\text{SS})$ [trans-gauche-trans]
529	$\nu(\text{SS})$ [gauche-gauche-trans]
540	$\nu(\text{SS})$ [gauche-gauche-gauche]
600 (L)	$\rho(\text{CH})$
627 (L)	$\nu(\text{CS})$
643 (L)	$\nu(\text{CS})$
741 (G)	$\rho(\text{CH}_2)$
751 (L)	$\rho(\text{CH}_2)$
830 (L)	$\delta(\text{CCC})$ alifático/tirosina
855 (L)	$\delta(\text{CCC})$ aromático / tirosina
880 (L)	$\rho(\text{CH}_2)/\nu(\text{CC})/\nu(\text{CN})$ Triptofano
900 (L)	$\rho(\text{CH}_2)$
934 (L)	$\nu(\text{CC})$ hélice $\alpha/\rho(\text{CH}_3)$ terminal
1004 (L)	$\nu(\text{CC})$ anel / Fenilalanina
1033 (L)	$\nu(\text{CC})$ espinha dorsal/ <i>cis</i>
1061	$\nu(\text{CC})$ espinha dorsal/ <i>trans</i>
1081 (G)	$\nu(\text{CC})$ espinha dorsal /aleatório
1102	$\nu(\text{CC})$ espinha dorsal / <i>trans</i>
1128 (G)	$\nu(\text{CC})$ espinha dorsal / <i>trans</i>
1161 (L)	$\nu(\text{CC})/\delta(\text{COH})$
1177 (L)	$\nu(\text{CC})$
1185	$\nu(\text{CC})$
1209 (L)	$\nu(\text{CC})$ /Tirosina/fenilalanina/amida III*
1239 (L)	$\delta(\text{CH}_2)\nu(\text{CN})/$
1273	$\nu(\text{CN})/\delta(\text{NH})/$ amida III (α hélice)
1301 (L)	$\delta(\text{CH}_2)$
1315 (L)	$\delta(\text{CH}_2)$
1391	$\delta(\text{CH}_3)$ simétrica
1400	$\delta[(\text{CH}_3)_2]$ simétrica
1425	$\delta(\text{CH}_3)$
1452 (L)	$\delta(\text{CH}_2)$ (lipídios/proteínas)
1534	$\delta(\text{NH})$
1556 (L)	$\delta(\text{NH})/\nu(\text{CN})/$ amida II
1586 (L)	$\nu(\text{C}=\text{C})$ anel
1609	Fenilalanina/Tirosina
1616 (L)	$\nu(\text{C}=\text{C})$ anel/ Tirosina/Triptofano
1654 (L)	$\nu(\text{CONH})$ amida I α hélice
1677 (G)	$\nu(\text{CONH})$ amida I β folha
2565 (ns)	$\nu(\text{SH})$
2732 (ns)	$\nu(\text{CH})$ alifático
2875 (ns)	$\nu(\text{CH}_2)$ simétrica
2931 (ns)	$\nu(\text{CH}_3)$ simétrica
2966 (ns)	$\nu(\text{CH}_3)$ assimétrica
3060 ((ns)	$\nu(\text{CH})$ anel
3284 (L)	$\nu(\text{NH})$. Cristalina
3325 (G)	$\nu(\text{NH})$. Cristalina
3415 (G)	$\nu\text{H}_2\text{O}$

ns: não estudou; L: Lorantziano; G: Gaussiano

Fonte: Adaptado pela autora (2022).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NO CABELO CAUSADAS PELO UV

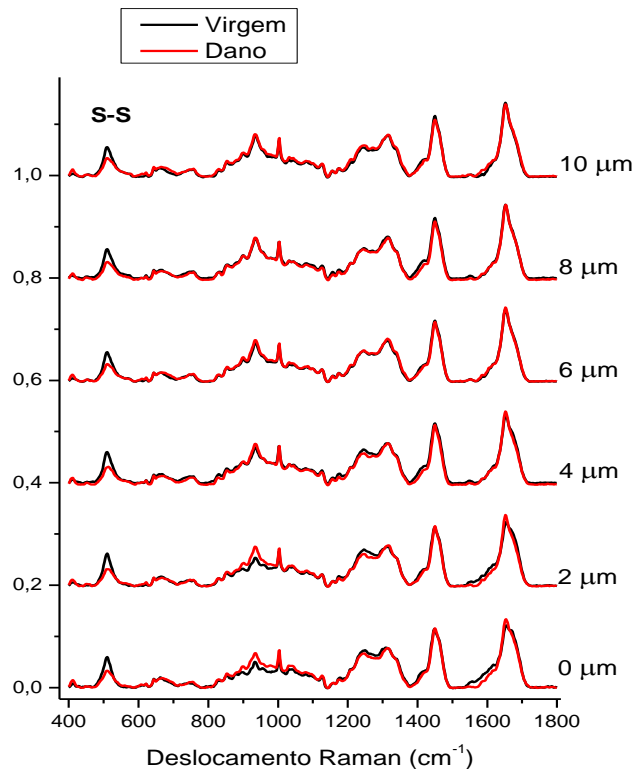
5.1.1 Modos vibracionais Raman

Para avaliação da eficácia dos ativos A e B, foi necessário primeiramente caracterizar as alterações espectrais devidas ao dano causado pela radiação UV incidente. Além disso, foi importante avaliar a homogeneidade das amostras de cabelo virgem para se ter um controle na permeação dos ativos.

Por fim, também foi importante avaliar a homogeneidade das fibras irradiadas com o objetivo de entender se a variabilidade na eficácia dos ativos (se houver) foi devida a radiação ou as características intrínsecas da fibra capilar.

A principal alteração espectral verificada ao longo de toda a fibra capilar é o pico 509 cm^{-1} , relacionado à ponte de enxofre (ligação S-S).

Figura 26 - Espectro Raman da fibra capilar com tratamento por radiação UV - Dano (vermelho) em comparação com a fibra capilar Virgem (preto) em função da profundidade da fibra.



Fonte: Autora (2022).

Estudos com maiores diferenças de profundidade de 4 μm , 14 μm e 28 μm foram realizados, utilizando análise multivariada, para evidenciar as diferenças entre os espectros.

5.1.2 Análise de cluster

A análise de cluster visa quantificar as diferenças entre os espectros, agrupando as amostras mais semelhantes em um mesmo 'braço' de um dendrograma. Assim, no caso de dois grupos (Dano UV e Virgem), um tratamento ideal resultaria em 2 agrupamentos (um com Dano UV e outro Virgem) distantes um do outro e sem misturas de classificação.

Neste sentido, foi realizada a análise de cluster para 3 profundidades diferentes para se verificar se as diferenças obtidas pelo processo de dano se mantêm ou se são dependentes da profundidade nas fibras capilares.

Para uma profundidade de 4 μm , figura 27, verifica-se uma separação em dois grupos predominantes: à esquerda o grupo Virgem, à direita o grupo Dano UV (identificado por G1).

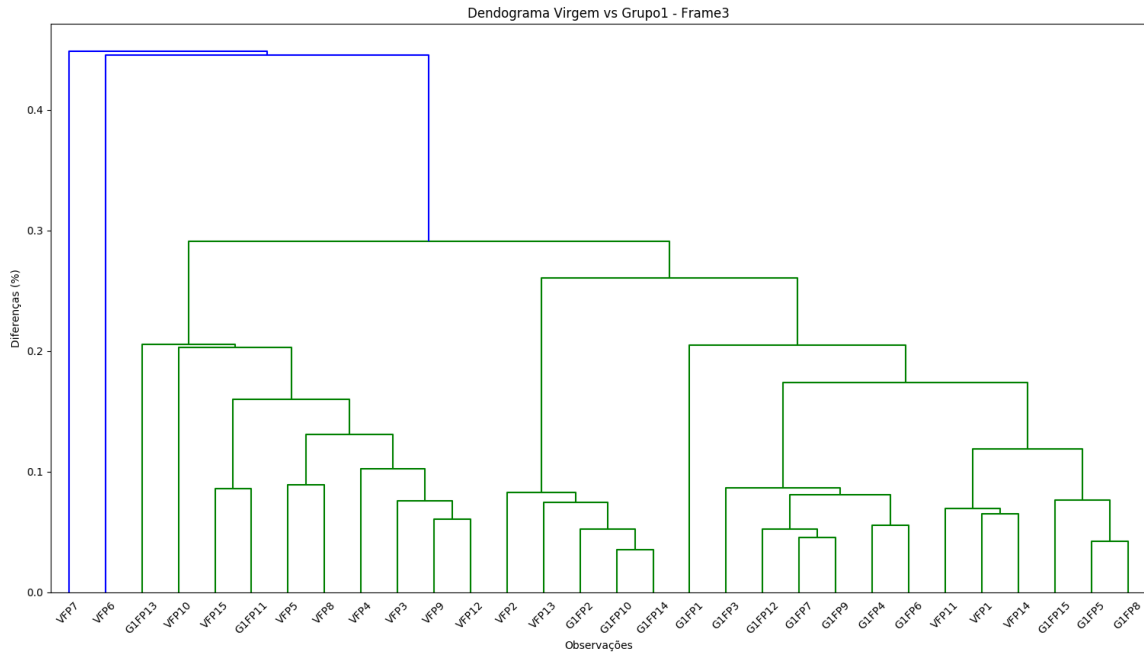
Verifica-se que somente 2 amostras do grupo Dano estão contidas no grupo Virgem (87% de eficácia do tratamento em UV em causar dano). No entanto, o grupo Dano possui 5 amostras de fibras virgens. A separação de grupos se torna maior quando se mede a uma profundidade de 14 μm , mostrada na Figura 28.

Neste caso, apenas 2 amostras virgens são erroneamente classificadas e nenhuma fibra com Dano UV é classificada no grupo virgem (100% de eficácia do tratamento em UV em causar dano). Assim, nesta profundidade as diferenças espectrais são ainda mais evidentes.

Para 28 μm , Figura 29, a separação em 2 grupos se torna quase ideal. Apenas uma fibra virgem está no grupo de Dano, mostrando 100% de eficácia do tratamento em UV em causar danos na fibra capilar para esta profundidade.

Com esta análise, é possível inferir que o tratamento realizado com a incidência de luz UV resultou em danos evidentes na quase totalidade das fibras medidas, garantindo um bom grau de homogeneidade. Além disso, os danos são mais característicos no interior da fibra.

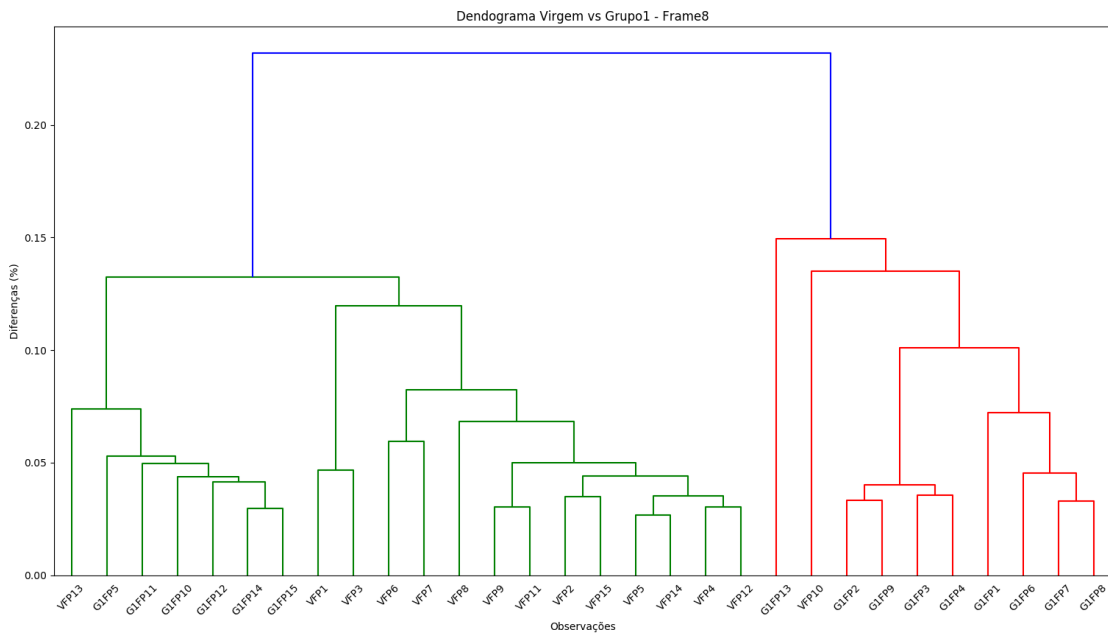
Figura 27 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1)



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 4 µm resultando em 87% de eficácia do tratamento em UV em causar dano. FP= região de finger print e o número significa a identificação da amostra.

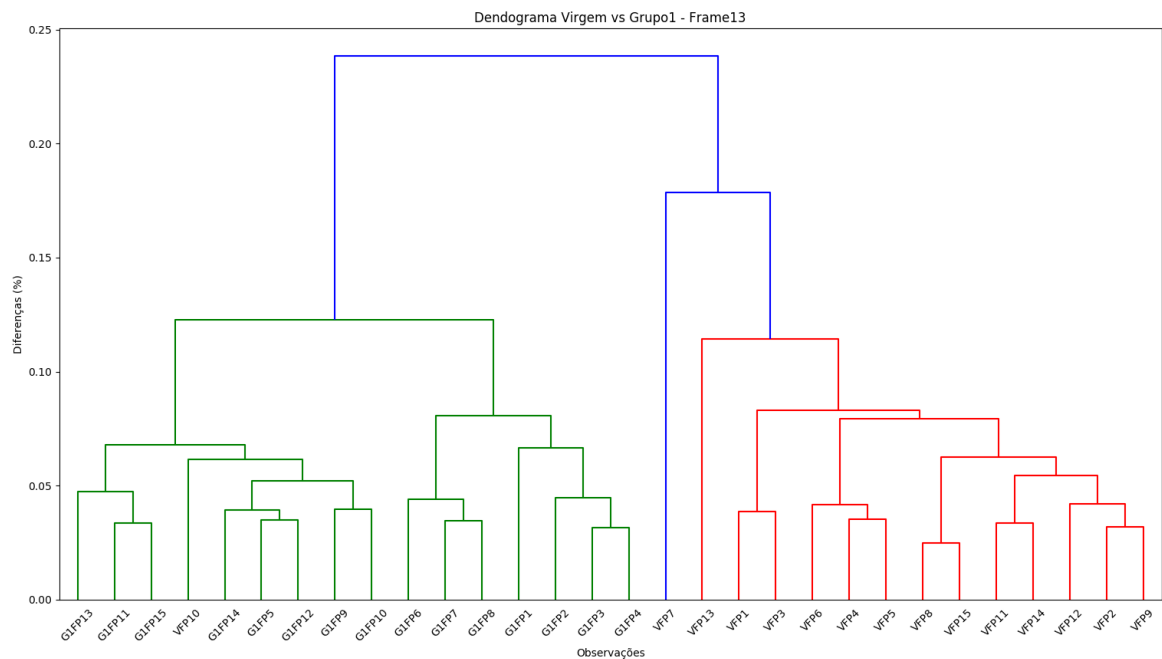
Figura 28 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1).



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 14 μm resultando em 100% de eficácia do tratamento em UV em causar dano. FP= região de finger print e o número significa a identificação da amostra.

Figura 29 - Dendrograma realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1)



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 28 μm resultando em 100% de eficácia do tratamento em UV em causar dano. FP= região de finger print e o número significa a identificação da amostra.

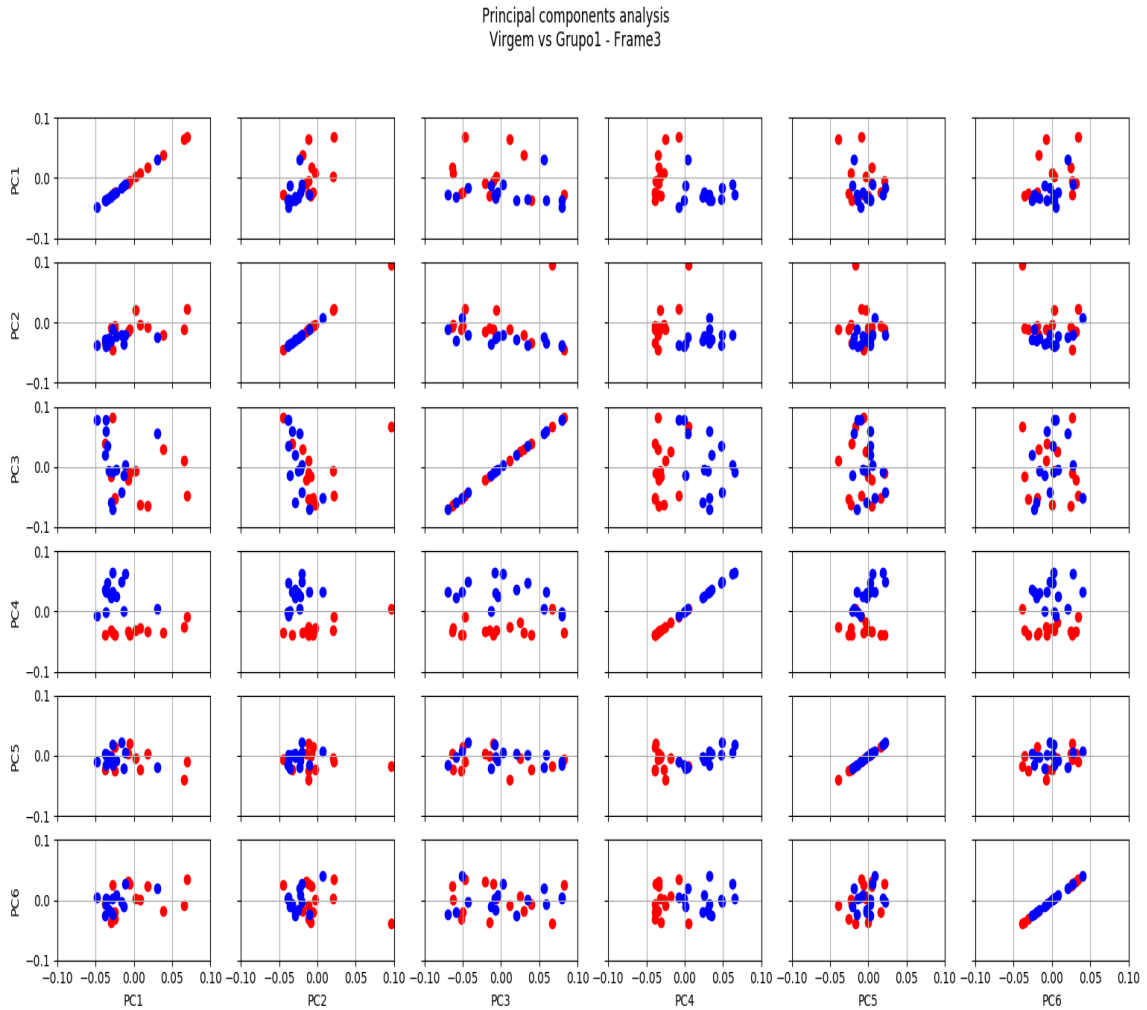
5.1.3 Análise de componentes principais

A análise por componentes principais, seguida da visualização por *Loading Plot*, visa a definição dos principais picos que caracterizam o grupo Virgem e o grupo Dano. O *Scattering Plot* mostra que algumas amostras pertencem a um dos grupos, mas tem características predominantes do outro grupo, ou seja, é uma análise complementar à realizada por dendrograma.

Para a comparação entre grupo Virgem e grupo Dano em 4 μm (Figura 30), a componente que melhor resultou em separação das amostras foi o PC1 Vs PC4. Ao

avaliar o *Loading Plot* (Figura 31), o PC4 é composto principalmente pelo modo vibracional 509 cm^{-1} caracterizando o grupo Dano.

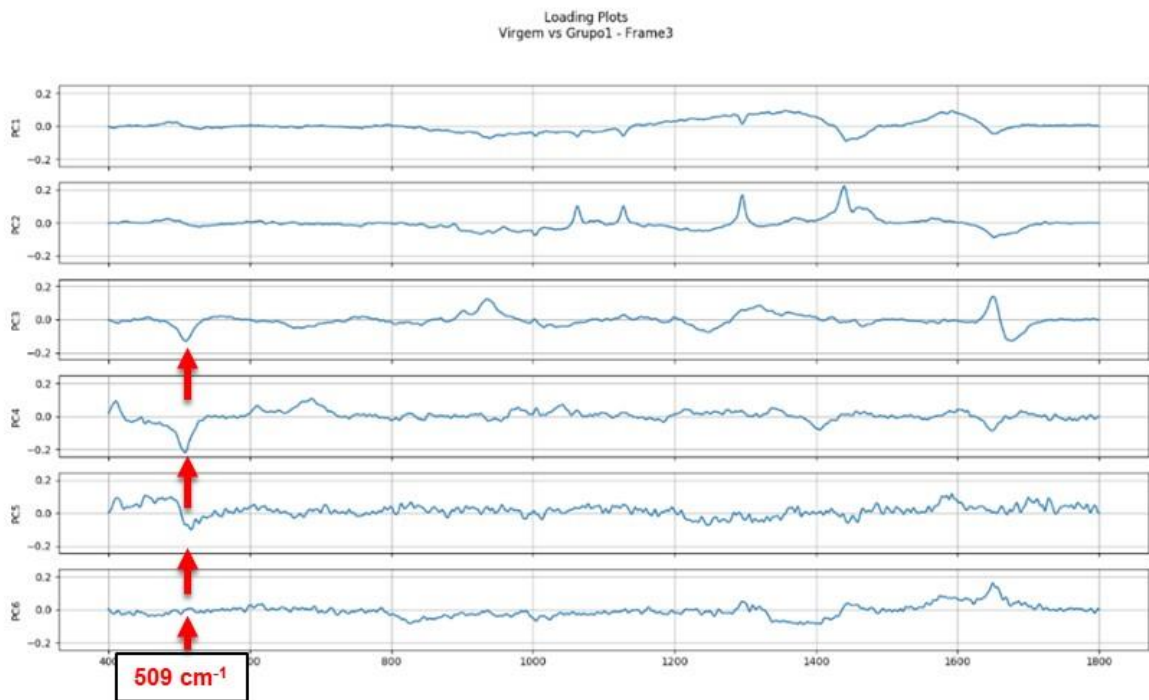
Figura 30 - Análise por Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em $4\text{ }\mu\text{m}$.



Fonte: Autora (2022).

Os pontos azuis são as amostras de fibra virgem e os pontos vermelhos são as amostras de fibras com dano.

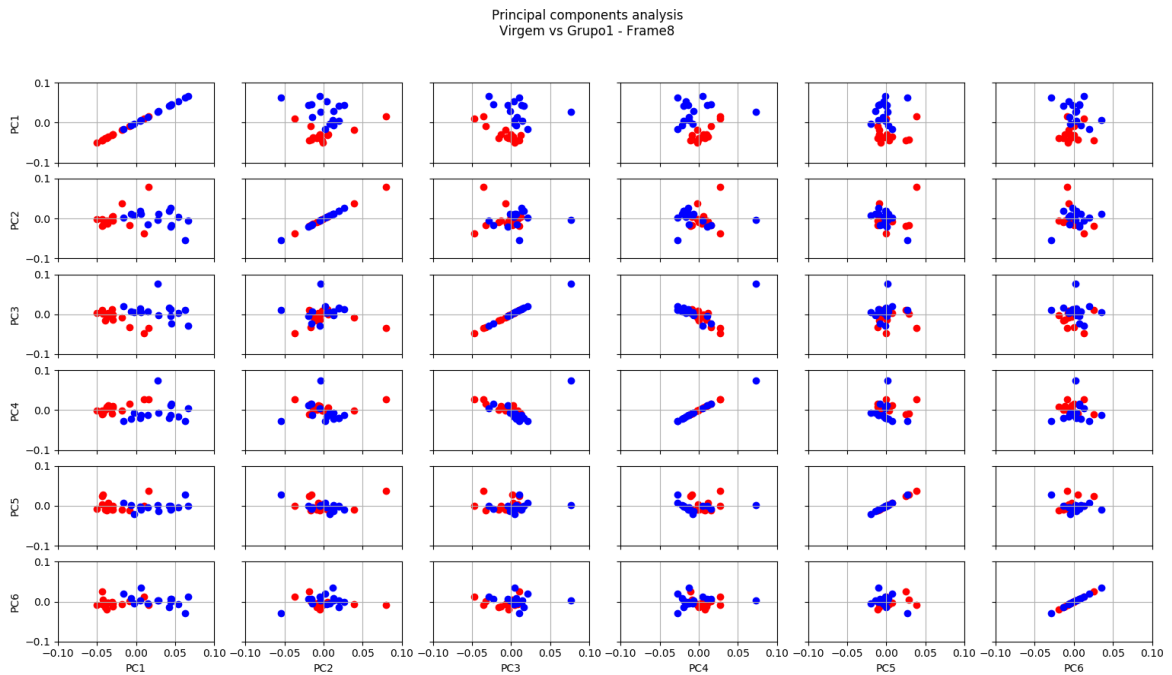
Figura 31 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 4 μm .



Fonte: Autora (2022).

Ao aprofundar as medidas para 14 μm , os PC que resultaram em separação entre os grupos foi o PC1 Vs PC3 e PC1 Vs PC4, conforme pode ser visto na Figura 32. Pelo Loading Plot, Figura 33, esta componente é caracterizada principalmente pelos modos vibracionais 509 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} , assinaturas do grupo Dano, e 410 cm^{-1} , 686 cm^{-1} , 1346 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} , assinaturas do grupo Virgem.

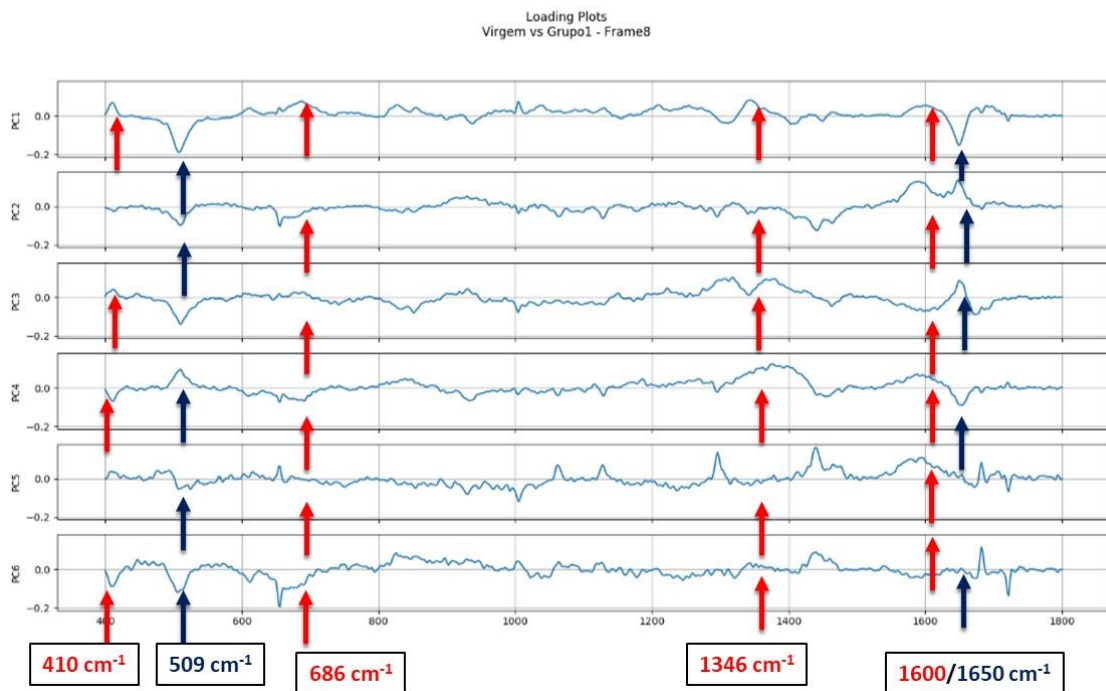
Figura 32 - Análise de Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em 14 μm



Fonte: Autora (2022).

Os pontos azuis são as amostras de fibra virgem e os pontos vermelhos são as amostras de fibras com dano.

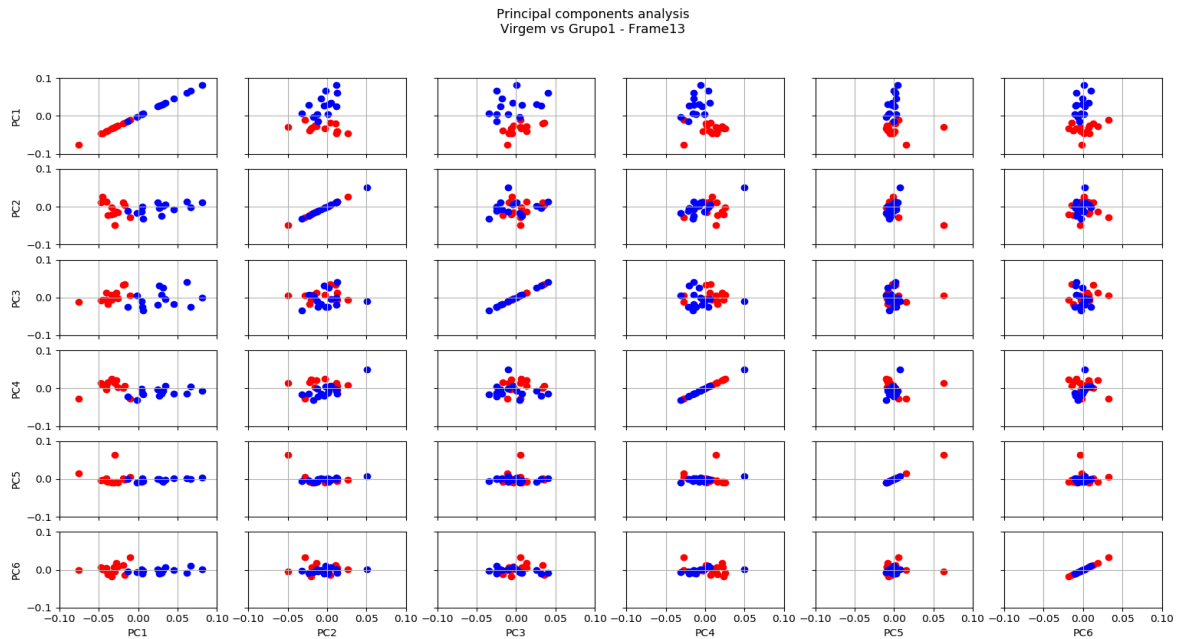
Figura 33 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 14 μm



Fonte: Autora (2022).

Por fim, as medidas realizadas em 28 μm , mostram uma separação melhor na PC1 Vs PC4 seguido do PC1 Vs PC3, Figura 34. Pelo Loading Plot, mostrado na Figura 35, os picos característicos do grupo Dano são 509 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} e as assinaturas do grupo Virgem são 410 cm^{-1} e 686 cm^{-1} .

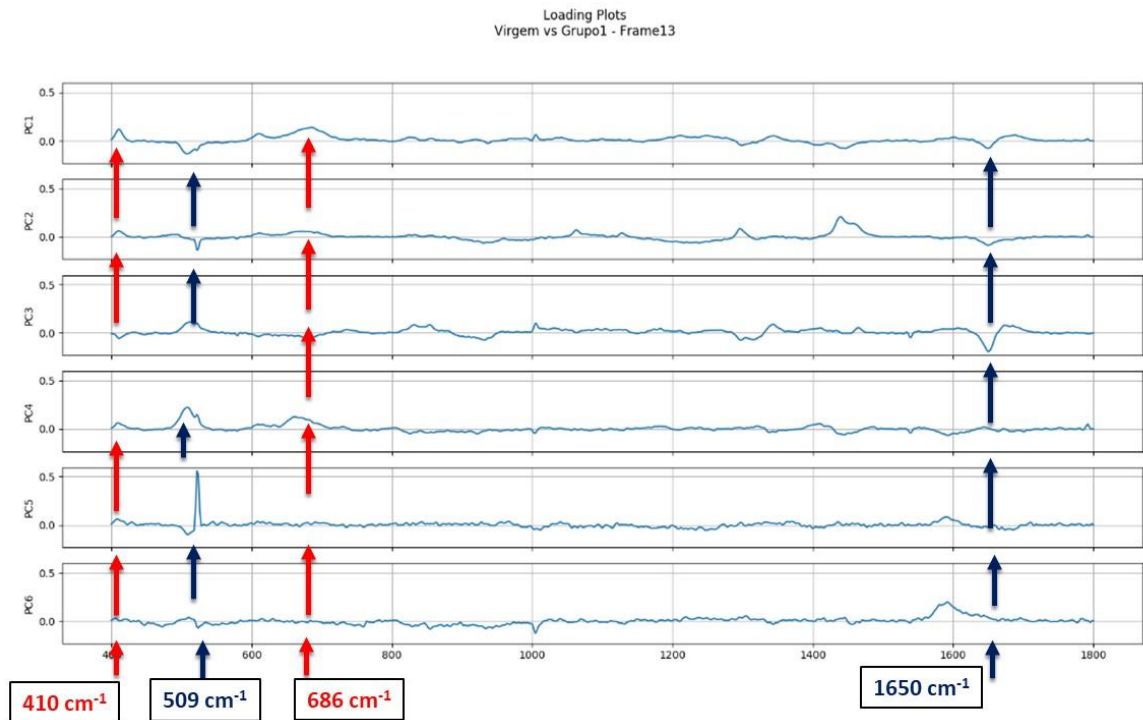
Figura 34 - Análise de Componentes Principais das diferenças entre fibra capilar virgem e Dano (tratada com radiação UV), em 28 μm .



Fonte: Autora (2022).

Os pontos azuis são as amostras de fibra virgem e os pontos vermelhos são as amostras de fibras com dano.

Figura 35 - Loading Plot das componentes principais (PC) utilizadas na separação das fibras virgens e com dano em 28 μm



Fonte: Autora (2022).

5.2 ESTUDO DA PERMEAÇÃO E EFICÁCIA DO ATIVO A NA PROTEÇÃO DA FIBRA CAPILAR

5.2.1 Permeação do ativo A

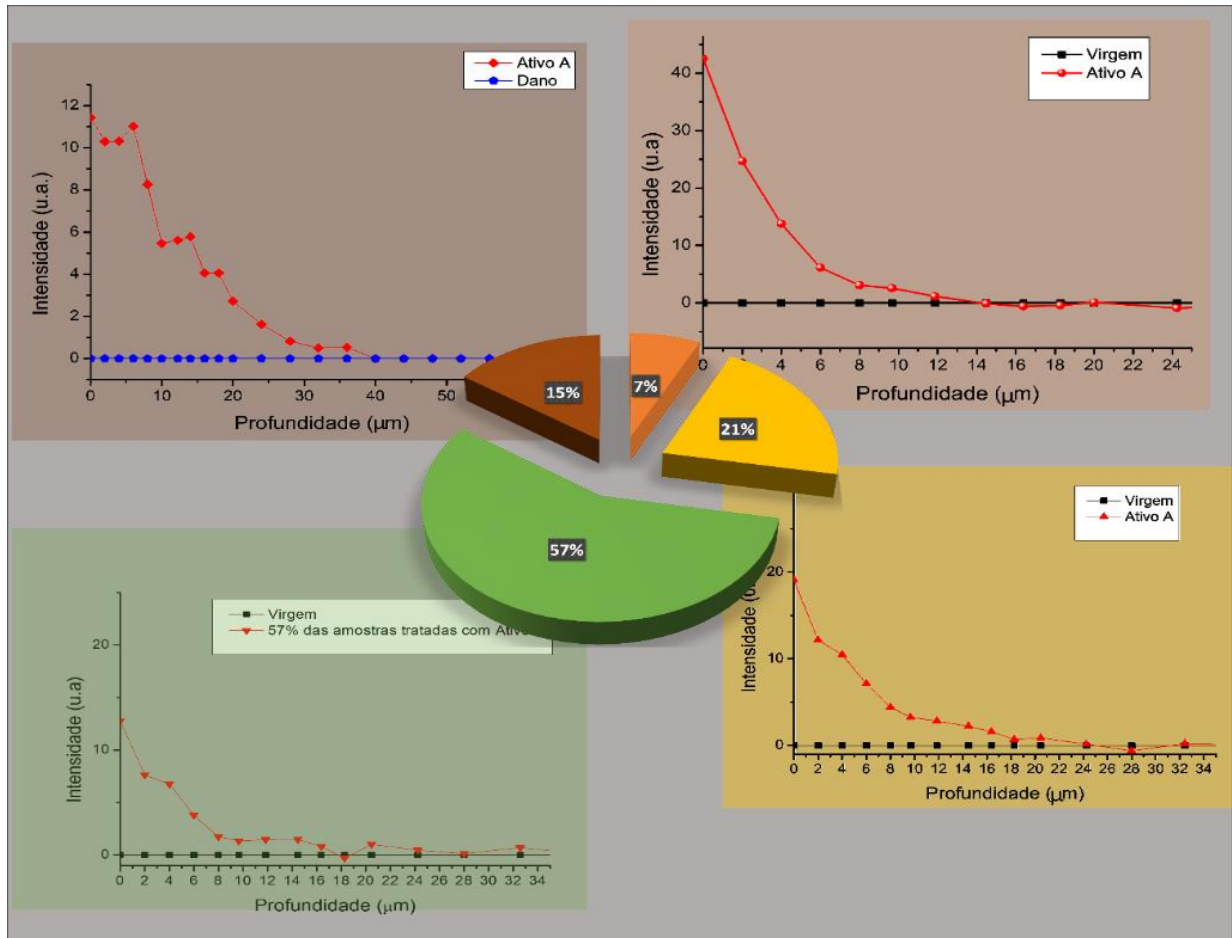
O tratamento com o ativo A foi realizado em fibras virgens e, por isso, estas são consideradas o controle no padrão de permeação.

A Figura 36 mostra a permeação do ativo A pela fibra capilar, determinada pelo software SkinTools[®]. Pode-se observar 4 tendências:

- 1) 7% das fibras apresentam uma permeação pequena, comparada com as demais do mesmo grupo, (aproximadamente 14 μm) e devida a esta baixa permeação, apresentam alta absorção (42 u.a.), como pode ser visto na Figura 37.
- 2) 21% das fibras permeiam até 24 μm e apresentam absorção intermediária (19 u.a.), mostrado na Figura 38.
- 3) 57% das fibras permeiam até aproximadamente o centro da fibra (28 μm) e, por isso, apresentam absorção mínima, mostrado na Figura 39.

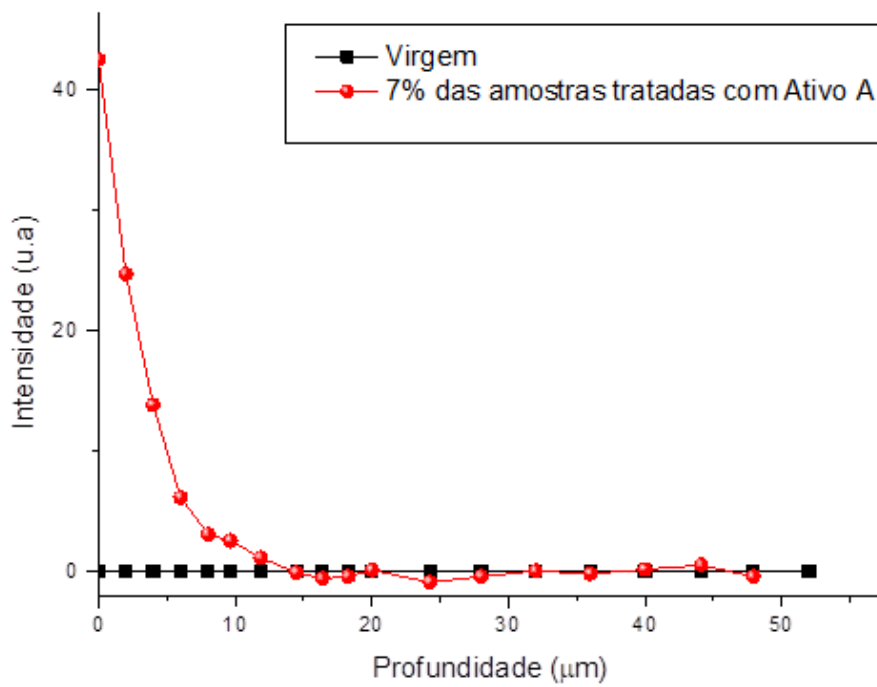
4) 15% das fibras apresentam um padrão de permeação com assíntota que tende à fibra com dano, no lugar da fibra virgem. Tal padrão, mostrado na Figura 40, pode ser um indicativo de que estas fibras não apresentaram uma boa proteção contra o UV e se comportaram como fibras com dano.

Figura 36 - Representação gráfica da distribuição dos padrões de permeação em função da amostragem das fibras tratadas com ativo A.



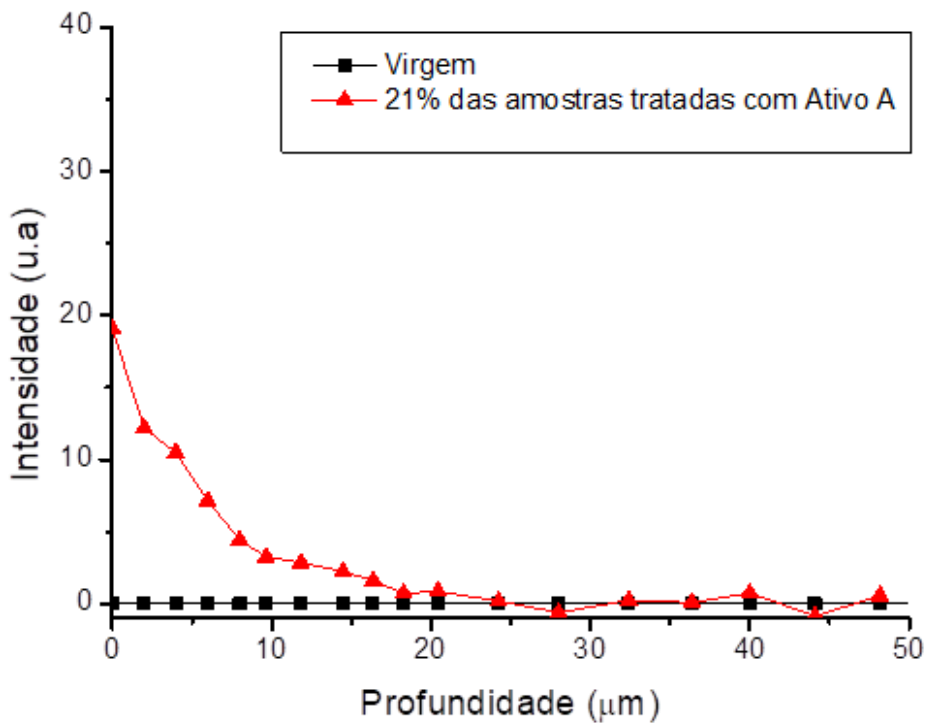
Fonte: Autora (2022).

Figura 37 - Padrão de permeação do ativo A representante de 7% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar



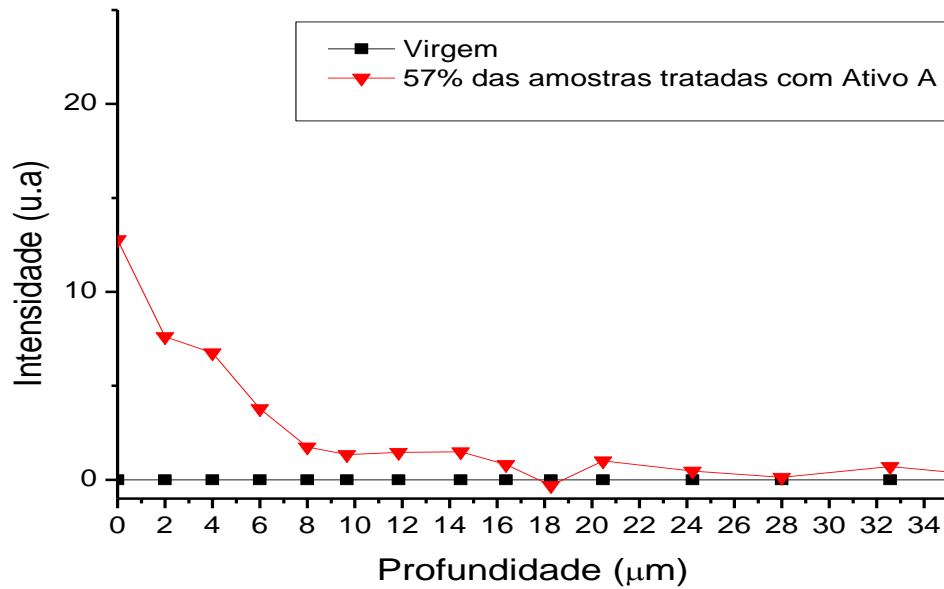
Fonte: Autora (2022).

Figura 38 - Padrão de permeação do ativo A representante de 21% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar



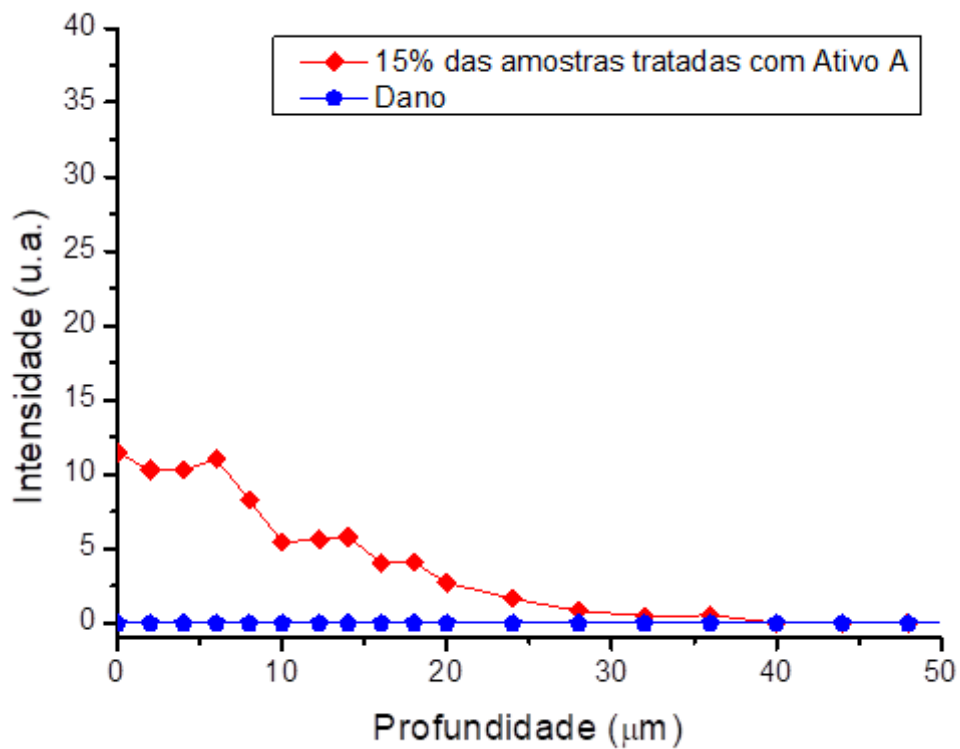
Fonte: Autora (2022).

Figura 39 - Padrão de permeação do ativo A representante de 57% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar.



Fonte: Autora (2022).

Figura 40 - Padrão de permeação do ativo A representante de 15% das amostras, em função da profundidade da fibra capilar



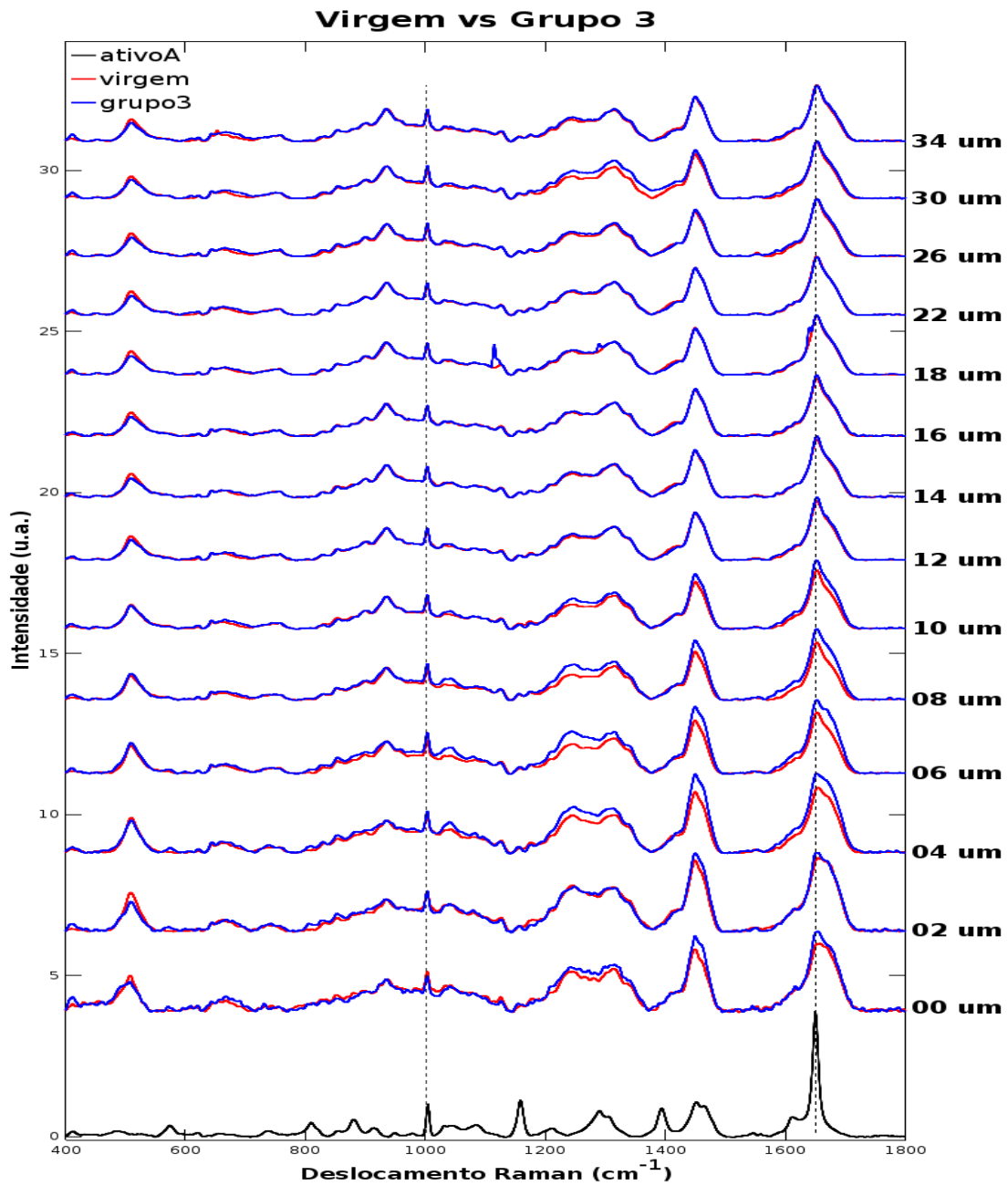
Fonte: Autora (2022).

O rastreio da presença de um produto na fibra capilar, em função da profundidade, também pode ser realizado pela avaliação de alterações espectrais da fibra tratada, em comparação com a fibra virgem. A Figura 41 demonstra, em preto, o espectro do ativo A, com fortes assinaturas no pico da Fenilalanina (1002 cm^{-1}) e da Amida I (1650 cm^{-1}).

A sobreposição da média dos espectros da fibra com ativo A (em azul) e a fibra virgem (em vermelho), revela alterações de intensidade nos mesmos picos do ativo A (1002 cm^{-1} e 1650 cm^{-1}). As Figuras 42 e 43 mostram em destaque, os picos 1002 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} , respectivamente.

Para o pico 1002 cm^{-1} , são vistas alterações até aproximadamente $30\text{ }\mu\text{m}$, e para o pico 1650 cm^{-1} , verifica-se alterações visuais até aproximadamente $18\text{ }\mu\text{m}$. Estes dados, estão em concordância com o obtido utilizando o software SkinTools® e o espectro inteiro do Ativo A mostrados na Figura 36. O pico 509 cm^{-1} está relacionado com o dano devido à radiação UV e será analisado na seção eficácia do ativo A'.

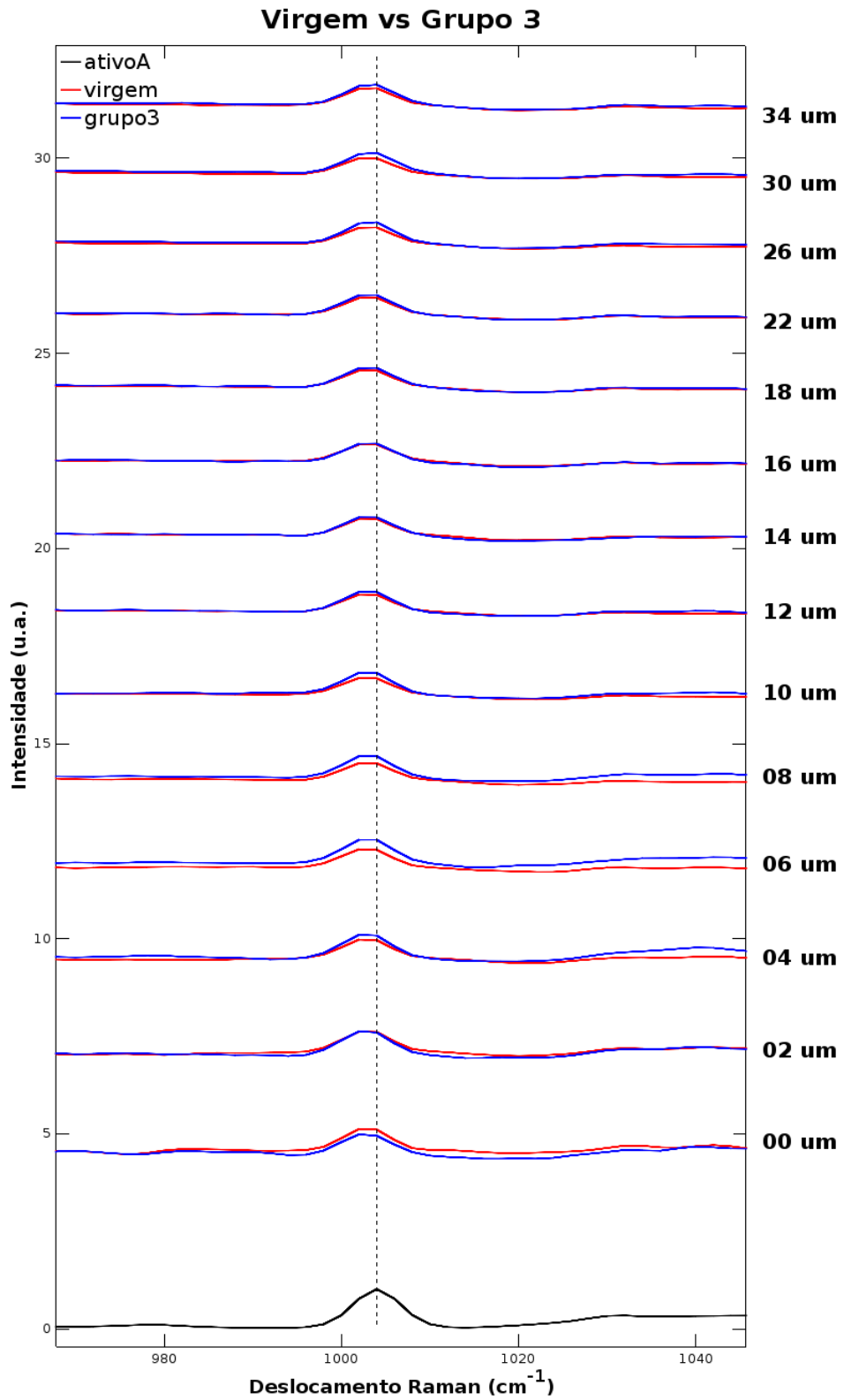
Figura 41 - Espectro característico do ativo A, e sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra.



Fonte: Autora (2022).

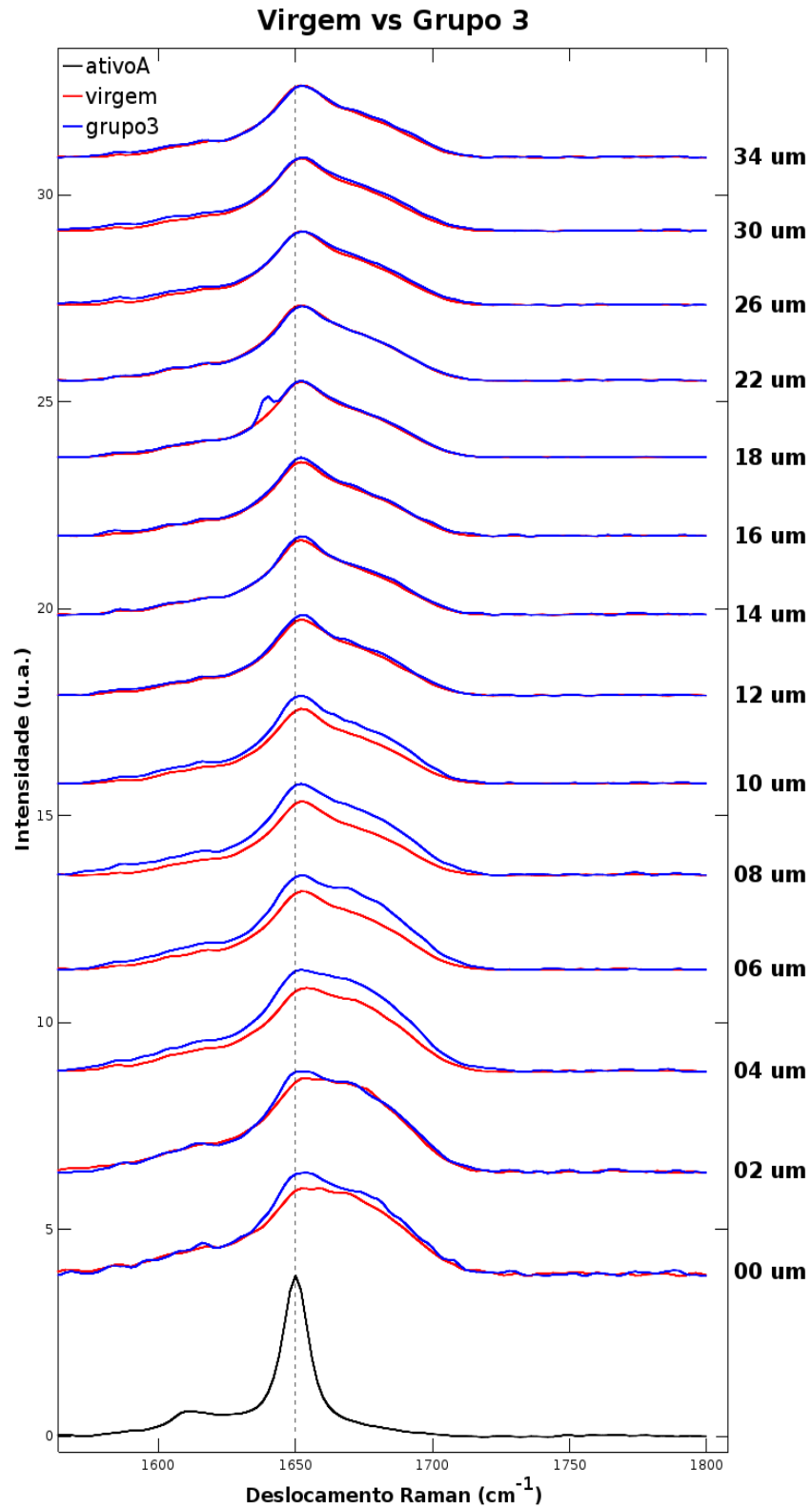
A partir do espectro da figura 41, pode-se observar que a concentração de biomoléculas na fibra capilar não é homogênea em relação à sua profundidade, pois houve alteração na intensidade do sinal Raman, mostrado no eixo esquerdo, a partir da mudança de profundidade mostrada no eixo direito.

Figura 42 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região 1002 cm^{-1}



Fonte: Autora (2022).

Figura 43 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região de 1650 cm^{-1} .



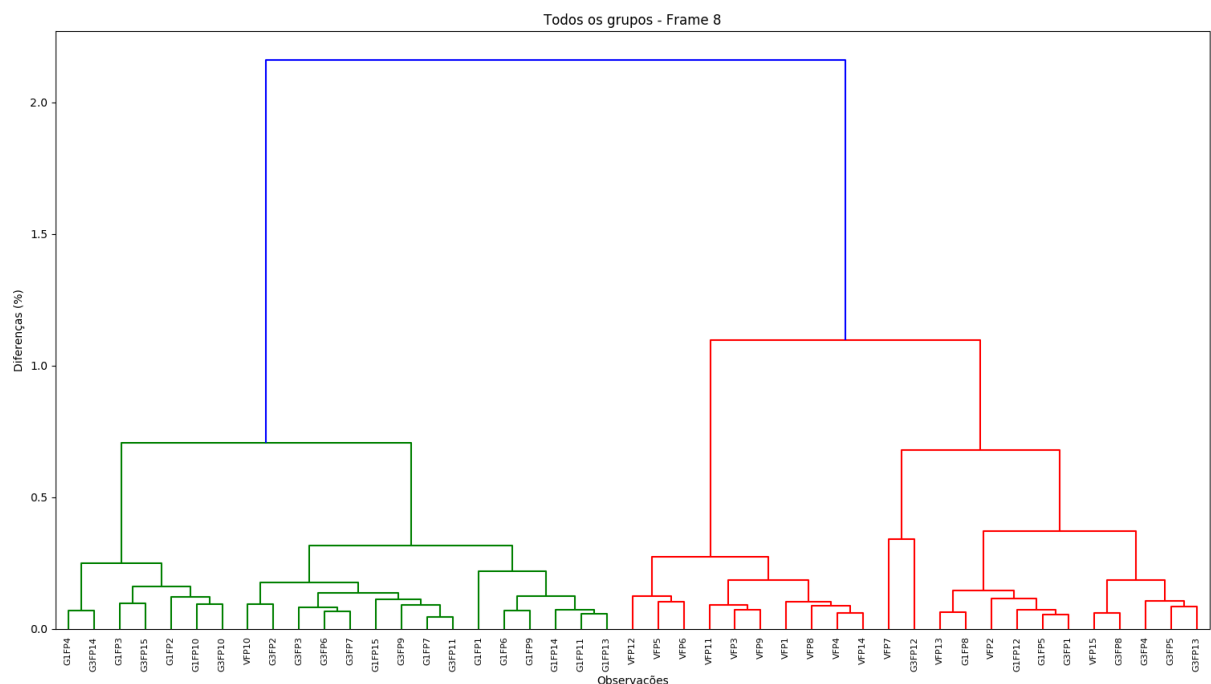
5.2.2 Eficácia do ativo A

Para se testar a eficácia do Ativo A verificou-se se a fibra capilar manteve as propriedades bioquímicas mais próximas possíveis da fibra capilar Virgem ou se alterou as características assemelhando-se ao grupo Dano.

Com este propósito, realizou-se a análise de cluster para as amostras em uma profundidade de 14 μm , a fim de minimizar o efeito da presença do ativo A na fibra capilar. O dendrograma da Figura 44 foi realizado para a região espectral característica do Dano em 509 cm^{-1} e resulta na formação de dois grupos principais: predominância das fibras virgens, e outro grupo com predominância das fibras tratadas com ativo A e com as fibras do grupo Dano.

Das amostras tratadas com ativo A, 40% do total (seis amostras) apresentaram semelhança ao grupo virgem, mostrando assim, recuperação dos danos e, conseqüentemente, eficácia do ativo A. A Figura 45 mostra o dendrograma realizado somente na região do pico em 509 cm^{-1} e profundidade de 28 μm (S-S). Nesta análise, 27% das amostras (4) se assemelharam ao grupo virgem.

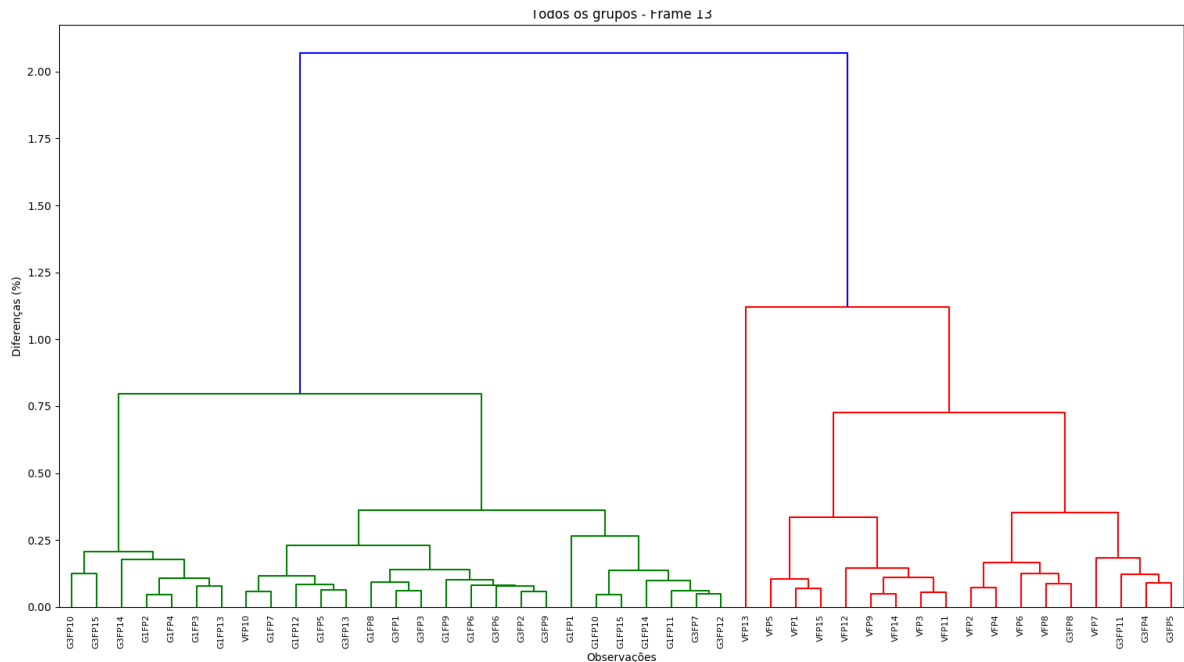
Figura 44 - Dendrograma, considerando a região de 509 cm^{-1} , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo A



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 14 μm . FP= região de *finger print* e o número significa a identificação da amostra.

Figura 45 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm^{-1} , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo A (G3).



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 28 μm . FP= região de *finger print* e o número significa a identificação da amostra.

5.2.3 Análise das ligações de enxofre (509 cm^{-1})

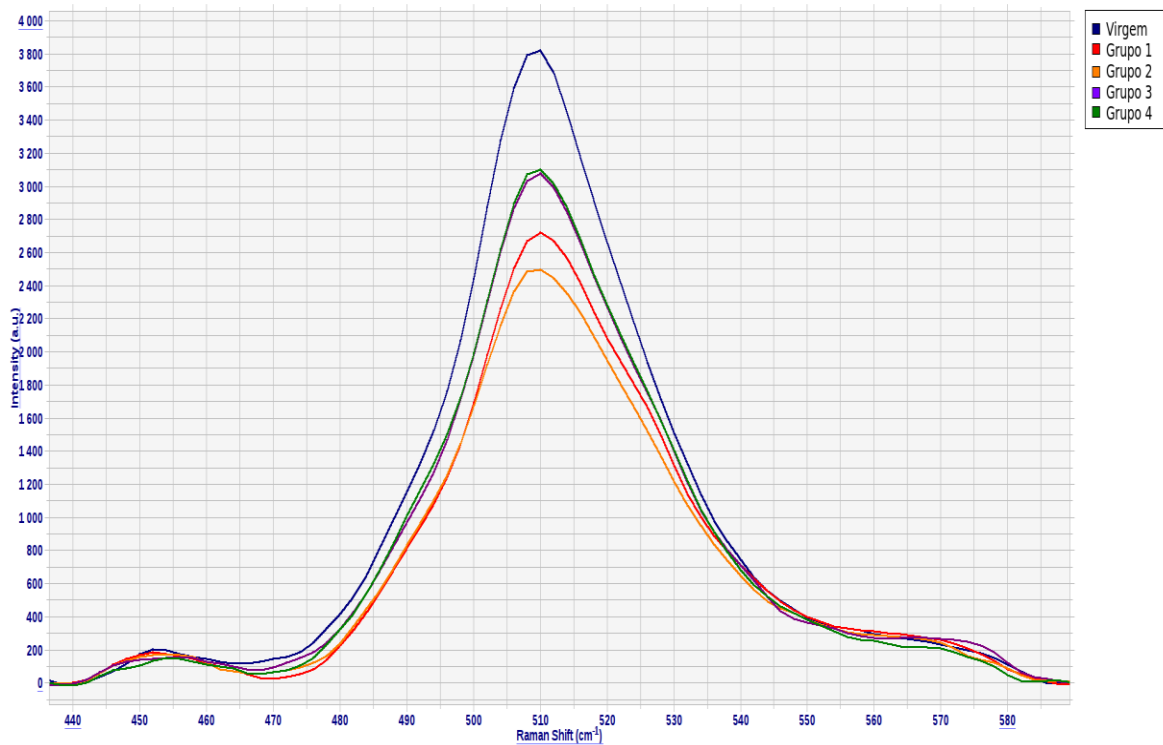
O dano causado na fibra capilar, reflete diretamente nas características das ligações de enxofre, cuja assinatura espectral em Raman é em 509 cm^{-1} . Assim, nesta sessão, realizou-se análise de seu comportamento como um possível marcador da eficácia do ativo A.

Na figura 46, é mostrada a média da intensidade do pico 509 cm^{-1} em 4 μm para as amostras de fibras Virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1), fibras tratadas com placebo (grupo 2), fibras tratadas com ativo A (grupo 3) e fibras tratadas com ativo B (grupo 4).

A intensidade do pico 509 cm^{-1} nas amostras com dano é menor do que a intensidade do pico em amostras virgens. Se o tratamento do ativo A fosse completamente eficaz, a intensidade do pico 509 cm^{-1} , das amostras tratadas com ativo A, deveria ser aproximadamente idêntica à intensidade do pico da amostra virgem.

Segundo a Figura 46, a intensidade do pico nas amostras tratadas com ativo A é intermediária em relação ao grupo virgem e ao grupo dano.

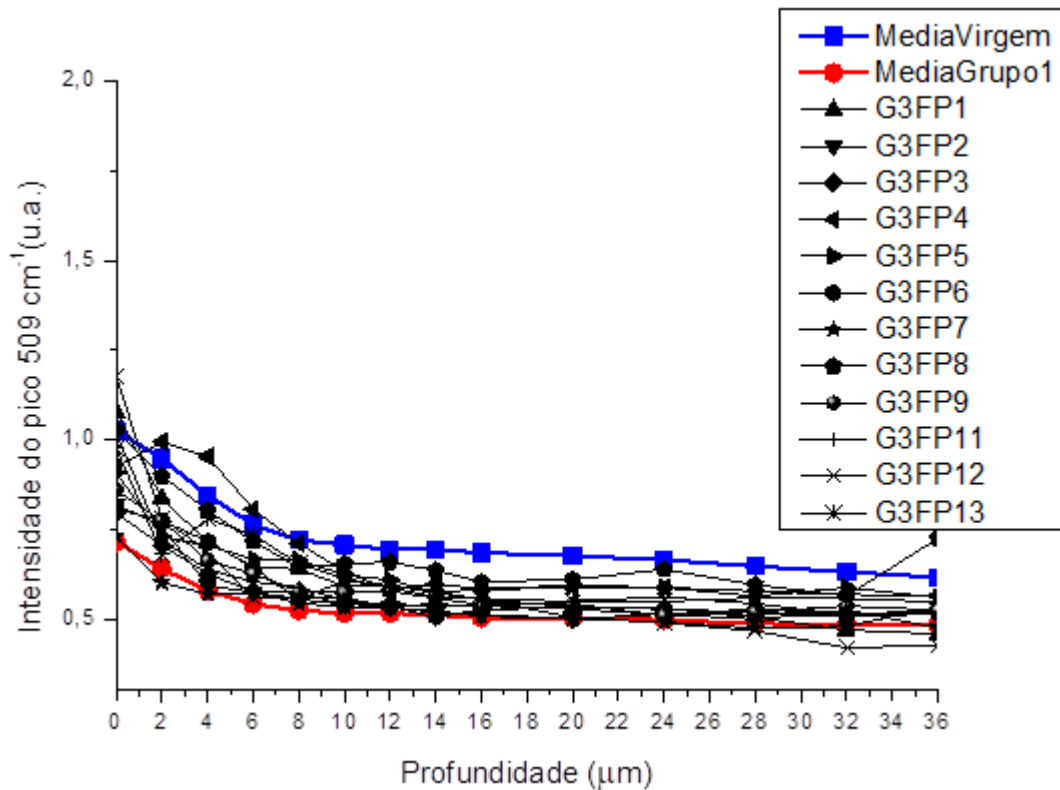
Figura 46 - Intensidade média do pico 509 cm^{-1} , em $4\text{ }\mu\text{m}$, para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1), fibras tratadas com placebo (grupo 2), fibras tratadas com ativo A (grupo 3) e fibras tratadas com ativo B (grupo 4).



Fonte: Autora (2022).

A Figura 47 mostra a dependência da intensidade do pico 509 cm^{-1} com a profundidade da fibra capilar para as amostras estudadas do grupo tratado com ativo A.

Figura 47 - Análise da intensidade do pico 509 cm⁻¹ em função da profundidade da fibra capilar para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1) e fibras tratadas com ativo A (grupo 3).



Fonte: Autora (2022).

Para quantificar a eficácia do produto foi padronizado a variável eficácia como sendo a equação $E = \frac{I(\text{tratada A}) - I(\text{dano})}{I(\text{Virgem}) - I(\text{dano})}$ é possível descrever uma eficácia da proteção da fibra como:

Virgem - Dano = Dano observação.

Tratada - Dano = Proteção observada.

Se a proteção é igual a virgem.

Virgem - Dano = 100%

$$\frac{\text{Virgem} - \text{Dano}}{\text{Virgem} - \text{Dano}} = 100\%$$

Se a proteção é igual ao dano.

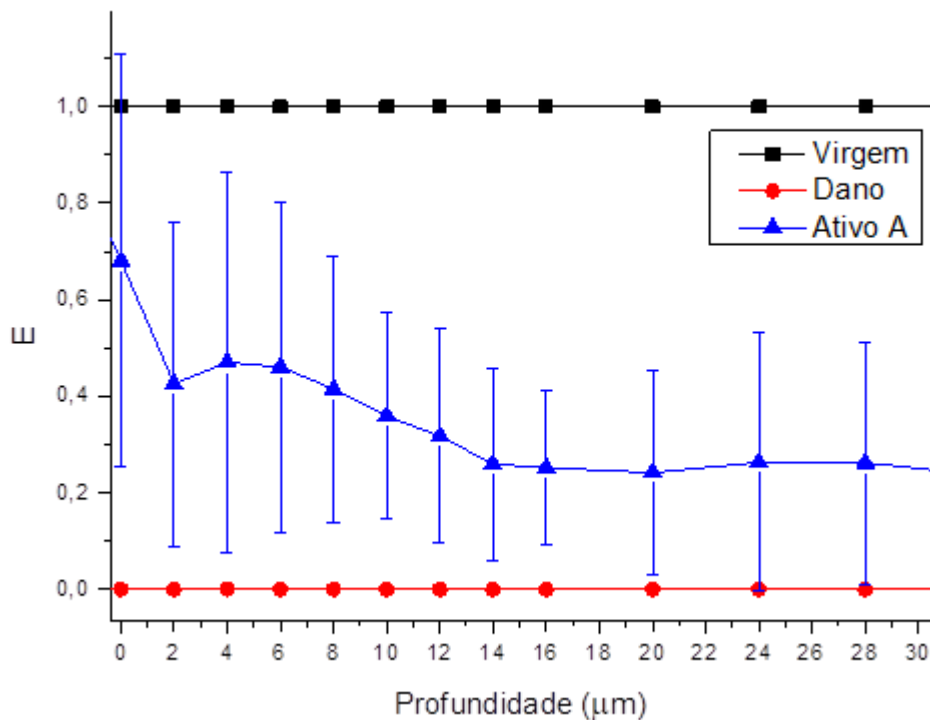
$$\frac{\text{Dano} - \text{Dano}}{\text{Virgem} - \text{Dano}} = 0\%$$

Na Figura 48, a dependência da variável E com a profundidade é mostrada. De acordo com estes cálculos, para 14 μm a eficácia foi de 30% e para 28 μm foi de 27%.

Este resultado é coerente com o obtido pelos dendrograma das figuras 44 e 45 que mostram a classificação de 40% amostras tratadas com ativo A sendo semelhantes ao grupo das fibras virgens em aproximadamente 14 μm e reduz para 27% em 28 μm .

A média global da eficácia obtida pelo cálculo da variável E foi de aproximadamente 0,36, ou 36%.

Figura 48 - Dependência da variável E com a profundidade da fibra capilar para a média das amostras virgens, média das amostras com dano e média das amostras tratadas com ativo A.

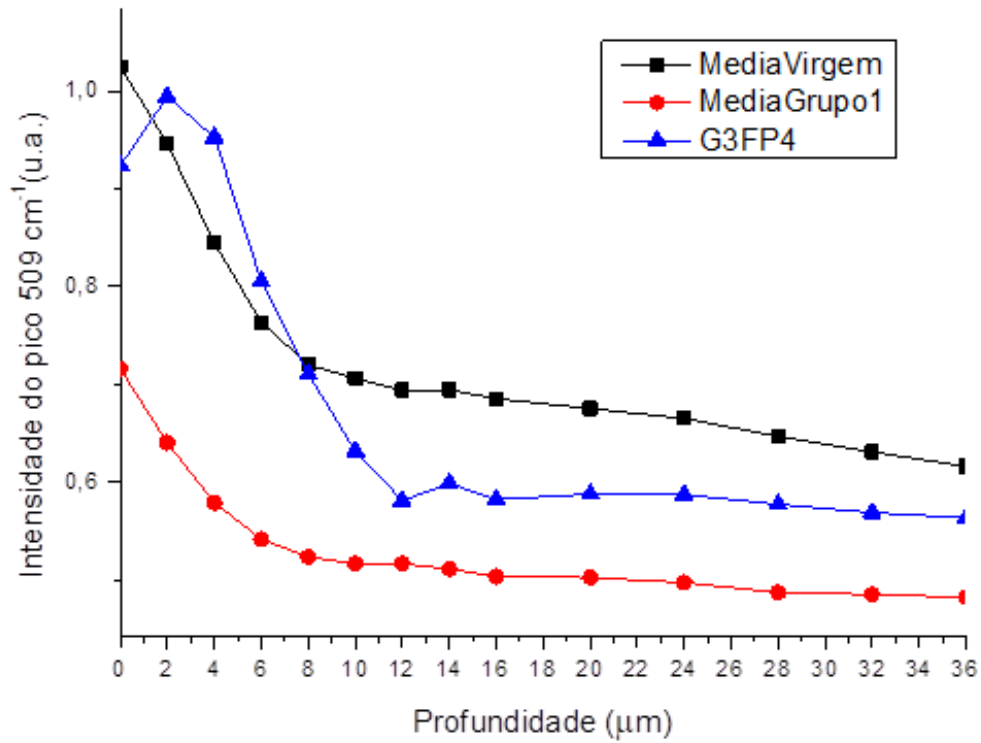


Fonte: Autora (2022).

5.2.4 Melhor resultado de eficácia do ativo A

Avaliando o melhor resultado para o ativo A (mostrado na Figura 49), obteve-se uma proteção média de 72% calculado pela variável E ao longo da profundidade.

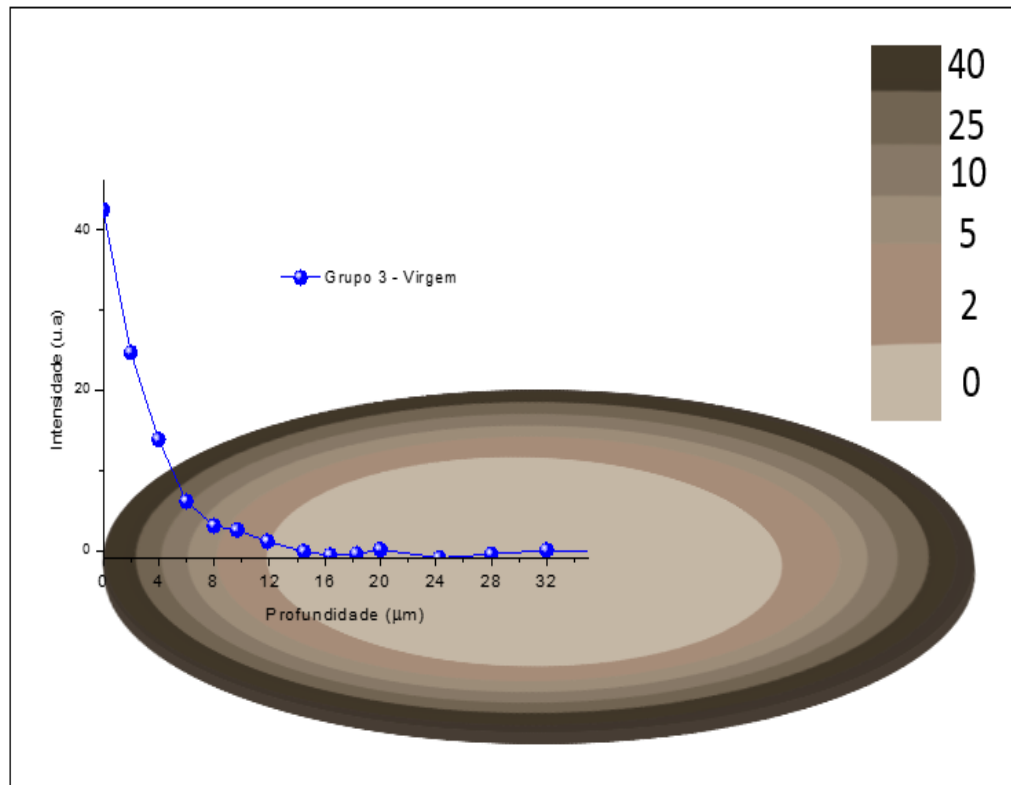
Figura 49 - Análise da intensidade do pico 509 cm^{-1} como uma função da profundidade em situação de melhor eficácia do ativo A, em comparação com o grupo de amostras virgens e fibras irradiadas com UV (grupo 1)



Fonte: Autora (2022).

Para este caso, o perfil de permeação do ativo é representado na Figura 50. Talvez a eficácia do produto esteja relacionada à alta substantividade e baixa permeação, obtidas neste caso.

Figura 50 - Representação gráfica da permeação do ativo A em 7% das amostras. Este padrão de permeação foi obtido no caso de maior eficácia da proteção UV do ativo A.



Fonte: Autora (2022).

5.3 ESTUDO DA PERMEAÇÃO E EFICÁCIA DO ATIVO B NA PROTEÇÃO DA FIBRA CAPILAR

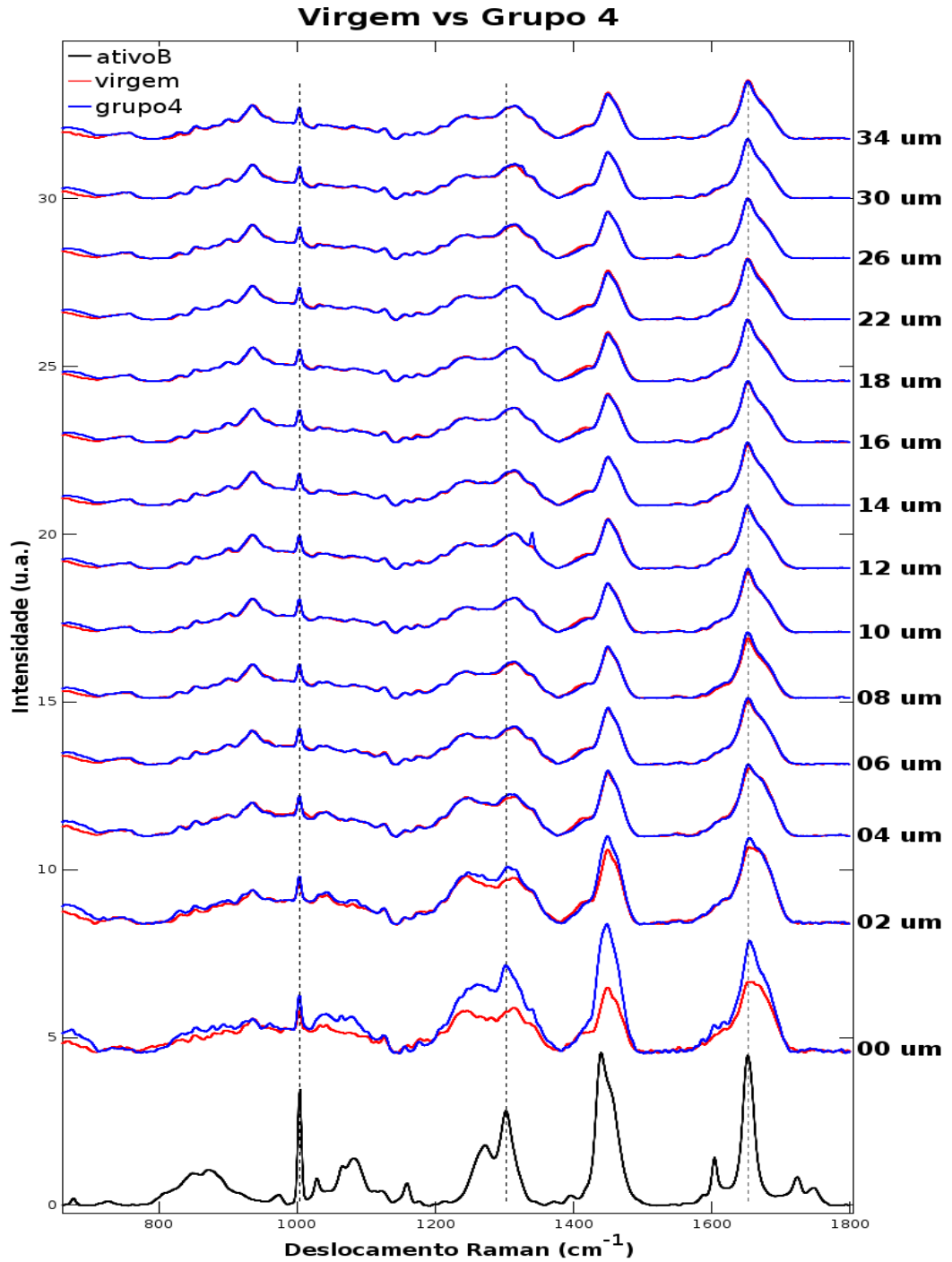
5.3.1 Permeação do ativo B

Da mesma forma que o ativo A, foi realizado um rastreio da presença do ativo B pela avaliação de alterações espectrais da fibra tratada, em comparação com a fibra virgem. A Figura 51 mostra, em preto, o espectro do ativo B, com fortes assinaturas no pico da Fenilalanina (1002 cm^{-1}), pico em 1440 cm^{-1} e Amida I (1650 cm^{-1}). A sobreposição da média dos espectros da fibra com ativo B (em azul) e a fibra virgem (em vermelho), revela alterações de intensidade nos mesmos picos do ativo B.

A figura 52 demonstra em destaque, o pico 1650 cm^{-1} . Nesta região, são vistas alterações até aproximadamente $14\text{ }\mu\text{m}$. Utilizando o software SkinTools®, o espectro inteiro do Ativo B é utilizado no rastreio do produto. Os resultados são mostrados na Figura 53. Segundo este resultado, a permeação do ativo B ocorre até

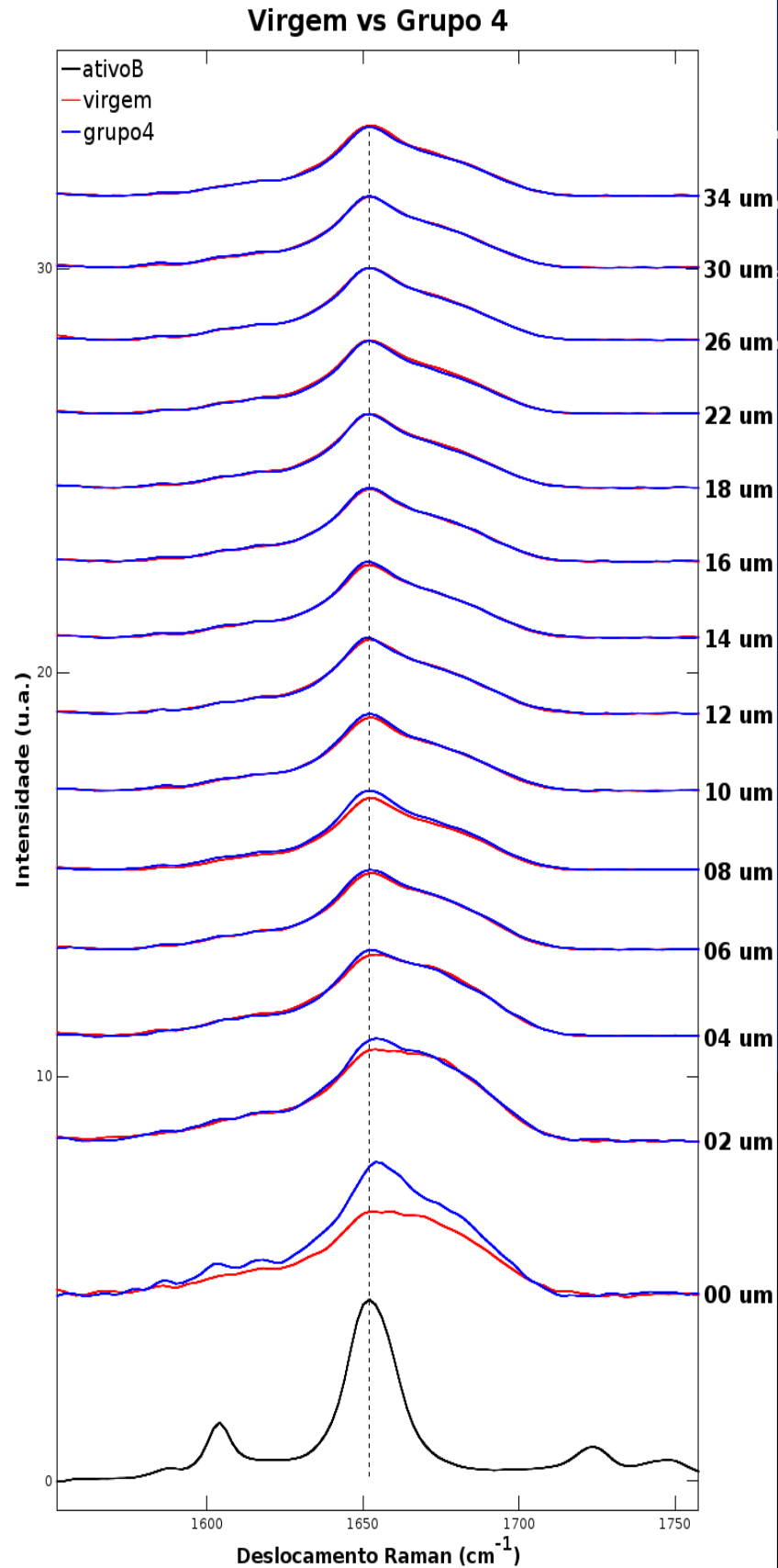
aproximadamente 15 μm . Uma representação visual deste resultado é mostrada na Figura 54.

Figura 51 - Espectro característico do ativo B, em preto, e sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo B em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra.



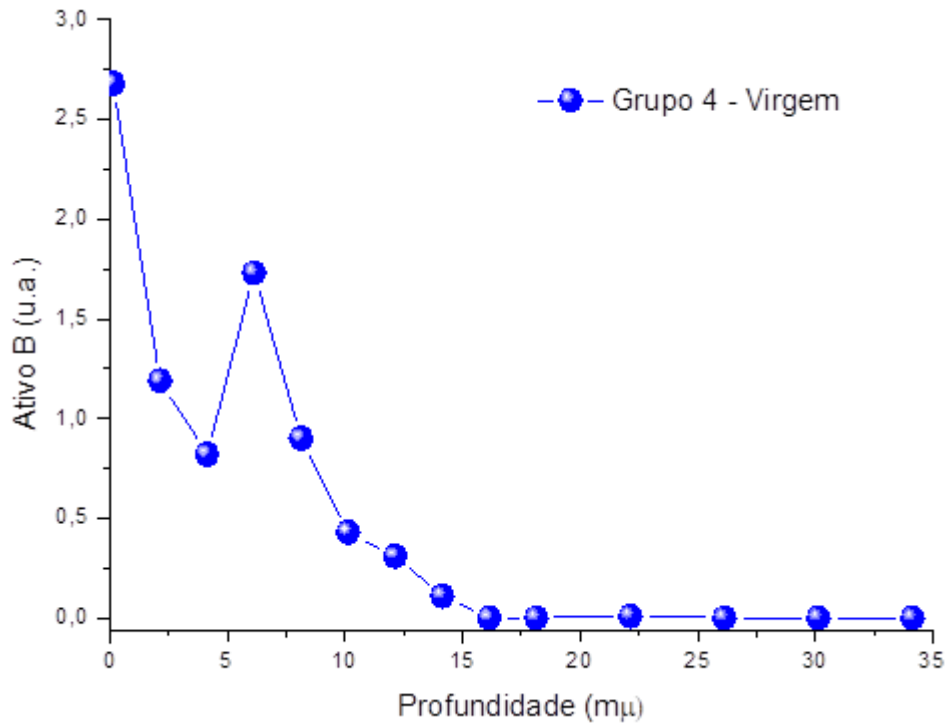
Fonte: Autora (2022).

Figura 52 - Sobreposição dos espectros da fibra tratada com ativo A em comparação com os espectros da fibra virgem em função da profundidade da fibra, na região do pico 1650 cm^{-1} .



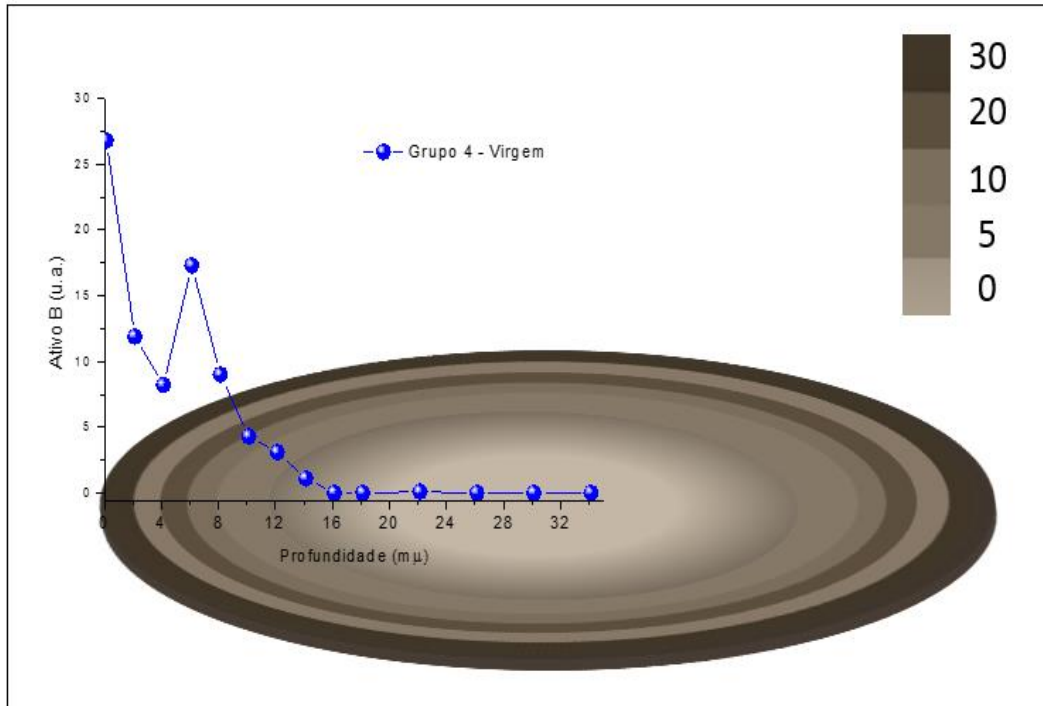
Fonte: Autora (2022).

Figura 53 - Padrão médio de permeação do ativo B em função da profundidade da fibra capilar



Fonte: Autora (2022).

Figura 54 - Representação gráfica da permeação do ativo B

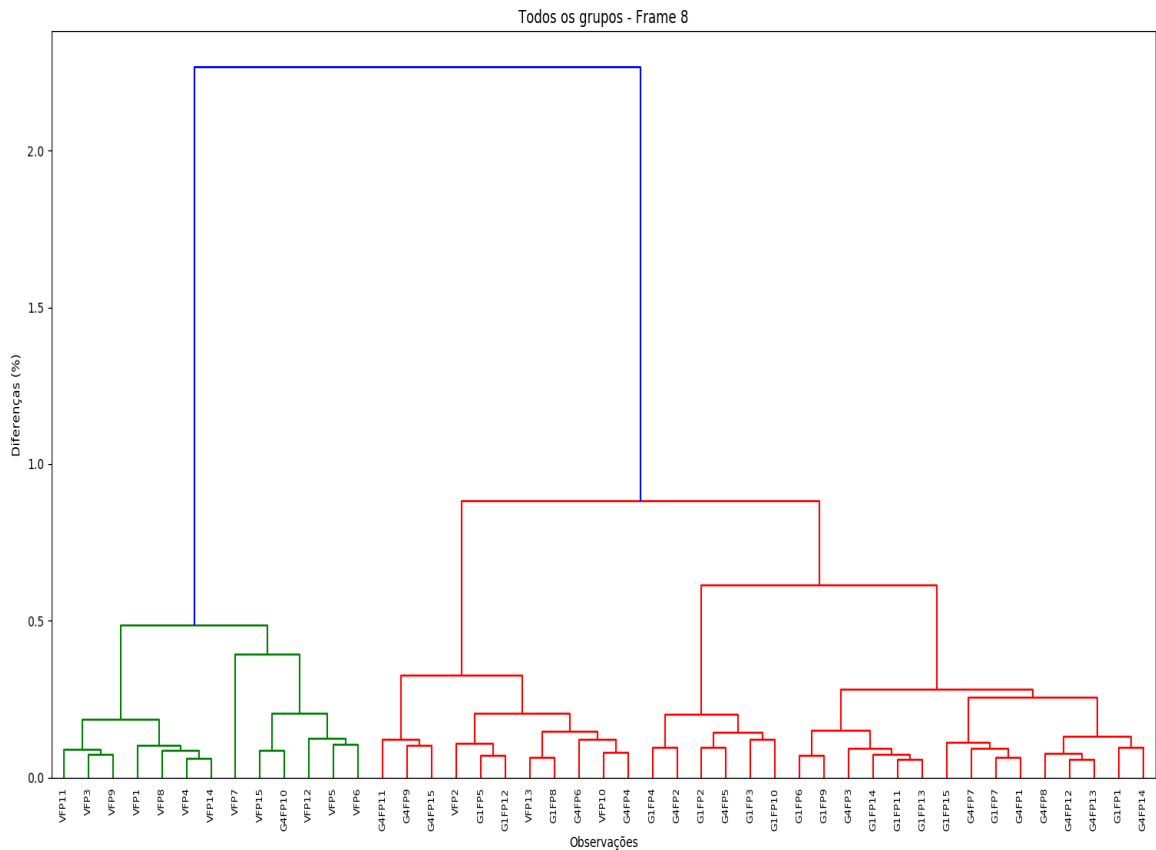


Fonte: Autora (2022).

5.3.2 Eficácia do ativo B

As análises de cluster realizadas nos dados medidos em 14 μm (Figura 55) e em 28 μm (Figura 56) mostram a formação de dois grandes grupos caracterizados por Virgem (V) e demais (G1 e G4). Apenas 1 amostra (7% do total) do grupo tratado com ativo B obteve um padrão espectral semelhante ao virgem. Por esta análise é possível prever que o Ativo B não garantiu a similaridade da fibra tratada com a fibra Virgem.

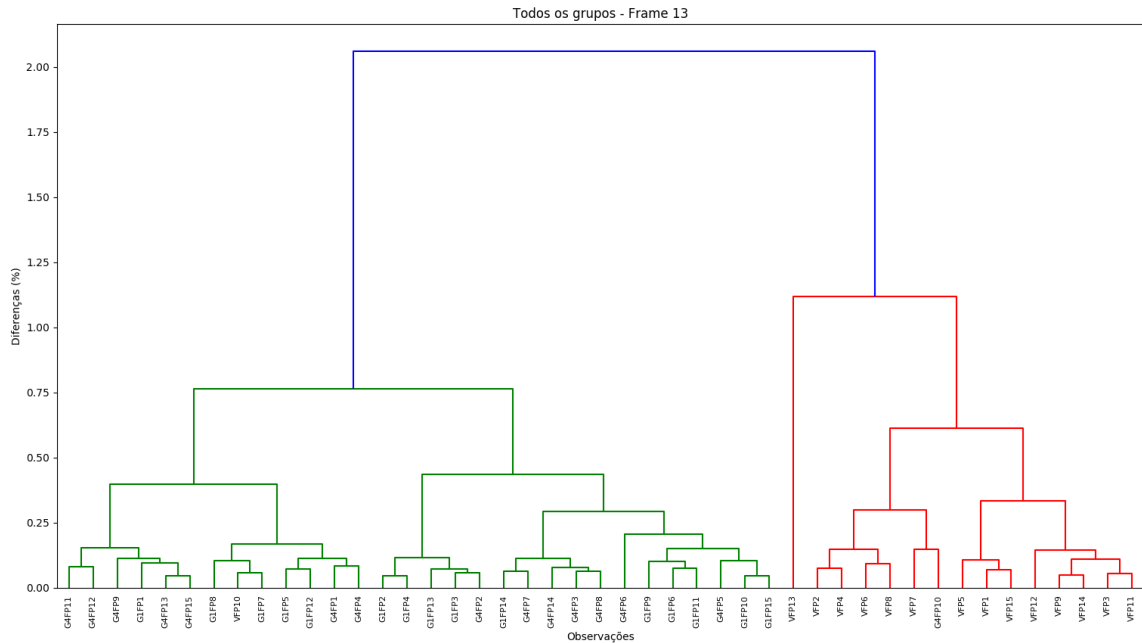
Figura 55 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm^{-1} , realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo B (G4).



Fonte: Autora (2022).

Os espectros são relativos a uma profundidade de 14 μm . FP= região de *finger print* e o número significa a identificação da amostra.

Figura 56 - Dendrograma, com ênfase na região de 509 cm⁻¹, realizado por análise de Cluster de 15 amostras de fibras capilares Virgem (V) em comparação com 15 amostras de fibras capilares tratadas com UV (G1) e 15 amostras de fibras tratadas com ativo B (G4)



Fonte: Autora (2022).

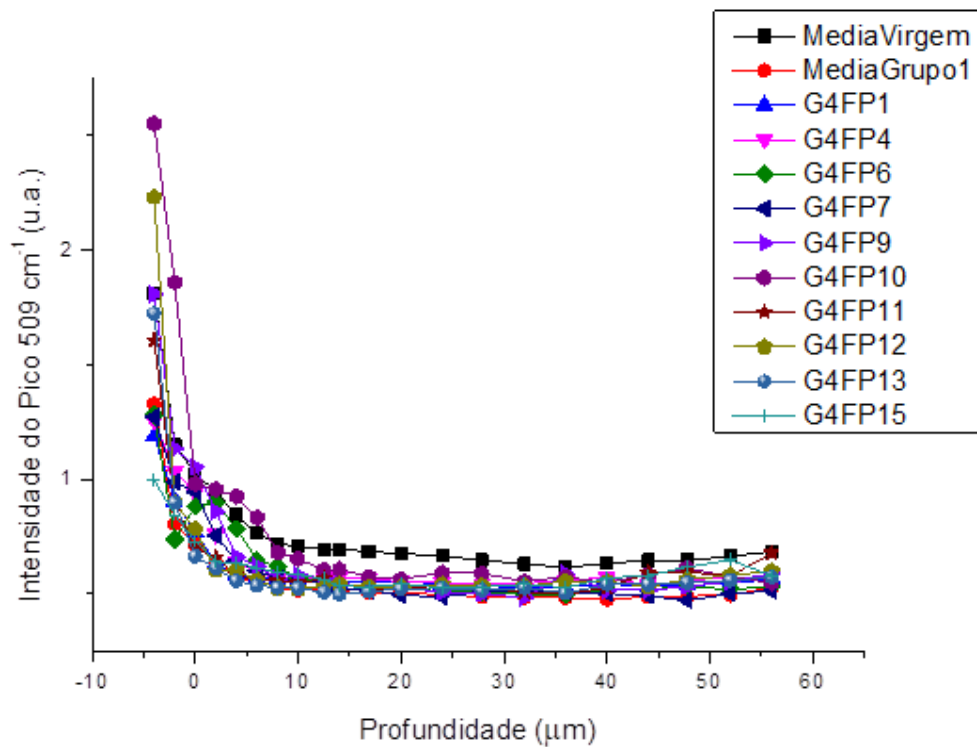
Os espectros são relativos a uma profundidade de 28 μm. FP= região de *finger print* e o número significa a identificação da amostra.

5.3.3 Análise das ligações de enxofre

A Figura 57 mostra a dependência da intensidade do pico 509 cm⁻¹ com a profundidade da fibra capilar das amostras de fibras tratadas com ativo B, em comparação com a média do grupo virgem e com dano UV. Também aplicada a equação $E = \frac{I(\text{tratada B}) - I(\text{dano})}{I(\text{Virgem}) - I(\text{dano})}$ nestas funções obtendo-se a dependência da eficácia média com a profundidade para o ativo B em comparação com a média do grupo virgem e média do grupo dano.

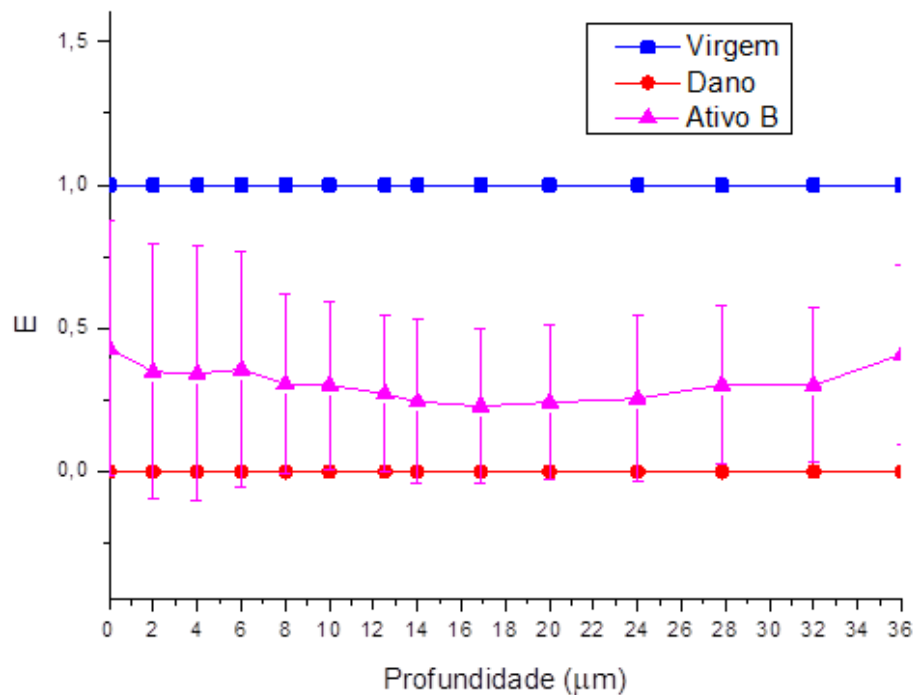
De acordo com a Figura 58, em 14 μm e em 28 μm a eficácia encontrada foi de 25%. A eficácia média na redução do dano obtido ao longo da profundidade foi de 0,31 ou 31%.

Figura 57 - Análise da intensidade do pico 509 cm^{-1} , em função da profundidade da fibra capilar, para o grupo de amostras virgens, fibras irradiadas com UV (grupo 1) e fibras tratadas com ativo A (grupo 4).



Fonte: Autora (2022).

Figura 58 - Aumento relativo da intensidade do pico 509 cm^{-1} calculado pela equação de E descrita no texto, aplicada no grupo tratado com ativo B, grupo virgem e grupo com dano UV

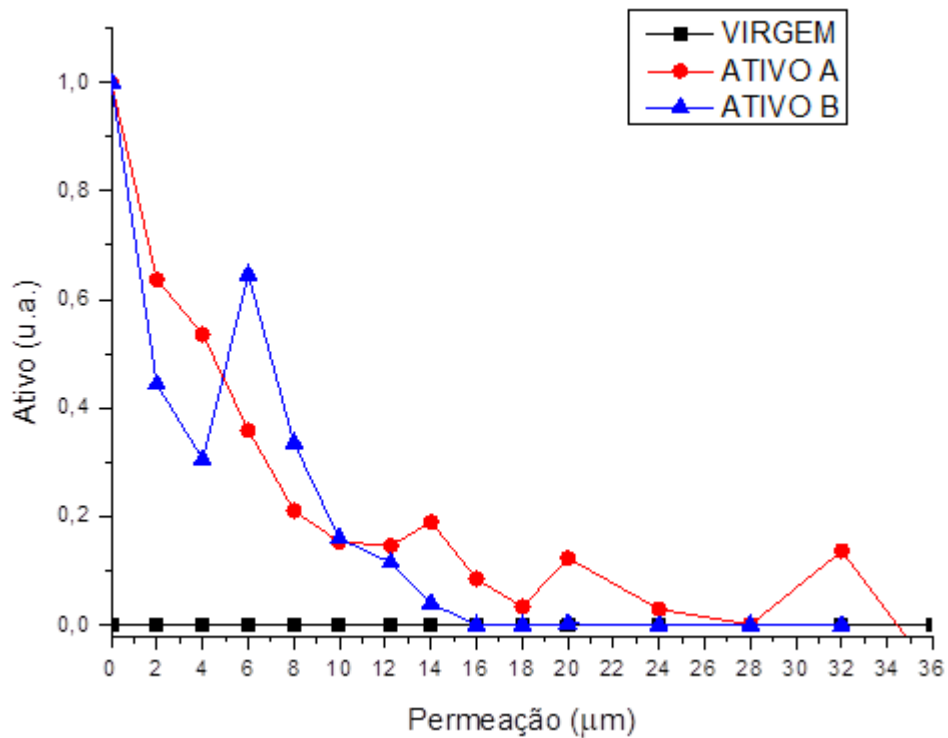


Fonte: Autora (2022).

6 RESUMO COMPARATIVO

A figura 59 mostra os dados em escala comparativa para se avaliar o padrão de permeação dos ativos na amostra de cabelo virgem. Segundo estes dados e os dados analisados ao longo deste relatório, o ativo A é encontrado até aproximadamente 28 μm . Em contraste, o ativo B permeia até apenas 16 μm .

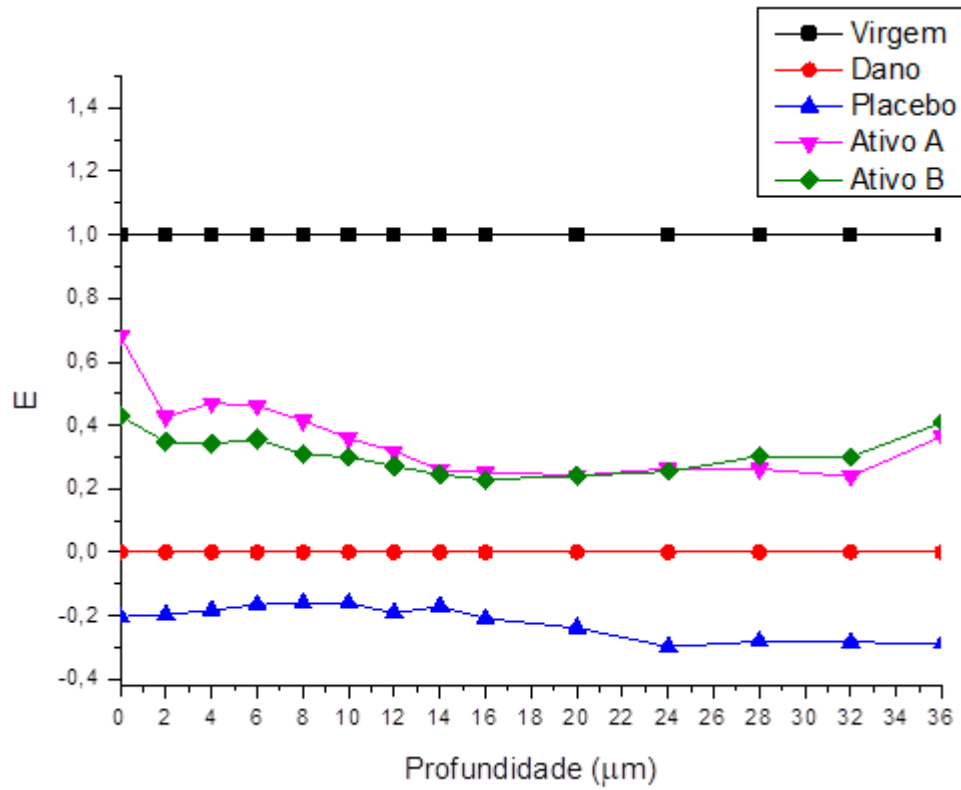
Figura 59 - Comparação do padrão de permeação do ativo A e do ativo B ao longo da fibra do cabelo



Fonte: Autora (2022).

Na figura 60 foi calculada a variável E, identificada como eficácia na proteção UV. Segundo estes dados, o ativo A é mais eficaz do que o ativo B. O placebo apresenta um valor menor no pico 509 cm^{-1} do que o grupo com dano UV.

Figura 60 - Comparação da variável E, associada à eficácia na proteção ao UV, entre as amostras de fibras de cabelo virgens, amostras tratadas com radiação UV (Dano), amostras tratadas com placebo, com ativo A e com ativo B



Fonte: Autora (2022).

7 CONCLUSÃO

A presente pesquisa demonstrou que a espectroscopia Raman é uma técnica na qual fornece informação sobre a estrutura química e estrutural do material em estudo, a fibra capilar.

As alterações bioquímicas devido ao dano causado pela radiação UV, ou devido aos produtos aplicados, foi avaliada pelas intensidades dos modos vibracionais dos constituintes bioquímicos.

Neste trabalho foram evidenciadas as alterações, onde, através da avaliação visual dos picos pode não ser precisa o suficiente para evidenciar as diferenças entre estes espectros. Por isso, foi realizado um estudo por análise multivariada ao longo das profundidades 4 μ m, 14 μ m e 28 μ m.

Com esta análise, foi possível inferir que o tratamento realizado com a incidência de luz UV resultou em danos evidentes na quase totalidade das fibras medidas, garantindo um bom grau de homogeneidade. Além disso, os danos foram mais característicos no interior da fibra.

Verificou-se que o ativo A foi encontrado em até aproximadamente 28 μ m, enquanto o ativo B permeou em apenas em 16 μ m, segundo os dados o ativo A é mais eficaz do que o ativo B.

Sendo assim, nas fibras capilares, pode-se observar o efeito protetor das formulações na manutenção das concentrações dos aminoácidos presentes nas fibras capilares, após exposição à radiação solar.

Foi possível comparar eficácia dos produtos propostos utilizando a técnica de espectroscopia Raman Confocal, assim a determinação da permeação de produtos pela fibra capilar e seu papel protetor contribuirá para o entendimento de processos de interação dos produtos com o cabelo.

Sugiro que para próximos estudos possa utilizar diferentes marcadores auxiliando na formulação dos produtos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC - Associação Brasileira das Indústrias de Higiene Pessoal. Perfumaria e Cosméticos. **Panorama do setor, Higiene pessoal, Perfumaria e cosméticos**. São Paulo: Abihpec, 2017.

AÑEL, A. D. Ciência monstruosa: os lobisomens e o crescimento dos pelos. **Ciência na Rua**. 17/07/2020. Disponível em: <https://ciencianarua.net/ciencia-monstruosa-os-lobisomens-e-o-crescimento-dos-pelos/>. Acesso em: 10 mai. 2022.

BOLDUC, C.; SHAPIRO, J. Hair care products: waving, straightening, conditioning and coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 431-436, 2001.

BORGES, M. M. C; BORGES, K. B.; PINHEIRO, P. C. “Luzes” capilar: dos salões de beleza à educação química. **Química Nova Escola**, v. 40, n. 1, p. 4-13, 2018.

BOUILLON, C.; WILKINSON, J. D. **The Science of hair care**. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis group, 2005. 727p.

CHAICHI, W. *et al.* Effect of vermicompost tea on faba bean growth and yield. **Compost Science & Utilization**, v. 26, n. 2, p. 279-285, 2018.

CLARK, R. J. H.; DINES, T. J. Resonance Raman-Spectroscopy, and its Application to Inorganic-Chemistry. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 25, p. 131, 1986.

COSTA, J. **Reconstrução de Outono**. 2010. Disponível em: <http://belezairresistivel.wordpress.com>. Acesso em: 10 mai. 2019.

CUMMINS, N. M. *et al.* Raman spectroscopy of fingernails: A novel tool for evaluation of bone quality? **Spectroscopy**, v. 24, n. 5, p. 517–524, 2010.

DIAS, T. C. S. *et al.* Relaxing/straightening of Afro-ethnic hair: historical overview. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 6, n. 1, p. 2-5, 2007.

FARIA, D. L. A. Entenda o que é espectroscopia Raman. **Química Viva - CRQ-IV**, 2011. Disponível em: https://www.crq4.org.br/sms/files/file/Espectroscopia_Raman_4.pdf. Acesso em: 31 jul. 2019.

FARIA, D. L. A.; SANTOS, L. G. C.; GONÇALVES, N. S. Uma Demonstração Sobre o Espalhamento Inelástico de Luz: Repetindo o Experimento de Raman, **Química Nova**, v. 20, n. 3, p. 319-323, 1996.

FEUGHELMAN, M. Morphology and Properties of Hair. In: JOHNSON, D. H. **Hair and Hair Care**. New York: Marcel Dekker, 1977. p.1-13.,

FRANÇA, S. A. D. **Caracterização dos cabelos submetidos ao alisamento / relaxamento e posterior tingimento**. 2014. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2014.

GANS, P. **Vibrational molecules**: An introduction to the interpretation of infrared and Raman spectra. London: Chapman and Hall, 1971.

GUERRA-TAPIA, A.; GONZALEZ-GUERRA, E. Hair Cosmetics: Dyes. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 105, n. 9, p. 833-839, 2014.

LOUSSOUARN, G. *et al.* Worldwide diversity of hair curliness: a new method of assessment. **International Journal of Dermatology**, v.46, p.2-6, 2007.

MCMULLEN, R. L.; ZHANG, G.; GILLECE T. Quantifying hair shape and hair damage induced during reshaping of hair. **Journal of the Society of Cosmetic**, v. 66, n. 6, p. 379-409, 2015.

MENDES, T. O. *et al.* Statistical strategies to reveal potential vibrational markers for in vivo analysis by confocal Raman spectroscopy. **Journal of Biomedical Optics**, v. 21, n. 7, p. 075010, 2016.

MIRANDA-VILELA, A. L.; BOTELHO, A. J.; MUEHLMANN, L. A. An overview of chemical straightening of human hair: technical aspects, potential risks to hair fibre and health and legal issues. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 36, n. 1, p. 2-11, 2014.

MOVASAGHI, Z.; REHMAN, S.; REHMAN, I.U. Raman Spectroscopy of Biological Tissues. **Appl. Spectroscopy Rev.** v. 42, pp. 493–541, 2007.

OLIVEIRA, P. K. *et al.* Análise da composição bioquímica da pele por espectroscopia Raman. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 28, n. 3, p. 278-287, set. 2012.

OLIVEIRA, R. A. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 1037-1046, 2014.

PEREIRA, A.F.M. **Efeitos da radiação solar no envelhecimento da pele humana avaliados pela Espectroscopia Raman**. 2019. 73f. Tese. Doutorado em Engenharia Biomédica. Departamento de Engenharia Biomédica. Universidade Brasil, São Paulo, 2019.

PEREIRA, L. *et al.* Confocal Raman Spectroscopy as an Optical Sensor to Detect Advanced Glycation End Products of the Skin Dermis. **Sensor Letters**, v. 13, n. 9, p. 791-801, 2015.

POZEBON, D.; DRESSLER, V. L.; CURTIUS, A. J. Análise de cabelo: Uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química Nova**, v. 22, n. 6, p. 838-846, 1999.

RAMAN, C. V.; KRISHNAN, K. S. A new type of Secondary Radiation. **Nature**, v 121, p. 501-502, 1928.

RICHENA, M. **Efeitos da irradiação na morfologia e estrutura do cabelo**. 2015. 145p. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2015.

ROBBINS, C. R. **Chemical and Physical Behavior of Human Hair**. 3.ed. New York: Springer-Verlag, 1994. 391p.

ROBBINS, C. R. **Chemical and physical behavior of human hair**. 4. ed. New York: Springer-Verlag, 2002. 483 p.

ROBBINS, C.; CRAWFORD, R. Cuticle Damage and the tensile properties of human hair. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 42, p. 59-60. 1991.

SALA, O. *et al.* **Espectroscopia molecular princípios e aplicações**. Universidade de São Paulo, 1984.

SANTOS, L. *et al.* In vivo intra-and inter-individual variability study of human stratum corneum by confocal Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 87, p. 199-206, 2016.

SBQ. Sociedade Brasileira de Química. **Química Nova Interativa**. Disponível em: <http://qnint.s bq.org.br>. Acesso em: 30 mai. 2019.

SOARES, Rillelands Alves. **Estudo de altas pressões por espectroscopia Raman no cristal de Nitrato de L-Alanina**. 2017. 57f. Dissertação (Programa de Pós-

Graduação em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2017.

TEIXEIRA, A. P. *et al.* Confocal Raman spectroscopy: determination of natural moisturizing factor profile related to skin hydration. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 30, n. 1, p. 11-16, 2014.

TEIXEIRA, A.P. **Avaliação *in vivo* da pele humana facial por espectroscopia Raman confocal: ação de cosmético**. 2013. Dissertação. Mestrado em Engenharia Biomédica. Universidade do Vale do Paraíba. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, São José dos Campos, 2013.

TÉLLEZ S, C. A. *et al.* RM1 semi empirical and DFT: B3LYP/3-21G theoretical insights on the confocal Raman experimental observations in qualitative water content of the skin dermis of healthy young, healthy elderly and diabetic elderly women's. **Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 149, p. 1009-1019, 2015.

TORRES, B. B. *et al.* **Bioquímica da beleza**. São Paulo: IQ-USP, 2005. [Apostila].

TOSATO, M. G. *et al.* Confocal Raman spectroscopy: In vivo biochemical changes in the human skin by topical formulations under UV radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology**, v. 153, p. 51-58, 2015.

TOSATO, M.G. *et al.* Raman Spectroscopic Investigation of the Effects of Cosmetic Formulations on the Constituents and Properties of Human Skin. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 2, p. 85-91, 2012.

WILKINSON, J. B.; MOORE, R. J. **Cosmetologia de Harry**. Madrid: Ediciones Diaz de Santos, 1990. 1062p.