

ESTUDO COMPARATIVO DA FOTODEGRADAÇÃO DE FIBRAS CAPILARES CAUCASIANAS PELAS TÉCNICAS DE ESPECTROSCOPIA DE EXCITAÇÃO/EMIÇÃO E DSC

Lívia Maria Marcati¹, Manuela Sutton Mello¹, Adriano S. Pinheiro², Douglas Terçi², Diogo Terçi², José A. Agnelli¹, Valéria M. Longo¹, Elson Longo³, José A. Varela³

¹Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Química, Engenharia de Materiais e Engenharia Química - São Carlos SP, Brasil

²Kosmoscience Ciência & Tecnologia Cosmética Ltda., Valinhos SP, Brasil

³Universidade Estadual Paulista - Instituto de Química - Araraquara - SP – Brasil

1. Resumo

Está bem estabelecido na literatura que as radiações ultravioleta (UV) e visível causam danos às fibras capilares. A degradação fotoquímica das fibras se dá tanto na queratina, quanto na melanina que é responsável pela sua coloração. Por sua vez, a melanina proporciona um certo grau de fotoproteção às fibras absorvendo e conseqüentemente, dissipando as radiações de comprimento de ondas curtas ($\lambda < 320$ nm).

Um dos principais componentes da melanina é o aminoácido triptofano. Quando exposto às ondas eletromagnéticas de alta energia ele se degrada em várias etapas, formando o radical triptofano, que se converte em N-formil quinurenina e finalmente produz a quinurenina. Assim, a concentração relativa de triptofano na fibra capilar caucasiana pode ser um referencial intrínseco para medida do grau de fotodegradação. Devido à necessidade de obter-se um marcador intrínseco de fotodegradação o aminoácido Trp tornou-se um padrão ideal.

Desenvolveu-se também uma metodologia, baseando-se nas propriedades térmicas da queratina α para investigar-se a fotodegradação dessa proteína utilizando-se a técnica de Differential Scanning Calorimetry (DSC).

Por fim, a análise dos resultados decorrentes das duas metodologias foram comparados, a fim de avaliar-se qual a metodologia seria mais confiável para se estudar esse tipo de dano ou mesmo se elas seriam complementares. Em função dos resultados essas metodologias podem ser utilizadas para a avaliação de produtos cosméticos, onde a ciência cosmética torna-se uma arte de conceber produtos cada vez mais inteligentes e direcionados para as necessidades das consumidoras.

2. Introdução

As fibras capilares são formadas por uma estrutura fibrosa de proteínas pertencentes à família das queratinas. Uma pequena quantidade da massa total da fibra deriva dos pigmentos de melanina e de lipídios. Morfologicamente, a estrutura capilar possui duas estruturas distintas. Uma camada externa denominada cutícula e uma massa interna denominada córtex. Essa última consiste de células alongadas orientadas paralelamente ao eixo axial da fibra. Essas células contêm microfibrilas formadas de uma α -hélice de queratina e embebida em uma matrix amorfa rica em cistina. Essas diferentes proteínas que compõem a fibra possuem diferentes composições de aminoácidos (1-3).

Já é amplamente conhecido da literatura os efeitos deletérios que a luz do sol provoca nos tecidos humanos em geral (4-9). As fibras capilares da mesma forma, sofrem fotodegradação, o que pode contribuir significativamente para o total de danos que a fibra capilar sofre diariamente(10,11). Os danos ocorridos na pele podem ser medidos pelo seu eritema. Devido à sua importância estética e comercial as fibras capilares também necessitam de marcadores sensíveis e intrínsecos para a avaliação de fotodegradação.

De acordo com o mecanismo de fotólise proposto por Tolgyesi os aminoácidos tirosina, feláina e triptofano absorvem a radiação UV resultando na formação de radicais livres (12).

Por outro lado, os materiais luminescentes liberam energia em forma de fótons, quando provocados por uma fonte de energia externa. Essa propriedade óptica, denominada de fotoluminescência, pode ser estudada por meio dos espectros de excitação e emissão de fótons. Um fóton é absorvido em altíssima velocidade, o processo requer de 10^{-14} a 10^{-15} s (12).

Depois da absorção fotônica, um elétron pode retornar ao seu estado fundamental, por uma combinação de várias etapas mecânicas. Essas etapas podem ser de desativação radiativa (fluorescência e fosforescência) envolvendo emissão de um fóton de radiação ou processo de desativação não radiativo (13). A Figura 1 ilustra algumas transições eletrônicas com a superposição das transições vibracionais.

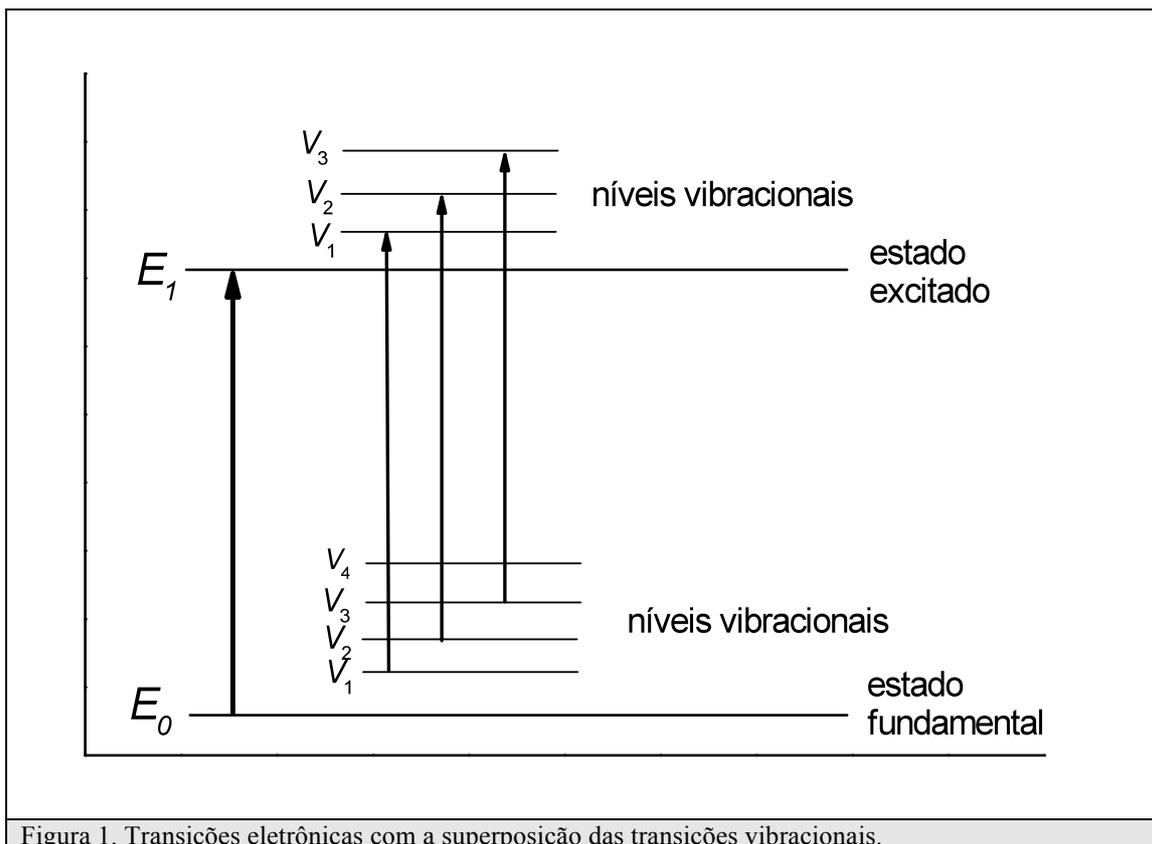


Figura 1. Transições eletrônicas com a superposição das transições vibracionais.

Este é um processo em nível molecular intrínseco de um determinado composto, sendo uma assinatura de sua presença em função de sua concentração. Dessa forma, torna-se altamente relevante estudar a fluorescência de aminoácidos aromáticos que compõem as fibras capilares como felaína, tirosina, triptofano e os seus resíduos, incorporados em uma cadeia peptídica (14). Nesses aminoácidos, foi observado um decaimento mono exponencial fluorescente (15). A conversão do grupo α -carboxílico no correspondente grupo amino ou sua protonação resulta em um complexo decaimento fluorescente.

Algumas explicações sobre esse comportamento foram estabelecidas por Gauduchon et al. (16) em um modelo de rotômero. Cowgill (17,18) Tournon et al. (19) e Feitelson (20) sugeriram que a ocorrência de luminescência dos aminoácidos de cadeia aromática acontece devido a uma transferência de cargas entre o grupo cromóforo aromático excitado (grupo pentol), agindo como um doador e as unidades eletrofilicas do grupo carbonílico do grupo amina, agindo como um receptor.

Comprimentos de onda maiores como UVA e do espectro da luz visível não causam danos a fibra, pois não são absorvidos diretamente pelas proteínas. Assim, de todos os cromóforos pertencentes a queratina, apenas o triptofano (Trp) absorve uma quantidade significativa da radiação UVB (290-320 nm). Esse fato foi claramente observado no caso de lentes cristalinas biológicas (21,22).

Devido à necessidade de obter-se um marcador intrínseco de fotodegradação o aminoácido Trp tornou-se um padrão ideal. Nesse estudo, desenvolveu-se uma nova metodologia, baseando-se nas propriedades ópticas do triptofano para avaliar com segurança e de modo adequado a sua cinética de degradação. Em função dos resultados essa metodologia pode ser utilizada para a avaliação de produtos cosméticos de fotoproteção.

A técnica de DSC foi utilizada por Cao (23) para observar o comportamento térmico de cabelos. Wortmann (24), avaliou a desnaturação da queratina de fibras capilares descoloridas por DSC. Esta técnica mede energia térmica fornecida a um material para efetuar transformações físicas tais como calor de vaporização, calor de fusão e transição de fase de materiais. Cao (23) verificou no seu estudo duas bandas características, uma na faixa de 0 a 200°C referente a água presente na fibra capilar e outra entre 250 e 280°C referente à transição de fase cristalina da α -queratina.

Belletti *et al.* (25) pesquisaram a técnica de DSC unida à de cromatografia gasosa para medir a quantidade de água presente na fibra capilar. Ehen et al. (26) estudaram a decomposição de quatro tipos de fibras capilares usando as técnicas de DSC e TG combinadas.

A análise térmica da queratina em água por intermédio de análise térmica diferencial (DTA) ou calorimetria diferencial (DSC) são técnicas adequadas para determinar a força de ligação das moléculas de água por meio da energia requerida para remover essas moléculas (25). Também pode-se investigar as alterações das estruturas α -helicoidal dos filamentos intermediários e os efeitos físico-químicos oriundos dos tratamentos cosméticos (24).

3. Objetivos

Nesse trabalho desenvolveu-se uma metodologia de avaliação do aminoácido triptofano e de seus produtos de degradação baseados em suas propriedades ópticas, a fim de se avaliar os danos causados pela radiação solar em diversos tempos de exposição.

Desenvolveu-se também uma metodologia, baseando-se nas propriedades térmicas da queratina α para investigar-se a fodegradação dessa proteína utilizando-se a técnica de Differential Scanning Calorimetry (DSC).

Por fim, a análise dos resultados decorrentes das duas metodologias foram comparados, a fim de avaliar-se qual a metodologia seria mais confiável para se estudar esse tipo de dano ou mesmo se elas seriam complementares. Em função dos resultados essas metodologias podem ser utilizadas para a avaliação de produtos cosméticos de fotoproteção.

4. Materiais e Métodos

4.1. Preparação das Mechas

Foram preparadas 21 mechas de cabelo caucasiano, natural, liso, castanho, medindo 30 cm de comprimento, fornecido pela DeMeoBrothers INC, pesando 5 gramas cada.

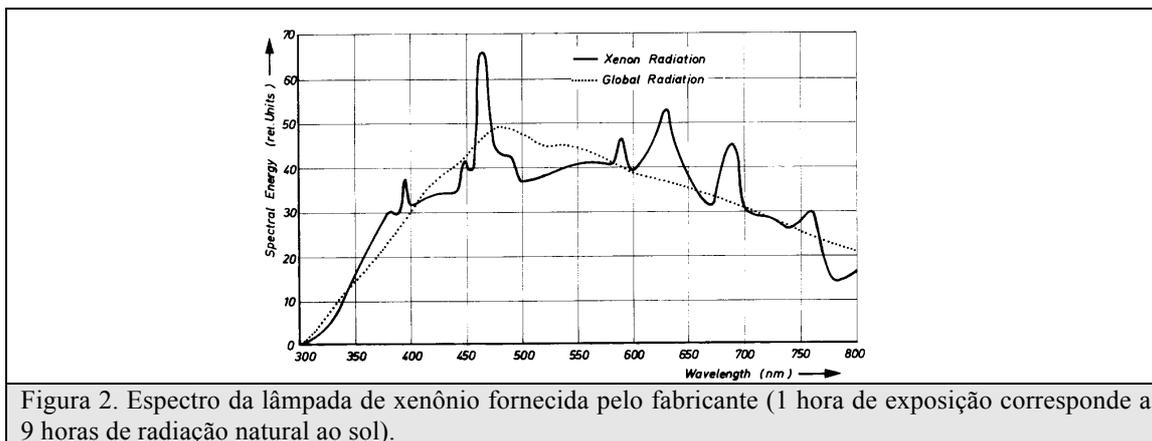
Todas as mechas foram submetidas a um processo padronizado de pré-limpeza utilizando uma solução 10% de Lauril Éter Sulfato de Sódio (SLES) por 1 minuto seguido de enxágüe em água corrente. As mechas foram secas em um ambiente padronizado a 55 ± 5 % de umidade relativa e 22 ± 2 °C, durante 24 horas antes dos ensaios.

4.2. Exposição à radiação solar e medidas de fluorescência

As mechas foram expostas em um equipamento que simula o espectro da radiação solar. As suas especificações estão contidas na Tabela 1 e o espectro de emissão da lâmpada de xenônio, fornecido pelo fabricante na Figura 2.

Tabela 1. Especificações do Atlas Weather-Ometer.

Equipamento	Atlas Weather-Ometer, modelo 65 XW-WR1.
Fonte de radiação	Lâmpada de xenônio de 6.500 W, com filtros interno e externo de borossilicato.
Ciclo de envelhecimento acelerado	Somente insolação, sem exposição a chuva.
Controle	Irradiância de 0,35 W/m ² a 340 nm.
Densidade de energia total incidida sobre as amostras	26,41 mW/cm ²



As mechas foram expostas em grupos de três mechas para cada tempo. Foram eles: T0 – controle; T24 – 24 horas; T48 – 48 horas; T96 – 96 horas; T144 – 144 horas; T192 – 192 horas e T240 – 240 horas.

4.3. Avaliação de Triptofano por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar. A linha de excitação utilizada foi de 294 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do triptofano ~340 nm.

As mechas foram posicionadas em um porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição.

4.4. Avaliação da quinurenina por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar. A linha de excitação utilizada foi de 350 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do quinurenina ~ 435 nm.

As mechas foram posicionadas em um porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição.

4.5. Avaliação do n-formil quinurenina por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar. A linha de excitação utilizada foi de 320 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do quinurenina ~ 420 nm.

As mechas foram posicionadas em um porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição.

4.6. Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Utilizou-se o equipamento DSC – Differential Scanning Calorimetry, NETZSCH Phoenix 204 Cell. Para os ensaios pesou-se $0,58\text{mg} \pm 0,01\text{mg}$ cada amostra de cabelo previamente picado. Foram realizadas 3 medidas para cada mecha. Juntamente com as amostras foi adicionada 0.5mg de água destilada. Os cadinhos de alumínio foram lacrados, com uma borracha em seu interior, de forma que a água não pudesse evaporar com o aumento da temperatura. Todo o sistema foi mantido em um ambiente climatizado à 20°C, por 12 horas. Subsequentemente, as medidas foram realizadas em ambiente

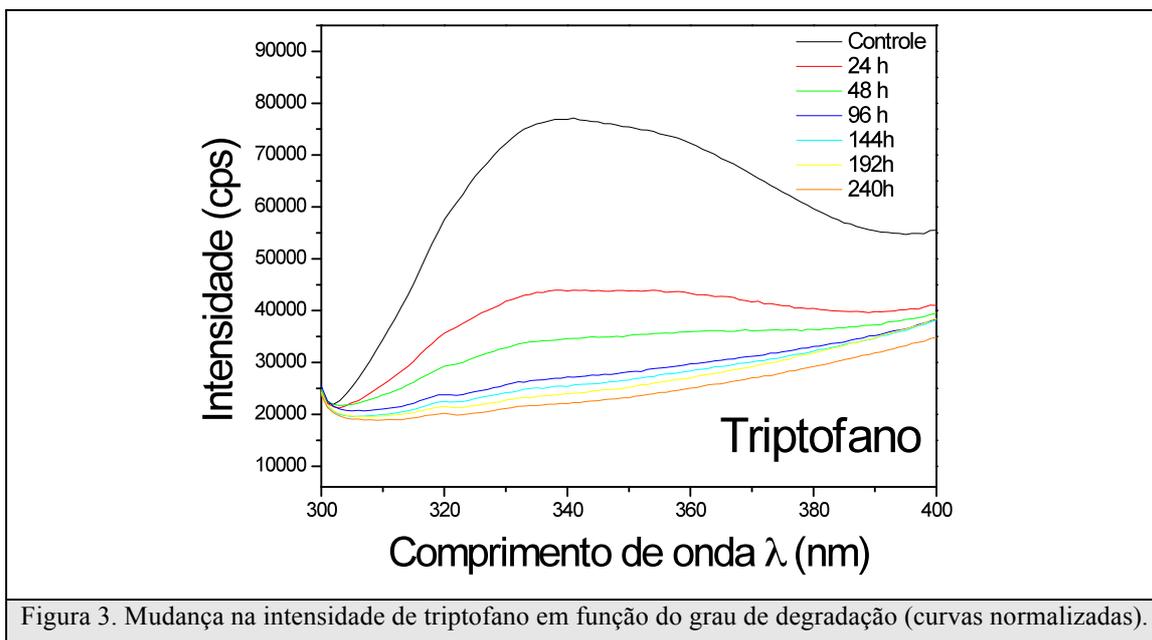
climatizado, sendo as condições de temperatura padronizadas a 40% de umidade relativa e temperatura de 20°C.

5. Resultados e Discussão

A Figura 3 apresenta os espectros normalizados de emissão do aminoácido triptofano (Trp) para fibras capilares caucasianas expostas à radiação solar por 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas e controle. Cada espectro corresponde a três mechas com leituras em triplicata. Encontrou-se que o comprimento de excitação para fibras capilares caucasianas foi de 294 nm e que a maior emissão está em aproximadamente 340 nm. O controle da umidade foi rigoroso, pois a emissão de fotoluminescência do Trp é muito sensível a variações de umidade. Somers *et al.* (15) estudaram as mudanças conformacionais da molécula de Trp, quando hidratadas pela água. A cinética de degradação de Trp também é modificada em função do teor de umidade, pois os processos fotolíticos geralmente são acelerados com o aumento de umidade. Assim, todas as mechas foram expostas à radiação em condições de aproximadamente $50 \pm 5\%$ de umidade. É evidente o aumento da degradação do Trp com o aumento do tempo de exposição.

A cinética de degradação do Trp, determinada pelas medidas de fluorescência, é complexa, e pode ser afetada por diversos fatores. Por exemplo, a não uniformidade da exposição das fibras em função de sua espessura, irá causar maiores danos em sua superfície do que em seu interior. Assim, devido a esse gradiente, a superfície da fibra degradará mais rapidamente que o seu interior. A cinética de degradação também será influenciada pela modificação da polaridade do ambiente devido ao aparecimento dos resíduos de Trp após a decomposição (27). Além disso, o feixe de fótons emitidos não é colimado, assim, parte da energia não é detectada pela fotomultiplicadora. Devido a essas complicações, uma análise cinética termodinâmica rigorosa e quantitativa não pode ser realizada. No entanto, essa técnica experimental é suficientemente precisa para fins comparativos ou qualitativos (vide Figura 3).

Pode-se observar na Figura 4 que existem três principais regiões de cinética de degradação. Na região I, até aproximadamente 48 horas a cinética de degradação é mais rápida. Na região II (~ 96 horas) a velocidade diminui e na região III ela diminui ainda mais. Assim, até 96 horas a maior parte do Trp pertencente à fibra já foi degradado.



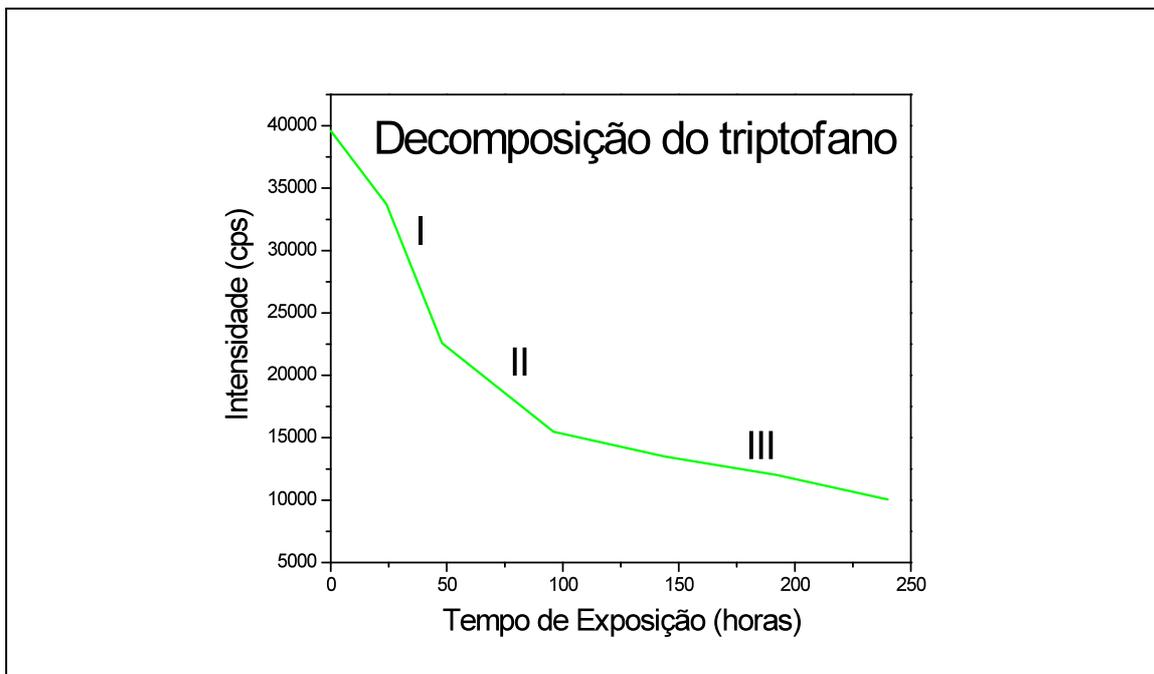


Figura 4. Decomposição do triptofano em função do tempo de exposição à radiação solar, com três regiões distintas.

As reações envolvendo a decomposição do Trp sugeridas pelo nosso grupo, estão ilustradas na Figura 5 abaixo.

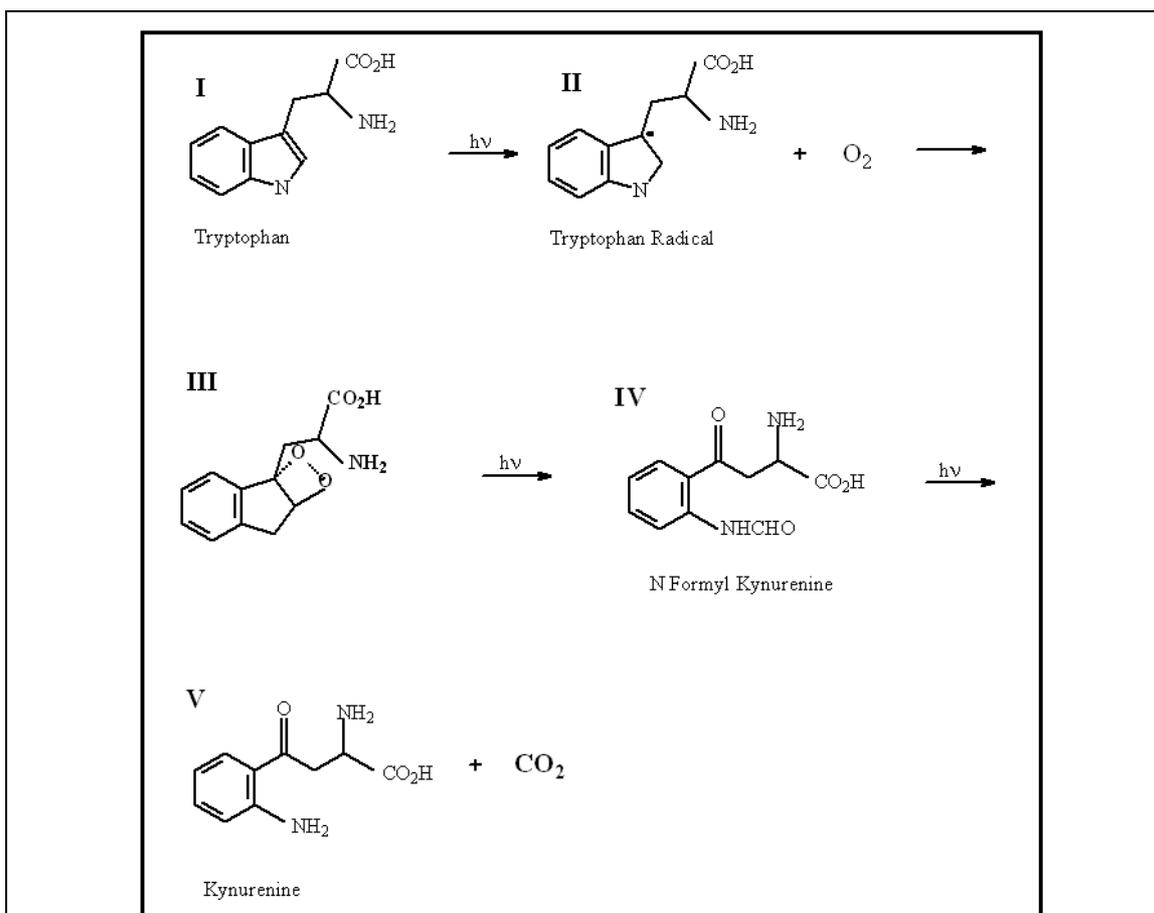


Figura 5. Reações envolvendo a degradação de triptofano e formação de seus resíduos.

A luz ($h\nu$) excita a molécula de Trp pertencente à fibra capilar, formando um radical livre de triptofano (Trp^*) ($\text{I} \rightarrow \text{II}$). O oxigênio pertencente ao ambiente no seu estado fundamental é excitado em presença do radical Trp^* , pois tem dois elétrons π desemparelhados. Por essa razão, o oxigênio pode se comportar como um dienófilo capaz de produzir uma reação com o radical de triptofano do tipo Diels-Alder. Esta reação é comumente denominada de ciclo-adição. Esta adição requer uma combinação de um sistema, em que participam quatro elétrons π . Nesse caso, estão envolvidos os dois elétrons π do anel pirrol do Trp com os dois elétrons π do oxigênio. Assim sendo, esta reação é ativada pelo radical livre (II) e produz um peróxido com o anel pirrol (III). Em presença da luz este novo composto é instável, dando origem à decomposição do Trp (IV) e formação de seu resíduo N-Formil-Quinurenina. Finalmente, a luz continua o processo de fotólise levando a formação do resíduo Quinurenina (V).

Para uma melhor investigação das etapas que envolvem a degradação do Trp, bem como, para a comprovação dos mecanismos propostos na Figura 5 acompanhou-se a formação dos resíduos de Trp pela mesma técnica espectroscópica.

O comprimento de onda de excitação que provoca maior intensidade de emissão da N-Formil Quinurenina foi de 320 nm e o pico de maior emissão, aproximadamente 420 nm. A Figura 6 ilustra a formação da N-Formil Quinurenina em função do tempo de exposição à radiação. A Figura 7 ilustra esse comportamento no comprimento de onda com maior intensidade de emissão ~ 420 nm.

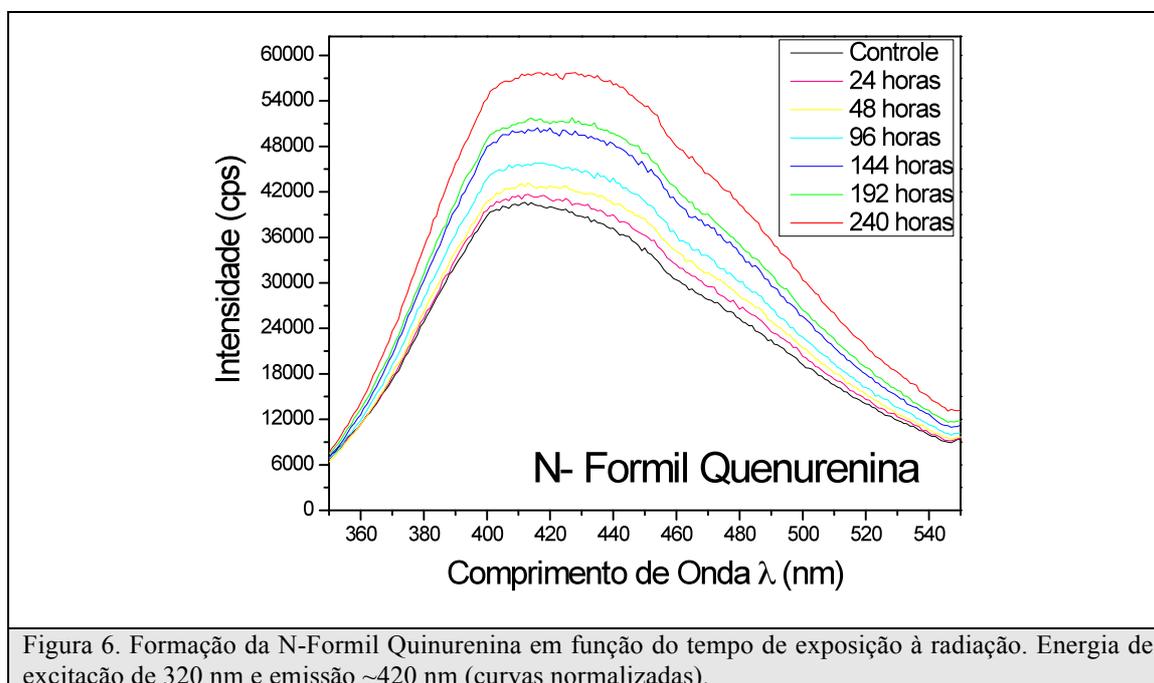
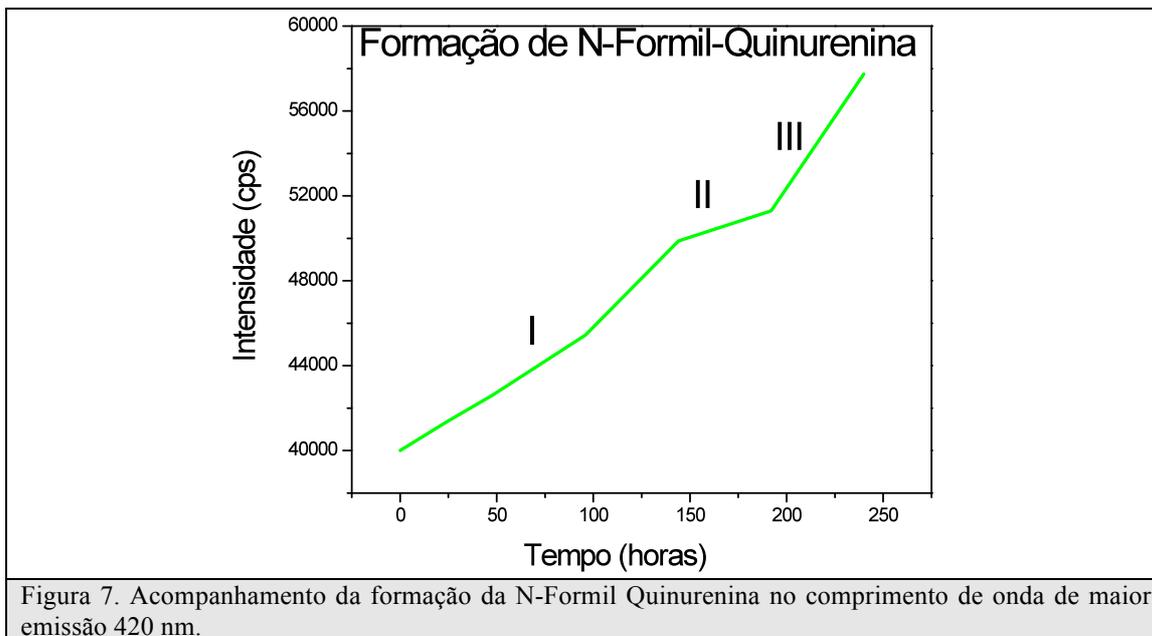
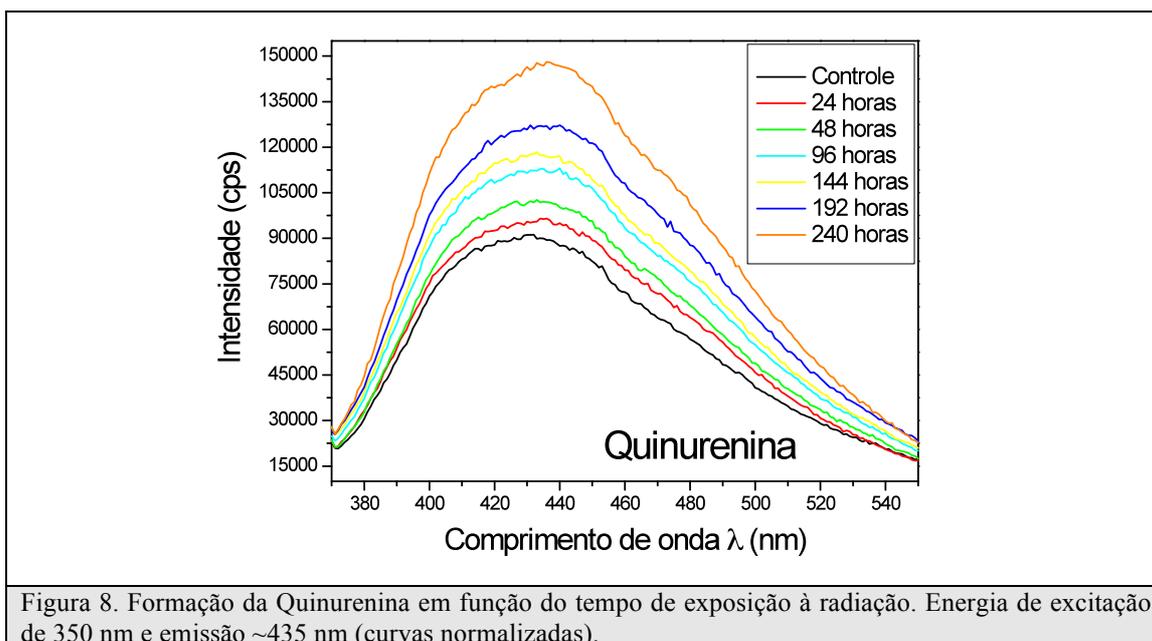


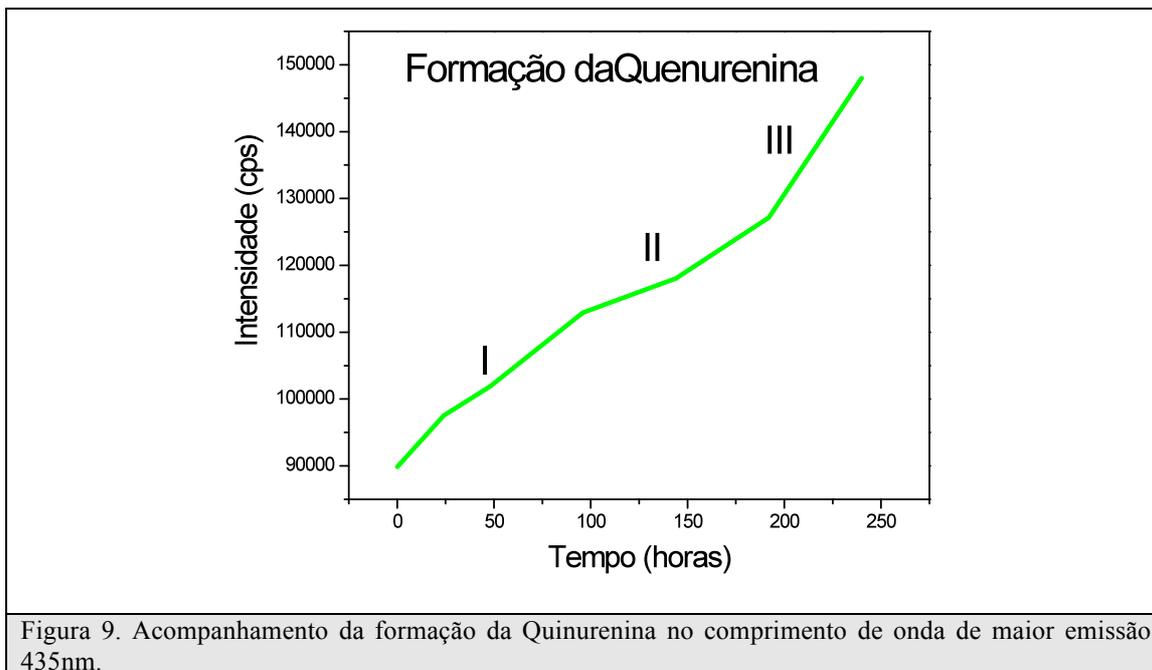
Figura 6. Formação da N-Formil Quinurenina em função do tempo de exposição à radiação. Energia de excitação de 320 nm e emissão ~ 420 nm (curvas normalizadas).



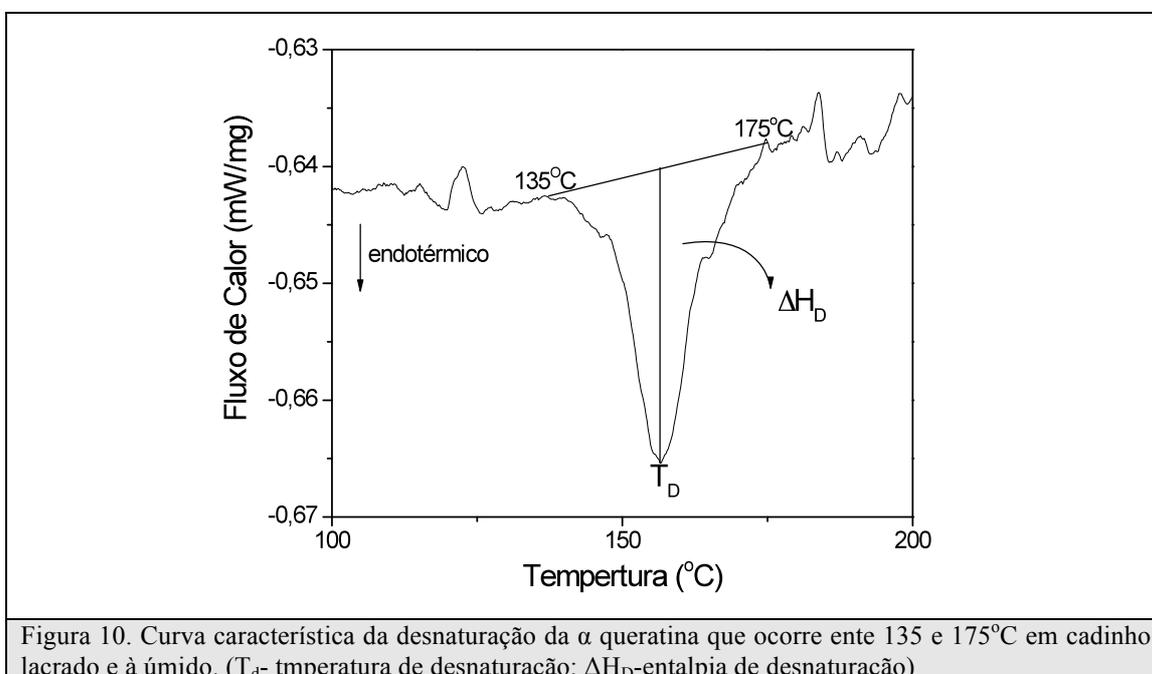
A curva da Figura 7 ilustra que a formação desse resíduo compreende também três regiões, sendo que a partir de ~ 190 horas essa formação é bastante intensificada. Como concomitantemente nesse tempo de exposição a cinética de degradação de Trp ocorre de maneira mais lenta, provavelmente os radicais livres de triptofano é que estão sendo consumidos na reação. A energia fotônica, nesse caso deve ser cumulativa e leva a uma fotólise cada vez maior.

Na sequência dos resíduos formados pela fotólise do Trp está a Quinurenina. A mesma, foi excitada à 350 nm e obteve maior emissão em aproximadamente 435 nm. Observa-se o mesmo comportamento da N-Formil Quinurenina (vide Figura 8). No entanto, a intensidade de emissão é muito maior. Esse fato indica de que esse resíduo é provavelmente uma forma mais estável que a anterior (que ainda pode sofrer fotólise). A Figura 9 ilustra o comportamento da Quenurenina no comprimento de onda de maior emissão ~ 435 nm em função do tempo de exposição à radiação. A região III também mostrou um aumento na cinética de formação comprovando as hipóteses anteriores.





A Figura 10 ilustra uma curva típica obtida por meio da técnica de Differential Scanning Calorimetry (DSC), onde demonstra-se com mais detalhes a região entre 100 e 200°C, onde ocorre a desnaturação da α queratina. Deve-se salientar que nesse caso não se observa a curva característica da evaporação da água, pois as fibras estão imersas em água, durante todo o ensaio. O cadinho em questão também fica sob pressão de vapor de água pois essa não consegue sair devido ao fato do cadinho estar lacrado. Essa pressão exercida pelo vapor de água faz com que a desnaturação da α queratina ocorra em temperaturas mais baixas do que as geralmente observadas com cadinho aberto ($\sim 220^\circ\text{C}$).



O pico, ou banda negativa, observado na curva de DSC é oriundo da absorção de calor, correspondem ao processo endotérmico de desnaturação da queratina e possíveis outros componentes entre 135°C e 175°. O processo ocorre de forma contínua e há a formação de uma banda de absorção de calor. A largura e profundidade dessa banda são dependentes das forças de atração e repulsão no material na temperatura em questão e da taxa de aquecimento.

O pico de DSC é caracterizado pela temperatura a qual representa a desnaturação do material helicoidal presente nos filamentos intermediários (T_D - temperatura de desnaturação). A área de pico com a respectiva linha de base representa a entalpia de desnaturação (ΔH_D -entalpia de desnaturação), ou seja, a energia necessária pra a desnaturação da queratina. Os valores de entalpia dependem da quantidade e da integridade estrutural dos materiais alfa-helicoidais presentes nos filamentos intermediários das fibras capilares humanas. Há uma boa evidencia sugerida que a temperatura de desnaturação é cineticamente controlada pela densidade de ligações cruzadas da matriz amorfa (28,29).

A Figura 11 demonstra as curvas de DSC de 100 a 200°C para fibras capilares caucasianas expostas à radiação solar por 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas e controle.

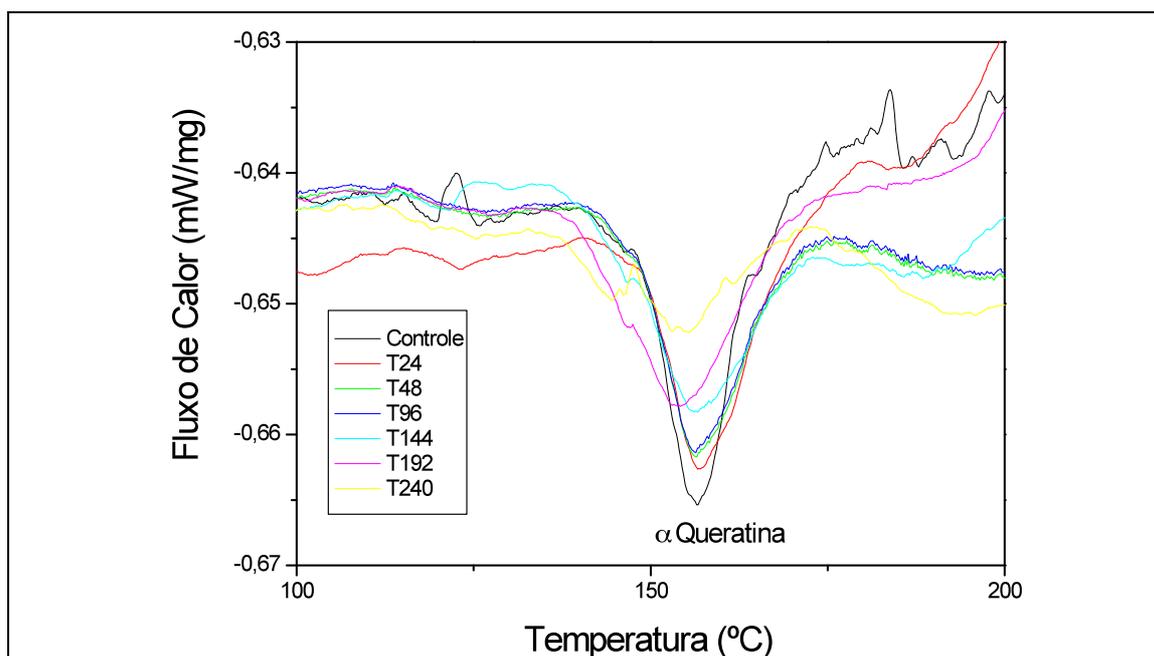


Figura 11. Curvas de DSC de fibras capilares caucasianas expostas à radiação solar por 24, 48, 96, 144, 192 e 240 horas e controle.

A Tabela 2 apresenta os valores referentes ao pico de desnaturação da α queratina (T_D) em °C e ao calor absorvido para a desnaturação (ΔH_D) em J/g, como a integral da área entre 135 a 175°C. Os valores de desvio da temperatura e entalpia de desnaturação encontram-se geralmente em torno de 1°C e 1J/g respectivamente, mostrando assim que o método possui uma boa precisão.

Tabela 2. Valores referentes ao pico de desnaturação da α queratina (T_D) e ao calor absorvido para a desnaturação (ΔH_D), como a integral da área entre 135 a 175°C.

Tempo de exposição (h)	Temperatura de desnaturação (T_D) (°C)	Entalpia (ΔH_D) (J/g)
Controle	156,49	33,424
24	156,85	30,182
48	156,14	27,586
96	156,10	25,496
144	156,17	22,798
192	153,62	21,423
240	152,25	13,856

A análise da Tabela 2 demonstra que os valores de T_D são muito próximos até 144 horas de exposição à radiação solar, indicando que até esse tempo a quantidade de ligações cruzadas da matriz

amorfa da fibra se mantém constante. A partir de 144 horas de exposição essa temperatura se modifica mostrando que em tempos maiores de exposição há uma degradação contínua dessas ligações.

Os valores de ΔH_D , dependem da quantidade e da integridade estrutural dos materiais alfa-helicoidais presentes nos filamentos intermediários das fibras capilares, e diminuem desde o tempo de 24 horas de exposição à radiação, demonstrando que a matriz cristalina da fibra começa se degradar antes da matriz amorfa. A Figura 12 ilustra essa energia de desnaturação em função do tempo de exposição. Nessa curva, observa-se uma degradação aproximadamente linear até 192 horas de exposição e uma mudança significativa na inclinação da curva a partir desse tempo, demonstrando um possível novo mecanismo de degradação muito maior sofrido pela matriz cristalina da fibra.

Uma comparação atenciosa dos dados obtidos pelas técnicas de espectroscopia de excitação e emissão de radiação e de DSC, para o estudo da fotodegradação das fibras, demonstra que as informações obtidas são complementares.

Existem hipóteses na literatura (7) que o aminoácido Trp tem como principal função proteger as fibras capilares contra a fotodegradação. Os resultados desse trabalho indicam que ele pode de fato ter essa função, no entanto, essa proteção não impede que a degradação ocorra principalmente na matriz cristalina da fibra. Os resultados também indicam que a degradação da α queratina segue dois mecanismos de fotodegradação sendo que o último é muito mais acelerado. Já o Trp segue três mecanismos sendo os dois primeiros mais intensos e o último mais lento.

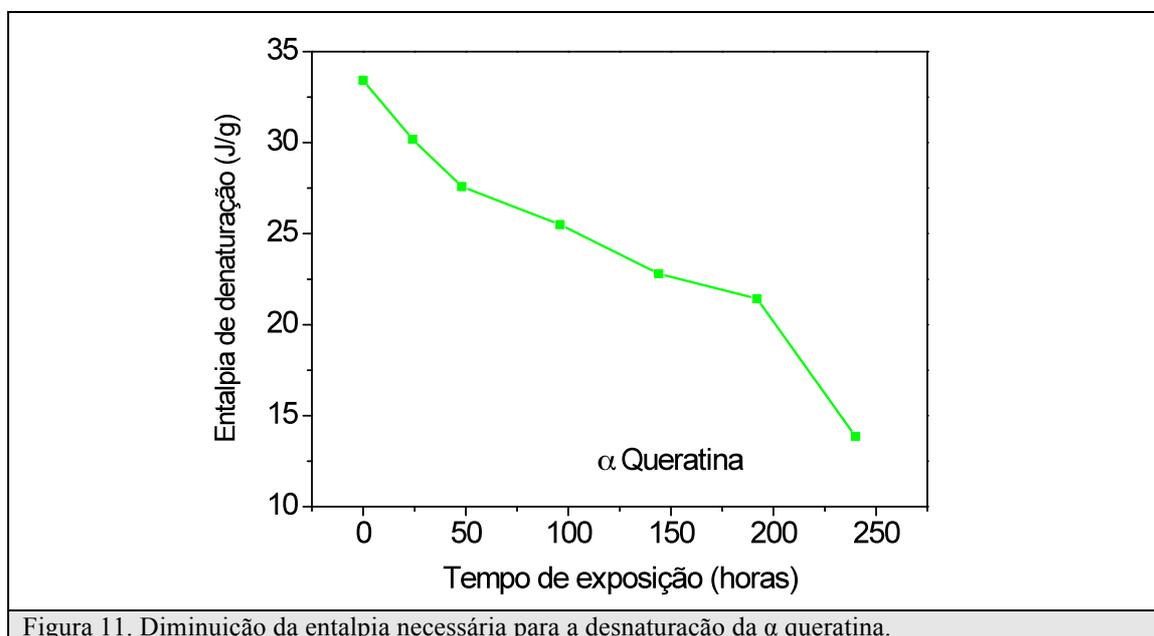


Figura 11. Diminuição da entalpia necessária para a desnaturação da α queratina.

O aminoácido Trp está quase todo degradado com tempo de exposição de 192 horas enquanto que a α queratina sofreu uma degradação de aproximadamente 36%. Assim, o aminoácido Trp provavelmente age na fibra de maneira a se “sacrificar” para proteger as outras estruturas da fibra. Outro fato a ser observado é que a proporção de α queratina na fibra é muito maior que a de Trp e assim uma degradação de 36% dessa estrutura têm conseqüências extremamente deletérias pra o conjunto todo da estrutura capilar. Desse modo, o aminoácido Trp é uma boa referência para avaliação do nível de degradação da fibra capilar, pois uma degradação quase total dele na fibra indica uma degradação proporcionalmente alta nas principais estruturas da fibra, a α queratina e a matriz amorfa. Assim, em geral ele pode ser utilizado como um marcador intrínseco da fotodegradação da fibra.

Numa comparação geral entre as duas técnicas a Espectroscopia mostrou-se mais precisa que as medias de DSC.

Uma aplicação direta desse estudo é a prevenção ou ao menos a redução dos danos causados e pela radiação solar com produtos cosméticos de fotoproteção. Assim, abre-se um novo caminho para o estudo de fotoprotetores cosméticos para fibras capilares, com uma metodologia sensível e confiável de avaliação. O entendimento das várias etapas de degradação bem como as variáveis desse processo permite a formulação de produtos cosméticos que vão atuar de forma direta e precisa nos componentes da fibra capilar. Assim, a ciência cosmética torna-se uma arte de conceber produtos cada vez mais inteligentes e direcionados para as necessidades das consumidoras.

7. Conclusões

A cinética de degradação do Trp, determinada pelas medidas de fluorescência, é complexa, e pode ser afetada por diversos fatores. Entretanto, é uma técnica em nível molecular que pode ser um instrumento valioso para a caracterização das fibras capilares após exposição à grandes concentrações de fótons. Desse modo, essa técnica experimental é suficientemente precisa para fins comparativos ou qualitativos.

Existem três principais regiões de cinética de degradação do Trp, sendo que a primeira é mais lenta e sucessivamente ela diminui.

A degradação do Trp produz radicais livres e dois resíduos. A evolução da cinética de formação desses resíduos mostrou que eles aumentam em função do tempo de exposição à radiação. A intensidade de emissão do último resíduo formado, a Quinurenina, é muito maior que do antecedente a N-Formil Quinurenina. Isso demonstra que a Quinurenina é uma molécula mais estável que a N-Formil Quinurenina que ainda pode sofrer fotólise.

A α queratina sofre degradação contínua com o tempo de exposição e em duas etapas. A primeira menos intensa e a segunda mais intensa. As ligações cruzadas da matriz amorfa sofrem degradação a partir de 192 horas de exposição.

O aminoácido Trp está quase todo degradado com tempo de exposição de 192 horas enquanto que a α queratina sofreu uma degradação de aproximadamente 36%. Assim, o aminoácido Trp provavelmente age na fibra de maneira a se “sacrificar” para proteger as outras estruturas da fibra. Outro fato a ser observado é que a proporção de α queratina na fibra é muito maior que a de Trp e assim uma degradação de 36% dessa estrutura têm conseqüências extremamente deletérias para o conjunto todo da estrutura capilar. Desse modo, o aminoácido Trp é uma boa referência para avaliação do nível de degradação da fibra capilar, pois uma degradação quase total dele na fibra indica uma degradação proporcionalmente alta nas principais estruturas da fibra, a α queratina e a matriz amorfa.

Numa comparação geral entre as duas técnicas a espectroscopia mostrou-se mais precisa que as medias de DCS.

Uma aplicação direta desse estudo é a prevenção ou ao menos a redução dos danos causados e pela radiação solar com produtos cosméticos de fotoproteção. Assim, abre-se um novo caminho para o estudo de fotoprotetores cosméticos para fibras capilares, com uma metodologia sensível e confiável de avaliação. O entendimento das várias etapas de degradação bem como as variáveis desse processo permite a formulação de produtos cosméticos que vão atuar de forma direta e precisa nos componentes da fibra capilar. Assim, a ciência cosmética torna-se uma arte de conceber produtos cada vez mais inteligentes e direcionados para as necessidades das consumidoras.

8. Referências Bibliográficas

- (1) JACHOWICZ, J. Hair damage and attempts to its repair. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, p. 286, 1984.
- (2) ROBINS, C. *Chemical and Physical Behaviour of Human Hair*. Springer-Verlag, New York, 1988.
- (3) ZVIAK C. e DAWBER, P. R., *Hair Structure and Function*, in *The Science of Hair Care*, Zviak, Ed. Marcel Dekker, New York, p. 1-44, 1989.
- (4) NOGUEIRA, A. C. S. e JOEKES, I., Hair color changes and protein damage cauded by ultraviolet radiation. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, v. 74, p. 109-117, 2004.
- (5) MILINGTON, K. R. e CHURCH, J. S. The photodegradation of wool keratin II. Proposed mechanisms involving cystine. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, v. 39, p.204-212, 1997.
- (6) RATNAPANDIAN, S.; WARNER, S. B. e KAMATH, Y. K., Photodegradation of human hair. *J. Cosmet. Sci.*, v. 49, p. 309-320, 1998.
- (7) PANDE, C. M. e JACHOWICZ, J., Hair photodamage – Measurement and prevention. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, v. 44, p. 109-122, 1993.
- (8) MONTEIRO, V. F.; PINHEIRO, A. S.; LEITE, E. R. ; Agnelli, J. A.; PEREIRA DA SILVA, M. A. ; LONGO, E., UV radiation: Agressive agent to the hair – AFM, a new methodology of evaluation.. *J. Cosmet. Sci.*, v. 54, p. 271-281, 2003.
- (9) RELE, A. S.; MOHILE, R. B., Effect of mineral oil, sunflower oil, and coconut oil on prevention of hair damage. *J. Cosmet. Sci.*, v. 54, p. 175-192, 2003.
- (10) BEYAK, B.; KASS, G. S.; MEYER, C. F.; Elasticity and tensile properties of human hair. II Light radiation effects. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, v. 22, p. 667-678, 1971.
- (11) WOLFRAM, L.; The reactivity of human hair, A review. *Hair Research*, Orfanos et al., Eds. Springer-Verlag, New York, p. 479-500, 1981.
- (12) TOLGYESI, E., Weathering of hair. *Cosmet. Toiletr.*, v. 98, p. 29-33, 1983.

- (13) SKOOG, D. A.; LEARY, J. J., Principles of instrumental analysis, 4. ed. Orlando, Sanders Colleg Publishing, 1992.
- (14) GUZOW, K.; GANZKOWICZ, R.; RZESKA, A.; MROZEK, J.; SZABELSKI, M.; KAROLCZAK, J.; LIWO, A.; WICZK, W., Photophysical properties of tyrosine and its sample derivatives studied by time-resolved fluorescence spectroscopy, global analysis and theoretical calculations. *J. Phys. Chem. B*, v. 108, p. 3879-3889, 2004.
- (15) SOMER, K. R. F.; CEULEMANS, A., Absorption and fluorescence of 3-methylindole: A theoretical study, including H₂O interactions. *J. Phys. Chem. A*, v. 108, p. 7577-7583, 2004.
- (16) GAUDUCHON, P.; WHAL, P., *Biophys. Chem.*, v. 8, p. 87-104, 1978.
- (17) COWGILL, R. W., *Biochim. Biophys. Acta*, v. 133, p. 6-18, 1967.
- (18) COWGILL, R. W., *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 100, p. 36-44, 1963.
- (19) TOURNON, J. E.; KUNTZ, E.; BAYOUMI, M. A., *Photochem. Photobiol.*, v. 16, p. 425-433, 1972.
- (20) FEITELSON, J., *J. Phys. Chem.*, v. 68, p. 391-397, 1964.
- (21) BORKMAN, R. F., Ultraviolet action spectrum for tryptophan destruction in aqueous solution. *Photochem. Photobiol.*, v. 26, p. 163-166, 1977.
- (22) TALLMADGE, D. H.; BORKMAN, R. F., The rate of photolysis of four individual tryptophan residues in UV exposed calf γ -II crystalline. *Photochem. Photobiol.* v. 51, p. 363-368, 1984.
- (23) CAO, J. Melting study of the α -form crystallites in human hair keratin by DSC. *Thermodynamic Acta*, p. 335, 1999.
- (24) WORTMANN, F. J.; SPRINGOB, C.; SENDELBACH, G. Investigations of cosmetically treated human hair by differential scanning calorimetry in water. *IFFCC* 12, 2000.
- (25) Belletti, K.M.S., Feferman, I. H., Mendes, T.R.O., Piacesci, A.D., Monteiro, V.F., Carreno, N.L.V., Valentini, A., Leite, E.R., Longo, E. Evaluation of hair fiber hydration by differential scanning calorimetry, gas chromatography, and sensory analysis. *Journal of Cosmetic Science*, v. 54 (6), p. 527-535, 2003.
- (26) Ehen, Z., Novak, C., Sztatisz, J. Bene, O. Thermal characterization of hair using TG-MS combined thermoanalytical technique. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, v. 78 (2), p. 427-440, 2004.
- (27) LAKOWICZ, J., Principle of fluorescence spectroscopy. Plenum Press, New York, 1983.
- (28) WORTMANN, F. J.; DEUTZ, H., Characterizing keratins using high-pressure differential scanning calorimetry (HPDSC), *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 48, p. 137-150, 1993
- (29) WORTMANN, F. J.; DEUTZ, H., Thermal analysis of ortho- and para-cortical cells isolated from wool fibres, *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 68, p. 1991-1995, 1998.