

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

BRUNO DE CASTRO ROVERCI

MONOGRAFIA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIVIC)

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BROMELINA APÓS APLICAÇÃO DE
PROLISS® 100 EM AMOSTRAS DE CABELO**

BAURU

2022

BRUNO DE CASTRO ROVERCI

MONOGRAFIA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIVIC)

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BROMELINA APÓS APLICAÇÃO DE
PROLISS® 100 EM AMOSTRAS DE CABELO**

Monografia de Iniciação Científica
apresentado à Pró-Reitoria de Pós-Graduação
e Pesquisa do Centro Universitário Sagrado
Coração.

Orientador:
Prof. Dr. Marcelo Telascrêa.

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

R873c	Roverci, Bruno de Castro
	Caracterização físico-química da bromelina após aplicação de proliss® 100 em amostras de cabelo / Bruno de Castro Roverci. -- 2022. 74f. : il.
	Orientador: Prof. Dr. Marcelo Telascrêa
	Monografia (Iniciação Científica em Engenharia Química) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP
	1. Cabelo. 2. Alisamento. 3. Proliss 100. 4. Enzima. I.

Elaborado por Lidyane Silva Lima - CRB-8/9602

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer esta monografia a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, principalmente a minha família, meu pai Antonio Roversi e minha mãe Irene, pelo suporte necessário e pela compreensão que me deram durante todo o processo na pesquisa e na elaboração dos relatórios.

Gostaria de agradecer também meu orientador, Prof. Marcelo Telascrêa, pela oportunidade de conhecer esta área de pesquisa e pela confiança que me concedeu, por estar sempre disposto a tirar minhas dúvidas e me orientar para realizar a pesquisa. Agradeço também a coordenadora do laboratório da UNISAGRADO, a Geovana Rodrigues de Castilho, pelo todo suporte técnico necessário oferecido no laboratório.

Gostaria de agradecer também a minha namorada e meus amigos, que sempre me apoiaram e demonstraram amor e amizade no período de tempo da elaboração deste trabalho.

RESUMO

As fibras capilares se encontram na superfície de corporal de todos os animais, revestindo tecidos externos. Os cabelos, que se encontram no couro cabelo dos humanos, têm sua morfologia e histologia bem definida, presente a medula, o córtex, a cutícula e o complexo de membrana celular, com diferenciações em alguns aspectos genéticos do indivíduo. Para os seres humanos nos aspectos sociais, sua aparência é fundamental, e com isso surgiram diversos tratamentos químicos, físicos e cuidados especiais para as fibras capilares. Sendo possível modificar o estado do cabelo, diversas tecnologias atuais são aplicadas para tratamentos capilares, e nesse projeto de iniciação científica tem como foco o alisamento dos fios de cabelo por meio da quebra das ligações presentes em sua estrutura, com destaque a ligação de dissulfeto (S-S), e sua reposição após utilização do produto, com estudos do Proliss® 100 do tratamento capilar para a elaboração da pesquisa, sendo o principal ativo no produto da linha *Dr. Therapy Enzyme Treatment*, que modela os cabelos, reduzindo o volume e *frizz*, conferindo brilho e alisamento. Para melhores resultados ou aperfeiçoamento do produto comercial, será investigado a adição de quantidades crescentes de bromelina ao produto, sendo a bromelina um conjunto de enzimas proteolíticas presentes em plantas da família *Bromeliaceae*, com o abacaxi em destaque nessa família para extração. Com a atividade proteolítica da enzima, surge o caráter investigativo para o estudo da atividade da bromelina juntamente com o produto capilar, com a proposta pela parceria do Centro Universitário Sagrado Coração (UNISAGRADO) com a empresa de cosméticos Fogazza Comércio Profissional Exportação e Importação EIRELI ME (FGZ *Cosmetics*).

Palavras-chave: Cabelo; Alisamento; Proliss® 100; Enzima.

ABSTRACT

Capillary fibers are found on the body surface of all animals, lining external tissues. The hair, which is found in the scalp of humans, has its morphology and histology well defined, with the medulla, cortex, cuticle and cell membrane complex present, with differences in some genetic aspects of the individual. For humans in the social aspects, their appearance is fundamental, and with that came several chemical and physical treatments and special care for hair fibers. Since it is possible to modify the state of the hair, several current technologies are applied to hair treatments, and this scientific initiation project focuses on the straightening of hair strands by breaking the bonds present in their structure, with emphasis on the disulfide bond (S-S), and its replacement after using the product, with studies of the Proliss 100 of hair treatment for the elaboration of the research, being the main active in the product of the Dr. Therapy Enzyme Treatment, which models the hair, reducing volume and frizz, providing shine and smoothing. For better results or improvement of the commercial product, the addition of increasing amounts of bromelain to the product will be investigated, with bromelain being a set of proteolytic enzymes present in plants of the Bromeliaceae family, with pineapple highlighted in this family for extraction. With the proteolytic activity of the enzyme, the investigative character arises for the study of the activity of bromelain together with the hair product, with the proposal by the partnership of the Centro Universitário Sagrado Coração (UNISAGRADO) with the cosmetics company Fogazza Comércio Profissional Exportação e Importação EIRELI ME (FGZ Cosmetics).

Keywords: Hair, Straightening, Proliss® 100, Enzyme.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração do folículo piloso.....	11
Figura 2 - Ilustração da estrutura da fibra capilar e de suas subestruturas.	13
Figura 3 – Alisamento químico no cabelo ilustrado passo a passo.....	15
Figura 4 – Fórmula estrutural da bromelina.	17
Figura 5 – Água no Becker da esquerda e diferentes concentrações de bromelina nos outros.....	22
Figura 6 – Espectrofotômetro da região Visível marca BEL modelo 1105.....	24
Figura 7 – Espectrofotômetro na região do UV/Vis marca FEMTO modelo 800 XI.....	24
Figura 8 – Amostras de cabelo para a microscopia confocal de varredura a laser.	26
Figura 9 - Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo JSM-7500F, marca JEOL.	27
Figura 10 – Espectrofotômetro no Infravermelho com transformada de Fourier com Raman acoplado.	29
Figura 11 – Cabelo antes e após aplicação do produto <i>Dr. Therapy</i>	31
Figura 12 – Valores medidos de pH para água e diferentes concentrações de bromelina em meio aquoso.	31
Figura 13 – Valores medidos de pH das soluções com diferentes concentrações de bromelina.	32
Figura 14 – Medições do pH em a) água desmineralizada, b) 0,05% de bromelina em água, c) 0,25% de bromelina em água e d) 1,00% de bromelina em água.	32
Figura 15 – Valores medidos de pH o <i>Dr. Therapy</i> comercial (DTC) em água e diferentes concentrações de bromelina e água com adição do <i>Dr. Therapy</i> sem bromelina (DTS).....	33
Figura 16 – Valores medidos de pH das soluções do <i>Dr. Therapy</i> sem bromelina (DTS) em diferentes concentrações de bromelina em água e do DTC em água.	33
Figura 17 – Medições do pH em a) água desmineralizada com o <i>Dr. Therapy</i> comercial (DTC), b) água desm. com o <i>Dr. Therapy</i> sem bromelina (DTS), c) 0,10% de bromelina em água com DTS e d) 1,00% de bromelina em água com DTS.....	34
Figura 18 – Gráfico obtido pelo UV-Vis da Bromelina em água em diferentes concentrações crescentes.	35
Figura 19 – Gráfico da curva de calibração no UV-Vis da Bromelina em água.	36

Figura 20 – Cálculo da concentração de bromelina de soluções contendo a enzima.	36
Figura 21 – Cálculo da concentração de bromelina de soluções contendo a enzima após um tempo.....	37
Figura 22 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 1,0 g/L.	37
Figura 23 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 0,5 g/L.	38
Figura 24 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 0,25 g/L.	38
Figura 25 – Gráfico do espectro UV da água de lavagem da bromelina.	39
Figura 26 – Imagens obtidas por RCM do cabelo puro.	40
Figura 27 – Imagens obtidas por RCM do cabelo tratado com o creme sem bromelina.	40
Figura 28 – Imagens obtidas por RCM do cabelo tratado com o creme comercial.	41
Figura 29 – Imagens obtidas por MEV do cabelo puro, com ampliação em a) de 400 vezes, em b) de 1500, em c) 2500 e em d) 5000.	42
Figura 30 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,05% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	43
Figura 31 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme comercial com 0,10% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	43
Figura 32 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,25% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	44
Figura 33 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,50% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	44
Figura 34 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 1,00% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	45
Figura 35 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme sem bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.	45
Figura 36 – Gráfico gerado por FTIR das mechas tratadas e do cabelo puro.....	46
Figura 37 – Gráfico gerado por FTIR da mecha de cabelo puro.	47
Figura 38 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,05% de bromelina.....	47
Figura 39 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,10% de bromelina (comercial).	48
Figura 40 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,25% de bromelina.....	48
Figura 41 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,50% de bromelina.....	49

Figura 42 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 1,00% de bromelina.....	49
Figura 43 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com creme sem bromelina.....	50
Figura 44 – Gráfico do espectro gerado por Raman das mechas tratadas.	50
Figura 45 – Gráfico do espectro gerado por Raman das mechas tratadas normalizado.	51
Figura 46 – Gráfico do espectro Raman do cabelo puro por número de onda.	52
Figura 47 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,05% de bromelina por número de onda.....	52
Figura 48 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,10% de bromelina por número de onda.....	53
Figura 49 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,25% de bromelina por número de onda.....	53
Figura 50 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,50% de bromelina por número de onda.....	54
Figura 51 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 1,00% de bromelina por número de onda.....	54
Figura 52 – Gráfico do espectro Raman do cabelo sem bromelina por número de onda.	55
Figura 53 – Número de onda atribuídos as das bandas no espectro do cabelo para Raman....	55
Figura 54 – Número de onda correspondente aos complexos no cabelo para Raman.....	56
Figura 55 – Espectros empilhados gerado pela espectroscopia Raman.....	56
Figura 56 – Mechas de cabelos tratadas com a escova progressiva, na esquerda com o <i>Dr. Therapy</i> sem a bromelina, e na direita com o <i>Dr. Therapy</i> comercial (com bromelina).....	57
Figura 57 – Valores de pH medidos das soluções com diferentes concentrações de bromelina, sem o creme capilar e com o creme capilar.	58
Figura 58 – Comparativo das imagens MEV obtidas para o cabelo puro, tratadas com creme 0,05%, o,10% (comercial) e 0,25% de bromelina.	63
Figura 59 – Ampliação do espectro na faixa de 570 cm^{-1} a 500 cm^{-1}	66
Figura 60 – Ampliação do espectro na faixa de 1100 cm^{-1} a 1040 cm^{-1}	67
Figura 61 – Ampliação do espectro na faixa de 750 cm^{-1} a 620 cm^{-1}	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 FIBRA CAPILAR.....	11
1.2 PROLISS 100 LINHA DR. THERAPY	14
1.3 BROMELINA.....	16
1.4 OBJETIVOS.....	18
1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2 MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS	19
2.2 REAGENTES.....	19
2.3 TRATAMENTO CAPILAR	20
2.3.1 TREINAMENTO	20
2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO	21
2.4 APLICAÇÃO DO PRODUTO CAPILAR COM E SEM BROMELINA.....	22
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISE	22
2.5.1 INFLUÊNCIA DA BROMELINA E DO PROLISS NO PH.....	22
2.5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL.....	23
2.5.3 MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA A LASER.....	25
2.5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	26
2.5.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	28
2.5.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO RAMAN	29
3 RESULTADOS	30
3.1 APLICAÇÕES DO <i>TREATMENT DR. THERAPY</i>	30
3.2 PH DAS SOLUÇÕES COM BROMELINA E <i>DR. THERAPY</i>	31
3.3 ESPECTROSCOPIA DA REGIÃO UV/VIS.....	34
3.4 MICROSCOPIA CONFOCAL A LASER.....	40

3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	41
3.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER.....	46
4 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	58
4.1 APLICAÇÕES DO <i>TREATMENT DR. THERAPY</i>	58
4.2 PH DAS SOLUÇÕES COM BROMELINA E DR. THERAPY.....	59
4.3 ESPECTROSCOPIA DA REGIÃO UV/VIS	60
4.4 MICROSCOPIA CONFOCAL A LASER	61
4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	62
4.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER.....	64
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	69
REFERÊNCIAS.....	71

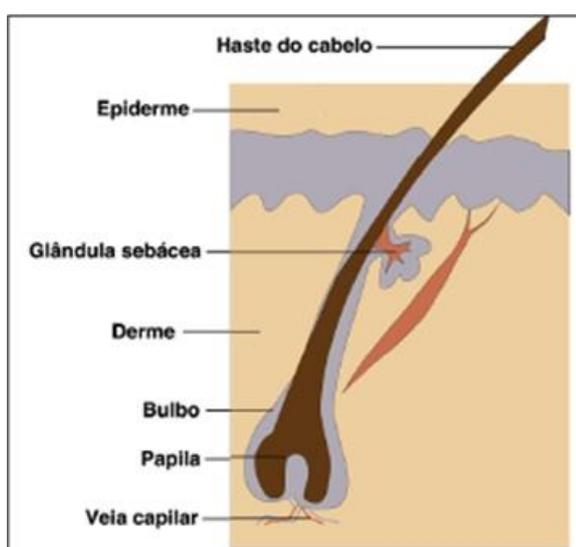
1 INTRODUÇÃO

1.1 FIBRA CAPILAR

As fibras capilares, ou fios de cabelos, estão presente na superfície corporal revestindo a maior parte dos animais cobrindo os tecidos externos. Nos humanos possui uma forte relação com a estética, considerado um adorno, e com a função principal de proteger contra abrasão mecânica, da radiação UV, dos raios solares e atuando como isolante térmico e como receptor sensorial, por meio dos folículos capilares, da melanina e do couro cabelo. Também, a fibra capilar é composta em sua maior parte por proteínas, principalmente a queratina que é insolúvel, e por partes não proteicas e solúveis em água como pentoses, glicogênio, valina, leucina, entre outros compostos. [1-2]

A fibra capilar é constituída por um sistema multicelular complexo, com diferenciação na forma e composição de suas células, em que se origina no folículo capilar, que estão em toda parte do corpo, com exceção na pele glabra (presente na palma da mão e na sola dos pés), formado pelo bulbo capilar, na derme com células epidérmicas, e pela haste, externa a derme, como mostra a Figura 1. No folículo capilar encontra-se também vasos sanguíneos e linfáticos, e as glândulas sebáceas que condicionam naturalmente o fio. [2, 3]

Figura 1 - Ilustração do folículo piloso.



Fonte [4] - Adaptado.

O fio de cabelo é uma extensão da pele, considerado como sendo células mortas, queratinizadas, com apenas no bulbo presentes células vivas, responsável pelo crescimento do fio capilar e pela síntetização da queratina e da melanina. O cabelo é um fio capilar mais espesso e longo, diferente de outros pelos do corpo. Formado fundamentalmente por proteínas, com maior parte pela proteína insolúvel, a queratina, um polímero constituído por cadeias polipeptídicas com alto teor de enxofre com as ligações dissulfeto (S-S), oriundas do aminoácido cistina, e também estão presentes as ligações de hidrogênio, as ligações iônicas e a força de van der Waals na estrutura da fibra capilar. A cistina é um aminoácido natural, formado pela dimerização da cisteína em condições oxidantes, que contém uma ligação entre dois átomos de enxofre. Este produto de oxidação é encontrado em abundância em diversas proteínas, como a queratina capilar. A queratina é sintetizada no interior do bulbo e se derivam em estruturas de α -queratina (ou α -hélice), em formato helicoidal, e em de β -queratina (folhas β), com cadeias estendidas em um arranjo de folhas paralelas. [1-3]

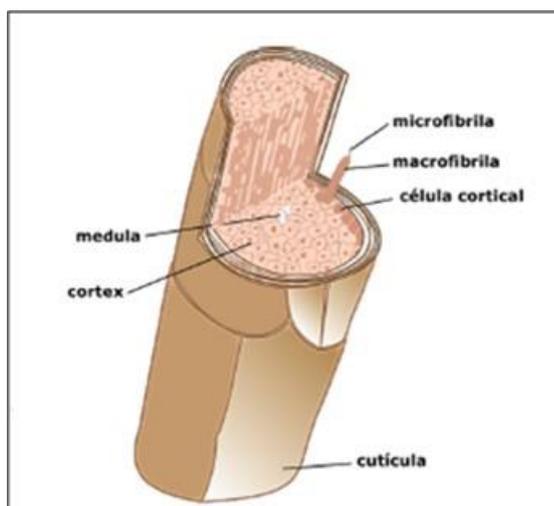
As queratinas, mais especificamente as α -queratinas, são as proteínas com maior abundância no fio de cabelo, com o aminoácido cistina com maior quantidade nas ligações peptídicas da queratina, se dispondo na forma de espiral, com as cadeias peptídicas entrelaçadas formando as micro fibrilas. A queratina possui alto teor de enxofre, devido às ligações dissulfeto presentes nas cistinas. A cistina é formada pela ligação entre os átomos de enxofre presentes em duas cisteínas, as quais possuem um grupo tiol (-SH) em suas cadeias e oxidam-se para formar a cistina. As ligações dissulfeto (ou ligações covalentes de cistina) são extremamente fortes e garantem a forma, estabilidade, resistência e textura do cabelo, elas são mais fracas que as peptídicas, porém mais fortes que as demais presentes no fio, e só podem ser alteradas quimicamente. As ligações eletrostáticas entre grupos de aminoácidos negativos com positivos podem ser enfraquecidas pela água e rompidas por ácidos ou por álcalis fracos, e são afetadas por mudança de pH. Já as ligações de hidrogênio são as mais fracas e podem ser rompidas facilmente ao molhar o cabelo, porém retornam quando o mesmo seca. [2-4]

Histologicamente, a fibra capilar é dividida em quatro componentes distintos, sendo a cutícula, a medula e o córtex estruturas principais e o complexo da membrana celular (CMC) uma estrutura secundária. A cutícula é a parte exterior do fio, constituída de várias células semelhantes sobrepostas com a função de proteger a fibra, agindo como barreira e com característica hidrofóbica, e também é responsável pelo transporte de água e substâncias para o interior da fibra. As camadas da cutícula podem ser divididas em epicutícula (camada A),

exocutícula (camada B) e endocutícula. A epicutícula, ou camada A, é rica em cistina, é uma camada bioquimicamente estável e resistente a forças químicas e físicas. A exocutícula, ou camada B, é a camada interior da fibra com uma porcentagem menor de cistina comparada a camada A, porém reticulada com ligações dissulfeto essencialmente por substâncias hidrofóbicas. E a endocutícula possui baixo teor de cistina e é a camada interior, rica em vitaminas e outras proteínas, sendo menos resistente aos ataques químicos. [2-5]

A medula, outra camada do fio, pode estar presente ou não na fibra capilar, ela é a camada mais interna e não interfere na estrutura, com elevado teor de lipídeos e pobre em cistina. O córtex representa a maior parte da estrutura capilar, localizado em volta da medula e é responsável pela coloração (através da melanina) e pela resistência à tração da fibra, devido ao elevado teor de queratina, formando as microfibrilas e as macrofibrilas alinhadas na direção do fio. A melanina presente no córtex, é produzida pelos melanócitos, e a combinação dos dois tipos de melanina, eumelanina e feomelanina, oferece uma variedade infinita de cores, do loiro mais claro até o negro mais escuro. O complexo de membrana celular, ou CMC, consiste em membranas celulares e material abrasivo que faz a junção da cutícula com o córtex, formado por proteínas, lipídeos, carboidratos e aminoácidos polares, e é uma camada não queratinizada com baixo teor de cistina. O CMC é responsável também pela umidade natural do cabelo, conferindo-o brilho e hidratação. [2-4] A Figura 2 apresenta esquematicamente a estrutura típica da fibra capilar.

Figura 2 - Ilustração da estrutura da fibra capilar e de suas subestruturas.



Fonte [4].

A forma, cor, tamanho e resposta a danos químicos e físicos do cabelo são influenciados por razões genéticas. Os diversos tipos de cabelo podem ser classificados em três grandes grupos, os caucasianos, os orientais e os afro-étnico. O cabelo caucasiano é o mais variado e com o menor diâmetro entre os três, podendo apresentar formas retas ou onduladas, variando a cor do castanho escuro ao loiro. O cabelo oriental possui o maior diâmetro da fibra e o mais resistente entre os outros, com os fios perpendiculares ao couro cabeludo, sendo liso ao longo do seu eixo, com a coloração do castanho escuro ao preto. E o cabelo afro-étnico é bastante ondulado, sendo mais seco e menos resistente, é o mais irregular entre os três, com a seção transversal da fibra mais oval, com a cor variando do castanho escuro ao preto também. Sob aspectos químicos, em relação aos aminoácidos e proteínas, entre os grupos são similares. [3, 4]

1.2 PROLISS 100 LINHA DR. THERAPY

Com a finalidade de modificar os cabelos, por questões estéticas e sociais, de forma mais rápida e/ou temporária, além da lavagem e escovação, surgiram conforme os tempos métodos e materiais inovadores. No início do século XX, técnicas para dar forma ao fio utilizando pente de metal aquecido e óleo já eram conhecidas, com o passar dos anos, pós metade do século XX, foram surgindo métodos químicos e introduzidos no salão. [2]

Após o início dos tratamentos químicos, alguns produtos utilizados traziam malefícios, como é o caso do hidróxido de sódio, que causa fortes danos à fibra capilar, e o formol, que foi proibido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no início do século XXI. Assim, foram surgindo novas tecnologias com um potencial maléfico muito menor e buscando uma nova forma de transformação capilar. [6]

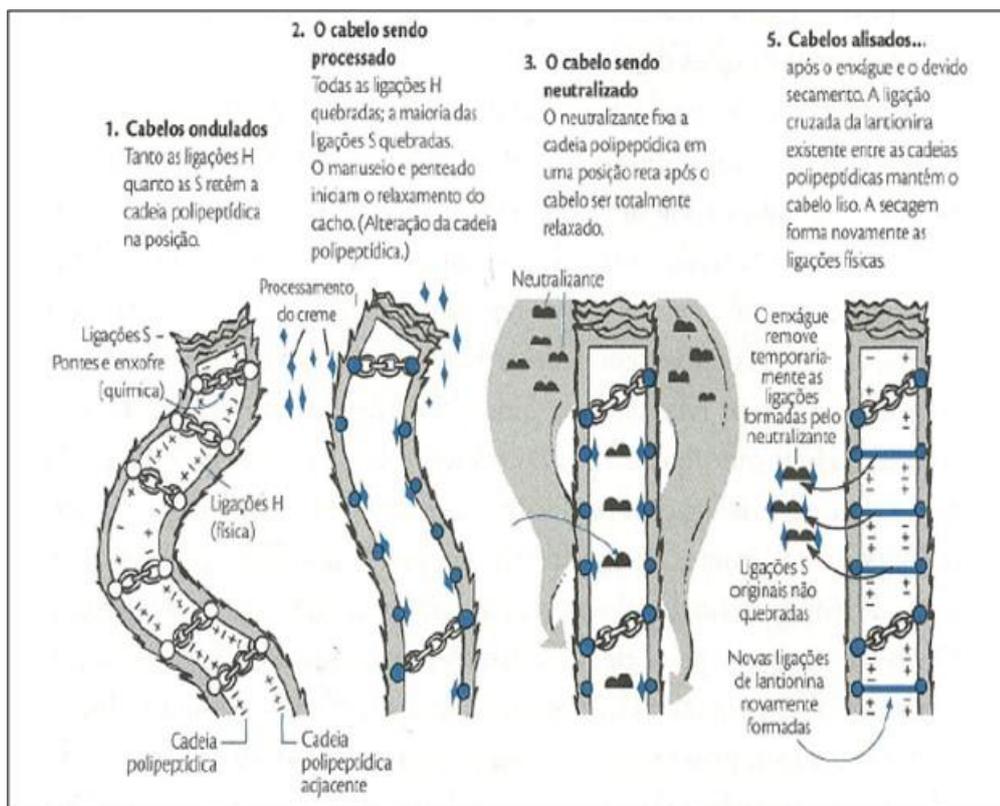
Assim, no início do século XXI, surge o tratamento utilizando o Proliss® 100, com a tecnologia de realinhamento capilar, com base de amidas ácidas derivadas dos aminoácidos de queratina, proporcionando uma redução no volume, brilho, maciez, combatendo o *frizz*, entre outros benefícios, alterando gradualmente e progressivamente a estrutura do fio de cabelo. [6]

O Proliss® 100 é o principal ativo do produto capilar comercial da linha *Dr. Therapy Enzyme Treatment* da *FGZ Cosmetics*. A ação do Proliss 100 ocorre enfraquecendo as ligações de hidrogênio e salinas entre as amins na região da cutícula, e também a interconversão das ligações da cistina da fibra capilar. Após a utilização de calor e de força mecânica, com

chapinha quente (piastra) e escova de cabelo, e com a lavagem dos fios, as ligações dissulfeto são reposicionadas, modelando o cabelo, deixando-o liso e com um menor *frizz*. As ligações dissulfeto são reduzidas e posteriormente oxidadas, assim conferindo um novo arranjo nas ligações, sendo chamadas de ligações cruzadas, possibilitando a nova forma do cabelo. [6]

A linha *Dr. Therapy Enzyme Treatment* consiste de uma escova progressiva enzimoterápica 100% livre de formol, e na sua fórmula o principal ativo é o Proliss® 100 em conjunto com a enzima proteolítica bromelina. O processo do tratamento capilar reduz o volume, tem ação anti-frizz, selagem, com o acabamento final com mais brilho e naturalidade dos cabelos, na Figura 3 abaixo, é ilustrado como o alisamento químico atua no cabelo passo a passo, e por apresentar a enzima bromelina (sendo considerado enzimoterápica) e não conter produtos tóxicos, traz soluções terapêuticas, em que não agride a saúde do usuário e nem o profissional que o aplica. [17]

Figura 3 – Alisamento químico no cabelo ilustrado passo a passo.



Fonte [5].

1.3 BROMELINA

A bromelina é o nome dado para um conjunto de enzimas proteolíticas presentes em plantas da família *Bromeliaceae*, em que o abacaxi (*Ananas comosus*) é a planta mais conhecida dessa família. As enzimas agem como catalisadores, acelerando as reações bioquímicas diminuindo a energia de ativação da mesma e classificadas de acordo com sua atuação. As enzimas proteolíticas, ou proteases, quebram as ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, decompondo-as. [7-9]

As enzimas proteolíticas podem ser obtidas de diversas formas, porém as principais bioquimicamente são de origem microbiana, animal e vegetal. Nas proteases de origem vegetal, destacam-se a papaína, a ficina e a bromelina. A papaína é um constituinte do látex do fruto verde do mamão, porém perde sua atividade facilmente, já a ficina, está presente no látex do figo imaturo, mas uma grande quantidade de matéria vegetal é necessária para obter uma pequena quantidade de ficina, tornando-a inviável. [7-9]

A bromelina pode ser extraída do caule, raízes, folhas e do fruto do abacaxi e do talo, porém o talo do abacaxi apresenta por volta de 60% menos quantidade da enzima proteolítica do que o fruto. Sua concentração é pequena no estágio inicial do fruto, mas cresce rapidamente e se mantém elevado até o amadurecimento do fruto, em que apresenta um pequeno decréscimo. A bromelina do fruto, também, apresenta atividade proteolítica maior do que a atividade da bromelina do talo, com a atividade sendo máxima em pH 8,0 e temperatura de 70 °C, e para a bromelina do talo, tem sua atividade máxima em pH 7,0 e temperatura de 60 °C. É essa atividade proteolítica que possibilita uma grande aplicação da bromelina em diversas áreas de conhecimento. [9, 10]

Para a determinação da atividade proteolítica do conjunto de enzimas, muitos métodos são conhecidos, porém o mais utilizado e encontrado na literatura, é o método da digestão da caseína, com a leitura de absorbância no espectrofotômetro, permitindo rapidez na determinação. [9,10]

A bromelina tem seu uso reconhecido a partir da segunda metade do século XX, e desde então seu uso está presente em diversas aplicações. Atua por ação proteolítica direta, hidrolisando ligações peptídicas, e também com atividade tiol-redutase, em que promove a quebra de ligações dissulfeto em cadeias peptídicas. Para que a bromelina seja utilizada em solução aquosa, deve ser adicionado na solução um soro que contenha alfa-2-macroglobulina

1.4 OBJETIVOS

O presente projeto teve como objetivo verificar a influência da enzima proteolítica bromelina nas reações dissulfídicas do resultado de aplicações de Proliss® 100 no cabelo, e também verificar se há mudanças no resultado da aplicação do produto capilar com a alteração da quantidade de bromelina no tratamento do cabelo, com a mistura de Proliss® 100 com a adição de diferentes quantidades de bromelina e sem a enzima

1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a mistura de Proliss 100 com a adição de diferentes quantidades de bromelina e verificar se houve ou não a autodigestão da enzima;
- Tratar amostras de cabelo com Proliss 100 com ausência e com a adição crescente de bromelina;
- Identificar as concentrações mínima e máxima de bromelina capazes de proporcionar a ação esperada do produto comercial;
- Verificar as ligações dissulfídicas do resultado do tratamento capilar nos métodos de análise utilizados;
- Comparar e caracterizar os resultados do tratamento normal e do tratamento com a bromelina.

1.6 JUSTIFICATIVA

O presente estudo teve como justificativa verificar a influência da utilização de uma enzima oriunda do abacaxi no tratamento de escova progressiva no cabelo. Para comparar e verificar o efeito da ação da enzimoterapia em fios de cabelo do produto de alisamento, fornecido pela empresa financiadora do projeto, a FGZ *cosmetics*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS

Ao longo do trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Balança Analítica de precisão 10^{-4} g;
- pHmetro de bancada marca Kasvi;
- Agitador magnético com aquecimento marca Fisatom;
- Lavadora ultrassônica para banho de ultrassom;
- Espectrofotômetro na região Visível marca BEL;
- Espectrofotômetro na região Ultravioleta-Visível marca Fantom;
- Microscópio Confocal de Refletância RCM, modelo Vivascope 1500, marca Lucid;
- Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo JSM-7500F, marca JEOL.
- Espectrofotômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier com Raman acoplado, marca BRUKER;
- Espátula de alumínio;

E as seguintes vidrarias:

- Becker de 250 mL;
- Balão Volumétrico de 100 mL, 200 mL, 250mL, 500 mL e 1000 mL;
- Bastão de vidro;
- Vidro-relógio;
- Proveta de vidro de 50 mL e 100 mL;
- Cubetas de vidro e de quartzo;

2.2 REAGENTES

Os reagentes utilizados para a realização da iniciação científica estão listados abaixo:

- *Shampoo Deep Cleaning Dr. Therapy*;
- *Treatment Dr. Therapy*;

- *Treatment Dr. Therapy* sem a enzima bromelina na composição;
- Enzima Bromelina, com 97% Bromelina e 7% Maltodextrina na composição;
- Proliss® 100;
- Maltodextrina;
- Água desmineralizada;

2.3 TRATAMENTO CAPILAR

2.3.1 TREINAMENTO

Após reuniões para apresentação dos objetivos aos coordenadores da empresa e aos coordenadores dos projetos, foi realizado um treinamento aplicado por um profissional da área de tratamento de cabelos humanos para demonstrar o processo de utilização e o processo do tratamento capilar da escova progressiva *Dr. Therapy* em mechas de cabelo, seguindo o procedimento proposto pela empresa descrito abaixo: [17]

Modo de uso e aplicação:

1. Lavar os cabelos com *Shampoo Deep Cleaning Dr. Therapy*, de duas a três vezes, até que o cabelo esteja limpo e livre de resíduos.
2. Secar cerca de 80% com secador quente, alinhando os fios.
3. Pesar cerca de 60 a 80 gramas de *Treatment Dr. Therapy* e, com o auxílio de um pincel, aplicar o produto na mecha, passando o pente fino para melhor distribuição do produto.
4. Deixe agir por 50 minutos e enxágue cerca de 70% do produto.
5. Secar totalmente os cabelos e escovar alinhando os fios.
6. Pranchar cuidadosamente os cabelos mecha a mecha, bem finas, de 7 a 10 vezes cada mecha com prancha a 200°C (392°F) afim de evitar danos ao cabelo.

2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO

As amostras de cabelo e o treinamento foram cedidos pela empresa *FGZ Cosmetics*, a demonstração do produto e o treinamento foram realizados em mechas da peruca de cabelo humano comercial no laboratório de química analítica da Unisagrado, com as etapas anotadas, gravadas e repetidas posteriormente. O tipo de cabelo cedido foi de genética afro-étnica, com os fios de cabelo mais ondulados.

De acordo com o fabricante do cosmético para tratamento capilar *Treatment Dr. Therapy* com o ativo Proliss® 100, o produto tem sua ativação nas ligações hidrogeniônicas, salina e cisteínicas do cabelo após a sua correta aplicação. Sua ativação consiste com a aplicação do produto Proliss® 100 no cabelo e em seguida o uso de prancha térmica (chapinha) com a taxa de temperatura de 200 a 230 °C e posteriormente o enxague com a água para eliminação do excesso do produto, permitindo a modelagem do cabelo com as devidas modificações químicas na estrutura do fio capilar. [6, 17]

Todos os tratamentos para as análises da pesquisa científica, foram conforme o treinamento passado e as orientações do fabricante, para algumas análises foram seguidos efeitos comparativos entre o cabelo puro, o creme sem a enzima e o creme comercial, e para outras análises com um comparativo maior da enzima, seguiu os mesmos procedimentos de tratamento, porém com a adição de bromelina no creme sem a enzima, em diferentes concentrações em quantidades de massa, com as mechas tratadas com os seguintes produtos:

- Creme sem bromelina (DTS, *Dr. Therapy* sem enzima);
- Creme comercial (com 0,10% de bromelina, DTC, *Dr. Therapy* com enzima);
- Creme DTS com adição de bromelina, nas concentrações relacionadas em massa, de:
 - 0,05%;
 - 0,25%;
 - 0,50%;
 - 1,00%;

2.4 APLICAÇÃO DO PRODUTO CAPILAR COM E SEM BROMELINA

Foram tratadas mechas de cabelos com o creme com bromelina e com o creme sem bromelina, com a aplicação do produto comercial e do produto fornecido pela empresa, para efeitos comparativos e preparação de amostras.

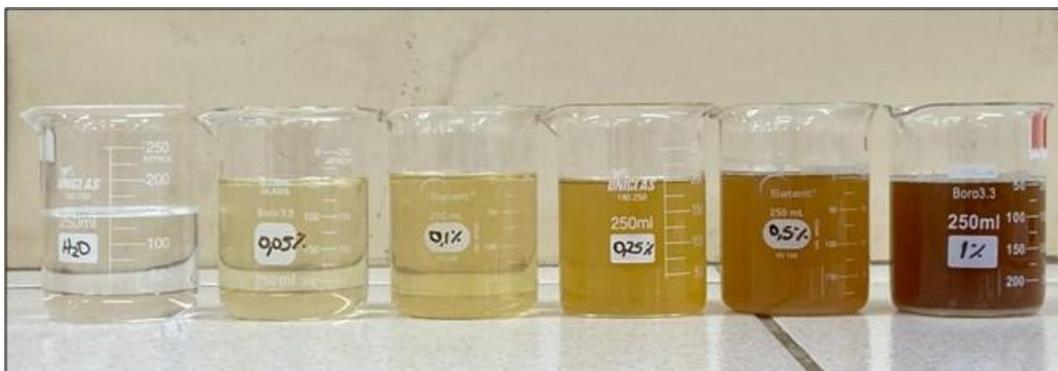
As mechas de cabelo para fins comparativo e para investigação da ação da enzima bromelina, serão tratadas com o Treatment Dr. Therapy sem a bromelina em sua composição, fornecido pela empresa, e com adições crescentes de bromelina no produto, com composições de 0,05%, 0,25%, 0,50% e 1,00%, e com o Treatment Dr. Therapy comercial, que possui 0,10% da enzima na sua composição, segundo o fabricante.

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISE

2.5.1 INFLUÊNCIA DA BROMELINA E DO PROLISS NO PH

Foram preparadas soluções de quantidades crescentes de bromelina em água desmineralizada, a fim de investigar o pH da enzima bromelina. As soluções eram na concentração de bromelina de 0,05%, 0,10%, 0,25%, 0,50% e 1,00% em 200 mL de água desmineralizada, o pH foi medido através do pHmetro e medido também para fins comparativo o pH da água desmineralizada utilizada no preparo das soluções:

Figura 5 – Água no Becker da esquerda e diferentes concentrações de bromelina nos outros.



2.5.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL

A espectroscopia na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) consiste na observação dos estímulos por meio da absorção da amostra, e a interação da mesma com a luz do espectro eletromagnético. Os elétrons da solução da amostra são estimulados por energia de diferentes formas e são promovidos a níveis de energia mais elevados por meio da absorbância da radiação eletromagnética incidente. As leituras são possíveis se existir grupos cromóforos na molécula a ser analisada, que são grupos de átomos que apresentam absorção características na região do ultravioleta-visível, que consiste nos intervalos de comprimento de onda (λ) ultravioleta ($200 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$) e visível ($400 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$). [15]

Com as análises da espectroscopia da absorção dos grupos cromóforos na amostra para cada comprimento de onda, através do gráfico do comprimento de onda (em nanômetros, nm) por absorbância, é possível verificar a maior absorbância da amostra analisada e construir o gráfico da curva de calibração, e com verificação matemática é possível conferir se os dados do comprimento de onda analisado está próximo da referência gerada da equação da curva de calibração, assim, podendo verificar a quantidade do composto analisado em outras soluções desconhecidas, seguindo o procedimento corretamente.

Em um primeiro momento, foi realizado análises no espectrofotômetro na região do visível, com o equipamento de manuseio manual com faixa de operação de 325 a 1000 nm, e com os valores de absorbância anotado para cada intervalo de comprimento de onda de 10 nm, para amostra de água desmineralizada e de três diferentes concentrações da bromelina em água, porém após a elaboração do gráfico da absorbância por comprimento de onda, não estava ideal para a realizar a curva de calibração, e foi obtido informações em artigos que a bromelina possuía maior absorbância na região do ultravioleta ($200 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$). [18]

Figura 6 – Espectrofotômetro da região Visível marca BEL modelo 1105.



Após pesquisa na literatura e análises no espectro na região do visível, foi possível realizar as próximas análises digitalmente no espectro na região do ultravioleta-visível (Uv/Vis), e por ser um equipamento digital, gerava o gráfico no computador e com a prova em branco. Primeiramente a maltodextrina em água desmineralizada foi passada na prova em branco para analisar as soluções de concentrações crescentes da bromelina em água desmineralizada, visto que a bromelina disponível contem em sua composição de 10 a 15% de maltodextrina, com as análises para elaboração dos gráficos no *Excel* da absorbância por comprimento de onda e da curva de calibração da bromelina. Foi realizado também análise da escova progressiva, com o produto sem a enzima bromelina como prova em branco e posteriormente o produto contendo a bromelina, para verificar o maior pico de absorbância.

Figura 7 – Espectrofotômetro na região do UV/Vis marca FEMTO modelo 800 XI.



Através da absorção da bromelina relacionada com sua concentração, foi construído o gráfico da curva de calibração, relacionando concentração e absorbância, com grande importância para determinar a concentração de outras soluções com concentração desconhecida, através da curva de calibração e da equação gerada.

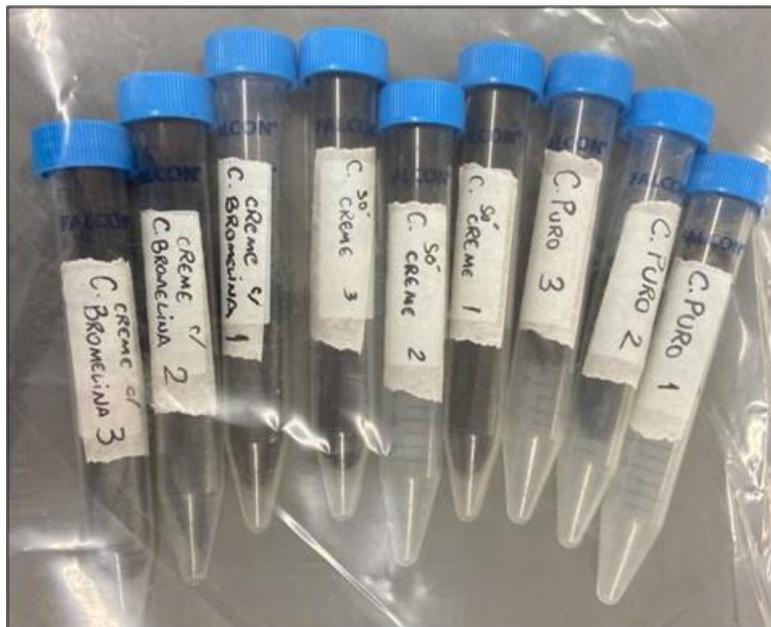
2.5.3 MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA A LASER

A microscopia confocal de varredura a laser consiste na utilização de um laser como fonte de luz em conjunto com o espelho dicróico (espelho com opacidade a determinados comprimentos de onda e transparência a outros), com o pinhole (uma abertura confocal), com a lente objetiva e o fotodetector, e juntamente com outros componentes secundários do microscópio confocal, fornece a imagem da amostra ponto a ponto com alta resolução e a visualização de estruturas microanatômicas (células, núcleos e arquitetura tecidual). O escaneamento pode ser de 2 tipos: de feixe único (*single beam scanning*, em Inglês) em que o feixe do laser percorre um caminho óptico alinhado com o eixo óptico da lente objetiva; e de feixes múltiplos (*multiple-beam scanning*, em Inglês) com alguns equipamentos com pinholes e microlentes dispostos em espiral em um disco giratório. [19-20]

A lente objetiva coleta a luz refletida da amostra, ou seja, recebe a emissão dos agentes fluorescentes a partir do ponto onde a luz é transmitida, em que passa através de um pinhole (abertura confocal) e são detectados pelo fotodetector, chegando apenas os fótons que partiram do plano focal observado e os fótons que vierem de pontos focais diferentes, serão desviados em ângulos diferentes e barrados pelo pinhole. Juntamente com programas computacionais, os fótons detectados são convertidos em pixels e posteriormente formam a imagem, com grande importância no estudo bioquímico. [20]

Foram preparadas 9 amostras para a técnica de análise, com a seleção de mechas do cabelo e a lavagem pré-tratamento com o shampoo Deep Cleaning Dr. Therapy. Foram separadas 3 mechas para análise sem o tratamento capilar, tratadas 3 mechas de cabelo com o Dr. Therapy comercial (com a bromelina) tratadas 3 mechas de cabelo com o Dr. Therapy sem a bromelina, e as amostras encaminhadas para análise.

Figura 8 – Amostras de cabelo para a microscopia confocal de varredura a laser.



2.5.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Com a análise de microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*, e MEV do português) é possível obter imagens de alta resolução e com detalhes da superfície da amostra, com um aumento de magnitude de 300 000 vezes ou mais, avaliando aspectos topográficos, a composição e a característica da amostra. O SEM utiliza um feixe de elétrons de diâmetro pequeno que varre a superfície da amostra de ponta a ponta em apenas alguns segundos, incidindo-a e retornando para o detector, que transmite o sinal para uma tela catódica. De acordo com a topografia da amostra, a dispersão dos elétrons pode ser alterada, e quando há buracos ou depressões, na imagem é obtidas regiões escuras, e nas elevações, regiões claras. [1, 14]

Para realizar a análise de SEM é necessário a amostra estar seca e que o material seja condutor, por isso é utilizado normalmente fitas metálicas ou colas condutoras. No caso da análise do cabelo, é necessário fixá-lo ou recobri-lo com algum dos meios condutores, no fio de cabelo é comumente utilizar fitas adesivas de cobre ou de carbono. [4, 14] Considerando que os fios de cabelo não são condutores, antes das análises as amostras passaram por um processo de pulverização com átomos de ouro, conhecida como *sputtering*.

O equipamento de varredura eletrônica é constituído por uma coluna óptica-eletrônica, que gera o feixe de elétrons, o sistema de vácuo, a câmara da amostra e o sistema de detectores

e lentes. As interações se baseiam no espalhamento Rutherford relacionando com forças de Coulomb através dos elétrons secundários refletidos da amostra. [14]

As mechas de cabelo foram tratadas com concentração crescente de bromelina para efeito comparativo e também com o creme sem a bromelina. O procedimento do tratamento das mechas ocorreu igual descrito no item “2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO” do tópico “2 MATERIAS E MÉTODOS” com as mechas tratadas com DTS, DTC, e nos cremes com adições crescentes da bromelina, e realizadas as análises por SEM, permitindo obter uma topografia tridimensional da fibra capilar, pois a mesma pode fornecer as informações na análise como a disposição e a integridade física da morfologia do cabelo, como cutícula e córtex.

Figura 9 - Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo JSM-7500F, marca JEOL.



2.5.5 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

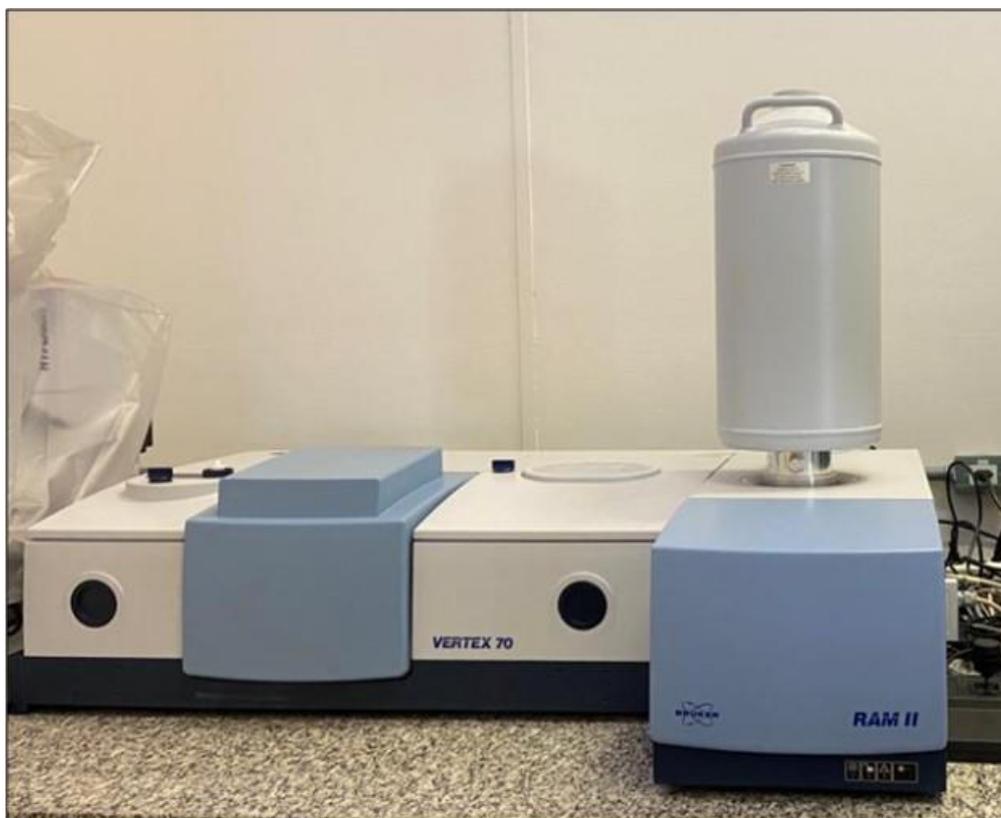
Grupos moleculares e ligações químicas possuem movimentos vibracionais e rotacionais em que cada grupo e ligação tem sua própria frequência característica de absorvância no infravermelho. A espectroscopia no infravermelho (FTIR, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) é utilizada na caracterização e identificação de grupos funcionais das moléculas dos compostos químicos, com a radiação atravessando a amostra, sendo parte absorvida e parte transmitida que é comparada com a transmitida na ausência da amostra, gerando uma banda de absorção no espectro. [3,16]

A espectroscopia no infravermelho é uma técnica relacionada a medição do espectro vibracional no infravermelho, com um processo matemático que analisa o interferograma. Os espectros dos grupos funcionais são obtidos através do cálculo de transformada de Fourier do interferograma gerado por um interferômetro tipo Michelson ou derivado, formado por um espelho fixo, um espelho móvel e um divisor de feixe. [16]

A espectroscopia na região do infravermelho é amplamente utilizada para identificar grupos funcionais como ácidos carboxílicos, aminas, amidas, grupos hidroxilas, entre outros, e também estruturas secundárias da proteína, por exemplo: a queratina. Para a análise do fio de cabelo corresponde na faixa do número de onda entre 4000 cm^{-1} e 350 cm^{-1} , com as vibrações dos átomos ou dos grupos funcionais das moléculas com frequência característica, sendo importante para identificação das estruturas no espectro infravermelho gerado. [1,16]

As mechas de cabelo foram tratadas com concentração crescente de bromelina para efeito comparativo e também com o creme sem a bromelina, conforme o método de análise descrito anterior MEV, com o procedimento do tratamento descrito no item “2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO” do tópico “2 MATERIAS E MÉTODOS”, e realizadas as análises por FTIR, permitindo a visualização das ligações químicas no espectro gerado por infravermelho da transmitância (T, em %) por comprimento de onda (cm^{-1}).

Figura 10 – Espectrofotômetro no Infravermelho com transformada de Fourier com Raman acoplado.



2.5.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO RAMAN

Grupos moleculares e ligações químicas possuem movimentos vibracionais e rotacionais em que cada grupo e ligação tem sua própria frequência característica para seu número de onda correspondente no infravermelho. A espectroscopia no infravermelho é utilizada na caracterização e identificação de grupos funcionais das moléculas dos compostos químicos, com a radiação atravessando a amostra, sendo parte absorvida e parte transmitida.

A espectroscopia Raman é uma técnica relacionada a medição do espectro vibracional no infravermelho, e o espectro é gerado através da difusão da luz na amostra, resultando em informações das vibrações intra e intermoleculares, pelo processo de difusão inelástica, ou efeito Raman, ou inelástica, efeito Rayleigh. O resultado do deslocamento da diferença entre a energia do fóton incidente pela energia do fóton propagado, é chamado de espalhamento Stokes ou anti-Stokes.

A espectroscopia Raman na região do infravermelho é amplamente utilizada para identificar grupos funcionais com uma identidade vibracional no infravermelho característica

e estruturas secundárias da proteína, relacionada com o número de onda, é amplamente utilizada também por ser uma técnica não destrutiva e de simples preparação. Para a análise do fio de cabelo corresponde na faixa do número de onda entre 3000 cm^{-1} e 350 cm^{-1} , com as vibrações dos átomos ou dos grupos funcionais das moléculas com frequência característica, sendo importante para identificação das estruturas no espectro infravermelho gerado.

As mechas de cabelo foram tratadas com concentração crescente de bromelina para efeito comparativo e também com o creme sem a bromelina, conforme os métodos de análise descritos anterior MEV e FTIR, com o procedimento do tratamento descrito no item “2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO” do tópico “2 MATERIAS E MÉTODOS”, e realizadas as análises por Raman para identificação das bandas vibracionais no infravermelho das ligações, obtendo o espectro da absorbância (u.a.) por comprimento de onda (cm^{-1}).

3 RESULTADOS

3.1 APLICAÇÕES DO *TREATMENT DR. THERAPY*

Após o treinamento oferecido pela empresa *FGZ Cosmetics* e com a aplicação e o tratamento capilar do *Treatment Dr. Therapy* comercial, foi possível perceber visualmente o alisamento da mecha utilizada, demonstrando a eficácia do produto, como observado a comparação na Figura 4 entre uma mecha sem o tratamento e outra mecha com o tratamento, e permaneceu lisa por um longo período, com mais de 3 meses após a aplicação.

Foi também aplicado em mechas do cabelo afro-étnico o produto *Dr. Therapy* sem a bromelina em sua composição e também com o *Dr. Therapy* comercial, ambos fornecidos pela *FGZ Cosmetics*. O tratamento capilar foi conferido visualmente, demonstrando eficiência na aplicação do produto, na amostra tratada sem a enzima, foi possível perceber um volume maior, com mais *frizz*, conforme a imagem abaixo:

Figura 11 – Cabelo antes e após aplicação do produto *Dr. Therapy*.



3.2 PH DAS SOLUÇÕES COM BROMELINA E *DR. THERAPY*

Com o preparo das soluções contendo a enzima bromelina, foram realizadas as medições através do pHmetro, conforme as tabelas e imagens a seguir.

Figura 12 – Valores medidos de pH para água e diferentes concentrações de bromelina em meio aquoso.

	H₂O	H₂O + 0,05% B	H₂O + 0,10% B	H₂O + 0,25% B	H₂O + 0,50% B	H₂O + 1,00% B
pH	6,29	6,18	5,97	5,69	5,58	5,49

Figura 13 – Valores medidos de pH das soluções com diferentes concentrações de bromelina.

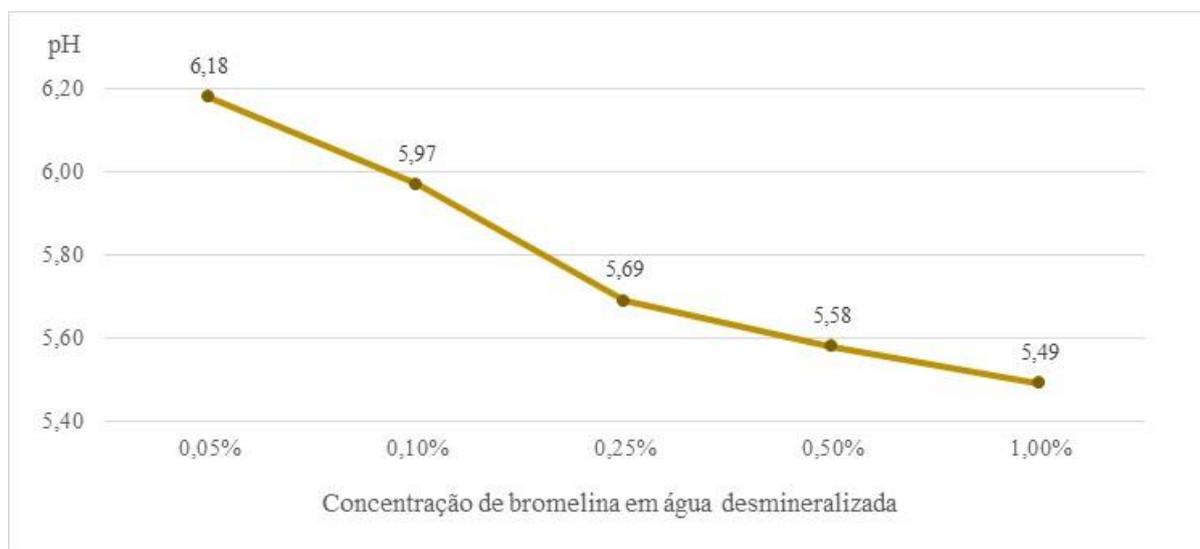
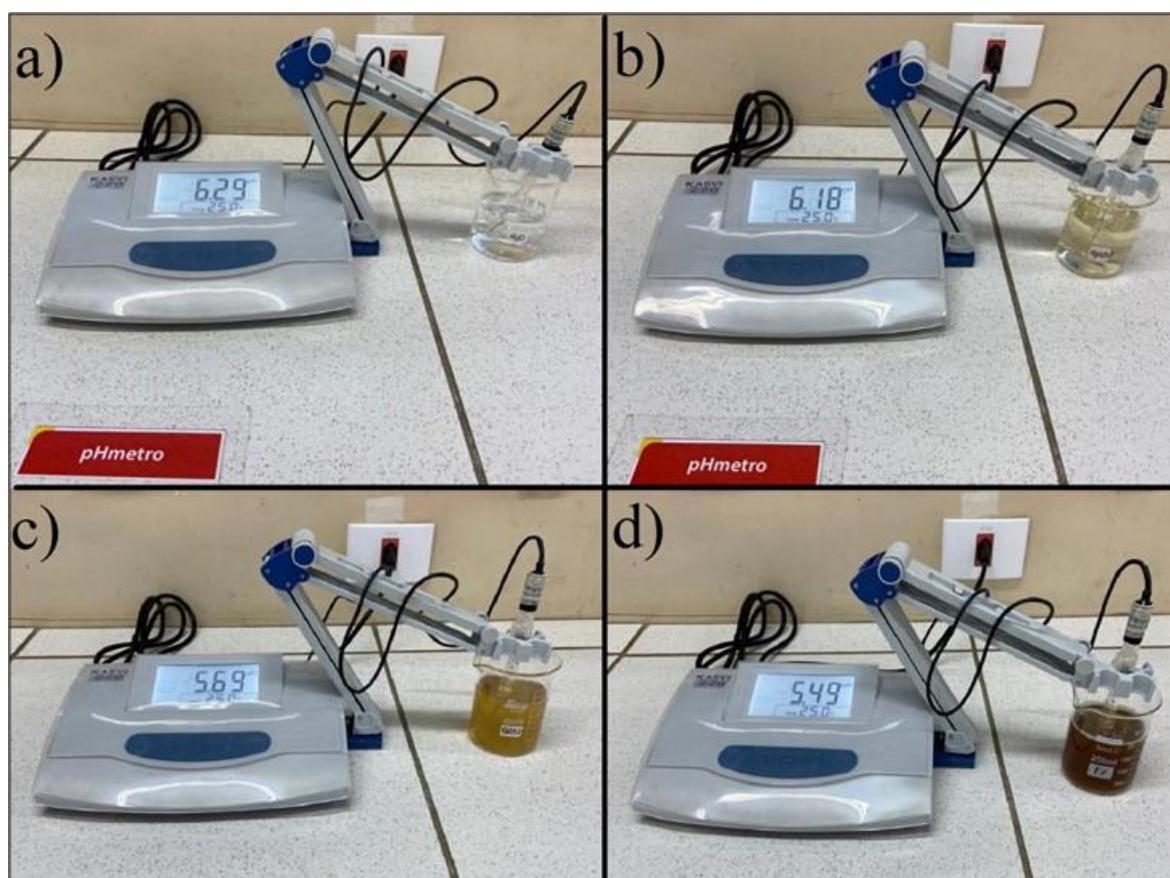


Figura 14 – Medições do pH em a) água desmineralizada, b) 0,05% de bromelina em água, c) 0,25% de bromelina em água e d) 1,00% de bromelina em água.



Nas soluções crescentes de bromelina foi adicionado a escova progressiva *Treatment Dr. Therapy* sem a enzima bromelina, com peso de $1,00 \pm 0,02\text{g}$, medido o pH das novas soluções em água desmineralizada e também foi medido o pH do creme da escova progressiva em água, que já contém a bromelina em sua composição, conforme a tabela com as medições, o gráfico e as imagens a seguir. O *Dr. Therapy* comercial foi nomeado como DTC e o creme *Dr. Therapy* sem bromelina em sua composição foi nomeado como DTS.

Figura 15 – Valores medidos de pH o *Dr. Therapy* comercial (DTC) em água e diferentes concentrações de bromelina e água com adição do *Dr. Therapy* sem bromelina (DTS).

	H₂O + DTC	H₂O + DTS	0,05% + DTS	0,10% + DTS	0,25% + DTS	0,50% + DTS	1,00% + DTS
pH	2,61	2,54	2,60	2,61	2,69	2,78	2,97

Figura 16 – Valores medidos de pH das soluções do *Dr. Therapy* sem bromelina (DTS) em diferentes concentrações de bromelina em água e do DTC em água.

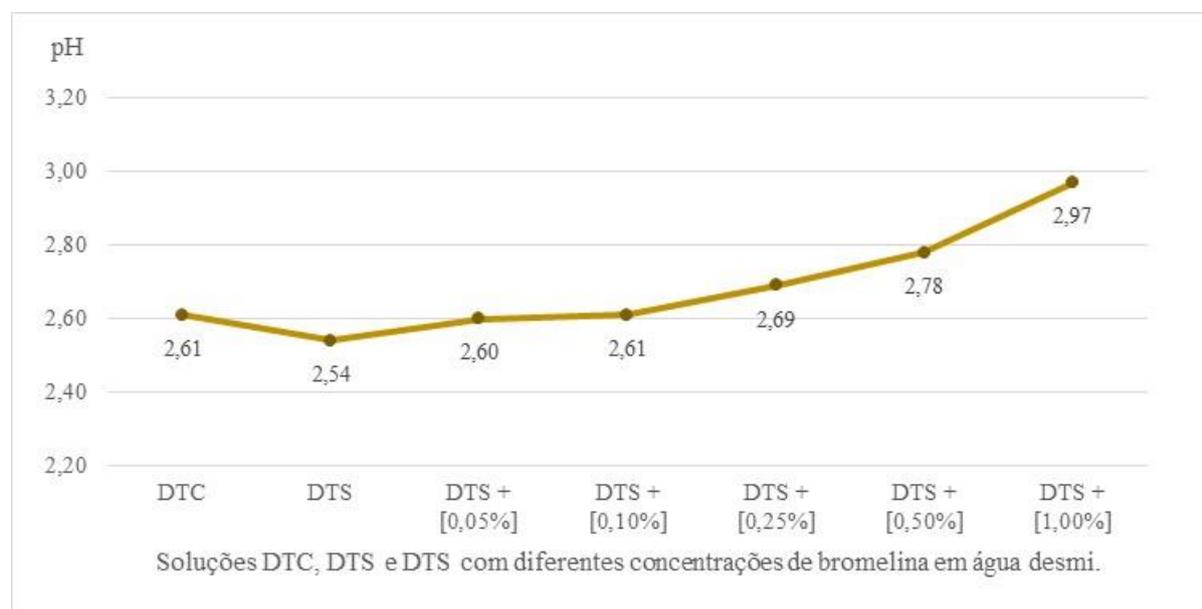
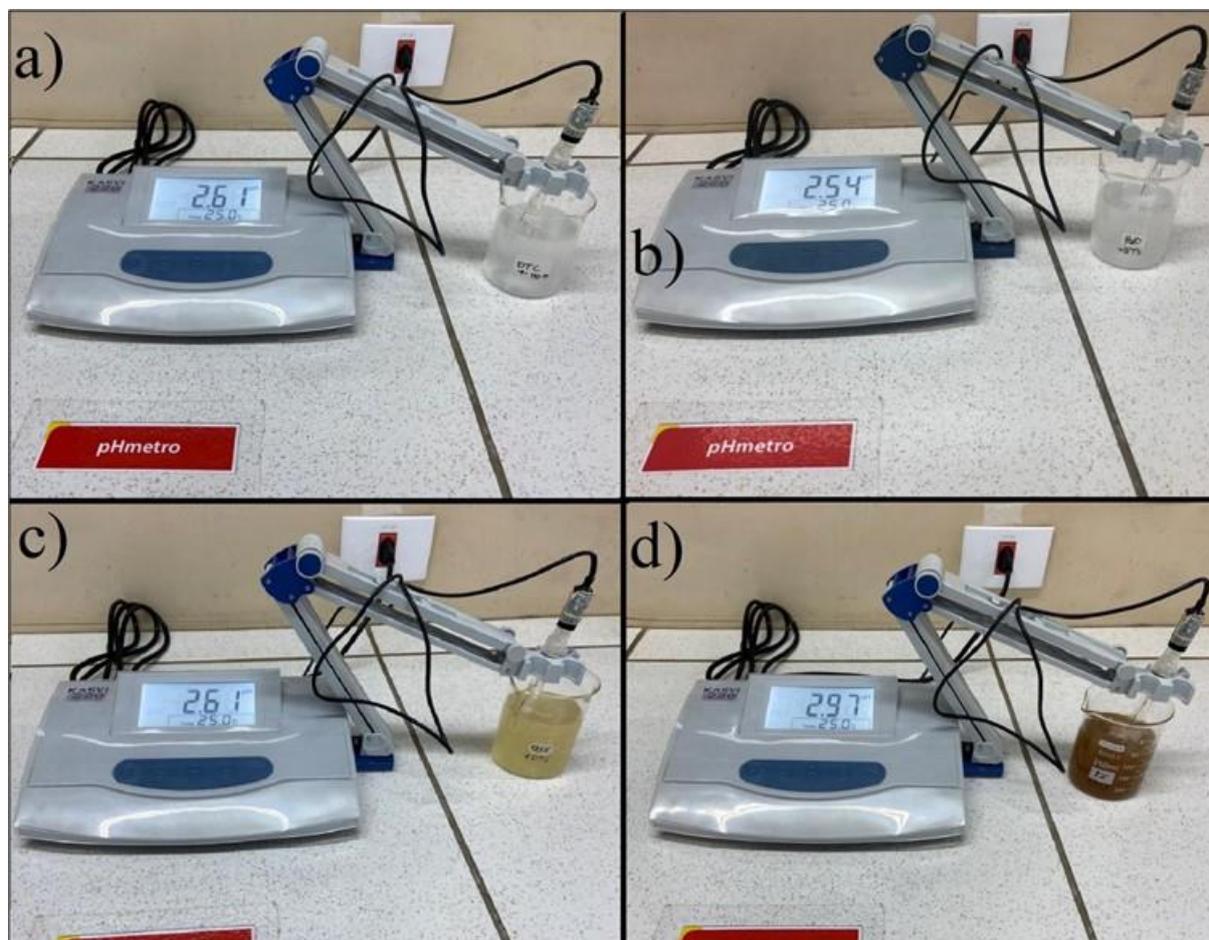


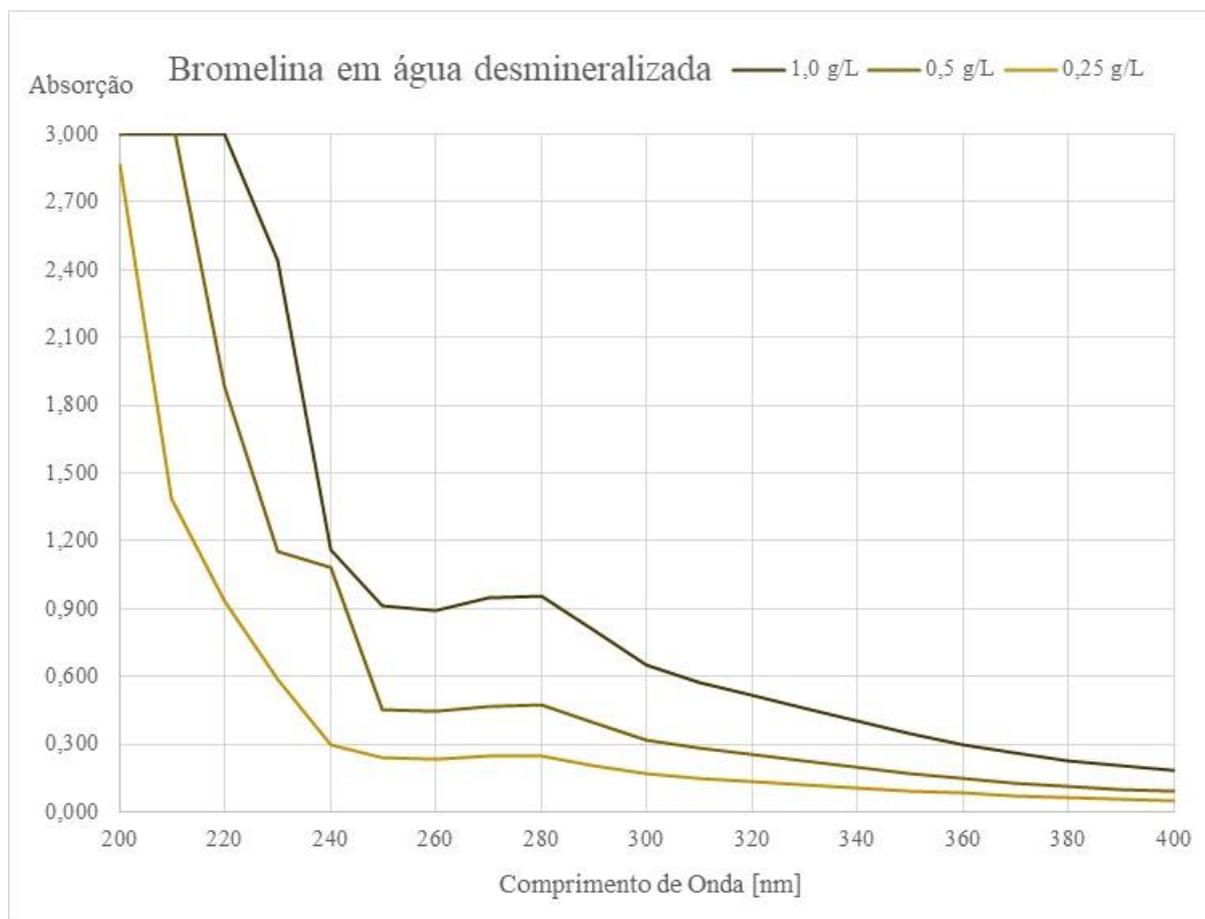
Figura 17 – Medições do pH em a) água desmineralizada com o *Dr. Therapy* comercial (DTC), b) água desm. com o *Dr. Therapy* sem bromelina (DTS), c) 0,10% de bromelina em água com DTS e d) 1,00% de bromelina em água com DTS.



3.3 ESPECTROSCOPIA DA REGIÃO UV/VIS

Com as análises do espectro UV-Vis geradas no computador e os dados passados para o *Excel*, foi possível construir um gráfico com a média dos valores analisados em triplicata de soluções contendo bromelina e malto dextrina, e com a comparação dos valores de absorvância lidos pelo equipamento, foi possível gerar o gráfico da curva de calibração, com a verificação matemática do *Excel*, da regressão linear (R^2), sendo mais preciso quando R^2 está mais próximo do valor 1, com os dados mais próximo da regressão ajustada, que fornece a equação da reta.

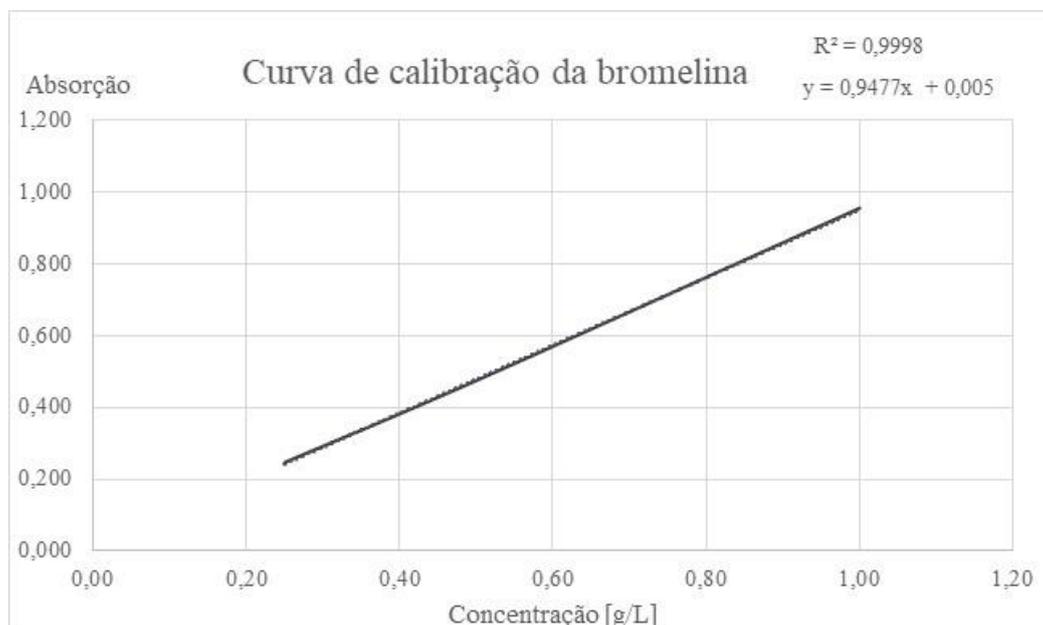
Figura 18 – Gráfico obtido pelo UV-Vis da Bromelina em água em diferentes concentrações crescentes.



Com o gráfico gerado pelo espectrofotômetro na região do ultravioleta (que compreende a faixa de comprimento de onda, λ , de 200 nm a 400 nm) e através da pesquisa literária e da análise dos dados obtidos, foi possível determinar o melhor comprimento de onda para as análises da enzima bromelina no UV-Vis, correspondente ao comprimento de onda $\lambda = 280$ nm.

As análises no equipamento foram realizadas com a prova em branco sendo de água desmineralizada com 15% de maltodextrina. E com os valores de absorção da bromelina diluída em água desmineralizada, foi construído o gráfico da curva de calibração, que compreende a relação gráfica entre a absorção e a concentração. Na construção do gráfico através do *software* Excel, foi gerada a linha de tendência com a regressão linear e a equação da reta da curva de calibração, com o valor de R^2 próximo de 1, demonstrando os dados muito próximo da regressão ajustada, com a absorção do comprimento de onda escolhido relacionado diretamente com a concentração da amostra.

Figura 19 – Gráfico da curva de calibração no UV-Vis da Bromelina em água.



Foram realizadas análises em triplicata da bromelina em água de concentrações de 0,25, 0,50 e 1,00 g/L e calculada a média dos valores de absorbância, com desvio de 0,009 a 0,022 nos valores, para realizar a curva de calibração e obter a equação $y = 0,9577x + 0,005$, sendo x a concentração em g/L e y a absorbância lida.

Assim foi possível verificar a concentração de outras soluções preparadas:

Figura 20 – Cálculo da concentração de bromelina de soluções contendo a enzima.

Solução Conhecida	Absorção lida (média)	Concentração Calculada
0,125 g/L	0,133	0,122 g/L
0,250 g/L	0,280	0,278 g/L
0,50 g/L	0,527	0,53 g/L
1,00 g/L	1,039	1,05 g/L

Com a equação da curva de calibração obtida, foi possível calcular as concentrações muito próximas das soluções com concentrações conhecidas, sendo a bromelina diluída em água com a maltodextrina em água na prova em branco.

Para verificar o processo de autodigestão da enzima, característica notada na literatura e que é possível evitar com o uso na solução aquosa com a bromelina presente de um soro, alfa-2-macroglobulina ($\alpha 2M$), as soluções preparadas para realizar a curva de calibração foram armazenadas em local seguro, sem contato com o sol e em temperatura ambiente em frascos de vidro âmbar. Após 1 semana (7 dias) e após 3 semanas (21 dias) foram analisadas as soluções novamente no equipamento, conforme as tabelas a seguir, com média da absorção lida em 280 nm.:

Figura 21 – Cálculo da concentração de bromelina de soluções contendo a enzima após um tempo.

Conc. Inicial	Abs.	Abs. (1 sem)	Conc. calculada	Abs. (3 sem)	Conc. calculada
0,25	0,246	0,398	0,415	0,548	0,573
0,50	0,474	1,087	1,142	1,186	1,246
1,00	0,955	1,979	2,083	2,320	2,433

Através das novas análises das soluções armazenadas, foi possível perceber um aumento no valor da absorção lida pelo equipamento e conseqüentemente um aumento no valor calculado da concentração, conforme os gráficos comparativos a seguir:

Figura 22 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 1,0 g/L.

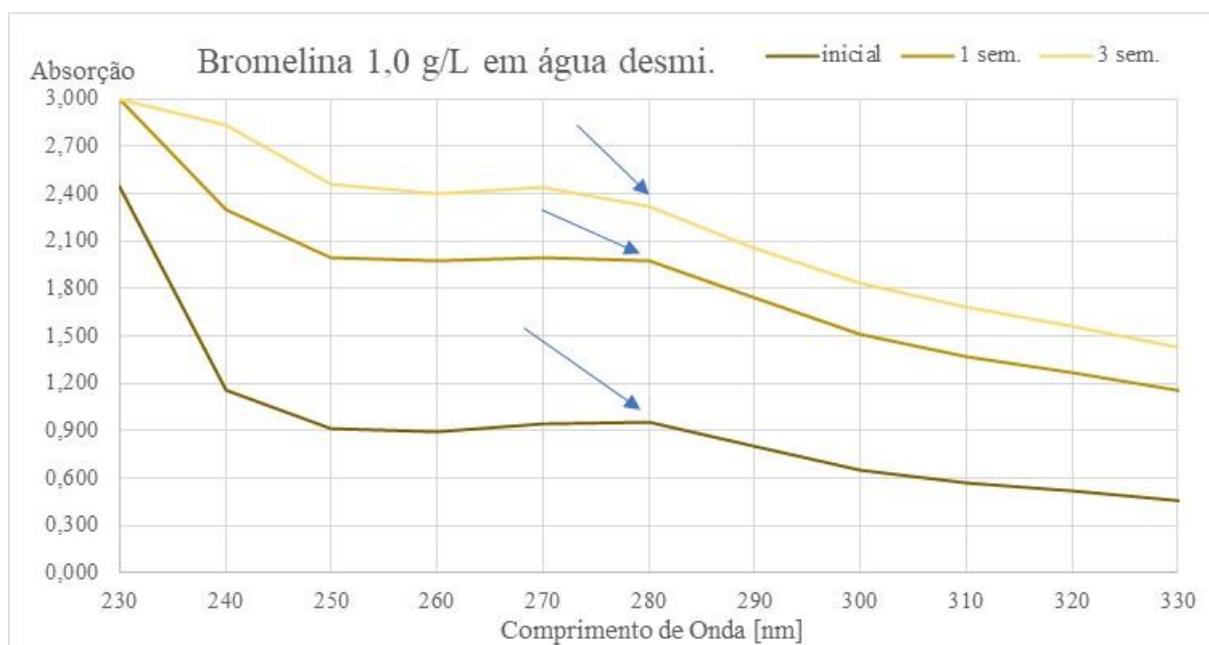


Figura 23 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 0,5 g/L.

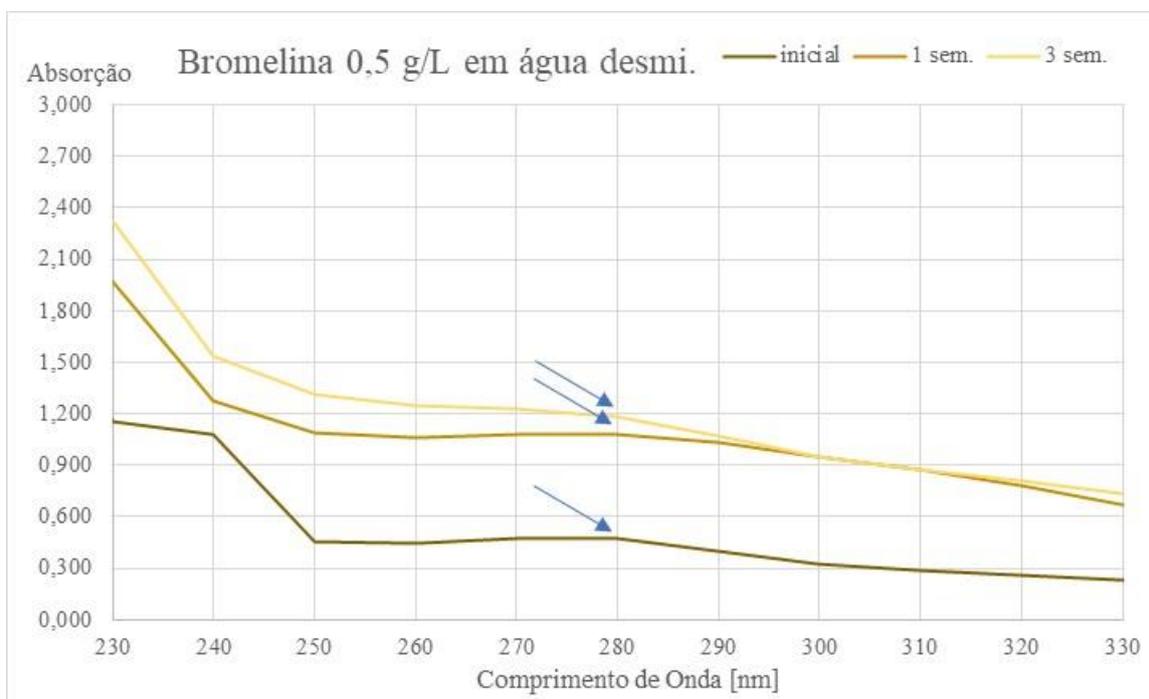
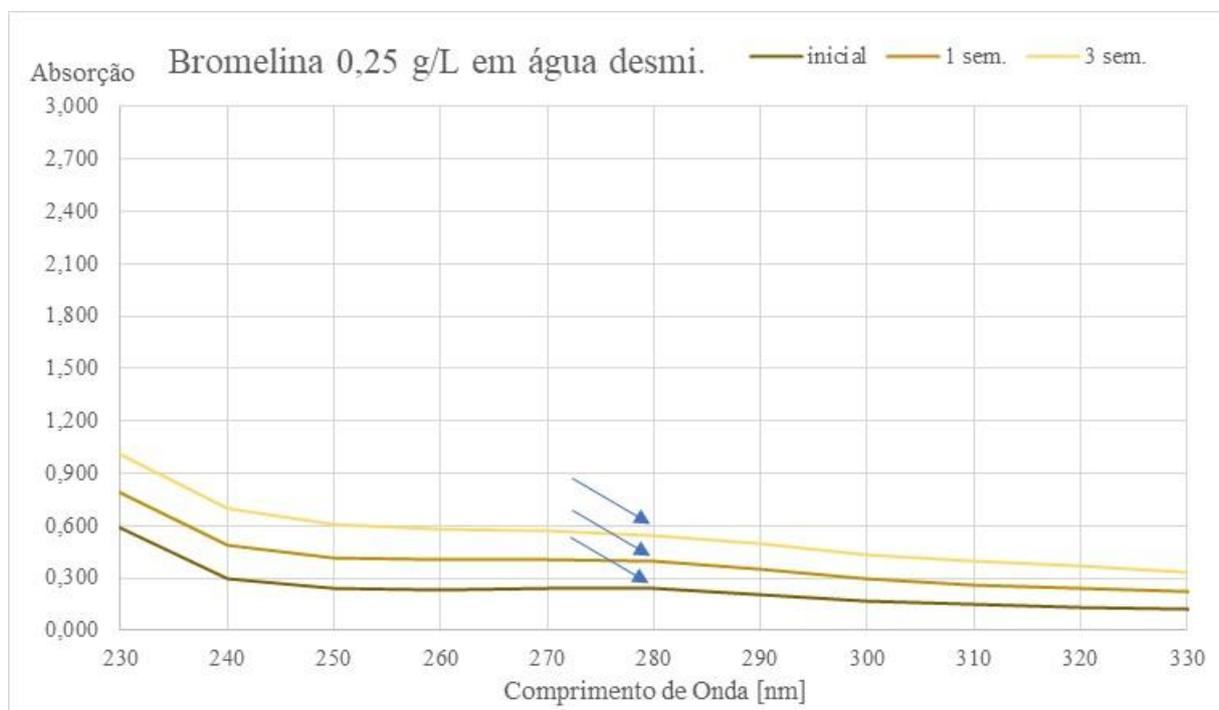


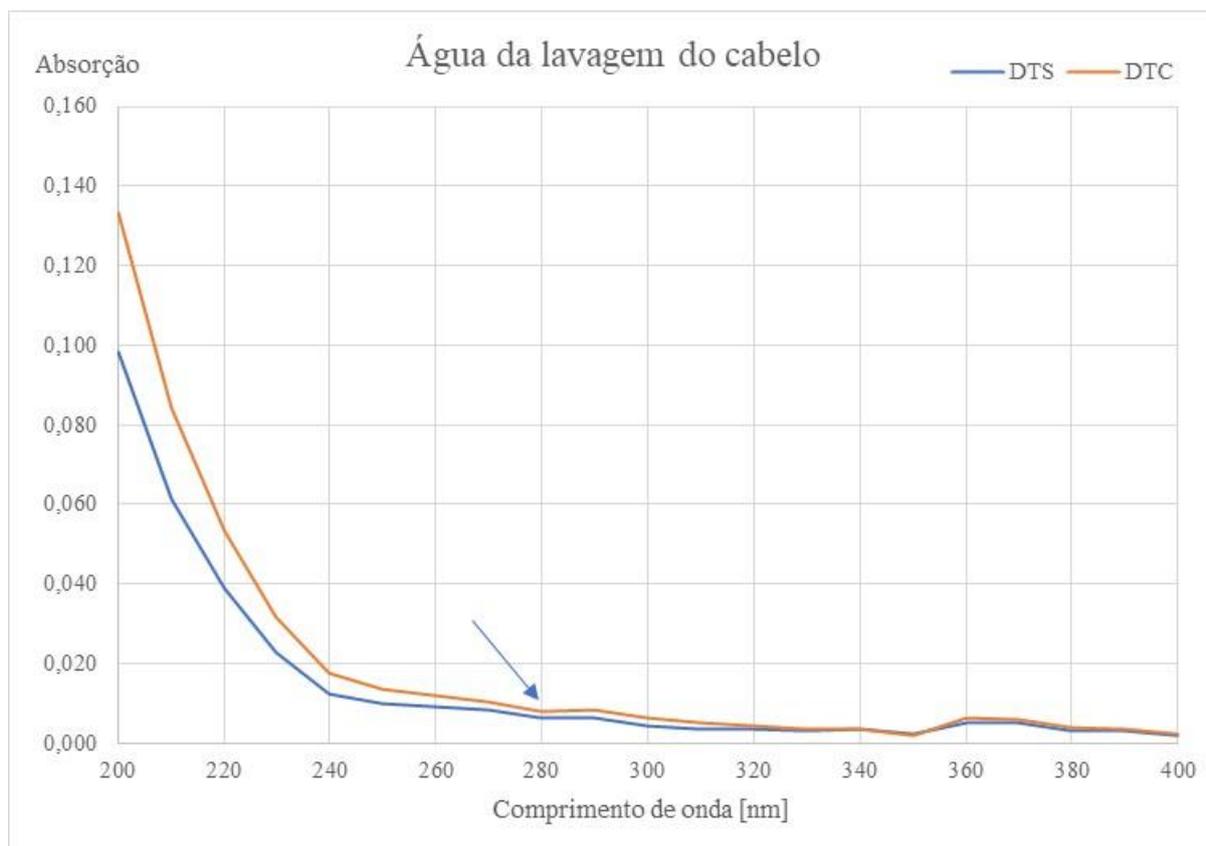
Figura 24 – Gráfico comparativo do espectro UV da bromelina 0,25 g/L.



Afim de verificar se a enzima fica contida no cabelo após o tratamento e é removida com a água, foi realizado um tratamento da mecha com o creme comercial *Treatment Dr. Therapy* conforme descrito no item “2.3.2 APLICAÇÃO E PADRONIZAÇÃO” do tópico “2 MATERIAS E MÉTODOS”. A mecha tratada anteriormente com 7,5 g do produto, foi lavada continuamente com 100 mL de água, 24 horas após o tratamento simulando um banho.

A mecha foi tratada com o creme sem bromelina, DTS e o creme comercial com bromelina, DTC, ambos os tratamentos com a mesma quantidade em massa de fios de cabelo e de creme. Após a lavagem das mechas, a água foi analisada no Uv-Vis, e obtido o gráfico abaixo para a lavagem com os dois tratamentos, DTS e DTC. Com o espectro obtido, com água desmineralizada na prova em branco (a mesma utilizada para a lavagem), foi possível perceber um leve aumento na absorção com o creme contendo a bromelina na região de 200 a 220 nm.

Figura 25 – Gráfico do espectro UV da água de lavagem da bromelina.

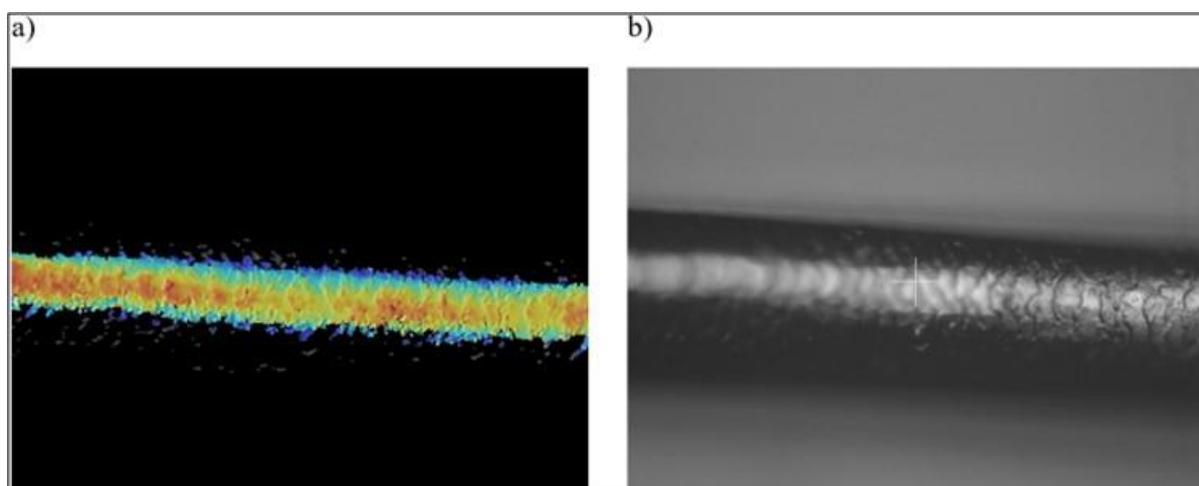


3.4 MICROSCOPIA CONFOCAL A LASER

A microscopia confocal permite a imagem de um único ponto na amostra com grande resolução. Os dados são coletados ponto a ponto, deslocando o foco da ótica, para reconstruir modelos 3D da amostra. Foram obtidas imagens em magnificações de 500x.

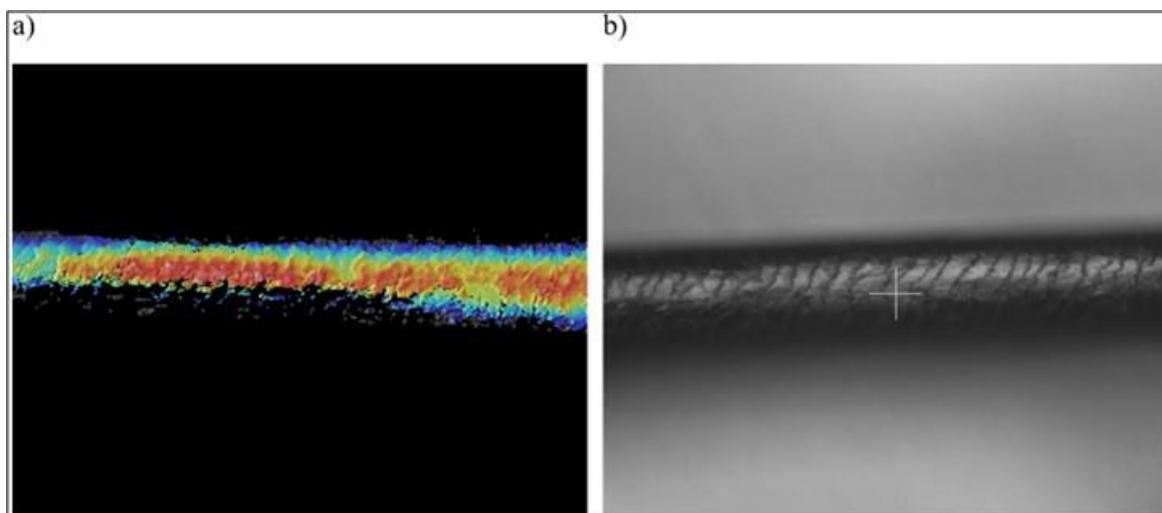
- Cabelo Puro:

Figura 26 – Imagens obtidas por RCM do cabelo puro.



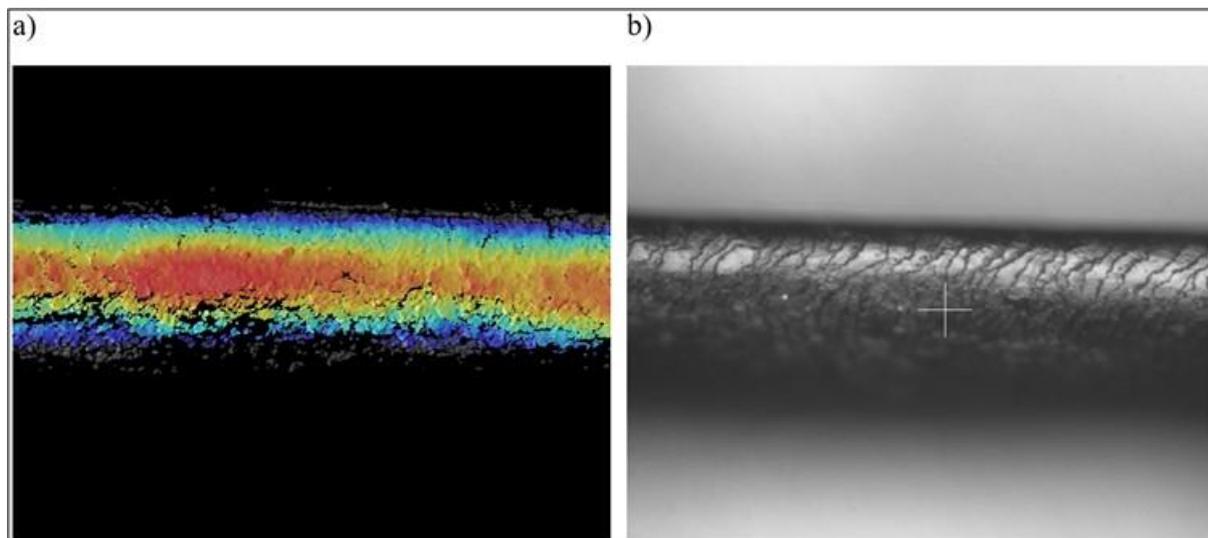
- Cabelo tratado com creme sem bromelina:

Figura 27 – Imagens obtidas por RCM do cabelo tratado com o creme sem bromelina.



- Cabelo tratado com o creme comercial (0,10% de bromelina)

Figura 28 – Imagens obtidas por RCM do cabelo tratado com o creme comercial.

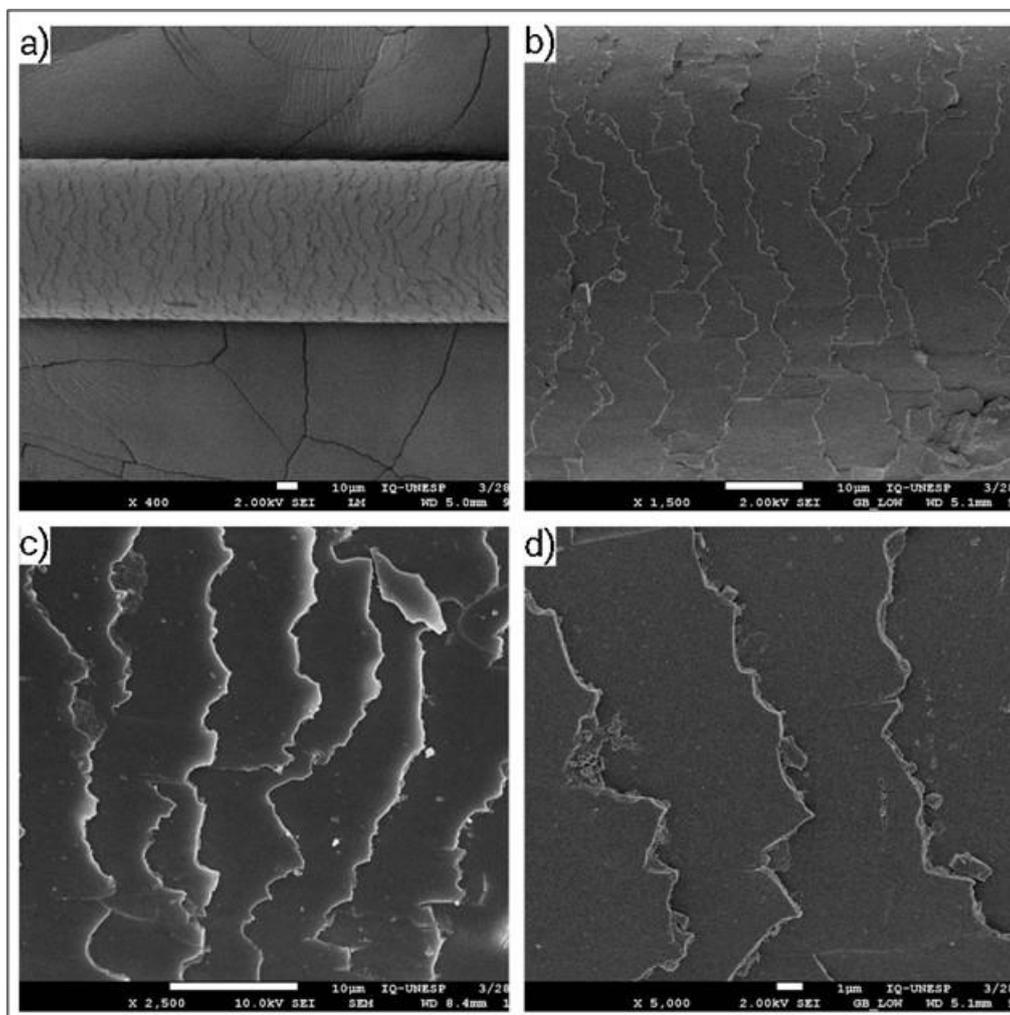


3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após o tratamento das mechas, foram realizadas as análises através da microscopia eletrônica de varredura e obtidas as imagens de alta resolução da superfície dos fios de cabelo, das amostras de: cabelo puro; trado com creme sem bromelina; trado com o creme comercial (com 0,10% de bromelina); e amostras de cabelo tratados com creme de 0,05%, 0,25%, 0,50% e 1,00% de bromelina adicionada no creme. A comparação das imagens se deu com a amostra do cabelo puro como referência, com todas as mechas lavadas com o *Shampoo Deep Clean*, conforme as imagens abaixo:

- Cabelo Puro

Figura 29 – Imagens obtidas por MEV do cabelo puro, com ampliação em a) de 400 vezes, em b) de 1500, em c) 2500 e em d) 5000.



E as amostras obtidas para os demais tratamentos:

Figura 30 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,05% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.

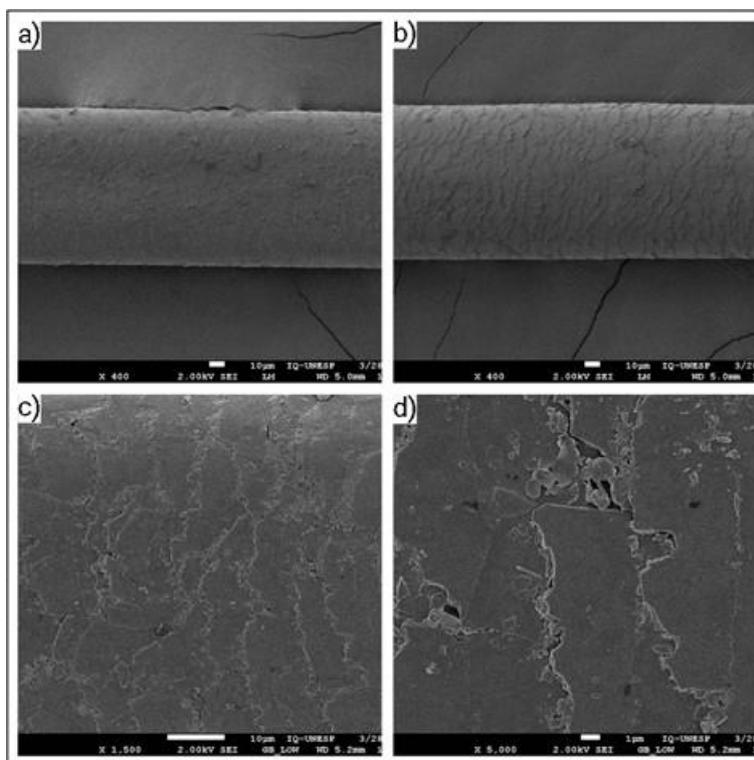


Figura 31 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme comercial com 0,10% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.

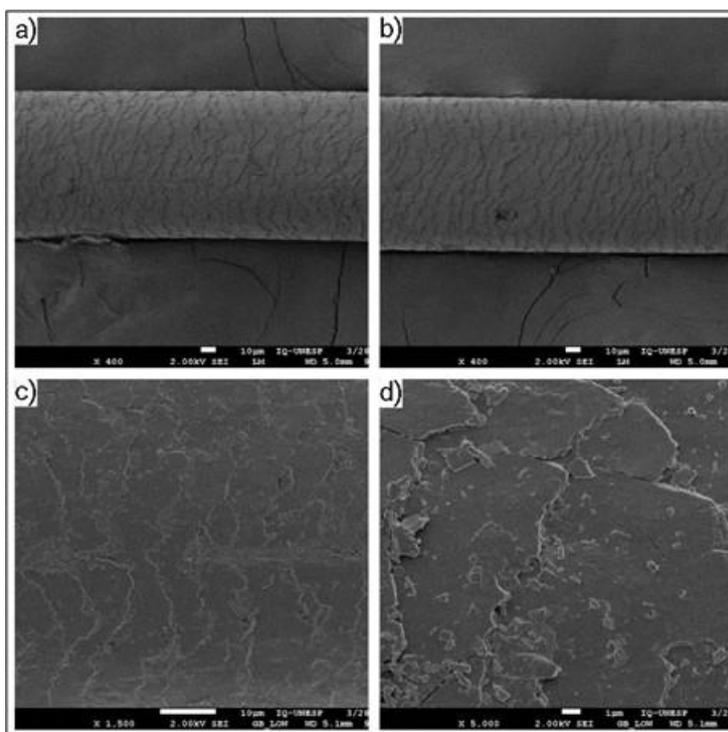


Figura 32 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,25% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.

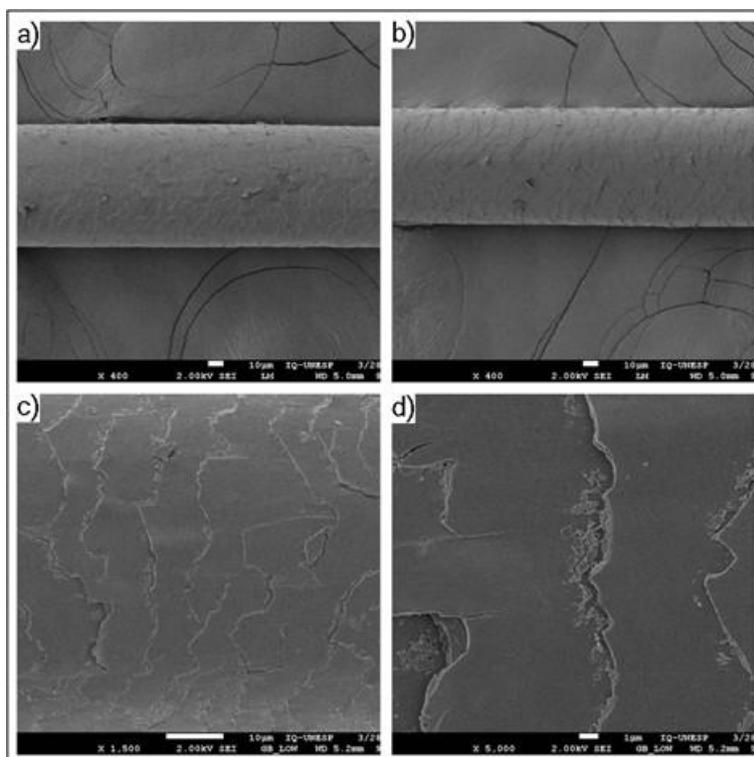


Figura 33 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 0,50% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.

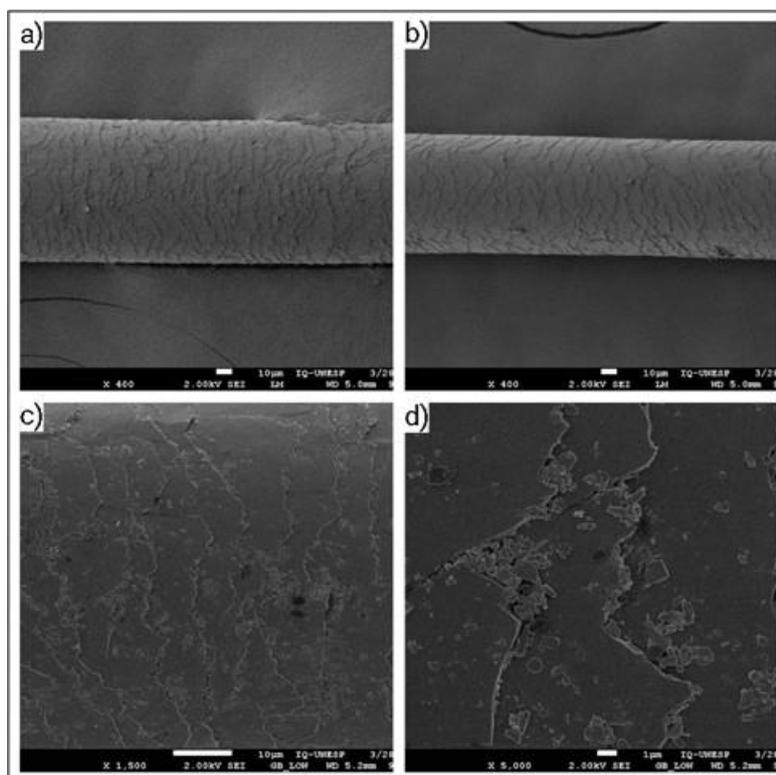


Figura 34 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme com 1,00% de bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.

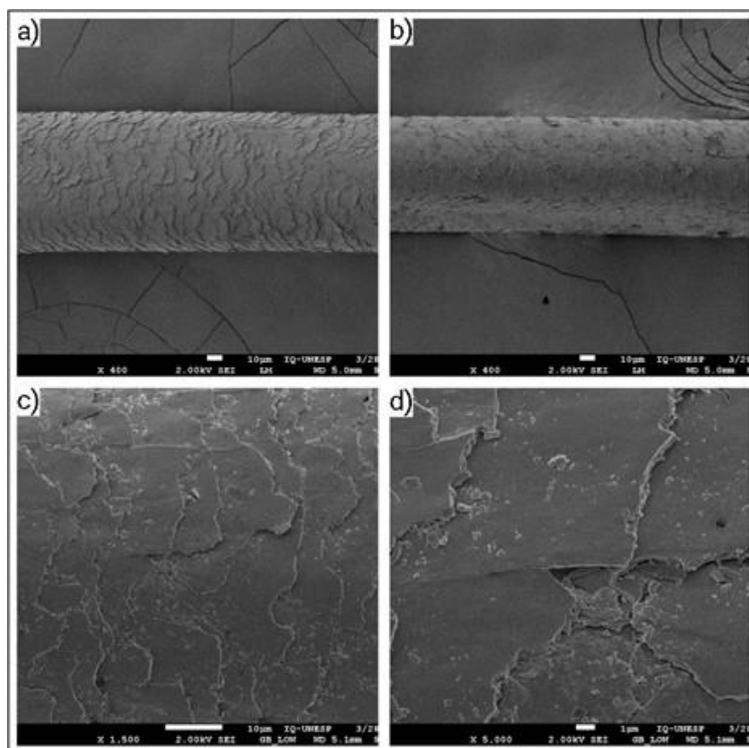
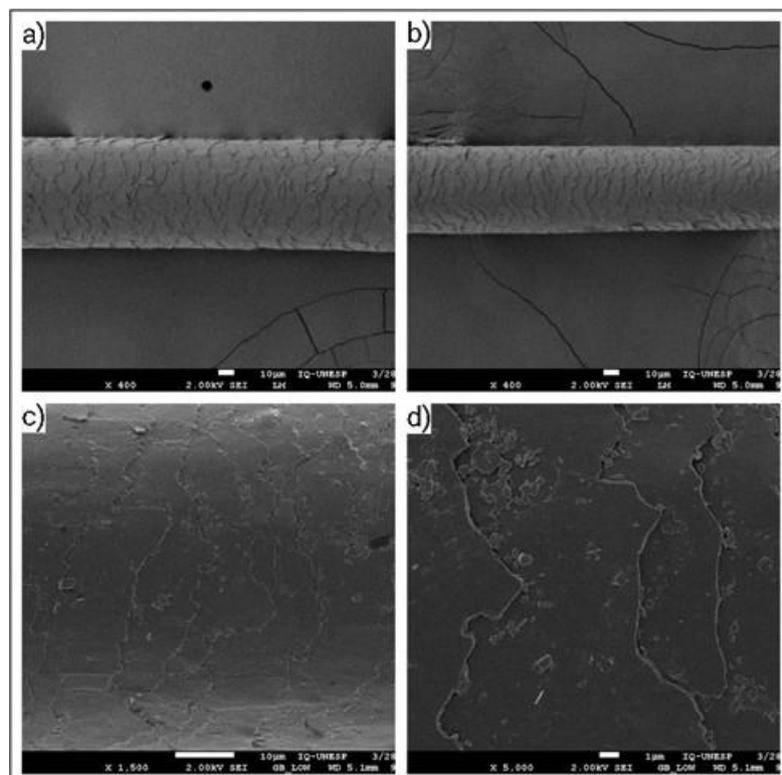


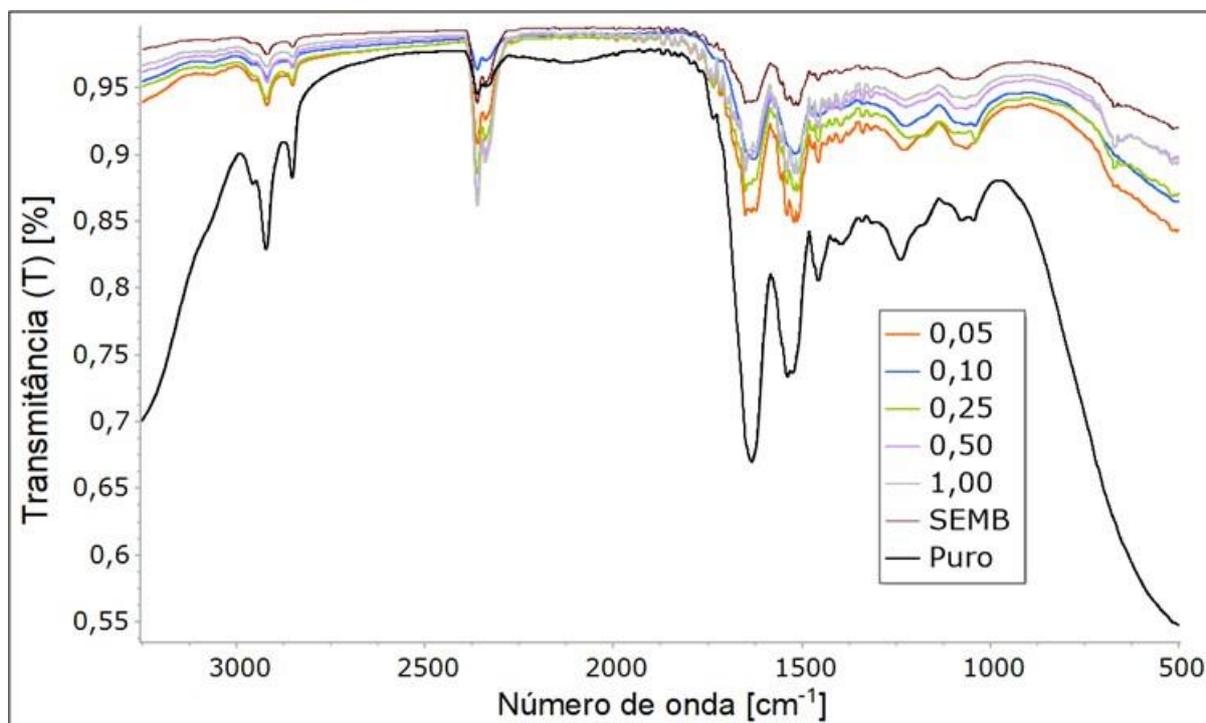
Figura 35 – Imagens obtidas por MEV do cabelo tratado com creme sem bromelina, com ampliação em a) e b) de 400 vezes, em c) 1500 e em d) 5000.



3.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER

Os dados da análise por FTIR foram inseridos no software *Origin Pro Lab* para a construção e suavização dos gráficos do espectro no infravermelho para as mechas de cabelo, conforme as imagens a seguir.

Figura 36 – Gráfico gerado por FTIR das mechas tratadas e do cabelo puro.



Sendo:

- C. Puro – Cabelo puro;
- C.B.0,05 – Cabelo tratado com creme com 0,05% de bromelina;
- C.B.0,10 – Cabelo tratado com creme com 0,10% de bromelina (creme comercial);
- C.B.0,25 – Cabelo tratado com creme com 0,25% de bromelina;
- C.B.0,50 - Cabelo tratado com creme com 0,50% de bromelina;

E para melhor visualização os gráficos separados a seguir de cada cabelo tratado, e inserido os menores picos de transmitância e seu comprimento de onda respectivo.

Figura 37 – Gráfico gerado por FTIR da mecha de cabelo puro.

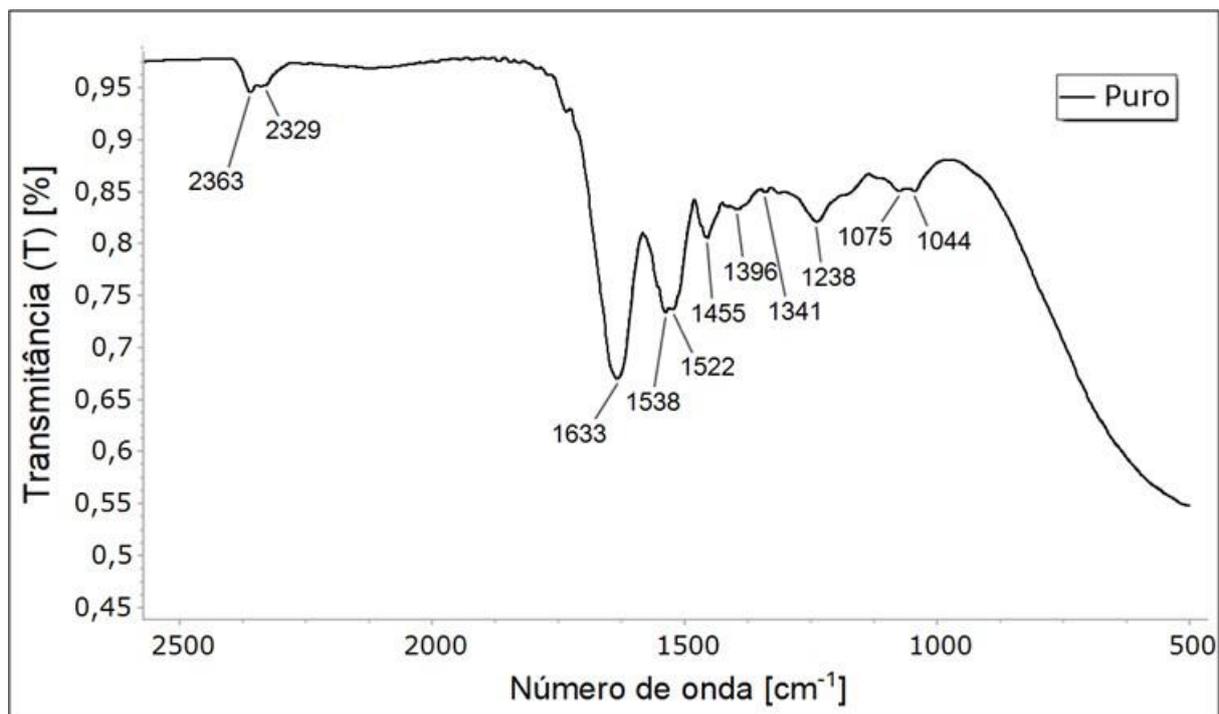


Figura 38 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,05% de bromelina.

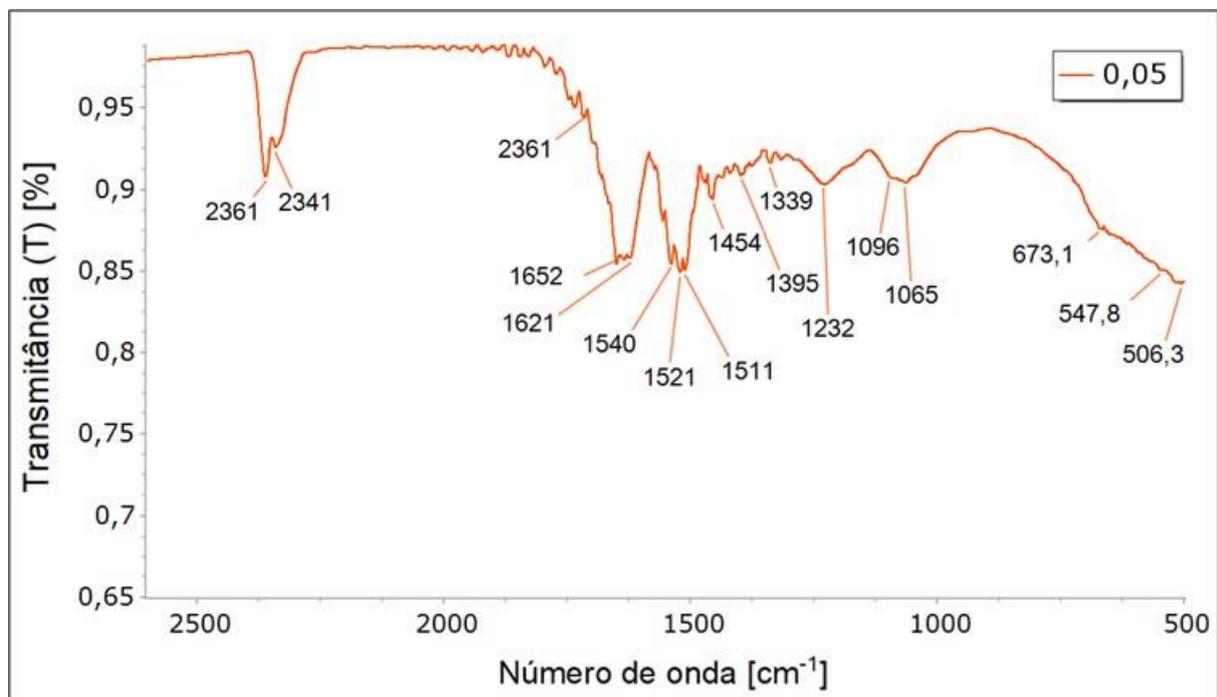


Figura 39 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,10% de bromelina (comercial).

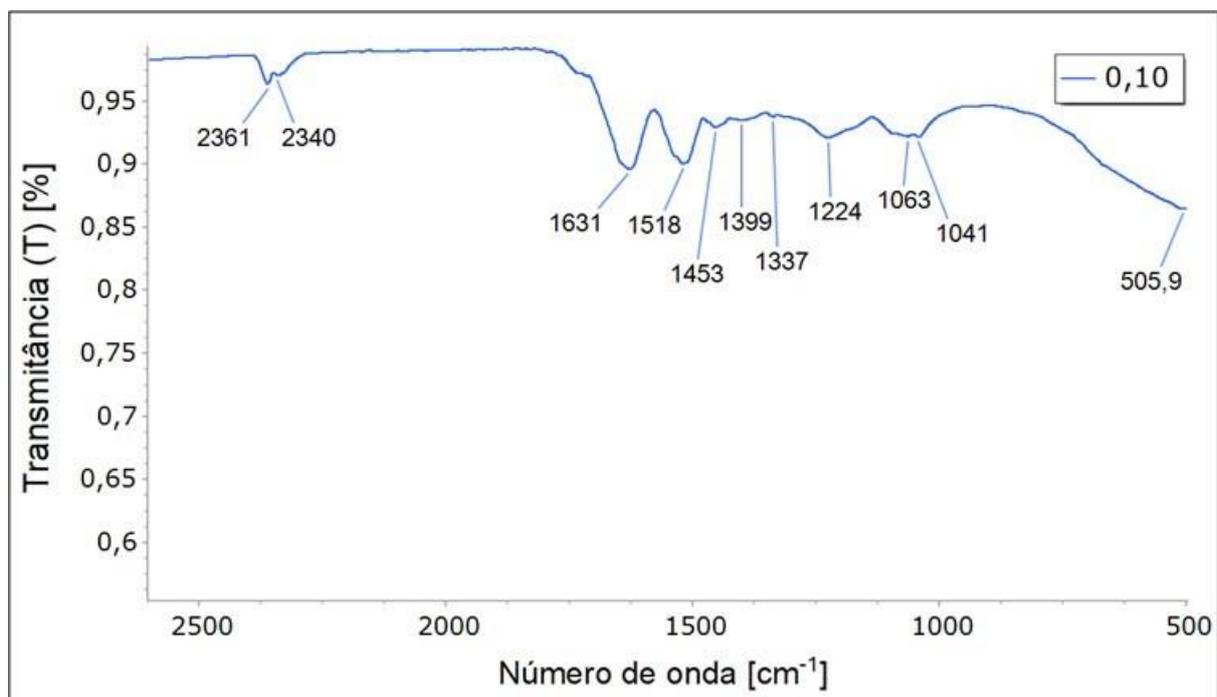


Figura 40 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,25% de bromelina.

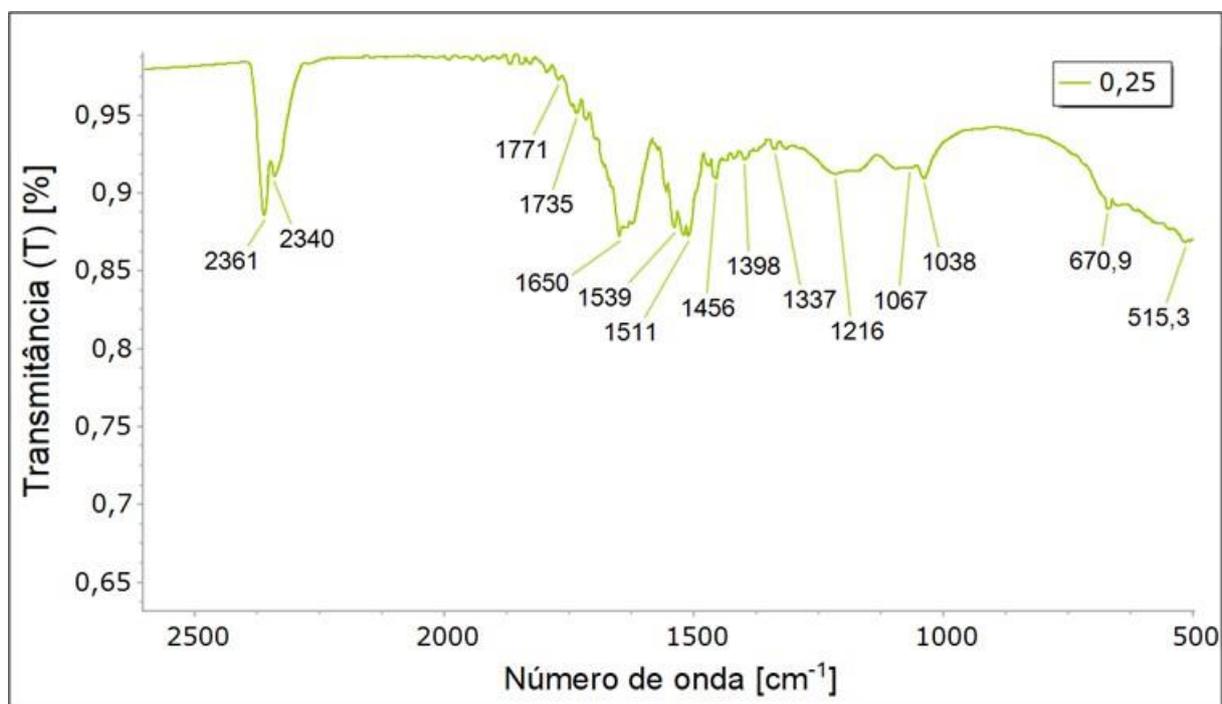


Figura 41 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 0,50% de bromelina.

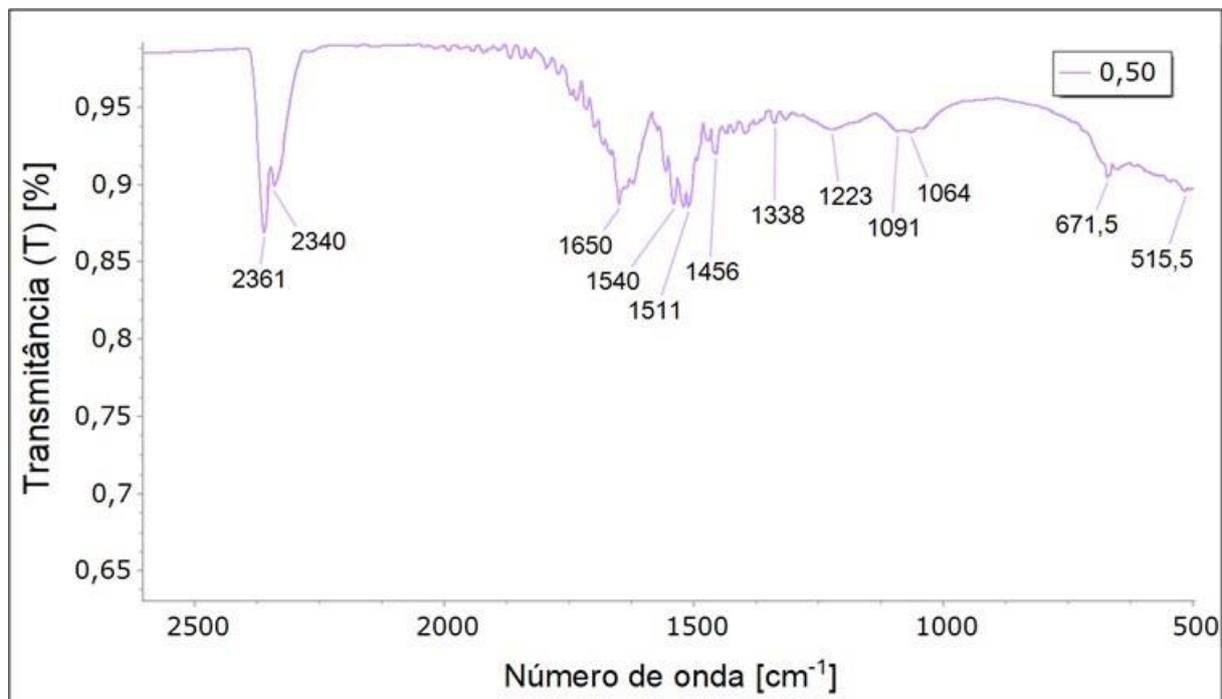


Figura 42 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com 1,00% de bromelina

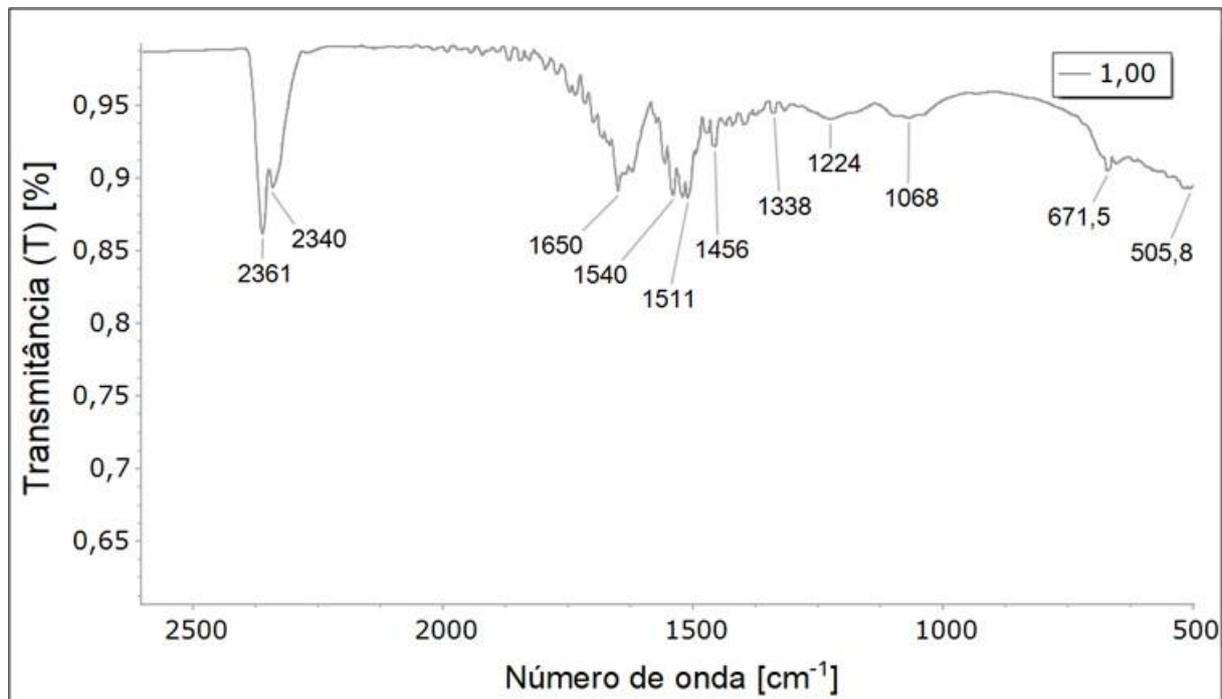
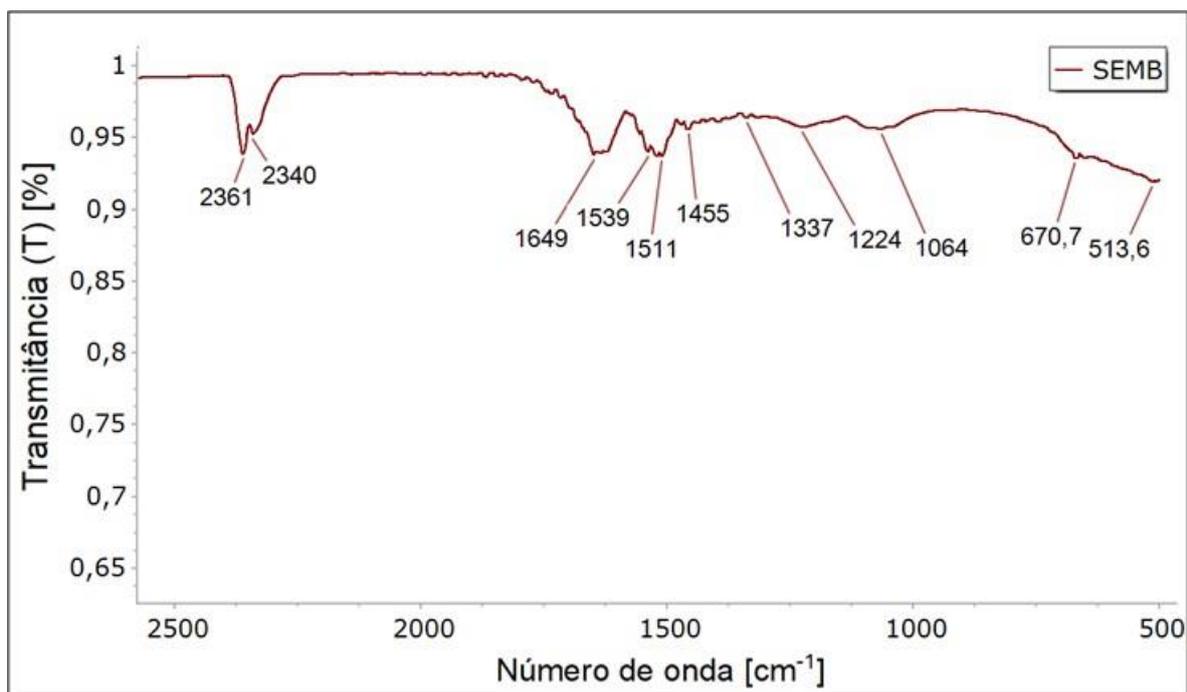


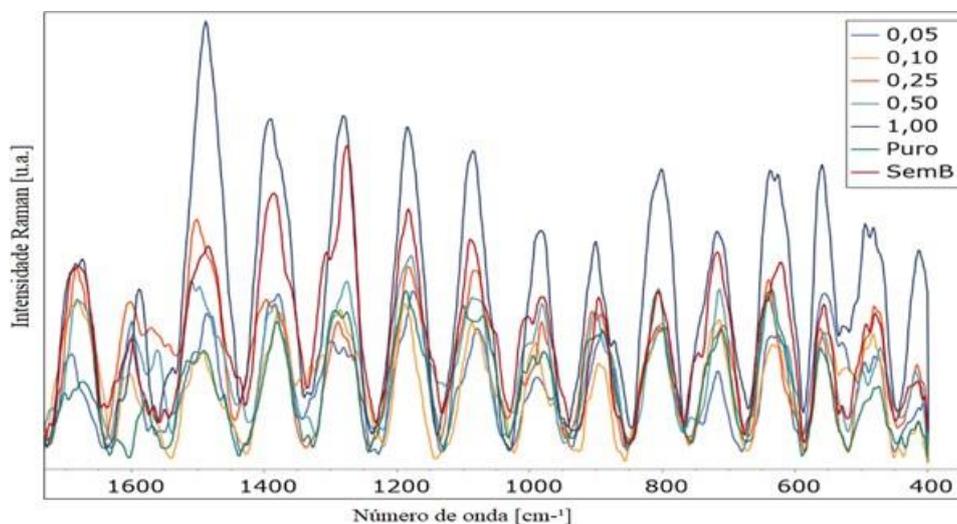
Figura 43 – Gráfico gerado por FTIR da mecha tratada com creme sem bromelina.



3.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO RAMAN

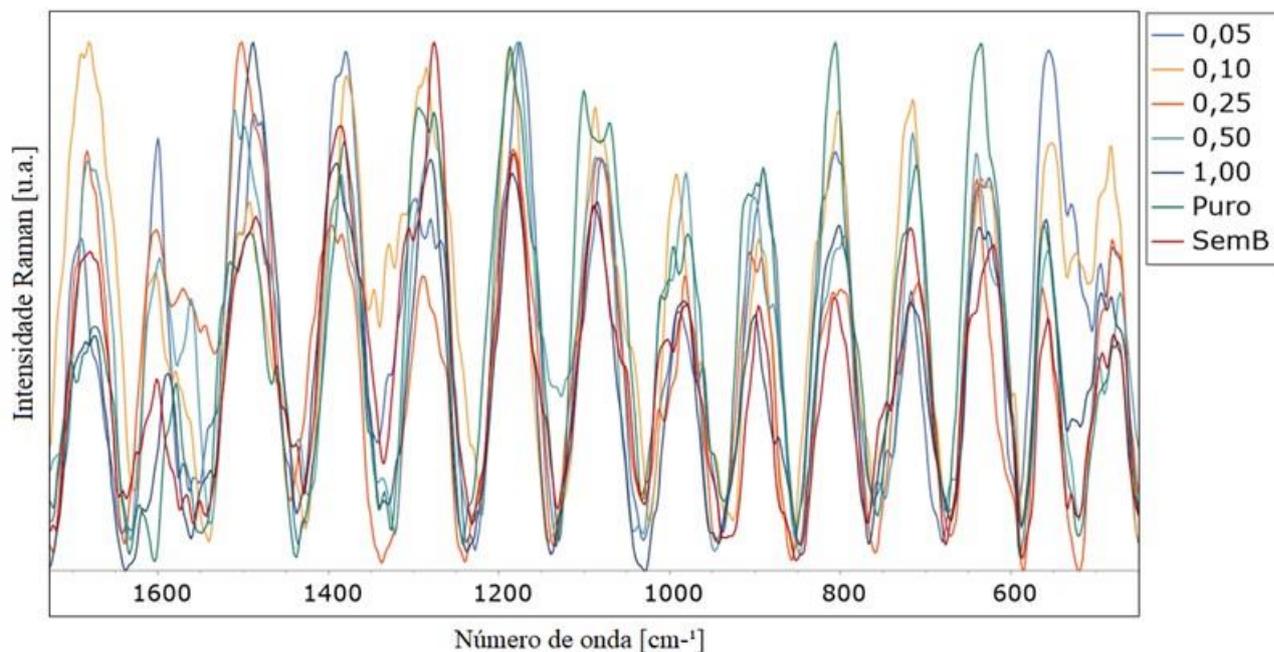
Após o tratamento das mechas, foi realizada as análises por Raman e os dados foram plotados no *software Origin Labs* para o tratamento dos resultados gerados, a suavização dos gráficos e o ajuste da linha base, permitindo melhor visualização dos picos das bandas, com os picos e ajustes finos pelo *software SpectraGryph*, resultando nos gráficos abaixo.

Figura 44 – Gráfico do espectro gerado por Raman das mechas tratadas.



E para melhor investigação e comparação, os gráficos foram normalizados, divididos e verificado os picos da intensidade Raman e seu número de onda respectivo, com as bandas de interesse entre 1700 e 400 cm^{-1} , sendo uma faixa espectral do cabelo rica em informações.

Figura 45 – Gráfico do espectro gerado por Raman das mechas tratadas normalizado.



Sendo:

- Puro – Cabelo puro;
- 0,05 – Cabelo tratado com creme com 0,05% de bromelina;
- 0,10 – Cabelo tratado com creme com 0,10% de bromelina (creme comercial);
- 0,25 – Cabelo tratado com creme com 0,25% de bromelina;
- 0,50 - Cabelo tratado com creme com 0,50% de bromelina;
- 1,00 - Cabelo tratado com creme com 1,00% de bromelina;
- SemB – Cabelo tratado com creme sem bromelina;

Através a técnica da espectroscopia Raman e dos gráficos gerados, foi possível verificar as modificações nas bandas do infravermelho das amostras dos cabelos tratados, e com a

pesquisa literária foi possível encontrar os números de onda correspondentes as bandas vibracionais, como nas tabelas a seguir, permitindo a comparação e relação dos espectros.

Figura 46 – Gráfico do espectro Raman do cabelo puro por número de onda.

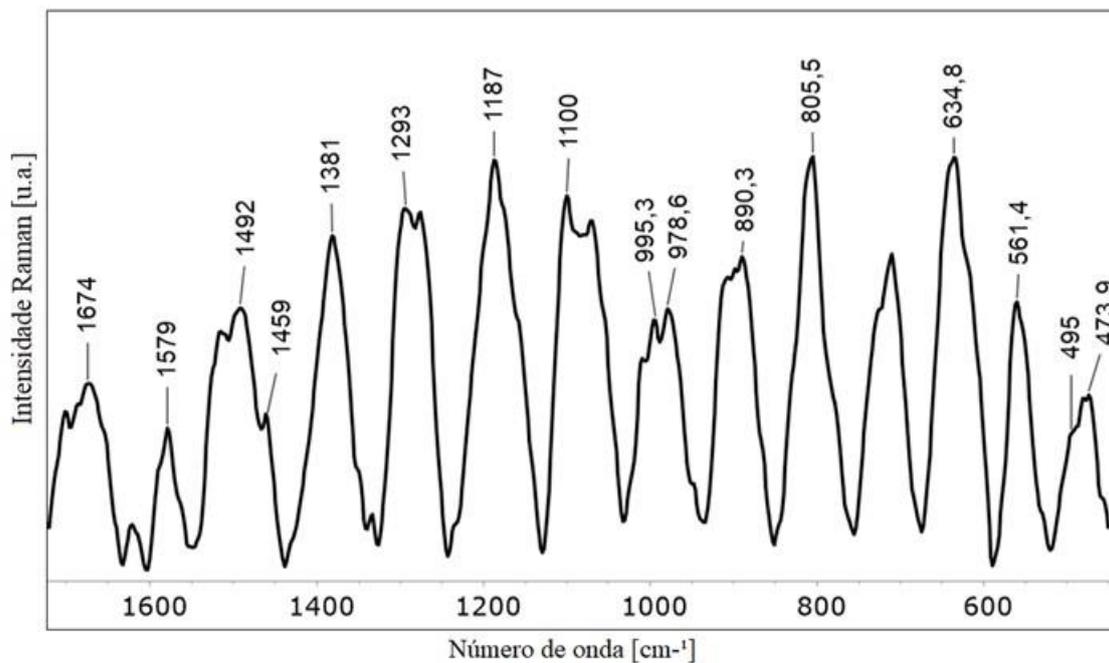
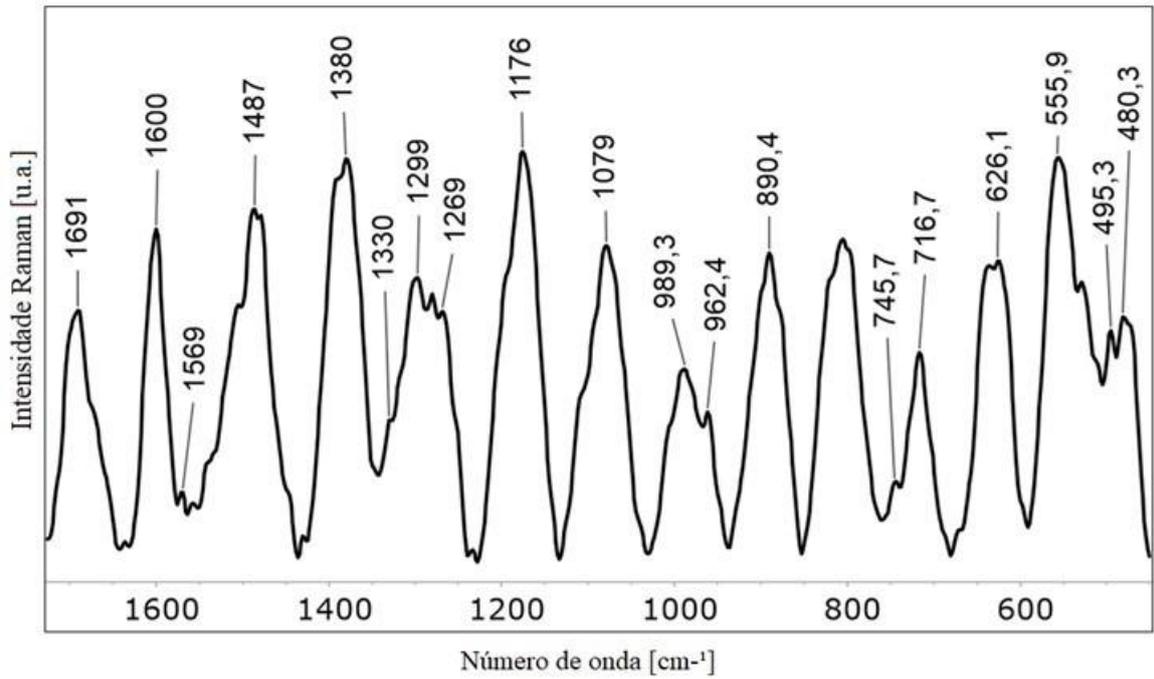


Figura 47 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,05% de bromelina por número de onda.

Figura 48 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,10



%

de bromelina por número de onda.

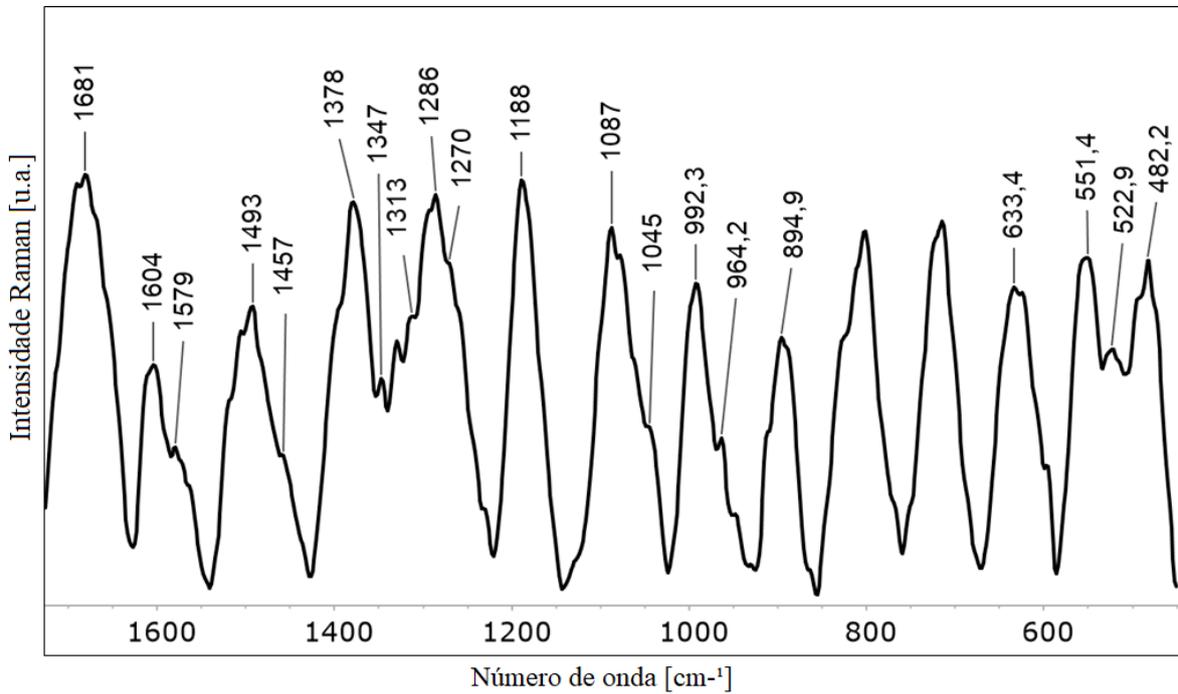


Figura 49 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,25% de bromelina por número de onda.

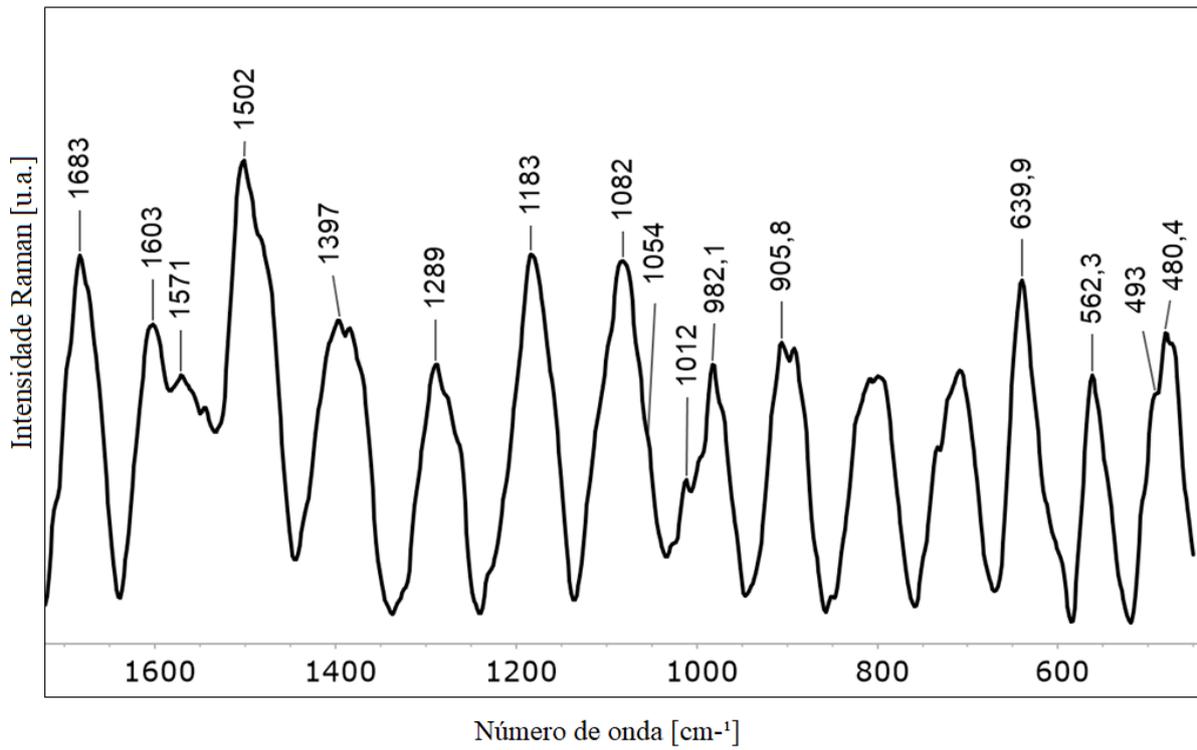


Figura 50 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 0,50% de bromelina por número de onda.

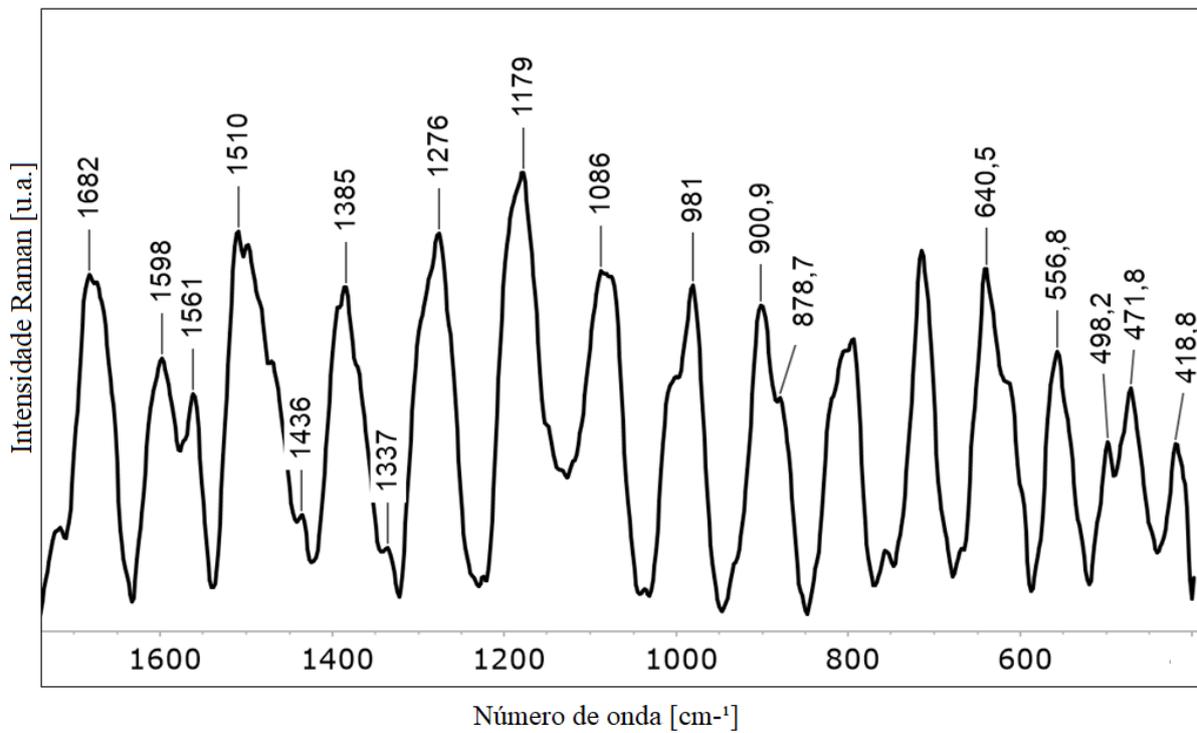


Figura 51 – Gráfico do espectro Raman do cabelo com 1,00% de bromelina por número de onda.

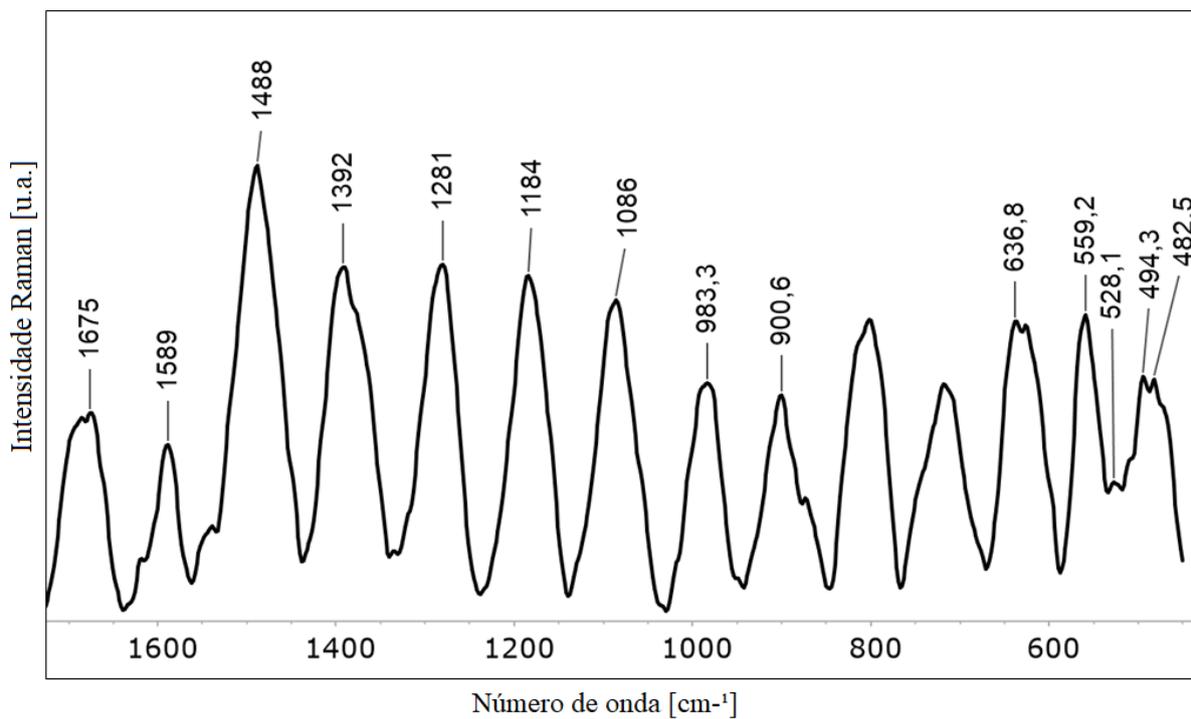


Figura 52 – Gráfico do espectro Raman do cabelo sem bromelina por número de onda.

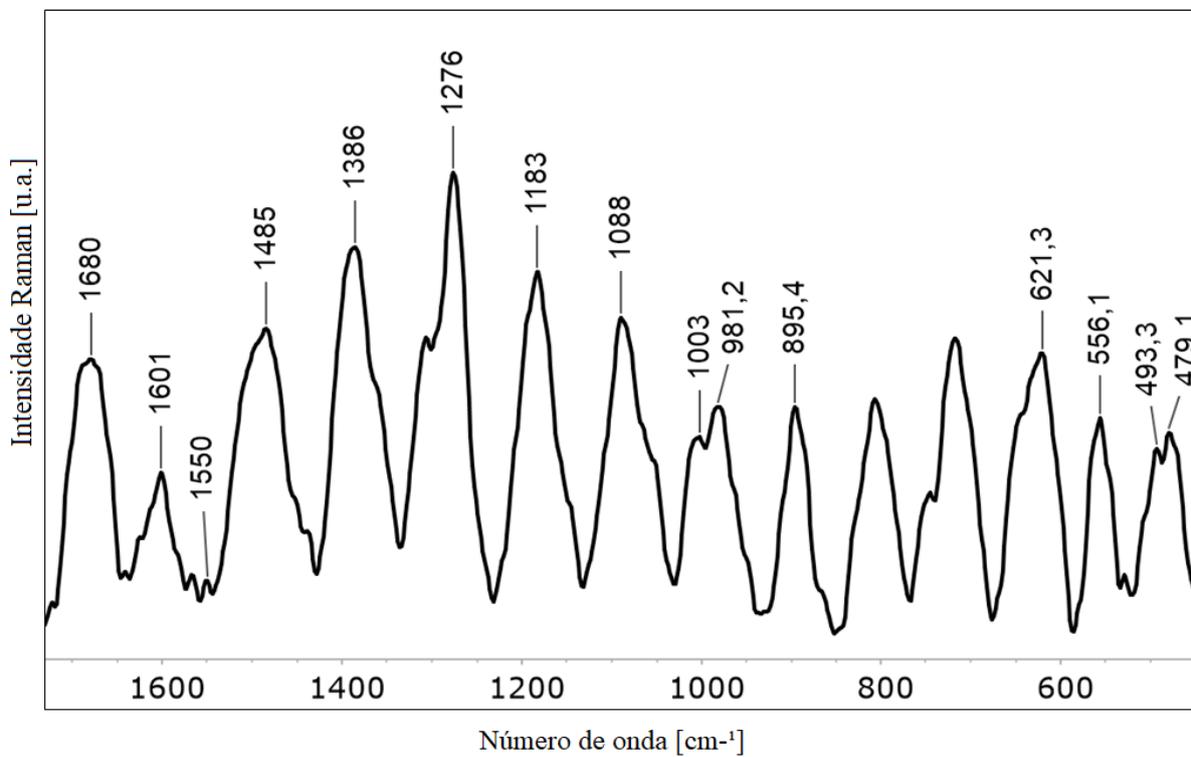


Figura 53 – Número de onda atribuídos as das bandas no espectro do cabelo para Raman.

Pico cm^{-1}	Significado
489	-
508 – 520	Alongamento S-S
1041	Estiramento SO_3
1062	Ligações C-C
1295	Deformação de CH_2
1450	Flexão de CH, CH_2 , CH_3

Fonte: [27]

Segundo a literatura, os picos encontrados próximo da banda de 489 cm^{-1} não apresentam especificações, porém podem ser atribuídos aos resíduos de aminoácidos de queratina e aos KAPs (Proteínas Associadas à Queratina, *Keratin Associated Proteins*, em Inglês).

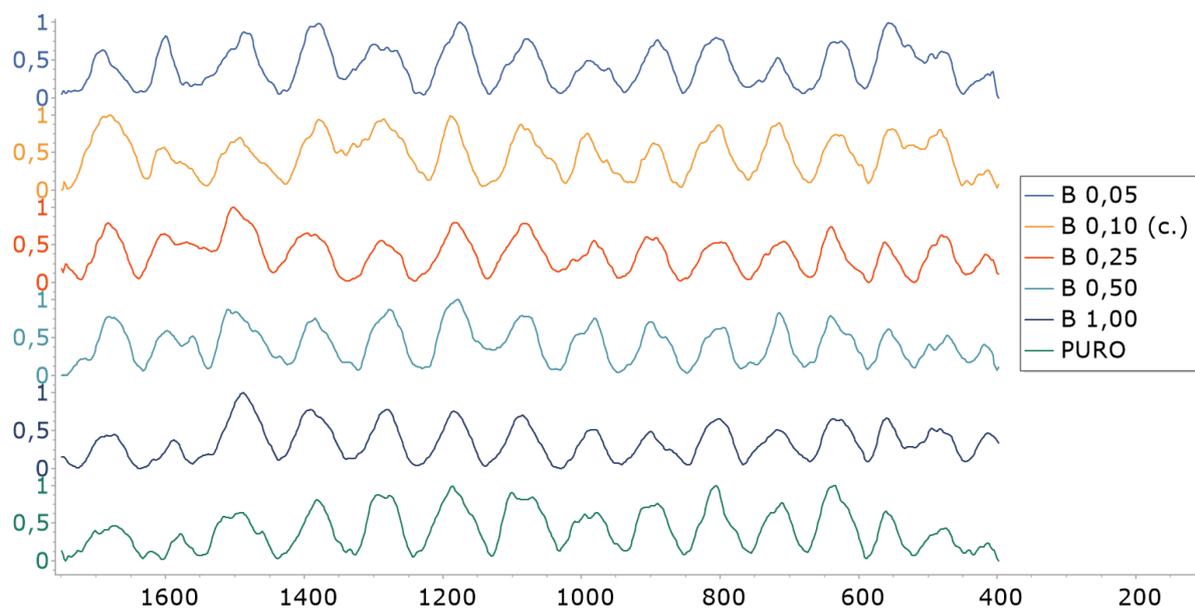
Figura 54 – Número de onda correspondente aos complexos no cabelo para Raman.

Atribuição	$\nu(\text{cm}^{-1})$
Amida I	1663
Tyr e Trp	1617
Trp	1550
$\delta_s \text{CH}_2$	1449
$\nu_s \text{CH}_2$, Trp	1342**
$\delta_s \text{C}(\alpha) - \text{H}$	1317**
Amida III (desordenada)	1248
Tyr, Phe	1210**
Tyr	1176**
$\nu_s \text{C-N}$	1126
$\nu_s \text{S-O}$	1044
Phe	1003,1030*
$\delta_{as} \text{CH}_2$	959*
$\nu_s \text{C-C}(\alpha)$ esqueleto	936**
Trp	884
Tyr	854
Trp	750
$\nu_s \text{C-S}$	665
Tyr, C-S	643
$\nu_s \text{S-S}$	509

Legenda: *Modo vibracional presente somente na cutícula; **modo vibracional presente somente no córtex; ν_s , estiramento simétrico; ν_{as} , estiramento antissimétrico; δ_s , deformação angular no plano; δ_{as} , deformação angular antissimétrica. Aminoácidos: tirosina (Tyr), triptofano (Trp), fenilalanina (Phe).

Fonte: [26] – Adaptado

Figura 55 – Espectros empilhados gerado pela espectroscopia Raman.



4 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 APLICAÇÕES DO *TREATMENT DR. THERAPY*

Com o tratamento das mechas com o mesmo método de aplicação, foi possível perceber que a mecha tratada com a enzima presente, apresentou um menor volume e um menor *frizz*, ou seja, um melhor resultado conforme comprovado visualmente na Figura 7 a diferença após aplicação dos dois cremes em mechas de cabelo.

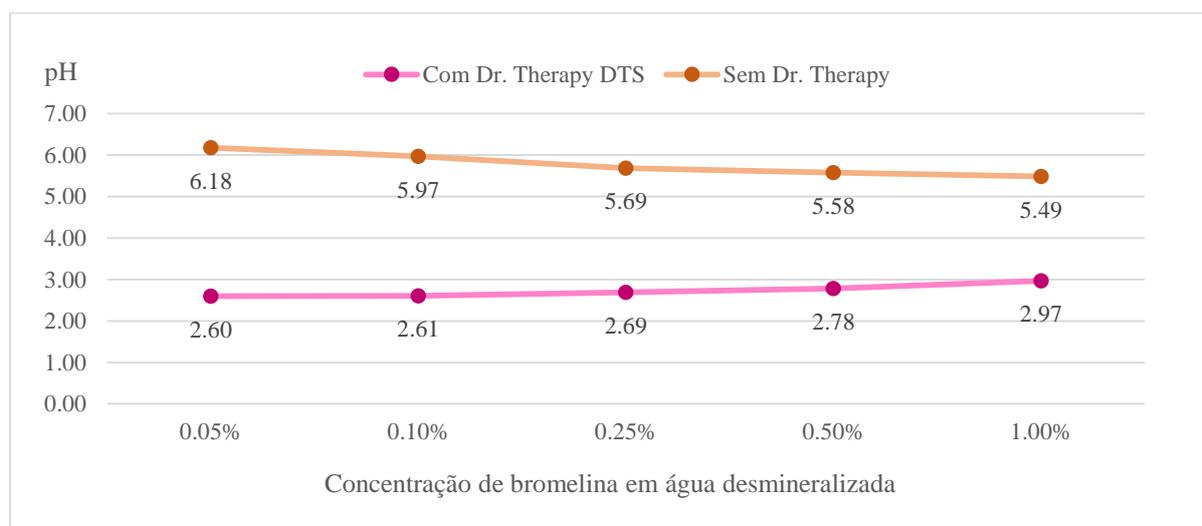
Figura 56 – Mechas de cabelos tratadas com a escova progressiva, na esquerda com o *Dr. Therapy* sem a bromelina, e na direita com o *Dr. Therapy* comercial (com bromelina).



4.2 PH DAS SOLUÇÕES COM BROMELINA E DR. THERAPY

Com os resultados medidos, é possível perceber em comparação com o pH da água que a enzima bromelina quanto maior sua concentração, menor o valor do pH da solução, tendendo a 5, com caráter ácido semelhante a fruta em que é extraído, o abacaxi, que possui caráter ácido também. O pH do creme sem bromelina em água foi percebido um valor menor, devido ao ativo Proliss 100 que possui em sua composição aminoácidos, e quando adicionado bromelina nas soluções, foi percebido o pequeno aumento de pH, assim quanto maior a concentração da bromelina na solução, maior o valor do pH em comparação com o creme sem a enzima, mas ainda com caráter ácido, conforme o gráfico comparativo a baixo.

Figura 57 – Valores de pH medidos das soluções com diferentes concentrações de bromelina, sem o creme capilar e com o creme capilar.



Para a solução de 0,10% da concentração de bromelina adicionado o creme sem a enzima, possui o valor de pH equivalente ao valor medido do creme com a bromelina, ambos na mesma quantidade de água, comprovando a composição da enzima no creme, de 0,10%.

Com as medições do pH das soluções com diferentes concentrações da bromelina, e com comparação do pH da água desmineralizada utilizada para o preparo das mesmas, foi possível perceber o potencial ácido da enzima, conforme sua fruta de origem, o abacaxi. As soluções quanto maior a concentração da enzima bromelina, menor era a medição do pH, tendendo a um valor entre 5 e 6.

Ao medir o pH da escova progressiva, a solução apresentou um caráter mais ácido, com o valor medido do pH mais baixo, entre 2 e 3, devido ao ativo Proliss 100 que contém aminoácidos. Ao ser adicionado o creme nas concentrações da bromelina, o pH teve um leve aumento. Na solução com 0,10% de bromelina com adição do Dr. Therapy sem a enzima, o valor medido do pH foi o mesmo valor medido para a solução apenas com o Dr. Therapy comercial.

No gráfico 4, com os valores medidos de pH das soluções com apenas bromelina e das com bromelina e o creme capilar, é possível perceber que a enzima bromelina diminuiu o pH da solução com água desmineralizada (medido em aproximadamente 5,9) e aumentou o pH do creme em água desmineralizada (medido em aproximadamente 2,6), demonstrando seu caráter ácido, mas com o valor do potencial hidrogeniônico nas soluções entre 2,5 e 6,2.

4.3 ESPECTROSCOPIA DA REGIÃO UV/VIS

Foi possível obter a curva de calibração da bromelina em água desmineralizada, com a maltodextrina e água desmineralizada passadas na prova em branco para realizar as análises de espectroscopia UV-Vis, assim foi possível obter a equação da reta, que relaciona a concentração da enzima e sua absorção no comprimento de onda específico.

Por outras soluções, contendo a bromelina, poderiam conter outras moléculas que podem também possuir absorção ou ter mais afinidade de absorção na região do comprimento de onda 280 nm, o que foi notado na maltodextrina quando analisada no espectro, a equação da reta obtida é válida precisamente apenas para soluções de bromelina recém preparadas em água desmineralizada com a maltodextrina em água na prova em branco. Porém pode ser utilizada também para obter um limite máximo da bromelina e ter uma referência.

Para as soluções de bromelina que foram armazenadas, com as análises inicial no dia de preparação, após 1 semana (7 dias) e após 3 semanas (21 dias), foi possível perceber as modificações no espectro e uma mudança na absorção para o comprimento de onda observado para a curva de calibração, 280 nm.

Assim, é confirmado que a bromelina possui uma autodigestão em água, pois quando ocorre este processo, a molécula da enzima pode se dividir em várias outras moléculas na solução e pode possuir cromóforos com um maior valor de absorção lida pelo equipamento no comprimento de onda de 280 nm mesmo em pequenas quantidades (se possuir maior afinidade

de absorção), obtendo os gráficos comparativos do espectro na luz ultravioleta das concentrações, sendo necessário, para a fabricação dos produtos contendo a enzima, componentes que impeça esse processo de ocorrer, como por exemplo o soro $\alpha 2M$.

Com a análise da água da lavagem da mecha de cabelo tratado, simulando o banho 1 dia após o tratamento das mechas, foi possível perceber uma absorção maior para o creme com a bromelina. Para o comprimento de onda escolhido na curva de calibração, de 280 nm, a diferença de absorção é de 0,002, e com o cálculo da concentração, é obtido um valor de 0,003 g/L. Como no tratamento foi utilizado 7,5 g do creme, que contém 0,10% de bromelina, sendo assim 0,0075 g da enzima na porção, e com a lavagem do cabelo, realizada com 100 mL de água, foi lido no equipamento Uv-Vis a água utilizada na lavagem e com o valor da absorção, foi calculado um valor próximo de bromelina de 0,0003 g para os 100 mL, resultando no máximo de 4% da enzima que foi utilizada no tratamento retirada com a água. Como foi utilizado apenas água desmineralizada na prova em branco, o valor calculado pode apresentar desvios para valores maiores no cálculo, podendo obter assim, uma quantidade menor da enzima que foi removida pela lavagem, demonstrando que boa parte ou fica retida no cabelo ou durante o processo de tratamento é removida com as etapas. Como foi calculado, pode conter uma parcela da enzima na lavagem, demonstrando que uma pequena parte fica retida no fio de cabelo.

4.4 MICROSCOPIA CONFOCAL A LASER

Com as imagens obtidas de amostra de fio de cabelos sem tratamento, tratado apenas com o creme e tratado com o creme comercial, foi possível obter a rugosidade dos fios de cabelo. Todas as amostras foram limpas com o shampoo Deep Clean, e com a análise a amostra sem o tratamento apresentou rugosidade superficial média da ordem 27(~ 1) μm , já para a amostra tratada com o creme sem a bromelina, na Figura 27, esta ordem é reduzida para média 22(~ 1) μm , entretanto na amostra tratada com o creme comercial, com a bromelina, as cutículas sofrem um processo de “desfolhamento” e sua rugosidade é reduzida para 11(~ 1) μm .

Dois fatores podem estar relacionados, o ataque enzimático e remoção de camadas da cutícula na superfície do fio capilar por ação da enzima, que remove camadas do fio de cabelo ou por preenchimento dos espaços vazios entre as cutículas do fio. Esta ação é melhor

visualizada na Figura 28 que representa o resultado obtido para a amostra de cabelo tratado com o creme comercial com a bromelina, que obteve rugosidade média da ordem de 10 μ m.

Com as imagens dos fios de cabelo tratados, é possível perceber que as cutículas não estão abertas e não apresentam características de protuberância.

4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Através das imagens obtidas foi possível perceber modificações nas cutículas das amostras de fios de cabelo tratados com os diferentes cremes em comparação com o cabelo puro, mesmo sendo um cabelo virgem, sem modificações químicas (como alisamentos definitivos, relaxamentos, coloração, luzes, tratamentos), apresenta suas cutículas com uma abertura normal, nem fechada nem aberta, com uma leve deformação e ondulação, provavelmente devido às ações de agentes físicos do cotidiano, tais como escovação, radiação solar, entre outros. Com a ampliação para 1500 e 5000, é possível perceber as cutículas bem alinhadas e com pouca irregularidade, com produtos espalhados no fio, em quantidade relativamente baixa, sendo um possível resíduo do shampoo utilizado.

Para as amostras com o tratamento com o creme contendo 0,05% de bromelina na composição, não foi notada muita variação na abertura da cutícula em relação à amostra de cabelo puro, porém a cutícula apresentou maior deformação. Com a ampliação é possível verificar uma maior deposição de estruturas no fio, sendo a maior parte angulares e a menor, circulares. Com maior quantidade na extremidade da cutícula e com menos estruturas espalhadas pela superfície. Podendo ser pequenas partes da cutícula que quebraram ou resíduos do creme que foram cristalizados com a ação térmica da prancha (chapinha) e que permaneceram na superfície do fio.

Com o creme comercial foi possível notar as cutículas bem fechadas e alinhadas, como um efeito “envelope”, com leve ondulação nas extremidades de suas camadas, da mesma forma como no cabelo puro. Com uma menor quantidade de estruturas identificadas na superfície em relação à amostra de 0,05%.

Nas amostras tratadas com o creme de 0,25% foi possível perceber as cutículas bem fechadas e alinhadas, como um efeito “envelope” também, seguindo da ondulação já existente do cabelo. Na ampliação foi notada uma menor quantidade de estruturas, e pouca quebra nas

cutículas, com as estruturas nas extremidades das cutículas e quantidades irrelevantes no resto do corpo externo do fio.

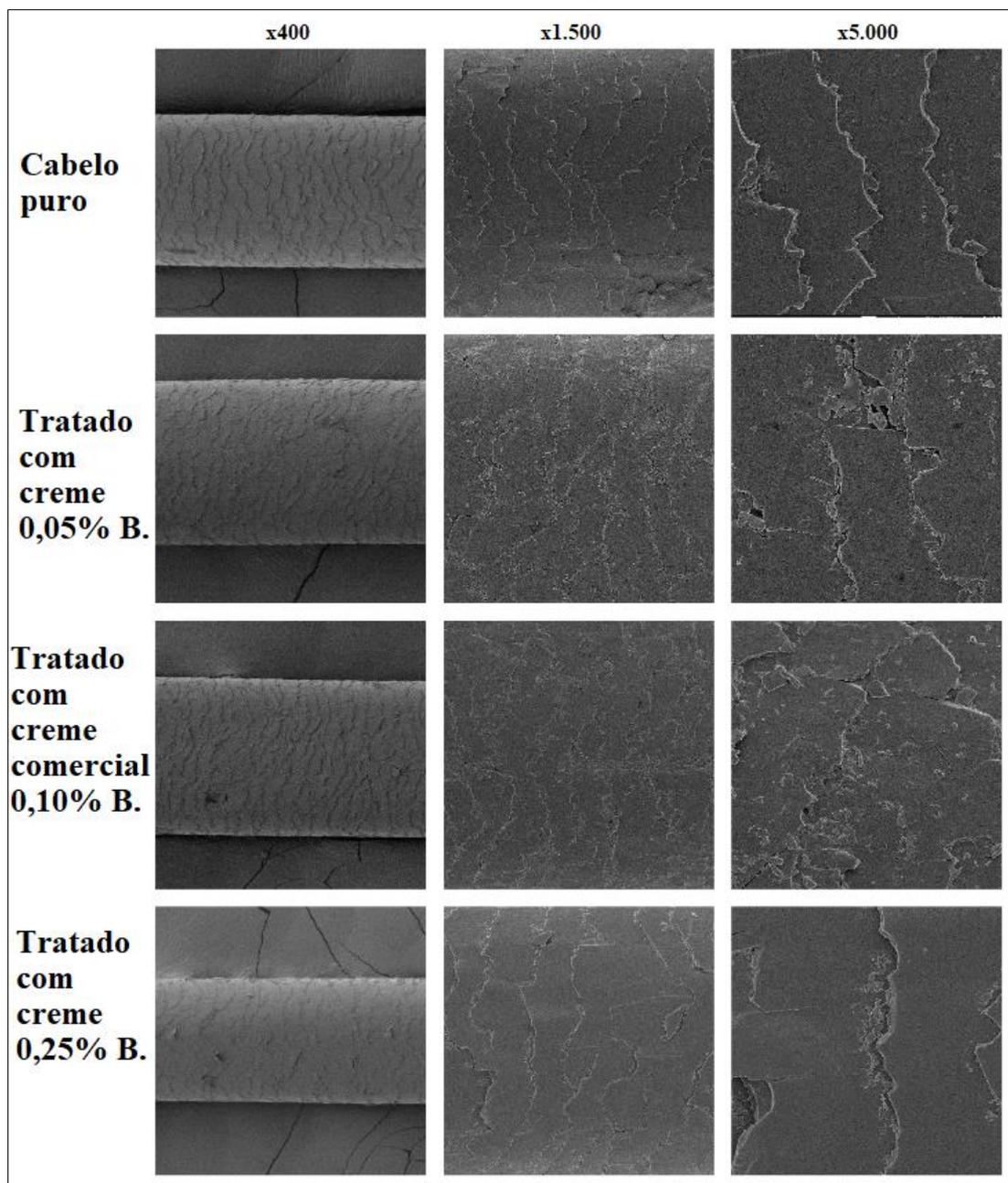
Com as imagens das amostras de 0,50% da enzima no creme, as cutículas aparecem com abertura maior em relação as amostras anteriores e o cabelo puro, com maior quantidade de deformação e rachaduras na superfície. Foi notado também uma grande quantidade de estruturas no fio, com algumas apresentando um maior tamanho em relação aquelas percebidas nas amostras comparadas anteriormente, e não notado no cabelo puro.

Para as amostras de 1,00% foi notado uma maior abertura das cutículas e maior deformação, com a ampliação foi percebido a cutícula mais aberta em sua extremidade em comparação com o cabelo puro e as amostras anteriores, com exposição do interior do fio. Foi percebido também uma grande quantidade de estruturas, porém em menor quantidade em relação a amostra de 0,50% de bromelina.

Nas amostras com o tratamento sem a bromelina na composição, as cutículas não apresentaram uma maior variação em sua abertura em relação ao cabelo normal, semelhante a amostra de tratamento de 0,05%. Na ampliação é possível perceber as cutículas alinhadas e com pouca deformação, e contém também algumas estruturas espalhas pelo fio.

Nas amostras tratadas com 0,50% e 1,00% de bromelina apresentaram uma maior deformação na camada das cutículas das amostras do fio de cabelo.

Figura 58 – Comparativo das imagens MEV obtidas para o cabelo puro, tratadas com creme 0,05%, 0,10% (comercial) e 0,25% de bromelina.



4.6 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURRIER

Nos gráficos foi possível perceber o pico de baixa transmitância no número de onda entre 1630 cm^{-1} a 1650 cm^{-1} , confirmando as vibrações do infravermelho das proteínas

correspondente da banda amida I, associadas as vibrações de ligações C=O e estão diretamente relacionadas a estrutura das proteínas.

Os picos de número de onda de 1225 cm^{-1} correspondem a banda de amida III e de vibrações de P-O e P=O, não apresentando modificações entre as amostras de cabelo, puro e tratados, correspondente ao íon de fosfato de cálcio. Outros picos como 3277 cm^{-1} , 1457 cm^{-1} e 1340 cm^{-1} , correspondente respectivamente a: amida A, com vibrações da banda de N-H; vibrações da deformação angular no plano de CH_2 dos grupos de lipídios e proteínas (LDL – *Low Density Lipoprotein*, do inglês, ou lipoproteínas de baixa densidade); e vibrações de deformação de CH_3 de aminoácidos; não apresentaram alterações nos picos dos gráficos das análises das amostras, demonstrando que não houve alterações químicas nesses complexos, visto também que a banda C-H presente em 1450 cm^{-1} não sofre alterações com o tratamento.

Com os gráficos gerados e através das análises dos menores valores de transmitância, os picos dos gráficos, foi possível observar que nos pontos de número de onda de 1040 cm^{-1} notado nas amostras de cabelo puro, cabelo tratado com 0,10% (creme comercial) e 0,25% de bromelina na composição do creme, houve um leve deslocamento da banda para a região próxima de 1060 cm^{-1} no cabelo tratado com 0,05%, 0,50%, 1,00% de bromelina no creme, fato também percebido para o tratamento sem a enzima. Esse número de onda (1040 cm^{-1}) corresponde a vibração do infravermelho da ligação S-O, e pode ser atribuída ao estiramento simétrico do resíduo ácido cisteico, que é gerado na reação de agentes oxidantes com as proteínas do cabelo humano, que acontece na ligação dissulfeto da cistina, em que gera o resíduo ácido cisteico. Esse pico de menor transmitância foi observado nas amostras tratadas com 0,05% de bromelina, 0,10% (creme comercial) e de 0,25%, e em maiores concentrações (de 0,50% e 1,00%) houve um leve deslocamento do número de onda até que igualou ao tratamento com o creme sem bromelina. [21, 25]

Outra banda também que houve um leve deslocamento, foi localizada no número de onda com pico em 1538 cm^{-1} para o cabelo puro, com alterações após o tratamento em todas as amostras de cabelo, com alteração de um novo pico para a região do 1510 cm^{-1} . Com essa banda correspondente ao complexo amida II, e a deformação angular do infravermelho de N-H acoplada as ligações C-N da proteína, e através da análise foi possível observar um leve deslocamento dessa banda com o tratamento e com maior intensidade para o tratamento contendo a enzima bromelina e menor para o tratamento com o creme sem a enzima.

Através da análise de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, é possível notar que a bromelina presente no creme não altera quimicamente a estrutura do cabelo, com exceção da banda relacionada da Amida II, com as ligações N-H acopladas as ligações C-N da proteína. A análise comprova também modificações em bandas de vibrações proveniente do ácido cisteico das reações dos agentes oxidantes nas ligações dissulfeto do cabelo e também na aparição de picos de menor transmitância, após o tratamento, nos números de onda da região do 670 cm^{-1} e do 500 cm^{-1} , não detectado no cabelo puro (a partir de 1000 cm^{-1}), com o deslocamento da banda na região de 500 cm^{-1} , correspondente as vibrações de ligações S-S e S=O e de deformação angular entre C-N, para a região de 515 cm^{-1} .

4.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO RAMAN

Na região de número de onda de 509 cm^{-1} a 520 cm^{-1} , correspondente ao alongamento S-S, em comparação com o cabelo puro, houve um leve aumento na banda após o tratamento das mechas, com o aparecimento de um novo pico, percebido na região entre 530 e 515 cm^{-1} , de intensidade mediana para o creme comercial (0,10% de bromelina), creme com 0,50% e sem bromelina, com maior intensidade para os cremes com 0,05% e 1,00% de bromelina, já com o tratamento do creme de 0,25% não apresentou um novo pico, semelhante ao cabelo puro, mas com aumento da intensidade em $506,5\text{ cm}^{-1}$. Com a comparação da intensidade e dos picos na região do 500 cm^{-1} a 520 cm^{-1} , foi possível observar que com o tratamento houve o deslocamento dos picos em comparação com o cabelo puro, com a formação de picos na região de 510 a 515 cm^{-1} , referentes a formação de ligações de S-S, que é assimilado com as conformações tensas que afetam de modo superficial a estrutura física do fio, confirmando o alinhamento dos fios do cabelo.

Em compensação da região dos números de onda entre 500 cm^{-1} a 520 cm^{-1} , na quebra das ligações dissulfeto (S-S), há a formação do aminoácido cisteína (ácido cisteico) na região próxima de 1040 cm^{-1} , correspondente ao esticamento simétrico de S-O. Nos espectros foram analisados baixa intensidade no número de onda de 1041 cm^{-1} , percebidos nas amostras tratadas com 0,05%, 0,50% e 1,00% de bromelina no creme, porém nos espectros foi observado um deslocamento da banda para a região do 1070 cm^{-1} a 1090 cm^{-1} , mesmo com o creme sem a enzima, demonstrando que a bromelina não necessariamente tem parte direta nessa etapa ou por ser uma enzima proteolítica, hidrolisando as ligações do aminoácido.

Outra diferença notada foi o deslocamento das bandas assimiladas para ligações C-S em 630 cm^{-1} e em 710 cm^{-1} do cabelo puro em comparação com as outras amostras. Com a diminuição da intensidade da região do 636 cm^{-1} para amostras tratadas sem bromelina e de 0,05%, 0,10% e 0,50%, e aumento para amostras de 0,25% e 1,00%, com deslocamento da banda para a região de 640 e 620 cm^{-1} . Já na região do 710 cm^{-1} houve o deslocamento para a região entre 715 e 720 cm^{-1} , com exceção da amostra tratada com 0,25%, deslocando a banda para próximo de 709 cm^{-1} .

Na região de 1000 cm^{-1} até 1100 cm^{-1} , fornecem informações de ligações C-C de lipídios. Com o espectro gerado pelo Raman foi possível perceber maior intensidade da banda na região do 1070 cm^{-1} a 1090 cm^{-1} comparado ao cabelo puro para as amostras de 0,25%, 0,50%, 1,00% e do creme sem bromelina e uma diminuição para as amostras de 0,05% e 0,10%.

Na região de 1270 cm^{-1} até 1300 cm^{-1} , correspondente a Amida III, não apresentou modificações bruscas, com o deslocamento e um leve aumento da intensidade para a amostra de 0,50% e um aumento maior para o creme sem bromelina e para o creme com 1,00%.

Conforme visto nas ampliações a seguir:

Figura 59 – Ampliação do espectro na faixa de 570 cm^{-1} a 500 cm^{-1} .

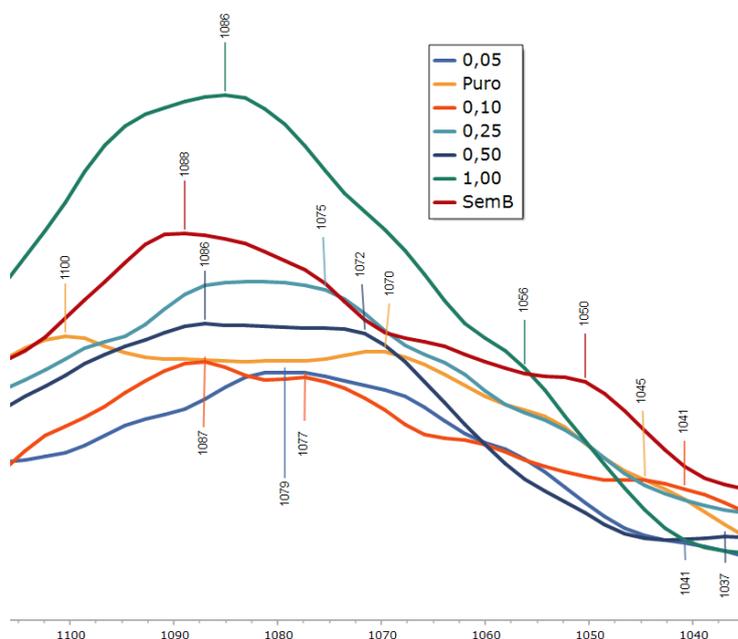


Figura 60 – Ampliação do espectro na faixa de 1100 cm^{-1} a 1040 cm^{-1} .

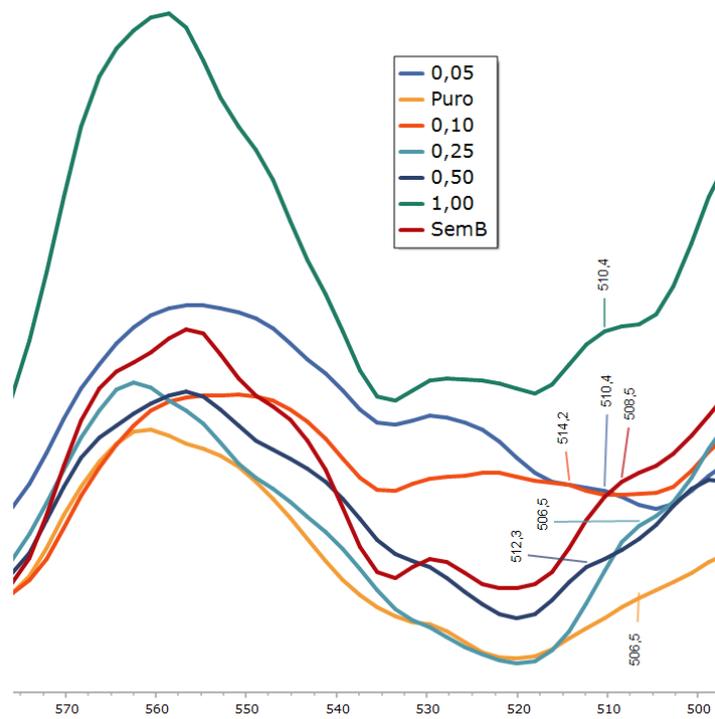
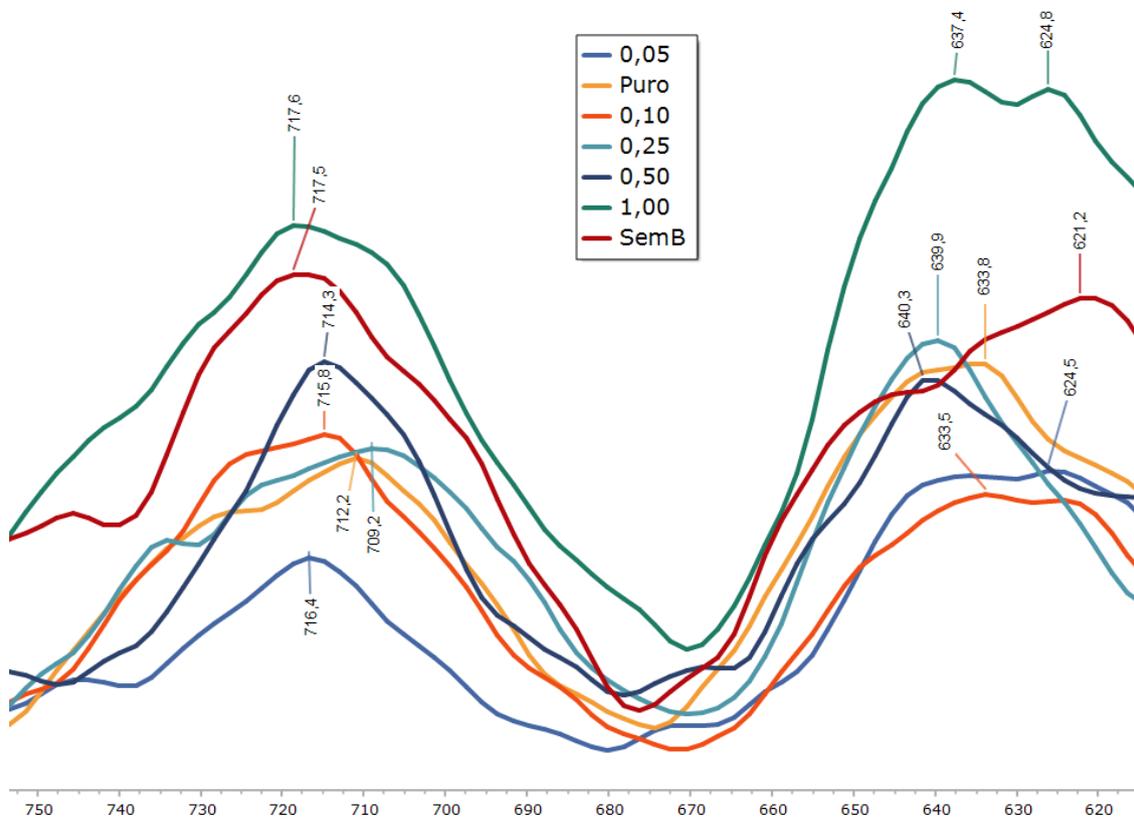


Figura 61 – Ampliação do espectro na faixa de 750 cm^{-1} a 620 cm^{-1} .



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com as reuniões online via Microsoft Teams com os coordenadores para a elaboração do projeto, alguns assuntos iniciais foram discutidos, como quais métodos de análise e a maneira para prosseguir com a enzima bromelina para a realização das análises devido ao seu estado físico e propriedades físico-químicas para diluições e misturas.

Com o início do projeto de iniciação científica, foram discutidos quais as concentrações que a enzima bromélica seria adicionada no creme capilar para as realizações das análises para futuras comparações dos resultados. Foram estabelecidas as concentrações juntamente com a equipe e o CEO da Fogazza Cosmetics.

Após alguns e com as reuniões testes foram estabelecidos novas condições de análise para dar prosseguimento, para verificar a influência da enzima bromelina no tratamento da fibra capilar, com as técnicas de análise observando cada aspecto que seria possível pelo método.

Com as análises foi possível perceber o comportamento da fibra capilar nas técnicas de análise igualmente como encontrando da literatura, confirmando as técnicas. Os fios de cabelo, antes e após os tratamentos, foram analisados com o espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier e Raman, obtendo espectros no infravermelho e verificando as vibrações intramoleculares. Foi realizado também análises da superfície do fio, com as técnicas de microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal a laser de refletância, obtendo imagens de alta resolução da superfície dos fios de cabelo e também imagens tridimensionais com o RCM, o que possibilitou uma melhor discussão dos resultados.

Com os dados obtidos pelas diferentes técnicas de análise, foi possível verificar a influência da bromelina oriunda do abacaxi nos tratamentos de progressiva com enzimoterapia nos fios de cabelo, verificando as mudanças nos fios de acordo com cada concentração de enzima adicionada ao creme e comparando os resultados.

Foi demonstrando a eficiência do uso da enzima bromelina no tratamento da fibra capilar, com as variações da estrutura do fio, tanto da superfície como das ligações químicas, percebidas para cada técnica de análise.

A técnica de análise Raman, com grande importância nas análises de fio de cabelo por ..., sendo uma técnica complementar do FTIR, em que no FTIR há a transmitância, e no Raman a absorvância no infravermelho para os mesmos números de onda. Com os resultados da análise

foi comprovado o deslocamento das bandas notado em FTIR, a análise de Raman serviu para corroborar com os dados obtidos anteriormente no infravermelho com Fourier.

Com os resultados foi possível perceber a atuação da enzima no fio de cabelo, impulsionando as propriedades do creme no alisamento capilar como um catalizador de propriedades alisantes (notado nas imagens por microscopia eletrônica de varredura e confocal) e apresentou melhorias na estrutura fibrilar do cabelo, não atuando nas ligações químicas da superfície (notado por FTIR e Raman) mas com deposição e interações nas estruturas, cem que na concentração de 0,25% apresentou melhores resultados de alisamentos em comparação com as outras concentrações e sem a enzima, com bromelina aprimorando os resultados do alisamento, conferido visualmente e analiticamente, sendo um agente que melhora o sistema de alisamento, trabalhando junto com o creme e suas reações no tratamento, tornando um produto de enzimoterapia inovador e promissor.

REFERÊNCIAS

1. SILVA, Elisabete Miranda da. **Caracterização físico-química e termoanalítica de amostras de cabelo humano**. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, University of São Paulo, São Paulo, 2012.
2. FRANÇA, Simone Aparecida da. **Caracterização dos cabelos submetidos ao alisamento/relaxamento e posterior tingimento**. 2014. Dissertação (Mestrado em Produção e Controle Farmacêuticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2014.
3. LIMA, Cibele Rosana Ribeiro de Castro. **Caracterização físico-química e analítica de fibras capilares e ingredientes cosméticos para proteção**. 2016. Tese (Doutorado em Produção e Controle Farmacêuticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2016.
4. COLENCI, Ana Vivian Parrelli. **Efeito de uma formulação contendo o biopolímero quitosana sobre a fibra capilar caucasiana**. 2007. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Bioengenharia, University of São Paulo, São Carlos, 2007.
5. Sá DIAS, Tania Cristina de. **Avaliação in vitro do efeito de diferentes processos de alisamento químico/térmico na fibra capilar**. 2015. Tese (Doutorado em Produção e Controle Farmacêuticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2015.
6. Termo realinhamento capilar. **Docplayer**, 2020. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/167998174-Termo-realinhamento-capilar.html>>. Acesso em: 14 de agosto de 2021.
7. COSTA, Helber Barcellos. **Desenvolvimento de Processo para a Purificação de Bromelina a partir de Resíduos de Abacaxizeiro (Ananas Comosus var. Comosus)**

- cv. **Vitória**. 2014. 150 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014.
8. ROBERTO, Afonso da Silva; JOSÉ, Luiz de Lima Filho. **Caracterização físico-química e purificação da bromelina do Ananas comosus (L.) Merrill (Abacaxi-Bromeliaceae)**. 2008. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.
 9. GODOI, Patricia Helena de. **Estudo da atividade enzimática da bromelina pura em solução em diferentes temperaturas e pH**. 2007. 49f. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP.
 10. França-Santos, A., et al. **Estudos bioquímicos da enzima bromelina do Ananas comosus (abacaxi)**. Scientia Plena 5, no. 11 (2009).
 11. MOURA, Mariele Nair de Campos. **Estudo da atividade enzimática da bromelina pura e do resíduo de abaxi em diferentes pH e temperatura constante**. 2010. 37 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP.
 12. Bromelina. **Viafarma**, 2011. Disponível em: <
http://laboratorionutramedic.com.br/site/public_images/produto/6e51f9a35f70058315214184842090bc.pdf>. Acesso em: 9 de agosto de 2021.
 13. Herrmann, Paulo SP, et al. **Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros**. Polímeros 7, 1997, v. 7, n. 4, pp. 51-61.
 14. DEDAVID, Berenice Anina; GOMES, Carmem Isse; MACHADO, Giovanna. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Rio Grande do Sul. EdUPUCRS, 2007.

15. PIRES-OLIVEIRA, Rafael. **Degradação de cabelo causada por tensoativos: quantificação por meio da análise das soluções de lavagem por espectrofotometria UV/Vis.** 2013. 57 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP.
16. CUNHA, Dayana Alves da Silva, et al. **APLICAÇÕES DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) PARA CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS.** Anais do ENIC 6 (2014).
17. FOGAZZA Cosmetics. **TREATMENT DR. THERAPY ENZYME TREATMENT – TRATAMENTO ENZIMOTERÁPICO.** Fogazza Cosmetics Beauty & Soul. 2020.
18. MONTOYA, Diana Sofía Coello; TORRES, Janella Juleen Hidalgo. **Comparación de la concentración y actividad enzimática de la bromelina obtenida a partir de la pulpa de la piña (ananas comosus) variedad perolera de dos grados de madurez.** Bachelor's thesis, 2013.
19. CORRÊA, J. R. et al. **Microscopia Confocal Básica.** Universidade de Brasília, DF. 2012.
20. CESAR, Sabrina Sisto Alessi. **Microscopia confocal a laser na avaliação in vivo da gengivite descamativa: padrões no penfigóide das membranas mucosas, pênfigo vulgar e líquen plano oral.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, SP. 2015.
21. SANTOS, Jordana Dias dos. **Caracterização de fios de cabelo antes e após tratamentos químicos e físicos por espectroscopias Raman e no infravermelho e microscopia eletrônica.** Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Juiz de Fora Juiz de Fora. 2017.
22. KAMATCHI, S., GUNASEKARAN, S., SAILATHA, E., PAVITHRA, R., & KUPPURAJ, P. **FTIR-ATR spectroscopic technique on human single intact hair**

- fibre-A case study of thyroid patients.** International Journal of Advanced Scientific Technologies in Engineering and Management Sciences, v. 2, ed. 5, pag. 1-6. 2016.
23. MUJEEB, Mohd Abdul, ZAFAR, M. K. M. **FTIR spectroscopic analysis on human hair.** Int J Innov Res Sci Eng Technol v. 6, ed. 5, pag. 9327-9332. 2017.
24. SILVA, Elisabete Miranda da. **Caracterização físico-química e termoanalítica de amostras de cabelo humano.** Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. 2012.
25. SANTOS, Jordana Dias Dos, EDWARDS, Howell GM, OLIVEIRA, Luiz Fernando Cappa de. **Raman spectroscopy and electronic microscopy structural studies of Caucasian and Afro human hair.** Heliyon 5 2019.
26. GOMES, Ivana MB; PEREIRA, Aline Priscila Campos; SILVA Michely Glenda Pereira da; SILVA, Taciana D. Magrini X; MARTIN, Airton A. **ANÁLISE DA PERMEAÇÃO DE NANOLIPÍDEOS EM CABELO HUMANO.** Revista Univap 22, no. 40, pag. 607. 2016.
27. GOSHIYAMA, Alessandra Mari. **Avaliação das propriedades das fibras capilares tratadas com alisante ácido com diferentes valores de pH.** Dissertação (Mestrado em Produção e Controle Farmacêuticos). Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticos. São Paulo - SP, 2019.
28. SILVA, Elisabete Miranda da. **Caracterização físico-química e termoanalítica de amostras de cabelo humano.** Dissertação (Mestre em Química Analítica). Universidade de São Paulo, Instituto de Química. São Paulo – SP, 2012.
29. MACIEL, Aline Pompeo de Campos. **Avaliação da rugosidade de resinas compostas após imersão em solução ácida com uso de confocal.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia). Faculdade de Ciências e Saúde da Universidade de Brasília, Brasília. 2017.

30. KUZUHARA, Akio. **Analysis of Structural Change in Keratin Fibers Resulting from Chemical Treatments Using Raman Spectroscopy.** *Biopolymers*, vol. 77, p. 335-344. Wiley InterScience 2005.