

PREVISÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS – PROPOSTA DE OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO EMPREGANDO A TÉCNICA FOTOACÚSTICA

Sergio Luiz de Oliveira¹, Paulo Roxo Barja²

¹UNIVAP/IP&D/FASBio, Av. Shishima Hifumi 2911, soliveir@conbr.jnj.com

²UNIVAP/IP&D/FASBio, Av. Shishima Hifumi 2911, barja@univap.br

Resumo - A previsão do fator de proteção solar (FPS) e a investigação da eficácia de ingredientes absorvedores de ultravioleta são de extrema importância para a indústria cosmética. Devido aos altos custos e alta demanda de tempo envolvidos nas técnicas *in vivo* de determinação do FPS, a constante pesquisa de técnicas *in vitro* capazes de estimar o FPS é de extrema importância no desenvolvimento de novos produtos. O estudo aqui apresentado avalia: a) diferentes substratos; b) a correspondência entre as técnicas *in vitro* de espectroscopia fotoacústica e espectroscopia de absorção com esfera de integração; e c) a correlação entre estas técnicas e o valor de FPS de rótulo do produto.

Palavras-chave: Espectroscopia fotoacústica, proteção solar, FPS, pele sintética, PMMA.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica

Introdução

A metodologia mais aceita para avaliar o fator de proteção solar (FPS) de um protetor é aquela que emprega humanos e considera respostas biológicas associadas à proteção que se deseja medir, como recomendado pelo Food and Drug Administration (FDA) nos EUA (FDA, 1993), pela COLIPA na Europa (CTFA/COLIPA/JCIA, 1993) ou ainda pela JCIA no Japão (JCIA, 1991). Como alternativa de baixo custo e alta velocidade, diversos instrumentos, substratos e técnicas de soluções diluídas têm sido empregadas na determinação *in vitro* do FPS (STOKES; DIFFEY, 1999).

As metodologias *in vitro* apresentam vantagens quanto à economia e velocidade, mas ainda são deficitárias na exatidão da previsão do nível de proteção. Quando aplicados sobre uma superfície não homogênea, os protetores solares não obedecem a Lei de Beer-Lambert sobre a absorvância em filmes finos ($2\text{mg}/\text{cm}^2$). Por outro lado, as propriedades ópticas de filmes dependem da rugosidade da superfície do substrato, da extensão da permeação dos filtros no substrato utilizado, da força utilizada na aplicação durante o cisalhamento do produto sobre o substrato e do grau de interação dos ingredientes do produto com a superfície do substrato e como esta interação afeta a uniformidade do filme protetor formado (COLE, 2001).

Os instrumentos acoplados com dispositivos de integração esféricos imediatamente após a amostra em teste são as melhores construções para a obtenção do FPS no formato de filme fino (AS/NZS, 1998; DIN, 2004).

Dentre as técnicas *in vitro* e *in vivo* não invasivas, a espectroscopia fotoacústica tem se mostrado promissora (BALASUBRAMANIAN; RAO, 1986; KOMEL *et al*, 1986; SEHN *et al*, 2003; ANJOS *et al*, 2004). O efeito fotoacústico consiste na geração de ondas acústicas e efeitos termoelásticos a partir da absorção de radiação modulada por uma amostra. A técnica fotoacústica permite obter informação sobre propriedades térmicas e ópticas dos materiais, bem como monitorar a cinética de processos que impliquem na alteração dessas propriedades.

A técnica fotoacústica constitui uma opção experimental com muitas aplicações no estudo de propriedades ópticas como absorção e transmissão de radiação eletromagnética. Permite a análise de tecidos biológicos intactos, o que a torna uma importante ferramenta de pesquisa na biomedicina e na biologia. Na fotoacústica, as propriedades de absorção molecular de um material são estudadas baseando-se diretamente na absorção da luz incidente. Assim, esta técnica pode ser empregada na caracterização de materiais opacos e sistemas biológicos complexos (ANJOS *et al.*, 2004).

O objetivo do presente trabalho é apresentar a técnica fotoacústica como ferramenta auxiliar na determinação *in vitro* dos fatores de proteção solar (FPS) de produtos comercialmente disponíveis.

Materiais e Métodos

As técnicas espectroscópicas utilizadas foram a de absorção acoplada com detector de esfera de integração e a fotoacústica.

Na investigação com espectroscopia óptica de absorção, dois substratos foram empregados: placa de poli(metacrilato de metila) (PMMA) e pele sintética VitroSkin® (nas medidas de espectroscopia fotoacústica, apenas o substrato VitroSkin® foi empregado).

Os protetores solares sob análise foram aplicados em duas diferentes concentrações para cada um dos substratos estudados: 0,8 e 2,0mg/cm².

Quatro produtos protetores solares foram empregados no estudo e apresentam os seguintes FPS's declarados em rótulo: 8, 15, 20 e 30. Os produtos apresentam mesma constituição base, porém diferentes teores de filtros UV empregados, conforme a tabela 1.

Tabela 1 - Teor de filtros UV nos produtos estudados

Filtro UV	[]%p/p			
	FPS 8	FPS 15	FPS 20	FPS 30
Metoxinamato de etilhexila	5,5	7,5	7,5	7,5
Bis-etilxiloxifenolmetoxi fenil triazina	0,5	0,5	0,9	2,5
Dióxido de titânio	0,0	1,5	1,0	1,0

O **espectrofotômetro de absorção** utilizado foi o Analisador de Transmitância Ultravioleta Labsphere UV-1000S (Labsphere Inc.). Este equipamento é equipado com um detector com esfera de integração. (LABSPHERE, 2003).

O UV-1000S utiliza uma lâmpada de xenônio pulsada, montada dentro da esfera de integração. A lâmpada fornece energia suficiente para o intervalo espectral de 250 a 450nm.

A **montagem fotoacústica** empregada neste estudo foi composta dos seguintes equipamentos: lâmpada de arco de xenônio (Oriol, mod. 6128, 1000W); modulador mecânico (PAR, mod. 192); monocromador (Oriol, mod 77250); amplificador síncrono (PAR-EG&G, mod. 5210); célula fotoacústica (fabricada na UNIVAP).

O modulador e a célula fotoacústica são conectados ao amplificador síncrono, que é conectado através de uma interface de uso geral a um microcomputador para a aquisição de dados. A constante de tempo utilizada na captação do sinal é de 1s e fornece o tempo de resposta da montagem. A frequência de modulação utilizada nas medidas fotoacústicas foi de 17Hz.

Os dois **substratos** utilizados no presente estudo foram a placa de PMMA (conforme

especificação da norma DIN 67502) (DIN, 2004) e a pele sintética VitroSkin®.

A *pele sintética VitroSkin®* é um produto comercialmente disponível produzido por IMS Inc. EUA. Esse substrato simula as propriedades da superfície da pele humana quanto à composição química e propriedades físico-químicas (IMS, 2002).

Espectroscopia de absorção com detector de esfera de integração - O espectro de absorção do substrato VitroSkin® foi inicialmente obtido como espectro de referência. Uma micropipeta foi utilizada para dispensar o produto no substrato. O protetor solar foi dispensado na forma de várias pequenas gotas sobre o substrato e gentilmente espalhado com o dedo revestido com uma dedeira de látex. Deixou-se secar o produto por 15 minutos e após a secagem foi obtido o espectro de absorção. Para cada produto investigado, foram preparadas quatro amostras nas duas concentrações investigadas: 0,8 e 2,0 mg/cm².

O procedimento acima foi repetido utilizando-se como substrato a placa de PMMA.

Espectroscopia fotoacústica - Inicialmente foi obtido o espectro fotoacústico do pó de carvão para determinação do espectro de emissão da lâmpada (ANJOS *et al.*, 2004). Todos os espectros subseqüentes foram normalizados em relação ao espectro da lâmpada. No experimento com a espectroscopia fotoacústica, devido a restrições dimensionais da célula fotoacústica, apenas o substrato VitroSkin® foi utilizado.

O cálculo do FPS *in vitro* foi determinado como segue:

$$FPS = \frac{\int_{290\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \cdot S_{\lambda} \cdot d\lambda}{\int_{290\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \cdot S_{\lambda} \cdot T_{\lambda} \cdot d\lambda} \quad (1)$$

onde E_{λ} é a efetividade espectral eritematosa, S_{λ} é a irradiância solar espectral esperada para um dia de céu limpo ao meio dia no meio do verão numa latitude de 40°N e T_{λ} é a transmitância espectral da amostra (STOKES; DIFFEY, 1999; LABSPHERE, 2003; DIFFEY, 1998).

Para a determinação do FPS *in vitro* através da técnica fotoacústica, o sinal fotoacústico das amostras foi manipulado através do uso de uma planilha no programa Excel com a implementação de um algoritmo conforme a equação 1 acima. O produto de FPS 30 foi escolhido como referência de calibração. Assim, conforme a equação 2 abaixo, determinou-se de forma iterativa a constante K então aplicada no cálculo do FPS de todas as curvas obtidas por espectroscopia fotoacústica, individualmente.

$$FPS = \frac{\int_{290\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \cdot S_{\lambda} \cdot d\lambda}{\int_{290\text{ nm}}^{400\text{ nm}} E_{\lambda} \cdot S_{\lambda} \cdot 10^{-(a_{\lambda} \cdot K)} \cdot d\lambda} \quad (2)$$

Resultados

Espectroscopia de absorção - Nas figuras e tabelas abaixo, são apresentados os resultados da espectroscopia de absorção com detector com esfera de integração e substrato VitroSkin®.

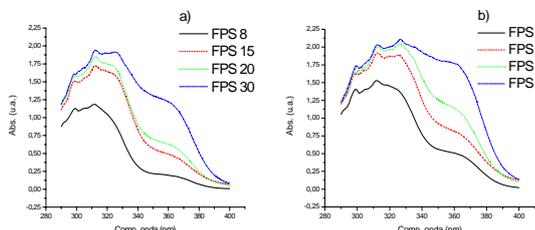


Figura 1 - Curva média - substrato VitroSkin®; a) 0,8mg/cm² e b) 2,0mg/cm².

Tabela 2 - FPS *in vitro* médio (substrato VitroSkin®; 0,8mg/cm² e 2,0mg/cm²)

FPS declarado	FPS <i>in vitro</i> (média ± erro padrão)	
	0,8 mg/cm ²	2,0 mg/cm ²
8	8,0 ± 0,1	15,6 ± 0,5
15	19,1 ± 0,2	30,2 ± 0,2
20	23,1 ± 0,5	37,6 ± 1,5
30	36,3 ± 1,2	50,0 ± 1,4

A seguir, a tabela 3 expressa os dados do ajuste linear do FPS *in vitro* com substrato VitroSkin® por espectroscopia de absorção *versus* o FPS declarado em rótulo segundo a equação:

$$FPS_{IN VITRO} = A + B \cdot FPS_{NOMINAL} \quad (3)$$

Tabela 3 - dados da regressão linear FPS *in vitro* x FPS declarado (substrato VitroSkin®, 0,8mg/cm² e 2,0mg/cm²)

Concentração (mg/cm ²)	A	B	R ²
0,8	-1,33	1,25	0,991
2,0	5,24	1,54	0,980

Nas figuras e tabelas a seguir, apresentam-se os resultados da espectroscopia de absorção com detector com esfera de integração e substrato PMMA.

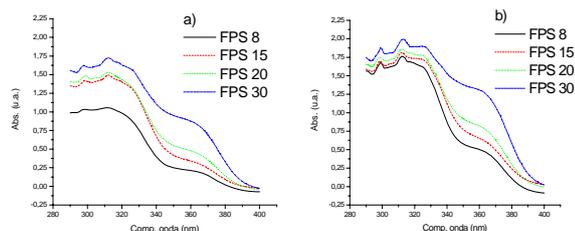


Figura 2 - curva média - substrato PMMA: a) 0,8mg/cm² e b) 2,0mg/cm².

Tabela 4 - FPS *in vitro* médio (substrato PMMA; 0,8mg/cm² e 2,0mg/cm²)

FPS declarado	FPS <i>in vitro</i> (média ± erro padrão)	
	0,8 mg/cm ²	2,0 mg/cm ²
8	7,2 ± 0,2	19,1 ± 0,5
15	13,6 ± 0,5	24,6 ± 0,9
20	15,6 ± 0,4	28,4 ± 0,9
30	25,0 ± 1,2	42,5 ± 1,4

A tabela 5 abaixo expressa os dados do ajuste linear do FPS *in vitro* com substrato PMMA por espectroscopia de absorção *versus* o FPS declarado em rótulo.

Tabela 5 - dados da regressão linear FPS *in vitro* x FPS declarado (substrato PMMA; 0,8mg/cm² e 2,0mg/cm²)

Concentração (mg/cm ²)	A	B	R ²
0,8	0,86	0,79	0,988
2,0	9,25	1,06	0,971

Espectroscopia fotoacústica - Nas figuras e tabelas a seguir são apresentados os resultados da espectroscopia fotoacústica com substrato VitroSkin®.

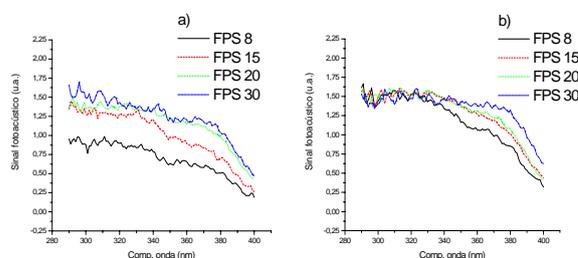


Figura 3- Curva média - substrato VitroSkin®: a) 0,8 mg/cm² e b) 2,0 mg/cm².

Tabela 6 - FPS *in vitro* médio (substrato VitroSkin®, 0,8mg/cm² e 2,0mg/cm²)

FPS declarado	FPS <i>in vitro</i> (média ± erro padrão)	
	0,8 mg/cm ²	2,0 mg/cm ²
8	7,6 ± 0,1	31,2 ± 2,1
15	19,3 ± 2,5	32,1 ± 1,2
20	23,4 ± 0,3	33,6 ± 2,3
30	30,0 ± 1,8	30,0 ± 0,6

A seguir, a tabela 7 expressa os dados do ajuste linear do FPS *in vitro* com substrato

VitroSkin® por espectroscopia fotoacústica *versus* o FPS declarado em rótulo.

Tabela 7 - dados da regressão linear FPS *in vitro* x FPS declarado - substrato VitroSkin®; 0,8 mg/cm² e 2,0mg/cm²

Concentração (mg/cm ²)	A	B	R ²
0,8	1,93	0,99	0,947
2,0	32,5	-0,04	0,054

Para os produtos avaliados por espectroscopia fotoacústica com o substrato VitroSkin®, a concentração de 0,8mg/cm² apresentou uma ótima correlação entre os dados (R² = 0,947; B = 0,99). A condição de teste de 2,0mg/cm² não apresentou correlação entre os dados, ocorrendo uma saturação do sinal na região do UVB (290 a 320nm) que não permite sensibilidade da técnica nesta condição.

Conclusão

A concentração de produto de 0,8mg/cm² foi a que apresentou melhor qualidade da previsão do FPS na metodologia *in vitro*, tanto na espectroscopia de absorção quanto na fotoacústica. Verificou-se qualidade óptica superior para o substrato PMMA, enquanto o substrato VitroSkin® levou à saturação do sinal na região UVB.

Até onde podemos afirmar, o presente trabalho representa uma tentativa pioneira de aplicar a fotoacústica como auxiliar na determinação do fator de proteção solar de produtos comercialmente disponíveis. Dos dados obtidos, as medidas fotoacústicas, combinadas com a padronização externa, utilizando um dos produtos como referência e na concentração de 0,8mg/cm², apresentaram a melhor correlação direta com os valores de FPS declarados em rótulo. Este resultado mostra o grande potencial da técnica fotoacústica que, com as devidas adaptações, poderá contribuir para o estabelecimento de um novo método de determinação *in vivo* do FPS, de forma minimamente invasiva e dispensando o emprego das altas doses de radiação UV atualmente utilizadas para a indução do eritema.

Agradecimentos

P.R.B. agradece à Fapesp pelo apoio concedido (Projeto JP 04/02193-1).

Referências

- ANJOS, F.H., ROMPE, P.C.B., BATISTA, R.R., MARTIN, A., MANSANARES, A.M., SILVA, E.C.,

AVALOS, D.A., BARJA, P.R., "Sunscreen effects in skin analyzed by photoacoustic spectroscopy", *Opt. Diag. Sens. IV*, SPIE, Bellingham, 2004, pp.143-9.

AS/NZS - Australian/New Zealand Standard 2604:1998, 1998.

BALASUBRAMANIAN, D., RAO, M., "Application of photoacoustics to biology: some specific systems and methods", *Can J. Phys.*, v.64, 1986, pp.1132-5.

COLE, C., "Sunscreen protection in the ultraviolet A region: how to measure the effectiveness", *Phot Phot & Photomed.*, 2001.

CTFA/COLIPA/JCIA, *International Sun Protection Factor (SPF) Test Method*, Feb/2003.

DIFFEY, B. L., *Sunscreens – Development, Evaluation and Regulatory Aspects*; 2nd ed., 1998, pp.589-609.

DIN -German Standard DIN 67502, Jan/2004.

FDA, Department of Health and Human Services, *Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use*, Tentative Final Monograph, Proposed Rule, 21 CFR Part 352 et al. 1993.

IMS Inc; *What is VITRO-SKIN™?*, 2002.

JCIA - Japanese Cosmetic Industry Association, *Standard SPF Test Method*, 1991.

KÖMEL, K., SENNHENN, B., GIESE, K., "Evaluation of drug penetration into the skin by photoacoustic measurement", *J. Soc. Cosmet. Chem.*, Vol.37, 1986, pp.375-385.

LABSPHERE Inc., *SPF Analysis of Sunscreens - Technical Note*, 2003.

SEHN, E., SILVA, K. C., RETUCI, V. S., MEDINA, A. N., BENTO, A. C., BAESSO, M. L., "Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment", *Rev. Sci. Instr.*, Vol. 74(1), 2003, pp.758-760.

STOKES, R., DIFFEY, B., "In vitro assessment of sunscreen photostability: the effect of radiation source, sunscreen application thickness substrate"; *Int. J. C. Science*, Vol.21, 1999, pp.341-351.