

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

Departamento de Físico-Química

**Tese de Doutorado**

**A estrutura da medula e sua influência nas  
propriedades mecânicas e de cor do cabelo**

**Rita de Cássia Comis Wagner**

Orientadora: Profa. Dra. Inés Joeques

**Dezembro 2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE  
QUÍMICA DA UNICAMP**

W125e	<p>Wagner, Rita de Cássia Comis. A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor do cabelo / Rita de Cássia Comis Wagner. -- Campinas, SP: [s.n], 2006.</p> <p>Orientador: Inés Joekes</p> <p>Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Cabelo. 2. Medula capilar. 3. Microscopia eletrônica. 4. Cor do cabelo. I. Joekes, Inés. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.</p>
-------	---

**Título em inglês:** Hair medulla morphology: influence on the mechanical and color properties

**Palavras-chaves em inglês:** Human hair, Hair medulla, Electron microscopy, Hair color

**Área de concentração:** Físico-Química

**Titulação:** Doutor em Ciências

**Banca examinadora:** Inés Joekes (orientador), Renato Atílio Jorge, Nelson Eduardo Duran Caballero, Pedro Kunihiko Kiyohara, Maria Valeria Robles Velasco

**Data de defesa:** 07/12/2006

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais  
voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

“Eloqüência positiva é aquela que persuade  
com doçura, não com violência, ou seja, como um rei, não  
como um tirano.”

Blaise Pascal

*Dedico...*

*Aos meus pais, Zezé e Edson, por acreditarem em mim,*

*À minha irmã preferida, Angélica, pelas nossas diferenças que me ensinaram tanto,*

*Ao meu querido Heitor, pelo respeito ao meu trabalho, apoio, amor, carinho e, principalmente, por fazer-me esquecer da tese tão fácil!*

*Agradeço...*

À Inés, pela orientação e pela liberdade com que pude desenvolver o trabalho.

A todos que me receberam no LME do IF-USP pela disposição em participarem da minha formação, algo que vou levar para o resto da vida.

Ao Prof. Pedro pelas tantas idéias e discussões valiosas.

À Profa. Marina pelos ensinamentos em microscopia de transmissão.

À Profa. Helena, pelo próprio exemplo que é!

À Simone, que sempre acha uma solução para tudo.

Ao Emerson e à Sílvia, por tornarem o ato de acordar às 5 para ir pra São Paulo, muito mais agradável.

Ao meu pai por acordar nesse horário comigo só para me levar!

À Paula, pela companhia em São Paulo e pela nossa amizade que ultrapassou as fronteiras do laboratório (embora sempre falemos dele).

À Flávia, pelas conversas noturnas e pela inspiração que tem na ciência. E, lógico, pela semana maravilhosa que passamos em Boston!

À Iara, por ser um exemplo de que dedicação só pode resultar num bom trabalho.

Ao Pedro, pelas valiosas discussões sobre óptica.

À Carol, pelas discussões e pela excelente companhia em Princeton (mesmo que curta!).

À Nádia, cuja experiência ajuda a todos no laboratório em tantos assuntos...

À Carla por promover o contato com tantos pesquisadores importantes em cabelo!

Ao Jonathan pela renovação que trouxe ao grupo.

Aos outros colegas de grupo, Adriana, Chrislane, Bona e Adelino.

Às amigas: Fabiana, Osana, Claudião Reginão e Evelyn pelos momentos de desabafo e de diversão!

Aos amigos Darão e Carla.

Aos funcionários do IQ, em especial: Bel, Rodrigo, Paula, Valdir, Judite e funcionários da biblioteca, sempre dispostos a ajudar.

À Fapesp e ao CNPq pela bolsa e auxílio concedidos.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para esse trabalho.

## **Rita de Cássia Comis Wagner**

### **SÚMULA CURRICULAR**

#### **Formação Acadêmica**

- ❖ **Mestre em Química**, área de concentração: **Físico-Química**, Instituto de Química, UNICAMP (2001-2003).
- ❖ **Bacharel em Química**, Instituto de Química, UNICAMP (1997- 2000).

#### **Publicação**

- ❖ WAGNER, R. D. C., JOEKES, I., “Hair protein removal by sodium dodecyl sulfate. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces”, 41, 7 - 14, 2005.

#### **Trabalhos publicados em anais de eventos**

- ❖ WAGNER, R.D.C., JOEKES, I., “Hair medulla morphology and mechanical properties”, (apresentação oral), Em: The 2<sup>nd</sup> International Conference on Applied Hair Science, Textile Research Institute, Princeton – NJ, EUA, 2006.
- ❖ WAGNER, R. D. C., VALENTIM, I. B., JOEKES, I., “Efeito da umidade nos cabelos caucasiano e negróide”, Em: 29<sup>a</sup> Reunião da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia-SP.
- ❖ WAGNER, R.D.C., JOEKES, I., “Human Hair Medulla: New Morphological Aspects”, (apresentação oral), Em: 14<sup>th</sup> International Hair-Science Symposium, Fulda, Alemanha, DWI and RWTH, 2005.
- ❖ WAGNER, R.D.C., JOEKES, I., “Influence of the Medulla in Hair Colour”, Em: The 11th International Wool Research Conference, Leeds. ABSTRACTS of The 11<sup>th</sup> International Wool Research Conference. Leeds, UK: The Department of Colour & Polymer Chemistry, University of Leeds, 2005.
- ❖ WAGNER, R. D. C., JOEKES, I., RODRIGUES, F.A., “Avaliação da adsorção de silicone na superfície do cabelo por FT-IR/ATR”. Em: 19<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Cosmetologia, São Paulo, 2005.
- ❖ WAGNER, R. D. C., KIYOHARA, P. K., JOEKES, I., “SEM Observations of Plasma Etched Human Hair” Em: XX Congresso da Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise, Águas de Lindóia – SP, 2005.
- ❖ WAGNER, R. D. C., JOEKES, I., “Modificação de superfície de cabelo por tratamentos cosméticos suaves”, Em: 28<sup>a</sup> Reunião da Sociedade brasileira de Química, Poços de Caldas - MG, 2005.
- ❖ WAGNER, R.D.C., JOEKES, I., “Effect of the Use an Aminosilicon Daily Care Product on Hair Color and Protein Loss”, Em: 23<sup>th</sup> IFSCC Congress, Orlando, EUA, 2004.
- ❖ WAGNER, R. D. C., JOEKES, I., NOGUEIRA, A. C. S., COLOMBERA, K. M.,

“Effect of ultraviolet radiation on hair properties”, Em: XX IUPAC Symposium on Photochemistry, 2004, Granada.

- ❖ WAGNER, R. D. C., JOEKES, I., CARNELOS, C. R. “Alterações de cor no cabelo induzidas pelo uso de ferros quentes e tratamentos cosméticos cotidianos”, Em: 17º Congresso da Associação Brasileira de Cosmetologia, São Paulo, 2003.
- ❖ WAGNER, R. D. C., NOGUEIRA, A. C. S., JOEKES, I. “Perda protéica do cabelo tratado com lauril sulfato de sódio, silicone e fotooxidação”, Em: 16º Congresso da Associação Brasileira de Cosmetologia, São Paulo, 2002.

### **Outros trabalhos**

**Curso ministrado:** Introdução à ciência de cabelo, duração: 16h, IMAPES, Sorocaba-SP, 2006.

### **Seminários apresentados no Instituto de Física – USP**

- ❖ WAGNER, R.D.C., “Influência da Medula nas propriedades de cor do cabelo”, 2005.
- ❖ WAGNER, R. D. C., “Preparação de amostra para observação da medula do cabelo por MEV”, 2005.
- ❖ WAGNER, R. D. C., “Degradação do cabelo por tratamento com surfatante e silicone”, 2004.

### **Consultorias**

- ❖ Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda.: Perda protéica em cabelos, após aplicação de produtos, pelos métodos de Bradford e de Lowry, 2004.
- ❖ Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda.: Retenção de água em cabelo – hidratação, 2002.

### **Extensão**

Participação no programa Ciência & Arte nas Férias, Unicamp, realizando atividades de condução nos projetos em 2006, 2005 e 2003.

### **Experiência didática**

*Mar/2000 - Jan/2001:* Auxiliar didático em Química Geral Experimental (QG-109).

*Ago - Dez/2002:* docência supervisionada (PED II) em Química Analítica Instrumental Experimental (QA-415).

*Fev - Dez/2005:* docência supervisionada (PED II) em Química Geral Experimental (QG-109) e em Físico-Química Experimental I (QF-632).

*Fev - Jul/2006:* docência plena (PED I) em Química Analítica Qualitativa (QA-111).

# **A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor do cabelo**

Tese de Doutorado de Rita de Cássia Comis Wagner

Orientadora: Profa. Dra. Inés Joeques

Instituto de Química – UNICAMP – Cidade Universitária Zeferino Vaz  
Cx. Postal: 6154, CEP: 13084-862, Campinas – São Paulo – Brasil

## **RESUMO**

O cabelo é uma estrutura protéica de queratina formada por quatro estruturas principais: as cutículas, o córtex, o cimento intercelular (CMC) e a medula. Esta última nem sempre está presente no fio e, por acreditar-se que sua influência nas propriedades da fibra é negligenciável, foi pouco estudada. Este trabalho almeja esclarecer as estruturas da medula e verificar sistematicamente se ela afeta alguma propriedade na fibra. Os fios medulados e sem medula provenientes do mesmo couro cabeludo foram identificados e separados em mechas utilizando um micro-estereoscópio. Encontraram-se dois tipos de medula (fina e grossa) que foram diferenciadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e de transmissão (MET). A medula tem uma estrutura esponjosa composta por três unidades principais: a fibrilar (desalinhada com as fibrilas do córtex), os glóbulos e uma camada de CMC na interface com o córtex. Por MET constatou-se que a medula fina é morfológicamente diferente da medula grossa. A medula fina apresenta contraste, interface limitada pelo CMC, nenhum grânulo de melanina e menor diâmetro. A medula grossa apresenta mais glóbulos, bem como maiores dimensões das cavidades, alguns grânulos de melanina disformes e organização gradual das células de fora para dentro. Essas características morfológicas sugerem que a medula seria um córtex em estágio atrasado de formação. Utilizando-se um espectrofotômetro de refletância difusa (ERD), verificou-se que os fios com medula são mais escuros, menos vermelhos e menos amarelos que os fios sem medula oriundos do mesmo couro cabeludo. Sugere-se que as cavidades da medula causem o espalhamento e o confinamento de luz pela diferença de índice de refração com o córtex, diminuindo, então, a reflexão externa da fibra, já que praticamente não possui melanina. Para a mecha estudada, a diferença de cor total está em 4,7 unidades de cor e é visível a olho nu. A medula, então, deve ser considerada em estudos de cor, juntamente com as melaninas e as condições de preservação das cutículas. Já nas propriedades mecânicas, a medula causa uma maior heterogeneidade nas curvas de tensão-deformação, mas não muda os valores médios das propriedades estudadas. Os fios medulados são mais espessos que fios sem medula. Descontando-se o valor do diâmetro da medula do diâmetro total da fibra, têm-se valores aproximados aos dos fios sem medula. A heterogeneidade observada é proveniente da diferença percentual que o diâmetro da medula representa do diâmetro total da fibra. Observaram-se mudanças estruturais quando o cabelo com medula fina é submetido à imersão em SDS 10 % e à 75 °C, transformando-se em medula grossa após os tratamentos.

# **Hair medulla structure: influence on the mechanical and color properties**

Doctorate Thesis of Rita de Cássia Comis Wagner

Advisor: Inés Joeques

Instituto de Química – UNICAMP – Cidade Universitária Zeferino Vaz

Cx. Postal: 6154, CEP: 13084-862, Campinas – São Paulo – Brasil

## **ABSTRACT**

Human hair is a keratinous material divided into four main units: cuticles, cortex, intercellular cement (CMC) and medulla. The last one could be present or not in the shafts. There are few studies about it mainly because it is believed to have small or no influence on any hair property. The present work aims to clarify the medulla structure and to systematically verify if mechanical or color properties are affected by its presence in the fiber. Medullated and unmedullated fibers from the same scalp were identified by stereo-microscopy and separated into tresses. Two kinds of medulla were found: thin and thick medulla. Their morphology was characterized by scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopy. Medulla has a sponge structure composed by three units: fibril (not aligned longitudinally as in the cortex), globular and CMC layer in the interface with the cortex. Thin and thick medullas are different in TEM. Thin medulla has contrast, CMC limited interface, no melanin and smaller diameter. Thick medulla has more globular structures, larger cavities, some elliptical melanin granules and a gradual organization from the outside to the inner side of the medulla. These data suggest that medulla is in an earlier stage of the differentiation process compared to the cortex. Color data obtained using a diffuse reflectance spectrophotometer showed that unmedullated fibers are clearer, redder and yellower than medullated fibers. Once that medulla presents no melanin, we suggest that the medulla cavities cause scattering and confinement of light by the difference with the refractive index of cortex which decreases the external reflectance of the fiber. For the studied tress, the total color difference was 4.7 (visible to naked eyes). Thus, medulla together with melanin and cuticles must now be considered in studies of hair color. Average values of the mechanical properties are similar for unmedullated and medullated fibers. However, higher dispersion in data for medullated fibers is observed. Unmedullated fibers are more uniform and show smaller diameters. These data indicate that the air cavities in medulla could act as defects but do not interfere in the crystalline character of the fiber. Thus, the heterogeneity observed might be attributed to the difference between the medulla diameter with the whole fiber diameter. Thin medulla regions became thick medulla after immersion in SDS 10 % and after 24 h at 75 °C.

## SUMARIO

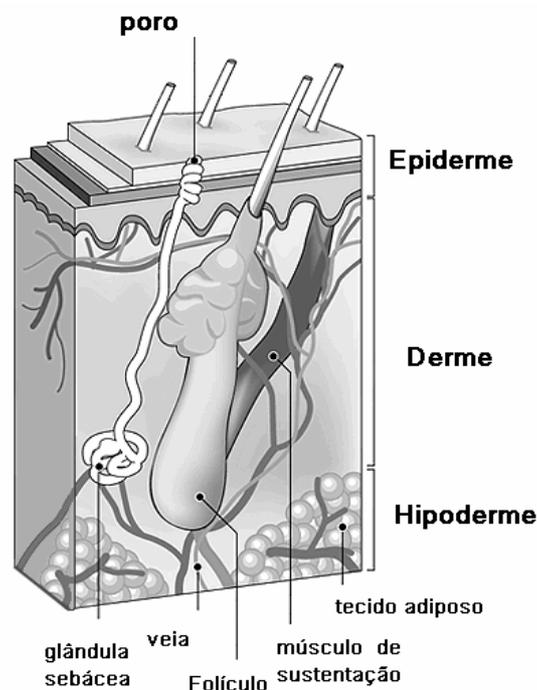
<b>1. INTRODUCAO</b>	<b>1</b>
1.1. Estrutura do cabelo	1
1.2. Cor do cabelo	9
1.3. Propriedades mecânicas do cabelo	12
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>14</b>
<b>3. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>15</b>
3.1. Cabelo	15
3.2. Identificação dos fios medulados	15
3.3. Limpeza das amostras	16
3.4. Medidas de cor	16
3.5. Propriedades mecânicas	19
3.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	20
3.7. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	24
3.8. Sorção de água em diferentes umidades relativas	25
3.10. Modificação da medula por tratamentos diários	26
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
4.1. Estrutura da medula	28
4.1.1. Padrões de medula observados por micro-estéreoscopia	28
4.1.2. Estrutura da medula por MEV	30
4.1.3. Ultra-estrutura da medula por MET	35
4.2. Propriedades de cor	39
4.3. Propriedades mecânicas	45
4.4. Modificação da medula por tratamentos diários	50

<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>53</b>
5.1. Influência da medula nas reflexões do cabelo	54
5.2. Diferenças ópticas entre medula fina e medula grossa	57
5.3. Como a medula afeta as propriedades mecânicas do cabelo	58
5.4. Modificação da medula e sua origem	60
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>61</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>63</b>
<b>8. ANEXO I – Micrografias</b>	<b>67</b>
<b>9. ANEXO II</b>	<b>84</b>

## 1. Introdução

### 1.1. Estrutura do cabelo

O cabelo cresce a partir de cavidades chamadas folículos que se estendem da derme para a epiderme e para a superfície da pele, como apresentado na Figura 1. As subestruturas do cabelo são formadas por processos de diferenciação celular no sentido radial de fora para dentro da fibra, que duram até o fio chegar à epiderme, ou seja, quando o cabelo não sofre alterações biológicas depois que sai do couro cabeludo.



**Figura 1.** Representação gráfica do folículo capilar ([www.keratin.com](http://www.keratin.com)).

O cabelo é composto basicamente de queratina, uma proteína caracterizada pelo seu alto conteúdo de enxofre derivado da cistina [1, 2]. Esta proteína forma uma rede de ligações cruzadas através de pontes dissulfídicas [3], o que confere ao cabelo certa resistência mecânica e química [4, 5]. Sendo assim, muitas das estruturas morfológicas do cabelo variam suas características físicas e químicas por causa do conteúdo de pontes de enxofre.

Quimicamente, cerca de 80 %, em massa, do cabelo consiste em queratina. Os

outros 20 % são componentes minoritários denominados não queratinosos [6]. A Tabela 1, a seguir, apresenta a análise dos aminoácidos presentes no cabelo.

**Tabela 1.** Aminoácidos presentes no cabelo [7]

<i>Aminoácido</i>	( $\mu\text{mol g}^{-1}$ de cabelo seco)	<i>Aminoácido</i>	( $\mu\text{mol g}^{-1}$ de cabelo seco)
Ácido aspártico	292-578	Metionina	47-67
Treonina	588-714	Isoleucina	244-366
Serina	705-1091	Leucina	489-529
Ácido glutâmico	930-1036	Tirosina	121-195
Prolina	374-708	Fenilalanina	132-226
Glicina	463-560	Lisina	130-222
Alanina	314-384	Histidina	40-86
Meia-cistina	1380-1512	Arginina	499-620
Valina	470-513	Triptofano	20-64

A fibra capilar é formada a partir da queratinização de células epiteliais distribuídas em 4 unidades estruturais principais: a cutícula, o córtex, o cimento intercelular (localizado entre as células) e a medula.

A Figura 3 representa, esquematicamente, a estrutura morfológica do cabelo.

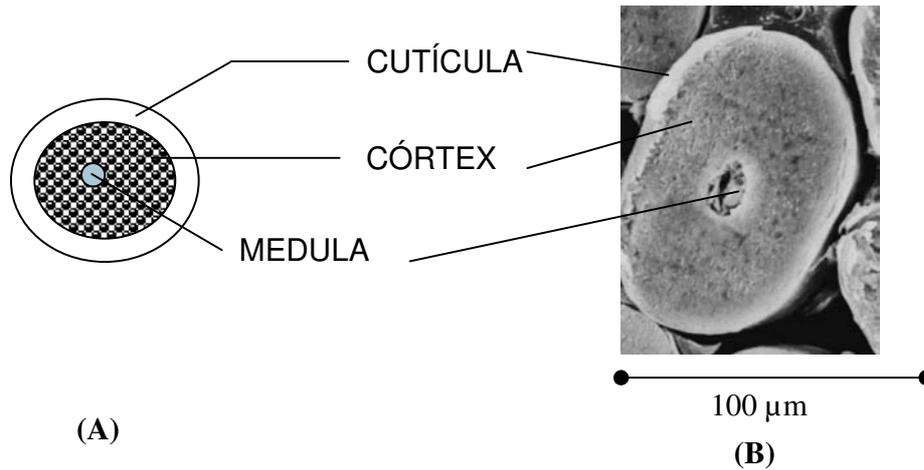
### 1.1.1. Cutícula

As células cuticulares compõem cerca de 10 %, em massa, da fibra formando uma barreira protetora contra processos agressivos químicos e físicos e são responsáveis pelas propriedades superficiais dos fios, tais como brilho, coeficiente de atrito entre as fibras e proteção do córtex. [7, 8] A camada cuticular é composta de 6 a 10 cutículas sobrepostas cobrindo o perímetro da fibra [8].

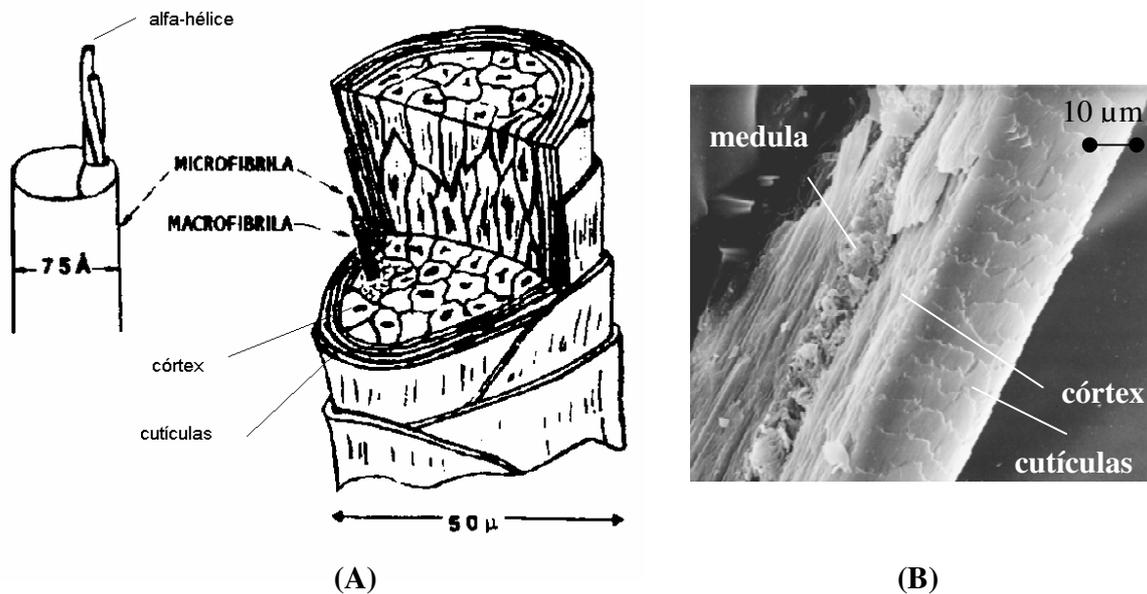
Esta estrutura se subdivide em uma série de camadas, com cerca de 0,2 a 0,4  $\mu\text{m}$  de espessura, sobrepostas e orientadas no sentido das pontas da haste capilar. A Figura 4 mostra um diagrama da estrutura da cutícula [9].

Cada célula cuticular é envolta em uma membrana de baixa espessura (cerca de 25

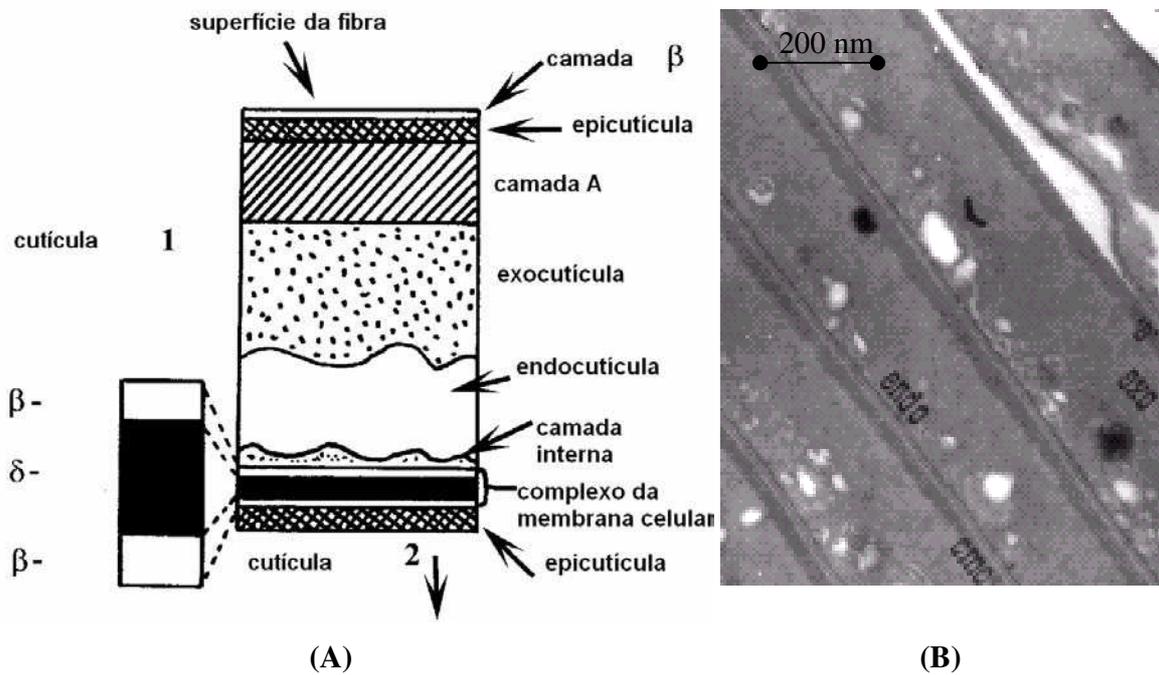
Å) denominada epicutícula. Os principais componentes da célula cuticular são a exocutícula e a endocutícula. Entre as células corticais e entre estas e as células cuticulares, situa-se o complexo da membrana celular, que é uma substância cimentante a qual possui propriedades adesivas (Figura 4), que, apesar de ser facilmente atacada por enzimas, é resistente a álcalis e a agentes redutores [9].



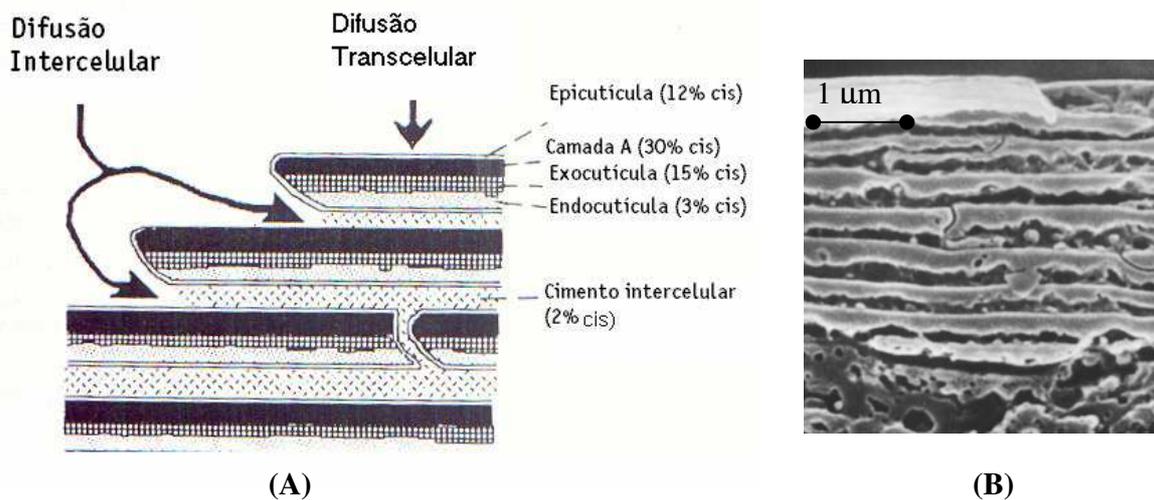
**Figura 2.** Representação da secção transversal da fibra capilar humana (A) em comparação com uma micrografia eletrônica de varredura de um corte transversal (B).



**Figura 3.** Representação esquemática da estrutura morfológica do cabelo (A) [7] em comparação com uma micrografia eletrônica de varredura de uma criofratura longitudinal (B).



**Figura 4.** Diagrama da estrutura cuticular (A) [9] em comparação com uma micrografia eletrônica de transmissão de um corte ultrafino (B) [13].



**Figura 5.** Representação esquemática das principais vias de difusão para o interior do cabelo (A) [7] em comparação com uma micrografia eletrônica de varredura de uma secção transversal da camada cuticular (B).

Cada célula cuticular é separada das adjacentes pelo complexo da membrana celular (CMC), o qual compõe cerca de 2 %, em massa, da fibra. Micrografias eletrônicas mostram que este complexo consiste de 2 camadas lipídicas: as camadas  $\beta$ , as quais envolvem uma camada protéica, e a camada  $\delta$ , que é formada durante o processo de queratinização [11, 12]. O CMC contém somente 2 % de cistina, sendo composto em sua maior parte (camada  $\delta$ ) por proteína rica em aminoácidos polares e lisina, conferindo-lhe também um caráter hidrofílico.

A cutícula tem caráter amorfo. Seus subcomponentes têm composição e reatividades distintas. A “camada A” e a exocutícula são as subunidades mais queratinizadas e possuem caráter hidrofóbico, apresentando um maior teor de cistina (30 % e 15 %, respectivamente) [7, 9].

A endocutícula é feita de material não queratinoso oriundo da compressão ou achatamento do núcleo e de organelas citoplasmáticas. Isto faz com que ela seja rica em proteínas, enzimas, vitaminas, íons, ácidos nucleicos, açúcares, carboidratos e ácidos graxos, os quais, em sua maioria, são solúveis em água [8]. Esta composição proporciona o caráter hidrofílico e a menor resistência da endocutícula a ataques químicos se comparada às outras estruturas, pois possui cerca de 3 % de cistina (Anexo II) [9]. A epicutícula é formada, basicamente, de ácido 18-metileicosanóico ligado a uma membrana proteolipídica também rica em cistina (cerca de 12 %) [7, 8] de alto caráter hidrofóbico.

Como resultado dessas diferenças de composição, é esperado que as subunidades da cutícula apresentem reatividades diferentes a tratamentos cosméticos e mesmo à água e ao surfatante. Uma vez que a camada cuticular é responsável pelo egresso e ingresso de substâncias para o interior da fibra, dependendo do material colocado em contato com a fibra, há duas vias de difusão principais para o interior da fibra, que estão apresentadas na Figura 5.

A via transcelular prevê a penetração de substâncias para o interior do cabelo através da cutícula e a via intercelular, a difusão entre as cutículas, isto é, pelo CMC. Esta última é a mais aceita por processos cosméticos em geral, pois considera que a difusão se dá a partir de componentes pobres em ligações cruzadas dissulfídicas derivadas da cistina para os componentes mais ricos. Estudos mostram que a difusão para o interior da fibra é mais rápida quando o cabelo está danificado, ou seja, quando há menos pontes dissulfídicas na

estrutura do cabelo [12].

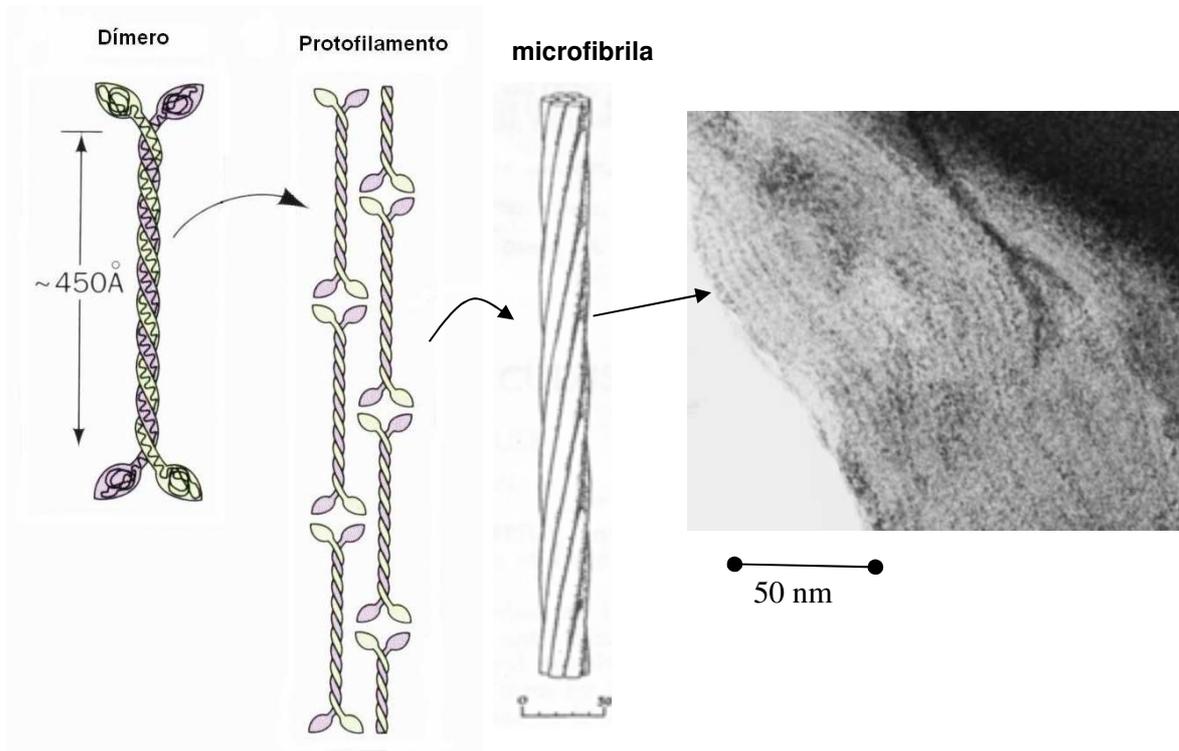
### *1.1.2. Córtex*

O córtex é o constituinte majoritário em massa da fibra capilar (cerca de 88 %) e é responsável pelas propriedades mecânicas da fibra [14]. É formado, basicamente, por queratina cristalina inserida em uma matriz de queratina amorfa. Cada célula cortical é formada por macrofibrilas (de aproximadamente 200 nm de diâmetro) alinhadas no sentido longitudinal do fio, que, por sua vez, são compostas por microfibrilas (cerca de 0,8 nm de diâmetro) unidas pela matriz intercelular e formadas por queratina amorfa com um grande número de reticulações por pontes de enxofre. Cada microfibrila (ou filamentos intermediários) é formada por cerca de 7 protofibrilas (estrutura formada pelas cadeias de  $\alpha$ -queratina em duplas hélices alinhadas paralelamente ao comprimento do fio), como representado nas Figuras 6 e 7 [15, 16].

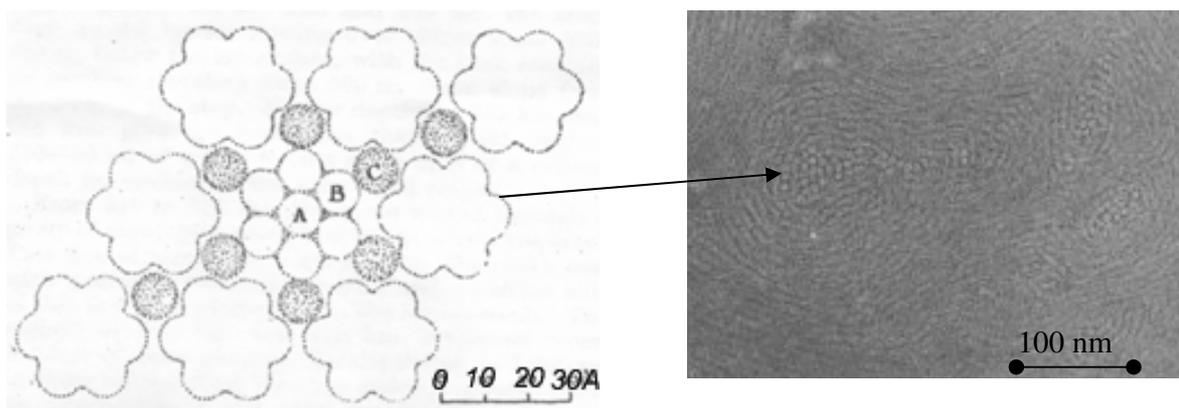
Geralmente, as células corticais do cabelo possuem de 1 a 6  $\mu\text{m}$  de espessura e, aproximadamente, 100  $\mu\text{m}$  de comprimento. Elas contêm os grânulos de melanina dispersos nas células (pequenas partículas ovais ou esféricas de 0,2 a 0,8  $\mu\text{m}$  de diâmetro), responsáveis pela coloração do cabelo e os remanescentes nucleares (cavidades alongadas derivadas da extinção do núcleo celular no processo de fibrilação da célula epitelial, que dá origem às estruturas capilares) [7].

As macrofibrilas possuem cerca de 15  $\mu\text{m}$  de comprimento e constituem a maior porção das células corticais. Entre as macrofibrilas está a matriz intermacrofibrilar e, entre as microfibrilas, a matriz intramacrofibrilar. A matriz, portanto, funciona como um material adesivo que mantém as estruturas fibrilares unidas por formação de pontes de enxofre constituente de resíduos cistéicos devido ao alto conteúdo de queratina [7, 17, 18].

As células corticais são ricas em cisteína, compactas, pouco penetráveis por líquidos em geral e menos reativas quimicamente. Entretanto, são menos resistentes à ação de agentes oxidantes. Os filamentos intermediários são estruturas cristalinas pobres em cistina (6 %) e ricas em leucina, ácido glutâmico e aminoácidos geralmente encontrados em proteínas de conformação  $\alpha$ -hélice [7, 14]. A matriz é amorfa e rica em cistina (21 %) e mantém os filamentos unidos por pontes de dissulfeto derivadas de resíduos cistéicos, como a meia-cistina [2].



**Figura 6.** Representação longitudinal das subdivisões da microfibrila do córtex capilar [1, 16] e a sua visualização por microscopia eletrônica de transmissão.



**Figura 7.** Representação transversal das microfibrilas do córtex capilar e sua visualização por microscopia eletrônica de transmissão [13].

### *1.1.3. Medula*

A medula é o componente do cabelo menos estudado, principalmente por acreditar-se que sua influência nas propriedades do cabelo é negligenciável. Está localizada no centro da fibra e, de acordo com a literatura, pode estar ausente ou ser fragmentada ou contínua quando presente [19]. A frequência e as dimensões da medula podem variar no mesmo indivíduo. Quimicamente, tem alto conteúdo de lipídeos se comparada ao restante da fibra [20] e é pobre em cistina. Porém é rica em citrulina (Anexo II), de modo que as pontes de enxofre são substituídas por ligações peptídicas que mantêm a estrutura da medula coesa [21]. Por causa dessa reticulação, a medula é insolúvel em solventes para proteínas, mesmo em condições vigorosas como as utilizadas para solubilizar as queratinas [22].

As células medulares são resultados do processo de diferenciação que é diferente do córtex. Quando elas começam a diferenciar, as células produzem tricoialina que é depositada no citoplasma na forma de grânulos. Quando sofrem a maturação e desidratação, encolhem prendendo o ar em seu interior. A parede das células maduras, então, é formada de vários grânulos fundidos [23]. Quanto à morfologia da medula, há uma contradição na literatura. Alguns autores dizem que é formada por esses vacúolos preenchidos por ar resultantes do processo de diferenciação celular [7, 23, 24] enquanto outros autores dizem que a medula é composta por uma estrutura esponjosa [25, 26] cujo caráter fibrilar é característica de humanos e de algumas espécies de primatas [27, 28]. Há ainda uma camada de CMC que se localiza na interface entre a medula e o córtex [24].

Há na literatura muitos dados sobre a análise química da medula [20, 23] e muitas contradições no que diz respeito à sua estrutura. As estruturas estão descritas em várias referências, porém, não há imagens boas, em condições que permitam comparação para obter afirmações conclusivas. Não existe explicação para o fato da medula se distribuir de forma tão aleatória nos diferentes couros cabeludos ou por que não existe em alguns fios. Sobre os efeitos da medula nas propriedades do cabelo, já foi sugerido que os poros pudessem afetar a cor do cabelo, mas não afetam as propriedades mecânicas [25, 26]. No entanto, não há estudos sistemáticos sobre a influência da medula nas propriedades do cabelo.

## 1.2. Cor do cabelo

### 1.2.1. Como se mede a cor do cabelo

A cor e o brilho são propriedades importantes para a aparência do cabelo. Atualmente, os métodos mais utilizados para medir a cor e o brilho do cabelo são a espectrofotometria de refletância difusa (ERD) e a goniofotometria [13, 29]. Esta última mede a reflexão especular para gerar os dados de brilho. A ERD, que foi utilizada neste trabalho, aplica o sistema de cor CIE (Commision International de L'éclairg) que fornece os parâmetros de cor pela reflexão difusa, simulando as condições de percepção de cor do olho humano [30, 31].

Neste trabalho, utilizou-se o sistema CIE-Lab denominado coordenadas de cores oponentes para a descrição da cor. A idéia principal é a de que os sinais captados pelo olho são decodificados pelo cérebro como impressões claro-escuro, vermelho-verde e amarelo-azul. Assim, uma cor não pode ser amarela e azul ou verde e vermelha ao mesmo tempo, mas pode ser amarela e vermelha como na cor laranja. Deste modo, duas cores oponentes podem ser expressas em uma única coordenada de cor. A coordenada *a* corresponde ao eixo vermelho-verde, sendo que valores positivos significam vermelhos e os negativos, verdes. Da mesma maneira, o eixo amarelo-azul é designado pela coordenada *b*, que é positiva para a cor amarela e negativa para a azul. A terceira coordenada, *L*, é dada pela luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco) [31]. A Figura 8 mostra o espaço de cor CIE  $L^*, a^*, b^*$  de coordenadas de cores oponentes (CIE-Lab).

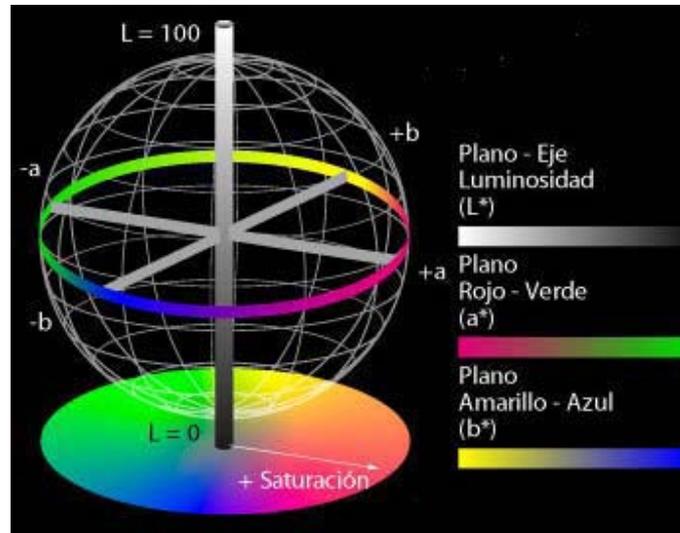
A partir da medição dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  pelo espectrofotômetro, calculam-se as diferenças de cor:  $DL^*$  (mais claro se positivo, mais escuro se for negativo),  $Da^*$ , mais vermelho se for positivo, mais verde se negativo) e  $Db^*$  (mais amarelo se positivo, mais azul se for negativo). Os valores de diferença nos parâmetros de cor correspondem à subtração entre os valores obtidos para uma amostra e uma referência [32].

A diferença absoluta das três coordenadas é dada pela diferença de cor total DE [31, 32]:

$$DE = (DL^{*2} + Da^{*2} + Db^{*2})^{1/2} \quad (\text{equação 1})$$

Para o cabelo, desde que tenha cor natural, os valores de  $a^*$  e de  $b^*$  são sempre positivos (devido à reflexão das melaninas) e variam nesse eixo para mais ou menos

vermelho e para mais ou menos amarelo. Também é utilizado o padrão de referência interna, ou seja, a própria mecha antes de qualquer tratamento é utilizada como padrão para a obtenção da diferença de cor após o tratamento.



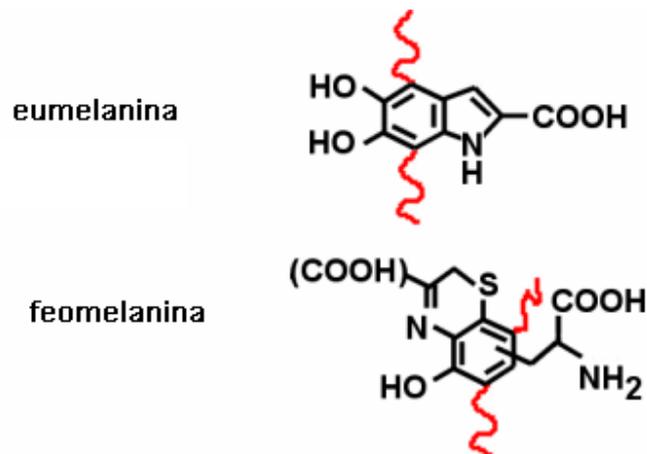
**Figura 8.** Coordenadas do espaço de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  do sistema CIE-Lab de cores oponentes onde  $L^*$  é a coordenada de luminosidade,  $a^*$  é a coordenada vermelho-verde e  $b^*$ , a coordenada amarelo-azul.

### 1.2.2. A estrutura do cabelo e os parâmetros de cor

A melanina é a principal responsável pela cor do cabelo, já que a queratina é transparente. Ela se encontra aleatoriamente distribuída no córtex, na forma de grânulos ovais ou esféricos com cerca de 0,2 a 0,8  $\mu\text{m}$  de comprimento e cerca de 0,1 a 0,5  $\mu\text{m}$  de espessura [33, 34]. Existem dois tipos de melanina, a eumelanina (marrom) e a feomelanina (alaranjada), ambas compostas por pigmentos, proteínas e minerais [7, 35]. A estrutura química das melaninas ainda não está definida devido, em parte, à dificuldade de isolar os pigmentos dos grânulos. Apesar de não terem suas estruturas químicas bem definidas, há algumas propostas na literatura, apresentada na Figura 9 [36].

A quantidade e o tipo de melanina formada nos melanócitos são geneticamente determinados, mas podem ser influenciados por fatores hormonais e ambientais, incluindo inflamações, gênero, idade e exposição solar [35]. A melanina representa até 3 % da massa do cabelo [7]. As variações de cor no cabelo ocorrem principalmente devido à diferença na quantidade, tamanho e distribuição dos grânulos de melanina [37]. Quanto maior a

quantidade de melanina, mais escuro é o cabelo. A tonalidade varia de acordo com as proporções entre os dois tipos de melanina. Por exemplo, os cabelos pretos contêm 99 % de eumelanina e 1 % de feomelanina, os castanhos e loiros, 95 % de eumelanina e 5 % de feomelanina, e os ruivos, 67% de eumelanina e 33% de feomelanina [38].

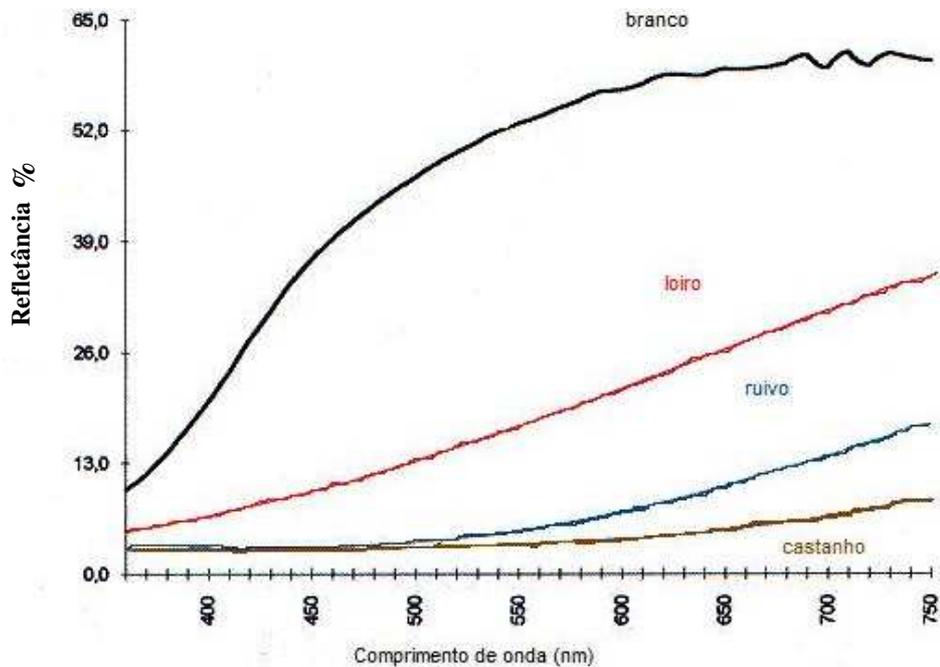


**Figura 9.** Estruturas químicas propostas para as melaninas presentes no cabelo.

As melaninas então, estão envolvidas com os três parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . A quantidade afeta  $L^*$  e a proporção entre os tipos de melanina afeta  $a^*$  e  $b^*$ , que representam a cromaticidade do cabelo. A Figura 10, a seguir, apresenta os espectros de reflexão para amostras de cabelo castanho, ruivo, loiro e branco.

Outra estrutura que pode afetar a luminosidade é a camada cuticular. Quando submetidas a tratamentos cosméticos, as cutículas podem ficar com as bordas descoladas da superfície do fio ou pode haver a remoção de material protéico da endocutícula, provocando o aparecimento de cavidades. Ambos os processos clareiam o cabelo, o primeiro por permitir o maior espalhamento difuso da luz na superfície e o outro por diferenças de índice de refração entre as cavidades e as cutículas [13].

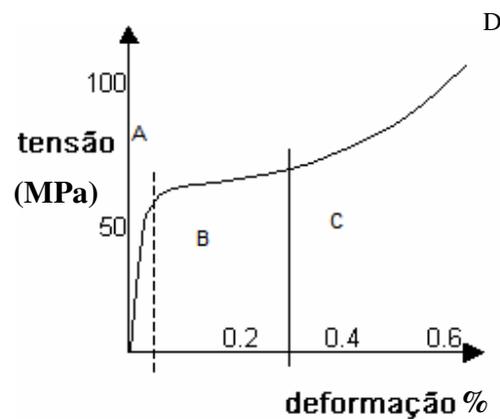
O efeito da medula na cor do cabelo ainda não está completamente esclarecido. Em 1971, Mahrle & Orfanos [25] sugeriram que a estrutura porosa da medula poderia afetar a cor e, em 2001, Nagase *et al.* [26], utilizando o goniofotômetro, verificaram que cabelos que possuem medula são mais opacos.



**Figura 10.** Espectros de reflexão de amostras de cabelo castanho (—), ruivo (—), loiro (—) e branco (—) [39].

### 1.3. Propriedades mecânicas do cabelo

O córtex é considerado o responsável pelas propriedades mecânicas do cabelo por ser o seu constituinte majoritário e porque é nele que se localizam os cristais de  $\alpha$ -queratina [39, 41]. A curva típica de tensão-deformação no sentido longitudinal do fio está apresentada na Figura 11.



**Figura 11.** Curva de tensão-deformação para fibra de  $\alpha$ -queratina. **A** (região Hookeana), **B** (região de reconstituição), **C** (região de pós-reconstituição) e **D** (ponto de ruptura).

Na Figura 11, observam-se três regiões características: **A** (região Hookeana), **B** (região de reconstituição) e **C** (região de pós-reconstituição). **D** é o ponto de ruptura [42]. Na região Hookeana, a deformação aumenta linearmente com a tensão até 2 % de deformação. A inclinação da reta fornece o módulo elástico ou módulo de Young. A deformação é totalmente elástica, ou seja, a fibra volta imediatamente ao seu comprimento original após a retirada da carga aplicada. Entre 2 e 30 % de deformação tem-se a região de reconstituição, com um rápido aumento da deformação com pequenas variações de tensão. Essa deformação corresponde à transformação de 30 % das cadeias de  $\alpha$ -queratina em  $\beta$ -queratina, como representado na Figura 10. Esse processo é reversível sob condições controladas, como a imersão em água por 24 h a 52°C [43]. Na região de pós-reconstituição, após 30 % de deformação, há o cisalhamento entre as cadeias e a quebra de ligações, até a ruptura da fibra. Essa deformação é permanente. Essas informações refletem as condições do córtex, podendo ser relacionadas com danificações causadas por tratamentos cosméticos ou efeitos do ambiente.

As propriedades mecânicas são afetadas pela temperatura, umidade relativa, diâmetro da fibra, estrutura e composição protéica. Considera-se que a medula não tem resistência mecânica e, por isso, não afeta as propriedades do cabelo. No entanto, nunca foram comparadas as propriedades de fibras meduladas e não meduladas provenientes do mesmo couro cabeludo. Os resultados podem refletir a variabilidade genética de composição de cada tipo de cabelo e não os efeitos da medula em si.

## 2. Objetivo

O objetivo deste trabalho é estudar a medula do cabelo e verificar se essa estrutura tem alguma função na fibra. Para tanto, pretende-se:

- ✓ Verificar se existe diferentes tipos de medula (como já foi observado em outras espécies de mamíferos);
- ✓ Observar a ultra-estrutura dos diferentes tipos de medula e comparar com as outras estruturas do cabelo e as alterações que podem ocorrer com tratamentos químicos;
- ✓ Verificar a influência da medula nas propriedades ópticas e mecânicas do cabelo.

### 3. Parte Experimental

#### 3.1. Cabelo

Cabelo castanho escuro comum 1 (CC1): O cabelo utilizado na maior parte deste trabalho é caucasiano castanho escuro, que foi obtido de uma doadora e não passou por nenhum tratamento cosmético agressivo (tinturas, permanentes, alisamentos etc.). Possui os 3 tipos de fios estudados.

Cabelo castanho escuro comum 2 (CC2): Foi utilizado para fins de comparação. Este cabelo caucasiano castanho escuro também foi obtido de uma doadora, mas continha só medula grossa contínua.

#### 3.2. Identificação dos fios medulados

Para identificar e separar os fios que continham medula do cabelo CC1 utilizou-se um estereo-microscópio Leica MZ 12.5. As condições de operação do equipamento foram:

- Luz transmitida;
- Iluminação: superior de 3 e inferior de 5 para as observações no campo escuro e superior de 2 e inferior de 4 para as observações no campo claro;
- Aumentos: 2/2, 5x, com aumento maior para fios mais finos;
- lente ocular – 16x;
- lente objetiva – 1,0x.

Cerca de 90 fios foram presos esticados em uma lâmina de vidro de 5 x 20 cm com fita adesiva dupla face com o auxílio de pinças. Foram observadas cerca de 50 lâminas para a obtenção de 4 mechas de aproximadamente 1 g de cabelo. Os fios possuíam cerca de 18 cm de comprimento, sendo observados 14 cm de toda a sua extensão. Observaram-se 3 padrões nessa amostra: ausência de medula, medula fina e medula grossa, mais detalhados na parte dos resultados. Obtiveram-se 2 mechas de 1 g de fios com medula fina, uma de fios sem medula e outra de fios com medula grossa.

As foto-micrografias foram obtidas no estéreo-microscópio com uma máquina fotográfica acoplada ao equipamento e registradas em filme fotográfico Kodak ASA 400.

### *3.2.1. Observação de cortes transversais no estereoscópio*

Cerca de 0,1 g de cabelo com medula fina ou sem medula foi colocado num tubo termorretrátil com o auxílio de uma linha e de uma agulha de costura. A seguir, o tubo foi aquecido por 2 min em uma chapa quente a 50°C. Os cortes transversais das mechas foram obtidos utilizando-se uma lâmina de aço nova e limpa com álcool.

### *3.3. Limpeza das amostras*

Umedeceram-se as mechas de 1 g de cabelo e, em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de dodecilsulfato de sódio (SDS) grau analítico 2 % (m/V). Friccionou-se suavemente com as mãos para a formação de espuma por 1 min, enxaguou-se em água corrente por 30 s e adicionou-se mais 1 mL da solução de SDS. Repetiu-se o procedimento, aumentando-se o tempo de enxágüe para 1 min. Como o SDS demora cerca de 1 h para “atravessar” a fibra, acredita-se que este procedimento não danifica a medula do fio [7]. Em seguida, retirou-se o excesso de água com um jato de ar frio, utilizando um secador de cabelos profissional. Deixaram-se as amostras secar ao ambiente cobertas e protegidas da deposição de poeira por uma folha de papel alumínio. Após a secagem e antes de realizar novas medidas de cor, deixaram-se as amostras em equilíbrio com ambiente de UR (umidade relativa) controlada a 50 % por 24 h.

### *3.4. Medidas de cor*

#### *3.4.1. Medidas das mechas (fios longitudinais) e Espectros de Reflexão*

Os parâmetros de cor (sistema CIE-LAB) e os espectros de reflexão total na faixa de 360 a 740 nm das mechas de cabelos foram obtidos em decuplicata de medida girando-se a mecha no equipamento. Foi utilizado um espectrofotômetro de refletância difusa (Gretag Macbeth Color-eye 2180), sendo a iluminação difusa proveniente de uma lâmpada de xenônio. As condições de operação foram: configuração CRIIS (C: calibração com cerâmica branca; R: refletância; I: radiação ultravioleta inclusa; I: componente especular inclusa e S: abertura para pequenas amostras), iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. As amostras foram deixadas previamente em equilíbrio com ambiente de UR controlada a 50 % (dessecador contendo um frasco de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ) e 100 % (dessecador contendo um frasco de água) em ambiente climatizado a 25°C com ar-condicionado.

### *3.4.2. Medidas de cor de diferentes regiões do córtex*

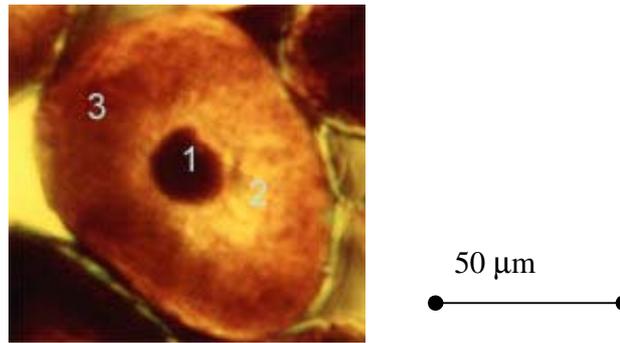
Os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram medidos utilizando o software Adobe Photoshop versão 6.1. Foram obtidas microfotografias dos cortes transversais nas mesmas condições de iluminação para comparação. Com o cursor, as regiões de interesse foram selecionadas onde foram obtidos os parâmetros de cor para 3 regiões do cabelo com medula fina e para 2 regiões do cabelo sem medula (Figura 12) nos fios da Figura 13.

Contudo, havia uma dúvida sobre o que influenciava a obtenção de imagens diferentes nas mesmas condições de cor, brilho e contraste pela câmera fotográfica que fica acoplada ao estereoscópio: o tempo de exposição do filme ou as condições de iluminação. O tempo de exposição do filme para registro da imagem varia inversamente proporcional ao aumento da iluminação (superior ou inferior) e proporcional à espessura do corte. Quanto menos luz a amostra deixa passar, maior é o tempo de exposição de impressão do filme. Na câmera, o tempo de exposição também pode ser controlado pela função “cal” que varia de 0,25 a 4,0. Quanto menor o cal, menor o tempo. Portanto, sob as mesmas condições de iluminação, amostras de espessuras diferentes devem ser fotografadas em cal diferentes para se obter um tempo de exposição para impressão do filme semelhante.

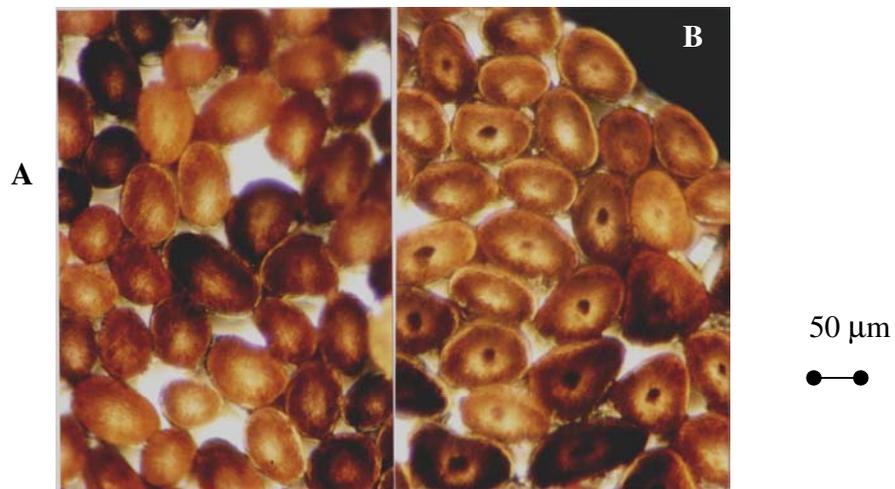
Foi feita uma tentativa para otimizar as diferentes condições de iluminação e tempo de exposição de impressão do filme fotográfico pela câmera (regulado pela função “cal” do equipamento) (Tabela 2). Nos ensaios deste trabalho, manteve-se cal constante e variou-se o tempo de exposição. Esse tempo variou significativamente, sendo aproximadamente duas vezes maior para o corte obtido para o cabelo sem medula. As ampliações revelaram padrões de brilho, cor e contraste semelhantes (observados a olho nu) para as imagens sob as mesmas condições de iluminação e abertura do diafragma, embora com tempo de exposição bem diferentes.

As imagens escolhidas foram a 3 e a 9 por possuírem uma melhor relação de cor, de brilho e de contraste em comparação com o observado diretamente no estereoscópio. As imagens escolhidas foram copiadas no scanner novamente, juntas. Os valores de cor medidos são relativos aos fios que apresentam contraste e brilho mais homogêneos entre si. Os fios aparentemente mais escuros ou claros que a maioria não foram considerados nas medições. Isso foi realizado em virtude de evitar uma influência da espessura do corte na medida de cor. Também foram medidas cinco regiões do fundo branco da imagem e da

borracha preta que envolve as amostras. Os valores são de  $a$  e  $b = 0$  para ambos e  $L = 88$  para o fundo branco e  $L = 20$  para o fundo preto. O desvio entre as medidas é zero. Assim, os fios cujos valores de  $L$  fossem muito próximos de 20 ou de 80, foram desconsiderados nos cálculos.



**Figura 12.** Corte transversal de um fio de cabelo com medula e a numeração das regiões onde foram medidos os parâmetros de cor.



**Figura 13.** Foto-micrografias da secção transversal do cabelo sem medula (A) e com medula fina (B) utilizadas para medidas de cor.

**Tabela 2.** Ensaio de variação de iluminação para registro de imagem no campo claro.

Foto n°	Iluminação superior	Iluminação inferior	Abertura do diafragma	cal	Tempo de exposição para impressão do filme
<b>Cabelo com medula</b>					
1	3	6	2,1	1,00	2'40''
2	4	4	2,1	1,00	10'54''
3	4	4	2,1	0,50	4'04''
4	6	3	3,5	1,00	12'
5	6	3	3,5	0,50	4'40''
6	5	2	2,5	0,25	8'30''
<b>Cabelo sem medula</b>					
7	3	6	2,1	1,00	4'10''
8	4	4	2,1	1,00	17'11''
9	4	4	2,1	0,50	6'41''
10	6	3	3,5	1,00	22'40''
11	6	3	3,5	0,50	8'28''
12	5	2	2,5	0,25	22'40''

### 3.5. Propriedades mecânicas

Cerca de 40 fios de cabelo sem medula, com medula fina e com medula grossa foram utilizados para a obtenção das curvas de tensão-deformação. Os ensaios foram realizados em uma máquina universal de ensaios EMIC modelo DL 2000, utilizando-se garras pneumáticas especiais para fibras, célula de carga de 10 N e velocidade constante de 10 mm min<sup>-1</sup>. Os fios foram rompidos a uma umidade relativa de 50 % e temperatura a 25°C.

#### 3.5.1. Determinação dos diâmetros dos fios

Para a determinação do diâmetro, os 40 fios de cabelo de cada amostra foram inicialmente climatizados na sala do equipamento durante pelo menos 24 h, a umidade relativa de 50 % (controlada com um desumidificador de ar) e temperatura a 25°C (controlada com ar-condicionado). O diâmetro de cada fio foi medido 3 vezes em partes da região central do fio com um micrômetro Mitutoyo. O valor utilizado foi a média dessas três medidas.

### *3.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Os estudos por microscopia eletrônica foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da USP/SP. As micrografias foram obtidas em um microscópio Jeol JSM 840A, operando a 25 kV na modalidade SEI (elétrons secundários). As ampliações foram feitas em papel F3 Kodak. Foram obtidas 150 micrografias eletrônicas de varredura.

#### *3.6.1. Preparação das amostras para observação no MEV*

Esta foi a etapa mais longa deste trabalho, que gerou muitos resultados. Aqueles dos quais extraímos conclusões sobre a morfologia da medula serão apresentados na parte de resultados e aqueles que, embora contribuíssem para esse estudo e não foram utilizados, serão brevemente apresentados na parte experimental.

##### *3.6.1.1. Corte longitudinal com bisturi*

Utilizando-se um bisturi, fez-se uma incisão no sentido longitudinal do fio, que estava preso com fita adesiva pelas extremidades em uma placa de vidro. Com o auxílio de uma pinça, removeu-se a parte superior da incisão, provocando a propagação da mesma, no sentido longitudinal do fio, “abrindo-o” ao meio. Este procedimento foi realizado sob uma lupa.

Essa foi a primeira preparação a ser testada, principalmente por sua simplicidade e sua comum aplicação às fibras [43]. Apesar de fornecer boas micrografias, este método não foi utilizado como padrão para todas as amostras, pois pode ter danificado algumas estruturas observadas, gerando artefatos.

##### *3.6.1.2. Criofratura longitudinal*

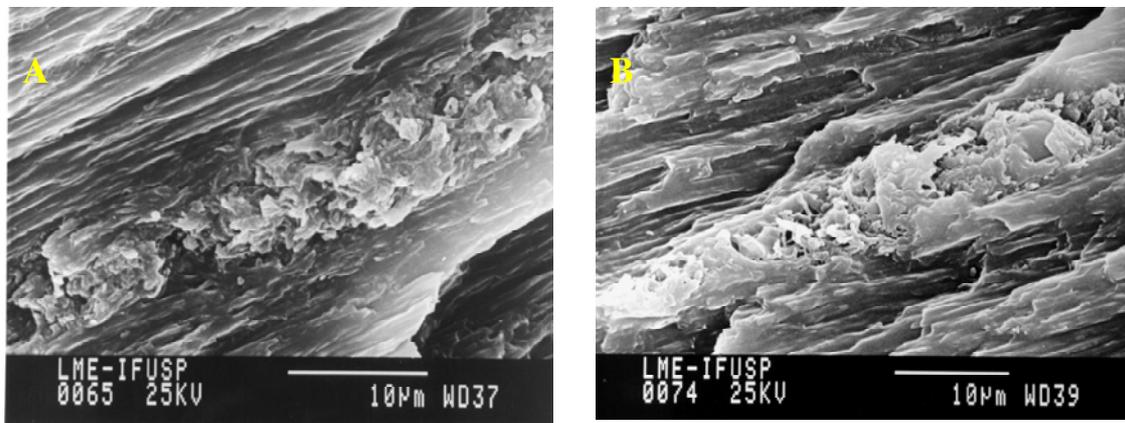
Colocaram-se os fios de cabelo em tubos de parafilme moldados com um palito de madeira (1- 2 mm de diâmetro). Após imersão em etanol 70 % por 15 min e etanol 99 % por 30 min, vedaram-se tubos com o auxílio de uma pinça, colocaram-se em nitrogênio líquido por 40 min. Cortaram-se os tubos congelados com uma lâmina de navalha também resfriada sobre uma superfície metálica em contato com o nitrogênio líquido.

Essa preparação forneceu cortes limpos e, aparentemente, não gerou artefatos.

Apesar de várias tentativas de se obterem mais cortes longitudinais por essa preparação, foram obtidos somente dois fios. Como a separação dos fios pelo padrão de medula utilizando o estereoscópio demorou cerca de 3 meses, tentou-se outras preparações onde o desperdício das amostras fosse menor.

### 3.6.1.3. Inclusão em cola Araldite® e em Superbonder®

Fizeram-se dois moldes de papel alumínio onde as colas foram inseridas juntamente com cerca de 0,05 g de cabelo. Após a secagem e o endurecimento das colas, utilizou-se o mesmo procedimento do item anterior para a obtenção de criofraturas longitudinais.



**Figura 14.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal do cabelo incluído em Araldite® (A) e em Superbonder® (B). Note a estrutura da medula na região central do fio.

A inclusão do cabelo em Araldite® e em Superbonder® teve como objetivo um maior aproveitamento das amostras pela fixação do fio na hora do corte. Esperava-se que a baixa temperatura fornecesse as condições necessárias para a propagação da fratura realizada no bloco de cola para a fibra possibilitando a separação da medula. A Figura 14 mostra exemplos desse ensaio. Ambas as micrografias mostram que é possível diferenciar a medula do restante da fibra, mas não é possível resolver detalhes tanto da superfície quanto do interior da estrutura da medula. Há ainda um material mais liso que não se sabe se é do cabelo ou da cola. É possível que as colas tenham interagido mais com o cabelo do que se esperava e que o tempo de cura dos blocos possa ter sido insuficiente para secar a cola por dentro do bloco, fazendo com que interagisse com o cabelo depois de realizado o corte. Há

também o agravante de que a Araldite<sup>®</sup> amolece a baixas temperaturas, o que impediria a propagação adequada da fratura.

#### *3.6.1.4. Inclusão em cola quente de silicone*

Tendo em vista a dificuldade de obter uma quantidade razoável de fios para serem analisados e a demorada secagem das colas testadas para inclusão, foi feito um ensaio de inclusão do cabelo em cola quente de silicone. Essa cola endurece em torno de 30°C e é bastante utilizada para prender as mechas. Na temperatura ambiente tem a consistência de borracha e separa-se facilmente do cabelo. Em nitrogênio líquido (~ 120°C negativos) é quebradiça, o que indica que está abaixo de T<sub>g</sub> (temperatura de transição vítrea), assim como o cabelo.

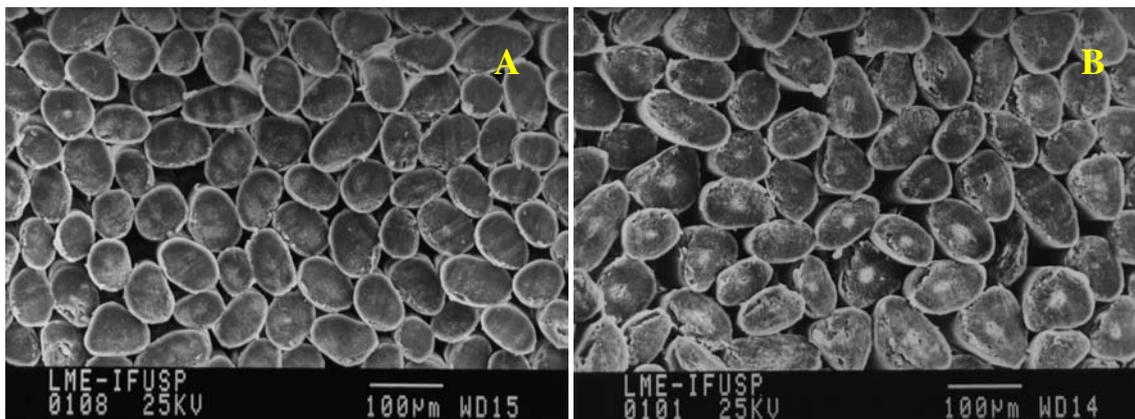
Cerca de 0,05 g de cabelo foi colocado em um bloco de cola quente de silicone até sua total cobertura. Após 1 dia de secagem, procedeu-se com a criofratura longitudinal. Foram obtidos blocos que apresentavam secções de cerca de 0,5 cm de cabelo exposto. Vale lembrar que também foram obtidos criofraturas transversais, mas nenhuma das preparações obteve êxito para que a medula fosse observada.

Há uma semelhança com as micrografias obtidas para a criofratura em etanol. O grande número de fios observados levou a adotar esta preparação para a observação das amostras de cabelo separado de acordo com o padrão óptico da medula.

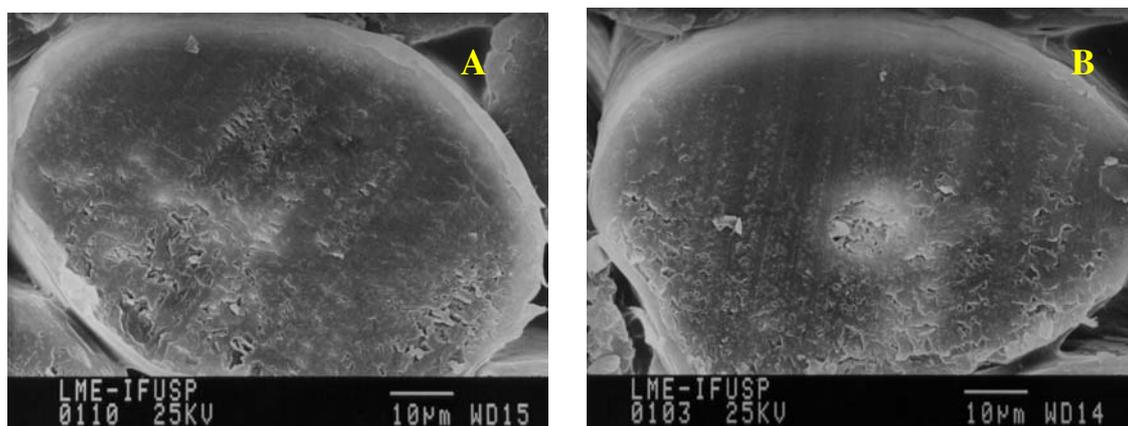
#### *3.6.1.5. Obtenção de cortes transversais*

Os cortes transversais foram obtidos utilizando o mesmo procedimento para a observação no estereoscópio (item 3.2.1.).

As micrografias mostram diferenças entre o cabelo com e sem medula, como na Figura 15, o que confirmou a eficiência da separação dos fios utilizando o estereoscópio. Entretanto, a observação da morfologia ficou comprometida, pois a estrutura da medula parece recoberta por um material arrastado pela lâmina no momento do corte, como na Figura 16. O mesmo aconteceu para o cabelo sem medula, onde ainda é possível observar a direção do corte pela marca que a lâmina deixou na amostra. Por esses motivos, essa preparação não foi utilizada para comparar os diferentes tipos de cabelo.



**Figura 15.** Micrografias eletrônicas de varredura de cortes transversais de cabelos sem medula (A) e com medula fina (B). Observe que a grande maioria dos fios em B possui uma região clara no centro, o que não ocorre em A.



**Figura 16.** Micrografias eletrônicas de varredura de um corte transversal de cabelo sem medula (A) e com medula fina (B). Note a região porosa no centro do fio em B e as marcas da navalha no corte em ambas as imagens.

#### 3.6.1.6. Erosão por oxidação por plasma de oxigênio

Utilizou-se um plasma de oxigênio gerado por radio frequência (13,56 MHz) (Plasma Prep II) para erodir os cortes de cabelo por 5 min na intensidade máxima. Os cortes longitudinais neste ensaio foram obtidos utilizando-se um bisturi para seccionar o fio ao meio em toda sua extensão.

### *3.6.1.7. Montagem dos stubs*

Os blocos de inclusão ou os fios de cerca de 3 cm de comprimento foram colocados lado a lado com a região seccionada voltada para cima numa fita dupla face ou fita de carbono aderida em um porta-amostras apropriado para MEV (*stub*). Colocou-se uma faixa de fita adesiva de cobre conectando as extremidades dos fios com o *stub* para melhorar a condutividade elétrica dos mesmos. Os cortes transversais foram colocados em uma fita dupla face de carbono e os blocos de cola de silicone foram colados no *stub* com cola de prata. O porta-amostras foi recoberto com uma fina camada de ouro, pelo método de “*Sputtering*”, utilizando-se um Sputter Edwards S150B.

### *3.7. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)*

Foi utilizado um microscópio Philips CM 200, operando a 160 kV, emissão 2 ou 3, abertura da objetiva 50  $\mu\text{m}$  e condensadora 200  $\mu\text{m}$ . As observações foram registradas num filme fotográfico SO-163 da Kodak. As ampliações foram feitas em papel F3 da Kodak. Foram obtidas cerca de 70 micrografias.

#### *3.7.1. Preparação dos fios para observação no MET*

Os fios de cabelo com cerca de 1 cm de comprimento foram fixados com 2 mL de solução aquosa de  $\text{OsO}_4$  2 % em tampão cacodilato de sódio 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$ , pH 7,0 (Sigma) por 4 h no escuro. A seguir, os fios foram lavados com tampão e depois com água destilada durante 30 min. A desidratação foi feita utilizando soluções de etanol de concentrações crescentes (50 a 95 % v/v), finalizando as lavagens com etanol puro [13].

A inclusão dos fios foi feita em resina Spurr [45] Sigma Aldrich (formulação standard – endurecimento lento, 0,2 g de catalisador) com a utilização de um rotor a 3 rpm por 15 dias. No 14º dia, os frascos foram abertos para a evaporação do álcool e, no último dia, os frascos passaram por vácuo para retirar o etanol e melhorar a penetração da resina na amostra. Em seguida, os fios foram colocados em moldes e cobertos com mais resina. O processo de cura dos blocos foi realizado em estufa a 70°C durante 24 h.

### *3.7.1.1. Obtenção de cortes ultrafinos*

Os blocos obtidos passaram pelo processo de trimagem de acordo com Griffin [46] e foram cortados em um ultramicrotomo Sorvall Porter-Blum MT2-B Ultramicrotome, utilizando-se uma navalha de diamante com barca (ângulo de 45°) Drukker. A espessura do corte foi de 80-90 nm (cor de interferência entre amarelo claro e prata). Os cortes foram depositados em água destilada e recolhidos em grade de cobre (200 mesh). Cada bloco produziu cerca de 10 grades com 20 cortes cada uma.

Os primeiros cortes feitos em navalha de vidro mostraram que a medula não era preenchida pela resina como se esperava, mesmo aumentando o tempo de inclusão. Na tentativa de solucionar esse problema, alguns fios foram cortados longitudinalmente com bisturi sob uma lupa de aumento tomando-se o cuidado de não realizar um corte muito profundo para não atingir a medula. O resultado foi bastante interessante porque, também, solucionou outro problema que estava ocorrendo durante o recolhimento dos cortes pela tela, que era a formação de uma cavidade na posição em que o cabelo deveria estar na resina por causa de sua má inclusão. Foram testadas várias maneiras de recolhimento, mas depois que os fios foram cortados com o bisturi, a inclusão também melhorou, o que possibilitou a observação de mais fios íntegros numa mesma tela.

### *3.7.1.2. Pós-coloração dos cortes*

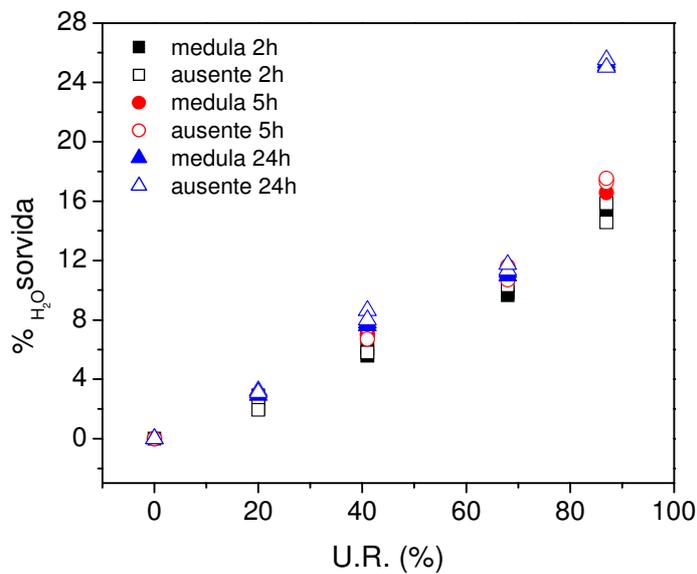
Os cortes obtidos foram corados em solução aquosa de acetato de uranila 2 % ( $C_4H_6O_6U \cdot 2H_2O$ , marca Riedel-de-Haen Seelze Hannover Gift) durante 20 min, lavados em água deionizada e corados com solução aquosa de citrato de chumbo 1 % (preparado com  $Pb(NO_3)_2$  e  $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ ) durante 5 min em placas de Petri com parafina sólida.

### *3.8. Sorção de água em diferentes Umidades Relativas (UR)*

Cerca de 0,1 g de cabelo com medula fina e de cabelo sem medula foi colocado em tubos do tipo Eppendorf de 1,5 mL a UR de 0 % (frasco contendo  $P_2O_5$ ) em dessecador contendo um termo higrômetro em sala de umidade e temperatura ambientes controladas (50 % e 25°C, respectivamente). O ensaio foi realizado em duplicata. Após 2, 5 e 24 h em contato com o ambiente de UR controlada, as amostras foram pesadas em balança analítica (0,00005 de limite de confiança) e colocadas novamente em um dessecador com UR

controlada na faixa de 20-23 % (obtida com um frasco contendo  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Seguiu-se o mesmo procedimento também para UR's na faixa de 49-51 % ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ), de 77-78 % ( $\text{NaCl}$ ) e 98-99 % ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Com os valores de massa das amostras, foi construída uma curva de sorção de água em cabelo para cada amostra.

Este ensaio também não mostrou diferença entre os cabelos com e sem medula, como apresentado na Figura 17 e por isso os resultados não serão apresentados em Resultados.



**Figura 17.** Sorção de água no cabelo medulado (pontos cheios) e no cabelo sem medula (pontos vazados) após 2 h (□), 5 h (○) e 24h (△) de exposição em ambiente de U.R. controlada.  $T \sim 25^\circ\text{C}$ .

### 3.10. Modificação da medula por tratamentos diários

Os fios de cabelo sem medula, com medula fina e com medula grossa foram escolhidos aleatoriamente, separados e colados em placas de vidro sobre fita dupla face. Sobre a placa de vidro foi feita uma marcação de 10 regiões dos fios. Os fios foram colados em placas separadas e fotografados para controle, anotando-se a região onde foi feito o registro fotográfico. Ao todo, foram observadas as seguintes placas:

Placa 1: Cabelo CC2 medula grossa: 20 fios;

Placa 2: Cabelo CC1 sem medula: 5 fios;

Placa 3: Cabelo CC1 medula fina: 10 fios.

### *3.10.1. Imersão dos fios de cabelo em solução de SDS*

Após os registros das imagens, os fios da Placa 3 foram fixados com cola quente na fita crepe. Foi preparada uma solução de SDS 10 % (m/V) em água, na qual os fios foram imersos por 40 e 96 h, a 40°C em um banho Dubnoff. Em seguida, os fios foram lavados com água em uma bandeja plástica e colocados sobre papel de filtro para secar o excesso de água. Após este procedimento, os fios foram fixados na placa de vidro e levados novamente para o estéreo-microscópio para fotografar as regiões observadas anteriormente.

### *3.10.2. Efeito da temperatura de secadores*

Um secador de cabelo foi fixado a uma garra em um suporte universal e o jato de ar foi ligado por alguns minutos. Mediu-se a temperatura do jato de ar em potência média (~75°C) e máxima (~100°C). Para simular os efeitos da temperatura do secador, as Placas 1 e 2 foram colocadas em uma estufa a 75°C por 40 h. Ao atingir novamente a temperatura ambiente, os fios foram levados ao estéreo-microscópio para observar modificação na região fotografada anteriormente. A seguir, os fios foram colocados em ambiente de UR controlada a 95 % (utilizando dessecador contendo um recipiente com água) por 48 h e observados novamente, sendo que foram fotografadas somente as regiões onde ocorreram mudanças.

## 4. Resultados

Inicialmente, será apresentada a caracterização da morfologia da medula e, a seguir, como a presença ou ausência da mesma influencia nas propriedades ópticas e mecânicas da fibra. As micrografias que não estiverem inseridas no texto estão apresentadas no Anexo I.

### 4.1. Estrutura da medula

#### 4.1.1. Padrões de medula observados por estero-microscopia

Observaram-se 3 padrões de medula na amostra de cabelo analisada por estereoscopia (Figura 18).

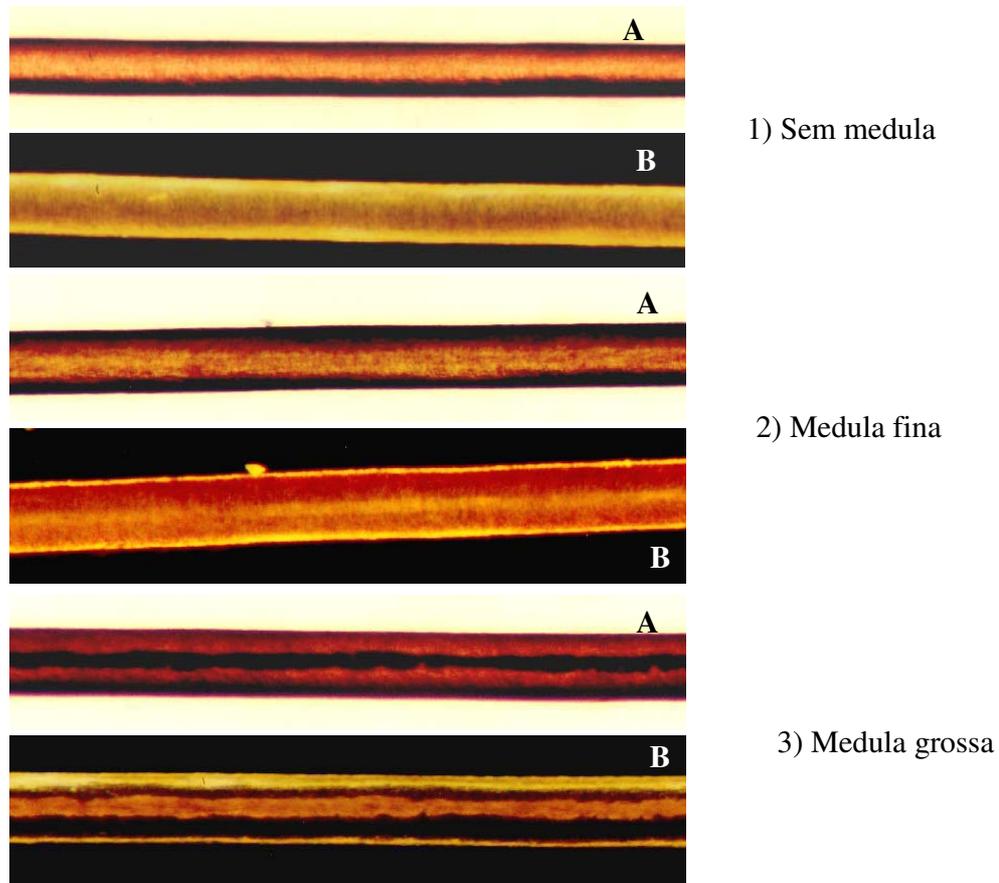
1. Medula ausente: composta geralmente por fios mais finos e claros que constituem cerca de 40 % da amostra. Neste padrão, não se observaram regiões de contraste diferente na região central do fio, tanto na modalidade de campo claro quanto na de campo escuro.

2. Medula fina: composta por fios mais grossos e escuros em sua maioria, mas também observada em fios mais finos. Constituem cerca de 50 % dos fios da mecha. Neste padrão, sob campo escuro, notou-se uma linha mais clara na região central do fio, geralmente contínua. Na modalidade de campo claro, não se observou diferença de contraste entre essa região mais clara (no campo escuro) e o resto do fio.

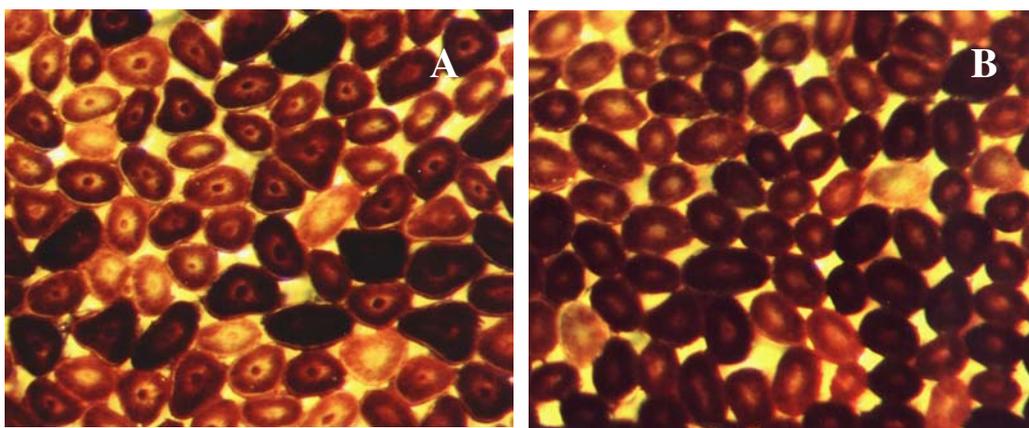
3. Medula grossa: composta por fios mais escuros e mais grossos que constituem cerca de 10 % da amostra. Observou-se contraste da região central com o restante do fio tanto na modalidade de campo claro quanto na de campo escuro. Entretanto, essa região não era contínua e aparecia em algumas regiões do fio. Na literatura [19], define-se como uma medula fragmentada.

#### 4.1.1.1. Observação de cortes transversais por estero-microscopia

As imagens obtidas para o cabelo sem medula e para o cabelo com medula fina estão apresentadas na Figura 19.



**Figura 18.** Foto-micrografias ópticas dos 3 padrões de medula. Em A: imagem de campo claro; em B: imagem de campo escuro.



**Figura 19.** Cortes transversais do cabelo com medula fina (A) e do cabelo sem medula (B). Imagens obtidas por estereoscópio na modalidade campo claro, com luz transmitida.

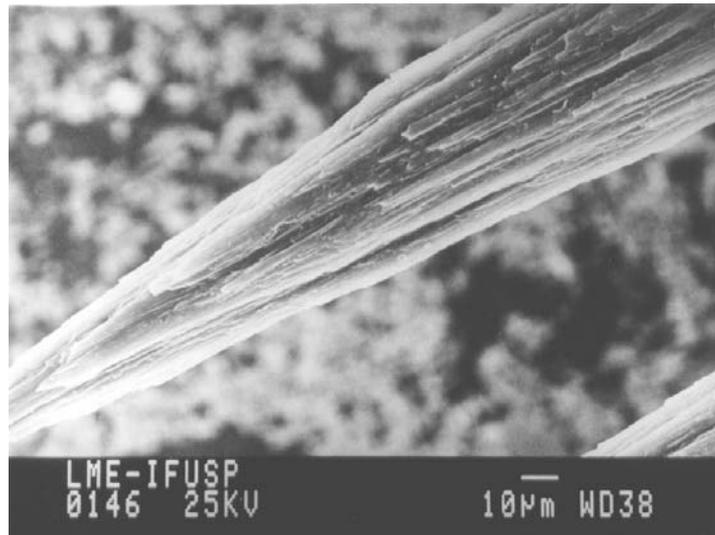
Há uma diferença de contraste na região central do fio com medula, que se apresenta mais escura, mostrando uma diferença entre as amostras com e sem medula e que a separação via estereoscópio é eficiente. No entanto, é interessante observar que a região atribuída à medula fina apresenta um contraste no campo claro semelhante àquele observado longitudinalmente para a amostra de cabelo com medula grossa. Ambas as amostras apresentam uma região de menor densidade óptica localizada na região central do fio (no caso do cabelo com medula, em torno desta região).

#### *4.1.2. Estrutura da medula por MEV*

A preparação da amostra para ser observada no MEV é uma das etapas mais importantes para a utilização desta técnica [48]. Uma preparação adequada garante a preservação da estrutura a ser observada e uma minimização da produção de artefatos, que podem levar a uma interpretação errônea do que se está observando [49]. Cada tipo de amostra exige um tipo de preparação e, portanto, não há um procedimento padrão para observação da fibra capilar. Como o objetivo não é observar a superfície da fibra, que exige uma preparação mais simples, mas sim observar uma região interna do cabelo, seriam necessários cortes longitudinais e transversais que, de certa forma, não atrapalhassem a interpretação da estrutura da medula. O caráter amorfo da medula dificulta ainda mais esse processo, pois a probabilidade de deformar-se, ao sofrer o corte, é maior [49]. Emblocar o cabelo e cortá-lo num micrótomo analogamente ao preparo de amostra para observação por microscopia eletrônica de transmissão seria uma opção. Entretanto, micrografias de varredura de trabalhos anteriores que utilizaram essa metodologia mostraram uma deformação da estrutura do cabelo (como se estivesse amassado) [26, 50]. Além da complexidade do método, esse foi o motivo principal de testarmos diferentes preparações para a observação da medula.

Os procedimentos de preparo de amostra envolvendo a criofratura foram feitos no intuito de obter imagens da medula que não gerassem dúvida quanto à sua preservação estrutural, principalmente na observação do material de caráter mais fibrilar. O material de aparência fibrilar observado anteriormente nos cortes com bisturi poderia ter sido gerado no momento em que a incisão foi “puxada”, no preparo, a fim de propagar a fratura longitudinal e poderia ser oriundo do próprio córtex e não da medula. Nesses ensaios,

esperava-se uma melhor separação da medula com o córtex, pois o congelamento da amostra favoreceria uma fratura entre regiões de diferentes graus de cristalinidade [51], que é o caso da medula e do córtex. Isto tornaria possível a observação da superfície da medula. Isso aconteceu na criofratura longitudinal, mas não na transversal, pois houve a total remoção das cutículas gerando uma imagem da região do córtex, como na Figura 20, que impossibilitou a observação da medula.



**Figura 20.** Micrografia eletrônica de varredura do padrão de fratura transversal do cabelo observado.

A dificuldade de se obterem secções transversais estava no fato de que a criofratura não gerava um padrão em que fosse possível observar a medula e o corte com lâmina de aço danificava a estrutura do cabelo, amassando-a. Isto poderia levar às conclusões errôneas sobre a estrutura da medula. Também foi observado que a lâmina “arrastou” parte do córtex para cima da medula na hora do corte, prejudicando ainda mais sua observação. A idéia de usar a erosão por plasma de oxigênio veio para eliminar esse material que recobria a medula e preparar a superfície para ser observada [52]. Para fins de comparação, cortes longitudinais também foram submetidos à erosão por plasma.

A morfologia de cada tipo de cabelo observada está descrita a seguir.

#### 4.1.2.1. *Medula ausente*

A Figura 21 mostra uma criofratura longitudinal do cabelo sem medula obtida por inclusão em cola quente de silicone. Notam-se as macrofibrilas [14], as cutículas e uma uniformidade do córtex que reflete nas imagens observadas no estereoscópio. A Figura 22 mostra um corte transversal do cabelo sem medula após 5 min de erosão em plasma de oxigênio. Embora ainda se observe a direção do corte da lâmina, há uma uniformidade e limpeza do corte. Nota-se que a erosão evidenciou certas estruturas no córtex que podem ser as células corticais [53]. De certa forma, isto era esperado, pois a erosão por plasma de oxigênio tende a erodir preferencialmente a porção mais amorfa revelando a porção mais cristalina da estrutura observada [54]. Assim, quanto maior o tempo de exposição ao plasma, estruturas com maior grau de reticulação serão erodidas. No córtex, isso levaria à erosão na seguinte ordem: cimento intercelular, cimento intermacrofibrilar e matriz de queratina amorfa, onde estão as microfibrilas, de caráter cristalino. Como o tempo de exposição foi relativamente baixo se comparado àquele utilizado na erosão de polímeros (30 min ou mais) [55], acredita-se que a erosão por 5 min chegou somente até o cimento intercelular.

#### 4.1.2.2. *Medula fina*

As Figuras 23 e 24 mostram cortes longitudinais obtidos por incisão com bisturi, as Figuras 25 e 26 mostram as criofraturas em etanol; as Figuras 27-29 mostram as criofraturas em cola quente de silicone e as Figuras 30-32 mostram cortes erodidos por 5 min em plasma de oxigênio.

Todas as imagens mostram que há um material diferenciado das fibrilas na região central do fio, indicando que a medula é constituída por algum tipo de material poroso e não por um espaço vazio. A medula parece ser constituída por um material com certo caráter fibrilar um tanto quanto desordenado em relação às macrofibrilas do córtex [21]. Nota-se também que a fratura não foi exatamente entre a medula e o córtex, o que revelou detalhes da estrutura interna da medula. A medula também se apresentou fora do plano da fratura, mostrando que o congelamento realmente favorece a fratura entre a medula e o córtex conforme o esperado, preservando a medula. Se fosse o contrário, a medula estaria no plano do córtex fracionado. Na Figura 25 é possível notar as dimensões cilíndricas da

medula e a comparação com as outras estruturas morfológicas do cabelo.

Nota-se também a presença de um material globular de superfície mais lisa orientado diferentemente em relação ao corte, que está indicado nas Figuras 23, 24, 26 e 29. De acordo com a literatura [23], essas estruturas podem ser os vacúolos de ar que fazem parte da medula. Esses vacúolos são formados na etapa final de diferenciação do córtex, onde parte da tricoialina se ordena formando as fibrilas e parte se funde num glóbulo que prensa o ar quando sai do folículo capilar. Entretanto, nota-se que estão dispersos com outro tipo de material na região da medula, mostrando que esta não é formada apenas por esses vacúolos. Talvez as estruturas fibrilares fossem macrofibrilas num processo intermediário de ordenação, pois são da mesma ordem de grandeza. Isso seria comprovado se fosse provado que esse material fibrilar tivesse um caráter mais cristalino. Nas criofraturas, essas estruturas estão mais bem preservadas e envolvem esses glóbulos. Isso fica mais evidente na Figura 25 onde é possível observar as estruturas globulares orientadas diferentemente em relação ao corte. Há dois glóbulos inteiros e dois aparentemente abertos, visto que há um acúmulo de material mais claro em volta dessas supostas cavidades. Nota-se que ambos são envolvidos pelo material de caráter mais fibrilar como se estivessem presos ao interior da medula por esse material. A Figura 29 mostra a estrutura globular sob dois ângulos utilizando-se os recursos de inclinação do porta-amostra no microscópio. É interessante observar que há certa periodicidade dessas estruturas que só foi observada sob inclinação da amostra. Portanto é possível que as outras imagens possuíssem mais dessas estruturas.

Outra estrutura observada é uma camada lisa que aparentemente recobre a medula, observada nas Figuras 24, 27B e 28B. De acordo com Zahn *et al.* [23], existe uma camada de fibrilas mal formadas entre o córtex e a medula, uma vez que a diferenciação das estruturas morfológicas do cabelo acontece de fora para dentro no sentido radial da fibra [13]. Essa camada aparece mais bem preservada nas criofraturas em cola quente de silicone. A Figura 28 mostra uma fratura nessa superfície onde há um material mais poroso por baixo, o que prova ser essa camada a superfície da medula.

A erosão por plasma de oxigênio foi uma importante ferramenta para fornecer informações sobre o caráter amorfo/cristalino de algumas estruturas da medula. A Figura 30 mostra que os glóbulos são mais resistentes à erosão. Apesar de amorfos, são feitos de

proteína compactada [23], o que deve conferir uma maior resistência à oxidação pelo plasma se comparada com estruturas menos reticuladas e de caráter mais hidrofílico, como o cimento intercelular. Observa-se também que o material fibrilar tem certa resistência ao plasma, pois sua estrutura não sofreu alterações se comparada com aquelas observadas nas criofraturas, o que leva a crer que tenham realmente um caráter mais cristalino. No entanto, o que confirmou isso foi a Figura 31. Nela, nota-se a erosão da superfície lisa da medula, revelando uma “rede” de material de caráter menos amorfo ligado ao interior da mesma. Aparentemente é o mesmo material. Um outro fator intrigante é a presença dessa grande quantidade de material amorfo envolvendo a medula e que esse material não aparece no interior da mesma. Se compararmos com as micrografias de cortes transversais do cabelo sem medula (Figura 22) depois da erosão por plasma, é possível concluir que esse material concentrado na superfície da medula tem o mesmo caráter amorfo do cimento intercelular. Se pensarmos no processo de diferenciação radial do cabelo [56], a superfície da medula pode ter uma maior quantidade de cimento intercelular que não se “misturou” às macrofibrilas, unindo-as. A aparente falta de ordenação dessas macrofibrilas na medula é uma outra evidência de que o processo de formação do córtex não foi completo nessa região.

A Figura 32 mostra dois cortes transversais do cabelo com medula fina após a erosão pelo plasma. Novamente, a estrutura globular se preserva após a erosão e, portanto, deve possuir um maior grau de reticulação do que o cimento intercelular e do que a superfície da medula. Também, há a preservação da “rede” fibrilar e de sua interligação com o córtex.

#### *4.1.2.3. Cabelo com medula grossa*

A Figura 33 mostra cortes longitudinais do cabelo CC2, que tem medula grossa e contínua em todos os fios e a Figura 34 mostra as criofraturas longitudinais em cola quente de silicone para o cabelo CC1 com medula grossa.

A princípio, são observadas as mesmas estruturas que observamos no cabelo com medula fina. Há a camada superficial lisa, a parte porosa de caráter fibrilar e os glóbulos. Entretanto, até este estágio do trabalho não se conseguiu definir se havia alguma diferença com a medula fina que justificasse as observações por microscopia óptica.

#### *4.1.3. Ultra-estrutura da medula por MET*

Foram observadas claras diferenças entre os dois tipos de medula por estereomicroscopia. No entanto, não foi possível diferenciar essas estruturas por MEV. Logo, os principais objetivos desta parte do trabalho foram caracterizar a medula por MET e, também, diferenciar a medula fina da medula grossa.

O maior problema do preparo de amostra para esse tipo de observação é que as vias de penetração do cabelo são hidrofílicas [7, 12] e a resina de inclusão é hidrofóbica. Sua polimerização fica comprometida em meios não desidratados. Mesmo num cabelo desidratado com etanol, a penetração e a polimerização da resina ficam comprometidas, porque ainda existe bastante água na estrutura do cabelo. Além da penetração da resina se restringir às cutículas, durante a ultramicrotomia, quando os cortes são recolhidos na cuba com água, o cabelo intumescce e “pula” para fora da resina. A desidratação somente com álcool e não com óxido de propileno foi feita justamente para evitar uma desidratação muito drástica, mas compromete a reticulação da resina. Visando solucionar esse problema, foram feitos cortes longitudinais com o bisturi nos fios antes da inclusão na resina e o recolhimento dos cortes com a cuba cheia de água e um pouco de álcool. Com esse procedimento, foi possível observar alguns fios, já que as telas eram preparadas contendo uma quantidade muito grande de cortes.

Uma vez observada a erosão de componentes de caráter mais hidrofílico pelo plasma de oxigênio, este foi aplicado nos cortes longitudinais para posterior inclusão na resina. Com esse procedimento, a resina ficou bem aderida ao fio, permitindo que pudesse ser observado e fotografado sem que fosse danificado pelo feixe.

##### *4.1.3.1. Medula fina*

A Figura 35A mostra o aspecto geral de uma região do córtex para fins de comparação. A Figura 35B mostra o aspecto geral da medula fina. Nota-se uma região medindo cerca de 15 x 6  $\mu\text{m}$  eletronicamente mais densa que o córtex, a qual contém cavidades vazias ou preenchidas com material menos denso. Os grânulos pretos são as melaninas, as setas brancas indicam o CMC (menos denso eletronicamente) e, limitada pelo círculo, uma celular cortical. Em cinza escuro em torno das células corticais e do CMC está a matriz marcada com uma seta amarela.

Observa-se um glóbulo semelhante àquele observado por MEV marcado com um asterisco na Figura 36A. Essa estrutura pode ser confundida com uma das cavidades, mas é diferenciada pelo material ligeiramente mais corado que a envolve. Isso é melhor visualizado na Figura 37A. A Figura 36A mostra as células da medula muito semelhantes às células corticais, mas menos organizadas e mais dispersas. Algumas células têm formato mais elíptico ou são disformes. Elas também estão dispostas em torno do glóbulo, deixando poucas cavidades. Existem cavidades de  $1,5 \times 1,0 \mu\text{m}$  onde, aparentemente, também existia um material menos denso que pode ter sido danificado pelo feixe eletrônico.

As Figuras 37A e B mostram os detalhes da interface entre a medula fina (M) e o córtex (C). Observa-se a diferença de organização entre “C” e “M”. No córtex também existem cavidades provenientes dos remanescentes nucleares [57], mas a quantidade de cavidades na medula é notoriamente maior, bem como as dimensões dessas cavidades. Visualiza-se também o contraste de coloração eletrônica entre as duas regiões. Isso pode acontecer devido à maior densidade de células no espaço ou à maior concentração de cimento intermacrofibrilar (material que envolve as fibrilas) na medula, que tem coloração mais escura por ser mais rico em ligações dissulfídicas. A observação desse maior gradiente de material cimentante na medula também foi caracterizado por MEV.

As amostras antes e depois da exposição ao plasma de oxigênio mostram o material fibrilar somente depois da erosão do material cimentante que o encobria. Em volta da medula, ainda existe uma camada de CMC que tem baixa resistência mecânica [58], é hidrofílico e pode ter favorecido as criofraturas bem na região da interface entre medula e córtex, onde foi observada uma camada “lisa”. Outras criofraturas ocorreram no meio da medula, provavelmente devido à presença das cavidades.

Foi sugerido que o material fibrilar poderia ser formado por macrofibrilas organizadas aleatoriamente, mas não na direção longitudinal da fibra, como no córtex. As micrografias da Figura 38 comprovam essa hipótese. Em 38A, tem-se o córtex (C) com as microfibrilas (pontos mais claros orientadas transversalmente ao corte e, na medula (M), tem-se as microfibrilas orientadas em várias direções (formatos semelhantes às “digitais”). As microfibrilas orientadas transversalmente ao corte estão mais evidenciadas em 38B. Observa-se também a presença de células corticais orientadas paralelamente à direção do corte, evidenciando a orientação aleatória das células na medula. Em aumentos maiores,

como na Figura 39, é possível observar microfibrilas orientadas paralelamente ao corte (listras brancas), confirmando que se trata de uma célula cortical na medula, cuja principal característica é a presença de queratina cristalina.

Essas micrografias são importantes porque comprovam que a medula tem certa ordenação (em nível das células da medula) e que há o material cristalino que caracteriza a célula cortical. Elas comprovam as semelhanças entre o córtex e a medula e direcionam a discussão no sentido de que a medula é uma região do cabelo de diferenciação incompleta.

#### 4.1.3.2. Medula grossa

O cabelo com medula grossa proveniente do mesmo couro cabeludo do cabelo sem medula e do cabelo com medula fina (CC1) apresentava a medula grossa fragmentada alternada com a fina e, por isso, havia a possibilidade de análise de uma região que não tivesse as características deste tipo de medula. Além de selecionar regiões de medula grossa no micro-estereoscópio para inclusão na resina, os resultados foram comparados com um cabelo que continha medula grossa contínua em todos os fios da mecha (CC2).

A Figura 40A mostra o aspecto geral da medula grossa para o CC1. Diferentemente da medula fina, a medula grossa não é contrastada em relação ao córtex. O diâmetro é bem maior. A estrutura também é mais porosa, as células corticais da medula são mais achatadas e algumas ainda se apresentam alongadas. A presença dos glóbulos (marcados com um asterisco) é mais evidente e está ligado às células corticais da medula. Existem furos nas cavidades relativos à ação do feixe no filme da resina de inclusão, mostrando que esta penetrou na medula grossa. Este artefato sugere que a resina não penetrou na medula fina, provavelmente pela sua maior concentração de matriz. As cavidades apresentam dimensões maiores 2,8 x 2,0  $\mu\text{m}$  e formatos menos circulares que a medula fina. Esses padrões se repetem no cabelo CC2 (na Figura 40B nota-se a presença de vários glóbulos bem formados), mostrando que a região observada do CC1 corresponde à medula grossa.

Outro aspecto interessante é a presença de grânulos de melanina na medula grossa, o que não foi observado para a medula fina. O formato de alguns desses grânulos também é mais elíptico que no córtex, como mostra a Figura 41A. Esse formato do grânulo de melanina é pouco observado no córtex. Em estudos do folículo capilar, essas estruturas elípticas são grânulos de melanina em diferentes estágios de formação [57, 59, 60]. Essa

seria mais uma evidência do estágio de formação do cabelo em que a medula se classifica.

A Figura 41B mostra a estrutura globular em detalhe. Nota-se que não há material preenchendo o glóbulo como observado por MEV e que a proporção entre o glóbulo e essas células corticais é bem maior que na medula fina. A parede do glóbulo é ligeiramente mais densa eletronicamente que as células corticais, o que permite sua identificação. Há autores que dizem que os glóbulos são a medula, pois resultam do processo de diferenciação com as microfibrilas do córtex. De fato, existe uma imagem obtida por MEV [7] que mostra a medula formada apenas por esses glóbulos. Em outros trabalhos [20, 21, 25, 26] nunca foi feito esse tipo de observação e todos os fios estudados neste trabalho apresentavam a mistura de glóbulos e de células corticais desorganizadas. Considerou-se, portanto, que a medula constituída apenas por glóbulos se trata de uma observação que não é representativa. No entanto, a estrutura porosa formada pelas células corticais da medula também confere ao cabelo propriedades ópticas diferenciadas e, portanto, deve ser considerada como parte da medula.

Um aspecto bastante interessante que a medula grossa apresenta é a interface com o córtex. A Figura 42A mostra o padrão mais encontrado na medula grossa: há material menos denso eletronicamente ou cavidades que acompanham o perímetro da medula. O outro padrão está apresentado na Figura 42B, onde ainda se observa a presença de CMC, entretanto, a medula grossa já é bem mais porosa se comparada com a medula fina.

Há diferenças entre as regiões da medula grossa. No sentido radial, a Figura 43A mostra a região mais central, onde se observam células corticais bastante disformes. A Figura 43B mostra a região mais próxima da interface com o córtex, onde se observam células mais organizadas de formato arredondados, bastante semelhantes com as células do córtex. Mais uma vez tem-se uma evidência de que a medula está num estágio de diferenciação menor que o córtex, pois a diferenciação se dá no sentido radial, começando pelas cutículas para o interior do córtex, chegando depois à medula.

O maior diâmetro do cabelo, que depende do formato do folículo piloso, pode ser o causador da formação da medula [61]. O fio sai do couro cabeludo sem ter sofrido o processo completo de diferenciação por ser muito espesso. De acordo com Zahn *et al.* [23], a composição protéica da medula se assemelha àquela encontrada na raiz mais interna do folículo (inner root sheet – IRS). Essa região é um dos estágios iniciais da diferenciação

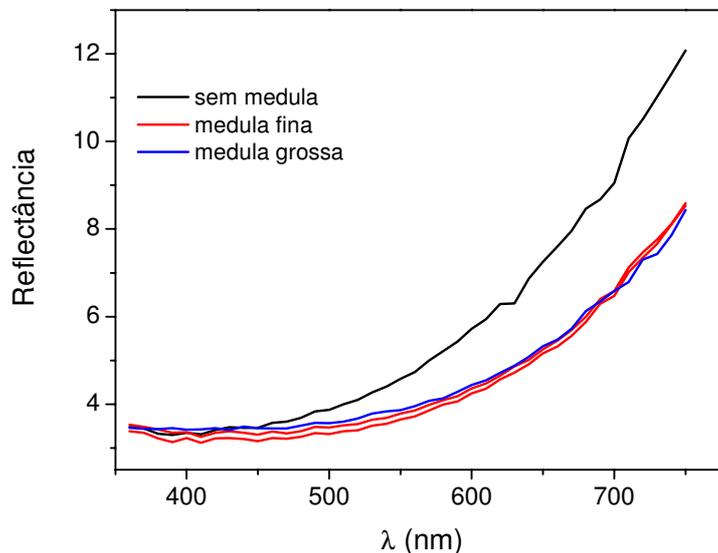
das células.

Resumindo, a medula fina apresenta contraste, interface limitada pelo CMC e menor diâmetro. A medula grossa apresenta mais glóbulos, bem como maiores dimensões das cavidades e organização gradual das células de fora para dentro.

#### 4.2. Propriedades de cor

##### 4.2.1. Espectros de reflexão

A Figura 44 apresenta a média de 10 espectros de reflexão obtidos a 50 % de U.R. para cada uma das mechas de cabelo sem medula, com medula fina e com medula grossa provenientes do mesmo couro cabeludo (CC1).



**Figura 44.** Espectros de reflexão na faixa de 360 a 740 nm das mechas de cabelo sem medula (preto), com medula fina em duplicata (vermelho) e com medula grossa (azul).

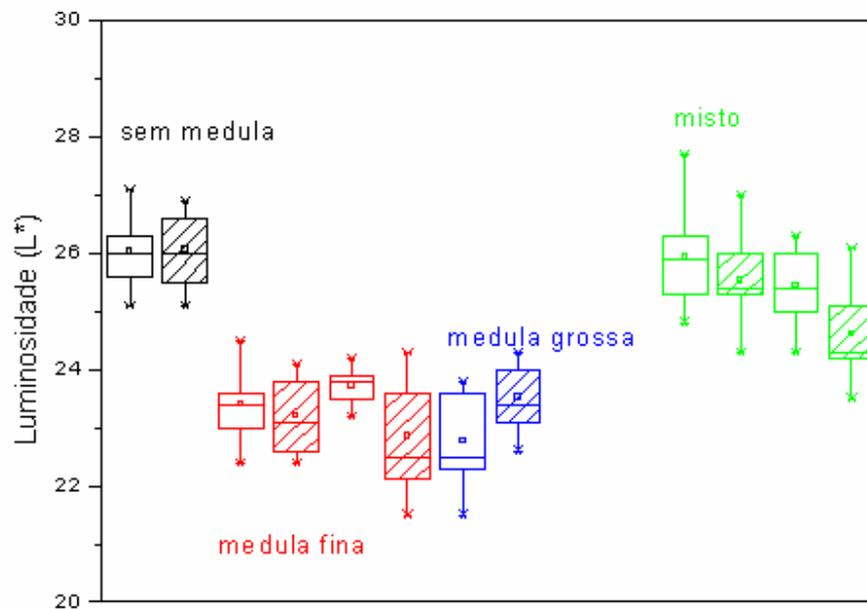
Nota-se que o cabelo sem medula apresenta maior intensidade de reflexão do que o cabelo com medula para todos os comprimentos de onda a partir de 450 nm. A maior diferença entre o cabelo sem medula e o medulado chega a 3 % de reflexão. Esse valor representa cerca de metade da diferença entre as porcentagens de reflexão do cabelo ruivo com o castanho (vide Figura 10), o que mostra ser grande a diferença, uma vez que um cabelo ruivo é bem diferente de um cabelo castanho a olho nu [39]. Os dois tipos de cabelo com medula apresentam espectros idênticos. Já que a medula grossa possui mais cavidades que a medula fina, é interessante notar que o número de cavidades não influencia o espectro

de reflexão.

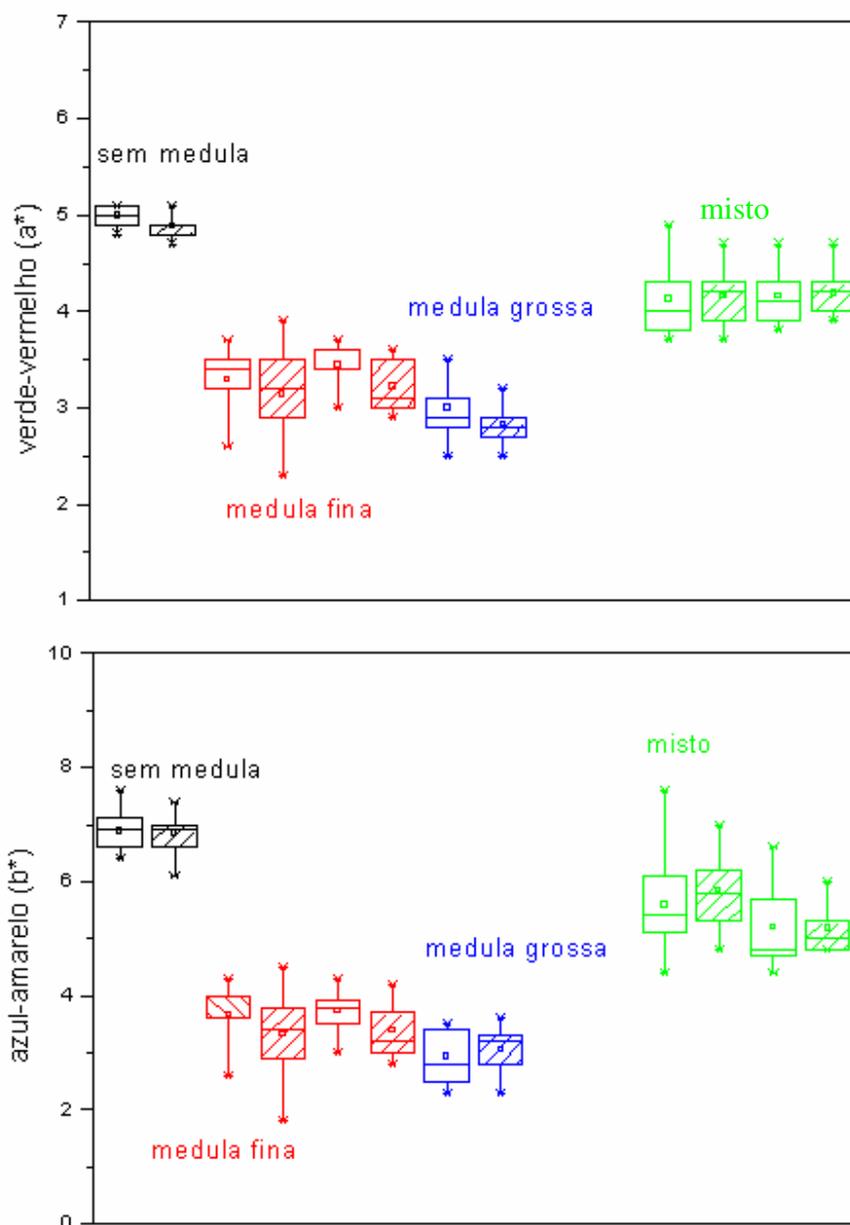
#### 4.2.2. Medidas de cor das mechas

Para verificar como as reflexões influenciam na percepção de cor, os parâmetros de cor medidos das mechas obtidas de fios com medula fina, com medula grossa e sem medula estão apresentados em diagramas de caixa nas Figuras 45 e 46. Também foram medidos os parâmetros para 2 amostras controle (mista - sem separação de fios). Vale ressaltar que as medidas foram feitas antes e depois da limpeza das mechas com solução de dodecilsulfato de sódio 2 % a fim de verificar se a lavagem não interferiria nas medidas de cor do padrão que será usado como referência interna em trabalhos futuros.

Cada caixa do diagrama representa o limite de 50 % da distribuição de valores de uma amostra. O ponto no meio é a média e a lista é a mediana. As barras verticais indicam a dispersão dos dados no limite de 95 % de confiança.



**Figura 45.** Luminosidade ( $L^*$ ) das mechas de cabelo castanho escuro sem medula ( $\square$ ), com medula fina ( $\square$ ) em duplicata, com medula grossa ( $\square$ ) e misto ( $\square$ ) como controle, em duplicata. As caixas lisas são referentes às medidas antes da limpeza e as caixas hachuradas, depois.



**Figura 46.** Coordenadas de cor no eixo vermelho-verde ( $a^*$ ) e no eixo amarelo-azul ( $b^*$ ) das mechas de cabelo castanho escuro sem medula ( $\square$ ), com medula fina ( $\square$ ) em duplicata, com medula grossa ( $\square$ ) e misto ( $\square$ ) como controle, em duplicata. As caixas lisas são referentes às medidas antes da limpeza e as caixas hachuradas, depois.

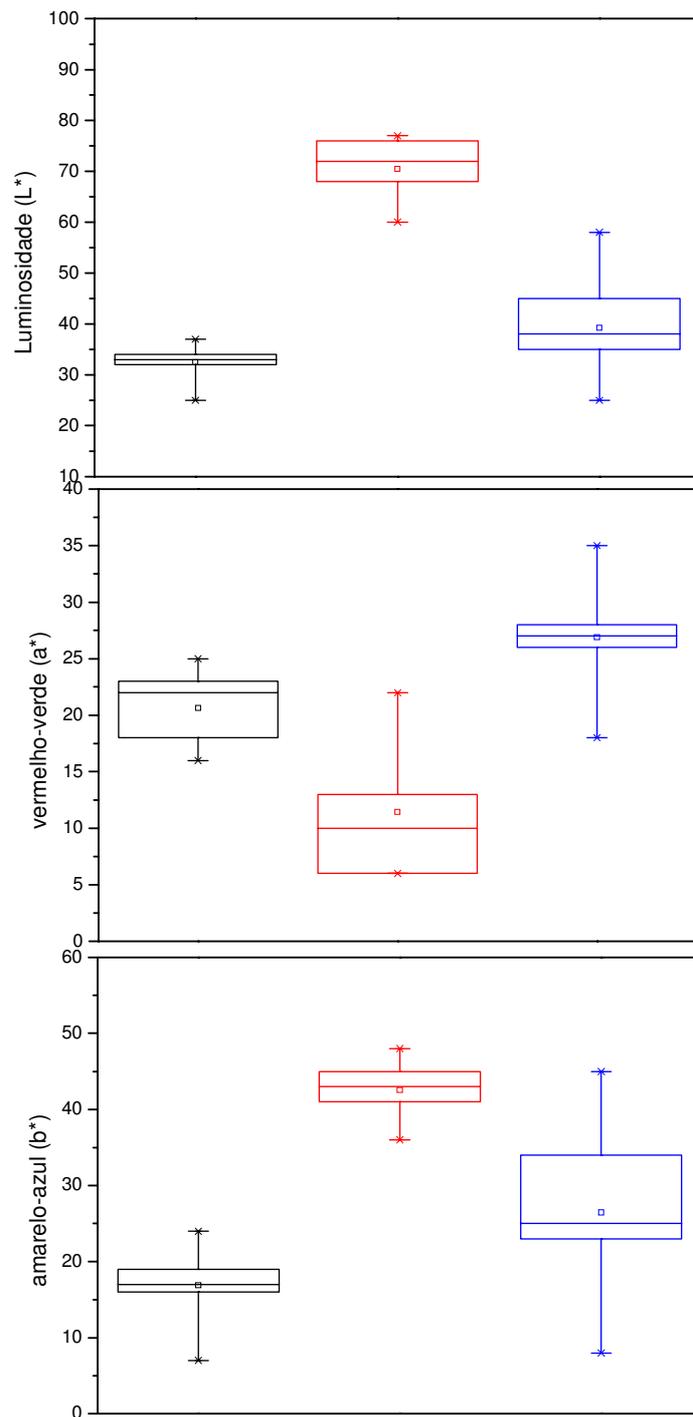
Nota-se que os valores são estatisticamente diferentes para todos os parâmetros entre o cabelo com medula e o sem medula. O cabelo sem medula é mais claro (valores maiores de  $L^*$ ), mais vermelho (valores maiores e positivos de  $a^*$ ) e mais amarelo (valores maiores e positivos de  $b^*$ ). Essa diferença da cor das mechas também é visível ao olho

humano. Uma variação total de cor significativa é em torno de 1 unidade de cor [62]. Para o parâmetro  $a^*$  de cor, observou-se uma diferença em torno de 2 unidades, e cerca de 3 unidades para  $b^*$  e  $L^*$ . Uma vez que a variação de cor total  $DE = (a^2 + b^2 + L^2)^{1/2}$ , a variação total de cor entre o cabelo com e sem medula é aproximadamente 4,7 [63]. Observa-se também que dois controles têm valores intermediários de cor. Esses dados mostram que a medula interfere diretamente na cor do cabelo, diminuindo suas reflexões.

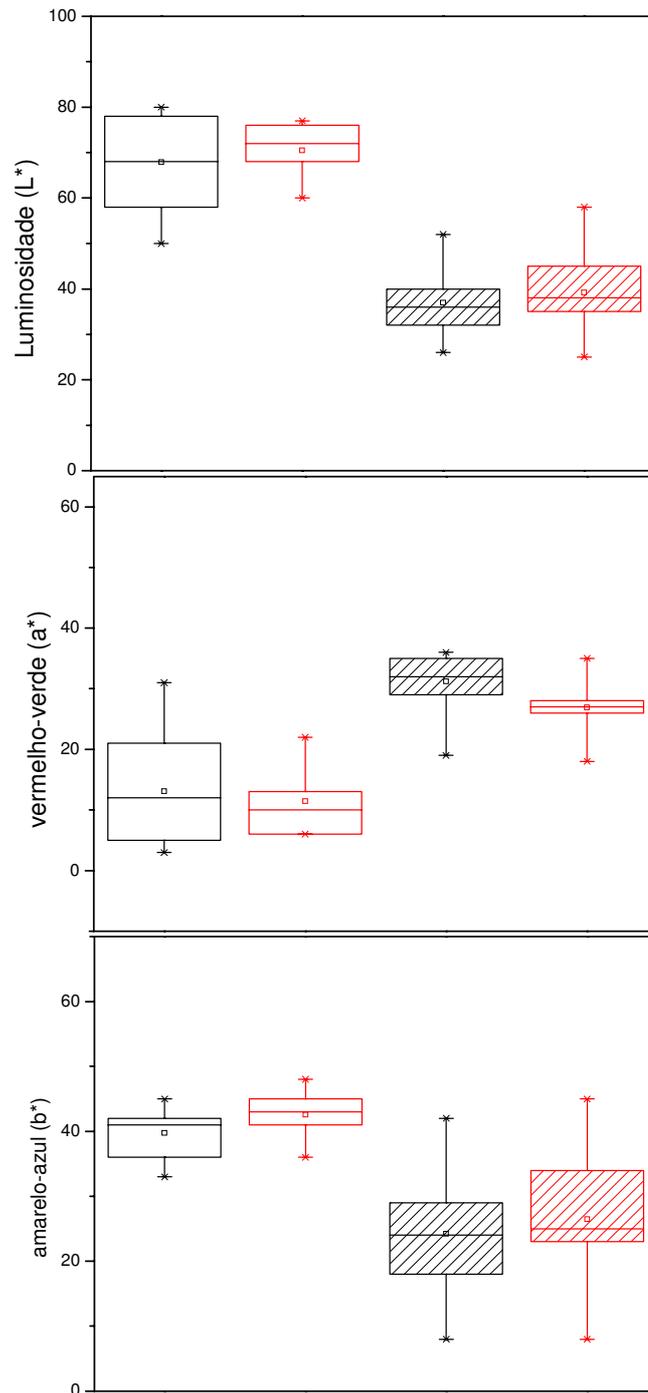
#### *4.2.3. Medidas de cor nos cortes transversais*

As medidas de cor das mechas mostraram uma significativa diferença de cor para os cabelos com e sem medula. Como o cabelo sem medula tem diâmetro menor, imaginou-se que a mesma quantidade de pigmento fosse mantida para os dois tipos de cabelo na sua formação. Como não foi feito nenhum estudo estatístico da quantidade de melanina por MET, medidas de cor no corte transversal poderiam demonstrar uma concentração maior de pigmento no cabelo sem medula (valores maiores de  $a^*$  e de  $b^*$ ) do que no cabelo com medula. A Figura 47 apresenta os parâmetros de cor para as três regiões do cabelo medulado. A Figura 48 mostra a comparação das regiões do córtex entre o cabelo sem medula e o medulado. A Figura 49 mostra a variação total de cor DE entre a região mais externa e a região menos densa de cada fio para os dois tipos de fibras.

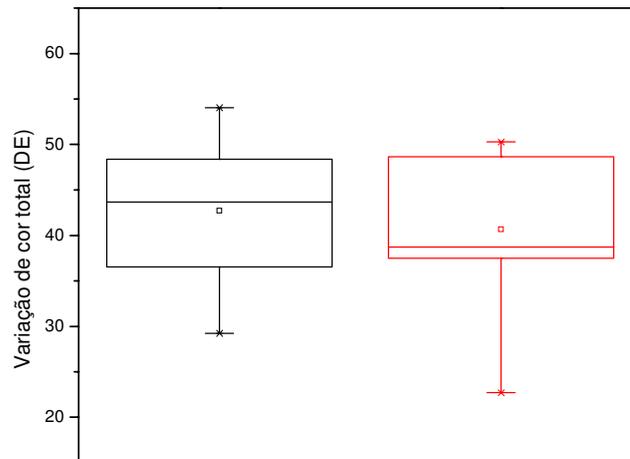
É possível ver que os parâmetros de cor nas regiões 2 e 3 diferem entre si, mas não diferem entre o cabelo sem medula e o medulado. A região 2 é mais amarela provavelmente devido à maior passagem de luz por transmissão e menos vermelha por causa da falta de pigmentação (de acordo com as observações por MET, há menos melanina nessa região ao compará-la com o córtex perto das cutículas). Entretanto, há uma diferença no parâmetro  $a^*$  para a região 3 no qual o cabelo sem medula é um pouco mais vermelho. O cálculo da variação de cor total DE foi feito a fim de verificar se o “contraste de cor” nas regiões 2 e 3 era diferente para os dois tipos de cabelo. Mas não há diferença entre os dados.



**Figura 47.** Luminosidade ( $L^*$ ), coordenada de cor no eixo vermelho-verde ( $a^*$ ) e no eixo amarelo-azul ( $b^*$ ) dos cortes transversais de cabelo castanho escuro comum com medula fina nas regiões da medula (região 1) (□), central (região 2) (□) e externa (região 3) (□).



**Figura 48.** Luminosidade ( $L^*$ ), coordenada de cor no eixo vermelho-verde ( $a^*$ ) e no eixo amarelo-azul ( $b^*$ ) dos cortes transversais de cabelo CC1 sem medula ( $\square$ ) e com medula fina ( $\square$ ) em diferentes regiões do corte: região 2 (central) representada pelas caixas lisas e região 3 (externa) representada pelas caixas *hachuradas*.

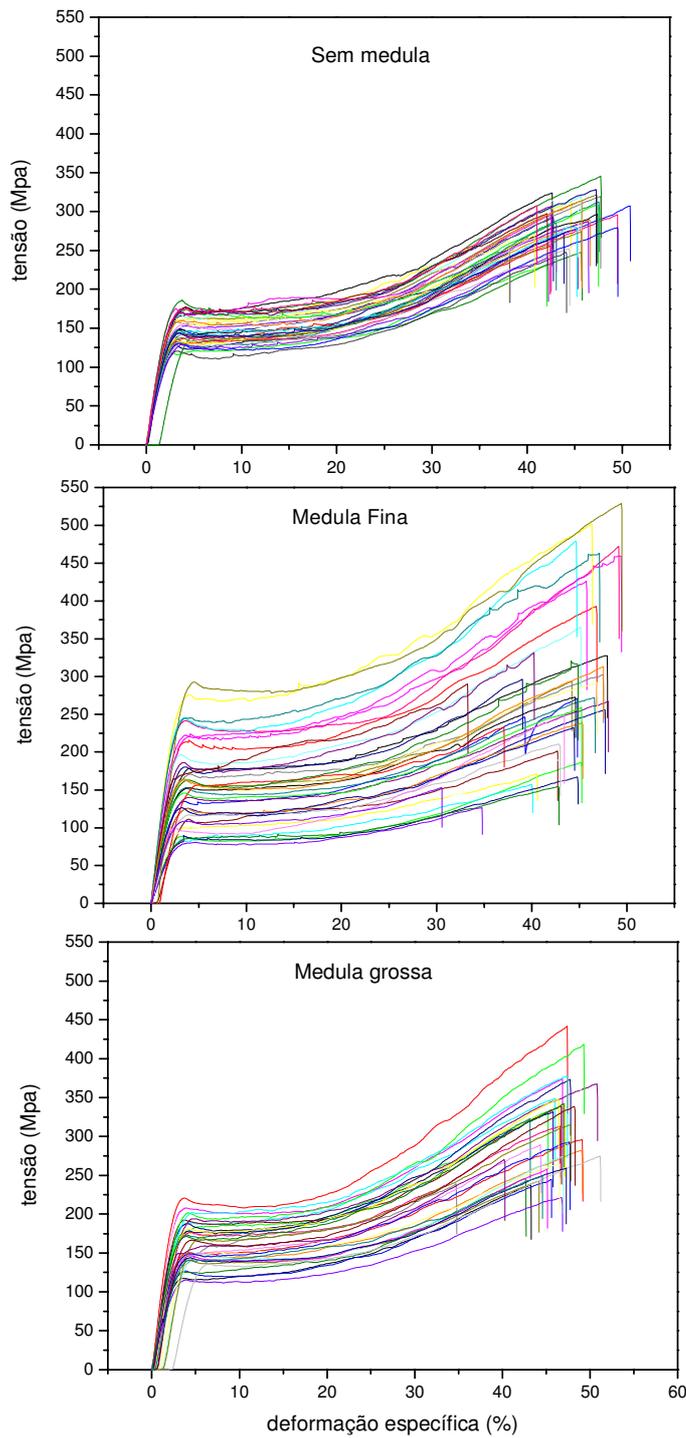


**Figura 49.** Variação de cor total (DE) entre a região mais externa e a mais interna do córtex dos cortes transversais dos cabelos sem medula (□) e com medula (□).

Comparando-se os parâmetros de cor das 3 regiões do cabelo com medula nota-se que, apesar da mesma luminosidade que a região 3, a medula (região 1) é significativamente menos amarela e menos vermelha do que a região mais externa, mostrando que há menos pigmento nessa região, embora tenha a mesma luminosidade. Há trabalhos que apresentam micrografias de varredura com mapeamento de enxofre que indicam a melanina na medula na forma de grânulos [50]. Entretanto, de acordo com os dados de morfologia obtidos, tal interpretação pode ser errônea, pois dependendo de como foi feito o corte, os “grânulos” podem ser formados a partir das microfibrilas que também compõem a medula. Por MET foi observada pouca ou nenhuma melanina na medula. Apesar dos valores de  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$  dos cortes transversais não serem comparáveis aos parâmetros medidos por espectrofotometria, esses dados concordam com o modelo proposto para a diminuição de reflexão total do cabelo pela medula, indicando que há perda de luz nessa região que não é causada pela presença da melanina.

#### 4.3. Propriedades Mecânicas

As curvas de tensão-deformação obtidas para o cabelo sem medula ou com medula fina ou grossa estão apresentadas na Figura 50.



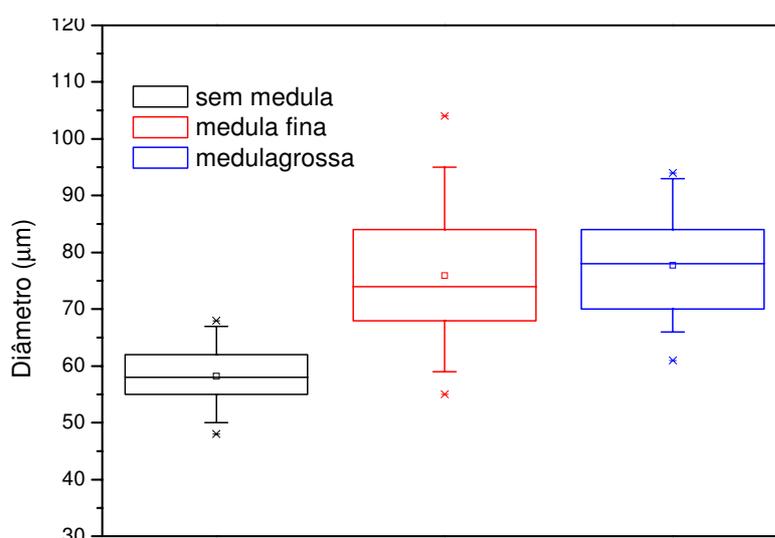
**Figura 50.** Curvas de tensão-deformação para os cabelos sem e com medula fina ou grossa.

Nota-se que a maior diferença entre os gráficos é a uniformidade das curvas para o cabelo sem medula, principalmente nas regiões de transformação das cadeias  $\alpha$  em  $\beta$ . A

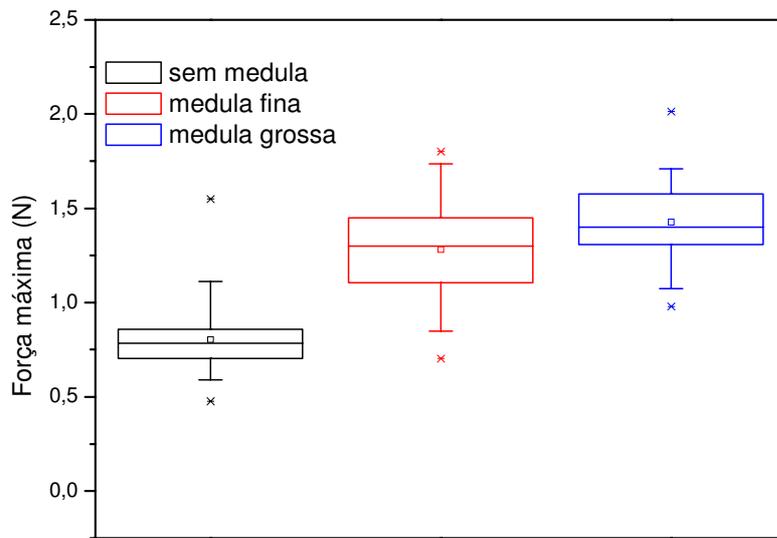
tensão de ruptura também parece ser mais uniforme para o cabelo sem medula. A uniformidade das fibras é importante principalmente no ato de pentear, pois a força aplicada nesse cuidado diário é a mesma para todos os fios. Quando os fios são mais heterogêneos exigem forças diferentes, o que pode acarretar em danos irreversíveis ou mesmo em quebras de fios menos resistentes.

Para verificar os valores médios e a dispersão das propriedades mecânicas fornecidas por esse experimento foram construídos diagramas de caixas, apresentados nas Figuras 51-55.

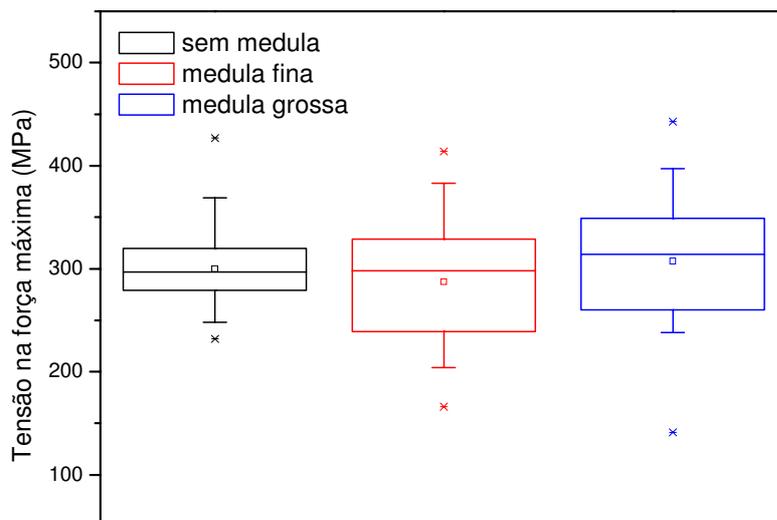
O cabelo sem medula é significativamente mais fino que o cabelo com medula (Figura 4). Há também uma menor dispersão dos valores de diâmetro em relação ao cabelo com medula. A medula fina e a grossa não diferem entre si, nem nos valores médios nem na distribuição dos mesmos. Conseqüentemente, os valores de força máxima refletem a diferença entre o diâmetro médio do cabelo sem e com medula. A força máxima suportada pelos fios mais grossos é maior (Figura 52), o que é importante para confirmar que as medidas de diâmetro feitas no micrômetro manual são válidas. Se as propriedades mecânicas são realmente diferentes devido à estrutura porosa da medula, a tensão na força máxima, o módulo elástico e o alongamento à ruptura devem ser diferentes. Mas os valores médios não variam entre si para nenhuma dessas propriedades (Figuras 53-55). Novamente, o que difere é a dispersão de dados.



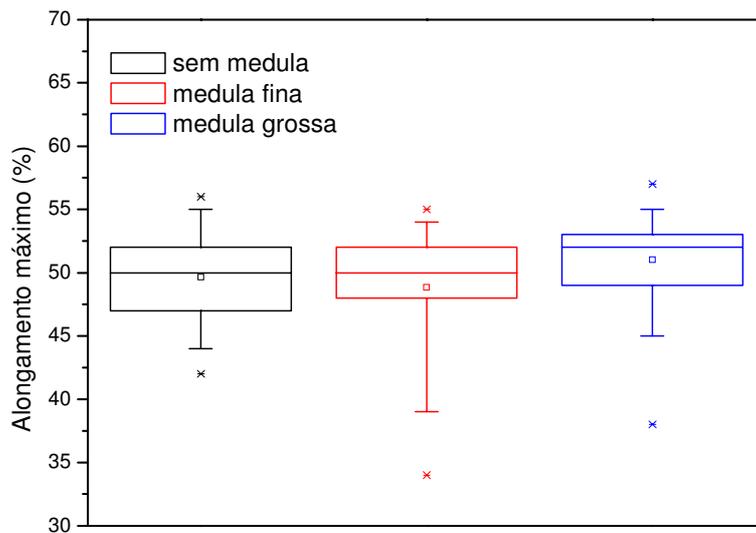
**Figura 51.** Medidas de diâmetro do cabelo sem medula ( $\square$ ), com medula fina ( $\square$ ) e com medula grossa ( $\square$ ).



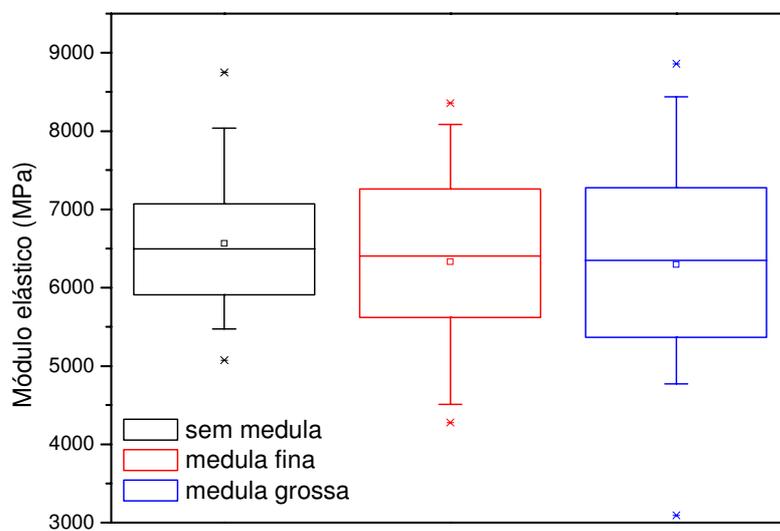
**Figura 52.** Força máxima resistida pelo fio de cabelo sem medula (□), com medula fina (◻) e com medula grossa (◻).



**Figura 53.** Tensão na força máxima (ruptura) resistida pelo fio de cabelo sem medula (□), com medula fina (◻) e com medula grossa (◻).



**Figura 54.** Alongamento máximo antes da ruptura do fio de cabelo sem medula (□), com medula fina (□) e com medula grossa (□).



**Figura 55.** Módulo elástico do fio de cabelo sem medula (□), com medula fina (□) e com medula grossa (□).

#### *4.4. Modificação da medula por tratamentos diários*

##### *4.4.1. Imersão dos fios de cabelo em solução de SDS*

Inicialmente, todos os fios apresentavam medula fina em sua maioria e alguns apresentavam tênues fragmentos de medula grossa. Após o tratamento, todos os fios apresentavam medula grossa contínua ou fragmentada por toda a extensão do fio. As imagens mais representativas desse ensaio estão na Figura 56.

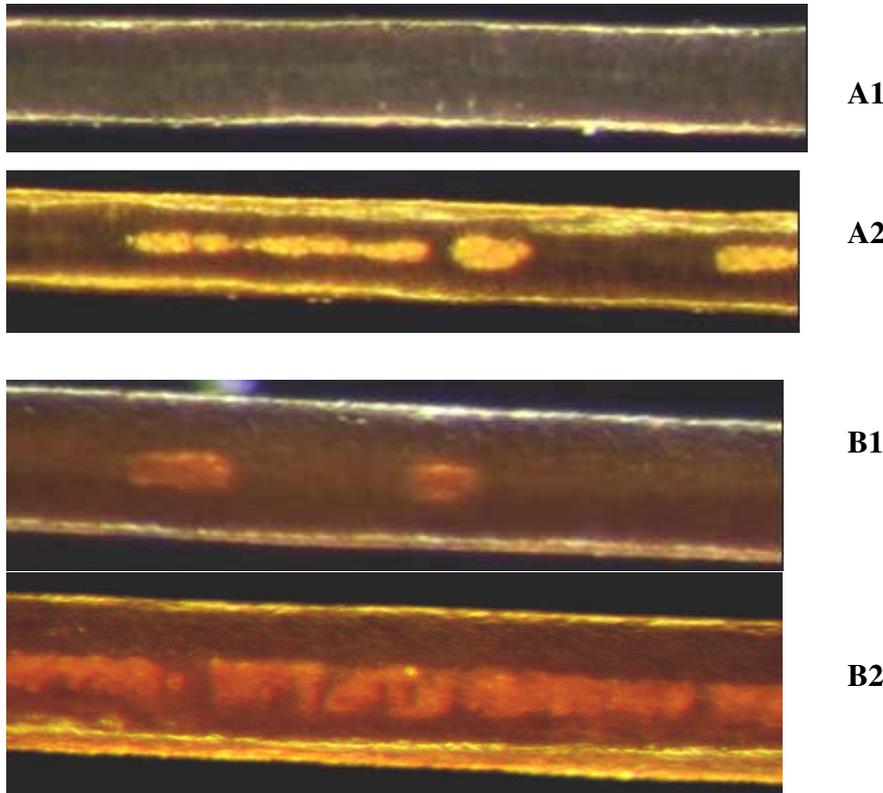
##### *4.4.2. Efeito da temperatura de secadores*

Na observação dos controles, ocorreu um fato inesperado: nem todos os fios do cabelo CC2 tinham medula grossa contínua. Isto foi ruim, pois as micrografias do cabelo CC1 com medula grossa foram todas comparadas com o CC2, apesar de que a região fotografada fora previamente observada no estereoscópio, impedindo que a comparação seja invalidada. Por outro lado, se não houvesse medula fina no CC2 (não havia nenhum fio sem medula), as observações mais interessantes desta etapa do trabalho não teriam sido realizadas. Observou-se que todas as regiões de medula grossa fragmentada viraram contínua e que todas as regiões de medula fina, viraram medula grossa fragmentada. Ou seja, a temperatura aumentou a medula. As foto-micrografias mais representativas deste ensaio estão na Figura 57.

Se houve um aumento na medula, foram estudados fios sem medula para verificar se a temperatura poderia gerar medula nesses fios. Esses fios não apresentaram mudança alguma. Ou seja, a medula pode ser modificada, mas não pode ser criada a partir do aumento da temperatura.

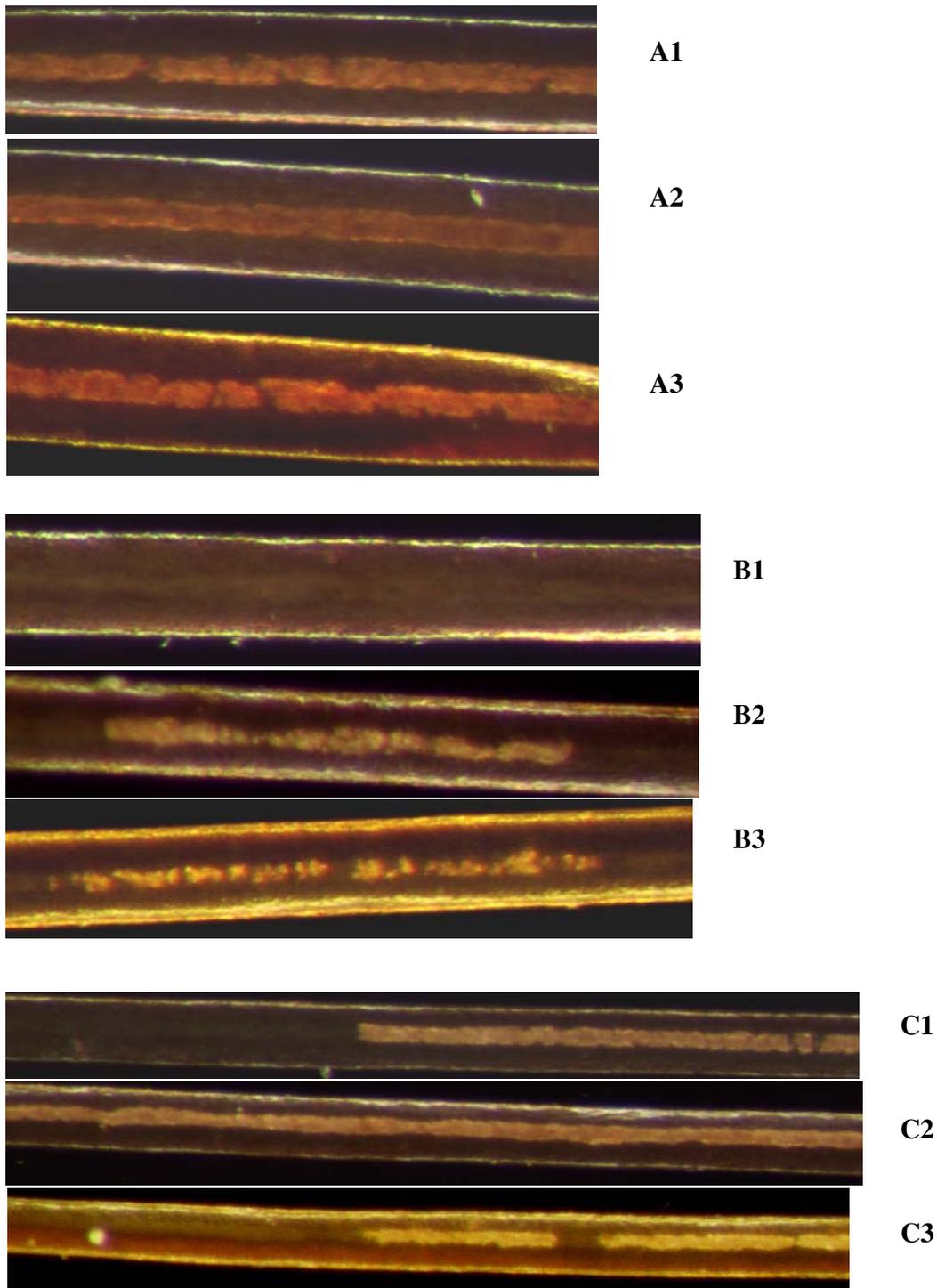
Em busca da razão da transformação da medula fina em grossa, os fios que passaram pela exposição à alta temperatura foram submetidos a ambiente de umidade relativa controlada a 100 % por 48 h. Na Figura 57, nota-se que no fio A, os recortes da medula desaparecem após o aquecimento e reaparecem após a hidratação. O fio B apresenta uma medula fina que se transforma em medula grossa fragmentada e após a hidratação a medula fica mais esparsa. Por fim, o fio C mostra uma medula grossa fragmentada intercalada com medula fina, que se transforma em medula grossa contínua após o aquecimento e, volta ao estágio original após a hidratação da fibra. No entanto, regiões de medula grossa, não sofreram alteração em nenhum tratamento.

Fios com medula grossa sem sofrerem o processo de aquecimento foram submetidos à UR 100 % a fim de verificar se transformar-se-iam em medula fina, o que não aconteceu.



**Figura 56.** Micro-fotografias dos mesmos fios de cabelo antes (A1 e B1) e após (A2 e B2) a imersão em SDS 10 % a 40°C por 96 h.

A medula fina pode ter se modificado para medula grossa por causa da remoção de material pelo SDS na imersão ou pelo intumescimento da fibra, o que aumentaria os poros. Já o aquecimento pode ter causado um rearranjo estrutural, que se recupera quando a amostra é re-hidratada, tal como as transformações mecânicas. Estudos por MET seriam interessantes para acompanhar as mudanças estruturais de fios que possuam os dois tipos de medula.



**Figura 57.** Micro-fotografias das mesmas regiões de fios de cabelo controle (A1, B1 e C1), após exposição à 70°C por 40 h (A2, B2 e C2) e após 48 h em ambiente de UR 100 % (A3, B3 e C3).

## 5. Discussão

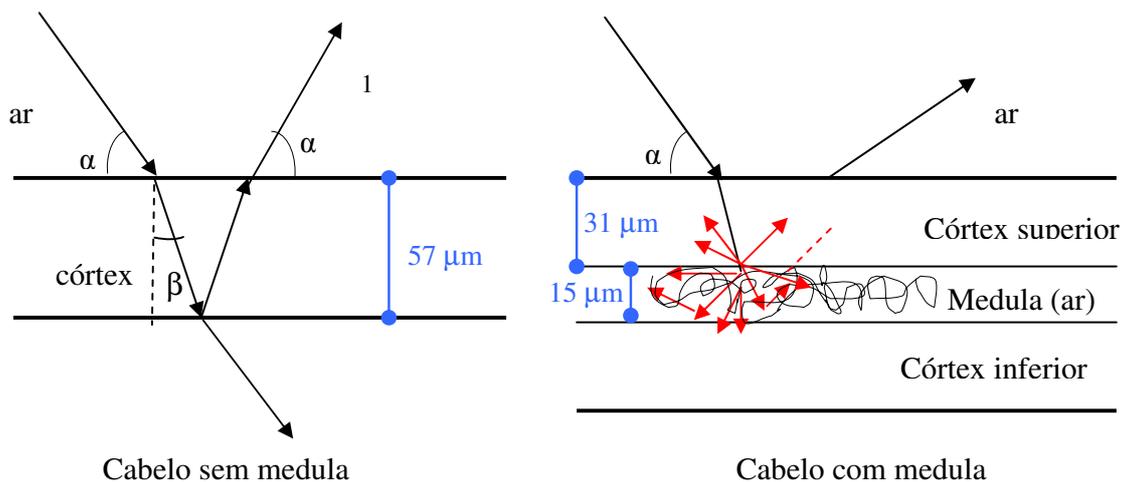
A literatura apresenta muitas informações contraditórias sobre a morfologia da medula. Por exemplo, nunca foram citados dois tipos de medula, ou mesmo não existiam imagens de boa qualidade por MET, principalmente pela dificuldade de preparação de amostra. Portanto, a caracterização morfológica por microscopia foi primordial para que fosse possível o entendimento dos efeitos que a medula causa em algumas propriedades do cabelo. Outro ponto importante é a separação de fios do mesmo couro cabeludo, ou seja, da mesma pessoa. Isto impede que as variações observadas fossem de origem genética ou de tratamentos cosméticos diversos. As informações sobre a estrutura da medula deste trabalho são bastante conclusivas, tanto pela preservação das amostras durante as observações, quanto pela reprodutibilidade com que foram obtidas por diferentes técnicas.

Os dados de cor e de propriedades mecânicas mostram que a presença da medula tem uma forte influência nessas propriedades, contrariando a literatura, o que se discute a seguir. Espera-se que, a partir deste estudo, trabalhos futuros levem em consideração a porcentagem e o tipo de medula dos fios em uma mecha. A caracterização por microscopia eletrônica não deve mais ser tão complicada, posto que se propõem métodos reprodutíveis para sua observação, facilitando a comparação de um fio controle com um fio que sofreu um tratamento cosmético, por exemplo.

### *5.1. Influência da medula nas reflexões do cabelo*

De acordo com a literatura, a cor do cabelo está relacionada com as melaninas. A queratina absorve principalmente na região do ultravioleta B (UVB) e a melanina na região do ultravioleta (UV) e visível [64, 65]. O espectro de absorção da melanina caracteriza-se por uma curva gaussiana com o comprimento de onda, sendo que em 600 nm a absorção é quase nula. Considerando a região do visível, a melanina absorve os menores comprimentos de onda (azul, verde), refletindo suas cores complementares (amarela e laranja) [38]. Cabelos mais claros têm menor quantidade de melanina e refletem mais a luz [66]. No entanto, os dados de cor obtidos para cortes transversais (Figura 13) mostraram que a cor do cabelo sem e com medula é igual, exceto na região da medula, que é escura e tem pouca ou nenhuma melanina, como foi observado por MET.

As reflexões de um feixe monocromático no cabelo com e sem medula estão apresentadas no esquema da Figura 58. O esquema representa apenas um dos feixes da fonte de luz (não colimada) interagindo com a fibra, o que acontece em todas as direções e num espaço pequeno do fio.



**Figura 58.** Esquema das reflexões de um feixe monocromático no cabelo sem e com medula.

O feixe de luz incide na superfície do cabelo sem medula e parte dele será refletida difusamente na superfície devido à irregularidade das cutículas e parte refratada para o interior do córtex. Ao atravessar o diâmetro do cabelo e chegar às cutículas novamente, parte será refletida e parte será refratada novamente e, assim, sucessivamente. Naturalmente, a intensidade do feixe decresce de um raio para o outro [67]. O conjunto de feixes é coletado e focado pelo detector do espectrofotômetro. No cabelo com medula, o feixe refratado para o interior do córtex sofre espalhamento quando chega à estrutura porosa da medula, gerando os raios representados em vermelho. Os vacúolos cheios de ar da medula, de dimensões menores que o comprimento de onda do feixe incidente, atuam como pequenas partículas que espalham a luz em todas as direções [68].

Como os dois tipos de cabelo (com e sem medula) pertencem ao mesmo couro cabeludo e sofreram os mesmos tipos de tratamentos cosméticos, as cutículas estão nas mesmas condições de preservação, o que acarreta numa reflexão difusa semelhante em suas

superfícies [69, 70]. Portanto, as diferenças observadas nos espectros de reflexão da Figura 43 se devem à diferença de intensidade dos raios que são refletidos internamente pelo fio.

Um modelo óptico foi apresentado anteriormente por Scanavez *et al.* [13] para explicar a interferência de cavidades cheias de ar nas cutículas formadas por tratamentos cosméticos que aumentavam a reflexão do cabelo. Nesse caso, não havia absorção de luz visível posto que a camada cuticular não possui melanina. Contudo, o modelo apresentado por Scanavez *et al.* [13] ajuda a elucidar o que acontece quando o feixe de luz encontra a estrutura porosa cheia de ar na medula. Neste trabalho, considerou-se a luz atravessando o córtex e, portanto, sofrendo absorção pelas melaninas, enquanto o modelo de Scanavez *et al.*[13] considera somente a camada cuticular e que as cavidades atuam como refletoras de luz. Os vacúolos de ar funcionam como partículas que espalham a luz, pois muitas delas possuem dimensões menores que os comprimentos de onda do espectro da luz visível [67]. O diferencial é que o índice de refração dessas partículas é menor que do meio, o que pode gerar dois efeitos:

1) A possibilidade de ter uma porcentagem da luz que entra na medula. Ao refratar para o córtex inferior, as melaninas absorvem a luz, diminuindo ou eliminando os feixes que seriam refratados de volta para o córtex superior e para a superfície do cabelo. O espectro de reflexão do cabelo com medula seria resultante das reflexões pelas cutículas e da luz retro espalhada pela medula, assim que sofre o primeiro espalhamento. Uma prova disso é o próprio procedimento de identificação da medula fina por micro-estereoscopia, onde ela é detectada na modalidade campo escuro (luz retroespalhada).

2) O confinamento da luz, que ocorre quando a luz incidente (no caso, do córtex para a medula) apresenta ângulo (ângulo crítico) que permite a reflexão total da luz [71]. Como a luz incidida é proveniente de um flash (todas as direções), é provável que parte dela fique confinada no interior da medula, diminuindo assim, a quantidade de luz que é refletida/refratada para o exterior da fibra.

Este modelo explica porque o cabelo com medula é mais escuro, pela perda de luz no interior da medula por espalhamento nos vacúolos de ar, o que é notório na Figura 44.

Como foi comprovado por MET, a perda de luz na medula não pode ser por causa da absorção pelas melaninas, posto que a medula possui poucos ou nenhum grânulo de melanina. Essa é a informação mais relevante deste trabalho no que diz respeito à cor do cabelo, que é atribuída atualmente às melaninas e às condições de preservação das cutículas [38, 71]. A medula pode, portanto, influenciar a reflexão total e a reflexão das melaninas, o que deve gerar as diferenças em  $D_a^*$  e  $D_b^*$ .

Contudo, este modelo não explica adequadamente a diferença de porcentagem de reflexão crescente com o comprimento de onda (Tabela 3) entre os dois tipos de cabelo. O esperado seria que quanto maior o comprimento de onda, menor fosse o efeito de espalhamento e, portanto, menor seria a diferença dos espectros do cabelo sem e com medula, o que não ocorre [70].

Foram feitos cálculos sobre o efeito do comprimento de onda no espalhamento, mas no caso do cabelo, a absorção da melanina e a perda de luz no confinamento deveriam ser levadas em consideração, o que tornaria o modelo mais complexo, principalmente porque não é possível quantificar quanto de luz se perde no confinamento devido à estrutura desordenada da medula. Por causa da igualdade entre as faixas do azul nos espectros dos dois tipos de cabelo, conclui-se que a absorção desta faixa é praticamente total pelas melaninas do córtex superior, pois o cabelo branco apresenta maior reflexão nessa faixa (vide Figura 10). A reflexão azul observada deve ser atribuída à reflexão na superfície da fibra. Talvez, por atravessar um percurso menor no córtex ( $31 \mu\text{m}$ ), a luz que incide no cabelo com medula interaja menos com as melaninas, refletindo menos o amarelo e o vermelho que o cabelo sem medula ( $57 \mu\text{m}$ ). Talvez esse efeito seja ainda mais acentuado nas feomelaninas, pois o espectro do cabelo castanho sem medula é intermediário entre o ruivo e o castanho.

Acredita-se que, em trabalhos futuros, seja possível preencher os vacúolos da medula com um material de índice de refração igual ao do córtex (1,52) e assim, diminuir a perda de luz por espalhamento [72]. O cabelo ficaria mais claro cerca de 5 unidades de cor. Esse procedimento seria interessante, pois seria possível clarear o cabelo sem danificá-lo por oxidação.

**Tabela 3.** Razões entre os valores de porcentagem de reflexão para o cabelo sem e com medula no mesmo comprimento de onda.

$\lambda$ (nm)	% de reflexão (sem medula/com medula)
Azul (460)	$1,04 \pm 0,09$
Verde (530)	$1,13 \pm 0,11$
Amarelo (580)	$1,26 \pm 0,12$
Vermelho (710)	$1,48 \pm 0,13$

### 5.2. Diferenças ópticas entre medula fina e medula grossa

Os resultados obtidos mostraram uma diferença óptica entre a medula grossa e a medula fina que não é observada por MEV nem pelas medidas de cor. Levando-se em conta a discussão sobre o por quê da baixa luminosidade da região da medula, seria razoável pensar que a diferença estaria na quantidade de poros ou de vacúolos de ar dos dois tipos de medula, que foi observado por MET.

De acordo com Nagase *et al.* [26], o cabelo com medula espalha mais a luz no centro do fio, deixando-o opaco. Além disso, os autores também associam a falta de brilho com a porosidade da medula, ou seja, quanto mais porosa, mais opaca. Eles consideraram o cabelo menos poroso, o que neste trabalho foi denominado medula fina e de mais poroso o que foi denominado medula grossa. Os autores ainda afirmam que tal porosidade é causada por tratamentos térmicos diários, como o uso do secador de cabelos e que um tratamento com ácido málico preenche tais cavidades deixando o cabelo novamente brilhante.

Os resultados aqui apresentados concordaram em parte com o trabalho de Nagase *et al.* [26], principalmente com relação à menor luminosidade do cabelo com medula. Entretanto, não foi observada diferença em nenhum parâmetro de cor entre o cabelo com medula grossa e o cabelo com medula fina. A diferença observada por Nagase *et al.* [26] pode estar associada com o fato de os autores não terem trabalhado com fios de um mesmo couro cabeludo, como foi realizado neste trabalho.

Os cortes transversais revelaram uma densidade óptica da medula fina semelhante àquela observada longitudinalmente para a medula grossa. Uma explicação pode ser a

espessura da região da medula observada. De acordo com as micrografias eletrônicas de varredura, a medula fina tem espessura em torno de 10-20  $\mu\text{m}$  e a medula grossa é bem maior, como observado por MET. No entanto, no corte transversal, a luz foi transmitida através de 200-300  $\mu\text{m}$  de medula, que é aproximadamente a espessura do corte feito à mão. Logo, a diferença observada longitudinalmente por estéreo-microscopia entre a medula fina e a grossa pode estar relacionada com a espessura da medula em relação ao restante da fibra.

### *5.3. Como a medula afeta as propriedades mecânicas do cabelo*

As três principais regiões de uma curva típica de tensão-deformação de cabelo, elástica (ou Hookeana), reconstituição e pós-reconstituição são claramente identificadas. A região elástica se estende até 2,5 a 4 % de deformação. Nesta região, a quebra das pontes de hidrogênio entre as  $\alpha$ -hélices das microfibrilas e a matriz é responsável pelo comportamento elástico, pois são facilmente restabelecidas com a umidade ambiente. À medida que o cabelo se estica para a região de reconstituição, as  $\alpha$ -hélices vão se transformando em folhas  $\beta$ -pregueadas e o cabelo não é mais perfeitamente elástico. A transformação é completa por volta de 30 % de deformação e a estrutura de folha por si ainda apresenta uma elasticidade. A fase final da curva é a região de pós-reconstituição, onde as microfibrilas estendidas suportam a carga aplicada até a completa ruptura do fio [73]. Essa é a razão da inclinação da região de pós-reconstituição ser maior do que a de reconstituição [74].

Um modelo denominado de zoneamento foi proposto para explicar o comportamento do cabelo nas regiões de reconstituição e de pós-reconstituição [75]. De acordo com o modelo, pode-se assumir que o cabelo é composto de duas zonas alternadas ao longo das microfibrilas, denominadas zona X e zona Y. A zona X é formada pelos 30 % de  $\alpha$ -hélices da queratina que são capazes de exibir a deformação reversível sem quebrar as pontes dissulfeto, o que caracteriza a região de reconstituição. Quando a região de pós-reconstituição é atingida, as 70 %  $\alpha$ -hélices restantes começam a esticar irreversivelmente numa quebra compulsória de pontes dissulfídicas, o que constitui a zona Y. O conceito de zonas foi modificado para o modelo de duas fases para explicar o aumento da tensão na região de pós-reconstituição [76]. O modelo sugere que o aumento é produzido pelas

proteínas globulares na matriz que bloqueiam as microfibrilas à medida que a fibra vai se esticando. As moléculas de água se ejetam da matriz em níveis altos de tensão, levando à compressão das proteínas da matriz entre as microfibrilas [77]. No modelo de Chapman [78], a matriz é ligada covalentemente a unidades fundamentais de repetição ao longo das microfibrilas. A curva de tensão-deformação reflete a interação entre a microfibrila e a matriz.

Considerando as observações por MET, existem algumas razões para esperar um comportamento mecânico diferente do cabelo medulado. Primeiro, as microfibrilas estão distribuídas aleatoriamente em uma parte significativa do diâmetro total da fibra. Logo, a maior parte das fibrilas da medula não está alinhada na direção que a força é aplicada, o que poderia afetar a região de reconstituição. De acordo com Clement *et al.* [22], a estrutura da medula possui ligações peptídicas oriundas da citrulina em vez de pontes de enxofre, que podem ter uma resistência mecânica diferente. A proteína das estruturas globulares pode funcionar como as proteínas globulares da matriz. Assim, ter-se-ia um aumento da região de pós-reconstituição da curva. Aparentemente, isso é observado na Figura 51. No entanto, quando os dados são dispostos em diagramas de caixa, nota-se que os valores médios permanecem os mesmos.

Assume-se, então, que a medula não tem resistência mecânica alguma. Logo, o comportamento mecânico depende basicamente do número de transformações que ocorrem no córtex. É possível que, tanto o cabelo sem medula quanto o medulado, possuam o mesmo montante de transformações. Considerando os dados da Figura 52, o cabelo sem medula possui em média 57  $\mu\text{m}$  de córtex “puro”, ou seja, sem poros. Por outro lado, o cabelo medulado (medula grossa) tem aproximadamente 78  $\mu\text{m}$  de diâmetro, mas tem uma estrutura porosa interna de cerca de 15  $\mu\text{m}$  (medidos nas micrografias). Subtraindo o diâmetro da medula, do diâmetro total, tem-se cerca de 63  $\mu\text{m}$  de córtex “puro”. Isso significa que os dois tipos de cabelo podem apresentar comportamentos mecânicos semelhantes. A alta variabilidade observada no cabelo medulado pode ser ocasionada pela diferença de córtex “puro” que cada fio possui. As cavidades da medula então não alteram a cristalinidade da fibra, mas podem atuar como defeitos, isto é, pontos de baixa resistência.

Da mesma forma que seria possível clarear o cabelo manipulando as propriedades ópticas da medula, seria possível melhorar as propriedades mecânicas do cabelo

preenchendo as cavidades da medula com um material mais resistente.

#### 5.4. Modificação da medula e sua origem

Neste trabalho, sugere-se que a medula é proveniente da diferenciação não concluída do córtex em fios mais espessos. Os tratamentos realizados são mais um indicativo de que essa hipótese é viável, uma vez não foi possível induzir o aparecimento de medula em fios originalmente não medulados. Da mesma forma, não foi possível transformar a medula grossa em fina em nenhum dos tratamentos, mas transformou-se medula fina em grossa. Isso quer dizer que a existência da medula está condicionada à biologia do indivíduo e não a tratamentos cosméticos, como sugerido por Nagase *et al.* [26]. De fato, já foi citado que em regiões mais próximas do folículo do bulbo capilar, a medula representa uma maior proporção da fibra. Ou seja, está condicionada à velocidade de diferenciação do córtex e ao diâmetro da fibra, o que muda de indivíduo para indivíduo.

Entretanto, a medula pode sofrer rearranjos estruturais. Alterações na medula devido à ação da temperatura já foram relatadas anteriormente [79], no entanto, não foi feito um estudo sistemático e o efeito observado foi justamente o contrário. Como não há diferença entre medula fina e grossa para as propriedades estudadas, isto não acarretaria alterações para a fibra em geral. Contudo, esse é o primeiro processo aparentemente reversível de modificação estrutural do cabelo, posto que medula fina e medula grossa são morfologicamente distintas. Logicamente, seriam necessárias muitas repetições desse procedimento para chegar a essa conclusão, mas trata-se de um primeiro indício.

Os efeitos da temperatura e da umidade relativa nos tipos de medula são especialmente importantes para as ciências forenses. A medula é analisada como parâmetro de identificação de pelo animal ou de cabelo. Dependendo das condições climáticas que a fibra foi condicionada, podem-se observar tipos diferentes de medula, comprometendo a análise. Resta saber também se pelos animais podem estar sujeitos a tais mudanças, já que a medula desses tipos de fio é distinta da medula do cabelo, caracterizando-se por não possuírem material fibrilar.

## 6. Conclusões

### Tipos de medula:

De acordo com as propriedades ópticas, há 3 tipos de fios: sem medula, com medula fina e com medula grossa e todos podem estar presente no mesmo couro cabeludo. Morfologicamente, os dois tipos de medula só puderam ser diferenciados por microscopia eletrônica de transmissão.

### Quanto à morfologia da medula fina e da medula grossa:

Observações por microscopia eletrônica de varredura mostram que o cabelo com medula possui uma estrutura porosa localizada no centro da fibra, composta por estruturas globulares e um material de caráter fibrilar. Há também uma superfície lisa, composta de material fibrilar e material amorfo que cobre a medula.

A microscopia eletrônica de transmissão revelou que o material fibrilar observado por microscopia eletrônica de varredura são células corticais ordenadas aleatoriamente na medula (nem todas estão longitudinalmente alinhadas com o fio). A principal evidência foi a observação das microfibrilas.

Há vários indícios de que a medula se trata de um córtex em estágio de diferenciação atrasado, como o formato dos grânulos de melanina, a disposição das células corticais e a organização decrescente de fora para dentro da medula.

Os glóbulos encontrados por MEV são realmente vazios, ou cheios de ar.

A medula fina é morfologicamente diferente da medula grossa. A medula fina apresenta contraste, interface limitada pelo CMC e menor diâmetro. A medula grossa apresenta mais glóbulos, bem como maiores dimensões das cavidades e organização gradual das células de fora para dentro.

### Quanto às propriedades ópticas do cabelo:

Medidas de cor por refletância difusa mostram que o cabelo sem medula é mais vermelho, mais amarelo e mais claro que o cabelo com medula. Os espaços vazios da medula influenciam na reflexão externa do cabelo, diminuindo-a. Os vacúolos de ar na medula atuam como partículas pequenas que espalham a luz internamente e provocam o

confinamento da luz por diferença de índice de refração com o córtex. Por causa disso, a luz interage menos com as melaninas, refletindo menor intensidade de vermelho e laranja.

Seria possível deixar o cabelo castanho até 5 unidades de cor mais claro se preencherem-se as cavidades da medula com um material de índice de refração semelhante ao córtex, fazendo-se uma combinação de índice de refração.

#### Quanto às propriedades mecânicas do cabelo:

A medula deixa o cabelo menos uniforme, mas não interfere nos valores médios das propriedades mecânicas da fibra, ou seja, as cavidades da medula podem atuar como defeitos, mas não interferem na cristalinidade da fibra. A variabilidade observada está relacionada com a proporção do volume de medula para cada fio.

Analogamente às propriedades de cor, as cavidades da medula podem ser exploradas para melhorar as propriedades mecânicas do cabelo. Bastaria preenchê-las com material mais resistente.

#### Quanto à modificação da medula por tratamentos diários

O cabelo sem medula e com medula grossa não são modificados por tratamentos diários, mas regiões de medula fina são. Quando submetidas a 70°C transformam-se em medula grossa e esse processo aparentemente é reversível quando o cabelo é hidratado novamente.

A caracterização detalhada da medula permitiu que se fizesse um estudo sistemático de propriedades que anteriormente eram consideradas não influenciadas pela presença da medula no cabelo. A medula atua na cor do cabelo juntamente com as melaninas e tem uma influência maior do que as cutículas nessa propriedade. A partir deste trabalho, é possível pensar em métodos de coloração alternativos. Já a influência no comportamento mecânico é menos intensa, porém significativa. E só foi observada porque fatores externos, como genética e tratamentos cosméticos anteriores, foram eliminados pela comparação de fios medulados e não medulados do mesmo couro cabeludo.

## 7. Referências

- 1) Voet, D., Voet, J.G., "Biochemistry", University of Pennsylvania, Swarthmore College, John Wiley & Sons, Inc., Cap.7, 4a ed., Estados Unidos, 1995.
- 2) Jones, L.N., Simon, M., Watts, N.R., Booy, F.P., Steven, A.C., Parry, D.A.D., "Intermediate filament structure: hard  $\alpha$ -keratin", *Biophysical Chemistry*, 68, 83-93, 1997.
- 3) Naito, S., Arai, K., Hirano, M., Nagasawa, N., Sakamoto, M., "Crosslinking Structure of Keratin. V. Number and Type of Crosslinks in Microstructures of Untreated and Potassium Cyanide Treated Human Hair", *Journal of Applied Polymer Science*, 61, 1913-1925, 1996.
- 4) Naito, S., Arai, K., "Type and Location of SS Linkages in Human Hair and Their Relation to Fiber Properties in Water", *Journal of Applied Polymer Science*, 61, 2113-1918, 1996.
- 5) Gillespie, J.M., Marshall, R.C., "Proteins of human hair and nail", *Cosmetics & Toiletries*, 95, 29-34, 1980.
- 6) Kaplin, I.J., Schwan, A., Zahn, H., "Effects of cosmetic treatments on the ultrastructure of hair", *Cosmetics & Toiletries*, 97, 22-26, 1982.
- 7) Robbins, C. R., "Chemical and Physical Behavior of Human Hair", Springer-Verlag, New York, Cap. 1, 2 e 5, 1994.
- 8) Jones, L.N., Rivetti, D.E., "The Role of 18-Methyleicosanoic Acid in the Structure and Formation of Mammalian Hair Fibers", *Micron*, 28, 469-485, 1997.
- 9) Smith, J.R., Swift, J.A., "Lamellar subcomponents of the cuticular cell membrane complex of mammalian keratin fibres show friction and hardness contrast by AFM", *Journal of Microscopy*, 206, 182-193, 2002.
- 10) Wall, R.A., Hunter, L.D., "Normal adult hair", *Cosmetics and Perfumery*, 89, 31-36, 1974.
- 11) Röper, K., Föhles, J., Peters, D., "Morfological Composition of the Cuticle from Chemically treated Wool – Part 1", *Textile Research Journal*, 54, 139-142, 1984.
- 12) Pötsch, L., Moeller, M.R., "On Pathways for small molecules into and out of human hair fibers", *Journal of Forensic Sciences*, 41, 121-125, 1996.
- 13) Scanavez, C., Silveira, M., Joekes, I., "Human hair: Color changes caused by daily care damages on ultra-structure", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28, 39-52, 2003.
- 14) Feughelman, M., "Intermicrofibrillar Linkages in  $\alpha$ -Keratin Fibers", *Textile Research Journal*, 49, 704-709, 1979.
- 15) Fraser, R.D.B., Macrae, T.P., Rogers, G.E., "Molecular Organization in Alpha-Keratin", *Nature*, 193, 1052-1055, 1962.
- 16) Pauling, L. e Corey, R.B, "Compound helical configurations of polypeptide chains: Structure of proteins of the  $\alpha$ -keratin type", *Nature*, 170, 59-61, 1953.
- 17) Bendit, E.G., Feughelman, M., "Keratin, Encyclopedia of Polymer Science and Technology", 8, cap.1, 1967.
- 18) Bradbury, H., "The Structure and Chemistry of Keratin Fibers", *Protein Chemistry*, 27, 111, 1973.
- 19) Deedrick, D.W., "Microscopy of Hair Part 1: A Practical Guide and Manual for Human Hairs", *Forensic Science Communications*, 1(6), 2004.
- 20) Kreplak, L., Briki, F., Duvault, Y., Doucet, J., Merigoux, C., Leroy, F., Lévêque, L., Miller, L., Carr, G.L., Williams, G.P. & Dumas, P., "Profiling lipids across Caucasian and Afro-American hair transverse cuts, using synchrotron infrared microspectrometry", *International Journal of Cosmetic Science*, 23, 369-374, 2001.
- 21) Clément, J.L., Le Pareux, A., Ceccaldi, P.F., "Contribution a l'étude de la medulla des

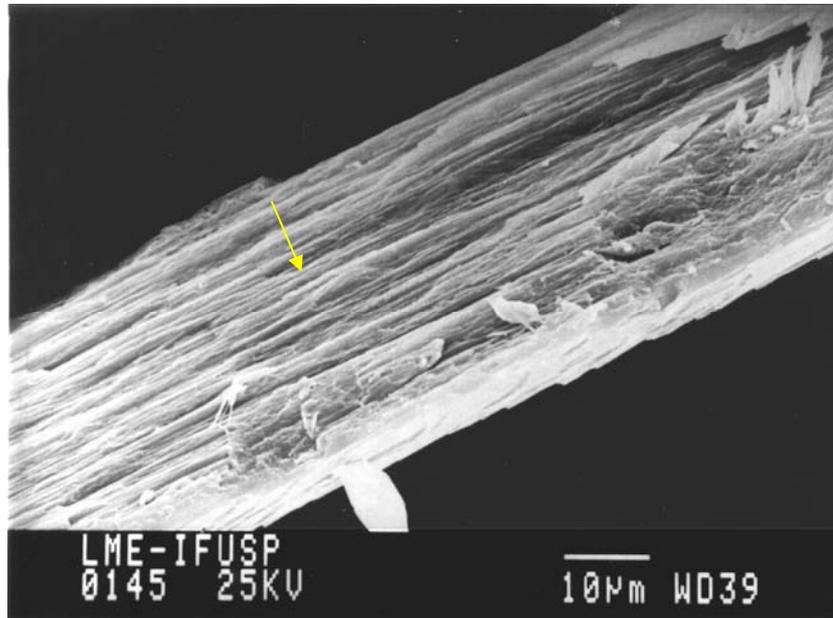
- poils”, *Annales of Dermatological Venereology*, 108, 849-857, 1981.
- 22) Matoltsy, A.G., “A study of medullary cells of hair”, *Experimental Cell Research*, 5, 98-110, 1953.
  - 23) Zanh, H., Jolles, P., Höcker, H., “Formation and Structure of Human Hair”, Birkhäuser Verlag, Basel, Suíça, 59-148, 1997.
  - 24) Swift, J.A., “Fundamentals of Human Hair Science”, Micelle Press, Weymouth, Dorset, 8, 57, 1997.
  - 25) Mahrle, G. & Orfanos, C.E., “The spongy keratin and the medulla of human scalp hair”, *Archivological Dermatolgy Research*, 241, 305-316, 1971
  - 26) Nagase, S., Shibuichi, S., Ando, K., Kariya, E., Satoh, N., “Influence of internal structures of hair fiber on hair appearance. I. Light scattering from the porous structure of the medulla of human hair”, *Journal of Cosmetic Science*, 53, 89-100, 2002.
  - 27) Clément, J.L., Le Pareux, A., Ceccaldi, P.F., “The specificity of the ultrastructure of human hair medulla”, *Journal of the Forensic Science Society*, 22, 396-398, 1982.
  - 28) Inagaki, H., Yamashita, Y., “An investigation of intergeneric relations among papionini monkeys based on fine hair medulla structures”, *Primates*, 35, 499-503, 1994.
  - 29) Wortmann, F., Schulze, E., “Analyzing the laser-light reflection from human hair fibers. I. Light components underlying the goniophotometric curves and fiber cuticle angles”, *Journal of Cosmetic Science.*, 54, 301-316, 2003.
  - 30) Behrens, A.M.R., “Aplicação da espectroscopia de refletância difusa ao estudo de transformações sólido-sólido em sistemas coloidais”, Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Unicamp, dezembro de 1988.
  - 31) Billmeyer Jr, F.W., Saltzman, M., “Principles of Color Technology”, Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, 3 ed., New York, 1981.
  - 32) Chong, P.T.F., “Colorimetry for textile applications” in *Modern textile characterization methods*, ed. Mastura, cap. 21, 355-391, 1983.
  - 33) Barnicot, N.A., Birbeck, M.S.C., “The electron microscopy of human melanocytes and melanin granules” in *Biology of hair growth*, ed. Academic Press, cap. 12, 239-252, 1958.
  - 34) Prota, G., “Melanins and Melanogenesis”, Academic Press, Londres, 1<sup>a</sup> ed., 1992.
  - 35) Novelino, L., Napolitano, A., Prota, G., “Isolation and characterization of mammalian eumelanins from hair and irides”, *Biochimica and Biophysica Acta*, 1475, 295-306, 2000.
  - 36) Lamoreux M.L., Wakamatsu K., Ito S., “Interaction of major coat color gene functions in mice as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin”, *Pigment Cell Research*, 14, 23-31, 2001.
  - 37) Valkovic, V., “Human hair – Volume I”, CRC Press, Florida, 1<sup>a</sup> ed., 1992.
  - 38) Borges, C. R., Roberts, J.C., Wilkins, D.G., Rollins, D.E., “Relation of Melanin Degradation Products to Actual Melanin Content: Application to Human Hair”, *Analytical Biochemistry*, 290, 116-125, 2001.
  - 39) Nogueira, A.C.S., Dicelio, L.E., Joekes, I., "About photo-damage of human hair", *Photochemical & Photobiological Sciences*, 5, 165-169, 2006.
  - 40) Shakai, M., Nagase, S., Okada, T., Satoh, N., Tsukjii, K., “A universal model for human hair to understand the physical properties 2: mechanical and permeation behaviors”, *Bulletin of Chemical Society of Japan*, 73, 2169-2177, 2000.
  - 41) Robbins, C.R., Crawford, R.J., “Cuticle damage and the tensile properties of human hair”, *Journal of the Society of the Cosmetic Chemists*, 42, 59-67, 1991.

- 42) Tucci, A.M.F., “Propriedades físico-químicas de cabelo: desenvolvimento de métodos de avaliação de alterações estruturais induzidas por irradiação”, Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 1989.
- 43) Feughelman, M., “Natural Protein Fibers”, *Journal of Applied Polymer Science*, 83, 489-507, 2002.
- 44) Rochow, T.G., Tucker, P.A., “*Introduction to Microscopy by Means of Light, Electrons, X Rays, or Acoustics*”, Plenum Press, New York, cap 6, 2<sup>a</sup> ed., 1994.
- 45) Spurr, A.R., “A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy”, *Journal of Ultrastructure Research*, 26, 31-&, 1969.
- 46) Griffin, P.L., “Ultramicrotomy”, Laboratory Monographs, Baillièere Tindall, London, 1972.
- 47) Silva, A.L.D., Joekes, I., “Rhodamine B diffusion in hair as a probe for structural integrity”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 40, 19-24, 2005.
- 48) Goldstein, J.L., Newbury, D.E., Joy, D. C., Lyman, C.H., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L.C., Michael, J.R., “Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis”, Plenum Press, New York, 1981.
- 49) Chernova, O.F., “Architectonica and Diagnostic Significance of Hair Cortex and Medula”, *Biology Bulletin*, 30, 53-62, 2003.
- 50) Hallégot, P., Peteranderl, R., Lechene, C., “*In-situ* imaging mass spectrometry analysis of melanin granules in the human hair shaft”, *The Journal of Investigative Dermatology*, 122, 381-386, 2004.
- 51) Setz, S., Stricker, F., Kressler, J., Duschek, T., Mulhaupt, R., “Morphology and mechanical properties of blends of isotactic or syndiotactic polypropylene with SEBS block copolymers”, *Journal of Applied Polymer Science*, 59, 1117-1128, 1996.
- 52) Linton, R.W., Farmer, M.E., Ingram, P., Sommer, J.R., Shelburne, J.D., “Ultrastructural Comparison of Ion-beam and Radiofrequency plasma-etching effects on biological tissue-sections”, *Journal of Microscopy-Oxford*, 134, 101-112, 1984.
- 53) Swift, J.A., “A technique for the rapid examination of the gross internal structure of mammalian keratin fibers”, *Journal of the Textile Institute*, 71, 170-174 1980.
- 54) Sawyer, L.C., Grubb, D.T., “*Polymers Microscopy*”, Chapman and Hall, New York, NY, 109, 1987.
- 55) Damasceno, J.C., Camargo Jr., S.S., Cremona, M., “Optical and mechanical properties of DLC-Si coatings on polycarbonate”, *Thin Solid Films*, 420/421, 195-199, 2002.
- 56) Gilbert, S.F., “Formation of mammalian hair”, acessado em 05/05/2005, <http://www.devbio.com/article.php?ch=12&id=128>.
- 57) Birbeck, M.S.C., Mercer, E., “The electron microscopy of the human hair follicle. The hair cuticle”, *Journal of Biophysical Biochemical Cytology*, 3, 223-233, 1957.
- 58) Gamez-Garcia, M., “The cracking of human hair cuticles by cyclical thermal stresses”, *Journal of Cosmetic Science*, 49, 141-153, 1998.
- 59) Haynes, M.E., “Quantization of normal human hair pigmentation by electron microscopy”, *Micron*, 11, 475-477, 1980.
- 60) Kidson, S.H., Richards, P.D.G., Rawoot, F., Kromberg, J.G.R, “An ultrestutural study of melanocytes and melanosomes in the skin and hair bulbs of roufous albinos”, *Pigment Cell Research*, 6, 209-214, 1993.
- 61) Hutchinson, P.E., Thompson, J.R., “The size and form of the medulla of human scalp hair is regulated by the hair cycle and cross-sectional size of the hair shaft”, *British Journal of Dermatology*, 140, 438-445, 1999.
- 62) de Paula, C.S.S., “Alterações na ultra-estrutura do cabelo induzidas por cuidados diários e

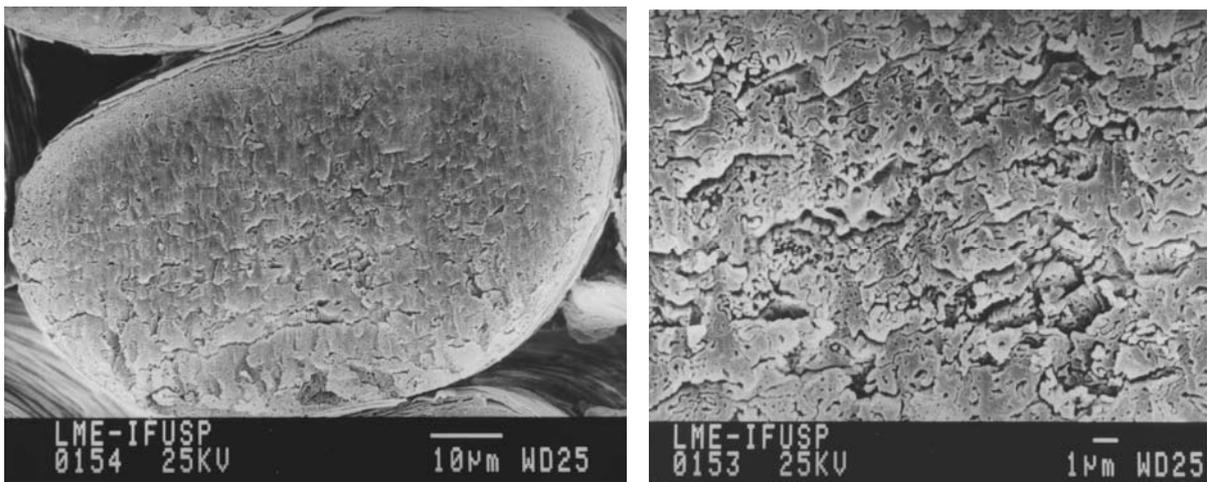
- seus efeitos nas propriedades de cor”, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 2001.
- 63) Scanavez C., Zoega M., Barbosa A., Joekes I., “Measurement of hair luster by diffuse reflectance spectrophotometry”, *Journal of Cosmetic Science*, 51, 289-302, 2000.
  - 64) Nogueira, A.C.S., “Efeito da radiação ultravioleta na cor, na perda protéica e nas propriedades mecânicas do cabelo”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2003.
  - 65) Sarna, T., Sealy, R.C., “Photoinduced oxygen consumption in melanin systems. “Action spectra and quantum yields for eumelanin and synthetic melanin”, *Photochemistry and Photobiology*, 39, 69-74, 1984.
  - 66) Kamath, Y.K., Ramaprasad, K.R., Keis, K., “Effect of hair color on luster”, *Journal of Cosmetic Science*, 55, 423-436, 2004.
  - 67) Born, M. “Principles of optics: electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light”, Cambridge University Press, 7<sup>a</sup> ed., New York, 1999.
  - 68) Hecht, E., “Optics”, Addison Wesley; 4<sup>a</sup> ed., 2001.
  - 69) Cammarano, M., “Light scattering of human hair”, acessado em 08/05/2006, <http://graphics.stanford.edu/papers/hair/hair-sg03final.pdf>.
  - 70) Jenkins, F.A., White, H.E., “Fundamentals of optics”, Mcgraw-Hill Science/Engineering/Math, 4<sup>a</sup> ed., 2001.
  - 71) Stamm, R.F., Garcia, M.L., Fuchs, J.J., “The optical properties of human hair 1: fundamental considerations and goniophotometer curves”; *Journal of the Society of Cosmetics Chemists*, 28, 571-599, 1977.
  - 72) Sun, J.Z., Erickson, M.C.E., Parr, J.W., “Refractive index matching and clear emulsions”, *Journal of Cosmetic Science*, 56, 253-265, 2005.
  - 73) Colombera, K.M., “Efeito de condicionadores comerciais nas propriedades mecânicas e nos processos de difusão de fibras capilares”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2004.
  - 74) Thozhur, S. M., Crocombe A. D., Smith, P.A., “Structural characteristics and mechanical behaviour of beard hair”, *Journal of Materials Science*, 41, 1109-1121, 2006.
  - 75) Feughelman, M., “A two-phase structure for keratin fibers”, *Textile Research Journal*, 29, 223-&, 1959.
  - 76) Feughelman, M., “A model for the mechanical properties of the alpha-keratin cortex”, *Textile Research Journal*, 64, 236-239, 1994.
  - 77) Kreplak, L., Franbourg, A., Briki, F., Leroy, F., Dallé, D., Doucet, J., “A new deformation model of hard alpha-keratin fibers at the nanometer scale: implications for hard alpha-keratin intermediate filament mechanical properties”, *Biophysical Journal*, 82, 2265-2274, 2002.
  - 78) Chapman, B. M., “A mechanical model for wool and other keratin fibers”, *Textile Research Journal*, 39, 1102-1109, 1969.
  - 79) Nogueira, A.C.S., Scanavez, C., Canelos, C., Gaspari, A., Joekes, I., “Hair color changes caused by dyeing and thermal treatments”, *Journal of Cosmetic Science*, 55, 437-447, 2004.

## ANEXO I

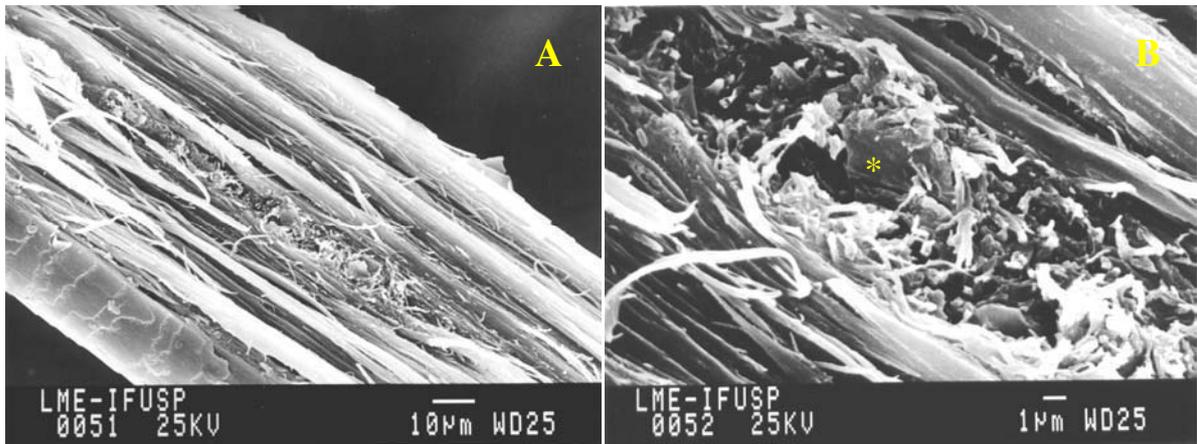
### MICROGRAFIAS



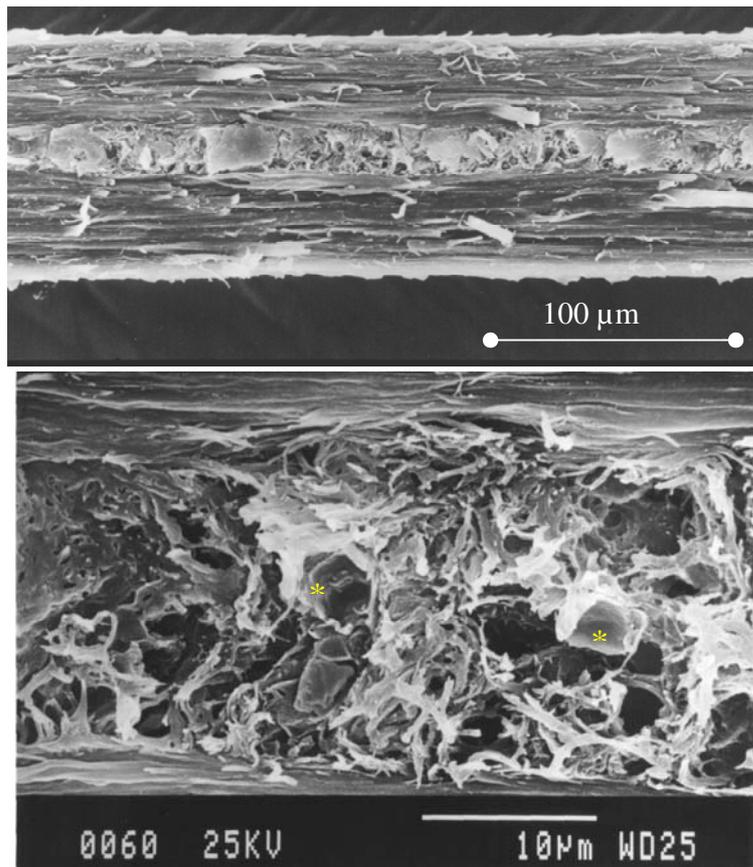
**Figura 21.** Micrografia eletrônica de varredura de criofatura longitudinal de cabelo sem medula incluído em cola quente de silicone. Note o total ordenamento do material fibrilar, marcado com uma seta.



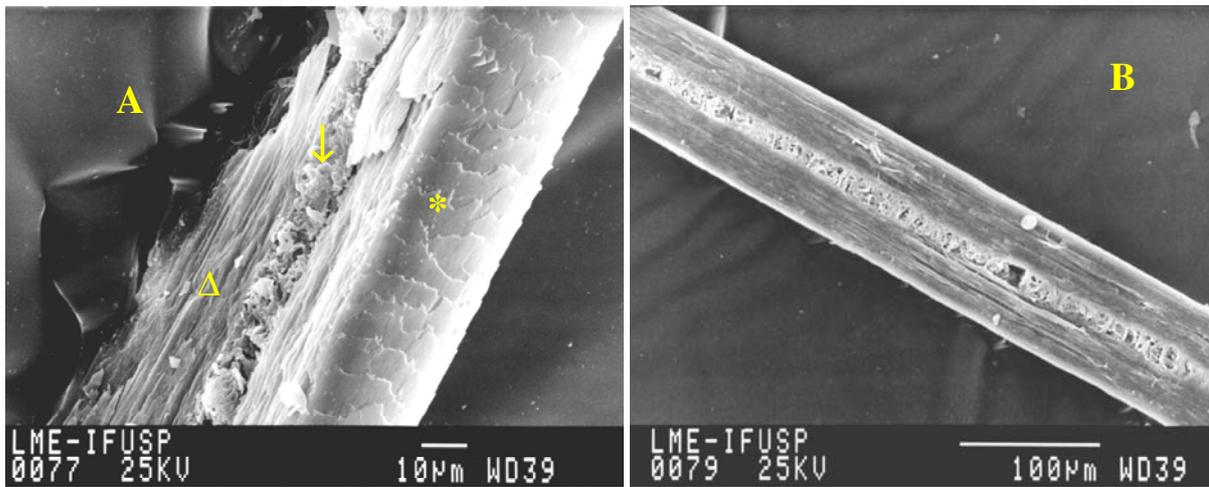
**Figura 22.** Micrografias eletrônicas de varredura de um corte transversal do cabelo sem medula submetido a 5 min de erosão por plasma de oxigênio. Note a definição do córtex pela erosão do cimento intercelular, a limpeza do corte e a diminuição das marcas da lâmina.



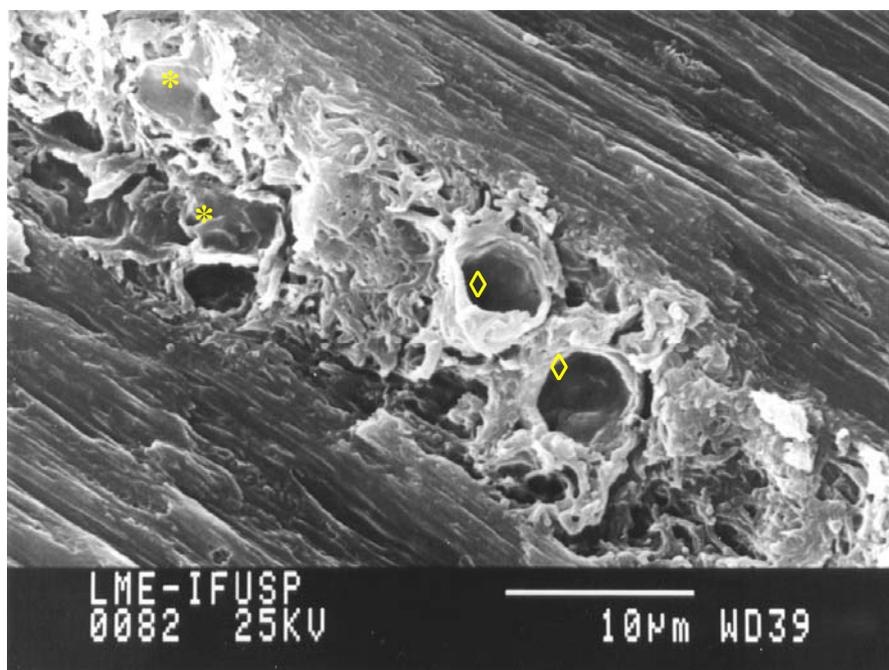
**Figura 23.** Micrografias eletrônicas de varredura do cabelo com medula fina seccionado com um bisturi. Há uma região diferenciada no centro da fibra (B) atribuída à medula do cabelo e, na medula, há estruturas globulares (\*).



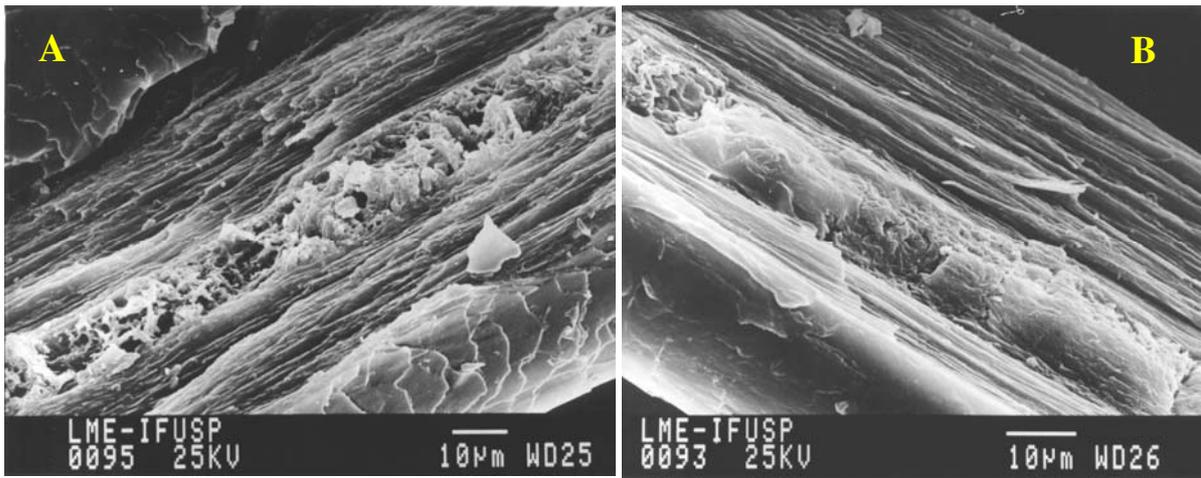
**Figura 24.** Micrografias eletrônicas de varredura do cabelo com medula fina seccionado com um bisturi. Note novamente as estruturas globulares (\*).



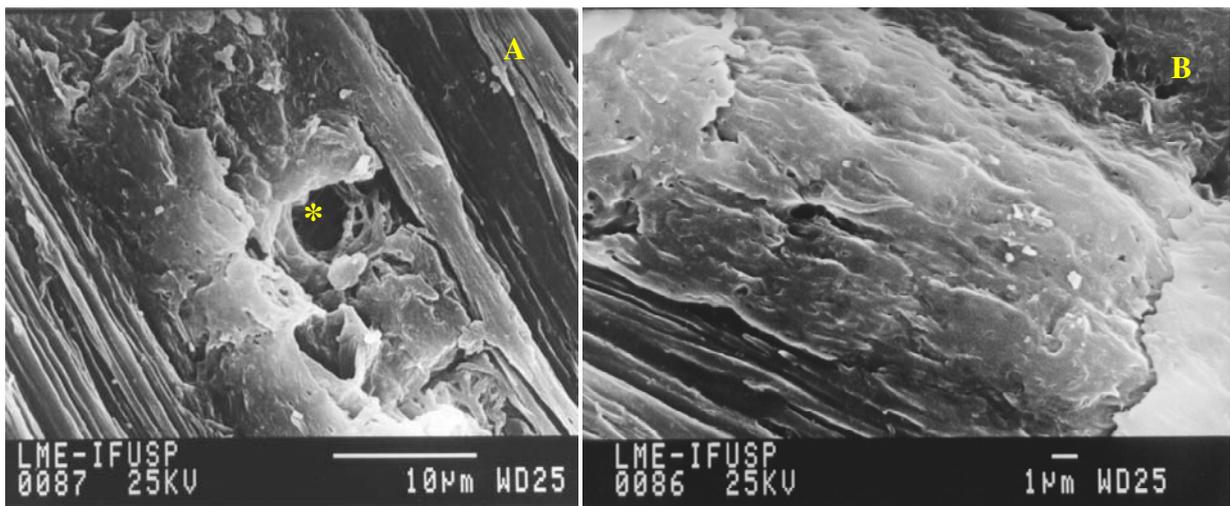
**Figura 25.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal do cabelo incluído em etanol. Note em (A) as três estruturas principais do cabelo: as cutículas (\*), o córtex (Δ) e, em especial, a região central e fora do plano do corte, a medula (indicada pela seta). Observe a ausência de fibrilas soltas e arrebitadas na criofratura.



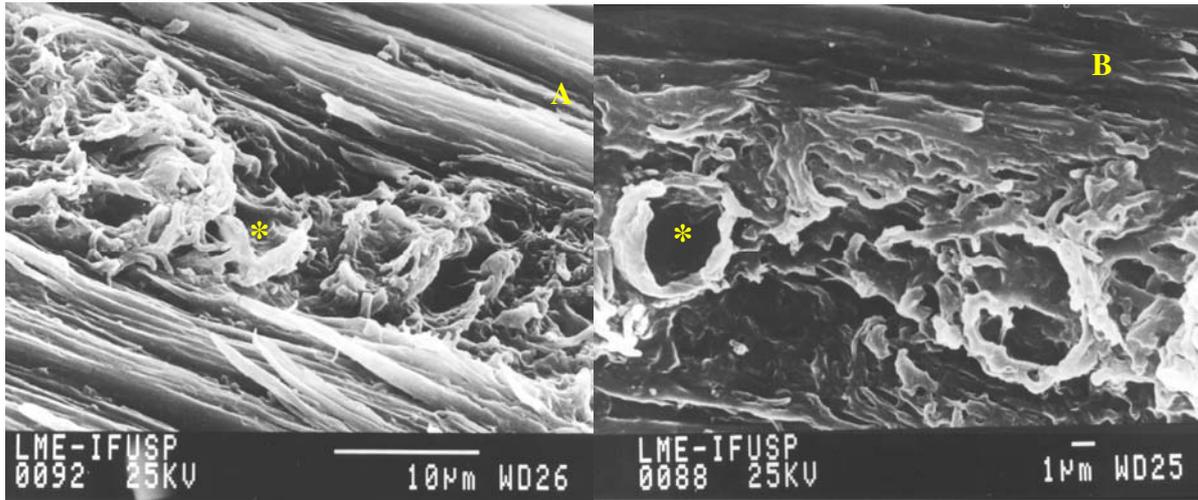
**Figura 26.** Micrografia eletrônica de varredura de criofratura longitudinal do cabelo incluído em EtOH. Note a presença de estruturas globulares abertas (◇) e fechadas (\*).



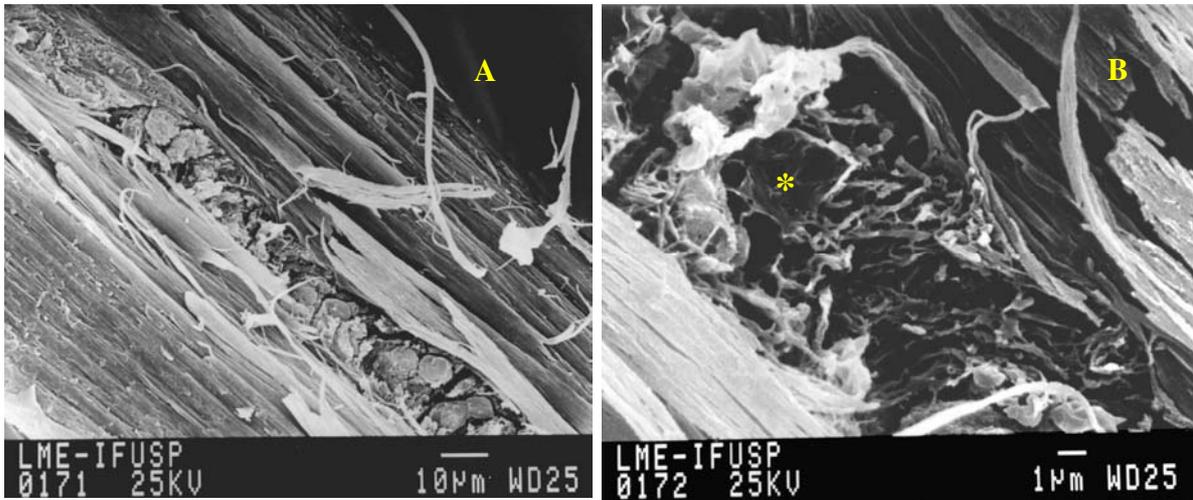
**Figura 27.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal de cabelo com medula fina incluído em cola quente de silicone. Note a ausência de macrofibrilas soltas ou destacadas do córtex e a limpeza da fratura. Observe em (A) a região mais interna da medula, que é porosa e, em (B), a superfície da medula que é mais lisa.



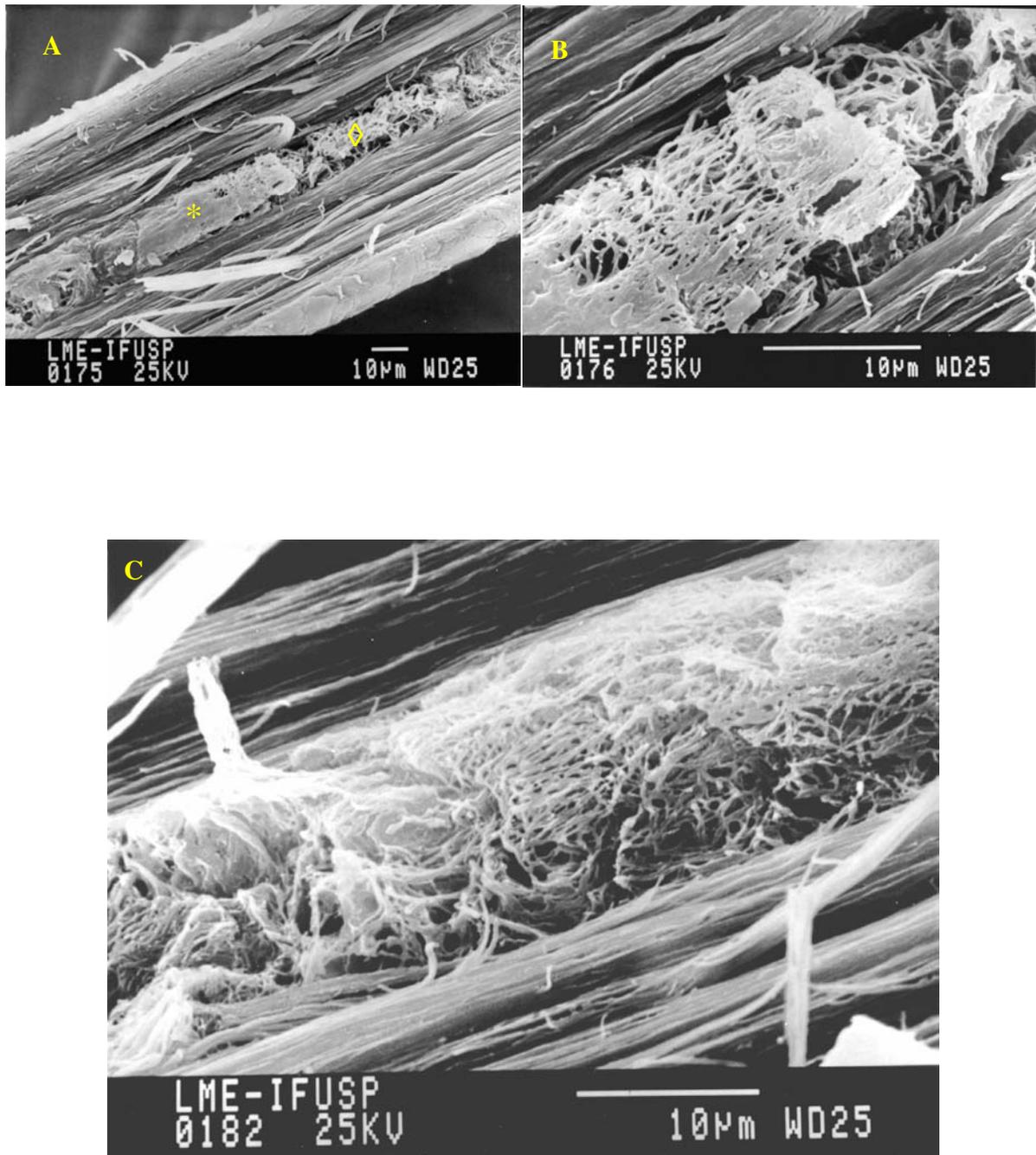
**Figura 28.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal de cabelo com medula fina incluído em cola quente de silicone, com detalhes para a estrutura externa mais lisa fraturada (\*) revelando a parte interna mais porosa em (A) e a mesma estrutura intacta em (B).



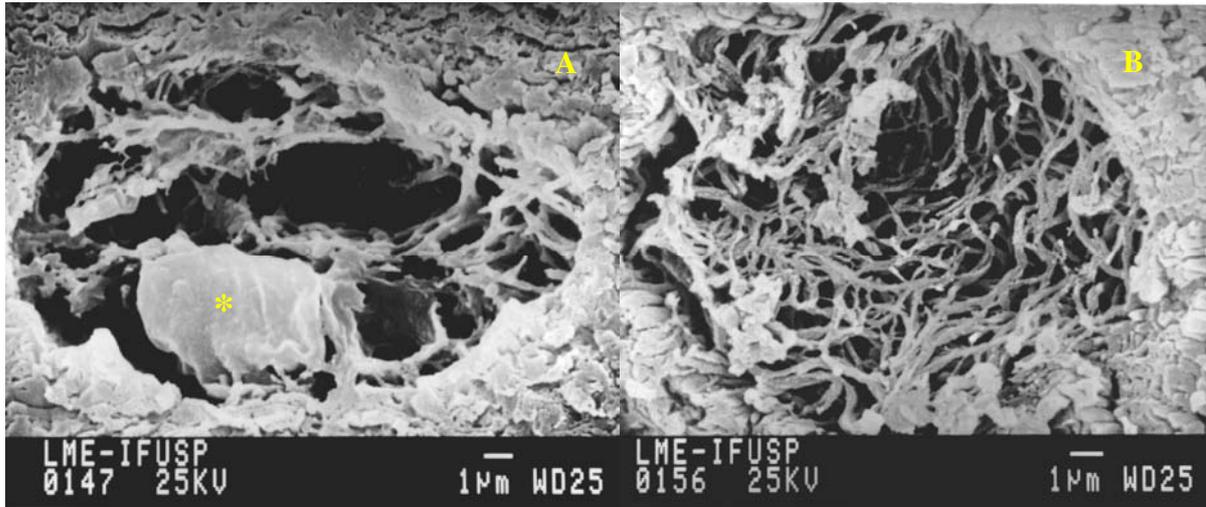
**Figura 29.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal de cabelo com medula fina incluído em cola quente de silicone. Note a cavidade da estrutura globular oca (\*) em inclinações diferentes e a periodicidade dessas estruturas em (A).



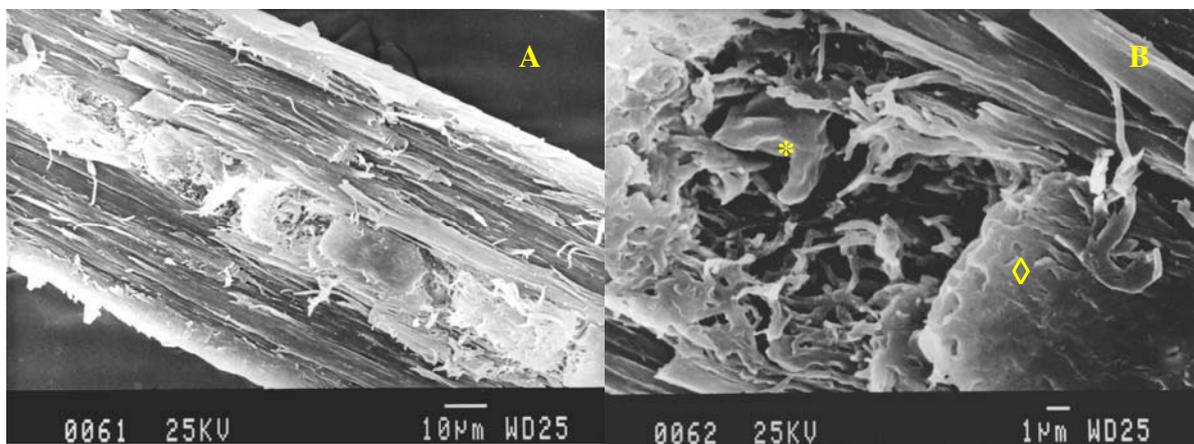
**Figura 30.** Micrografias eletrônicas de varredura de cortes longitudinais do cabelo com medula fina submetido a 5 min de erosão por plasma de oxigênio. Note a estrutura globular em (A) e a estrutura porosa e fibrilar da medula. Em (B), observa-se a preservação da estrutura globular oca (\*) após a erosão.



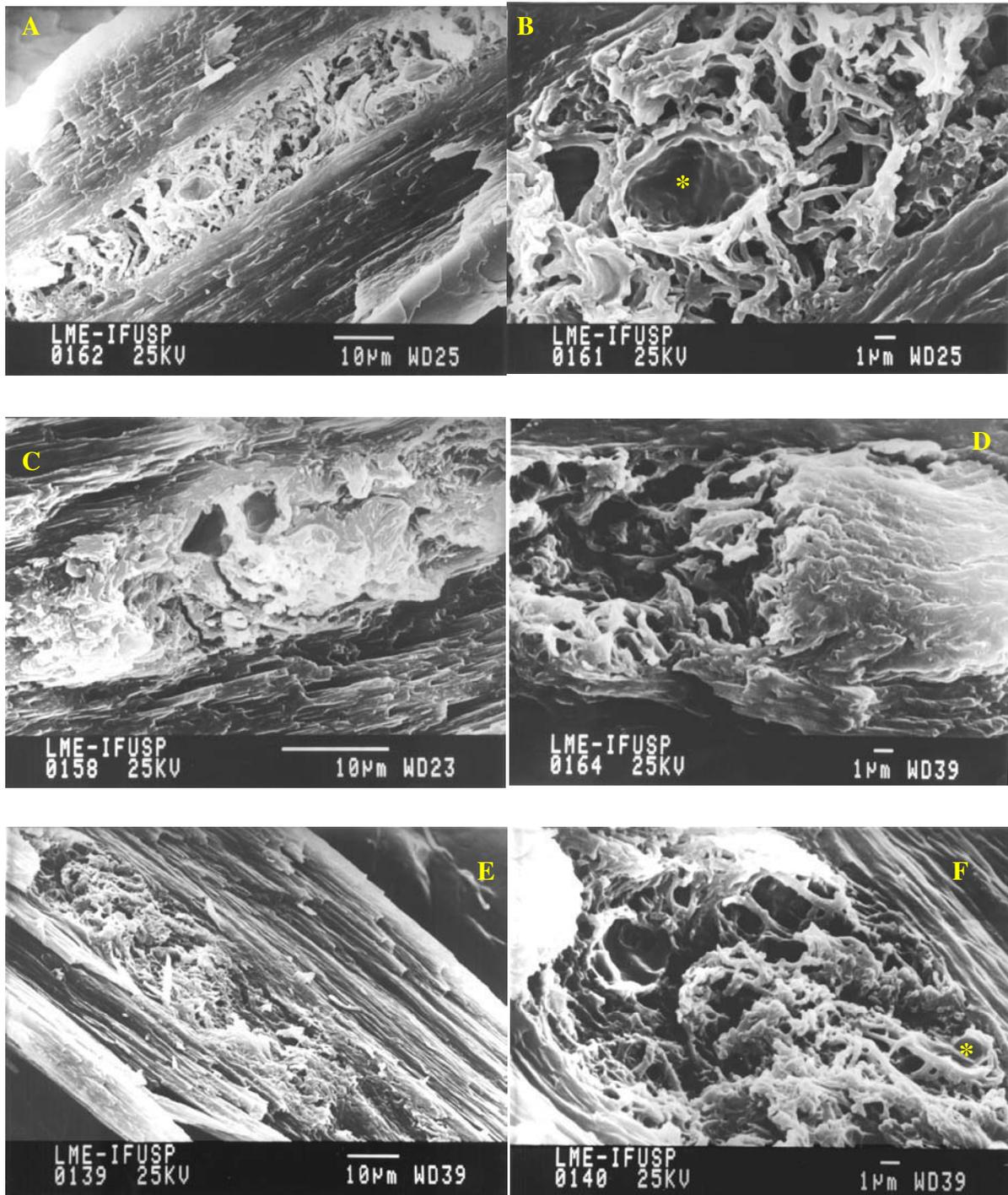
**Figura 31.** Micrografias eletrônicas de varredura de cortes longitudinais do cabelo com medula fina submetido a 5 min de erosão por plasma de oxigênio. Note a estrutura lisa (\*) e a fibrilar gerada a partir desta (◇) em (A) e, o detalhe da região lisa erodida da medula em (B) e em (C).



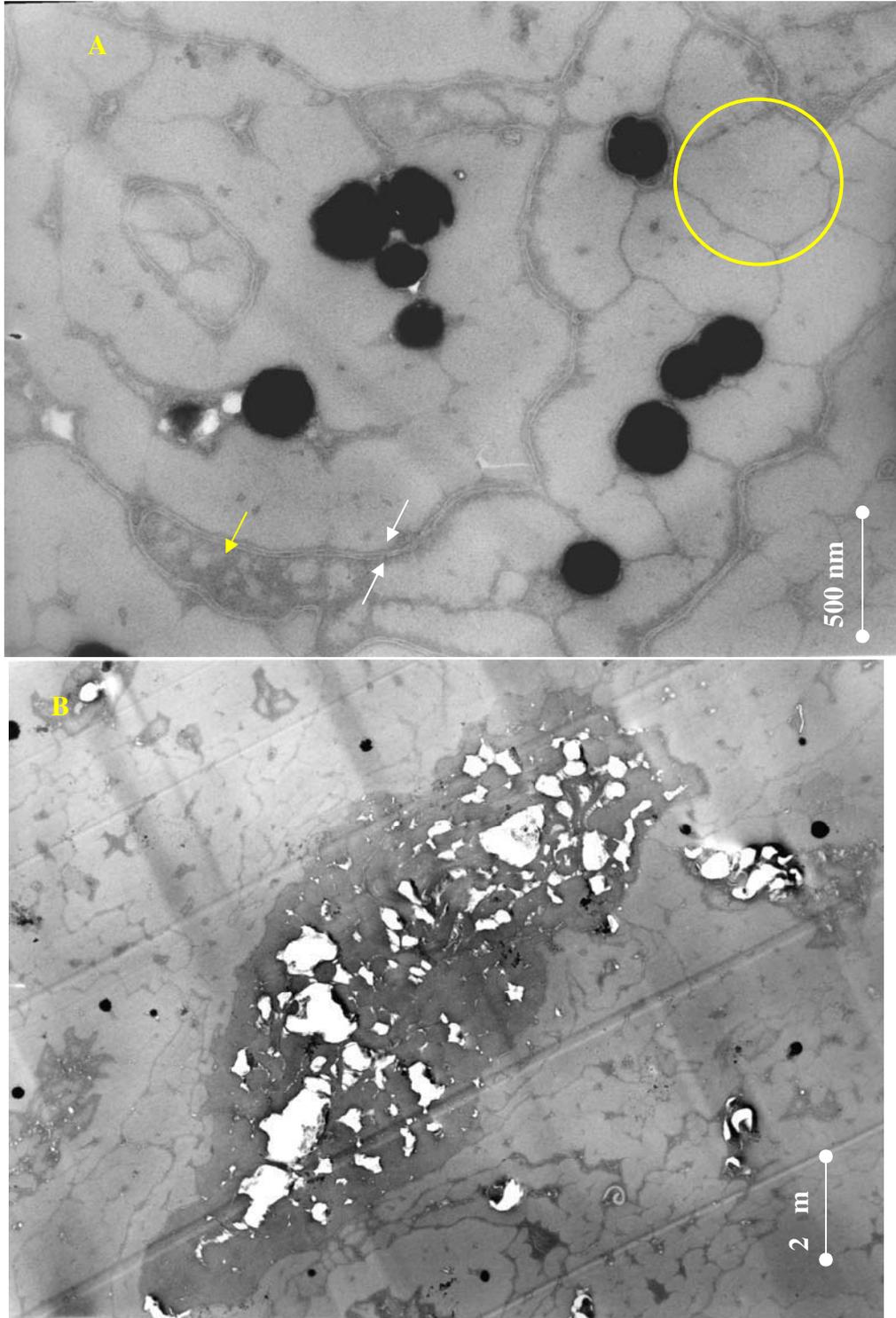
**Figura 32.** Micrografias eletrônicas de varredura de cortes transversais do cabelo com medula fina submetido a 5 min de erosão por plasma de oxigênio. Note a estrutura porosa e fibrilar da medula e a preservação da estrutura globular (\*) em (A) após a erosão.



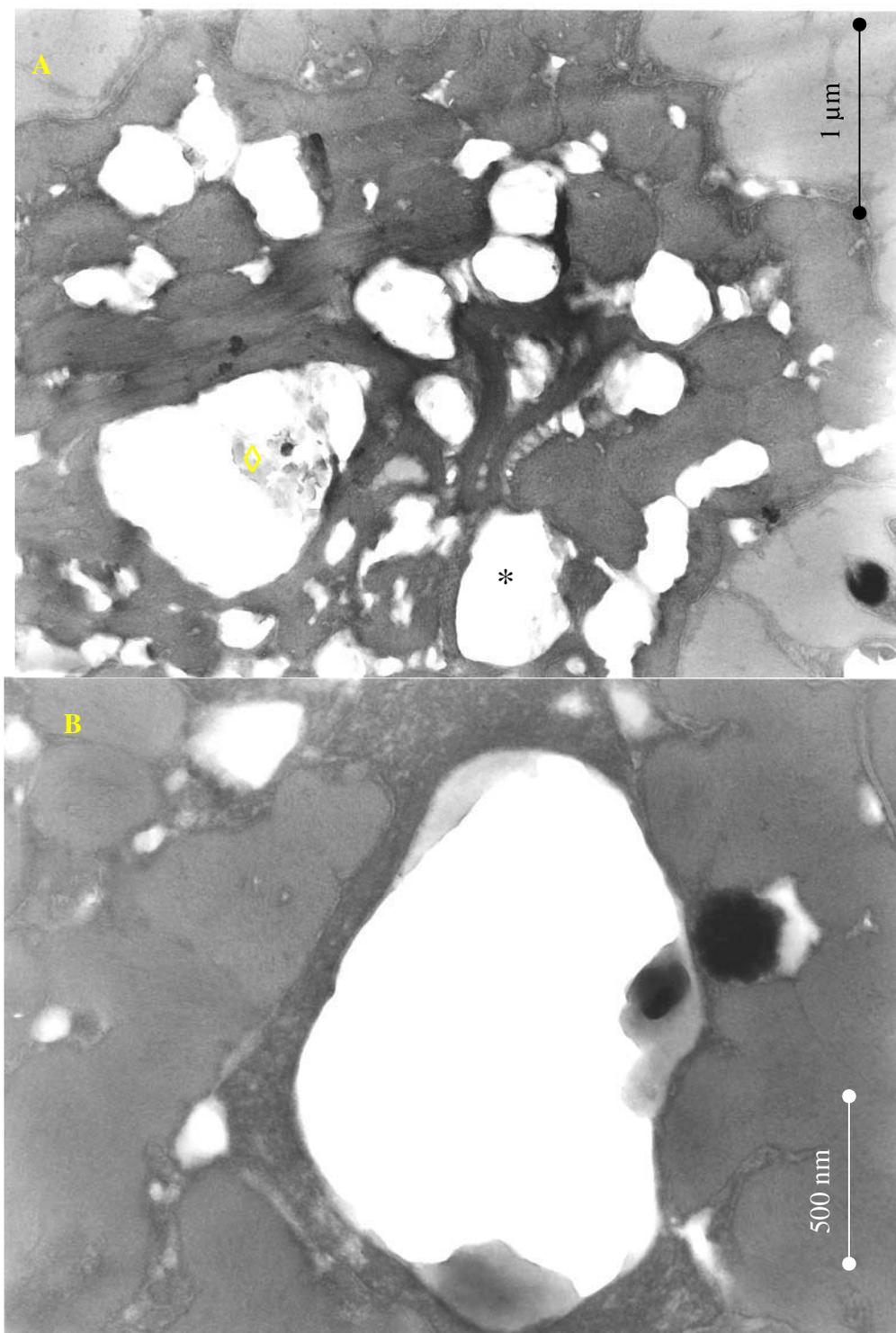
**Figura 33.** Micrografias eletrônicas de varredura do cabelo CC2 classificado como medula grossa seccionado com o bisturi. Observe os detalhes da região porosa, especialmente, a estrutura globular (\*) e os detalhes da região mais lisa que recobre a medula (◇) em (B).



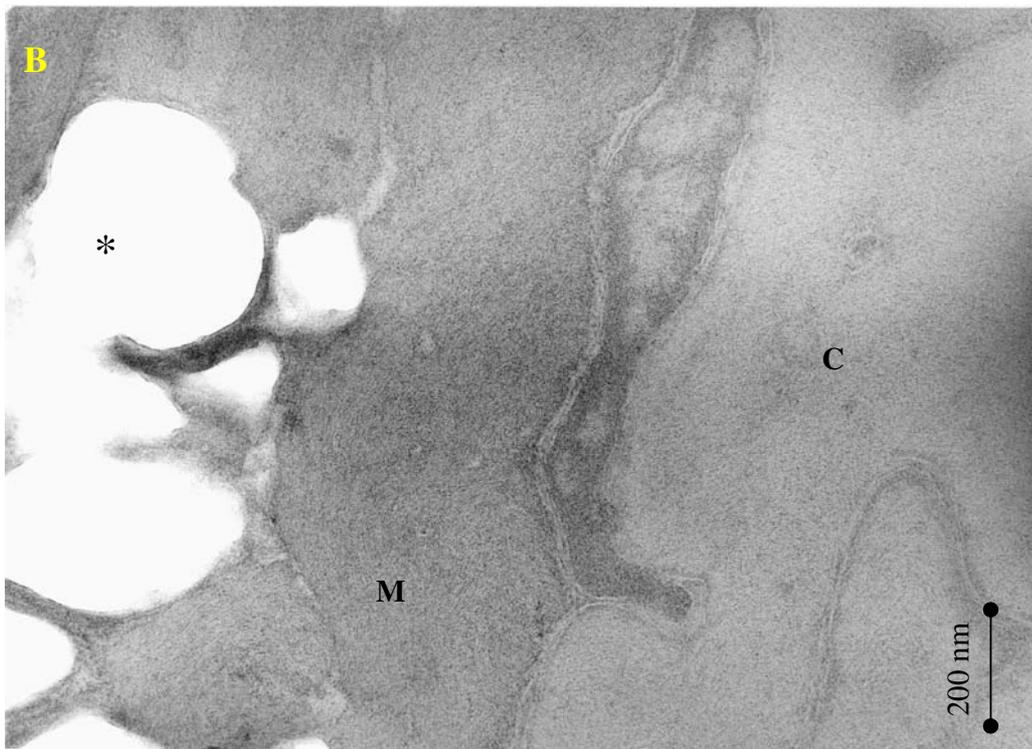
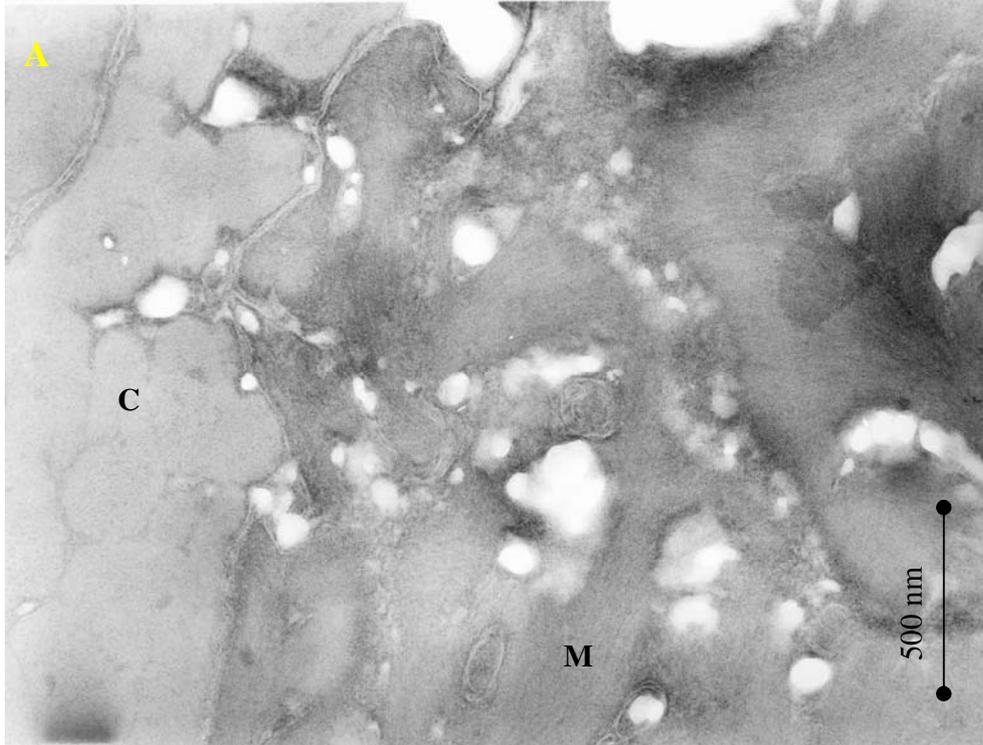
**Figura 34.** Micrografias eletrônicas de varredura de criofratura longitudinal de cabelo com medula grossa incluída em cola quente de silicone. (A) e (B): estrutura globular (\*) e material fibrilar desalinhado com o córtex dando um aspecto poroso à medula. (C) e (D): detalhe para a superfície lisa da medula tal qual observado no cabelo com medula fina. (E) e (F): porosidade da região da medula com o maior desordenamento do material fibrilar e a presença da estrutura globular (\*).



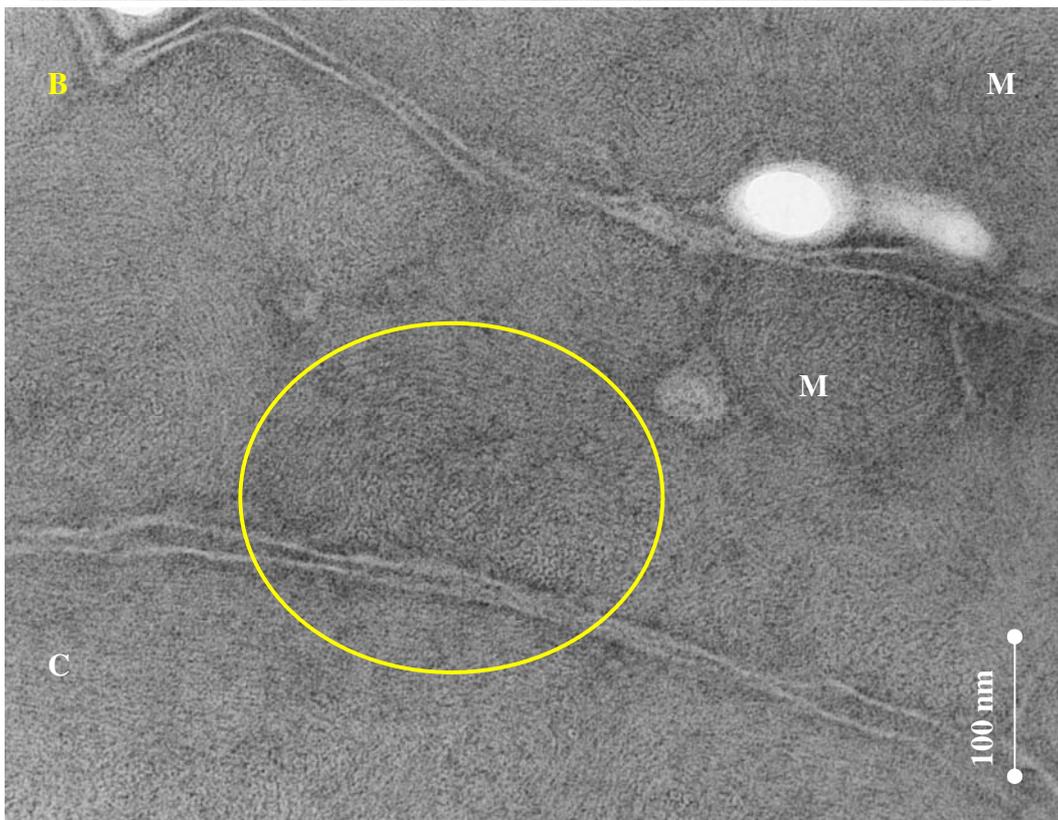
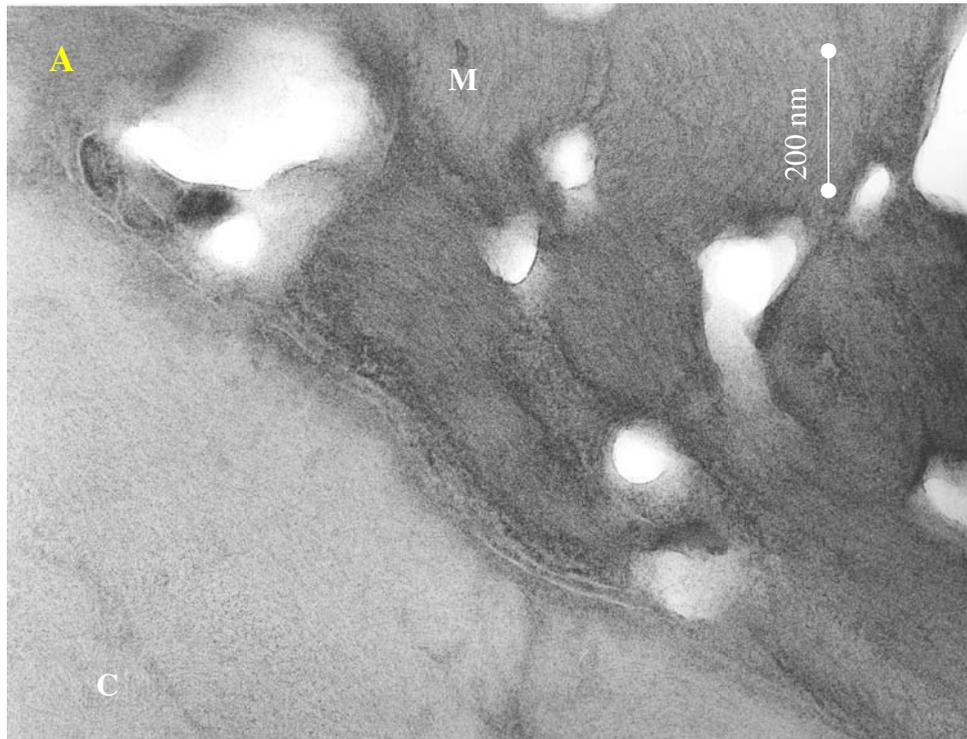
**Figura 35.** Micrografias eletrônicas de transmissão. (A): córtex do cabelo sem medula. Os grânulos pretos são as melaninas, as setas brancas indicam o CMC (menos denso eletronicamente) e, limitada pelo círculo, uma celular cortical. Em cinza escuro em torno das células corticais e do CMC está a matriz marcada com uma seta amarela. (B): aspecto geral da medula fina, destacando-se o contraste.



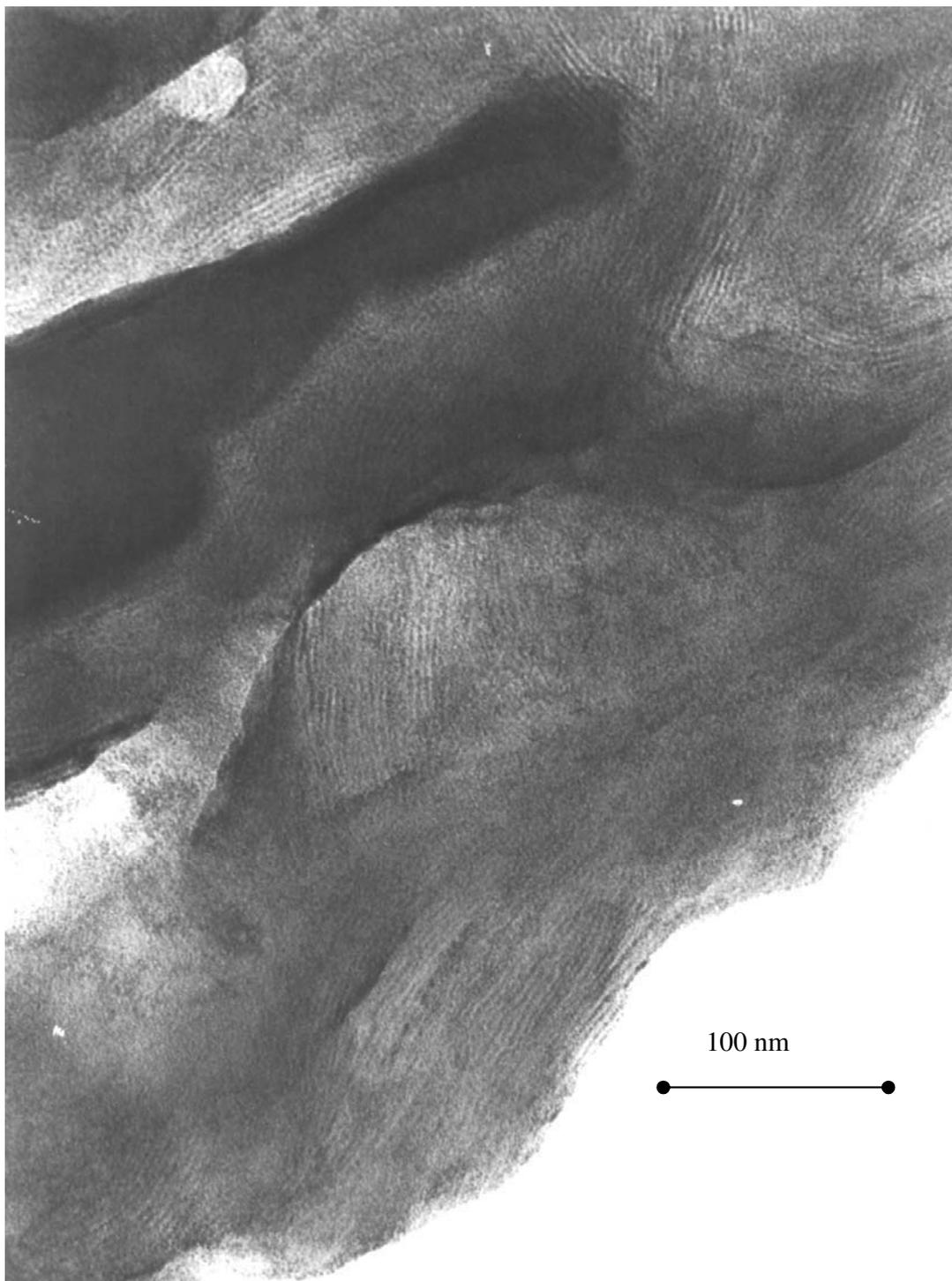
**Figura 36.** Micrografias eletrônicas de transmissão do cabelo CC1 com medula fina. Em (A) nota-se a semelhança com as células do córtex, a disposição das cavidades (algumas preenchidas com material menos denso -  $\diamond$ ) com as células da medula, algumas células disformes e glóbulos (\*). Em (B), tem-se a estrutura globular envolta por células corticais. A parede é contrastada e não apresenta características de organização estrutural.



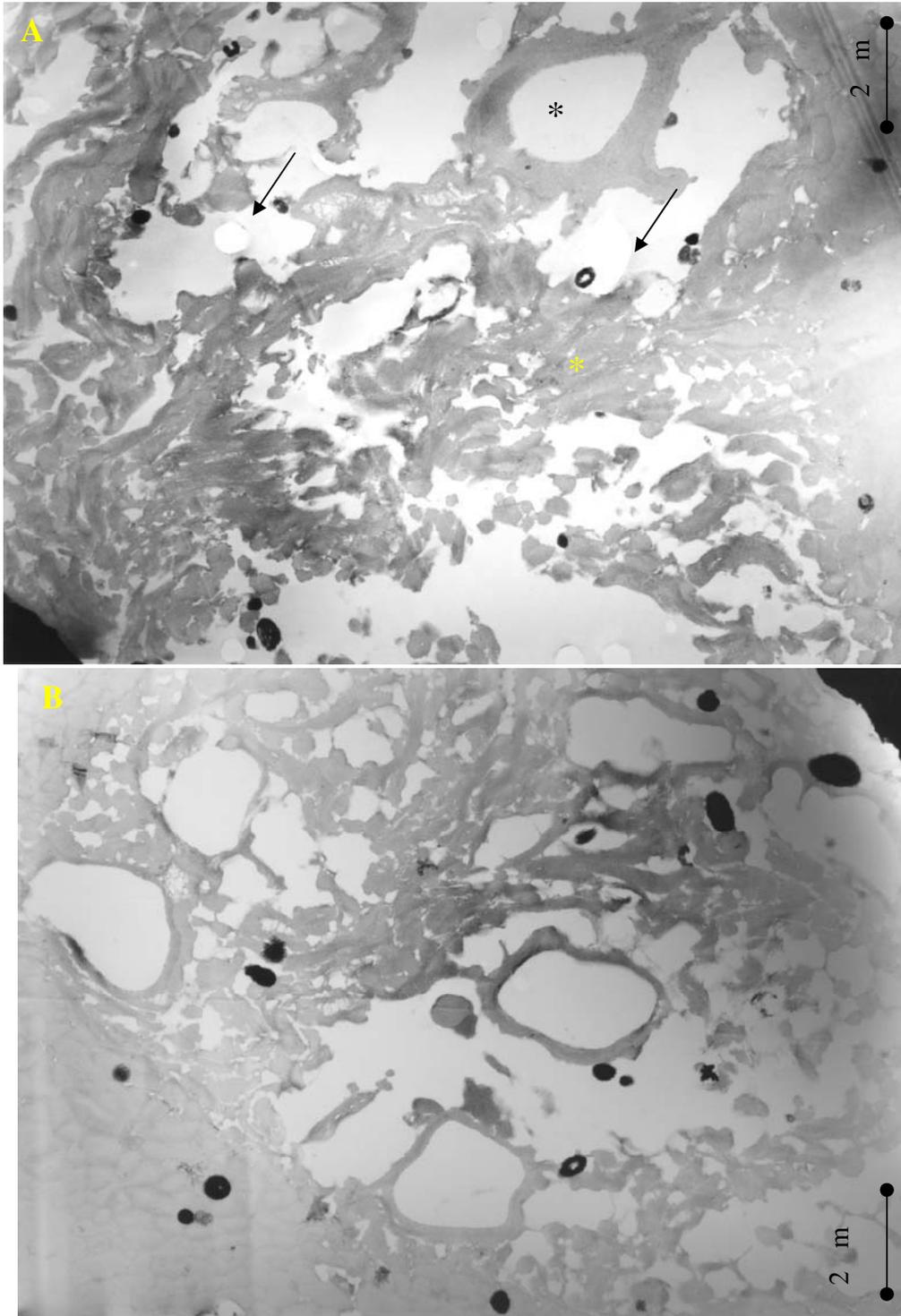
**Figura 37.** Micrografias eletrônicas de transmissão do cabelo CC1 com medula fina (M) na interface com o córtex (C). Observam-se a porosidade da medula em cavidades menores em (A) e algumas cavidades já próximas à interface (\*) em (B).



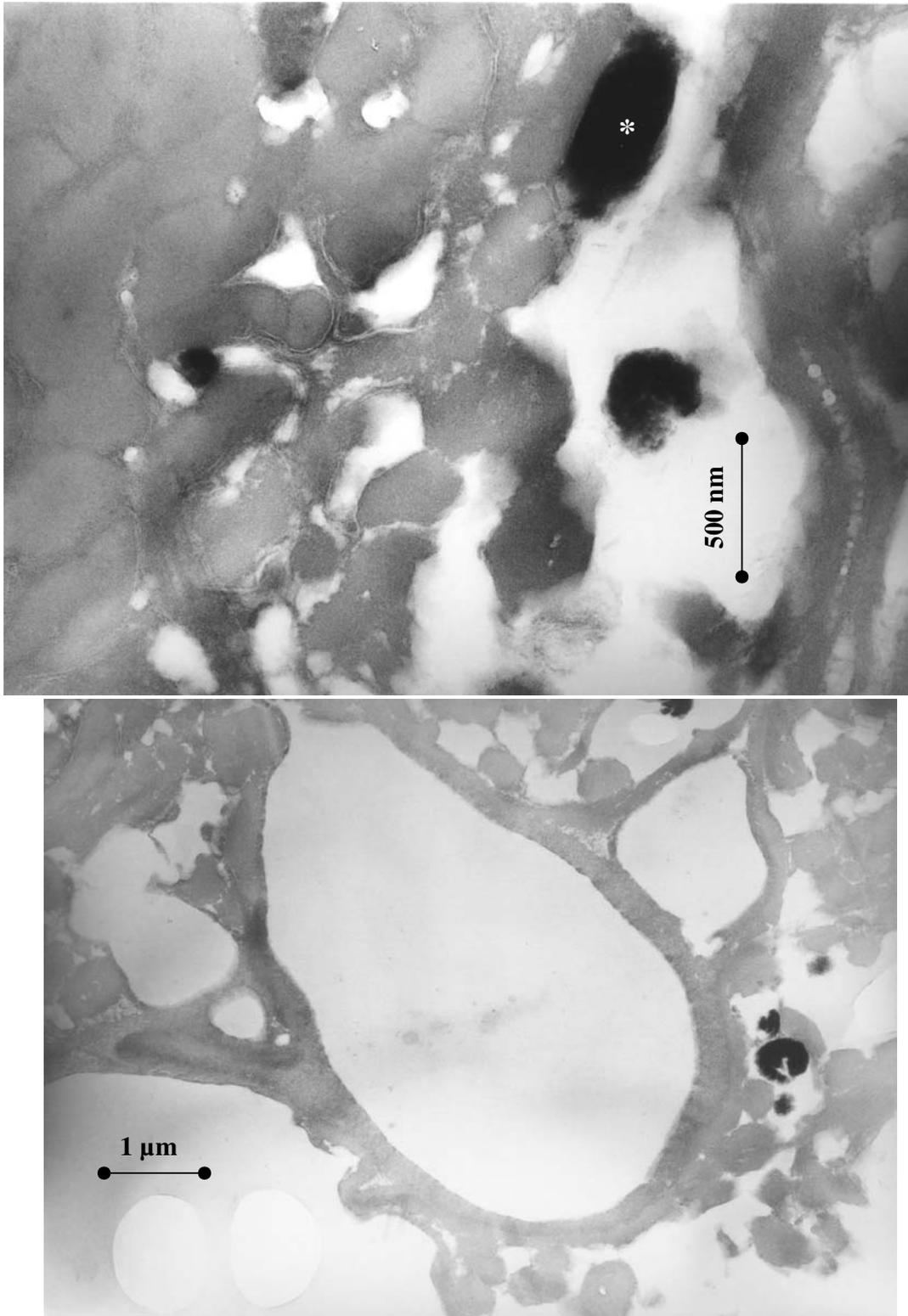
**Figura 38.** Micrografias eletrônicas de transmissão da interface entre a medula fina (M) e o córtex (C). (A): orientação das microfibrilas transversalmente ao corte em (C) e, em várias direções em (M). (B): microfibrilas transversais ao corte delimitadas pelo círculo.



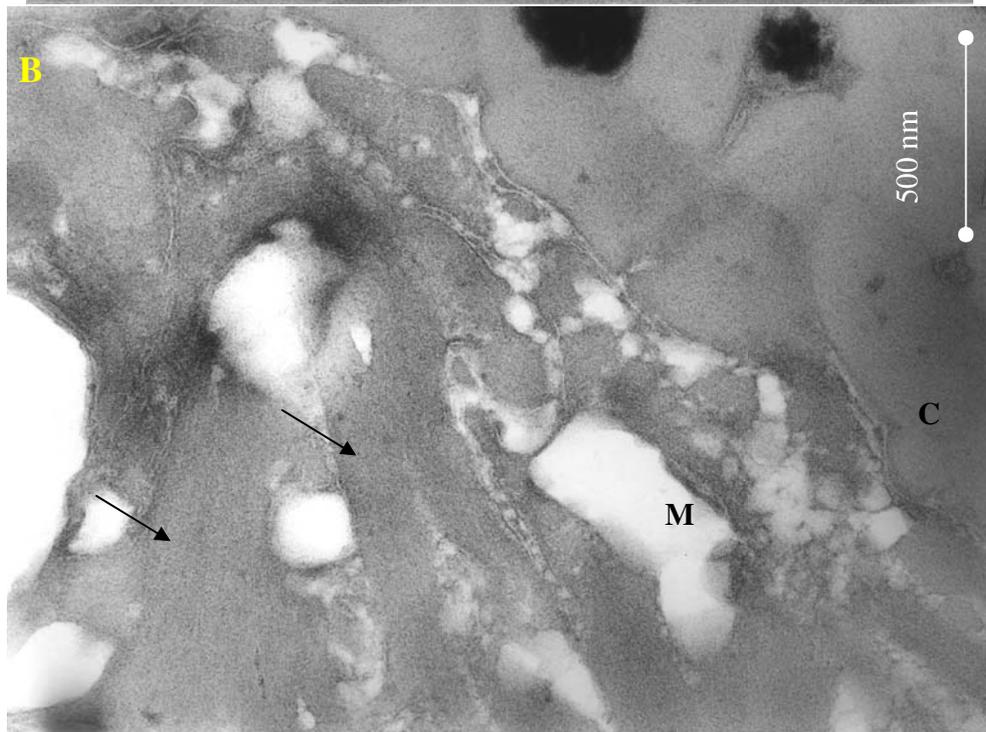
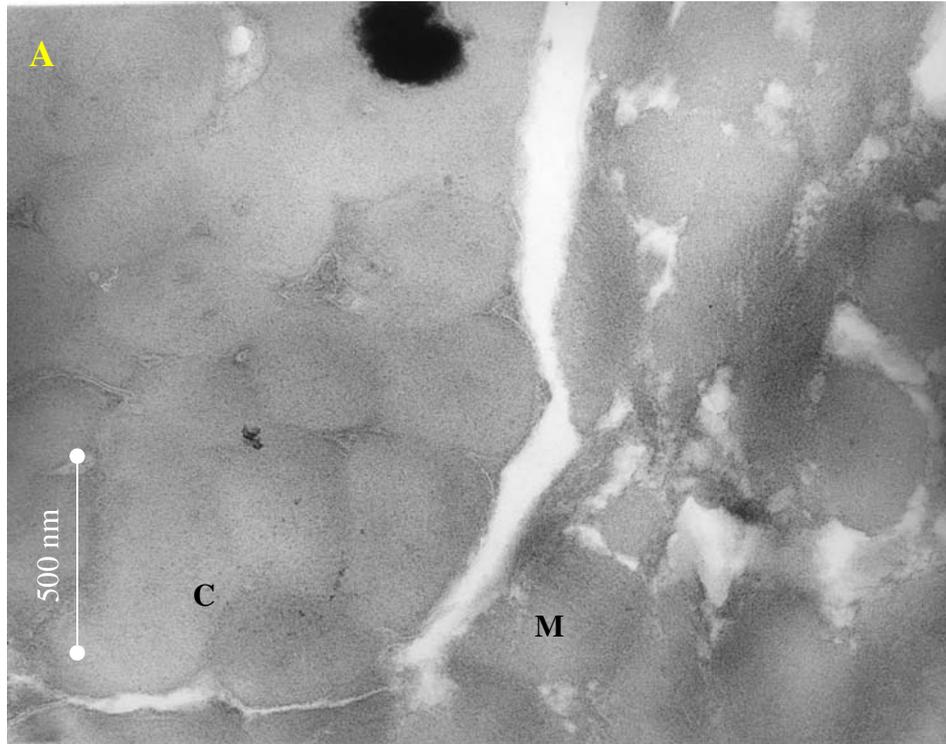
**Figura 39.** Micrografia eletrônica de transmissão do cabelo CC1 com medula fina, destacando as microfibrilas (listras de baixa densidade) orientadas paralelamente ao corte em várias direções.



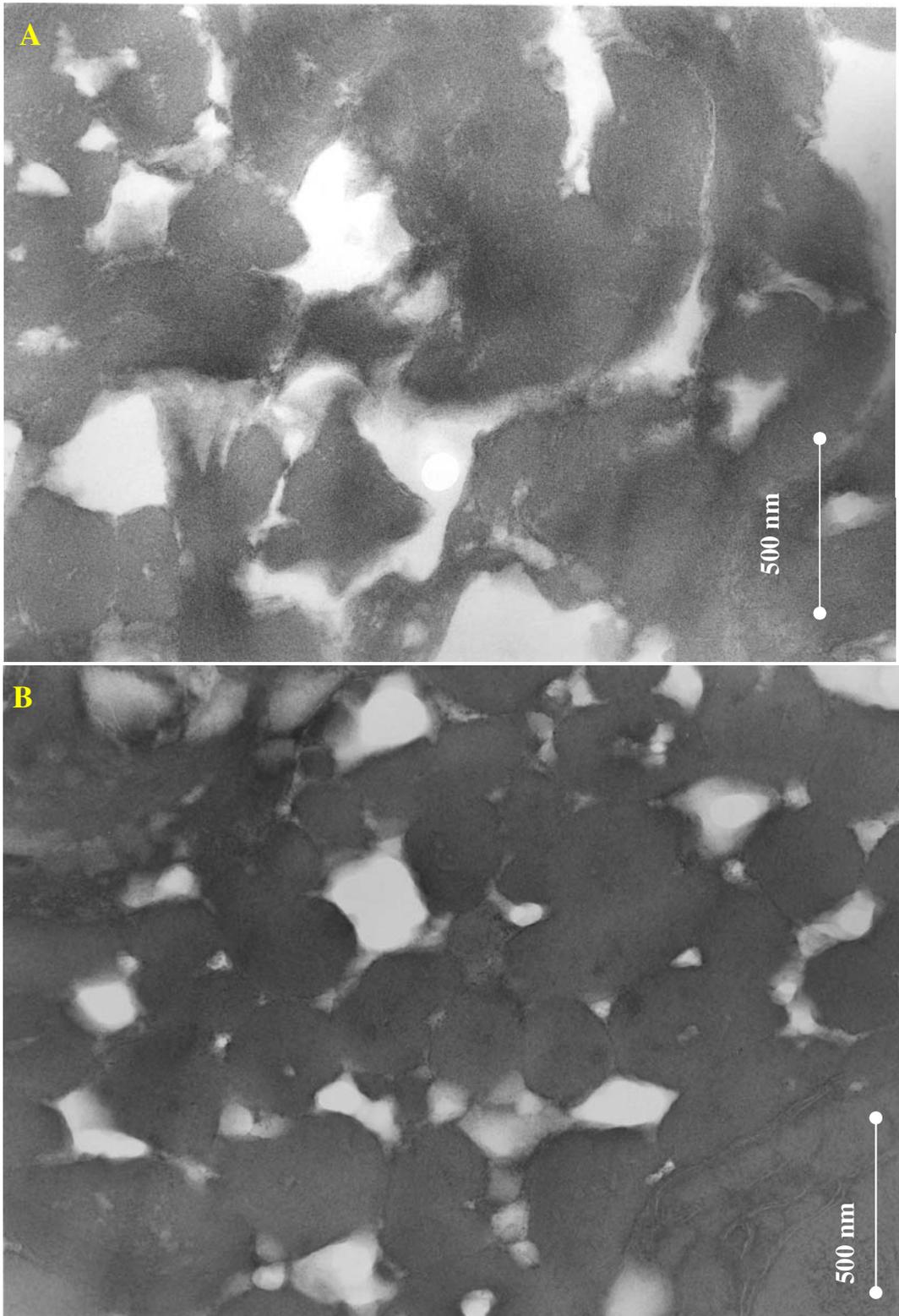
**Figura 40.** Micrografias eletrônicas de transmissão mostrando o aspecto geral da medula grossa do cabelo CC1 (A) e do CC2 (B) no mesmo aumento. Observam-se as estruturas globulares (\*) e o artefato gerado pelo feixe (flecha) mostrando que a resina penetrou na medula.



**Figura 41.** Micrografias eletrônicas de transmissão da medula grossa. (A) apresenta uma melanina elíptica (\*) semelhante às encontradas no folículo capilar. (B) apresenta um glóbulo envolto por células corticais da medula e por outro glóbulo menor.



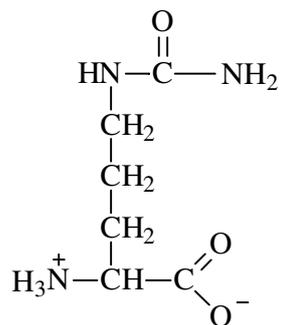
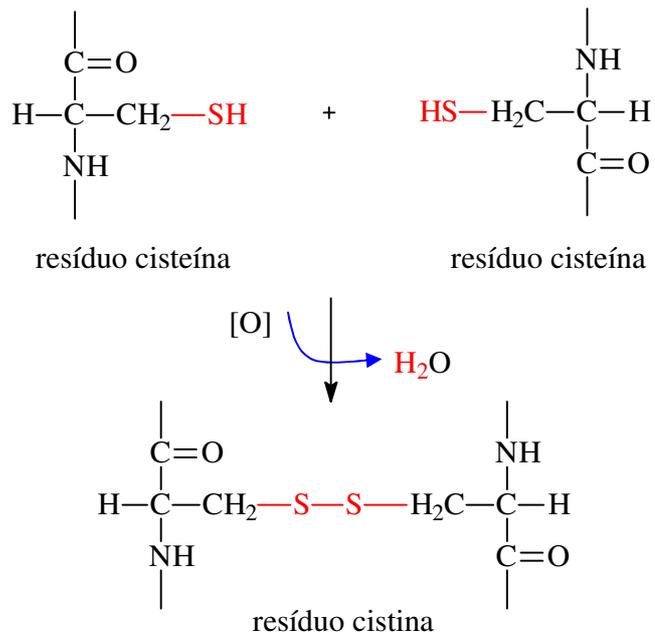
**Figura 42.** Micrografias eletrônicas de transmissão da interface entre a medula grossa (M) e o córtex (C). (A) apresenta a separação entre as duas regiões por uma cavidade que acompanha o contorno da medula e (B) apresenta uma interface melhor definida pelo CMC e células orientadas paralelamente à direção do corte, marcadas com uma seta.



**Figura 43.** Micrografias eletrônicas de transmissão da medula grossa: (A) região central da medula, menos organizada e, (B) região próxima ao córtex, mais organizada pela presença de células mais arredondadas semelhantes com as corticais.

## ANEXO II

### Estruturas químicas da cisteína e da citrulina



**Citrulina**