



RAFAEL PIRES DE OLIVEIRA

**DEGRADAÇÃO DE CABELO CAUSADA POR TENSOATIVOS:  
QUANTIFICAÇÃO POR MEIO DA ANÁLISE DAS SOLUÇÕES DE LAVAGEM POR  
ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS**

CAMPINAS

2013





UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA

RAFAEL PIRES DE OLIVEIRA

DEGRADAÇÃO DE CABELO CAUSADA POR TENSOATIVOS:  
QUANTIFICAÇÃO POR MEIO DA ANÁLISE DAS SOLUÇÕES DE LAVAGEM POR  
ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

ORIENTADORA: PROFA. DRA. INÉS JOEKES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA AO INSTITUTO  
DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
MESTRE EM QUÍMICA NA ÁREA DE FÍSICO-QUÍMICA.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA  
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR RAFAEL PIRES DE OLIVEIRA,  
E ORIENTADA PELA PROFA. DRA. INÉS JOEKES.

---

Assinatura da Orientadora

CAMPINAS

2013

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR DANIELLE DANTAS DE SOUSA -  
CRB8/6490 - BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

P665d Pires-Oliveira, Rafael (1985-).  
Degradação de cabelo causada por tensoativos:  
quantificação por meio da análise das soluções de  
lavagem por espectrofotometria UV-Vis / Rafael Pires-  
Oliveira. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientadora: Inés Joeques.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Campinas, Instituto de Química.

1. Xampu. 2. Detergentes. 3. Proteína. 4.  
Espectrofotometria. 5. Cosméticos. I. Joeques, Inés. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de  
Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em inglês:** Hair damage caused by surfactants: quantitative determination by UV-Vis spectra of washing solutions

**Palavras-chave em inglês:**

Shampoo  
Detergents  
Protein  
Spectrophotometry  
Cosmetics

**Área de concentração:** Físico-Química

**Titulação:** Mestrado em Química na área de Físico-Química

**Banca examinadora:**

Inés Joeques [Orientadora]  
Marisa Masumi Beppu  
Leandro Martínez

**Data de defesa:** 29/07/2013

**Programa de pós-graduação:** Química

*O nada nadaifica.*  
(Martin Heidegger)

*Para quem não sabe aonde quer chegar,  
qualquer caminho basta.*  
(Lewis Carroll, em 'Alice no País das  
Maravilhas')

*Conhecimento não é aquilo que você sabe,  
mas o que você faz com aquilo que você sabe.*

(Aldous Huxley)

*O homem não sabe mais que os outros  
animais; sabe menos. Eles sabem o que precisam  
saber. Nós não.*

(Fernando Pessoa)

## Dedicatória

*Dedico...*

*À Inés, que acreditou, deu-me oportunidade, teve paciência e ainda me estimulou.*

*Aos meus pais, que sempre me estimularam a conquistar o que não é fácil. Vocês foram as minhas inspirações.*

*E ao meu sobrinho Diego. Que um dia ele possa ler e entender este trabalho.*

## Agradecimentos

Primeiramente, à Inés, que não deixou com que eu virasse um “mendigo”. Obrigado pelo exemplo, pela paciência, pela educação cultural, moral e cívica (e sobre a vida), e por usar comigo a sua bola de cristal !

Agradeço aos meus pais por nem sempre facilitarem algumas coisas, mas sempre me darem o impulso para eu conquistar com mais autonomia e propriedade outras coisas.

Aos meus irmãos pela ajuda sempre que necessária e a minha família pelo incentivo.

Ao Atílio Cardoso, com quem eu aprendi muito, principalmente a pensar.

Ao Matheus Pavani pela companhia e discussões físico-química-capilares.

À Scheila Alves, que dividiu e somou comigo momentos de ansiedade, tensão, alegrias e marmitas. Obrigado pela paciência e companhia !

Aos colegas de laboratório pela sempre agradável companhia: Aline Dalmolin, André Medice, Anita Macedo, Débora Leite, Jonathan Bergamaschi, Marina Richena, Michele Moretti, Nádía Segre, Natália Tetzner, Pedro Cominal e Vivi Moraes.

À Carol Nogueira, sempre alegre e atenciosa, agradeço pelo apoio, discussões de resultados e empenho para conseguir o financiamento deste trabalho.

Aos amigos de graduação, Marina, Murilo, Paulo, Sara e Ivan, pelas risadas, relatórios, gramados, discussões filosóficas, caronas e companhia.

Aos amigos de perto e de longe, em especial à Lili, e ao Augusto, Li, Kashima e Motta, que me acompanharam e aconselharam durante este trabalho.

À Claudia Martelli pela sempre disposição e alegria contagiante no dia-a-dia.

À Vanessa Éline Sylvestrin pela simpatia e análises de ITC e SDS-PAGE.

Ao pessoal da CPG, Bel Aquino, Gabriela Lima e Miguel Morel, pelo atendimento sempre humano.

Aos funcionários da BIQ, em especial à Simone Oliveira, por sempre ajudar e encontrar artigos científicos.

Ao pessoal do lab de ensino, Miriam, Divino, Daniel, Eraldo e Michelle, por todo o suporte.

Aos professores Pedro Volpe, Marcelo Ganzarolli, Márcia Miguel, João Carlos de Andrade, Watson Loh, Teresa Atvars e Celso Bertran, pelas dicas, ensinamentos, discussões de resultados e todo o apoio dado.

Ao Marco Antonio Garofolo, do SAE, por todo suporte, atenção e simpatia.

À Johnson & Johnson por financiar e estimular este trabalho de Mestrado.

E não poderia deixar de agradecer ao Prof. Dudu (ETECAP), que me apresentou a Química, e ao Eduardo Diaz que há muito tempo me ensinou o valor e o prazer da pesquisa científica.

# Súmula Curricular

Rafael Pires de Oliveira

## Formação

Bacharel em Química – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (2010)

Técnico em Química – ETE Conselheiro Antonio Prado (ETECAP) (2002)

## Experiência

UNICAMP – Grupo de Pesquisa em Físico-Química Aplicada (mar/2007 – atual)

*Pesquisador*

Consultoria científica de avaliação da eficácia de produtos cosméticos para suporte de *claims* e desenvolvimento de formulações.

- Avaliação de desempenho de condicionador formulado com lipídios. 2011.
- Avaliação de desempenho de xampu formulado com lipídios. 2010.
- Estudo da cinética de sorção e desorção de água em cabelos tratados com siliconas. 2009.
- Avaliação de desempenho de xampu em barra. 2009.
- Perda proteica e mudança de cor de cabelos tratados com soluções de surfactantes. 2008.

UNILEVER – R&D Packaging (jan/2010 – jul/2010)

*Estagiário*

Desenvolvimento de embalagens primárias e secundárias. Desenvolvimento de projetos de sustentabilidade. Testes em linha de fábrica e de transporte. Suporte em projetos de outras áreas.

RHODIA – Centro de Pesquisas de Paulínia (jan/2003 – set/2005)

*Técnico de Desenvolvimento e Aplicação*

Desenvolvimento de novos produtos. Deformulação de produtos de mercado. Ensaio voltados à assistência técnica a clientes. Ensaio de polimerização em reator piloto. Implantação de 5S, norma ISO9001 e de segurança. Participação como membro da Brigada de Emergência.

## Publicações

- R. Pires-Oliveira, I. Joekes, “Hair color damages caused by exposure to chlorinated water in the presence of ultraviolet radiation”. In: *26th IFSCC International Congress*, 2010, Buenos Aires.
- R. Pires-Oliveira, I. Joekes, “Danos causados aos cabelos pela exposição à água de piscina tratada com cloro na presença de radiação ultravioleta em diferentes pHs”. In: *XVII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp*, 2009, Campinas.
- R. Pires-Oliveira, I. Joekes, “Danos causados aos cabelos tingidos pela exposição à água de piscina tratada com cloro na presença de radiação ultravioleta, em diferentes pHs”. In: *XVI Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp*, 2008, Campinas.
- P.C.A. Oliveira, O.A. Toledo, A.M. Silva, C.P. Cunha, J.B. Camargo, M.Y.R. Narita, R.P. Oliveira, T.C. Destefani, T.L. Chiaremonti, “A Corrosão Atmosférica dos Monumentos Históricos da Cidade de Campinas — Uma Proposta de Trabalho Interdisciplinar”. In: *XXII Congresso Brasileiro de Corrosão*, 2002, Salvador.

## Outras atividades

Programa de Estágio Docente (PED C) na disciplina “QF732 – Físico-Química Experimental II”, módulo “Físico-Química de Superfícies”. (1s/2013).

Supervisão e orientação no programa Ciência e Arte nas Férias. (2012).

Programa de Estágio Docente (PED C) na disciplina “QF632 – Físico-Química Experimental I”, módulo “Termodinâmica”. (2s/2011).

## Produção artística

Exposição Comemorativa dos 45 anos do IQ. 2012. Fotografia.

I Salão Universitário de Arte Contemporânea da UNICAMP. 2007. Fotografia.

I Mostra de Arte e Artesanato do IQ. 2006. Fotografia.

# **DEGRADAÇÃO DE CABELO CAUSADA POR TENSOATIVOS: QUANTIFICAÇÃO POR MEIO DA ANÁLISE DAS SOLUÇÕES DE LAVAGEM POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS**

Dissertação de Mestrado de Rafael Pires de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Inés Joekes

Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Caixa Postal 6154, CEP 13083-970, Campinas – SP – Brasil

## **Resumo**

Sabe-se que tensoativos (surfactantes) de xampus causam degradação da fibra capilar. Entretanto, não há na literatura estudos para quantificar os danos decorrentes do uso de tensoativos comerciais, que são impuros. Este trabalho avalia e compara a degradação de cabelo induzida pela ação de 16 tensoativos comerciais. Cabelo-padrão Caucásico castanho escuro foi imerso em soluções aquosas de 16 tensoativos comerciais, de dodecil sulfato de sódio (SDS) e de água destilada, em condições que imitam às do banho (38 °C, agitação constante). Obtiveram-se os espectros UV-Vis das soluções de lavagem. O método de Lowry foi utilizado para estimar a quantidade de proteínas extraída por SDS e por água destilada. As soluções de cabelo em todos os tensoativos e em água tornam-se coloridas após tempo prolongado (dias) de contato com os cabelos. A intensidade da cor varia de acordo com o caráter iônico do tensoativo e, somente no caso dos tensoativos, aumenta com o tempo de contato. Os espectros UV-Vis obtidos mostram que o grau de degradação da fibra capilar varia de acordo com o índice HLB (detergência) dos tensoativos. Aniônicos extraem em maior quantidade (ou mais rapidamente) as substâncias do cabelo, anfotéricos degradam menos e não-iônicos degradam na mesma intensidade que a água. A degradação se dá pela extração de proteínas, fragmentos de cutículas e grânulos de melanina, sem que haja alteração de cor do cabelo. Os espectros UV-Vis das soluções de lavagem apresentam bandas em 275 nm (proteínas) e de 525 a 625 nm (melaninas). Estas bandas correlacionam-se com a estimativa de proteína pelo método de Lowry. A partir desta correlação, a degradação de cabelos devido ao uso de tensoativos pode ser quantificada e comparada pelos espectros UV-Vis das soluções de lavagem com os tensoativos comerciais.

# **HAIR DAMAGE CAUSED BY SURFACTANTS: QUANTITATIVE DETERMINATION BY UV-VIS SPECTRA OF WASHING SOLUTIONS**

Master Thesis of Rafael Pires de Oliveira

Advisor: Prof. Dr. Inés Joekes

Institute of Chemistry – University of Campinas (UNICAMP)

PO Box 6154, CEP 13083-970, Campinas – SP – Brazil

## **Abstract**

It is well known that shampoo's surfactant causes degradation of human hair. However, studies that quantify hair damage caused by commercial surfactants are lacking in scientific literature. This work investigates and compares hair damage induced by 16 commercial surfactants. Standard virgin dark-brown Caucasian hair was immersed in aqueous solutions of 16 commercial surfactants, sodium dodecyl sulfate (SDS), and distilled water under conditions that imitate bath (38 °C, constant shaking). UV-Vis spectra were recorded of the washing solutions. Lowry method estimated the amount of protein extracted by SDS and distilled water. All surfactants solutions and water become colored after prolonged (days) contact with the hair. The color intensity varies with ionic character of the surfactant and, only in the case of surfactants, increases with contact time. UV-Vis spectra show that the degree of hair damage varies according to the HLB index (detergency) of the surfactants. Anionics extract a greater amount (or faster) of hair substances, amphoterics extract fewer, and non-ionics degrade at the same intensity as water. The degradation is caused by the extraction of proteins, fragments of cuticle and melanin granules, without change hair color. UV-Vis spectra of washing solutions show bands at 275 nm (proteins) and 525–625 nm (melanins). These bands correlate with protein evaluation by the Lowry method. From this correlation, hair damage due to surfactants can be quantified and compared through UV-Vis spectra of washing solutions of commercial surfactants.

## Lista de Figuras

Figura 1: Esquema genérico representativo da estrutura da fibra de cabelo. ....	2
Figura 2: Micrografia eletrônica de varredura de um corte transversal de um cabelo comum mostrando a região do córtex e das cutículas, com a indicação das suas camadas. ....	3
Figura 3: Esquema ilustrativo do processo de remoção de sujeira de uma superfície sólida por ação de um tensoativo. ....	6
Figura 4: Esquema representativo da difusão intercelular e transcelular. ....	7
Figura 5: Micrografia TEM de seção transversal de cabelo após 30 lavagens. ....	8
Figura 6: Espectros UV–Vis das soluções de tensoativo a 2,5 % <i>m/m</i> . ....	17
Figura 7: Fotografias mostrando o efeito da adição de solução de SDS na redução da turbidez das soluções de extrato de cabelo. ....	18
Figura 8: Curva analítica do método do Lowry construída utilizando-se solução de albumina de soro bovino (BSA). ....	21
Figura 9: Soluções a 2,5 % <i>m/m</i> dos tensoativos selecionados após os procedimentos A (à esquerda, referência) e E (à direita, turvas) do método de Lowry. ....	22
Figura 10: Fotografias das soluções de extrato de cabelo obtidas após o contato solução–cabelo antes da adição de solução de SDS. ....	26
Figura 11: Fotografia e espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após o contato da solução de SDS com cabelo castanho escuro e com cabelo branco. ....	27
Figura 12: Micrografias (A) de solução saturada de melanina de sépia e (B e C) de solução de extrato de cabelo obtida após 96 h de contato com SDS a 2,5 % <i>m/m</i> . ....	28
Figura 13: Espectros UV–Vis de soluções aquosas de melaninas. ....	29
Figura 14: Espectros UV–Vis da solução saturada de melanina de sépia antes e após a adição de SDS a 2,5 % <i>m/m</i> . ....	30
Figura 15: Espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas com água destilada e SDS a 2,5 % <i>m/m</i> , em função do tempo de contato com cabelo. ....	31
Figura 16: Ampliação do espectro UV–Vis da Figura 15. ....	32
Figura 17: Intensidade da banda em 275 nm da solução de extrato de cabelo em função do tempo de contato com água ou SDS a 2,5 % <i>m/m</i> . ....	33
Figura 18: Proteína extraída do cabelo em função do tempo de contato com água ou SDS a 2,5 % <i>m/m</i> . Estimativa pelo método de Lowry. ....	34

Figura 19: Espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após o contato solução–cabelo por <i>ca.</i> 64 h a 38 °C com agitação horizontal constante e com adição de SDS.....	36
Figura 20: Espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após 64 h de contato a 38 °C com agitação constante. Tensoativos: SDS, SLES, CAPB, Gluc e água destilada.....	37
Figura 21: Espectros UV–Vis de soluções de extrato de cabelo obtidas após 64 h de contato a 38 °C com agitação constante com Gluc e água destilada. Solução antes e após adição de SDS. ....	38
Figura 22: Dois métodos para estimar quantidade de proteína extraída dos cabelos: banda em 275 nm e método de Lowry. Correlação entre os dois métodos. ....	42
Figura 23: Correlação entre a resposta no UV–Vis e a quantidade de proteína estimada pelo método de Lowry das soluções de cabelo obtidas com SDS a 2,5 % <i>m/m</i> . ....	44
Figura 24: Fotografia de <i>Sepia officinalis</i> . ....	54
Figura 25: Fotografia do SDS-PAGE obtido que verificou a pureza da albumina de soro bovino (BSA). ....	54
Figura 26: Fotografias mostrando os cabelos imersos em solução de tensoativo. ....	55
Figura 27: Espectros de fluorescência ( $\lambda_{ex} = 280$ nm) das soluções de água e tensoativo antes e após 24 h de contato com o cabelo.....	55
Figura 28: Parâmetros de cor das mechas de cabelo após 64 h em solução dos tensoativos e água destilada. ....	56
Figura 29: Correlação entre espectro UV–Vis das soluções de cabelo obtidas e a quantidade de proteína estimada pelo método de Lowry. (A) Intensidade da banda em 275 nm medida pela linha-base, (B) resposta em 600 nm e (C) área relativa do espectro UV–Vis em 490–650 nm. ....	57

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Número de artigos científicos publicados e patentes existentes.....	9
Tabela 2: Caracterização colorimétrica pelo sistema CIELAB das amostras de cabelo-padrão virgem utilizadas. ....	12
Tabela 3: Identificação das amostras comerciais de tensoativo usados neste estudo.....	13
Tabela 4: Volume dos reagentes adicionados nos cinco diferentes procedimentos do método de Lowry. ....	22
Tabela 5: Estimativa da quantidade de proteína extraída utilizando a correlação do espectro UV-Vis com a estimativa pelo método de Lowry. ....	46

## Lista de abreviações

ALS	Lauril sulfato de amônio
AnfoAc	Cocoanfoacetato de sódio
CAPB	Cocamidopropil betaína
CAPBb	Cocamidopropil betaína
Carbox	Lauril glicose carboxilato de sódio e lauril glicosídeo
CB	Coco betaína
CetB	Cetil betaína
CSAPB	Coco/girassol amidopropil betaína
DeGluc	Decil glicosídeo
Gluc	Coco glicosídeo
HLB	Balanco hidrofílico-lipofílico
<i>I</i>	Intensidade
<i>m</i>	Massa
OB	Oleil betaína
P.A.	Pureza analítica (elevado grau de pureza)
PGLau	Poligliceril-10 laurato
Sarc	Lauroil sarcosinato de sódio
SLau	Metil 2-sulfolaurato de sódio e 2-sulfolaurato dissódico
SLES	Lauril éter sulfato de sódio
SSuc	Lauril sulfosuccinato dissódico
<i>T</i>	Temperatura (°C)
<i>t</i>	Tempo
UR	Umidade relativa
UV	Ultravioleta
<i>V</i>	Volume
Vis	Visível
$\lambda$	Comprimento de onda
$\epsilon$	Coefficiente de absorção molar

# Índice

1. Introdução	1
1.1. Cabelos	1
Cutícula	1
Córtex	2
Complexo da membrana celular (CMC)	3
Medula	4
Melanina	4
1.2. Xampus	5
1.3. Revisão bibliográfica	6
1.4. Situação do problema	9
2. Objetivos	11
3. Experimental	12
3.1. Materiais e reagentes	12
Cabelo	12
Tensoativos	13
Outros reagentes	14
Outros materiais	15
3.2. Métodos	15
Pré-lavagem dos cabelos	15
Condições do contato das soluções de tensoativo com cabelo	16
Espectros UV–Vis e análise das soluções de extrato de cabelo	17
Redução da turbidez das soluções de extrato de cabelo	18
Extração com SDS	19
Espectros UV–Vis de solução de melanina de sépia	20
Determinação pelo método de Lowry da quantidade de proteína extraída	20
A não fluorescência das soluções de extrato de cabelo	24
4. Resultados	25
4.1. As soluções obtidas após imersão dos cabelos nos tensoativos comerciais	25

4.2.	A origem da cor das soluções	27
	Melaninas em solução de extrato de cabelo	28
4.3.	O perfil dos espectros de soluções de extrato de cabelo	30
	Análise da cinética de extração de proteínas do cabelo pelo espectro UV	33
4.4.	Quantidade de proteína extraída do cabelo estimada pelo método Lowry	34
4.5.	UV–Vis das soluções de cabelo obtidas com os tensoativos comerciais	35
5.	Discussão	39
	As bandas dos espectros UV–Vis das soluções de cabelo	39
	A degradação dos cabelos causada pelas soluções de tensoativos	40
	Espectrofotometria UV–Vis e o método de Lowry para quantificar a degradação de cabelos	41
	Degradação de cabelo pelos tensoativos comerciais	43
6.	Conclusões	47
7.	Sugestões para trabalhos futuros	48
	Trabalhos incrementais:	48
8.	Referências	49
9.	Anexos	54

# 1. Introdução

## 1.1. Cabelos

O cabelo apresenta função sensorial, de atração sexual e de proteção corporal [1]. O fio de cabelo possui uma composição química complexa, sendo produzido no folículo, localizado no tecido subcutâneo.

Ao lado do folículo, está a glândula sebácea, que lubrifica o fio. Não existe cabelo “seco”, “normal” ou “oleoso”. A oleosidade (ou falta dela) atribuída ao “tipo” de cabelo é, na verdade, sebo produzido pelas glândulas sebáceas do couro cabeludo. Os processos mecânicos de pentear ou passar as mãos nos cabelos é que transportam o sebo do couro cabeludo para os fios.

O cabelo cresce em um ciclo de três etapas e aproximadamente 14 cm por ano. Um adulto normal possui de 81 a 121 mil folículos na cabeça, dos quais 90 % estão na fase de crescimento dos fios e 10 % na fase de formação de um fio novo, expulsando o anterior. Um adulto normal perde naturalmente até 100 fios por dia [1].

Conforme as células são produzidas dentro do folículo, ocorrem processos de diferenciação celular nos quatro componentes básicos: as cutículas, o córtex, o complexo da membrana celular (CMC) e, em alguns casos, a medula [1, 2]. Melanócitos presentes no folículo capilar produzem e transferem a melanina para a fibra, o que dá a sua cor [3]. Estas estruturas são formadas por processos de diferenciação celular, que duram até o fio chegar à epiderme. O cabelo não sofre alterações biológicas depois que sai do couro cabeludo.

A Figura 1 representa, esquematicamente, a estrutura morfológica genérica de uma fibra de queratina. A fibra capilar não apresenta as estruturas diferenciadas de orto, meso e para-córtex.

### *Cutícula*

As cutículas envolvem, no sentido da raiz para a ponta, toda a fibra capilar em cerca de dez camadas sobrepostas (no cabelo virgem) e entre cada uma está presente o CMC [4]. Cada cutícula tem aproximadamente 0,5  $\mu\text{m}$  de espessura e 60  $\mu\text{m}^2$  de área [4], tendo exposta apenas 6–7  $\mu\text{m}$ . É composta por lipídeos, carboidratos e proteínas [5], o que garante resistência química e um maior coeficiente de difusão em relação ao córtex [6]. Sua estrutura é amorfa [7] e constituída por três camadas, descritas a seguir e mostradas na Figura 2.

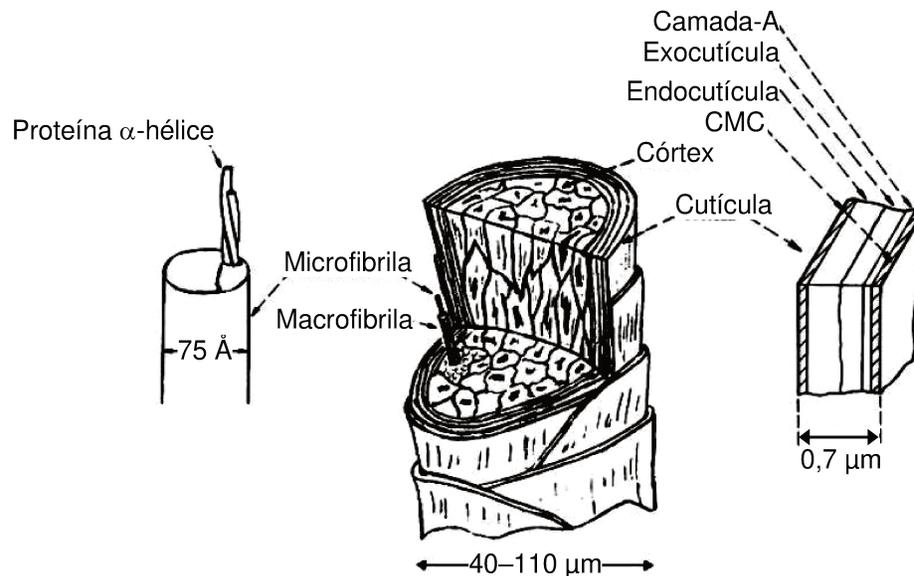


Figura 1: Esquema genérico representativo da estrutura da fibra de cabelo. Notam-se as células corticais alongadas no sentido do eixo do fio, compostas por macrofibrilas, que são constituídas pelas microfibrilas. Vêm-se ainda as três camadas estruturais da cutícula. O CMC está presente entre as células corticais, entre as macrofibrilas e microfibrilas e entre cada uma das cutículas. Adaptado de Robbins [1], original de Dobb *et al.* [8].

1. Camada-A: é a região mais superficial da cutícula, coberta por um filme lipídico (ácido 18-metileicosanóico, 18-MEA) ligado covalentemente. É altamente reticulada, com um alto conteúdo de cistina (> 30 %). É, portanto, a camada mais resistente e hidrofóbica da cutícula.
2. Exocutícula: é densamente reticulada, com conteúdo intermediário de cistina (entre 15 e 20 %). Assim como a camada-A, não se intumescce em água [9].
3. Endocutícula: tem o menor conteúdo de cistina (*ca.* 3 %) de toda a cutícula. Contém maior concentração de remanescentes celulares não-queratinosos e aminoácidos básicos e ácidos. Ao contrário das camadas superiores, a endocutícula se intumescce em água e apresenta baixa resistência a ataques químicos.

### *Córtex*

O córtex, maior componente da fibra de cabelo (entre 70 e 90 %), é a região cristalina, responsável pelas suas propriedades mecânicas, que variam de acordo com a quantidade de água

presente na fibra capilar [10]. Basicamente, o córtex é constituído de filamentos de  $\alpha$ -queratina embebidos em uma matriz não-queratinizada.

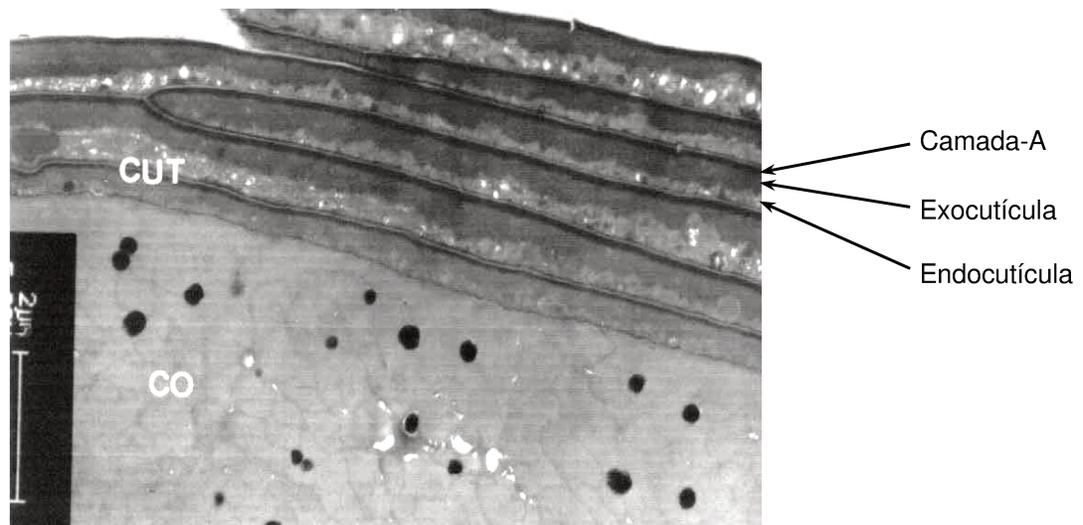


Figura 2: Micrografia eletrônica de varredura de um corte transversal de um cabelo comum mostrando a região do córtex e das cutículas, com a indicação das suas camadas. Notam-se no córtex os grânulos de melanina. Retirado de [11].

O córtex é constituído por células alongadas durante o processo de queratinização com diâmetro de 1–6  $\mu\text{m}$  e comprimento de 50–100  $\mu\text{m}$ , alinhadas paralelamente ao eixo da fibra. As células corticais contêm macrofibrilas, sendo que, cada uma, é formada por filamentos intermediários (microfibrilas). Entre as macrofibrilas e entre as microfibrilas está presente a matriz que contém proteínas amorfas e remanescentes nucleares [12]. As células corticais são ricas em cisteína, compactas, pouco penetráveis por líquidos em geral e menos reativas quimicamente.

#### *Complexo da membrana celular (CMC)*

O complexo da membrana celular (CMC) consiste de membrana plasmática modificada e remanescentes celulares não-queratinizados [13] que mantém todas as partes da fibra capilar aderidas. A composição mais detalhada do CMC, no entanto, ainda não está bem definida [1]. O CMC é a única fase contínua da fibra capilar, sendo a principal via para difusão de substâncias para dentro do fio de cabelo [1, 6, 13].

### *Medula*

A medula é a região mais interna da fibra capilar e pode estar ausente, fragmentada ou contínua. É separada do córtex por uma camada de CMC. Apresenta uma estrutura amorfa porosa, com maior teor de lipídeos e com vacúolos preenchidos por ar [1]. Apesar de não serem significativamente diferentes, as propriedades mecânicas dos fios não-medulados são mais uniformes em comparação com os medulados [14].

### *Melanina*

Os grânulos de melanina constituem, em geral, menos de 3 % da massa total da fibra de cabelo. Ainda não está bem estabelecida a sua função, mas acredita-se ser apenas de fotoproteção [15]. Melanócitos presentes no ápice do folículo capilar produzem melanossomos, organela responsável pela produção da melanina [3]. A melanina é introduzida no espaço intracelular dos filamentos de queratina, no início da formação da fibra capilar, antes do processo de diferenciação que os orientará e cristalizará [16, 17]. No fio de cabelo, a melanina fica situada no córtex, no espaço intermacrofibrilar.

A melanina é um polímero conjugado produzido por reações a partir da tirosina. Quando a dopaquinona (produzida pela oxidação da tirosina) reage com cisteína, é formada feomelanina, caso contrário, a reação final produzirá eumelanina [18]. A feomelanina possui uma coloração avermelhada, enquanto que a eumelanina uma cor que varia de preto a marrom. Cabelos pretos contêm um maior nível de eumelanina, cabelos loiros um teor menor de eumelanina, e cabelos ruivos contêm concentrações equivalentes de eumelanina e feomelanina [19]. Além da cor, os dois tipos diferem, entre outras propriedades, na solubilidade: eumelanina é insolúvel, ao passo que feomelanina é solúvel em álcalis [18, 20].

A melanina se agrega em grânulos esféricos ou ovais, com diâmetro que varia entre 0,3 a 1,0  $\mu\text{m}$  (no eixo maior), de acordo com a origem racial da pessoa [1]. Estes grânulos, no entanto, são na verdade uma estrutura hierarquizada, composta pela agregação de diversos constituintes menores [21]. O pigmento de melanina é uma mistura ou um copolímero de feomelanina e eumelanina [18, 22]. Segundo Popescu e Höcker [12], a cor dos cabelos se deve à presença dos grânulos de melanina, através de “cor física” (*physical colour*) e não cor devida a cromóforos químicos.

Em 1961, Pullman e Pullman [23] sugeriram que a melanina segue o modelo de estruturas de banda como os semicondutores. Estudos posteriores mostraram que esta propriedade se deriva da estruturação do grânulo de melanina, que forma *band-gap* através das conjugações  $\pi-\pi^*$  nos nanoaglomerados [24, 25, 26, 27]. Esta conjugação é responsável pela geração de cor do pigmento e intensa absorção na região UV [28].

A desagregação do grânulo de melanina altera a sua coloração [29]. A melanina também adsorve água e, devido à complexa heterogeneidade estrutural e de composição química, diferentes interações com a água modulam a sua solvatação produzindo diferentes tons de cor [30].

## 1.2. Xampus

O Brasil é o terceiro colocado no mercado de cosméticos, que movimenta no país cerca de US\$ 43 bilhões, e os produtos para cabelo, tais como xampus, são os mais vendidos deste setor [31]. Xampus são formulações cosméticas com a função não só de limpar os cabelos e couro cabeludo, mas também de melhorar o seu aspecto visual [32].

O principal componente dos xampus é o tensoativo, que constitui, em geral, cerca de 10–15 % em massa do produto. Geralmente, utiliza-se um tensoativo aniônico (em sua maioria, um alquil sulfato) e um tensoativo coadjuvante anfotérico (em geral, uma betaína). Xampus “suaves”, como os indicados para bebês, utilizam também tensoativos não-iônicos [33, 34].

No processo de lavagem são utilizadas baixas temperaturas (de 20 a 44 °C) e um baixo tempo de contato do produto com o cabelo/sujeira [35].

A sujeira do cabelo é composta predominantemente por sebo produzido das glândulas sebáceas. O sebo natural do cabelo é composto por uma mistura complexa de ésteres e ácidos graxos [36, 37]. Os outros constituintes são os resíduos de produtos cosméticos (tais como polímeros, ingredientes lipofílicos ou catiônicos) e os materiais particulados presentes no ar (por exemplo, poeira e fuligem) [35].

A remoção da sujeira é feita pelo tensoativo. O tensoativo rompe as interações intermoleculares entre a sujeira e o substrato e a transporta para o meio aquoso, eliminando-a. A Figura 3 ilustra o processo de remoção de sujeira. Observa-se que o tensoativo adsorve-se nas interfaces substrato-água e sujeira-água, destacando a sujeira do substrato. Assim, quanto mais adsorções nestas interfaces ocorrer, maior será o efeito detergente do produto.

O tensoativo adsorve também na interface ar-água, promovendo a formação de espuma. A espuma, no entanto, não é um indicativo do poder de detergência do produto, apesar da tendência psicológica de associar a formação de espuma com o poder de limpeza [38].

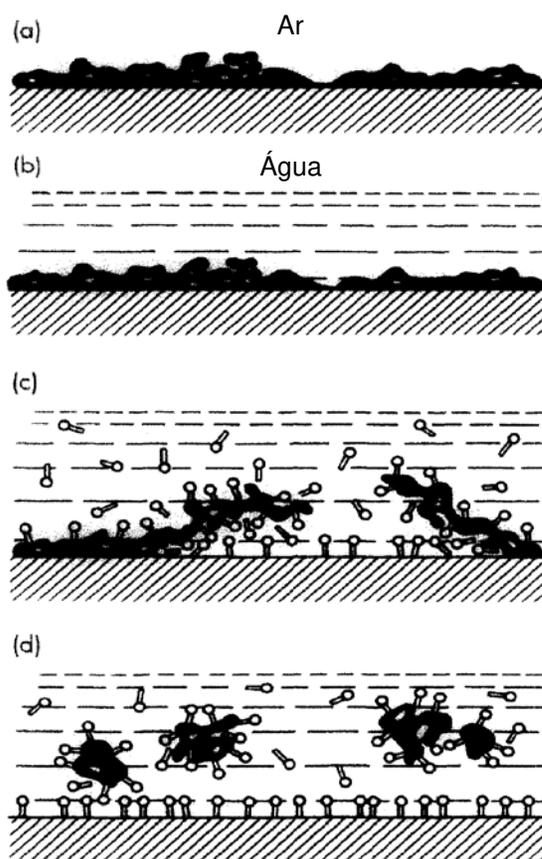


Figura 3: Esquema ilustrativo do processo de remoção de sujeira de uma superfície sólida por ação de um tensoativo. (a) Substrato sólido coberto por sujeira oleosa. (b) A água sozinha não consegue remover a sujeira. (c) Adição de tensoativo à água; as partes hidrófobas das moléculas do tensoativo se orientam tanto sobre a superfície da sujeira quanto sobre a superfície do substrato, reduzindo assim a adesão entre a sujeira e o substrato, facilitando a remoção da sujeira mecanicamente. (d) A sujeira é mantida em suspensão na solução, pois as moléculas do tensoativo formam uma camada de adsorção sobre a superfície limpa e em torno das partículas de sujeira. Retirado de [38].

### 1.3. Revisão bibliográfica

Sabe-se que os tensoativos causam a degradação da fibra capilar. Robbins [1] define a degradação do cabelo como “dano químico e ou físico ou remoção de componentes estruturais ou partes do cabelo que o torna mais frágil ou vulnerável a dano químico ou mecânico”. Não só

xampus causam danos; radiação solar [39], água de piscina [40], alisamentos físicos e químicos [41], descoloração [42] e tingimento [1] também degradam os cabelos.

Robbins, que é autor de um dos livros mais importantes da área de físico-química de cabelos [1] e de capítulos de livros sobre xampus [35], no entanto, atribui e enfoca a sua discussão à degradação gerada pelo processo de limpeza com xampus. A fricção dos cabelos para fazer a espuma do xampu é o que, segundo ele, mais danifica a fibra. Com esta abrasão, há levantamento e remoção de lascas da cutícula, o que deixa a fibra ainda mais suscetível à remoção de lipídeos e material proteico.

O autor sugere em seu livro que o dano gerado pela lavagem com xampus ou solução detergente é superficial, apenas às cutículas. Ele especula, baseado no tempo de difusão de dois corantes de massa molecular  $\sim 350 \text{ g mol}^{-1}$ , que tensoativos aniônicos requerem cerca de 1 h para atravessar todas as camadas de cutícula e atingir o córtex. Santos Silva *et al.* [6], entretanto, determinaram o tempo de aproximadamente 20 min para outro corante, de massa molecular ainda maior ( $480 \text{ g mol}^{-1}$ ), difundir as camadas de cutícula.

Baseados nos valores de coeficiente de difusão, os dois autores sugerem que a difusão de substâncias é via intercelular (e não transcelular), conforme representado na Figura 4. As substâncias difundem pelo CMC entre as cutículas até chegarem ao córtex, que é uma região cristalina e, portanto, com menor facilidade para difusão.

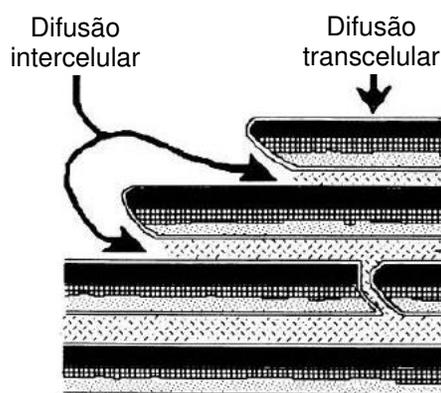


Figura 4: Esquema representativo da difusão intercelular e transcelular. A primeira é a preferencial, confirmado pelo coeficiente de difusão de substâncias no cabelo. Retirado de [1].

Faucher e Goddard [43] estudaram a sorção de tensoativos aniônicos, concluindo que este é um processo difusivo. Mais, a sorção em cabelo de lauril sulfato de sódio (SLS) aumenta com a adição de sal à solução e diminui com a adição de tensoativo não-iônico. Os autores atribuem a

diminuição à formação de micelas mistas e não à competição pelos sítios de sorção da fibra. O trabalho mostra ainda que a presença de grupos óxido de etileno, no lauril éter sulfato de sódio (SLES), diminui a sua sorção proporcionalmente ao número destes grupos.

Em um artigo de revisão, Breuer [44] discute três pontos importantes sobre a interação de tensoativos em cabelos. Trabalhos utilizando lã, estrato córneo e cabelo mostram que (1) a sorção de substâncias com carga é menor do que sem carga; (2) o coeficiente de difusão das substâncias independe da presença ou ausência de carga e (3) tensoativos chegam a penetrar na região cristalina da fibra. O autor, no entanto, não discute quais são os tempos necessários.

Analisando cabelo por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) com reflexão interna total atenuada (ATR), Singh e Umopathy [45] mostraram que SDS promove a desnaturação das proteínas da cutícula do cabelo, alterando permanentemente a sua estrutura secundária. Estes autores, no entanto, têm experiência apenas em espectroscopia e não em cabelos.

Utilizando microscopias eletrônica de transmissão (MET) e de varredura (MEV), Scanavez *et al.* [46] mostraram que água e solução de SDS, sob fricção, degradam o cabelo com a dissolução/remoção de material não-queratinizado da fibra, abrindo buracos e descolando as cutículas. Foi observada a formação de cavidades na endocutícula, na região intermacrofibrilar e ao redor dos grânulos de melanina. Ainda, havia fraturas e remoção de fragmentos de cutícula. Após 30 ciclos de lavagens, as cutículas já foram quase totalmente removidas e o córtex estava exposto com grânulos de melanina suscetíveis à extração, como mostrado na Figura 5.

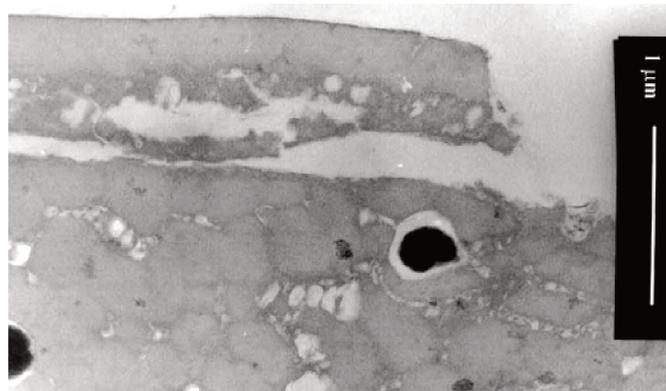


Figura 5: Micrografia TEM de seção transversal de cabelo após 30 lavagens. Detalhe de apenas uma célula cuticular remanescente, com o grânulo de melanina suscetível a ser removido, e o córtex com muitas cavidades geradas. Retirado de [46].

Wagner *et al.* [47] também estudaram a degradação causada por SDS, mas sem fricção. A perda proteica aumenta com o aumento da temperatura e é aproximadamente o dobro para o SDS em relação à água. Baseadas na ordem de reação calculada, as autoras sugerem que água e SDS extraem as mesmas substâncias dos cabelos. As energias de ativação estimadas para a perda proteica de cabelo castanho escuro são de 53 e 70 kJ mol<sup>-1</sup>, respectivamente para a água e para o SDS, o que indica um processo difusivo, como visto por Faucher e Goddard [43].

Neste trabalho, é estimado ainda que após três anos sejam causadas as pontas duplas, com a remoção total das cutículas e exposição do córtex. Ao contrário do trabalho anterior de Scanavez *et al.* [46], que utilizou fricção manual, as autoras concluem que o dano aos cabelos pela solução de SDS sem fricção se restringe somente às cutículas.

#### 1.4. Situação do problema

Apesar da importância social e econômica dos cabelos, poucos estudos científicos estão publicados na literatura embora exista um elevado número de patentes associados ao seu cuidado. A Tabela 1 mostra um comparativo destes dados [48].

Tabela 1: Número de artigos científicos publicados e patentes existentes [48]. Neste tipo de busca são pesquisados nos documentos: título, resumo e palavras-chave.

Palavras-chave	Últimos 5 anos	Todos os anos	Patentes
<i>Human hair</i>	377	1.177	
+ <i>cosmetic</i>	14	35	18.361
+ <i>surfactant</i>	14	34	3.368
+ <i>shampoo</i>	5	21	3.879
+ <i>damage</i>	33	72	1.107
+ <i>anionic</i>	5	14	2.097
+ <i>nonionic</i>	4	7	1.506
+ <i>amphoteric</i>	0	0	1.482
+ <i>lauryl</i>	0	3	1.062
+ <i>laureth</i>	0	0	433
+ <i>betaine</i>	0	1	768

Vê-se que o número de artigos científicos publicados sobre cabelos em geral (1.177) é cerca de 20 vezes menor que o número de patentes geradas considerando a categoria de cosméticos (18.361). Observa-se ainda um reduzido número de artigos referentes a xampu (21) ou tensoativos (34) em relação ao número de patentes existentes (mais de 3 mil em ambos os casos).

O número de artigos publicados sobre cabelos vem aumentando exponencialmente com o tempo. Grande parte dos artigos sobre degradação de cabelos é focada em radiação solar e alisamento químico e térmico. Como visto, poucos são os trabalhos que estudam a degradação causada por tensoativos e um número ainda menor que estuda outros tensoativos além do SDS. Poucos são os métodos simples pesquisados para aplicação no estudo de degradação de cabelos.

Não há na literatura artigos científicos sobre novas moléculas para serem utilizadas como detergente em xampus, apesar de a indústria requerer muitas patentes anualmente. Conciliar o conhecimento científico com o setor produtivo é extremamente benéfico para a sociedade. Este trabalho visa melhorar o conhecimento científico sobre os efeitos deletérios dos tensoativos utilizados em xampus, possibilitando que melhores produtos possam ser produzidos.

## 2. Objetivos

Avaliar e comparar o grau da degradação de cabelo induzida por tensoativos para uso capilar. Para atingir este objetivo, foi usada a seguinte estratégia:

- Identificar se os danos são apenas nas cutículas ou se atingem o córtex.
- Comparar a velocidade de extração de substâncias do cabelo por SDS P.A. e pela água pura.
- Propor um método alternativo ao método de Lowry que possibilite a comparação e quantificação da degradação promovida pelos tensoativos estudados.

### 3. Experimental

#### 3.1. Materiais e reagentes

##### *Cabelo*

Cabelos-padrão Caucásiano virgem castanho escuro e grisalho 50 % foram adquiridos da De Meo Brothers, Inc. (EUA), o primeiro com 30 cm e o segundo com 23 cm de comprimento. Os fios brancos e pigmentados do cabelo grisalho foram separados manualmente.

As duas amostras foram caracterizadas colorimetricamente utilizando um espectrofotômetro de refletância difusa Gretag Macbeth Color-eye<sup>®</sup> 2180 (EUA). As condições de operação foram: calibração com cerâmica branca, refletância, radiação ultravioleta inclusa, abertura para pequenas amostras, iluminante D65 e ângulo de observação 10°. O equipamento utiliza o sistema CIELAB apresentando os valores dos parâmetros de L\* (luminosidade), a\* (eixo verde-vermelho) e b\* (eixo azul-amarelo). Foram realizadas 20 medidas ao longo de toda a mecha de cada uma das amostras. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 2. Estes valores, inclusive o elevado valor de b\* para o cabelo branco, são consistentes com estudos anteriores do Grupo de Pesquisa [49].

Tabela 2: Caracterização colorimétrica pelo sistema CIELAB das amostras de cabelo-padrão virgem utilizadas. O cabelo branco foi separado manualmente de uma mecha de “grisalho 50%”.

Cabelo	L*	a*	b*
Castanho escuro	21,3 ± 0,7	2,4 ± 0,4	3,0 ± 0,6
Branco	74 ± 1	-0,1 ± 0,5	19 ± 2

Este tipo de cabelo dito padrão é amplamente utilizado na literatura científica da área e é comercializado por empresas especializadas. O cabelo-padrão é uma blenda uniforme de fios de diversas cabeças de indivíduos com cabelos de características semelhantes. Não se sabe, no entanto, como as empresas preparam estas blendas tão uniformes de fios. A vantagem de se utilizar como amostra o cabelo-padrão é a possibilidade de se comparar os resultados com outros trabalhos científicos ou técnicos obtidos por outros grupos e laboratórios de pesquisa. A denominação “virgem” se dá aos cabelos que não passaram por tratamentos químicos prévios,

tais como alisamento, permanente, clareamento e tingimento. O cabelo “grisalho 50 %” corresponde a uma mecha composta por cerca de 50 % de fios brancos.

### *Tensoativos*

Foram utilizadas amostras de 16 tensoativos de diversos fabricantes, listados na Tabela 3. Estes produtos são produzidos e comercializados para uso industrial em formulações cosmético-capilares e, portanto, não apresentam alto grau de pureza, sendo em geral soluções aquosas.

Tabela 3: Identificação das amostras comerciais de tensoativo usados neste estudo.

Caráter	Tensoativo (abreviação)	Ativo nominal <sup>1</sup> / %
Aniônico	Lauril éter sulfato de sódio ( <b>SLES</b> )	27
	Lauroil sarcosinato de sódio ( <b>Sarc</b> )	30
	Lauril glicose carboxilato de sódio e lauril glicosídeo ( <b>Carbox</b> )	30
	Metil 2-sulfolaurato de sódio e 2-sulfolaurato dissódico ( <b>SLau</b> )	40
	Lauril sulfosuccinato dissódico ( <b>SSuc</b> )	32
	Lauril sulfato de amônio ( <b>ALS</b> )	28
Anfotérico	Cocoanfoacetato de sódio ( <b>AnfoAc</b> )	30
	Cocamidopropil betaína ( <b>CAPB</b> )	30
	Cocamidopropil betaína ( <b>CAPBb</b> )	38
	Coco/girassol amidopropil betaína ( <b>CSAPB</b> )	29
	Coco betaína ( <b>CB</b> )	30
	Oleil betaína ( <b>OB</b> )	30
	Cetil betaína ( <b>CetB</b> )	30
Não-iônico	Coco glicosídeo ( <b>Gluc</b> )	50
	Decil glicosídeo ( <b>DeGluc</b> )	50
	Poligliceril-10 laurato ( <b>PGLau</b> )	100

<sup>1</sup> Tensoativos comerciais podem ser uma mistura de tensoativos devido a não purificação do produto final. Nesta tabela é citada a concentração da mistura dos tensoativo indicada pelo fabricante, denominado neste trabalho como “ativo nominal”.

Foram estudados tensoativos das três classes utilizadas em xampus: seis aniônicos, sete anfotéricos e três não-iônicos. O lauril éter sulfato de sódio (SLES) foi utilizado como controle e água destilada como branco de tensoativo. Dodecil sulfato de sódio (SDS) (pureza > 99,0 %) foi adquirido da Merck KGaA (Alemanha) e foi utilizado sem purificação adicional.

A força detergente pode ser quantificada pelo índice HLB [50, 51, 52], em que quanto maior este valor, maior é a força detergente. O grupo éter no lauril sulfato (presente no SLES) reduz a força detergente comparando com o lauril sulfato (presente no ALS). O Carbox é um sabão (carboxilato) e, portanto, tem menor força detergente; é produzido pela carboxilação de um tensoativo não-iônico (lauril glucosídeo), que continua presente na formulação como impureza.

A diferença entre os tensoativos cocamidopropil betaína CAPB e CAPBb é a matéria-prima utilizada e o consequente subproduto obtido em cada processo. O primeiro tem como matéria-prima um ácido graxo, que produz água como subproduto, e o segundo utiliza óleo de coco (uma triglicéride) que produz como subproduto a glicerina. O não-iônico PGLau é um polímero tensoativo.

#### *Outros reagentes*

Melanina de sépia (*Sepia officinalis*) foi adquirida da Sigma-Aldrich, Inc. (EUA) e utilizada sem purificação adicional. Esta melanina é obtida da tinta que o molusco marinho choco (também chamado de sépia) libera para fugir de predadores e é considerada eumelanina pura, sendo utilizada como padrão [53].

Outros reagentes foram utilizados para ajustar o pH das soluções e no método de Lowry: ácido cítrico anidro P.A. ( $\geq 99,5$  %) (Synth, Brasil); hidróxido de sódio ( $\geq 98$  %) (Sigma-Aldrich, Suécia); sulfato de cobre P.A. ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\geq 98,0$  %) (Synth, Brasil); tartarato de potássio e sódio P.A. ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\geq 99,0$  %) (Nuclear, Brasil); carbonato de sódio ( $\geq 99,0$  %) (Sigma-Aldrich, EUA); álcool etílico absoluto P.A. ( $\geq 99,5$  %) (Synth, Brasil); Folin & Ciocalteu's phenol 2 N (Sigma-Aldrich, EUA); albumina bovina, Fração V (BSA,  $\geq 96$  %) (Sigma-Aldrich, EUA).

A massa molar da BSA (66 kDa) foi confirmada por SDS-PAGE [54]. Este procedimento foi realizado por Vanessa Éline Sylvestrin (LaCTAD – UNICAMP).

Argônio comprimido (White Martins Praxair Inc., Brasil) foi utilizado como atmosfera inerte.

### *Outros materiais*

A vidraria utilizada foi previamente lavada com detergente e enxaguada exaustivamente em água corrente e em seguida com álcool anidro comercial 99,5 °INPM. Os tubos de vidro utilizados para colocar as soluções dos tensoativos em contato com os cabelos e para armazenar as amostras coletadas foram lavados adicionalmente com solução sulfonítrica. Os materiais foram secos em estufa exclusiva para este fim.

As fotografias foram obtidas utilizando-se máquina fotográfica digital Nikon Coolpix® P500 e celular *smartphone* Samsung Galaxy S GT-I9000B.

## **3.2. Métodos**

### *Pré-lavagem dos cabelos*

O cabelo foi previamente lavado com solução de SDS a 2,0 % *m/m* como se segue:

1. os cabelos foram molhados em água corrente (de torneira) quente (~ 40 °C),
2. aplicou-se 0,5 mL de solução de SDS por grama de cabelo,
3. fez-se massagem digital no cabelo por 30 s,
4. enxaguou-se a mecha por 2 min em água corrente quente (~ 40 °C),
5. repetiram-se mais uma vez os passos (2–4).

Após este procedimento ser aplicado, as amostras de cabelo foram secadas ao ar e em seguida armazenadas em um dessecador contendo solução saturada de NaBr (UR = 58 % [55]) por pelo menos 24 h.

Para esta lavagem foram utilizadas luvas de vinil, a fim de evitar contaminação pelas mãos. A massagem digital consiste em esfregar levemente os cabelos entre os dedos, separando os fios e abrindo a mecha. Durante o enxágue, a mecha fica embaixo da água corrente, sendo alisada com os dedos no sentido raiz–ponta para retirar a água entre os fios, promovendo uma maior remoção do tensoativo.

Este procedimento visa remover sujidades e resíduos de produtos cosméticos anteriores das mechas sem extrair significativamente componentes da fibra capilar. Este tipo de procedimento é empregado em trabalhos da literatura científica, já foi utilizado por nosso Grupo de Pesquisa [56, 57]. Outro procedimento também utilizado é a extração dos cabelos com éter

etílico em sistema Soxhlet por 8 h [11], o que remove mais lipídeos, não sendo indicado para este estudo.

Após este procedimento de pré-lavagem, os cabelos foram sempre manuseados utilizando-se luvas de látex ou vinil, evitando sua contaminação.

#### *Condições do contato das soluções de tensoativo com cabelo*

Foram preparadas soluções de cada um dos tensoativos contendo 2,5 % *m/m* de ativo em água destilada a 80 °C (para facilitar a solubilização do tensoativo) e deixadas em repouso por uma noite em temperatura ambiente. O cálculo da massa de tensoativo foi feito a partir do valor de ativo nominal indicado pelo fabricante (Tabela 3). O pH das soluções foi ajustado se necessário em 6,0, valor no qual os xampus são formulados, com soluções de NaOH 0,80 mol L<sup>-1</sup> ou de ácido cítrico 1,0 mol L<sup>-1</sup> utilizando-se papel de pH (Macherey-Nagel GmbH & Co., Alemanha).

Amostras do cabelo (1,02 ± 0,04 g) foram imersas em 20,04 ± 0,03 g das soluções de cada um dos 16 tensoativos e em água destilada em um tubo de 4,0 cm de diâmetro e 10,0 cm de altura (Figura 26-A, no Anexo) coberto com papel alumínio. Estes tubos foram deixados por cerca de 64 h a 38 °C com agitação horizontal constante em um banho Dubnoff a 100 rpm.

Em outro experimento, 1,0000 ± 0,0002 g de cabelo castanho escuro e cabelo branco foram imersos em 20,009 ± 0,006 g de solução dos tensoativos SLES, CAPB, Gluc, SDS e água destilada em um tubo de 2,5 cm de diâmetro e 10,0 cm de altura com tampa rosqueável (Figura 26-B, no Anexo). Trocou-se a atmosfera dos tubos por argônio a fim de evitar o crescimento de micro-organismos. Estes tubos foram deixados por 64 h a 38 °C com agitação horizontal circular constante em uma incubadora a 150 rpm.

Após este experimento, a cor das mechas foi novamente determinada, segundo o mesmo procedimento já descrito. Neste caso, foram realizadas sete medidas de cada mecha.

A concentração (2,5 % *m/m*) e quantidade (20,0 g<sub>sol</sub> g<sup>-1</sup><sub>cabelo</sub>) das soluções de tensoativo foram calculadas estimando-se a diluição do xampu quando aplicado nos cabelos molhados. A temperatura de 38 °C corresponde à temperatura média da água do banho. O prolongado tempo de contato dos cabelos com a solução de tensoativo (~ 64 h) tem o objetivo não de imitar o caso real de um banho, mas sim de avaliar o resultado cumulativo e extrapolar os efeitos do tensoativo na fibra capilar.

### Espectros UV-Vis e análise das soluções de extrato de cabelo

Os espectros UV-Vis de cada solução foram obtidos utilizando um espectrofotômetro Varian Cary 50, em uma única cubeta de quartzo de caminho óptico de 1,0 cm e volume 1,0 mL. O equipamento foi sempre zerado com água destilada.

As soluções de todos os tensoativos são límpidas, transparentes e incolores, exceto SSuc e PGLau, que são turvas. A Figura 6 mostra a caracterização destas soluções por UV-Vis. Nota-se que a maioria das soluções absorve apenas na região UV e apenas o SSuc e o PGLau absorvem também na região visível ( $A_{SSuc, 500 \text{ nm}} = A_{PGLau, 700 \text{ nm}} > 0,1$ ), devido a serem soluções turvas.

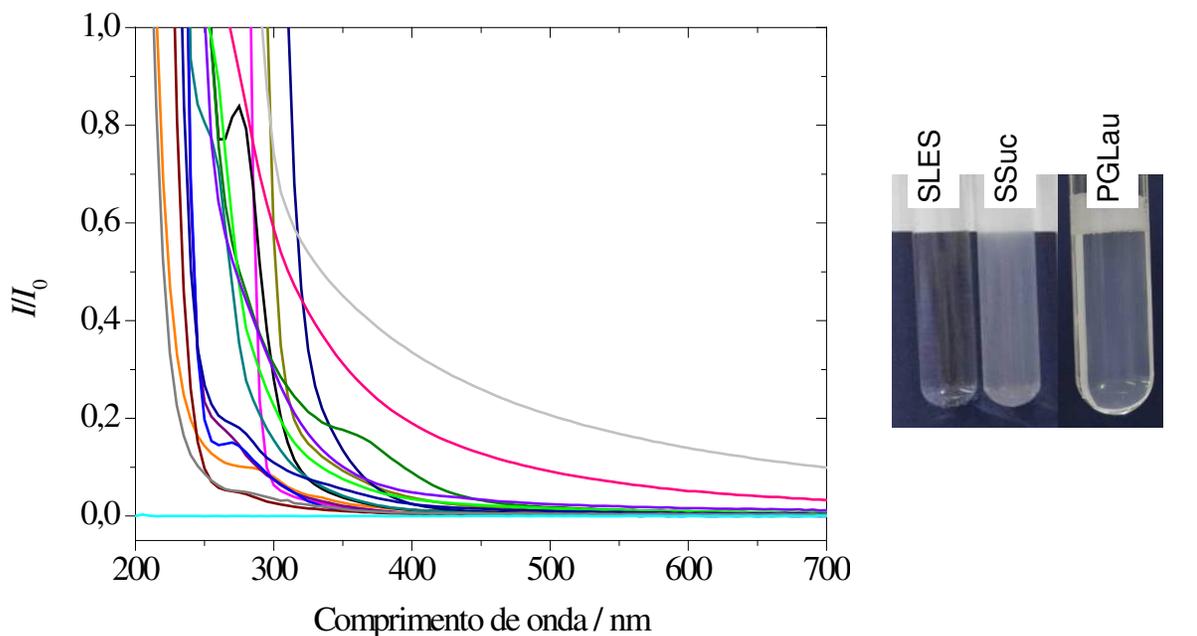


Figura 6: Espectros UV-Vis das soluções de tensoativo a 2,5 % *m/m*. À direita, fotografias mostrando a turbidez das soluções de SSuc e PGLau; solução de SLES (límpida) é mostrada como comparativo. Nas fotografias foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização da turbidez. Veja a Tabela 3 para as abreviações.

— SLES	— AnfoAc
— Sarc	— CAPB
— Carbox	— CAPBb
— SLau	— CSAPB
— SSuc	— CB
— ALS	— OB
	— CetB
	— Gluc
	— DeGluc
	— PGLau
	— Água

Após o contato com o cabelo, todas as soluções de tensoativo e a água foram analisadas por UV–Vis, fazendo-se a subtração do espectro da solução inicial. Estas soluções de tensoativo e a água após o contato com cabelo serão denominadas “solução de extrato de cabelo”.

Para verificar se ocorre efeito solvatocrômico, foram coletadas alíquotas de 3,00 g das soluções de extrato de cabelo obtidas com água e com Gluc e adicionado SDS P.A. para uma concentração final de 2,50 e 10,0 % *m/m*, respectivamente.

#### *Redução da turbidez das soluções de extrato de cabelo*

As soluções de extrato de cabelo com os tensoativos SSuc, ALS, PGLau e a água ficaram também turvas, o que inviabiliza a interpretação dos espectros UV–Vis devido ao espalhamento de luz. Para reduzir a turbidez, tentou-se centrifugar as soluções, mas não foi obtido sucesso. Fez-se então a adição de 1,0 g de solução de SDS a 9 % *m/m* em 7,0 g das soluções de extrato de cabelo.

A Figura 7 mostra que a adição de SDS é efetiva na redução da turbidez, pois este tensoativo solubiliza proteínas insolúveis em água [58, 59] tornando a solução límpida. Como controle, fez-se a adição de até 1,5 g de água destilada e verificou-se que a redução da turbidez não se deve apenas à diluição das amostras.

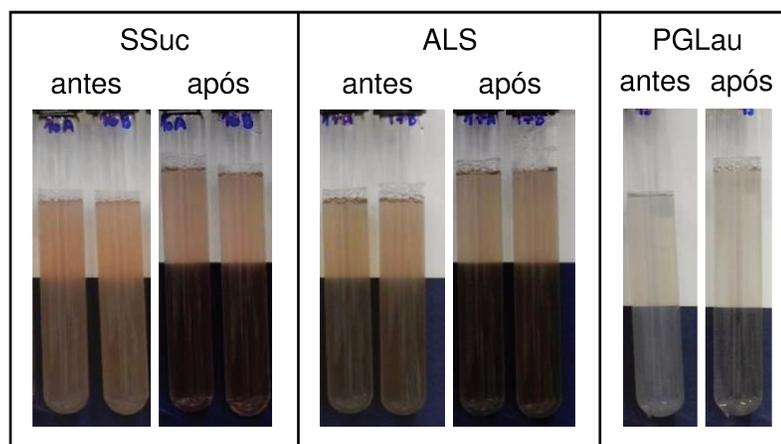


Figura 7: Fotografias mostrando o efeito da adição de solução de SDS na redução da turbidez das soluções de extrato de cabelo. Na foto foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização da turbidez. Veja a Tabela 3 para as abreviações.

A adição da solução de SDS às soluções de extrato de cabelo com AnfoAc, CB e OB causou um aumento de viscosidade e até gelificação das duas últimas. Mais, a solução OB ficou turva além de gelificada. Fez-se um teste adicionando solução de SDS à solução de OB sem entrar em contato com o cabelo e esta gelificou, sem ficar turva. Não serão apresentados, portanto, os espectros da solução de OB.

#### *Extração com SDS*

Para compreender a extração de substâncias do cabelo em função do tempo de contato solução–cabelo, foram preparadas duas imersões de cabelo: uma em solução de SDS a 2,5 % *m/m* e outra em água destilada (pH de ambas ajustado para 6,0). Optou-se por realizar este procedimento com SDS devido à sua alta pureza, eliminando a adição de contaminantes e interferentes na solução.

Neste experimento foram utilizadas as mesmas razões ( $20,0 \pm 0,1 \text{ g}_{\text{sol}} \text{ g}^{-1}_{\text{cabelo}}$ ) e condições (38 °C com agitação horizontal) do ensaio com os tensoativos comerciais, sendo mantidas por até 96 h. O ensaio foi realizado em duplicata, sendo uma replicata com 70,0 e outra com 100,0 g de solução.

Foram coletadas alíquotas de 1,5 mL de cada solução ao longo do tempo e obtidos os espectros UV–Vis. Os espectros foram obtidos a partir das soluções diluídas (com resposta menor que 1,0) para as medidas em  $t = 47, 72$  e 96 h para a água e em  $t = 15, 47, 72$  e 96 h para o SDS; não havia mais disponível solução de SDS referente ao  $t = 24$  h e, portanto, as medidas não foram feitas. A intensidade das bandas em 275, 525 e 600 nm foi medida manualmente pelo método da linha base. Estes valores para as bandas em 525 e 600 nm mostraram o mesmo comportamento (apenas em menor intensidade) que a banda em 275 nm e seus espectros não serão mostrados.

Para obter a curva no UV sem o decréscimo monotônico, o que iria possibilitar a deconvolução do espectro na região UV, fez-se a tentativa de obter estes espectros em uma cubeta com caminho óptico reduzido (1,00 mm). No entanto, este perfil não se alterou.

Para observação e comparação das soluções de extrato, preparou-se uma solução concentrada de melanina de sépia em água destilada. Após decantação do excesso de melanina, o sobrenadante desta solução e a solução de extrato de cabelo de 96 h foram observados em um microscópio óptico.

### *Espectros UV-Vis de solução de melanina de sépia*

Uma solução saturada foi preparada adicionando-se melanina de sépia em água destilada uma quantidade suficiente para ter formação de corpo de fundo e foi deixada agitando por uma noite a 38 °C.

Para verificar se ocorre a formação de alguma banda no espectro UV-Vis, agitou-se e coletou-se 2,0 g da solução saturada de melanina de sépia e adicionou-se 2,0 g de solução de SDS a 2,5 % *m/m* e, em outro tubo, 2,0 g de água destilada como controle. Os tubos foram deixados em agitação por 8 h a 50 °C. Após decantação dos grânulos de melanina, foram obtidos os espectros UV-Vis.

### *Determinação pelo método de Lowry da quantidade de proteína extraída*

A quantidade de proteína extraída pela solução de SDS e pela água foi estimada pelo método de Lowry. Este método já foi utilizado com sucesso em trabalhos anteriores da literatura e do nosso Grupo de Pesquisa para estimar a quantidade de proteínas do cabelo em solução [47, 60, 61, 62].

No método de Lowry, a solução sem proteína deve ser límpida e incolor, e a solução com proteína possuir uma coloração azul ( $\lambda_{\text{máx}} = 750 \text{ nm}$ ). O desenvolvimento desta cor é devido à reação entre  $\text{Cu}^+$ , produzido no meio pela complexação do  $\text{Cu}^{2+}$  por sítios de proteína (reação de biureto), com o reagente Folin-Ciocalteu [63]. Este método, portanto, é sensível aos aminoácidos aromáticos e ricos em elétrons.

A solução de cobre-tartarato-carbonato (CTC) foi preparada a partir de soluções individuais de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  a 1,0 % *m/V*, tartarato de sódio e potássio a 2,0 % *m/V* e  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 20 % *m/V*. As concentrações finais foram 0,10, 0,20 e 10 % *m/V*, respectivamente.

Foram adicionados em tubos *ependorf* de 1,5 mL: 400  $\mu\text{L}$  de alíquota da solução de cabelo, 100  $\mu\text{L}$  de solução de NaOH a 0,80 mol  $\text{L}^{-1}$ , 300  $\mu\text{L}$  de solução CTC e 200  $\mu\text{L}$  de solução de Folin & Ciocalteu's phenol 2 N diluído 10:50 (V:V) em água destilada. Os tubos foram agitados por *ca.* 5 s em agitador vórtex.

A absorbância das soluções foi lida em 750 nm após pelo menos 2 h após a adição do último reagente. O ensaio foi realizado em triplicata de uma das duplicatas das soluções de cabelo; exceto para as soluções de SDS em  $t = 15 \text{ h}$  (replicata única) e 96 h (duplicata).

As soluções de cabelo a seguir foram diluídas em água destilada (V:V): as obtidas com água em  $t = 47, 72$  e  $96$  h e com SDS em  $t = 15$  h (1:2), as obtidas com SDS em  $t = 47$  e  $72$  h (1:4) e a obtida com SDS em  $t = 96$  h foi diluída uma replicata em 1:4 e outra em 1:8.

Este ensaio foi realizado após as soluções de cabelo permanecerem congeladas por nove meses. Não havia mais disponíveis amostras referentes ao  $t = 24$  h das soluções obtidas com água e com SDS, e nem as soluções obtidas com SDS referentes ao  $t = 0$  min.

A curva analítica foi construída com triplicata de amostras preparadas a partir da diluição de uma solução de BSA a  $0,908 \text{ mol L}^{-1}$  (a concentração real foi verificada pela absorção em  $279 \text{ nm}$ , com  $\epsilon_{279} = 43.824 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). A Figura 8 mostra a reta obtida, cuja equação é  $y = 2,65 \times 10^{-3} x$  e  $R = 0,994 \pm 0,007$ .

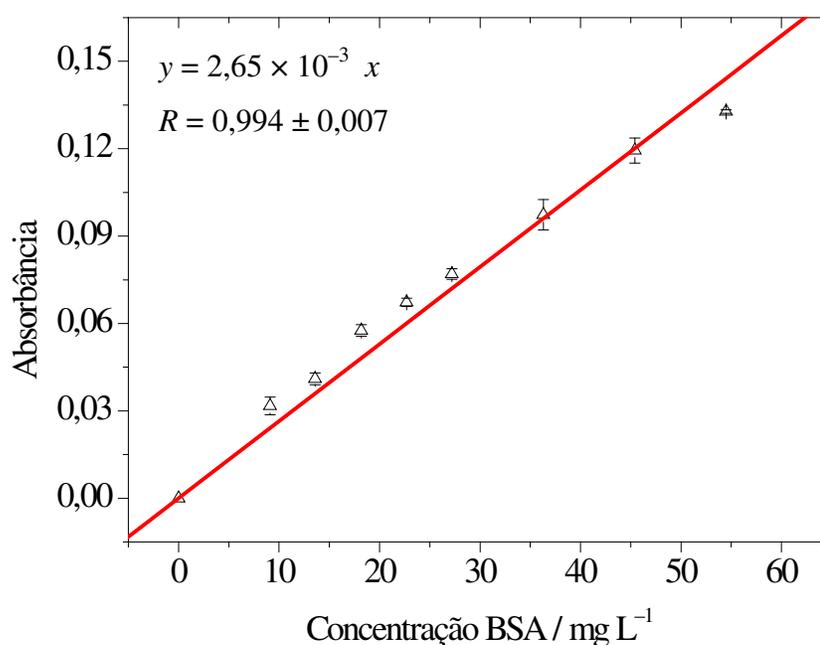


Figura 8: Curva analítica do método do Lowry construída utilizando-se solução de albumina de soro bovino (BSA). Ensaio realizado em triplicata de amostra. A barra de erro na maioria dos pontos é menor que o tamanho do símbolo.

Tentou-se também estimar a quantidade de proteína extraída pelos tensoativos comerciais, porém as soluções dos tensoativos escolhidos sem contato com os cabelos, ou seja, sem proteína, tornam-se coloridas neste método, como mostrado na Figura 9. Cinco procedimentos (Tabela 4)

foram testados para evitar o desenvolvimento indesejável de cor na solução, mas não foram capazes de prevenir este efeito.

BSA foi utilizada na construção da curva analítica, em triplicata, para os procedimentos A e B. As absorbâncias das soluções finais do método de Lowry foram lidas em 500, 660 e 750 nm [64].

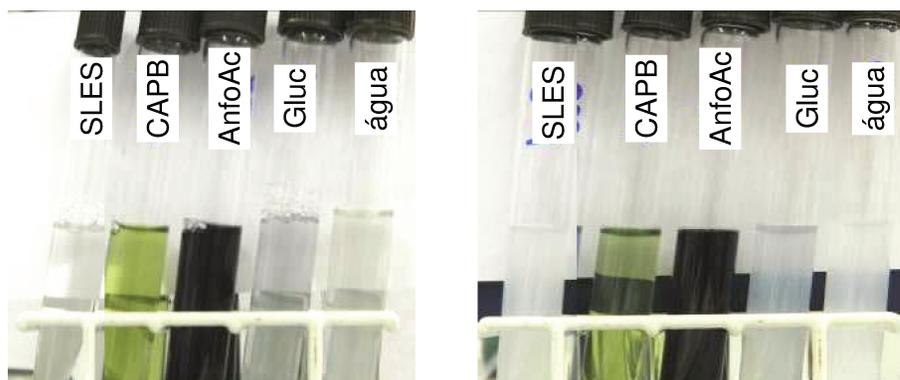


Figura 9: Soluções a 2,5 % *m/m* dos tensoativos selecionados após os procedimentos A (à esquerda, referência) e E (à direita, turvas). Na fotografia da direita foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização da turbidez. Veja a Tabela 3 para as abreviações e Tabela 4 para os procedimentos.

Tabela 4: Volume dos reagentes adicionados nos cinco diferentes procedimentos do método de Lowry. Os reagentes foram adicionados na ordem indicada.

Reagente	Volumes adicionados em cada procedimento / $\mu\text{L}$				
	A	B	C	D	E
1. Amostra	400	400	400	100	400
2. NaOH a $0,80 \text{ mol L}^{-1}$	100	100	100	100	100
3. CTC	300	100	100	100	100
4.1. SDS a $5,0 \text{ } m/V$	—	200	—	—	—
4.2. Água destilada	—	—	200	500	—
4.3. Álcool etílico	—	—	—	—	200
5. Reagente B *	200	200	200	200	200

\* “Reagente B” é o reagente Folin & Ciocalteu’s phenol 2 N diluído 10:50 em água destilada.

Os procedimentos A e D verificaram se a estequiometria entre  $\text{Cu}^{2+}$  e a proteína alteravam a intensidade da coloração, constatando-se que não.

O SDS é usualmente adicionado à solução para aumentar a desnaturação da proteína e para evitar a precipitação de tensoativos não-iônicos. O procedimento B testou o efeito do SDS e mostrou que apenas o NaOH é suficiente para desnaturar as proteínas extraídas, sem evitar a formação da coloração.

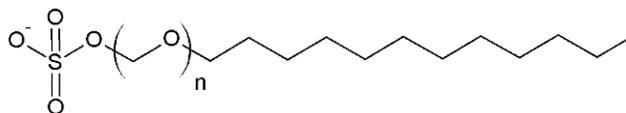
Ainda, a adição de SDS gelificou algumas soluções dos tensoativos (por exemplo, CAPB), e sem a adição, algumas soluções precipitaram o tensoativo (por exemplo, OB). Como o etanol reduz a constante dielétrica da solução, esperava-se que sua adição evitaria a formação de precipitado. Ao contrário, no entanto, a adição de etanol (procedimento E) produziu turbidez nas soluções (exceto para CAPB), sem eliminar a formação de cor.

Os tensoativos utilizados não apresentam grupos aromáticos que reagem no método, conforme mostrado a seguir pelas suas estruturas moleculares.

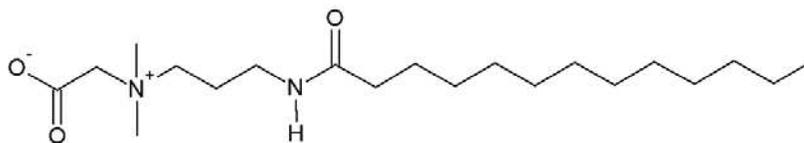
As amostras utilizadas são comerciais e não foram purificadas antes de serem utilizadas. Estes tensoativos são obtidos a partir de óleos vegetais e passam por uma série de reações para se chegar ao produto final [65], em baixa concentração (~ 30 %). Este processo, portanto, pode incluir subprodutos que reagem no método de Lowry, tornando-o inaplicável para estes estudos.

Em conclusão, o método de Lowry é inadequado para estimar a perda protéica dos cabelos causada por estes tensoativos comerciais.

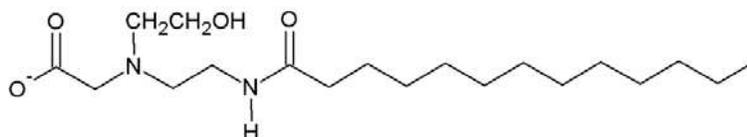
SLES



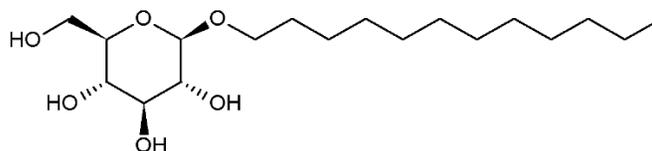
CAPB



AnfoAc



Gluc



### *A não fluorescência das soluções de extrato de cabelo*

Vista a inadequação do método de Lowry, tentou-se medir a fluorescência das amostras. Caso houvesse fluorescência significativa nas soluções, esta seria uma técnica potencial para ser utilizada na quantificação dos danos aos cabelos. O aminoácido triptofano, presente na composição química do cabelo [66], apresenta fluorescência quando excitado em 280 nm, emitindo em 340 nm [67].

Amostras de cabelo em triplicata ( $1,01 \pm 0,01$  g) foram submersas na solução ( $20,02 \pm 0,02$  g) de cada um dos tensoativos: SLES (controle), CAPB, Gluc e água destilada (como branco) por 24 h a 38 °C com agitação horizontal circular constante em uma incubadora (150 rpm). Estas condições são análogas às do ensaio com os 16 tensoativos comerciais. Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrofluorímetro Varian Eclipse, utilizando uma única cubeta de quartzo de caminho ótico de 1,0 cm e volume 5,0 mL, com excitação em 280 nm.

Os espectros obtidos (mostrados no Anexo) mostram que não há fluorescência significativa nas soluções de extrato de cabelo quando excitado em 280 nm.

## 4. Resultados

Os resultados obtidos neste estudo estão organizados de forma a separar os ensaios realizados na tentativa de quantificar a intensidade dos danos causados aos cabelos pelos diferentes surfactantes comerciais, daqueles realizados na tentativa de explicar a origem destes danos.

Inicialmente apresentamos os resultados obtidos ao expor os cabelos à ação dos diferentes surfactantes em solução aquosa, mostrando o aparecimento de cor nas soluções.

A seguir, como não há na literatura nenhum estudo sobre o aparecimento desta coloração, investigamos sua origem usando cabelos pigmentados e não-pigmentados.

Como os tensoativos estudados são impuros, foi primeiramente usado um tensoativo de grau P.A. de pureza para investigar a extração de substância através dos espectros UV-Vis. Estes espectros permitiram obter a velocidade relativa da extração de proteínas. O método de Lowry foi utilizado para estimar a quantidade de proteína extraída do cabelo pelas soluções.

Por fim são analisados os danos causados pelos tensoativos comerciais.

Todos os espectros UV-Vis das soluções de cabelo são apresentados como “ $I/I_0$ ” (ao invés de “absorbância”) em função do comprimento de onda, pois, para estas soluções, além de absorção também ocorre espalhamento de luz.

### 4.1. As soluções obtidas após imersão dos cabelos nos tensoativos comerciais

Para se verificar os danos na fibra capilar, geralmente analisam-se diretamente os fios de cabelo usando técnicas que mostram o aparecimento de diferenças em relação a um controle. No caso de danos causados por tensoativos, pode-se quantificar a proteína extraída em solução. Neste trabalho, para estes tensoativos comerciais, a técnica usual para esta quantificação foi inadequada. Deixaram-se então os cabelos em solução por um tempo prolongado a fim de aumentar os danos causados pelos tensoativos, de modo a melhor evidenciá-los, e concentrou-se o estudo nas soluções de “extrato de cabelo”.

As soluções dos 16 tensoativos e a água tornaram-se coloridas após o contato com os cabelos. A Figura 10 mostra uma foto dos tubos com estas soluções.

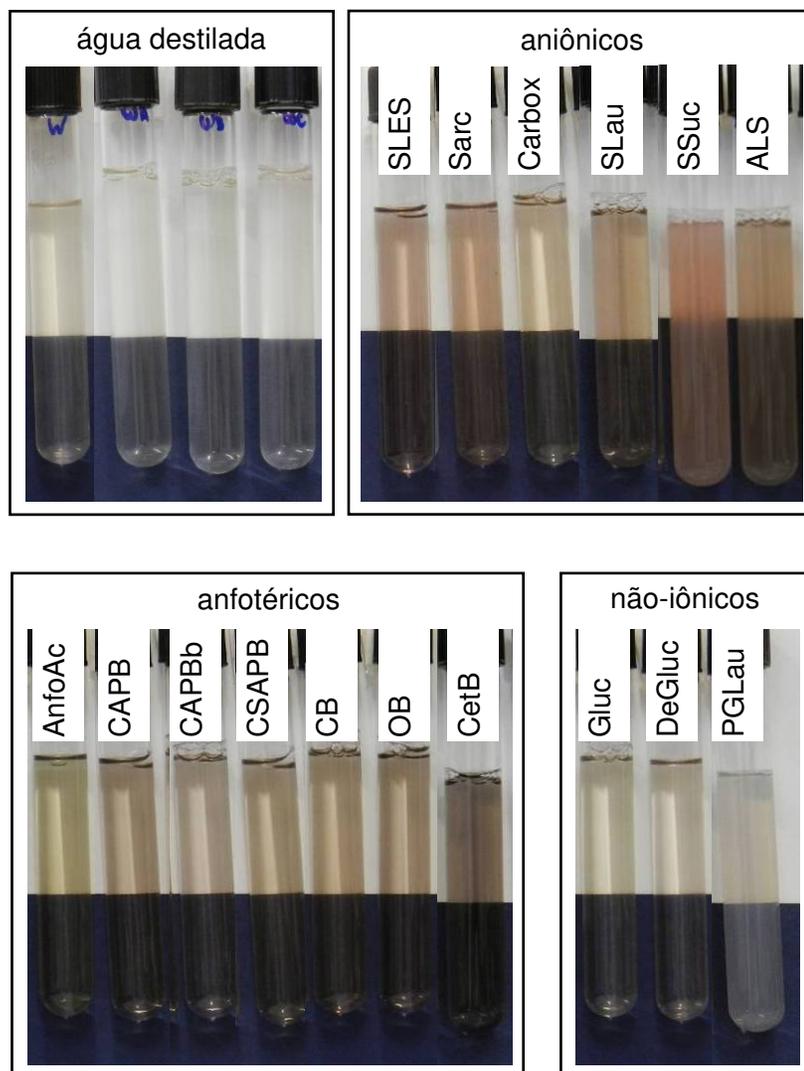


Figura 10: Fotografias das soluções de extrato de cabelo obtidas após o contato solução–cabelo por cerca de 64 h a 38 °C com agitação horizontal constante antes da adição de solução de SDS. Soluções de tensoativos a 2,5 % *m/m*. Todas as soluções e a água destilada em pH = 6,0. Na foto foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização. Veja a Tabela 3 para a identificação dos tensoativos.

Vê-se que as soluções apresentam diferentes tons de marrom, mais ou menos intensos. A olho nu, a intensidade da cor destas soluções varia de acordo com o caráter iônico do tensoativo na sequência decrescente: aniônicos, anfotéricos, não-iônicos e água destilada.

As soluções obtidas com os tensoativos aniônicos tendem para uma coloração mais avermelhada que as demais. A coloração da solução de cabelo obtida com o anfotérico AnfoAc é

ligeiramente esverdeada. As soluções com coloração mais intensa são ALS, SSuc, CetB e SLES; e as menos intensas Gluc, DeGluc, PGLau e água.

Apesar de coloridas, as soluções estavam transparentes após contato com o cabelo, exceto as soluções de SSuc, PGLau, ALS e água, que estavam turvas. As duas primeiras já eram inicialmente turvas, como foi descrito no capítulo Experimental.

#### 4.2. A origem da cor das soluções

Para confirmar a hipótese de que a cor da solução seja devido à melanina, fez-se o mesmo ensaio de obtenção de extrato de cabelo com solução de SDS utilizando-se cabelo castanho escuro e cabelo branco. A única diferença na composição entre os dois cabelos é a melanina, ausente nos cabelos brancos.

A Figura 11 mostra uma fotografia da solução de extrato obtida para estes dois cabelos. Vê-se que a solução de extrato de cabelo castanho escuro é colorida, enquanto que a de cabelo branco é incolor, confirmando que a cor na solução provém da melanina extraída.

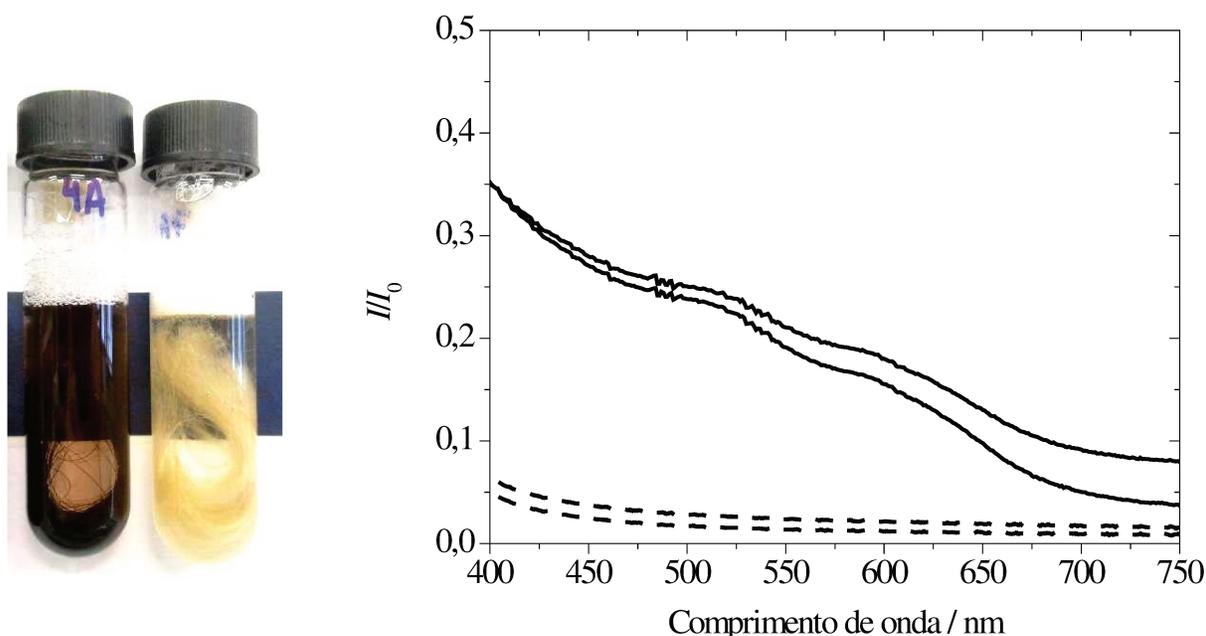


Figura 11: Fotografia e espectros UV-Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após 64 h de contato da solução de SDS a 2,5 % *m/m* com cabelo castanho escuro (linha contínua) e com cabelo branco (tracejada) com agitação constante a 38 °C. Duplicata de amostras. Na foto foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização.

Nos espectros, vê-se que a solução de cabelo castanho apresenta resposta significativa na região visível com duas bandas, em 525 e em 600 nm. A solução de cabelo branco, por ser incolor, não apresenta resposta significativa na região do espectro visível.

A quantidade de melanina extraída, entretanto, é insuficiente para mudar a cor dos cabelos. Espectros de reflectância difusa obtidos dos cabelos antes e após imersão em SDS, SLES, CAPB, Gluc e água destilada, não mostraram alteração significativa.

#### *Melaninas em solução de extrato de cabelo*

Uma vez que a coloração da solução de extrato de cabelo se deve à presença de melaninas, foram realizados alguns estudos para investigar as suas propriedades em solução.

Primeiramente, para verificar a presença de grânulos de melanina na solução de cabelo, fez-se a observação da solução de extrato de cabelo mais concentrada (96 h) obtida com SDS, comparando-a com uma solução saturada de melanina de sépia. A Figura 12 mostra as micrografias obtidas para estas soluções. Vê-se que a melanina de sépia em solução apresenta-se na forma de grânulos circulares com diâmetros variados até cerca de 8  $\mu\text{m}$ . A solução de cabelo, no entanto, não apresenta grânulos de melanina visíveis neste aumento. Por outro lado, são visíveis nesta solução fragmentos de cutícula similares aos observados por Bradbury *et al.* [68].

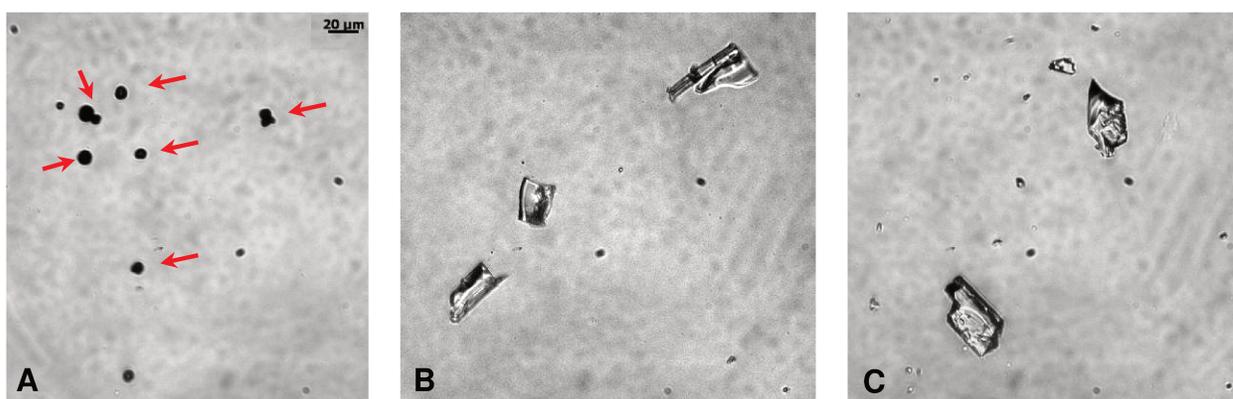


Figura 12: Micrografias (A) de solução saturada de melanina de sépia e (B e C) de solução de extrato de cabelo obtida após 96 h de contato com SDS a 2,5 % *m/m*.  $T = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com agitação constante.

A Figura 13 mostra os espectros das soluções de melanina de sépia e de cabelo em água. Duas diferenças nos espectros são evidentes: a primeira aparece na região de 275 nm, na qual a

solução de cabelo apresenta uma resposta maior, atribuída a proteínas extraídas do cabelo; a outra em 625 nm, onde há uma banda pouco intensa no espectro da solução de cabelo.

Não há na literatura espectros de soluções de cabelo. Em cabelo, a banda no UV deve provir da presença de proteínas. As bandas no visível, que são responsáveis pela cor observada a olho nu, são devido às melaninas extraídas. A cor destas soluções se deve à absorção de luz pela melanina na solução e não ao espalhamento de luz por partículas nanométricas [69].

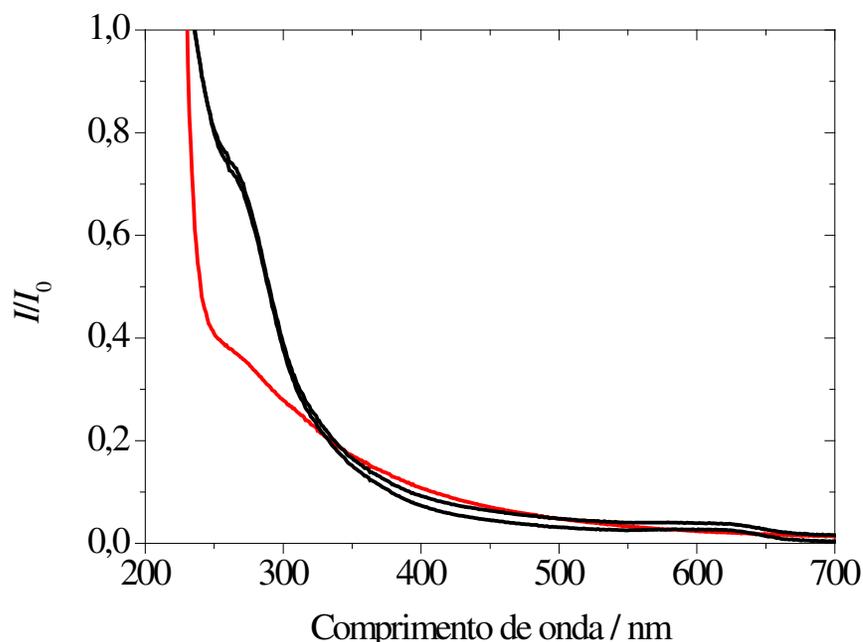


Figura 13: Espectros UV–Vis de soluções aquosas de melaninas. (■) Solução saturada de melanina de sépia. (■) Solução de extrato de cabelo castanho escuro obtida com água destilada após 64 h de contato a 38 °C com agitação constante.

A Figura 14 mostra o espectro da solução de melanina de sépia após a adição de SDS. Quando a adição é feita na solução saturada, vê-se que causa o aumento da intensidade da resposta. Isto pode ser devido à solubilização ou estabilização coloidal de uma maior quantidade de grânulos de melanina na solução. Quando a adição é feita em uma alíquota do sobrenadante, não aumenta a intensidade da curva espectral, indicando que o tensoativo não promove nenhuma alteração nos grânulos de melanina já em solução.

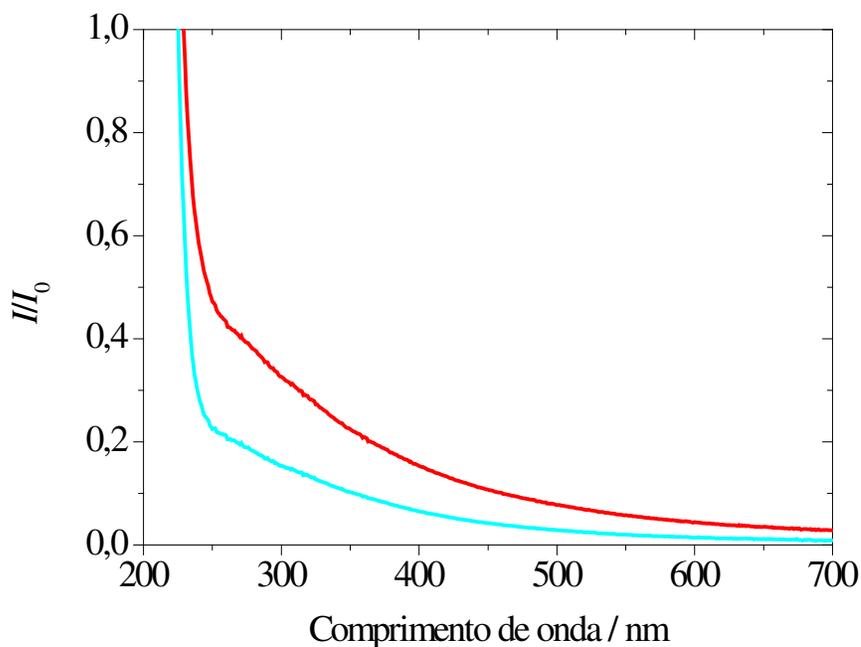


Figura 14: Espectros UV–Vis da solução saturada de melanina de sépia (■) antes e (■) após a adição de SDS a 2,5 % *m/m*.

### 4.3. O perfil dos espectros de soluções de extrato de cabelo

Compreender os espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo é fundamental para este estudo. É preciso saber, por exemplo, se as bandas aparecem logo nos primeiros tempos de contato cabelo–solução ou se alguma delas aparece somente após um determinado tempo. Em outras palavras, este estudo mostra se as substâncias responsáveis pelas bandas de resposta têm algum fator que as impeça de sair no contato inicial, sendo extraídas somente após algum tempo. Isto indicaria que as substâncias estariam mais fortemente ligadas ou ainda que estivessem presentes mais internamente na fibra capilar.

A Figura 15 mostra o espectro UV–Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas com água destilada e com SDS, surfactante escolhido pela pureza, já que os surfactantes de interesse neste trabalho são de grau comercial.

Vê-se que, como esperado, SDS extrai mais rapidamente as substâncias do cabelo do que a água, vista a maior intensidade de resposta. (A escala de resposta é mostrada até 3,0 apenas para ilustrar o perfil geral das curvas.)

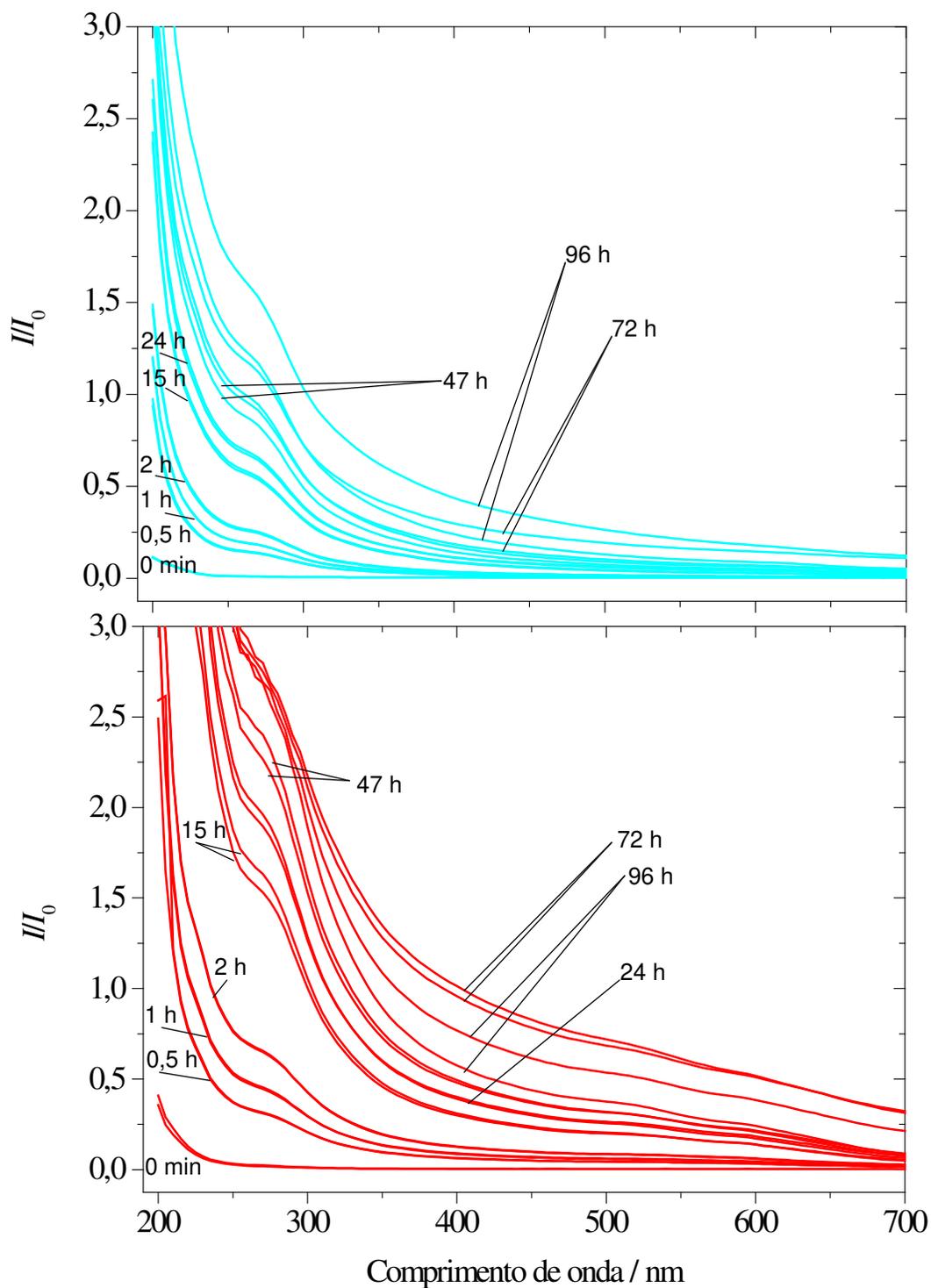


Figura 15: Espectros UV-Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas com (■) água destilada e (■) SDS a 2,5 % *m/m*, em função do tempo de contato com cabelo.  $T = 38\text{ }^\circ\text{C}$ , agitação constante, duplicata de amostras.

Embora as curvas de cada duplicata se sobreponham em quase todos os tempos, após 47 h de contato cabelo–solução começam a se separar, indicando um aumento no erro experimental. Ainda, nota-se que há uma inversão na intensidade da resposta das soluções de SDS em  $t = 72$  e 96 h na região do visível.

Vê-se ainda que, logo nos primeiros tempos de contato cabelo–solução (30 min), as bandas já aparecem e apenas aumentam de intensidade com o tempo. Como o perfil dos espectros permanece constante, a natureza das substâncias extraídas continua a mesma ao longo do tempo.

A Figura 16 mostra uma ampliação da escala de resposta dos espectros na região visível. Há apenas uma banda pouco intensa no espectro da solução de extrato de cabelo com água destilada, centrada em 625 nm. Já no espectro da solução de extrato de cabelo com SDS aparecem duas bandas, centradas em 525 e 600 nm. Como a cor é devida à extração de melanina, pode ser que o SDS interaja com ela de forma a alterar sua resposta.

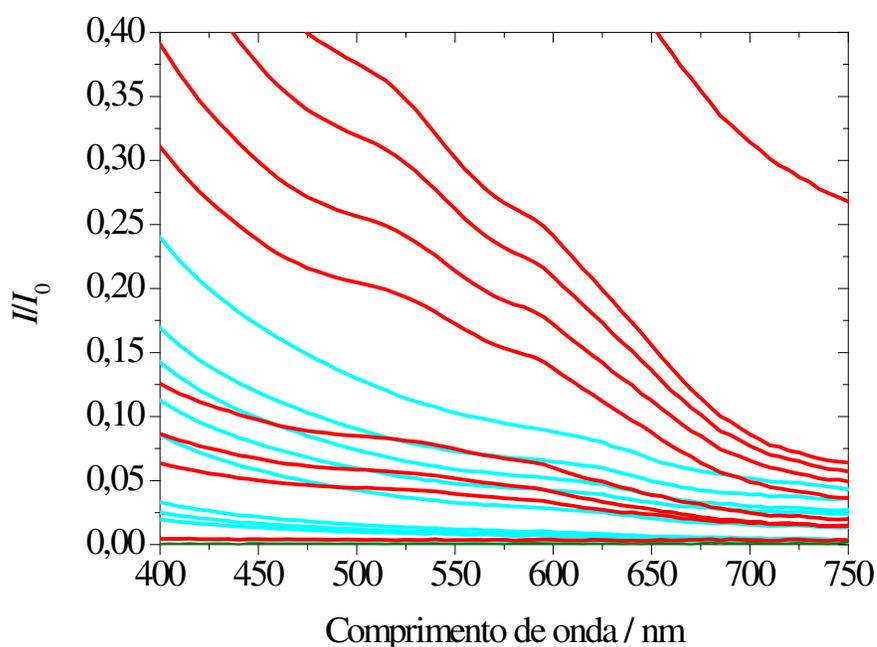


Figura 16: Ampliação do espectro UV–Vis da Figura 15. Soluções de extrato de cabelo obtidas com (■) água destilada e (■) SDS a 2,5 %  $m/m$  em função do tempo de contato com o cabelo. Apenas uma replicata é mostrada.

### *Análise da cinética de extração de proteínas do cabelo pelo espectro UV*

A análise quantitativa da velocidade de extração pode ser feita a partir das medidas das intensidades de resposta em função do tempo. Entretanto, apenas a banda em 275 nm (atribuída a proteínas) apresenta-se adequada para este propósito, por ser comum a ambos os espectros; as bandas no visível (devido às melaninas) apresentam-se em comprimentos de onda diferentes para cada uma das soluções. Portanto, só pode ser avaliada a velocidade de extração das proteínas extraídas, e não das melaninas.

A Figura 17 apresenta a variação da intensidade da banda em 275 nm (medida pelo método da linha-base) em função do tempo de contato cabelo–solução. O crescimento da resposta tem um comportamento logarítmico e é cerca de três vezes maior para a solução de SDS em relação à água. Em  $t = 48$  h o crescimento da banda de água aparentemente atinge um patamar, enquanto que o da solução de SDS não. Isto pode indicar uma saturação da água com as proteínas extraídas do cabelo.

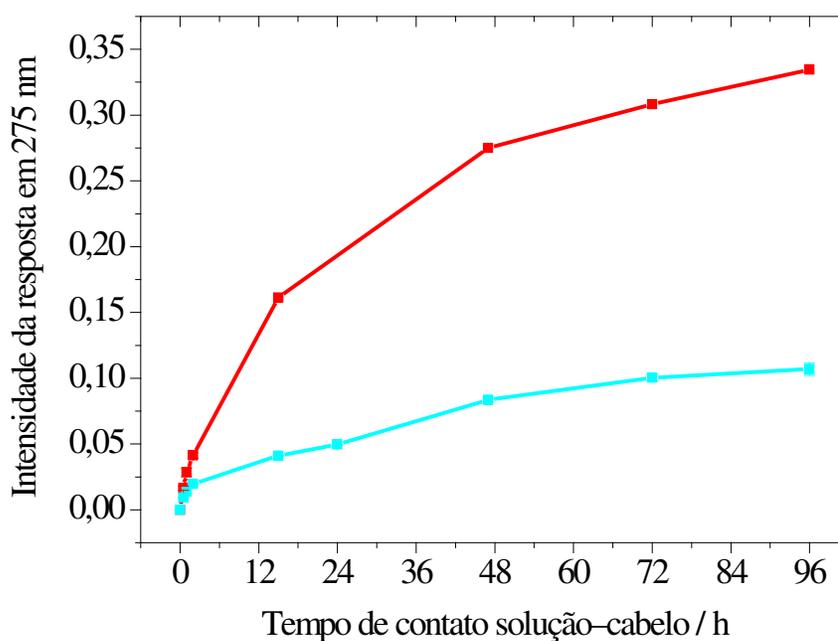


Figura 17: Intensidade da banda em 275 nm da solução de extrato de cabelo em função do tempo de contato com (■) água ou (■) SDS a 2,5 % *m/m*.  $T = 38$  °C, agitação constante, duplicata de medida para cada duplicata de amostras. A barra de erro dos pontos é menor que o tamanho do símbolo.

#### 4.4. Quantidade de proteína extraída do cabelo estimada pelo método Lowry

A quantidade de proteína extraída do cabelo por água e por SDS foi estimada pelo método de Lowry. A Figura 18 mostra a quantidade de proteína extraída em função do tempo de contato do cabelo com as soluções.

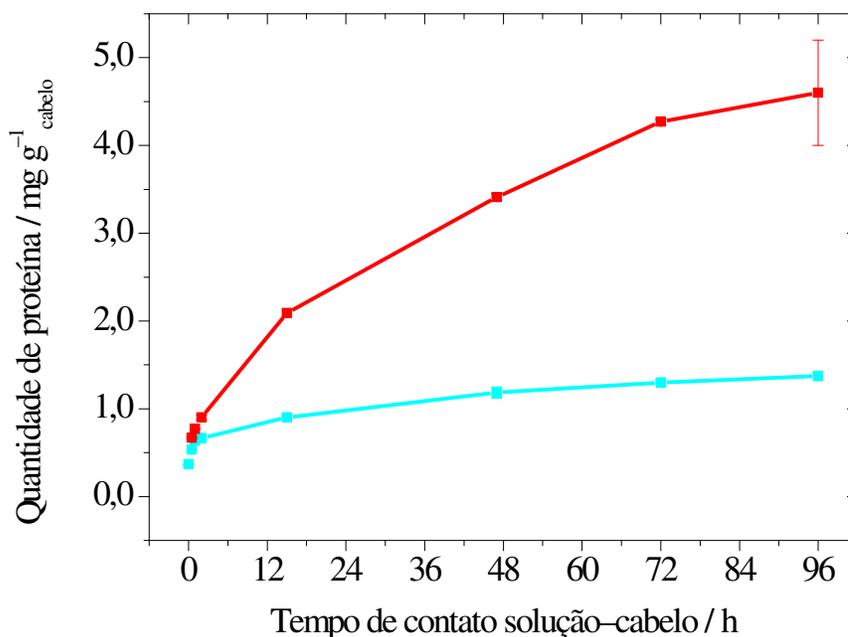


Figura 18: Proteína extraída do cabelo em função do tempo de contato com (■) água ou (■) SDS a 2,5 % *m/m*.  $T = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , agitação constante. Estimativa pelo método de Lowry, em triplicata de medidas, exceto os pontos para SDS em  $t = 15\text{ h}$  (medida única) e 96 h (duplicata). A barra de erro na maioria dos pontos é menor que o tamanho do símbolo.

Vê-se que SDS consegue extrair cerca de 4 vezes mais proteínas do cabelo do que a água após 96 h. A água atinge um patamar em cerca de 24 h, indicando que provavelmente há uma saturação da solução com as proteínas extraídas. Estes resultados concordam com os dados para a água obtidos por Wagner *et al.* [47], que utilizou condições experimentais diferentes (relação cabelo/solução diferente, sem agitação e substituindo as soluções após intervalos de tempo).

Ainda, vê-se que o perfil das duas curvas é igual ao da curva obtida pela medida da intensidade da banda em 275 nm, mostrado na Figura 17, indicando uma forte correlação entre os dois métodos.

Era esperado que o ponto  $t = 0\text{ min}$  apresentasse zero proteína, por ser a água destilada que não entrou em contato com o cabelo (guardada no congelador). No entanto, este ponto

apresentou  $0,368 \pm 0,007 \text{ mg g}^{-1}_{\text{cabelo}}$  de proteína. A curva analítica construída já desconta o valor da resposta no método de Lowry da água destilada. Este resultado foi obtido com uma amostra única e, portanto não é possível falar em exatidão para este ponto.

#### 4.5. UV–Vis das soluções de cabelo obtidas com os tensoativos comerciais

Conhecendo o perfil e a formação dos espectros UV–Vis das soluções de extrato de cabelo com SDS e água, é possível agora comparar com os espectros das soluções obtidas com os tensoativos comerciais.

A Figura 19 mostra os espectros destas soluções após a adição de SDS <sup>2</sup>. Quanto maior a área embaixo da curva espectral, maior é o dano causado ao cabelo, pois uma quantidade maior de substâncias foi extraída da fibra capilar. A mesma sequência crescente de resposta das curvas espectrais é observada na intensidade da cor das soluções de extrato de cabelo.

Vê-se que os tensoativos não-iônicos apresentam o menor dano nos cabelos, de acordo com a área embaixo das curvas e com a fraca cor da solução. Os aniônicos e anfotéricos têm áreas similares e intensidade de cor das soluções também similar. Este resultado pode ser devido à força detergente de cada tensoativo, que é maior para os aniônicos e anfotéricos. Quanto maior a detergência, mais substâncias são extraídas do cabelo.

Analisando o gráfico inferior da Figura 19 vê-se que o perfil dos espectros das soluções de cabelo nos tensoativos aniônicos é diferente dos demais. Enquanto os tensoativos anfotéricos e não-iônicos apresentam apenas uma banda em 600 nm, os aniônicos apresentam também a banda em 525 nm já observada para SDS. A solução de extrato de cabelo obtida com água destilada apresenta uma banda discreta em 625 nm.

Dentre os aniônicos, o Carbox apresenta intensidade de resposta similar à da água, enquanto que Sarc e SLau apresentam intensidade tão alta quanto SLES, indicando que a extração de substâncias da fibra capilar foi maior no caso destes. O ALS e o SSuc não são interpretados aqui pela sua alta resposta e espalhamento de luz pela turbidez da solução, mesmo após adição de SDS.

---

<sup>2</sup> A solução contendo oleil betaína (OB) gelificou e turvou dentro do tubo de ensaio após esta adição e não foi possível obter seu espectro; assim, seus resultados não serão mostrados.

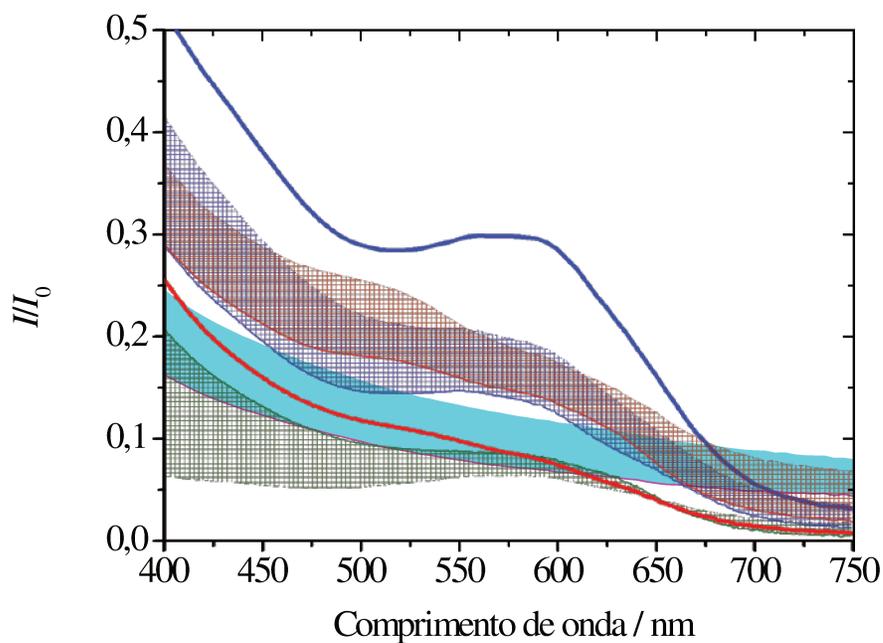
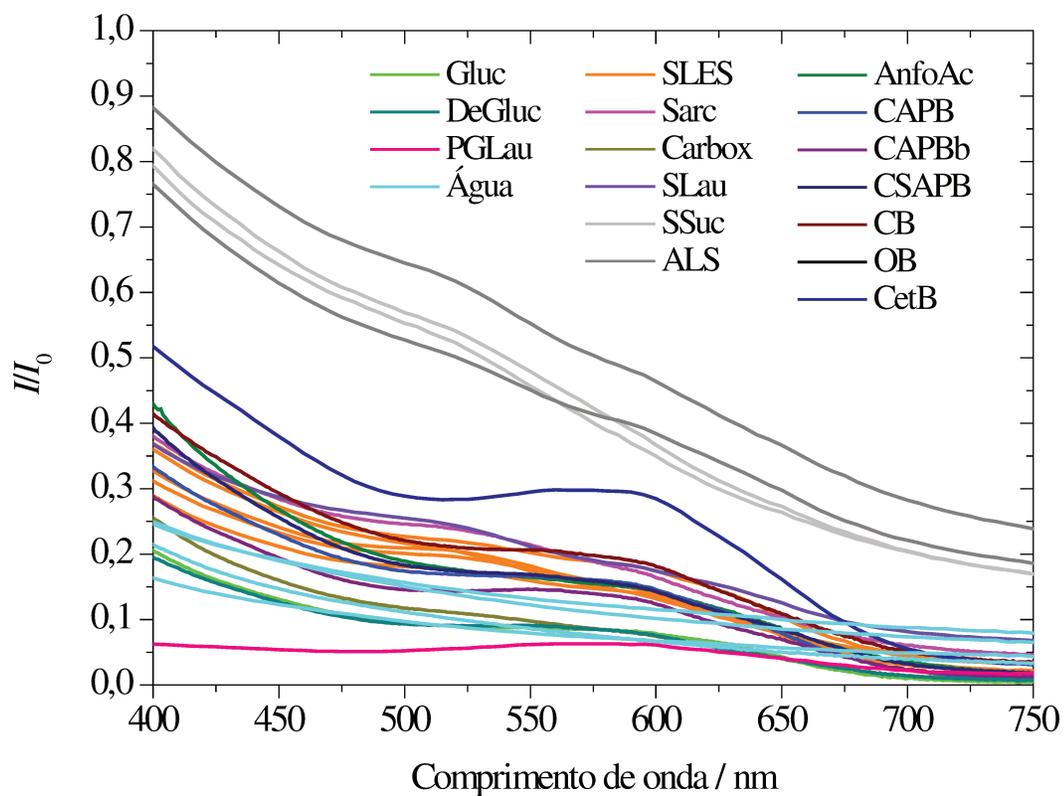


Figura 19: Espectros UV-Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após o contato solução-cabelo por *ca.* 64 h a 38 °C com agitação horizontal constante e com adição de SDS. Veja a Tabela 3 para as abreviações. Abaixo, área hachurada das classes dos tensoativos de cada solução de extrato de cabelo: (■) aniônicos, (■) anfotéricos, (■) não-iônicos, e (■) água destilada. As soluções SSuc e ALS (turvas) são omitidas no gráfico inferior.

Os tensoativos anfotéricos apresentam dano aos cabelos pela extração de substâncias em quantidades de similares aos aniônicos. CetB é o anfotérico com maior efeito de dano. CAPBb é o menos danoso, sendo comparável à água. CSAPB, CAPB, AnfoAc e CB têm um efeito intermediário na extração de substâncias do cabelo.

Os espectros das soluções de cabelo com tensoativos não-iônicos apresentam a menor intensidade, sendo similar ou ainda menor que a solução de cabelo em água. PGLau é o que apresenta o menor dano. Gluc e DeGluc têm dano comparável à água. Não há diferença química significativa entre estes dois tensoativos, visto que eles diferem somente no tamanho da cadeia carbônica (12–16 carbonos vs. 10 carbonos, respectivamente).

Para melhorar a análise das diferenças entre os tensoativos, escolheu-se um tensoativo representante de cada caráter iônico (SLES, CAPB e Gluc) e repetiu-se o ensaio em triplicata no tubo de ensaio tampado, comparando com SDS e água destilada, em duplicata. A Figura 20 mostra os espectros no visível obtidos destas soluções.

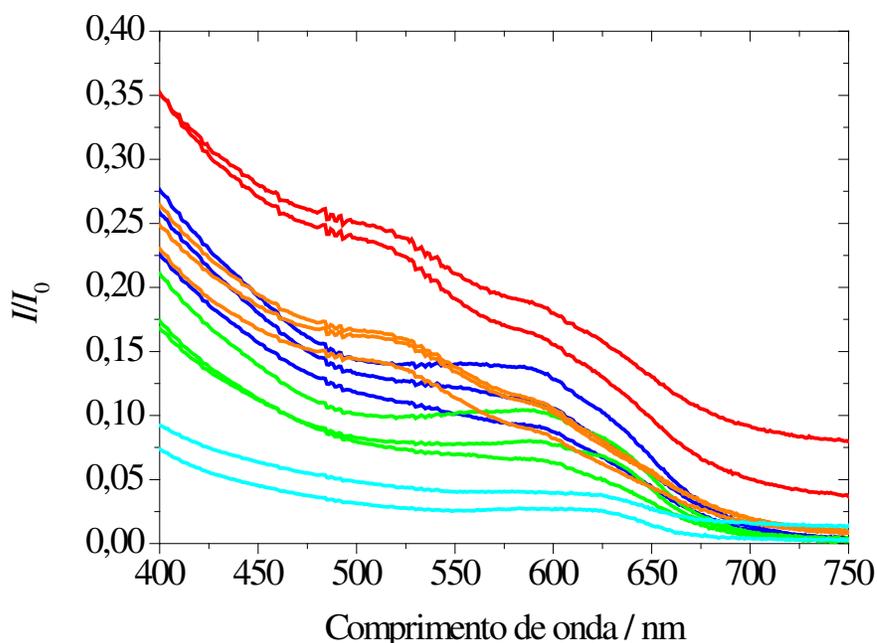


Figura 20: Espectros UV-Vis das soluções de extrato de cabelo obtidas após 64 h de contato a 38 °C com agitação constante. Tensoativos a 2,5 % *m/m*: (■) SDS, (■) SLES, (■) CAPB, (■) Gluc e (■) água destilada. (O ruído em 480 e 530 nm é devido ao equipamento.)

Vêm-se as bandas de respostas para cada solução: em 625 nm para a água destilada, em 600 nm para os tensoativos de cada um dos três caracteres iônicos, e em 525 nm uma banda

adicional somente para os aniônicos. Ainda, dentre os dois aniônicos, a solução de cabelo obtida com o SDS, que tem maior força detergente, apresenta maior intensidade de resposta que SLES.

Para verificar se ocorre deslocamento de banda por efeito solvatocrômico, devido ao caráter iônico dos tensoativos, adicionou-se SDS nas soluções de cabelo obtidas com Gluc e com água destilada e obtiveram-se os espectros mostrados na Figura 21. Vê-se que a posição das bandas não se alterou, indicando que estas bandas não sofrem efeito solvatocrômico.

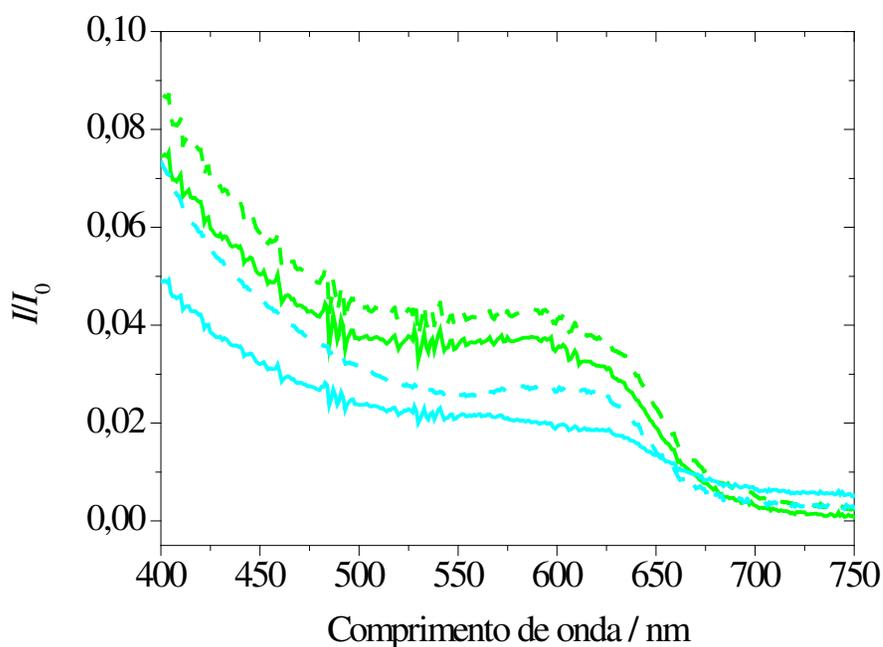


Figura 21: Espectros UV-Vis de soluções de extrato de cabelo obtidas após 64 h de contato a 38 °C com agitação constante com (■) Gluc e (■) água destilada. Solução antes (linha tracejada) e após (linha contínua) adição de SDS. (O ruído em 480 e 530 nm é devido ao equipamento.)

## 5. Discussão

Ao longo deste trabalho apareceram dificuldades para a determinação dos danos causados pelos tensoativos estudados usando os métodos tradicionais. O mais importante foi a inadequação, para os tensoativos comerciais, do método de Lowry, que é bastante utilizado na quantificação das proteínas extraídas do cabelo.

Na tentativa de encontrar um método alternativo, centrou-se o estudo nas soluções obtidas ao deixar os cabelos em contato com os tensoativos por tempo prolongado. Estas soluções, que se chamou de “solução de cabelo”, apresentaram características diferentes para os diferentes tensoativos.

### *As bandas dos espectros UV–Vis das soluções de cabelo*

Os espectros UV–Vis das soluções de cabelo deste trabalho apresentam banda com resposta intensa em 275 nm, e também no visível entre 525 e 625 nm. A localização das bandas no visível depende da presença ou ausência de tensoativo, e do respectivo caráter iônico dos tensoativos.

A banda em 275 nm é atribuída a proteínas contendo aminoácidos aromáticos, tais como triptofano, tirosina e fenilalanina [70], presentes no cabelo. Não há na literatura espectros UV–Vis de solução de cabelo, seja solução de cabelo obtida com soluções de tensoativos e nem obtida por digestão. Em nosso Grupo de Pesquisa já foram realizadas algumas análises [71, 49], mas apenas na região inicial do espectro, tipicamente entre 190–500 nm.

Não há, portanto, descrição das bandas na região do visível que foram obtidas neste trabalho. Como mostrado, são as melaninas do cabelo as responsáveis por estas bandas.

O espectro UV–Vis de solução de melanina é conhecido [28]. Ele apresenta uma curva com decréscimo monotônico de 200 a 800 nm e sem banda significativa no visível. Entretanto, os trabalhos da literatura utilizam melanina extraída dos cabelos por digestão, o que altera a sua estruturação natural [72]. Outros estudos utilizam melanina de sépia ou melanina sintética; a primeira é obtida pela lavagem iterativa com água e centrifugação da tinta da *S. officinalis* [53], e a segunda é produzida a partir de reações dos precursores da melanina [18].

Apesar de íntegra, a melanina de sépia possivelmente apresenta estruturação e composição química diferente das melaninas de cabelo. Melaninas de cabelos quando extraídas

integralmente por difusão (e não por digestão) apresentam banda(s) na região visível que não aparece(m) nos estudos da literatura para a de sépia. Ou ainda, os grânulos de pigmento do cabelo podem se desagregar nas suas unidades menores, como descrito no capítulo Introdução, e estas unidades menores apresentarem tais bandas.

Os espectros da solução de cabelo obtida com água apresentam banda em 625 nm; as soluções obtidas com tensoativos anfotéricos e não-iônicos em 600 nm; e as soluções obtidas com tensoativos aniônicos uma banda em 600 e outra em 525 nm.

Estes resultados sugerem um deslocamento de banda por efeito solvatocrômico, devido ao aumento da força iônica dos tensoativos (SDS > SLES > CAPB > Gluc > água). No entanto, os resultados obtidos adicionando-se SDS em maior concentração à solução de Gluc que contém melanina de cabelo mostram que o espectro não se altera com o deslocamento ou aparecimento de banda. Assim, mostra-se que o efeito solvatocrômico não ocorre neste caso.

Desta forma, as bandas no visível que aparecem em diferentes comprimentos de onda podem ser atribuídas a (1) diferentes frações de melanina que foram extraídas pelos tensoativos e/ou (2) tamanhos diferentes de agregação dos grânulos de melanina.

#### *A degradação dos cabelos causada pelas soluções de tensoativos*

Wagner [71], em seu trabalho sobre a degradação de cabelos decorrentes do uso contínuo de lauril sulfato de sódio (LSS), mostrou que os espectros no infravermelho do cabelo e do extrato evaporado da solução de cabelo obtida com água são diferentes. Ela atribui esta diferença à composição química diferente da cutícula e do córtex, e sugere que o córtex não foi degradado.

A solução de cabelo obtida com água era colorida. A autora também obteve espectro UV-Vis desta solução (apenas na região UV), comparando com o espectro da melanina de sépia (que não tem semelhança) e assim não atribui a coloração da solução às melaninas. Ainda, ela discute que não encontrou fragmentos de cutícula, ao contrário de relatos na literatura, sugerindo que o descolamento só ocorre com vigorosa agitação ou abrasão.

Neste trabalho foram encontrados fragmentos de cutícula e atribuiu-se a coloração das soluções de cabelo às melaninas. Ao contrário de Robbins [1], que sugere que tensoativos requerem cerca de uma hora para atravessar as camadas de cutícula, neste estudo mostrou-se que em 30 min já há na solução material presente no córtex da fibra capilar (as melaninas), indicando que a difusão de tensoativos é mais rápida.

A extração das melaninas deve dar-se por um processo de degradação que envolve, primeiramente, dissolução do CMC e da endocutícula, com remoção de fragmentos de cutículas e, posteriormente, o arraste dos grânulos para fora do córtex, como citado na Introdução. Portanto, a água pura consegue degradar o córtex, ainda que com menor intensidade que na presença de tensoativos.

#### *Espectrofotometria UV-Vis e o método de Lowry para quantificar a degradação de cabelos*

Neste trabalho foram utilizadas duas metodologias para estimar a degradação da fibra capilar por tensoativos: o já amplamente utilizado método de Lowry e a espectrofotometria UV-Vis das soluções de lavagem dos cabelos, ainda não descrita na literatura.

O primeiro método estima a quantidade de proteína em solução baseado em uma curva analítica com BSA. Wagner *et al.* [47] constatou que este padrão tem composição de aminoácidos semelhante à queratina do cabelo e, portanto, é adequada para calibração do modelo. No entanto, apenas proteínas com a mesma composição de aminoácidos são devidamente quantificadas. Por este motivo, diz-se que este método “estima” a quantidade de proteínas de cabelo em solução, quantificando-as indiretamente.

Além disso, o método de Lowry apresenta muitos interferentes, como visto pelas inúmeras variações do método e, neste trabalho, pela inadequação para estimar proteínas na presença dos tensoativos comerciais.

Na espectrofotometria UV-Vis há duas “sondas” ou “marcadores” para avaliar o dano nos cabelos: uma banda relativa às proteínas (em 275 nm) e outra atribuída às melaninas (entre 525 e 625 nm).

Através da medida da intensidade da banda em 275 nm, pode-se fazer a determinação direta das proteínas em solução. Os resultados obtidos neste estudo mostram uma forte correlação entre os dois métodos para quantificação das proteínas extraídas do cabelo. A Figura 22 mostra as curvas de cinética de extração de proteínas analisadas pelos dois métodos e a correlação entre os dois métodos.

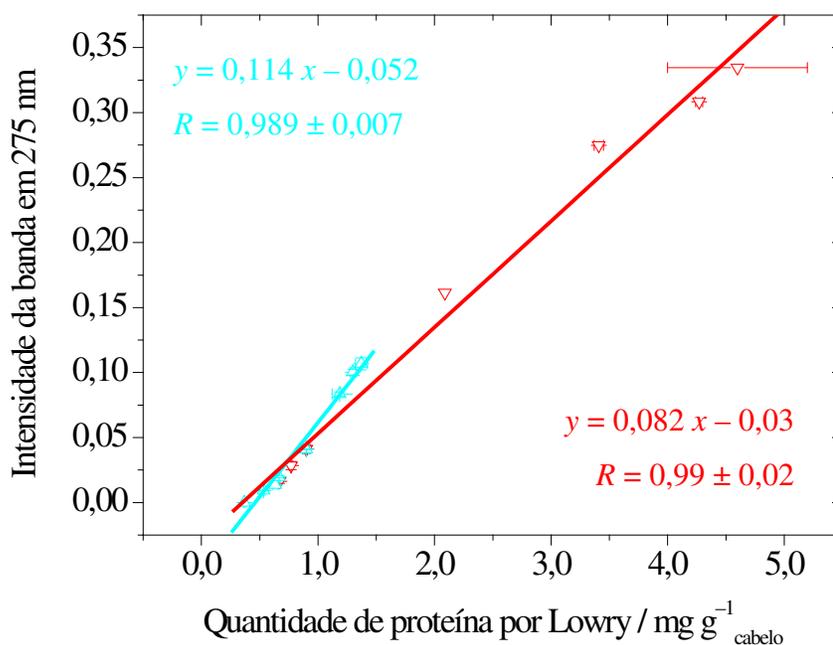
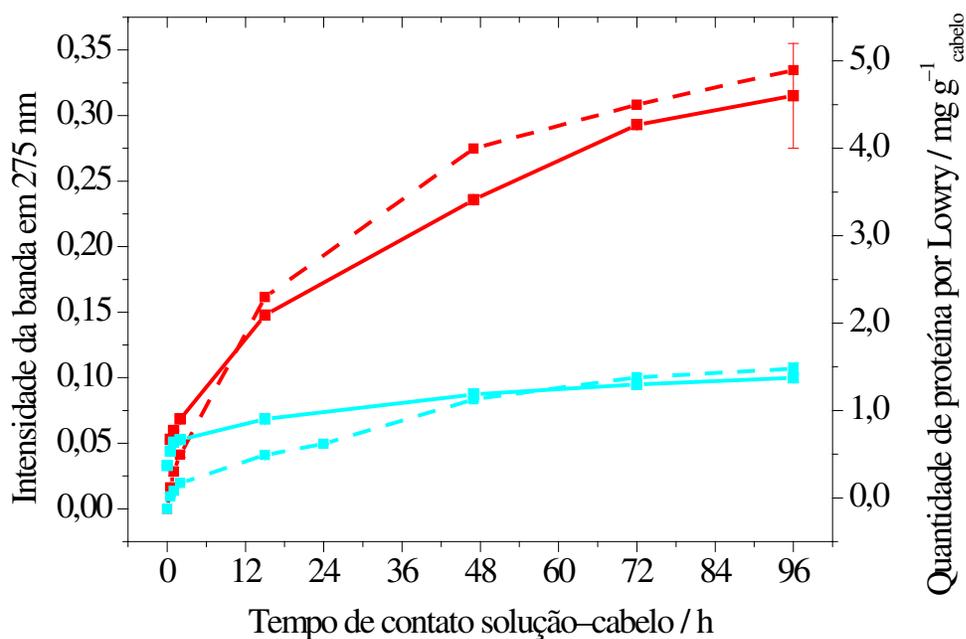


Figura 22: Dois métodos para estimar quantidade de proteína extraída dos cabelos: banda em 275 nm e método de Lowry. Soluções de cabelo com tempos crescentes de contato com (■) água ou (■) SDS a 2,5 % *m/m*. *T* = 38 °C, agitação constante. Acima, linha tracejada: medida da intensidade da banda em 275 nm; linha contínua: estimativa de proteína pelo método de Lowry. Abaixo, correlação entre os dois métodos.

Vê-se no gráfico superior que as curvas nos dois métodos quase se sobrepõem. O gráfico inferior mostra a correlação entre os dois métodos, ajustados com uma reta. Nota-se que o coeficiente angular das retas é diferente. Pode ser que a correlação não seja linear, sendo necessário aplicar métodos quimiométricos para identificar a correlação correta. Em todo caso, a reta azul deveria passar por (0;0) como a reta vermelha.

Para os tensoativos comerciais, que no espectro UV-Vis apresentam intensa resposta abaixo de 300 nm, o uso da medida da banda em 275 nm é inadequado. Existe, no entanto, a possibilidade de se correlacionar a intensidade das bandas no visível com a quantidade de proteína em solução estimada pelo método de Lowry, como mostrado na Figura 23.

Conforme as proteínas vão sendo extraídas da fibra capilar, uma quantidade proporcional de melaninas também é extraída, colorindo a solução. Assim, à medida que aumenta a intensidade da banda em 275 nm, também aumenta proporcionalmente o espectro na região visível, como visto para o SDS e água (veja Figura 15). Desta forma, pode-se assumir que com os tensoativos comerciais o aumento da banda no visível também correlaciona com a extração de proteínas do cabelo.

Este método, contudo, sofre interferência de partículas em suspensão e nestas soluções possivelmente haverá fragmentos de cutícula extraídos em suspensão, como foi observado neste estudo (veja Figura 12). Desta forma, para uma análise quantitativa da degradação dos cabelos, deve-se desenvolver uma metodologia de preparo de amostra para minimizar este efeito, o que não é o objetivo deste trabalho.

#### *Degradação de cabelo pelos tensoativos comerciais*

Como as áreas sob as curvas podem ser associadas às quantidades de material extraído dos cabelos, pode-se fazer uma associação entre estas áreas e os danos causados. O tensoativo tem o poder de aumentar a solvatação ou estabilidade coloidal dos grânulos de melanina, como mostrado no aumento da intensidade do espectro na Figura 14.

Os resultados obtidos mostraram que as soluções de cabelo com os tensoativos aniônicos têm a maior área sob as curvas espectrais. As soluções obtidas com anfotéricos têm resposta similar aos aniônicos. As soluções de cabelo obtidas com os não-iônicos apresentam curvas com valores próximos ou até menores que as obtidas com água.

A maior área observada para os tensoativos aniônicos pode ser atribuída ao seu maior caráter detergente, que extrai mais substâncias do cabelo que os demais tensoativos. Os anfotéricos, que possuem menor força detergente, apresentam degradação da fibra capilar intermediária entre os aniônicos e os não-iônicos.

Os tensoativos não-iônicos e o aniônico Carbox podem apresentar degradação de cabelo menor que a água devido à sua adsorção na superfície da fibra capilar, dificultando a saída de substâncias extraídas pela água, ou ainda devido à diminuição da atividade da água. Vale ressaltar que o aniônico Carbox é derivado de um tensoativo não-iônico. Além disso, estes tensoativos são de grau técnico, as suas impurezas podem influenciar nestes fenômenos.

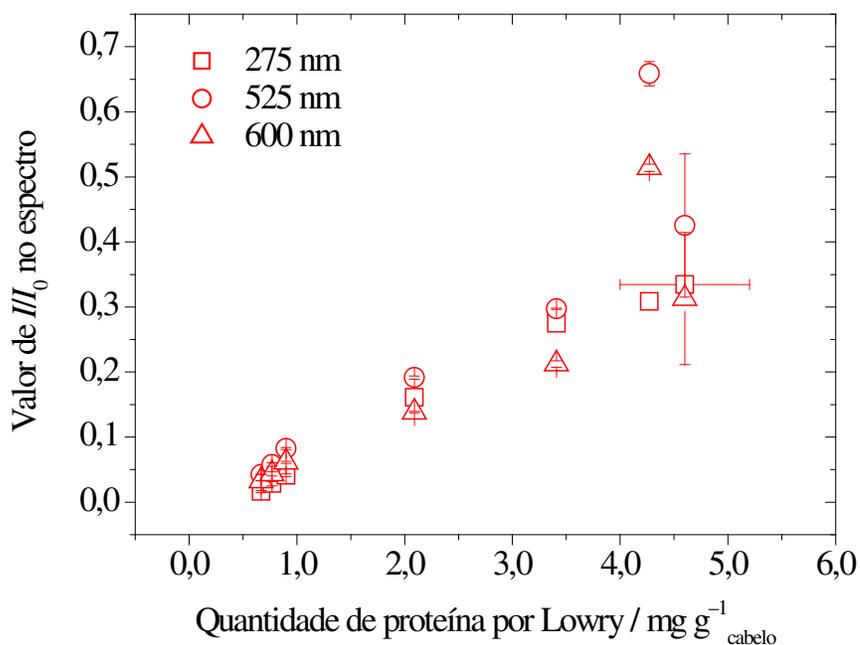


Figura 23: Correlação entre a resposta no UV-Vis e a quantidade de proteína estimada pelo método de Lowry das soluções de cabelo obtidas com SDS a 2,5 % *m/m*.  $T = 38$  °C, agitação constante. Duplicata de amostra. Os valores dos pontos de 275 nm foram medidos pelo método da linha-base.

Uma forma de se quantificar esta degradação é através da correlação dos espectros UV-Vis com o método de Lowry. Utilizando-se SDS, com o qual o método de Lowry é adequado, é possível estimar a quantidade de proteína extraída e, por UV-Vis, quantificar a cor da solução. Desta forma, encontra-se uma correlação entre a quantidade das melaninas e das

proteínas extraídas, como é mostrado na Figura 23. A partir deste gráfico, vê-se que quanto mais intensa a cor da solução (dado pelos valores de resposta no visível), maior e proporcional é a concentração de proteínas em solução. Somente os pontos de SDS referentes ao  $t = 72$  h distanciam-se do modelo, visto pela inversão da ordem dos espectros (veja Figura 15).

Para exemplificar, podemos aplicar este modelo para os tensoativos comerciais SLES, CAPB e Gluc. A partir da correlação (veja Figura 29-A no Anexo) entre a intensidade em 275 e 600 nm (regiões em que todas as soluções apresentam banda) e a quantidade de proteína estimada pelo método de Lowry, estima-se indiretamente a quantidade de proteínas em solução.

Esta metodologia de utilizar o valor de apenas um comprimento de onda, no entanto, causa um erro para os tensoativos que tem banda mais intensa em outra região. Para minimizar este erro, pode-se integrar a resposta espectrofotométrica em um intervalo de comprimentos de onda no visível onde todas as amostras apresentam banda, por exemplo, no intervalo entre 490 e 650 nm (veja Figura 20).

A Figura 29-B (no Anexo) mostra a correlação da área da resposta do SDS (mostrada na Figura 15) com a quantidade de proteína estimada por Lowry. Para aplicar este modelo algumas considerações devem ser feitas:

1. Como não foram realizadas medidas de proteína pelo método de Lowry na solução de SDS da Figura 20, optou-se por normalizar os valores de área em função do SDS. Desta forma, assume-se (e os espectros permitem) que o SDS é quem mais extrai proteína e a partir dele serão inferidos os valores dos outros tensoativos.
2. O modelo foi construído com soluções em contato com o cabelo em função do tempo. Assim, o maior tempo (96 h) é o que apresenta maior quantidade de proteína extraída e, portanto, a maior área. Para aplicar a amostra de SDS da Figura 20, que ficou em contato com cabelo por 64 h (dois terços de 96 h), neste modelo, fez-se a correção multiplicando-se todos os valores por  $2/3$ .

A Tabela 5 apresenta os resultados das duas metodologias aplicadas nos tensoativos comerciais: (1) utilizando-se a intensidade de um comprimento de onda específico e (2) a que utiliza a integral das intensidades de um intervalo espectral, dada pela área embaixo das curvas.

Tabela 5: Estimativa da quantidade de proteína extraída utilizando a correlação do espectro UV-Vis com a estimativa pelo método de Lowry.

Solução	Estimativa de proteína extraída / mg g <sup>-1</sup> cabelo		
	Pela linha-base em 275 nm $y = 0,073 x$	Pela intensidade em 600 nm $y = 0,065 x$	Pela área relativa de 490–650 nm $y = 0,209 x$
SDS	1,9	2,6	3,2
SLES	—	1,5	1,9
CAPB	—	1,6	1,9
Gluc	—	1,2	1,3
Água	0,9	0,5	0,6

Vê-se que os resultados dos dois métodos que utilizam comprimentos de onda na região visível são próximos, com todos os erros e considerações incluídas. Estes modelos, no entanto, assumem que a correlação é linear, o que pode não ser verdade. Vê-se ainda que a diferença entre a quantidade de proteína calculada para SLES e CAPB segundo os dois métodos da região visível não é significativa. Assim, a degradação causada pelo SLES, apesar de ser um aniônico, é no mesmo grau que o CAPB, o que confirma que o abaixamento do índice HLB do tensoativo diminui sua força detergente e conseqüentemente a degradação que causa à fibra capilar.

Em relação ao resultado obtido com o comprimento de onda no UV ( $\lambda = 275$  nm), vê-se que o valor para SDS é muito diferente do obtido utilizando a região visível. Porém, este valor provém dos espectros da Figura 20, que têm baixa resolução.

Portanto, mostrou-se que a partir do espectro Vis é possível estimar indiretamente a quantidade de proteínas extraídas do cabelo por tensoativos. Embora o resultado corresponda ao esperado, trata-se da primeira vez em que estas diferenças entre tensoativos comerciais são quantificadas.

Este método apresenta maior sensibilidade quanto mais intensa for a cor da solução. No entanto, tempos de contato cabelo-solução superiores a 72 h podem causar erros experimentais (tais como a inversão dos espectros, como visto na Figura 15). Sugere-se, portanto, trabalhar com tempos de contato entre 48 e 72 h.

## 6. Conclusões

- A extração de substâncias do cabelo pode ser avaliada e quantificada pela espectrofotometria UV–Vis, a qual apresenta uma forte correlação com o método de Lowry.
  - O material proteico extraído pode ser quantificado pela intensidade da banda em 275 nm, que é uma metodologia mais direta e com menos interferentes que o método de Lowry.
  - A intensidade da banda em 275 nm correlaciona com a intensidade das bandas no visível, o que permite estimar a quantidade de proteínas extraída pelos tensoativos comerciais usando indiretamente o método de Lowry ou outro método de quantificação de proteínas.
- Como esperado, tanto os tensoativos quanto a água causam degradação da fibra capilar, desde a remoção de fragmentos de cutícula até a extração de melanina do córtex e de material proteico.
- O grau de degradação da fibra capilar varia de acordo com o índice HLB dos tensoativos.
  - Tensoativos aniônicos, que têm maior índice HLB, extraem em maior quantidade (ou mais rapidamente) as substâncias do cabelo.
  - Anfotéricos, que têm menor força detergente, degradam menos.
  - Não-iônicos podem degradar o cabelo na mesma intensidade, ou ainda menor, que a água.
- A água cessa a extração de substâncias do cabelo após cerca de 24 h de contato, enquanto que as soluções de tensoativo continuam extraindo até pelo menos 96 h.
- Os espectros UV–Vis das soluções de cabelo obtidas com tensoativos de diferentes caracteres iônicos são diferentes, e esta diferença não é causada por solvatocromismo.

## 7. Sugestões para trabalhos futuros

- Realizar análise quimiométrica a fim de se criar um modelo de correlação entre a espectrofotometria UV–Vis e a quantificação de proteína pelo método de Lowry (ou outro método adequado de quantificação de proteínas).
- Identificar quais são as substâncias extraídas do cabelo e quais são as responsáveis pelas diferentes bandas no espectro UV–Vis de solução de cabelo.
- Analisar e comparar por titulação calorimétrica isotérmica (ITC) a energia da interação entre cada tensoativo e as substâncias extraídas do cabelo. Pode-se inicialmente estudar e comparar a interação dos tensoativos com uma proteína padrão como, por exemplo, a BSA, que tem composição de aminoácidos similar à proteína do cabelo.

### *Trabalhos incrementais:*

- Variar a concentração dos tensoativos para verificar a partir de qual concentração começam a aparecer significativamente as bandas no espectro UV–Vis.
- Utilizar uma mistura de tensoativos (alquil sulfato e betaína, por exemplo).
- Variar a temperatura para calcular a energia de ativação aparente do processo para cada tensoativo.
- Utilizar cabelos loiros e ruivos, que contêm maior teor de feomelanina, e verificar a sua influência nos espectros UV–Vis das soluções de cabelo.
- Avaliar quimiometricamente a correlação entre índice HLB do tensoativo e a quantidade de substâncias extraídas do cabelo.
- Comparar resultados de extração de raiz e ponta dos cabelos após imersão nas soluções de tensoativo.
- Determinar por espalhamento de luz o tamanho das partículas em solução.
- Determinar o coeficiente aparente de difusão (por exemplo, de Rhodamina B ou de azul de metileno) nos cabelos após o tratamento com os tensoativos.
- Titular solução de cabelo com agente oxidante a fim de clarear a solução e estimar a quantidade de melanina.

## 8. Referências

---

- [1] C.R. Robbins, “Chemical and Physical Behavior of Human Hair”, 5th Ed., New York: Springer-Verlag, 2012.
- [2] W.G. Crewther, R.D.B. Fraser, F.G. Lennox, H. Lindley, “The chemistry of keratins”, *Advances in Protein Chemistry*, **20**, 191–346, (1965).
- [3] D.J. Tobin, M. Hordinsky, B.A. Bernard, “Hair pigmentation: A research update”, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, **10**, 275–279, (2005).
- [4] J.A. Swift, “Human hair cuticle: Biologically conspired to the owner's advantage”, *Journal of Cosmetic Science*, **50** (1), 23–47, (1999).
- [5] L.J. Wolfram, “Human hair: A unique physicochemical composite”, *Journal of the American Academy of Dermatology*, **48** (6), S106–114, (2003).
- [6] A.L. dos Santos Silva, I. Joekes, “Rhodamine B diffusion in hair as a probe for structural integrity”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **40** (1), 19–24, (2005).
- [7] J.H. Bradbury, “The Structure and Chemistry of Keratin Fibers”. In: *Advances in Protein Chemistry*, **27**, 11–211, (1973).
- [8] M.G. Dobb, J.A. Johnston, J.A. Nott, L. Oster, J. Sikorski, W.S Simpson, “Morphology of the cuticle layer in wool fibres and other animal hairs”, *Journal of the Textile Institute*, **52** (4), T153-160, (1961) *apud* J.H. Bradbury, “The structure and chemistry of keratin fibers”. In: *Advances in Protein Chemistry*, **27**, 11–211, (1973).
- [9] J.A. Swift, “Morphology and Histochemistry of Human Hair”, In: P. Jollès, H. Zahn, H. Höcker (eds.), “Formation and Structure of Human Hair”, Basel: Birkhäuser Verlag, 1997.
- [10] W.T. Astbury, A. Street, “X-ray studies of the structure of hair, wool, and related fibres. I. General”, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character*, **230**, 75–101, (1932).
- [11] C.M.S. Scanavez de Paula, “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.
- [12] C. Popescu, H. Höcker, “Hair—the most sophisticated biological composite material”, *Chemical Society Reviews*, **36** (8), 1282–1291, (2007).
- [13] L.N. Jones, “Hair structure anatomy and comparative anatomy”, *Clinics in Dermatology*, **19** (2), 95–103, (2001).
- [14] R. Wagner, I. Joekes, “Hair medulla morphology and mechanical properties”, *Journal of Cosmetic Science*, **58** (4), 359–368, (2007).

- 
- [15] A.C.S. Nogueira, M. Richena, L.E. Dicelio, I. Joekes, “Photo yellowing of human hair”, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **88** (2–3), 119–125, (2007).
- [16] M.S.C. Birbeck, E.H. Mercer, N.A. Barnicot, “The structure and formation of pigment granules in human hair”, *Experimental Cell Research*, **10** (2), 505–514, (1956).
- [17] B. Forslind, G. Swanbeck, “Keratin formation in the hair follicle. I. An ultrastructural investigation”, *Experimental Cell Research*, **43** (1), 191–209, (1966).
- [18] S. Ito, K. Wakamatsu, “Chemistry of Melanins”. In: J.J. Nordlund, R.E. Boissy, V.J. Hearing, R.A. King, W.S. Oetting, J.P. Ortonne, (eds.), “The Pigmentary System: Physiology and Pathophysiology”, 2nd Ed., Oxford: Blackwell Publishing, 2006.
- [19] S. Ito, K. Wakamatsu, “Diversity of human hair pigmentation as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin”, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, **25** (12), 1369–1380, (2011).
- [20] D.J. Tobin, “Human hair pigmentation – biological aspects”, *International Journal of Cosmetic Science*, **30** (4), 233–257, (2008).
- [21] C.M.R. Clancy, J.B. Nofsinger, R.K. Hanks, J.D. Simon, “A hierarchical self-assembly of eumelanin”, *The Journal of Physical Chemistry B*, **104** (33), 7871–7873, (2000).
- [22] A. Menon, S. Persad, H.F. Haberman, C.J. Kurian, “A comparative study of the physical and chemical properties of melanins isolated from human black and red hair”, *Journal of Investigative Dermatology*, **80** (3), 202–206, (1983).
- [23] A. Pullman, B. Pullman, “The band structure of melanins”, *Biochimica et Biophysica Acta*, **54** (2), 384–385, (1961).
- [24] P.R. Crippa, V. Cristofolletti, N. Romeo, “A band model for melanin deduced from optical absorption and photoconductivity experiments”, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, **538** (1), 164–170, (1978).
- [25] S.A. Davidenko, M.V. Kurik, Y.P. Piryatinskii, A.B. Verbitsky, “Studies of melanin pigments of different origin”, *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, **426** (1), 37–45, (2005).
- [26] E. Kaxiras, A. Tsolakidis, G. Zonios, S. Meng, “Structural model of eumelanin”, *Physical Review Letters*, **97** (21), 218102-1–4, (2006).
- [27] J.A. Swift, “Speculations on the molecular structure of eumelanin”, *International Journal of Cosmetic Science*, **31** (2), 143–150, (2009).
- [28] P. Meredith, B.J. Powell, J. Riesz, S.P. Nighswander-Rempel, M.R. Pederson, E.G. Moore, “Towards structure–property–function relationships for eumelanin”, *Soft Matter*, **2** (1), 37–44, (2006).

- 
- [29] K.C. Littrell, J.M. Gallas, G.W. Zajac, P. Thiyagarajan, “Structural studies of bleached melanin by synchrotron small-angle X-ray scattering”, *Photochemistry and Photobiology*, **77** (2), 115–120, (2003).
- [30] M.G. Bridelli, P.R. Crippa, “Infrared and water sorption studies of the hydration structure and mechanism in natural and synthetic melanin”, *The Journal of Physical Chemistry B*, **114** (29), 9381–9390, (2010).
- [31] Anuário ABIHPEC, 3ª Edição, (2012).
- [32] C. Bouillon, “Shampoos”, *Clinics in Dermatology*, **14** (1), 113–121, (1996).
- [33] G. Lang, “Hair Cleasing and Care Preparations”. In: B. Elvers, (ed.), “Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry”, New York: VCH Publishers, 1993; Vol. A 12: “Hair Preparations”.
- [34] M.M. Rieger, (ed.), “Surfactants in Cosmetics”, New York: Marcel Dekker, 1985.
- [35] C.R. Robbins, “Shampoo and Conditioners”. In: K.-Y. Lai, (ed.), “Liquid Detergents”, 2nd Ed., New York: Marcel Dekker, 1997.
- [36] D.A. Shaw, “The extraction, quantification and nature of hair lipid”, *International Journal of Cosmetic Science*, **1** (5), 291–302, (1979).
- [37] N. Goetz, H. Burgaud, C. Berrebi, P. Bore, “Analysis of the lipid content of single hair bulbs. Comparison with the content of the sebaceous and with surface lipids”, *Journal of Cosmetic Science*, **35** (8), 411–422, (1984).
- [38] D.J. Shaw, “Introduction to Colloid and Surface Chemistry”, 4th Ed., Oxford: Butterworth-Heinemann, 1992. Cap. 6.
- [39] A.C.S. Nogueira, L.E. Dicelio, I. Joekes, “About photo-damage of human hair”, *Photochemical & Photobiological Sciences*, **5** (2), 165–169, (2006).
- [40] R. Pires-Oliveira, I. Joekes, “Hair color damages caused by exposure to chlorinated water in the presence of ultraviolet radiation”, 26th IFSCC International Congress, Buenos Aires, (2010).
- [41] C. Scanavez, I. Joekes, “Thermal straightening of Brazilian Negroid hair: Effects on morphology, physicochemical and mechanical properties”, 14th International Hair-Science Symposium, Fulda, (2005).
- [42] A.C.S. Nogueira, A.K. Nakano, I. Joekes, “Impairment of hair mechanical properties by sun exposure and bleaching treatments”, *Journal of Cosmetic Science*, **55** (6), 533–537, (2004).
- [43] J.A. Faucher, E.D. Goddard, “Interaction of keratinous substrates with sodium lauryl sulfate: I. Sorption”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **29** (5), 323–337, (1978).

- 
- [44] M.M. Breuer, “The interaction between surfactants and keratinous tissues”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **30** (1), 41–64, (1979).
- [45] B. Singh, S. Umapathy, “Effect of SDS on human hair: study on the molecular structure and morphology”, *Journal of Biophotonics*, **4** (5), 315–323, (2011).
- [46] C. Scanavez, M. Silveira, I. Joekes, “Human hair: color changes caused by daily care damages on ultra-structure”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **28** (1), 39–52, (2003).
- [47] R.C.C. Wagner, I. Joekes, “Hair protein removal by sodium dodecyl sulfate”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **41** (1), 7–14, (2005).
- [48] <http://newisiknowledge.com/wos>, acessado em 26/11/2012.
- [49] M. Richena, “Alterações nos cabelos não pigmentados causadas por radiação ultravioleta, visível e infravermelha”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 2011.
- [50] W.C. Griffin, “Classification of surface-active agents by ‘HLB’”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **1** (5), 311–326, (1949).
- [51] W.C. Griffin, “Calculation of HLB values of non-ionic surfactants”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **5** (4), 249–256, (1954).
- [52] J.T. Davies, “A quantitative kinetic theory of emulsion type. I. Physical chemistry of the emulsifying agent”, *Gas/Liquid and Liquid/Liquid Interfaces. Proceedings of 2nd International Congress Surface Activity*, Butterworths, London, (1957).
- [53] Y. Liu, J.D. Simon, “Isolation and biophysical studies of natural eumelanins: Applications of imaging technologies and ultrafast spectroscopy”, *Pigment Cell Research*, **16** (6), 606–618, (2003).
- [54] U.K. Laemmli, “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4”, *Nature*, **227** (5259), 680–685, (1970).
- [55] “Constant Humidity Solutions”. In: “CRC Handbook of Chemistry and Physics”, 93rd Ed., Internet Version 2013, Section 15, p. 33.
- [56] R.C.C. Wagner, “A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor do cabelo”, Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 2006.
- [57] A.C.S. Nogueira, “Foto-degradação do cabelo: Influência da pigmentação da fibra”, Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 2008.
- [58] P.N. Moore, S. Puvvada, D. Blankschtein, “Role of the surfactant polar head structure in protein–surfactant complexation: Zein protein solubilization by SDS and by SDS/C<sub>12</sub>E<sub>n</sub> surfactant solutions”, *Langmuir*, **19** (4), 1009–1016, (2003).
- [59] J.M. Ruso, N. Deo, P. Somasundaran, “Complexation between dodecyl sulfate surfactant and zein protein in solution”, *Langmuir*, **20** (21), 8988–8991, (2004).

- 
- [60] S.S. Sandhu, C.R. Robbins, “A simple and sensitive technique, based on protein loss measurements, to assess surface damage to human hair”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **44** (3), 163–175, (1993).
- [61] S.S. Sandhu, R. Ramachandran, C.R. Robbins, “A simple and sensitive method using protein loss measurements to evaluate damage to human hair during combing”, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **46** (1), 39–52, (1995).
- [62] A.C.S. Nogueira, I. Joekes, “Hair color changes and protein damage caused by ultraviolet radiation”, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **74** (2–3), 109–117, (2004).
- [63] P.K. Smith, R.I. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Gartner, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson, D.C. Klenk, “Measurement of protein using bicinchoninic acid”, *Analytical Biochemistry*, **150** (1), 76–85, (1985).
- [64] C.M. Pomory, “Color development time of the Lowry protein assay”, *Analytical Biochemistry*, **378** (2), 216–217, (2008).
- [65] A.J. O’Lenick Jr, “Surfactants: Chemistry and Properties”, Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1999.
- [66] W.H. Ward, H.P. Lundgren, “The formation, composition, and properties of the keratins”, *Advances in Protein Chemistry*, **9**, 243–297, (1954).
- [67] J.R. Lakovicz, “Principles of Fluorescence Spectroscopy”, 2nd Ed., New York: Kluwer-Plenum, 1999, p. 15–16.
- [68] J.H. Bradbury, J.D. Leeder, “Keratin fibres IV. Structure of cuticle”, *Australian Journal of Biological Sciences*, **23** (4), 843–854, (1970).
- [69] J. Riesz, J. Gilmore, P. Meredith, “Quantitative scattering of melanin solutions”, *Biophysical Journal*, **90** (11), 4137–4144, (2006).
- [70] A. Sionkowska, J. Skopinska-Wiśniewska, J. Kozłowska, A. Płancka, M. Kurzawa, “Photochemical behaviour of hydrolysed keratin”, *International Journal of Cosmetic Science*, **33** (6), 503–508, (2011).
- [71] R.C.C. Wagner, “Degradação do cabelo decorrente do tratamento continuo com lauril sulfato de sódio e silicone”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 2003.
- [72] Y. Liu, V.R. Kempf, J.B. Nofsinger, E.E. Weinert, M. Rudnicki, K. Wakamatsu, S. Ito, J.D. Simon, “Comparison of the structural and physical properties of human hair eumelanin following enzymatic or acid/base extraction”, *Pigment Cell Research*, **16** (4), 355–365, (2003).

## 9. Anexos



Figura 24: Fotografia de *Sepia officinalis*, que mede entre 15 e 25 cm, e possui uma bolsa interna de tinta que é composta por melanina [3, 4].

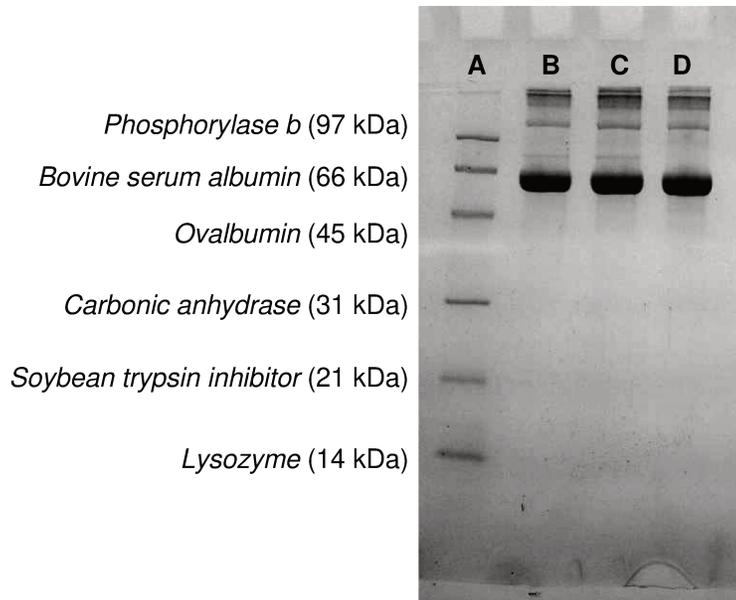


Figura 25: Fotografia do SDS-PAGE obtido que verificou a pureza da albumina de soro bovino (BSA) utilizada neste trabalho. (A) Referências, (B) padrão de BSA fornecido por Vanessa Éline Sylvestrin (LaCTAD – UNICAMP), (C e D) amostra de BSA utilizada neste trabalho.

<sup>3</sup> <http://en.wikipedia.org/wiki/Cuttlefish>, acessado em 07/05/2013.

<sup>4</sup> *Sepia officinalis*, fotografado por David Liittschwager, National Geographic Creative.



Figura 26: Fotografias mostrando os cabelos imersos em solução de tensoativo. (A) tubo de 4,0 cm de diâmetro e 10,0 cm de altura, (B) tubo de 2,5 cm de diâmetro e 10,0 cm de altura com tampa rosqueável. Na foto B foi colocada uma faixa de fundo escuro para facilitar a visualização.

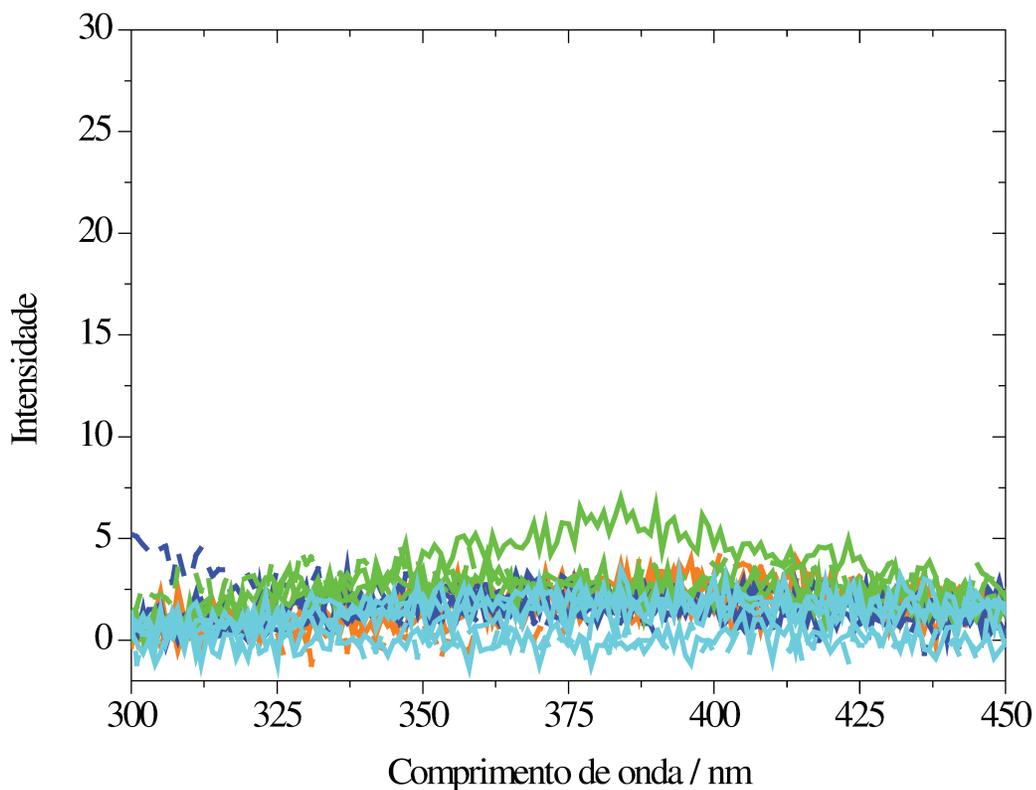


Figura 27: Espectros de fluorescência ( $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$ ) das soluções de água e tensoativo (2,5 % *m/m* de ativo) antes (linha tracejada) e após 24 h de contato com o cabelo (linha contínua) a 38 °C com agitação constante. Triplicata de amostras. (■) SLES, (■) CAPB, (■) Gluc e (■) água destilada.

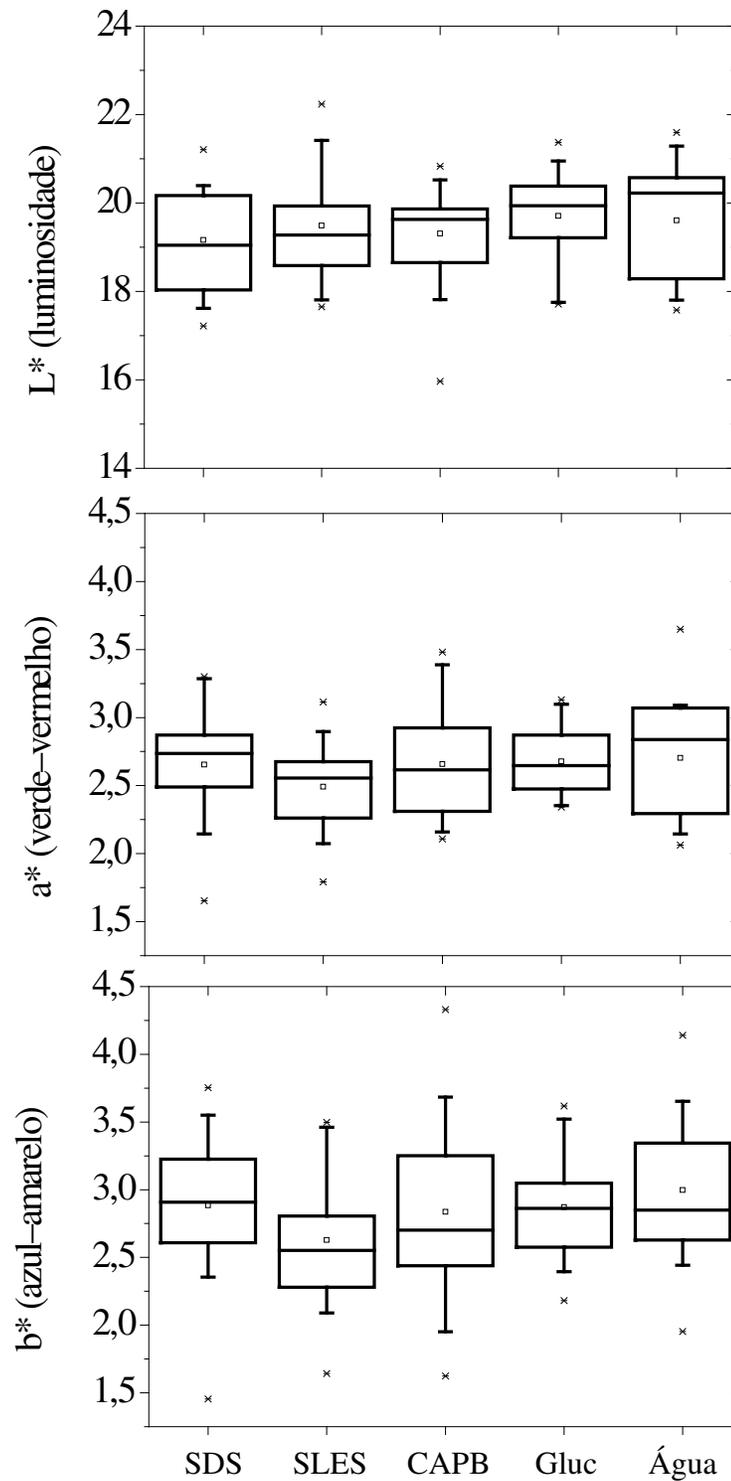


Figura 28: Parâmetros de cor das mechas de cabelo após 64 h em solução dos tensoativos a 2,5 % m/m e água destilada. SLES, CAPB e Gluc: 7 medidas para triplicata de amostra (21 valores); SDS e Água: 7 medidas para duplicata de amostra (14 valores).  $T = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , agitação constante.

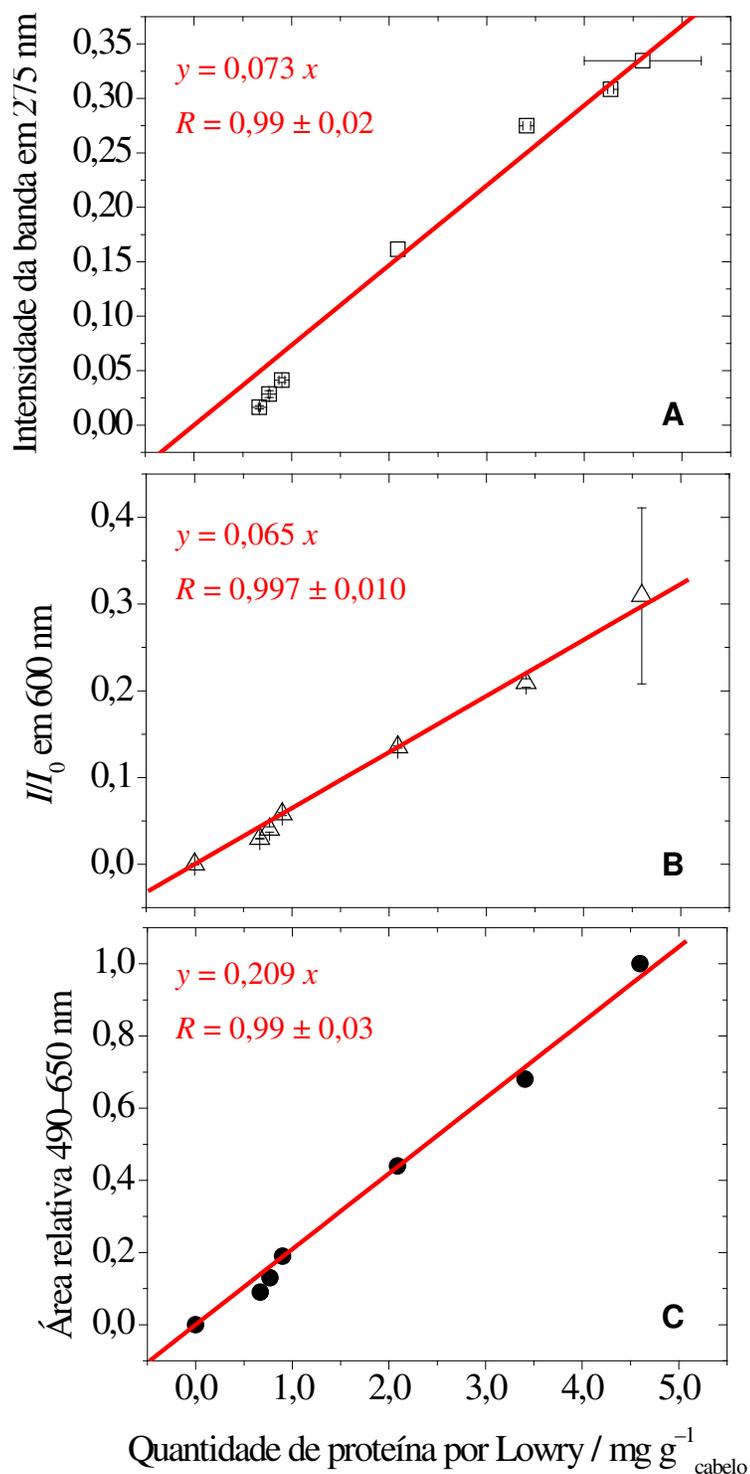


Figura 29: Correlação entre espectro UV–Vis das soluções de cabelo obtidas e a quantidade de proteína estimada pelo método de Lowry. (A) Intensidade da banda em 275 nm medida pela linha-base, (B) resposta em 600 nm e (C) área relativa do espectro UV–Vis em 490–650 nm. Soluções de cabelo obtidas com SDS a 2,5 % *m/m*.  $T = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , agitação constante. Duplicata de amostra. O ponto anômalo referente ao  $t = 72\text{ h}$  no visível foi retirado.