

200207428

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química



**ALTERAÇÕES NA ULTRA-ESTRUTURA DO CABELO  
INDUZIDAS POR CUIDADOS DIÁRIOS E SEUS EFEITOS  
NAS PROPRIEDADES DE COR**

**Tese de Doutorado**

**Carla Maria Sanches Scanavez de Paula**

**Prof.a. Dra. Inés Joekes**

**Orientadora**

**Setembro de 2001**

*“Light fills our universe. In the  
deepest of night, in the farthest  
reaches of space, light is there”.*

*Yet we strangely unaware of its  
presence. It may be that, for humans,  
light is so central to our perception  
that nature is forced to make us  
unaware of it.*

Michael Sobel

*Não sabendo que era  
impossível, ele foi lá e fez!*

Jean Cocteau

***Dedico...***

*Aos meus queridos pais, José Eduardo e Marina, por todo amor e cuidado que me dedicam...*

*À minha baby Marcinha*

*A Darcy e ao Alcir, sempre tão carinhosos e presentes...*

*Ao meu Ricardo, por sempre me incentivar, compreender e acreditar....*

## Agradeço....

À minha orientadora *Prof.a. Inés*, pela orientação segura e carinhosa, por me ensinar o valor de um bom trabalho e enfim por me ensinar tanto sobre tantas coisas...

Aos professores do Laboratório de Microscopia Eletrônica - IF- USP, Prof.a. Dr.a Helena Souza Santos, Prof. Dr. Pedro K. Kiyohara, Prof.a. Teresa Wagner Campos e em especial à Prof.a Dra. Marina Silveira, pelos ensinamentos sobre microscopia eletrônica e pela acolhida carinhosa. Jamais me esquecerei....

Aos amigos e colegas do laboratório Lilith, pela convivência e pelo aprendizado: Adriana, Atílio, Flávia, Paula, Carol, Antônio, Willians, Ana Luíza, Nádia, Adriano, Carol Giongo, Rosemar, Flávio Baby, Jão, César, Alexandre, Soraya, Maurício, Fernando e Renata.

À nossa Ercília e a Di Maciel, sempre prestativas...

A um anjo da guarda chamado Simone Perche Toledo, presente durante todo o trabalho de microscopia eletrônica, por agendar o microscópio sempre que possível e impossível, pelas ampliações, dicas em geral e pela amizade que fizemos; e ao Silvio pelas ampliações.

Aos meus amigos de todas as horas durante estes anos: Maria Alice, Euler e Denise.

Às meninas, Rose, Simone, Érica e Gil, amigas de hoje e sempre...

Aos funcionários do IQ, André e Bel da CPG, Rose, Lúcia e Nelson da BIQ e Paula do xerox pela atenção e disponibilidade em ajudar.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para este trabalho, mesmo nos menores detalhes, como uma sugestão, uma piada ou um sorriso e com isso fizeram os meus dias melhores. Eu sempre serei grata.

## **Alterações na ultra-estrutura do cabelo induzidas por cuidados diários e seus efeitos nas propriedades de cor**

Tese de Doutorado de Carla Scanavez

Orientadora: Prof.a Dra. Inés Joeques

Instituto de Química – UNICAMP - Cidade Universitária Zeferino Vaz

Cx. Postal: 6154 CEP:13083-970 Campinas – São Paulo - Brasil

### **RESUMO**

A morfologia e a estrutura do cabelo foram descritas por microscopia eletrônica na década de 50. Desde então, a fibra tem sido muito estudada, por exemplo, quanto à sorção de tensoativos, ao efeito da sua oxidação na resistência mecânica, a perda de proteínas da fibra devida à ação de pentear, novos produtos para coloração, entre outros. Entretanto, pouco se sabe sobre como os cuidados diários afetam a estrutura da fibra e menos ainda sobre a influência destes nas propriedades de cor do cabelo. Este trabalho mostra resultados físico-químicos de estudos sobre alterações na ultra-estrutura e na cor do cabelo.

Utilizou-se cabelo castanho comum, cabelo tingido e cabelo castanho padrão. O cabelo padrão foi submetido a três tratamentos diferentes: 1) lavagens com tensoativo, seguido de pentear com pente, secagem com secador e novamente o pentear; 2) exposição à água 40°C; e 3) exposição ao calor produzido pelo secador. O cabelo comum foi exposto à radiação ultravioleta.

Alterações na ultra-estrutura dos cabelos foram observadas por microscopia eletrônica. Os resultados mostraram que os tratamentos danificam a cutícula do cabelo pela extração de material protéico, resultando cavidades na endocutícula, descolamento, trinca e quebra das células cuticulares. As cavidades possuem diâmetros variados que vão de cerca de 50 a 200  $\mu\text{m}$  e podem ser de dois tipos: algumas preenchidas com menor densidade de material orgânico e outras preenchidas por ar ou vapor d'água. O descolamento das cutículas pode ocorrer de duas formas: através do complexo da membrana celular, o "cmc", e através do rompimento da endocutícula, que ocorre preferencialmente onde há cavidades.

Estes danos na ultra-estrutura produzem alterações significantes na cor do cabelo, como observado por espectrofotometria de refletância difusa. Os tratamentos abrasivos suaves (5 a 20 lavadas) ou com água 40°C aumentam a luminosidade ( $L^*$ ) do cabelo, tornando-o mais claro. Após os tratamentos abrasivos severos (30 a 120 lavadas) ou com irradiação UV, a diferença de cor total ( $DE^*$ ) se altera, principalmente influenciada por  $Db^*$  (coordenada amarelo-azul), mostrando um amarelamento do cabelo. Estes resultados mostram que a espectrofotometria de refletância difusa (ERD) e o método utilizado são sensíveis para detectar danos na cutícula do cabelo. Contudo, danos severos, como remoção completa das células cuticulares e rompimento macrofibrilas no córtex não produzem alterações nos parâmetros de cor. Este comportamento também é verificado para o desaparecimento da medula, observado por microscopia ótica.

Um modelo simplificado de reflexão da luz foi desenvolvido para estimar a refletância do cabelo antes e depois dos danos. Os resultados concordaram com os dados experimentais.

## **Human hair: ultrastructural changes caused by daily care and effects on color properties**

Doctorate Thesis of Carla Scanavez

Advisor: Prof. Inés Joeques

Instituto de Química - UNICAMP - Cidade Universitária Zeferino Vaz

Cx. Postal: 6154 CEP:13083-970 Campinas – São Paulo - Brasil

### **ABSTRACT**

The morphology and structure of human hair was well-described using electron microscopy in the 50's. Since then, hair fibers have been studied with respect to surfactant uptake, fiber oxidation effects on mechanical properties, and protein loss due to combing, new dyes and others. However, there is no data about how daily care operations affect the hair fibers. This work shows results of physicochemical studies on ultrastructure and color changes.

Virgin dark-brown hair, dyed hair and non-virgin dark-brown hair were used. Three treatments applied to the virgin dark-brown hair: 1) hand-washing using surfactant followed by wet combing, heat-drying and dry-combing; 2) exposure to 40°C water, and 3) exposure to a dryer-machine heat. The non-virgin dark-brown hair was exposed to ultraviolet radiation.

Human hair ultrastructure changes were studied through electron microscopy. We showed that these treatments damage the hair cuticle by extraction of soluble protein material, rendering cavities or holes in the endocuticle, and displacement, cracking and cleavage of cuticle cells. The cavities were about 50 to 200  $\mu\text{m}$  in diameter. There are two kinds of cavities: some filled with lower density material than the remaining endocuticle and some filled with air or water vapor. There are two mechanisms for cuticle removal: through cell membrane complex cleavage and through endocuticle breaking; the last takes place preferentially in cavity surroundings. A model for the formation of these cavities is proposed, taking account of the observations for all the types of hair tested.

These ultrastructural damages produce significant changes on hair color, as shown by diffuse reflectance spectrophotometry. After soft washing treatments (5 to 20 washes) or after standing in 40° C water, hair lightness ( $L^*$ ) increases. After drastic washing treatments (30 to 120 washes) or UV-irradiation, hair color parameter ( $DE^*$ ) changes, mainly through  $Db^*$  (yellow-blue coordinate), which means a yellowing of the hair. This shows that diffuse reflectance is able to detect hair cuticle damages. However, deeper hair damages, as complete cuticle loss and macrofibrillar disruptions in the cortex produced no changes in the hair color parameters. This is also true for the drastic damages in the medula caused by soft heat drying, which was detected by the medula disappearance in the light microscope. A model based on light reflection was developed to estimate the hair reflectance before and after damage. Results agree with the experimental data.

## **Carla Maria Sanches Scanavez de Paula**

### *Súmula Curricular*

---

brasileira, 30 anos, casada

#### **1 - FORMAÇÃO ACADÊMICA**

**- Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas**

**- Licenciatura Plena em Ciências**

Instituto de Química - UNESP - Araraquara/SP (1993)

**- Mestre em Engenharia Química**

"Estudo da influência do tratamento químico de fibras de sisal nas propriedades mecânicas de compósito sisal/epóxi" -

Faculdade de Engenharia Química – UNICAMP – Campinas/SP (1996)

#### **2 - PUBLICAÇÕES**

"Measurement of hair luster by diffuse reflectance spectrophotometry"

C. Scanavez, M. Zoega, A. Barbosa, I. Joekes

Journal of Cosmetic Science, 51, p.289-302, 2000

"Electron microscopy of human hair"

C. Scanavez, I. Joekes, M. Silveira

Acta Microscopica, 8, supplement C, October, p.581-582, 1999

"Degradation of human hair caused by ultraviolet radiation: measurements of protein loss and color changes"

A.C. S Nogueira, C. Scanavez, I. Joekes

Anais do XV Congresso Latinoamericano e Ibérico de Químicos Cosméticos de 11 a 14 de setembro de 2001, Buenos Aires, Argentina.

#### **3 - SEMINÁRIOS**

"Otimização da técnica de preparação de cabelo humano para microscopia eletrônica de transmissão"

Seminários do Laboratório de Microscopia Eletrônica - Instituto de Física – USP - SP - 13 de maio de 1999.

"Estudos de danos em cabelo humano por microscopia eletrônica"

Seminários do Laboratório de Microscopia Eletrônica - Instituto de Física – USP - SP - 22 de maio de 2000.

## INDICE

<b>I – INTRODUÇÃO</b>	1
I.1 – Morfologia e ultra-estrutura do cabelo	1
I.2 – A cor do cabelo	3
I.3 – O efeito de cuidados diários no cabelo	6
I.4 – Teoria de cor: alguns fundamentos	8
I.3.1 – <i>O sistema CIE</i>	9
I.5 – Medidas das coordenadas de cor e de diferença de cor	12
I.5.1 – <i>Espectrofotometria de refletância difusa</i>	12
I.5.2 – <i>Determinação dos parâmetros de diferença de cor</i>	13
<b>II – OBJETIVOS</b>	14
<b>III – EXPERIMENTAL</b>	15
III.1 – <b>Materiais</b>	15
III.1.1 – <i>O cabelo</i>	15
III.1.2 – <i>Descrição das amostras</i>	17
III.2 – <b>Métodos</b>	18
III.2.1 – Rota Experimental	18
III.2.2 – Limpeza dos cabelos	20
III.2.3 – Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	20
III.2.3.1 – <i>Procedimento de preparação dos fios de cabelo para MET</i>	21
III.2.3.2 – <i>Ultramicrotomia</i>	21
III.2.3.3 – <i>Pós-coloração dos cortes</i>	22
III.2.3.4 – <i>Quantificação das cavidades nas cutículas do cabelo padrão utilizando método de contagem com tela reticulada sobre as micrografias obtidas</i>	22
III.2.4 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	23
III.2.5 – Microscopia de luz	23
III.2.6 – Espectrofotometria de refletância difusa (ERD)	23
III.2.6.1 – <i>As condições de operação do equipamento</i>	23
III.2.6.2 – <i>Avaliação da reprodutibilidade de medida, da influência da cor e da textura da amostra nos parâmetros de cor</i>	25

III.2.6.2 – <i>Avaliação da reprodutibilidade e do erro do método de medida utilizado para cabelo</i>	25
III.2.7. – Verificação do efeito do calor produzido pelo secador no cabelo	26
III.2.7.1 – Medidas do aumento de temperatura proporcionado pelo secador nas proximidades da amostra	27
III.2.8 - Ensaio simulando tratamentos diários realizados no cabelo	27
III.2.9 – Ensaio de avaliação do efeito da água de torneira a 40°C no cabelo	28
III.2.10 – Ensaio com radiação artificial UV	29
III.2.10.1 – <i>Medidas de intensidades e potência da radiação solar e da lâmpada de vapor de mercúrio</i>	29
<b>IV – RESULTADOS</b>	32
IV.1 – Otimização da metodologia de preparação de cabelo para MET	32
IV.2 – Caracterização da morfologia e ultra-estrutura do cabelo por microscopia de luz e eletrônica	34
IV.3 – Otimização da metodologia de espectrofotometria de refletância difusa (ERD) para o estudo de cabelo	45
IV.3.1 – Reprodutibilidade de medida, influência da cor e da textura da amostra	46
IV.3.2 – Avaliação da reprodutibilidade e do erro do método de medida para cabelo	48
IV.4 – Influência de alterações ultra-estruturais nas propriedades de cor do cabelo	50
IV.4.1 – Efeito do calor produzido pelo secador no cabelo padrão	50
IV.4.2 – Efeito do tratamento com água a 40° C no cabelo padrão	51
IV.4.3 – Efeito de lavagens consecutivas no cabelo padrão	55
IV.4.5 – Efeito da irradiação UV-A no cabelo comum	60
<b>V – DISCUSSÃO</b>	63
V.1 – Sobre as cavidades no cabelo	63
V.2 – Sobre o descolamento das células cuticulares do cabelo	70
V.3 – Sobre as propriedades de cor do cabelo	74
<b>VI - CONCLUSÕES</b>	86
<b>VII – REFERÊNCIAS</b>	89
<b>VIII - ANEXO: Micrografias</b>	95

## I – INTRODUÇÃO

### I.1 – Morfologia e ultra-estrutura do cabelo

O cabelo é constituído basicamente de queratina, tal como a lã. As queratinas são formadas por cadeias polipeptídicas e se distinguem de outras proteínas por seu alto teor de pontes de dissulfeto (S-S) provenientes do aminoácido cistina <sup>1</sup>. As pontes de dissulfeto formam uma rede tridimensional com alta densidade de ligações cruzadas, esta característica proporciona ao cabelo uma resistência ao ataque químico. A redução destas ligações causa mudanças nas propriedades mecânicas do fio <sup>2</sup>.

A ultra-estrutura das queratinas, em particular de lã e cabelo, foi estudada na década de 50 principalmente com o advento do microscópio eletrônico de transmissão. As fibras de lã foram mais estudadas, devido sua aplicação na indústria têxtil. Muito da descrição feita para lã é utilizada para cabelo, porém sabe-se que há diferenças. Algumas das principais diferenças descritas são o número de células cuticulares, que é de cerca de três vezes maior no cabelo, e no córtex, onde o cabelo possuiu um só tipo de célula cortical e ainda as melaninas <sup>3,4,5</sup>.

O cabelo possui quatro componentes principais: a cutícula, o córtex, a medula e o complexo da membrana celular que une as células corticais e cuticulares adjacentes. A cutícula, constituída por material protéico e amorfo, é parte mais externa do fio, sendo responsável pela proteção das células corticais <sup>6,7</sup>. A cutícula também regula o ingresso e o egresso de água da fibra, o que permite manter as propriedades físicas da fibra <sup>8</sup>. O córtex, o maior constituinte da fibra de cabelo, é formado por macrofibrilas de queratina alinhadas na direção do fio. No interior do córtex está localizada a medula. Esta componente pode estar presente ou ausente ao longo do comprimento do fio <sup>6</sup>. Distribuídos aleatoriamente no córtex estão grânulos de melanina cujo tipo, tamanho e quantidade determinam a cor do cabelo <sup>6</sup>.

Morfologicamente a cutícula é constituída por 6 a 10 camadas de células sobrepostas na direção longitudinal da fibra; cada célula possui forma retangular com cerca de 30-50  $\mu\text{m}$  de comprimento e cerca 0,3  $\mu\text{m}$  de espessura. Devido ao modo como as

células se sobrepõem, somente 1/6 das mesmas ficam expostas na superfície do cabelo <sup>6,9</sup>. As células cuticulares possuem uma fina membrana externa, a epicutícula, e duas camadas internas, a endocutícula e a exocutícula. A epicutícula possui 2,5-3,0 nm de espessura e recobre cada célula. Esta membrana contém proteínas (80%) e lipídeos (5%) e é quimicamente resistente a álcali, ácidos, enzimas, agentes redutores e oxidantes <sup>8,9</sup>.

Logo abaixo da epicutícula está uma camada com alto teor de cistina, quimicamente resistente e hidrofóbica de 0,1 µm de espessura denominada camada A <sup>10</sup>. A exocutícula localiza-se abaixo da camada A e compõe cerca de 2/3 da célula. Esta componente possui alta concentração de cistina (15%), logo um elevado índice de ligações cruzadas S-S, que são responsáveis pela sua natureza hidrofóbica <sup>11</sup>. Devido a constituição química, a epicutícula, a camada A e a exocutícula funcionam como uma barreira à difusão de moléculas de alto peso molecular <sup>9</sup>. A endocutícula é composta por proteínas denominadas não-queratinosas, com teor elevado de aminoácidos ácidos e básicos, e baixa concentração de cistina (3%). Esta constituição e a ausência de reticulações lhe conferem um caráter hidrofílico <sup>7,9</sup>.

Na região onde as cutículas se sobrepõem, entre duas células cuticulares, se localizam a membrana das células e um material cimentante que formam o complexo da membrana celular, o "cmc", com 250 Å de espessura. O "cmc" é formado por três camadas: a camada δ (150 Å) composta por proteínas e polissacarídeos, e duas camadas β (50 Å de espessura cada) formadas por lipídeos. A camada δ está intercalada entre as duas camadas β <sup>12</sup>.

O córtex é organizado em células corticais, matriz inter-macrofibrilar e complexo da membrana celular. As células corticais têm uma espessura que varia de 1 a 6 µm e cerca de 100 µm em comprimento. O cabelo humano possui um córtex simétrico, ao contrário da lã, e com proporção fixa de material fibrilar (cristalino) para não-fibrilar (amorfo). As macrofibrilas que compõem o córtex apresentam-se na forma de espiral, tem de 0,1 a 0,4 µm de diâmetro e são as maiores constituintes das células corticais. Cada macrofibrila consiste de filamentos cristalinos arranjados em α-hélice e denominados microfibrilas (α-queratina) e de uma matriz amorfa (γ-queratina) que envolve as microfibrilas <sup>3, 4, 13</sup>. A

matriz de amorfa de  $\gamma$ -queratina é rica em cistina e possui um teor pontes de dissulfeto intra e intermolecular, que não ocorrem nos filamentos cristalinos de  $\alpha$ -queratina<sup>13, 14</sup>.

A Figura 1 mostra um esquema representativo da fibra de cabelo e das subunidades componentes do córtex e da cutícula.

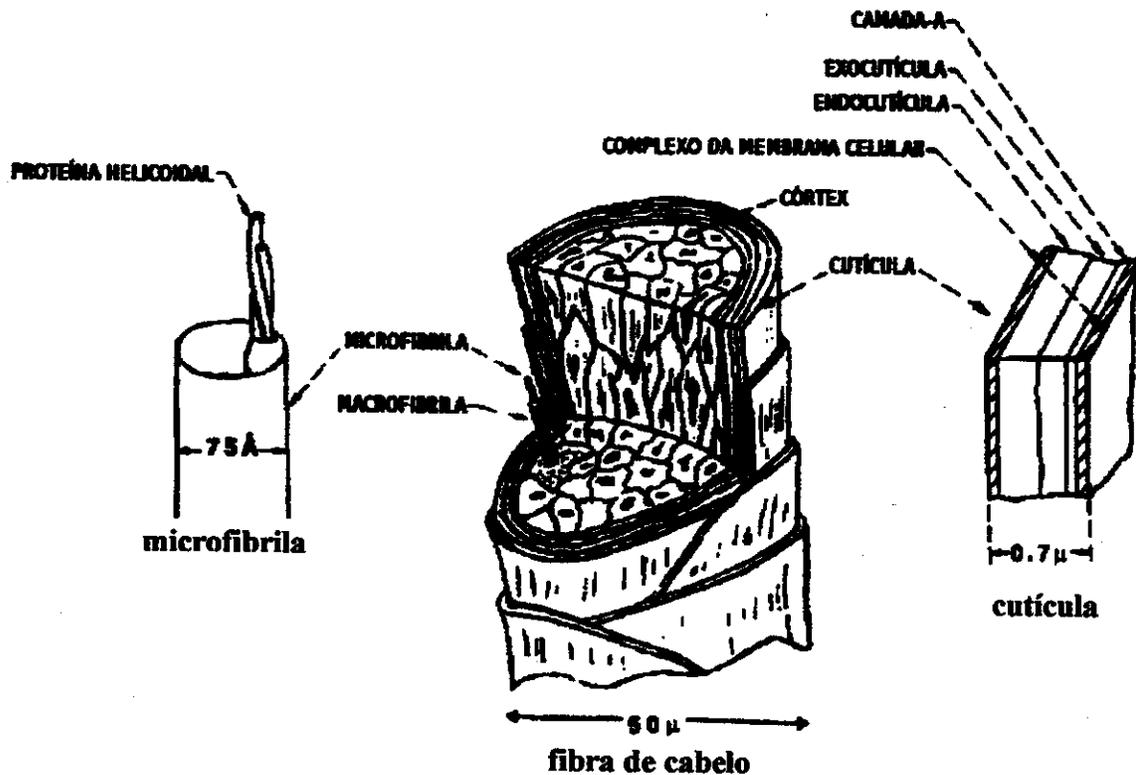


Figura 1: Esquema representativo de um corte na fibra de cabelo e dos constituintes da cutícula e do córtex<sup>9</sup>.

## I.2 - A cor do cabelo

A cor e o brilho são propriedades importantes para a aparência dos cabelos. A cor do cabelo é dada pela melanina, que está presente no córtex. A melanina se encontra aleatoriamente distribuída e na forma de grânulos quase ovais ou alongados no córtex, com cerca de 0,4 a 1,0 μm de comprimento e 0,1 a 0,5 μm de espessura<sup>15</sup>. Em geral, os grânulos de melanina constituem menos de 3% da massa total da fibra de cabelo<sup>9</sup>.

A melanina é um material complexo e absorvente, que está presente no cabelo, na pele, na retina dos olhos e nas penas de pássaros. Há duas classes gerais de melanina: a eumelanina e “feomelanina”. A eumelanina é um material insolúvel em solvente comuns, cuja cor varia de preto a marrom, e é encontrada em cabelos pretos e castanhos e na retina dos olhos. A “feomelanina” é um material solúvel em álcali, cuja cor varia do amarelo ao marrom avermelhado, e é encontrada em cabelos ruivos e loiros e penas vermelhas. As melaninas naturais são consideradas polímeros, embora os detalhes da polimerização e o papel das proteínas não sejam completamente conhecidos. Ainda assim, o consenso geral é de que a eumelanina possui uma estrutura altamente reticulada constituída de muitas centenas de monômeros<sup>9</sup>.

Neste trabalho estudamos efeitos de cuidados diários na cor de cabelos castanhos. Logo, é interessante apresentar um espectro de absorção da melanina na região do visível para comparação futura com os dados de cor obtidos.

A Figura 2 apresenta o espectro de absorção na região do visível da eumelanina da pele, densidade ótica versus comprimento de onda (nm), que também é a principal responsável pela cor do cabelo castanho. A densidade ótica ( $OD \times (mg/mL)^{-1}$ ) neste espectro foi calculada através do coeficiente de extinção molar e da massa molar estimada para o monômero da eumelanina, e corresponde à absorbância\*.

Um dos primeiros trabalhos sobre cor de cabelo foi uma classificação instrumental, ou seja, não subjetiva, de cabelos de cores variadas em função da luminosidade e pureza da cor. As medidas foram feitas em um tipo de espectrofotômetro, construído pelos autores, que gerava curvas de refletância vs. ângulo de reflexão. A classificação final obtida foi a seguinte: cabelos com luminosidade alta (> 20%) são loiros ou loiros claros, cabelos com luminosidade média (entre 10 e 20%) são castanhos e cabelos com luminosidade baixa (<10%) são castanhos escuros ou pretos. Quanto à pureza, as cores dos cabelos poderiam ser intensas (> 30%) ou pardas. Com esta classificação foi possível descrever cores como loiro claro intenso ou castanho escuro pardo<sup>16</sup>.

---

\* Estas informações foram obtidas no site do Oregon Medical Laser Center – Optical Absorption of Melanin – julho 2001, <http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/opticaldepth.html>

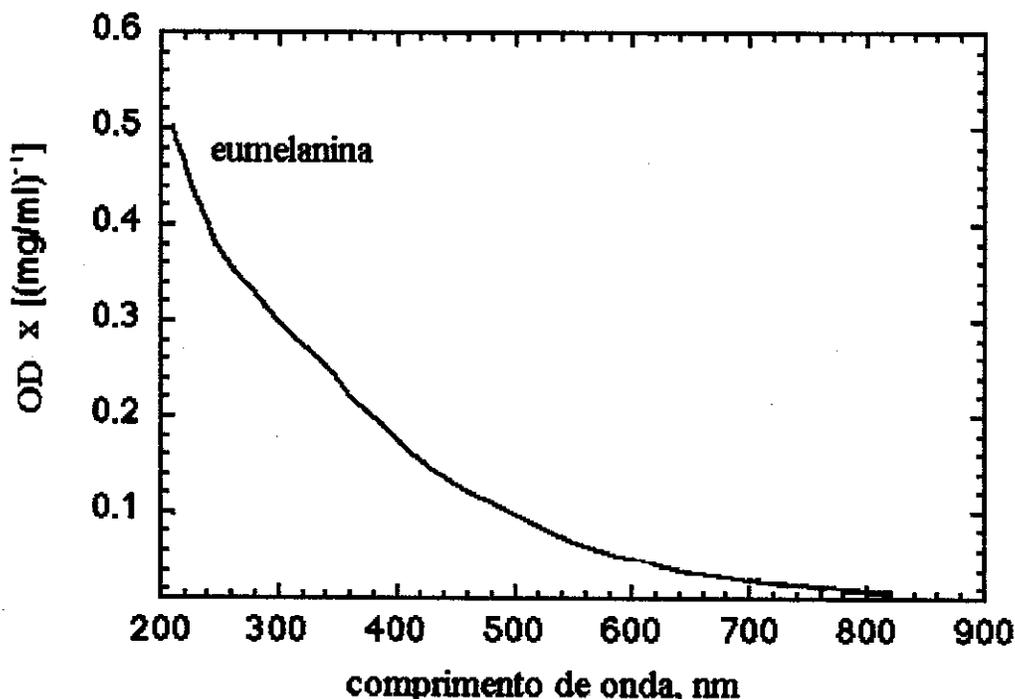


Figura 2: Densidade ótica (OD) x concentração de eumelanina (mg/ml)<sup>-1</sup> da pele versus comprimento de onda (nm). Os autores assumiram caminho ótico de 120  $\mu\text{m}$  correspondente a uma dupla passagem através da epiderme. (<http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/opticaldepth.html>).

Atualmente o estudo da cor de cabelo tem sido focalizado para sua modificação através de processos oxidativos, como descoloração e tingimento, e mais recentemente para os efeitos da radiação solar.

Um estudo recente mostrou que as radiações UV-A e visível são as mais danosas à cor de cabelos normais e oxidados. A exposição dos cabelos durante duas semanas a estas radiações resulta em um intenso amarelamento de sua cor <sup>17</sup>. Esta mudança de cor é atribuída a fotodegradação das proteínas <sup>18</sup>, dos lipídeos internos <sup>19</sup> e da melanina <sup>20</sup>.

McMullen e Jachowicz <sup>21</sup> estudaram o efeito do calor dos ferros quentes de ondular ou fazer cachos no cabelo “curling irons”, na cor e na concentração de triptofano deste. Cabelo branco, cabelo castanho claro e cabelo descolorido foram tratados com os ferros quentes a 160°C, em um total de 30 min. No estudo da cor os autores utilizaram as

equações de cor do sistema Hunter L\*, a\*, b\*. Mudanças de cor significativas foram observadas para o cabelo branco e descolorido, que se tornaram mais escuros, amarelos, vermelhos e com índice de amarelamento, de 10 e 7 unidades, respectivamente. No cabelo castanho claro, a cor mudou em menor escala, e o índice de amarelamento foi alterado em 2 unidades. Através de estudos por espectroscopia de fluorescência, os autores atribuíam o amarelamento do cabelo à degradação de triptofano e de seus produtos de reação causada pelo calor. Outros estudos também evidenciaram a degradação e o amarelamento visual em fibras de lã causada por radiação ultravioleta <sup>22,23</sup>.

Além da cor, outra importante característica da aparência do cabelo é o brilho. A medição de brilho mais usada é a do brilho especular, que corresponde à reflexão especular da luz emitida por uma amostra em relação a um padrão <sup>24, 25</sup>. O equipamento mais comumente utilizado para medidas de brilho, incluindo o cabelo <sup>26, 27</sup>, é o goniofotômetro <sup>25, 28</sup>.

É sabido e visivelmente observado que alguns cosméticos proporcionam uma sensação visual de aumento de brilho no cabelo. De acordo com Sauremann e colaboradores <sup>29</sup> as cutículas conferem uma certa rugosidade ao cabelo. Esta rugosidade pode ser aumentada com a danificação das cutículas ou diminuída pelo tratamento com xampus. A diminuição da rugosidade de uma superfície influencia diretamente no brilho desta.

### **I.3 - O efeito de cuidados diários no cabelo**

Geralmente, lavar os cabelos com xampu resulta na remoção da sujeira e oleosidade da superfície da fibra <sup>30</sup>. Há algumas décadas, acreditava-se que as formulações de limpeza não causassem danos internos ao cabelo. Entretanto, pesquisas recentes tem mostrado que os lipídeos internos <sup>9</sup>, podem ser removidos pelos tensoativos durante repetidas lavagens. Outras investigações, utilizando microscopia eletrônica de transmissão (MET), indicaram que sucessivas lavagens com xampu extraem pequenas quantidades de proteína da endocutícula, que pertence à parte não queratinosa e quimicamente fraca do cabelo, deixando-a com "buracos" no seu interior <sup>31,32</sup>.

Esforços mecânicos, tais como escovar, pentear, secar com toalhas e manusear os cabelos secos ou molhados causam danos a cutícula que gradualmente levam a ruptura e ao desprendimento das suas camadas mais externas, causando as conhecidas pontas duplas <sup>9</sup>.

Os condicionadores e cremes que normalmente são aplicados após o xampu, facilitam o penteado, removem os nós e diminuem o atrito durante o pentear.

Holt <sup>33</sup> observou em lã que a sorção de tensoativo aniônico (SDS – docecil sulfato de sódio) influencia na sorção posterior de tensoativos catiônicos (CTAB – brometo de cetitrimetilamônio). A sorção inicial de tensoativo aniônico na lã é maior do que a de catiônico aplicado posteriormente; em seguida ambos desorvem. Quando a lã foi tratada com tensoativo catiônico e em seguida com tensoativo aniônico, resultados similares de sorção/dessorção foram observados. O autor propõe a formação de um complexo aniônico-catiônico que, independente da ordem de aplicação dos tensoativos, desorve lentamente do cabelo.

Segundo Kelly e Robbins <sup>34</sup>, descolorir ou tratar os cabelos com produtos para permanente faz diminuir a quantidade total de cistina presente na fibra, resultando na formação de ácido cistéico e cisteína. Condições drásticas de descoloração também degradam os aminoácidos tirosina e metionina. Os autores também observaram significantes diferenças nos níveis de cistina, tirosina, lisina e histidina, devido aos efeitos combinados da exposição ao sol, à água do mar e de piscina, à abrasão e lavagem com xampu.

Estudos utilizando microscopia eletrônica de transmissão (MET) revelaram que a descoloração causa uma progressiva dissolução dos grânulos de melanina e o rompimento das pontes de cistina na camada A da cutícula <sup>31</sup>.

Enquanto os processos de descoloração, tintura reativa e com complexos metálicos parecem provocar poucas mudanças na composição da cutícula, a tintura com crômio causa significativa perda das proteínas da endocutícula durante o tingimento <sup>31</sup>.

No cabelo pouco danificado, as células cuticulares apresentam-se planas, assentadas na superfície e com contorno regular. O simples ato de escovar os cabelos pode causar o seu um levantamento parcial da superfície da fibra <sup>9</sup>.

Um estudo recente revelou que o cabelo perde proteínas durante o pentear e esta perda aumenta com a repetição do penteado. Constatou-se que este comportamento é independente da aplicação de xampu ou condicionador ao cabelo, mas que algumas formulações são capazes de diminuir esta perda <sup>35</sup>.

#### **I.4 – Teoria de cor: alguns fundamentos**

Em nosso grupo de pesquisa, o estudo de cor foi iniciado por Ana Maria Rocco Behrens <sup>36</sup>, cuja tese demonstra seu sólido conhecimento sobre o assunto e foi uma referência para este trabalho.

Segundo o Comitê de Colorimetria da Sociedade de Ótica Americana\* : “Cor consiste de características da luz outras que não homogeneidades espaciais e temporais, a luz sendo o aspecto da energia radiante do qual um observador humano percebe através de sensações visuais, as quais vem da simulação da retina do olho” <sup>36</sup>.

A percepção visual de objetos é dada pelo modo como a luz interage com os mesmos. De maneira simplificada, a luz pode ser transmitida, absorvida e espalhada. A luz pode atravessar um objeto sem sofrer modificações e, portanto a luz é transmitida e o objeto é dito transparente. Se o objeto é colorido, toda luz é transmitida exceto uma pequena fração que é refletida nas duas superfícies do objeto. A reflexão da luz ocorre quando o meio e o objeto tem índices de refração diferentes. A luz pode ser também absorvida, por exemplo, se o objeto absorve parte da luz, ele aparece colorido, mas ainda é transparente; agora se toda luz é absorvida, o material aparece negro. Já o espalhamento ocorre quando a luz interage com um objeto, onde parte da luz é absorvida e espalhada em muitas direções diferentes. Se há espalhamento suficiente, é dito que a luz é *difusamente refletida* pelo material. Quando somente parte da luz é espalhada e parte é transmitida, o material é dito translúcido; e se o espalhamento é tão intenso que nenhuma luz é transmitida e somente alguma luz é absorvida, o material é chamado *opaco*. A cor do objeto depende da

---

\* Committee on Colorimetry of the Optical Society of America: “Color consists of the characteristics of light other than spatial and temporal inhomogeneities; light being that aspect fradiant energy of which a human observer is aware through the visual sensations which arise from the simulation of the retina of the eye” .

quantidade e do tipo de espalhamento e absorção presentes, por exemplo: se não há absorção e a mesma quantidade de radiação é espalhada em todos os comprimentos de onda, o material aparece branco; senão colorido <sup>37</sup>.

A cor que surge na observação de um objeto é fruto da ação conjunta de fatores que provocam esta impressão nos órgãos da visão. São eles: as características espectrais do iluminante, do objeto e do olho humano. Alterando-se qualquer um desses três fatores, a impressão cor também sofre uma alteração. Há vários sistemas que são utilizados para descrever e padronizar a cor, dentre eles é mais comum é o sistema CIE <sup>38</sup>.

#### 1.4 1 – O sistema CIE <sup>36, 37, 38</sup>

O sistema CIE (Commission International de Léclairg ou International Commission on Illumination) é comumente usado em instrumentos de medida de cor. Este sistema parte do princípio de que os estímulos de cor são uma combinação própria do objeto, do iluminante e do observador. Em 1931, o CIE introduziu uma padronização de fontes e observadores, e uma metodologia para produção de medidas de cor. A padronização dos iluminantes baseou-se na distribuição espectral de potências da luz natural do dia, e representa uma média da luz do dia na faixa de comprimento de onda de 300 a 830 nm e a uma temperatura apropriada. O iluminante mais importante e recomendado pelo CIE para medidas de cor é o D65. A segunda maior recomendação do CIE (1964) foi o observador padrão, cuja visão de cor é representativa da média da população humana que possui resposta visual de cor normal, em ângulo de observação de 10°. Para um sistema tricromático arbitrário, composto pelo vermelho ( $\lambda = 700$  nm), verde ( $\lambda = 546$  nm) e azul ( $\lambda = 436$  nm), define-se três estímulos padrão do observador x, y e z.

Assim, multiplicando-se a curva espectral do iluminante (potência relativa vs.  $\lambda$ , nm), o espectro de refletância ou transmitância do objeto, e as funções padrão do observador x, y, e z, foram calculados três valores numéricos que são denominados valores tristímulos do espectro de cor. A representação dos valores tristímulos CIE é dada por X, Y, Z. A Figura 3 apresenta um esquema representativo da obtenção dos valores tristímulos CIE.

Os valores tristímulos de um estímulo de cor permitem obter as coordenadas de cromaticidade, que são usadas na representação gráfica de diagramas de cromaticidade no sistema CIE. Há alguns tipos de diagramas de cromaticidade e a descrição da cor nestes depende do iluminante e do observador e do sistema de equações utilizado.

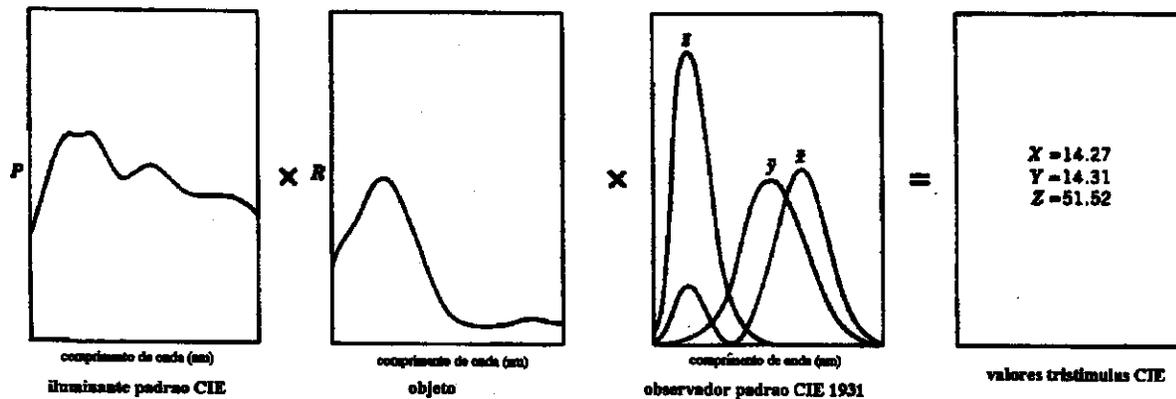


Figura 3: Representação de como os valores tristímulos CIE ( $X, Y, Z$ ) são obtidos<sup>37</sup>. Onde  $P$  é potência relativa do iluminante,  $R$  é refletância do objeto,  $x$ ,  $y$  e  $z$  são as funções padrão obtidas para o observador (resposta visual de cor normal para o vermelho, verde e azul).

Neste trabalho, utilizamos para descrição da cor o sistema denominado coordenadas de cor oponentes. Neste sistema a idéia principal é a de que os sinais captados pelo olho são decodificados no cérebro como impressões de claro-escuro, vermelho – verde e amarelo – azul. Assim, uma cor não pode ser amarela e azul ao mesmo tempo, ou verde e vermelha, mas pode ser vermelha e amarela como na cor laranja, ou vermelha e azul, como na cor púrpura. Deste modo, duas cores oponentes podem ser expressas em uma única coordenada de cor. Por exemplo, a coordenada  $a$  corresponde a vermelho-verde, que é positiva se a cor é vermelha e negativa se a cor é verde. Da mesma maneira, amarelo-azul são designados pela coordenada  $b$ , que é positiva para cor amarela e negativa para cor azul. A terceira coordenada é dada pela luminosidade da cor  $L$ . A Figura 4 mostra o espaço de cor CIE  $L, a, b$  de coordenadas de cores oponentes, que em 1976 por recomendação do CIE foi oficialmente abreviado para CIELAB.

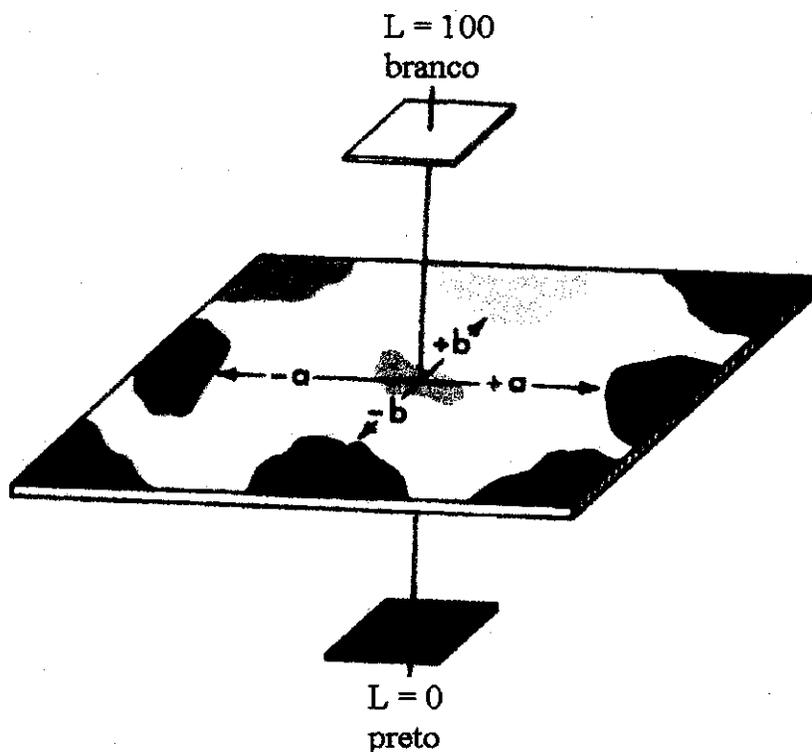


Figura 4: Coordenadas do espaço de cor  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  do sistema CIELAB de cores oponentes, onde  $L^*$  é a coordenada de luminosidade,  $a^*$  é coordenada vermelho-verde e  $b^*$  é a coordenada amarelo-azul (sistema CIELAB)<sup>37</sup>.

As coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  estão relacionadas com os valores tristímulos  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$  para o sistema CIE pelas seguintes equações:

$$L^* = 116 (Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad \text{para } Y/Y_n > 0,01$$

$$a^* = 500 [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}]$$

$$b^* = 200 [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}]$$

onde  $X_n$ ,  $Y_n$  e  $Z_n$  são valores tristímulos de um padrão branco para um dado iluminante e um dado observador.

## **I.5 – Medidas das coordenadas de cor e de diferença de cor**

### *I.5.1 – Espectrofotometria de refletância difusa (ERD)*

A espectrofotometria de refletância difusa é uma técnica conhecida e empregada em medidas de cor de substâncias opacas e superfícies rugosas. Esta técnica é utilizada nas áreas de controle de qualidade e desenvolvimento pelas indústrias de tinta, papel, revestimentos cerâmicos <sup>39</sup> e alimentos <sup>40</sup>.

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa mostraram que esta técnica também pode ser utilizada na quantificação do brilho, resultante da aplicação de cosméticos, no cabelo <sup>41</sup>.

Para obtenção das medidas de refletância e das coordenadas de cor utilizou-se um espectrofotômetro Macbeth® Color-eye® 2020. Este espectrofotômetro fornece dados de porcentagem de refletância vs. comprimento de onda, numa faixa espectral de medida de 360 a 740 nm em intervalos de 20 nm, e valores numéricos de coordenadas de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e diferença de cor ( $Da^*$ ,  $Db^*$ ,  $DL^*$  e  $DE^*$ ).

O equipamento emprega como fonte de luz uma lâmpada de xenônio. A luz da lâmpada passa por filtros que a convertem para radiação do iluminante padrão CIE D65. O espectro do iluminante D65 corresponde à irradiação solar, ou seja, à luz média do dia, porém com maior quantidade de radiação ultravioleta <sup>38</sup>.

É utilizada uma esfera integradora recoberta internamente com um padrão branco, que pode ser MgO ou BaSO<sub>4</sub>, e deve refletir no cerca de 95% da luz <sup>38</sup>. Através de anteparos e filtros especialmente posicionados dentro da esfera, a amostra é iluminada de forma difusa, e é possível incluir ou excluir a radiação ultravioleta (< 400 nm) e a componente especular da reflexão da leitura de final de refletância.

A calibração do equipamento é feita com cerâmica branca padrão do fabricante. A escolha das condições de operação é feita via software. A Figura 5 mostra um esquema do arranjo interno do Macbeth® Color – eye® 2020.

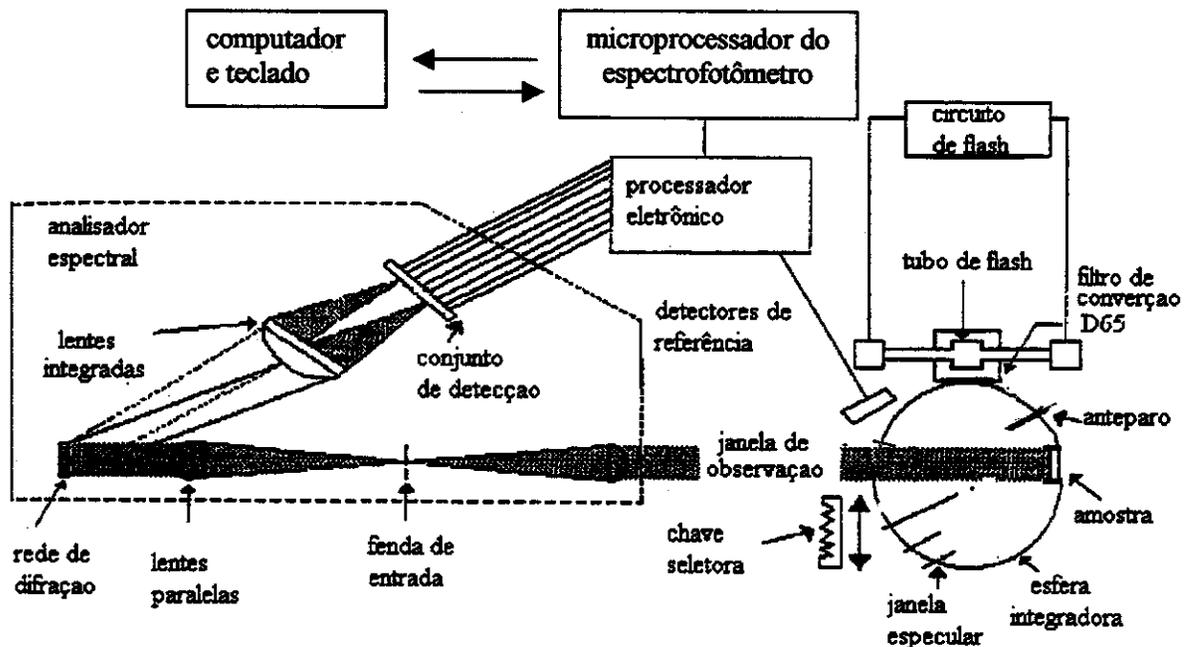


Figura 5: Diagrama funcional do espectrofotômetro de refletância difusa Macbeth® Color-eye® 2020 <sup>42</sup>.

### 1.5.2 - Determinação dos parâmetros de diferença de cor

O sistema CIELAB de equações de cor baseia-se em diferenças de cor perceptíveis ao olho humano <sup>37</sup>. A partir da medição dos parâmetros de cor  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (coordenada verde - vermelha),  $b^*$  (coordenada azul - amarela), calculam-se os parâmetros de diferença de cor:  $DL^*$  (claro, se positivo ou escuro, se negativo),  $Da^*$  (vermelha, se positivo ou verde, se negativo),  $Db^*$  (azul, se negativo ou amarela, se positivo),  $DC^*$  (diferença de cromaticidade) e  $DE^*$  (diferença de cor total) <sup>43</sup>.

Os valores de diferença de cor ( $DL^*$ ,  $Da^*$ ,  $Db^*$ ,  $DC^*$ ) correspondem à subtração entre os valores obtidos para uma amostra e uma referência, por exemplo:

$$DL^* = L^* (\text{amostra}) - L^* (\text{referência})$$

A diferença absoluta das três coordenadas é dada por  $DE^*$ , que é a equação de diferença total de cor CIELAB de 1976 <sup>37,43</sup>:

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

## II – OBJETIVOS

Embora a morfologia e estrutura do cabelo tenham sido descritas há várias décadas, pouco se sabe sobre como os tratamentos cosméticos diários alteram sua ultra-estrutura e quais são os mecanismos de danificação. A literatura apresenta apenas dois artigos relatando danos originados pelo uso de cosméticos na ultra-estrutura do cabelo<sup>31,32</sup>. Outro tema pouco explorado é o estudo das propriedades de cor do cabelo, que se restringe à área de corantes para tingimento e a uns poucos artigos que tratam de brilho.

Este trabalho propõe estudar danos na ultra-estrutura do cabelo causados por tratamentos simples e verificar o efeito destes danos nas propriedades de cor do cabelo.

Para tanto, realizaremos:

- Caracterização da ultra-estrutura e de danos no cabelo comum, cabelo comum tingido e cabelo padrão através de microscopia eletrônica e ótica;
- Ensaios com cabelo padrão simulando tratamentos simples, como lavar com tensoativo, pentear e secar, exposição à água quente, ao secador de cabelo; e ensaio de irradiação UV em cabelo comum;
- Caracterização da ultra-estrutura do cabelo padrão após os tratamentos através de microscopia eletrônica e ótica, e verificação do efeito dos tratamentos realizados na cor do cabelo através de espectrofotometria de refletância difusa.

### III - EXPERIMENTAL

#### III. 1 – MATERIAIS

##### III. 1.1 – O cabelo

Amostras de cabelo provenientes de cabeças diferentes foram utilizadas neste trabalho. Estas amostras foram retiradas de mechas de cabelo padrão, cabelo comum, cabelo comum tingido e bulbos de cabelo comum, todas de origem caucasóide.

O cabelo humano pode ser de origem caucasóide, negróide ou mongolóide. O cabelo caucasiano é proveniente de pessoas de ancestralidade Européia, o que corresponde a 56% da população do planeta. São características do cabelo caucasiano a espessura fina, curvatura lisa a levemente ondulada, seção transversal redonda a levemente ovalada, diâmetro entre 50 a 120  $\mu\text{m}$  e cor que pode variar do loiro ao castanho escuro<sup>9</sup>.

O cabelo padrão é comercializado por empresas especializadas como a De Meo Brothers Inc., New York, onde uma mecha de cabelo de 30g e 20 cm de comprimento custa em média U\$300 (cotação de janeiro de 2000). De acordo com Ana Marta Fernandes Tucci, da Ind. e Com. de Cosméticos Natura Ltda, não existem normas de qualquer tipo para cabelo padrão. Segundo informações obtidas na International Hair Importers & Products Inc., New York\*, o cabelo é selecionado e coletado diretamente da cabeça de pessoas que não utilizaram tratamentos oxidativos, como descoloração, tingimento ou permanente. O cabelo coletado passa por avaliações e é designado padrão. Os métodos utilizados nesta avaliação e a história prévia do cabelo não são revelados. A única garantia é de que o cabelo não foi oxidado.

As indústrias cosméticas do mundo todo utilizam cabelo padrão em seus ensaios. A literatura especializada em cosméticos emprega principalmente o cabelo padrão, que é conhecido como “virgin hair”. A vantagem do uso do cabelo padrão em pesquisas acadêmicas é que os resultados obtidos são comparáveis com os da literatura especializada.

---

\* Comunicação pessoal com Daniel Loren da International Hair Importers & Products Inc., de 06/04/2000.

As amostras do cabelo não-padrão foram denominadas cabelo comum neste trabalho. O cabelo não-padrão não possui uma designação na literatura especializada, apenas especifica-se quais tratamentos o cabelo sofreu. O cabelo comum foi obtido como doação de voluntários conhecidos ou é remanescente de trabalhos anteriores do grupo. Em nosso laboratório, temos mechas de cabelos que foram coletadas em cabeleireiros ou doadas por voluntários. A história prévia destas amostras do cabelo é pouco conhecida. Supomos que estes cabelos passaram por tratamentos diários corriqueiros, como aplicar xampu e condicionador, pentear, escovar e secar com secador. Apenas sabemos que o cabelo não passou por tratamentos oxidativos.

Na escolha da mecha do cabelo comum foram feitas três observações prévias: a) observação visual da uniformidade da cor e da ausência de danos nos fios, por exemplo, pontas duplas; b) averiguação com o doador se o cabelo sofreu tratamentos oxidativos, como descoloração, permanentes ou tingimentos e c) realização de medidas de refletância difusa nas regiões da raiz, meio e ponta da mecha, para verificar através dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  como a cor varia ao longo da mecha. É de se esperar que as pontas do cabelo sejam mais claras e amareladas que a raiz, já que esta região é a mais danificada e facilmente observa-se este efeito no cabelo das pessoas.

Para a amostra bulbos do cabelo comum foi observado que a voluntária não tivesse submetido os seus cabelos a tratamentos oxidativos nos últimos dois anos. Os fios com seus bulbos foram arrancados diretamente da cabeça da voluntária. A denominação bulbo refere-se a parte do fio de cabelo e do material celular que compõem o folículo piloso no couro cabeludo. Neste trabalho, a descrição de bulbo concorda com a encontrada na literatura <sup>1,13</sup>. O bulbo é popularmente conhecido como "raiz" do cabelo. Porém, para evitar confusão com a denominação dada para as regiões das amostras (raiz, meio e ponta), esta amostra foi chamada de "bulbos do cabelo comum".

O cabelo tingido foi doado pela voluntária após o corte em cabeleireiro. Na escolha da amostra, os fios do cabelo com pontas duplas foram descartados.

### III. 1.2 – Descrição das amostras

As características e denominações das mechas utilizadas neste trabalho estão descritas a seguir:

Cabelo comum: Cabelo castanho com cerca de 25 cm de comprimento. A mecha é remanescente de trabalhos anteriores do grupo. Através de observação visual constatou-se que o cabelo estava pouco danificado (pontas duplas) e com cor e brilho uniformes. Desta mecha foram retiradas amostras de 2g.

Cabelo comum tingido: Cabelo castanho comum tingido, pontas com comprimento de 4 cm, doação de uma voluntária. De acordo com relato da voluntária, o cabelo foi tingido pelo menos 2 vezes com tintura semi-permanente comercial (Belle Color do Laboratoires Garneir - Paris, cor castanho claro dourado). As pontas dos fios possuíam cor uniforme, como visualmente observado.

Bulbos do cabelo comum: Fios de cabelo loiro extraídos do couro cabeludo com os “bulbos”. Dos fios com cerca de 30 cm de comprimento, cerca de 1,5 cm da parte próxima ao couro cabeludo e que continha os bulbos foi utilizada como amostra. A observação visual revelou que os bulbos possuíam aproximadamente o dobro do diâmetro do restante do fio de cabelo. A amostra não foi submetida à limpeza com éter etílico.

Cabelo padrão: Cabelo castanho padrão com 26 cm de comprimento foi doado pela Ind. Com. de Cosméticos Natura Ltda. Esta mecha de cabelo foi adquirida pelo doador na De Meo Brothers Inc., New York. A observação visual mostrou que a mecha possuía danos nas pontas do cabelo (pontas duplas), cor uniforme e pouco brilho.

É importante ressaltar aqui que a denominação “mecha” é dada a todo cabelo proveniente de uma mesma cabeça. Assim, todas as amostras do cabelo padrão foram retiradas de uma mesma mecha de cabelo padrão e são provenientes de uma só cabeça. O termo “amostra” corresponde a uma parte menor da mecha. O mesmo acontece com as mechas do cabelo comum, cabelo comum tingido, e bulbos do cabelo comum. Cada uma das amostras foi utilizada em apenas um experimento.

## III. 2 – MÉTODOS

### III. 2.1 – Rota experimental

A rota experimental deste trabalho está dividida em duas etapas. A 1ª etapa consistiu da caracterização da ultraestrutura dos cabelos comum e tingido. O fluxograma mostrado na Figura 1 apresenta a rota experimental da 1ª etapa.

#### 1ª Etapa

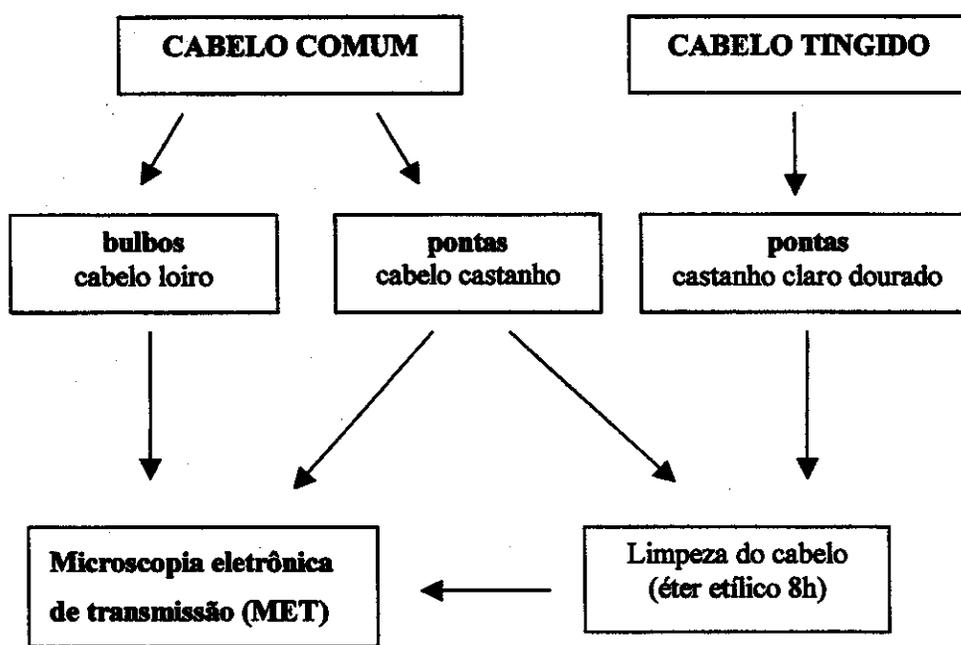


Figura 1: Fluxograma da rota experimental realizada na 1ª etapa do trabalho.

A 2ª etapa do trabalho consistiu da verificação de mudanças na ultraestrutura do cabelo padrão quando submetidos a tratamentos simples, e sua influência na cor dos cabelos. Ademais, verificou-se o efeito da radiação UV-A na cor do cabelo comum. A Figura 2 mostra o fluxograma da 2ª etapa do trabalho.

2ª Etapa

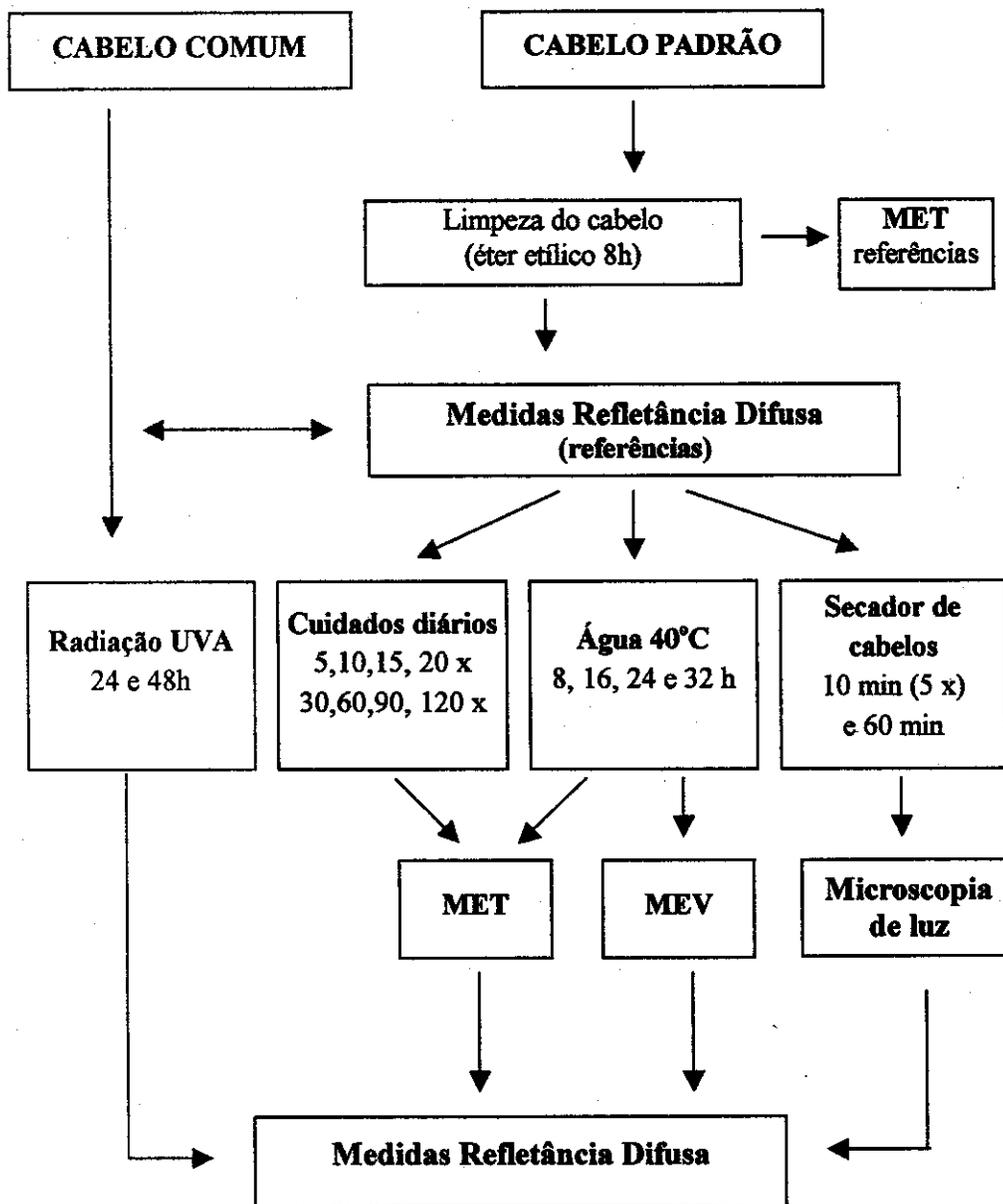


Figura 2: Fluxograma da rota experimental seguida na 2ª etapa deste trabalho.

### III. 2.2 - Limpeza dos cabelos

As amostras do cabelo padrão e comum foram lavadas com 300 mL de éter etílico P.A. em soxhlet sob refluxo durante 8h. A limpeza remove o sebo natural, resíduos de lavagens anteriores com produtos cosméticos e outras sujeiras impregnadas no cabelo. Após a lavagem com éter, o cabelo permanece na capela durante 24 h para secar, e é armazenado em sacos plásticos. A lavagem com éter etílico objetiva minimizar os efeitos da história prévia das amostras de cabelo sem alterar a fibra capilar<sup>44</sup>.

Na maioria das lavagens, utilizou-se éter etílico P.A. da planta piloto do IQ-Unicamp, que é destilado. Na falta deste, utilizou-se o reagente comercial disponível sem destilação prévia, como o éter etílico Vetec. Em ensaios com cabelo humano é importante utilizar éter etílico destilado na limpeza prévia, pois contaminantes do reagente podem eventualmente ser sorvidos pelos fios. Neste trabalho, a utilização de éter etílico sem destilação prévia não promove uma diferença significativa, pois o interesse maior é na ultraestrutura da fibra de cabelo.

### III. 2.3- Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Os estudos por microscopia eletrônica foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da USP/SP. Utilizou-se um microscópio eletrônico de transmissão Phillips CM200, operando a 160 ou 200 kV, emissão 2 ou 3, abertura da objetiva 50  $\mu\text{m}$  e condensadora 200  $\mu\text{m}$ . Acoplado ao microscópio está o acessório de Microanálise por espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (EDS) EDAX-DX4. Os espectros de microanálise de raios-X foram obtidos através de micro e nano-sonda, sem objetiva e com a amostra inclinada 20°. As observações foram registradas em filme fotográfico SO-163 Kodak. e as ampliações foram feitas em papel Polymax RC e RCII Kodak.

Neste trabalho foram obtidas 440 micrografias eletrônicas de transmissão.

### III. 2.3.1 - Procedimento de preparação dos fios do cabelo para MET

Os fios de cabelo com cerca de 1 cm de comprimento foram fixados com 2 mL de solução aquosa<sup>†</sup> de OsO<sub>4</sub> 2% em 0,1M de tampão cacodilato de sódio pH 7 (Sigma) por 4h no escuro. A seguir, os fios foram lavados com água destilada durante 30 min Iniciou-se a desidratação por lavagem com soluções de etanol de concentração crescente, finalizando com lavagens usando misturas de etanol puro e óxido de propileno (Sigma), em diferentes proporções (% v/v), tal como segue: a) etanol 50% (15 min, 2x), b) etanol 70% (15 min, 2x), c) etanol 95% (15 min, 2x), d) etanol 100% (15 min, 2x), e) mistura 1:1 de etanol puro e óxido de propileno (5 min), f) óxido de propileno puro (5 min, 2x).

A inclusão dos fios de cabelo foi feita em resina Spurr Sigma Aldrich (formulação "Standard" - endurecimento lento, 0,2g de catalisador) com a utilização de um rotor de acrílico (3 rpm.) a temperatura de 25° C e umidade relativa ambiente de 45%, e consistiu de três etapas:

- a) fios embebidos em mistura de óxido de propileno (liq.) Aldrich / Spurr (1:1) permaneceram no rotor de 4 - 8 dias;
- b) os frascos eram abertos para evaporação do óxido de propileno e deixados por mais 24h no rotor;
- c) a seguir, os fios foram colocados em moldes identificados, cobertos com resina Spurr e levados para cura em estufa a 70° C durante 24 h.

### III. 2.3.2 - Ultramicrotomia

Os blocos obtidos foram cortados com um ultramicrotomo Sorvall Porter-Blum MT2-B Ultramicrotome, utilizando-se uma navalha de diamante com barca (ângulo de 45°) Spi Supplies for Materials Science <sup>45</sup>. O ultramicrotomo foi ajustado para obtenção de cortes com espessura aproximada de 120 nm (cor de interferência amarelo ouro). Os cortes foram depositados em água destilada e recolhidos em grades de cobre (150 ou 300 mesh), em número de 8 a 12 cortes do mesmo bloco por grade.

### III. 2.3.3 - Pós – coloração dos cortes

Os cortes obtidos foram corados em solução aquosa de acetato de uranila 2% ( $C_4H_6O_6U.2H_2O$ , marca Riedel-de-Haen Seelze Hannover Gift) durante 15 min, e solução aquosa citrato de chumbo 1% (preparado com  $Pb(NO_3)_2$  da marca Casa Bem-te-vi e citrato de sódio,  $Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$ , da marca Reagen) durante 8 min. Placas de Petri com parafina sólida foram utilizadas para depositar gotas dos corantes eletrônicos onde os cortes foram mergulhados<sup>46, 47</sup>.

### III.2.3.4 – Quantificação das cavidades nas cutículas do cabelo padrão utilizando método de contagem com tela reticulada sobre as micrografias obtidas.

Dez micrografias eletrônicas de transmissão foram aleatoriamente escolhidas como representativas para cada uma das amostras de cabelo padrão referência, tratadas com água 40°C por 8h e tratadas com 5 lavagens consecutivas com tensoativo. Estas micrografias foram cobertas com uma malha plástica furada (tela de cerca), com furos retangulares de 0,8 x 0,9 cm..

O método de contagem consistiu em posicionar a malha sobre uma micrografia presa à mesa com fita adesiva, de maneira que a terceira fileira de malha da tela coincidissem com o contorno da cutícula mais externa. Após um ajuste satisfatório da posição da tela sobre a foto, fixava-se a tela à mesa com fita adesiva. A seguir, foi feita a contagem visual do número de furos da tela correspondentes à região da cutícula na micrografia. Furos que cobriam uma área da micrografia menor que a metade da sua área, não foram considerados na contagem. O número total de furos da malha correspondente às cutículas na micrografia foi tomado com 100% para o cálculo da porcentagem de cavidades presentes nas cutículas. Em seguida, sem modificar o arranjo da tela sobre a micrografia, foi feita a contagem dos furos que cobriam as regiões da endocutícula que possuíam cavidades, sem distinção entre as mesmas. E após, foi feita a contagem das cavidades preenchidas com algum material

---

† Os fios de cabelo ficam mergulhados em solução aquosa dos reagentes durante a fixação, ou seja, a umidade relativa durante este procedimento é de 100%.

orgânico. Este procedimento foi realizado para cada uma das dez micrografias representativas das três amostras de cabelo padrão.

### **III. 2.4 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Os fios de cabelo com cerca de 1 cm de comprimento foram fixados nos porta-amostra do microscópio “stubs” com fita adesiva apropriada. O porta-amostra foi recoberto com fina camada de ouro, pelo método de “Sputtering”, utilizando-se um Sputter Edwards S150B. As micrografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 840A, operando a 25 kV na modalidade SEI (elétrons secundários). As ampliações foram feitas em papel Kodabrome F2 Kodak. Neste trabalho foram obtidas cerca de 30 micrografias eletrônicas de varredura.

### **III. 2.5 –Microscopia de luz**

Fios de cabelo com cerca de 6 cm foram colocados lado a lado, em lâminas de vidro, e observadas sob iluminação de luz branca e campo claro (iluminação superior e inferior). A região observada dos fios foi de cerca de 4 cm. As observações foram feitas em um Estéreo-Microscópio Leica MZ12.5 e registradas em filme fotográfico TMAX asa 100 e asa 400 da Kodak. Neste trabalho foram obtidas 80 foto-micrografias.

### **III. 2.6 - Espectrofotometria de refletância difusa (ERD)**

#### *III. 2.6.1 – As condições de operação do equipamento*

As medidas de refletância difusa foram realizadas no espectrofotômetro de refletância difusa Macbeth® Color-eye® 2020, de acordo com ASTM D2244-85<sup>48</sup>. O equipamento varre a faixa espectral de 360 a 740 nm, em intervalos de 20 nm. A iluminação difusa é proveniente de uma lâmpada de xenônio.

As condições de operação foram: a) configuração CRIIS (C: calibração com cerâmica branca, R: refletância, I: radiação ultravioleta inclusa, I: componente especular inclusa e S: abertura para pequenas amostras), b) iluminante D65, c) ângulo de observação 10°, d) fenda de observação da amostra de 5x10 mm, e) porta-amostra para fibras e f) equações de cor do sistema CIELAB.

As medidas de refletância difusa foram feitas em quintuplicata e decuplicata para três regiões das amostras (raiz, meio e ponta). As replicatas foram medidas girando-se a amostra no porta-amostra do equipamento e mantendo-se a região da amostra.

As medidas para as amostras de cabelo foram realizadas adotando o método de medida denominado referência interna, que ameniza o efeito da variação da cor dos fios de cabelo mesmo que provenientes de uma só mecha (mesma cabeça). Resultados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa e recentemente publicados, sobre avaliação de brilho em cabelo usando espectrofotometria de refletância difusa, mostram que amostras de cabelo provenientes da mesma mecha são estatisticamente diferentes com relação ao parâmetro de diferença de cor total ( $DE^*$  - CIELAB)<sup>41</sup>. Portanto, não é razoável medir diferenças de cor de cabelo utilizando uma única mecha referência (referência externa). No método de referência interna, cada uma das amostras de cabelo, lavada com éter etílico, foi utilizada como sua própria referência para as medidas feitas após o tratamento cosmético. Assim, medidas de refletância difusa foram obtidas para cada uma das amostras nas regiões da raiz, meio e ponta antes do tratamento.

Além disso, o software que controla o espectrofotômetro de refletância difusa é muito antigo e as operações são feitas via teclado. Todas as leituras feitas são salvas em disquete ou no próprio micro, como arquivos de referência e com a denominação escolhida pelo usuário. Os arquivos gerados de referência são lidos somente pelo software do equipamento. Os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  mais próximos da média da decuplicata foram utilizados como referência interna para as medidas realizadas nas amostras após o tratamento.

Depois de escolhida a referência ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), o software chama do disquete a leitura desejada e todas as medidas feitas para a amostra são em relação à referência escolhida.

Este procedimento nos permite obter três tipos de dados: os parâmetros de diferença de cor, os espectros de porcentagem de refletância difusa vs. comprimento de onda (nm) e os gráficos de cor.

No caso de entrada numérica dos valores de referência no software, apenas os valores dos parâmetros de diferença de cor são obtidos. Por isso, este procedimento não foi utilizado neste trabalho.

### *III. 2.6.2 – Avaliação da reprodutibilidade de medida, da influência da cor e da textura da amostra nos parâmetros de cor*

As amostras utilizadas neste experimento foram: capa amarela de caderno (caderno de laboratório com capa de papel lisa), capa de plástico azul (caderno com capa de plástico azul e rugosa), cerâmica branca (superfície lisa) e cerâmica preta (superfície lisa) de calibração do equipamento e disquete preto (superfície rugosa). As medidas de refletância difusa foram realizadas em relação a uma referência medida da mesma região da amostra, para avaliar a reprodutibilidade. A posição da amostra no porta-amostra do equipamento não foi alterada. As amostras com superfície rugosa foram escolhidas para verificação do efeito da textura nos parâmetros de cor obtidos.

### *III. 2.6.3 – Avaliação da reprodutibilidade e do erro do método de medida utilizado para cabelo humano*

Neste experimento, foi avaliada a reprodutibilidade das medidas de ERD usando uma amostra de 2g do cabelo padrão e duas amostras de 2g do cabelo comum. Estas três amostras foram previamente lavadas com éter etílico por 8h. E, ainda uma amostra cabelo padrão lavada com 120 repetições, como no procedimento descrito no item III. 2.8. As medidas de ERD foram realizadas em decuplicata, girando as amostras no porta-amostra do equipamento e mantendo-se a mesma região da amostra. Os valores de ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) mais próximos da média da decuplicata foram escolhidos como referência interna para as regiões da raiz, meio e ponta de cada amostra. Depois de escolhido os valores de referência interna

para cada amostra, as amostras não receberam nenhum tipo de tratamento. Portanto, referências e amostras são iguais. Novamente, foram realizadas medidas de ERD para as quatro amostras e obtidos os valores dos parâmetros de cor e de diferença cor. Analisando os valores dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) é possível avaliar a reprodutibilidade do método de leitura utilizado para cabelo humano. Já com os valores dos parâmetros de diferença de cor é possível avaliar o erro do método, ou seja, qual é o valor limite para a detecção de diferenças provocadas nas amostras pelos tratamentos recebidos.

### **III. 2.7 – Verificação do efeito do calor produzido pelo secador no cabelo**

Uma amostra de 2g do cabelo padrão foi presa com barbantes pelas extremidades em um suporte de madeira. O experimento foi feito com secador de cabelo Traveller Britânia 1300W. O secador foi preso a outro suporte de madeira e colocado à mesma altura da região da raiz da amostra. Os suportes foram posicionados de forma a manter uma distância de 6 cm entre a amostra e o secador. Esta distância foi escolhida aleatoriamente e tomada como distância média entre uma cabeça e o secador durante a secagem. Em nenhum momento a amostra foi molhada. O experimento foi realizado na seguinte sequência: a) expor a amostra seca ao secador durante 10 min, b) aguardar 20 min para a amostra retornar a temperatura ambiente, c) realizar as medidas de refletância difusa. Este procedimento foi repetido 5 vezes totalizando 50 min de exposição ao calor do secador. Ao fim desta sequência de experimentos, a amostra ficou em repouso sob temperatura e umidade ambientes durante 12h. Alguns fios foram retirados da região da raiz da amostra para observação no estéreo - microscópio ótico.

A seguir, a amostra foi novamente submetida ao secador, porém ininterruptamente durante 60 min, e então deixada a temperatura e umidade ambiente durante 30 min, após o que foram feitas as medidas de refletância difusa. Nestas medidas, foi utilizada como referência interna uma medida feita após a quinta sequência de 10 min. Alguns fios foram retirados da região da raiz para observação em estéreo - microscópio ótico.

### III. 2.7.1 – Medidas do aumento de temperatura proporcionado pelo secador nas proximidades da amostra

A temperatura foi medida para os tempos de 1, 2, 3, 5 e 15 min de secador ligado, com o intervalo de dois minutos entre cada uma. O intervalo de 2 min foi suficiente para o termômetro voltar a temperatura ambiente antes da próxima medida de temperatura. Optou-se por medidas com intervalos por que no experimento seguinte (descrito em III.2.8) o secador é utilizado no final de cada lavagem em intervalos de tempo definidos. As medidas foram realizadas com termômetro cuja faixa de medida varia de  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $150^{\circ}\text{C}$  e com uma distância de 6 cm entre o secador e o termômetro. O secador utilizado foi o Traveller Britânia 1300W. A Tabela 1 mostra os valores obtidos de temperatura em relação ao tempo do secador ligado.

TABELA 1: Medidas de temperatura do ar aquecido pelo secador em relação ao tempo (min) do secador ligado.

Tempo do secador ligado (min)	Temperatura medida ( $^{\circ}\text{C}$ )
1	59
2	60
3	64
5	65
15	69

### III. 2.8 - Ensaio simulando tratamentos diários realizados nos cabelos

O protocolo de lavagem descrito a seguir foi elaborado pelos autores deste trabalho com o objetivo de reproduzir mais fielmente possível os cuidados básicos dados aos cabelos por pessoas comuns. Três amostras do cabelo padrão de 2g cada, foram tratadas para simular cuidados diários consecutivos. O experimento consistiu em aplicar às amostras seqüências de 5 a 120 repetições do tratamento, que consiste na seguinte seqüência:

- lavar a amostra manualmente com 2 mL de solução aquosa de lauril sulfato de sódio 2% (m/m) da Henkel S.A. por 2 min,

- b) enxaguar com água corrente de chuveiro a cerca de 40°C durante 1 min,
- c) retirar o excesso de água com toalha comum,
- d) pentear 12 vezes com pente de polipropileno comum (4 vezes cada lado: frente, verso, direito e esquerdo),
- e) secar durante 1 min com secador de cabelo Traveller Britânia 1300W,
- f) pentear 12 vezes com pente comum de polipropileno (4 vezes cada lado: frente, verso, direito e esquerdo).

Neste trabalho, consideramos que esta sequência de tratamento corresponde a 1 dia de cuidado com o cabelo. Então, 5, 20 e 120 repetições deste tratamento correspondem respectivamente à 5, 20 e 120 dias de cuidados diários. Sequências de 5, 10, 15 e 20 repetições do tratamento foram realizadas para duplicata de amostra. Sequências de 30, 60, 90 e 120 repetições foram feitas para uma única amostra. Após estas sequências de tratamento, as amostras foram deixadas em repouso à temperatura e umidade ambientes durante 12h, e as medidas de refletância difusa de medida foram realizadas em decuplicata para as regiões da raiz, meio e ponta das amostras.

Fios foram retirados das regiões da raiz, meio e ponta das amostras (quintuplicata de amostra) para microscopia eletrônica de transmissão.

### III. 2.9 - Ensaio de avaliação do efeito da água de torneira a 40°C nos cabelos

Neste experimento duas amostras de 2g do cabelo padrão foram utilizadas. A primeira amostra foi previamente lavada com éter etílico 8h para obtenção das medidas de ERD para referência interna. A segunda amostra foi lavada com éter etílico 8h, em seguida colocada em contato com água de torneira a 40°C durante 8h, deixada para secar sob temperatura e umidade ambientes por 12 h, e só então efetuadas as medidas de ERD para referência interna.

Após a escolha da referência para ambas as amostras, o tratamento foi iniciado. As duas amostras foram colocadas em erlenmeyers contendo 500 ml de água de torneira a

40°C durante um intervalo de 8h, sob agitação leve e constante em um banho termostaticado. Foram realizados 4 experimentos consecutivos de 8, 16, 24 e 32 horas. A cada 8h, as amostras foram deixadas em repouso à temperatura e umidade ambiente durante 12h e na seqüência obtidas as medidas de refletância difusa. As medidas foram realizadas em decuplicata para cada amostra para as regiões da raiz e meio e ponta das amostras.

Alguns fios foram retirados das amostras para observação por microscopia eletrônica de transmissão e varredura.

### III. 2.10 - Ensaio com Radiação Artificial UV

A lâmpada de vapor de mercúrio Sylvania-125W sem a camisa externa foi utilizada para a irradiação de duas amostras (2g) de cabelo comum. As amostras foram fixadas com fita adesiva em um suporte de madeira e colocadas a uma distância radial de 15 cm da lâmpada. Este arranjo foi disposto dentro de uma caixa de madeira na capela. Uma placa de vidro com 15 cm de largura, 42 cm de comprimento e 3 mm de espessura foi colocada entre as amostras e a lâmpada para barrar a passagem de radiação UVB e UVC.

As amostras foram expostas à irradiação durante 48h sem alteração de sua posição. A cada 24h de exposição, as amostras foram deixadas na capela a temperatura e umidade ambientes durante 12h e a seguir as medidas de refletância difusa foram feitas.

#### *III. 2.10.1 – Medidas de intensidade e potência da radiação solar e da lâmpada de vapor de mercúrio*

O radiômetro VLX-3W Cole Parmer com três sensores específicos para os comprimentos de onda de 254, 312 e  $365 \pm 12$  nm foi utilizado. As medidas no sol foram realizadas por volta das 12h do dia 22-09-2000 (dia ensolarado). A temperatura de cerca de 45°C foi medida ao lado dos sensores do radiômetro durante as medidas. A Tabela 2 mostra os valores de intensidade e potência da radiação solar em função dos tempos de exposição.

TABELA 2: Medidas de intensidade e potência da radiação solar realizadas em 22/09/2000.

Sensor	Tempo de Exposição ao sol (min)	Potência mW/cm <sup>2</sup>	Intensidade J/cm <sup>2</sup>
UVA (365nm)	5	1,102	0,4604
	10	1,444	0,7800
	15	1,428	1,5211
UVB (312nm)	5	0,191	0,0570
	10	0,211	0,1105
UVC (254 nm)	5	0,004	0,0012
	10	0,004	0,0022
	15	0,003	0,0330

As medidas de intensidade e potência para a lâmpada de vapor de mercúrio foram realizadas com os sensores a um raio de 15 cm da lâmpada Sylvania 125W, com vidro e sem vidro entre sensor do radiômetro e lâmpada. Foi verificado que o vidro impede a passagem de radiação UVB e UVC emitidas pela lâmpada. A Tabela 3 mostra as medidas de intensidade e potência de radiação lâmpada de vapor de mercúrio Sylvania 125 W realizadas nos dias 08/01/2001 com sensor UVA do radiômetro. A temperatura medida durante este experimento ao lado do sensor do radiômetro sem vidro foi de cerca de 34°C e com vidro cerca de 28°C.

TABELA 3: Medidas de intensidade e potência de radiação lâmpada de vapor de mercúrio Sylvania 125 W

<i>Raio: lâmpada - sensor</i>		SEM VIDRO		COM VIDRO	
		<i>r = 15 cm</i>		<i>r = 15 cm</i>	
<b>Sensor</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Potência mW/cm<sup>2</sup></b>	<b>Energia J/cm<sup>2</sup></b>	<b>Potência mW/cm<sup>2</sup></b>	<b>Energia J/cm<sup>2</sup></b>
<b>UVA (365 nm)</b>	5	0,527	0,2559	0,207	0,079
	10	-	-	0,231	0,1379
	15	0,530	0,5165	-	-
<b>UVB (312 nm)</b>	10	0	0	0	0
	15	0	0	0	0
<b>UVC (254 nm)</b>	10	0	0	0	0
	15	0	0	0	0

Comparando as medidas apresentadas nas Tabelas 2 e 3, vê-se que nas condições deste experimento ( $r=15$  cm, com vidro), a radiação UVA emitida pela lâmpada é cerca de seis vezes menor que a mesma emitida pelo sol. Assim, as radiações UVC e UVB ficam totalmente bloqueadas com a utilização da placa de vidro e, somente a radiação UVA com intensidade menor, atravessa o vidro.

## IV – RESULTADOS

A apresentação dos resultados foi dividida em quatro partes:

1. *Otimização da metodologia de preparação de cabelo para MET*: esta é uma breve descrição dos métodos e reagentes testados na preparação do cabelo para microscopia eletrônica de transmissão, com a finalidade de registrar e servir de ponto de partida para outros trabalhos.
2. *Caracterização da morfologia e ultra-estrutura do cabelo por microscopia de luz e eletrônica*: é uma descrição detalhada das observações feitas para o cabelo comum, padrão e tingido e bulbos de cabelo comum e algumas comparações com os dados existentes na literatura.
3. *Otimização da metodologia de espectrofotometria de refletância difusa para o estudo do cabelo*: esta parte mostra a avaliação do equipamento e as considerações sobre o método de medida utilizado.
4. *Influência de alterações ultra-estruturais nas propriedades de cor do cabelo*: aqui estão os resultados sobre modificações provocados pelos diferentes tratamentos na ultra-estrutura do cabelo e observados por microscopia eletrônica. E sobre o efeito destas modificações e tratamentos nas propriedades de cor do cabelo.

### IV. 1 – Otimização da metodologia de preparação de cabelo para MET

Estabelecer as condições de preparação de cabelo para MET foi parte fundamental deste trabalho e levou cerca de um ano e meio de trabalho experimental. Várias modificações nos métodos de preparação encontrados na literatura foram testadas e apenas o procedimento mais adequado está descrito em Experimental. Entretanto, é interessante comentar alguns dos ensaios realizados.

Um procedimento de preparação de uma amostra biológica possui as seguintes etapas: fixação química, desidratação, inclusão, ultramicrotomia e pós-coloração dos cortes. A literatura da área de microscopia eletrônica de transmissão não apresenta um procedimento detalhado para preparação de cabelo e nem sequer para fibras de origem

animal<sup>49, 50</sup>. Os primeiros estudos de queratinas por MET, na década de 50, fazem uso de oxidação química das fibras<sup>4, 51</sup> (ácido tioglicólico) antes do tratamento de fixação / coloração eletrônica com OsO<sub>4</sub>, ácido dodecafosfotúngstico (PTA) ou AgNO<sub>3</sub><sup>52</sup> e de nenhuma pós-coloração, o que não concorda com os objetivos deste trabalho. Ademais, a resina de inclusão (resina acrílica), o tempo de exposição aos corantes, e a espessura dos cortes ultrafinos estão de acordo com os microscópios eletrônicos de transmissão da época, que em geral operavam a 80 kV.

Optou-se pela não oxidação prévia do cabelo, e pela utilização de reagentes não específicos, ou seja, que reagem com a maioria dos grupos químicos na fixação e pós-coloração. Na fixação foram testados como glutaraldeído (GTA) e OsO<sub>4</sub> e acetato de uranila; na pós-coloração PTA, acetato de uranila e citrato de chumbo; e na inclusão as resinas Epon e Spurr<sup>49,50</sup>.

A utilização de pré-fixação com glutaraldeído (GTA) 2,5% por 2h, seguida de fixação com OsO<sub>4</sub> 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7 durante 2h, resultou em contraste insuficiente. A fixação química com OsO<sub>4</sub> 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7, durante 72h<sup>4</sup> resultou em fios muito duros para ultramicrotomia, não obtendo-se cortes ultrafinos adequados. A utilização de fixação com OsO<sub>4</sub> 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7, por 2h seguida de pós - fixação em acetato de uranila 1% por 1,5h apresentou resultados reprodutíveis<sup>53</sup>. Outro procedimento de fixação utilizando OsO<sub>4</sub> 2% em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pH 7 durante 4h também apresentou bons resultados e foi adotada como metodologia neste trabalho.

Na etapa de inclusão do cabelo em resina foi encontrada outra dificuldade. Inicialmente utilizou-se a resina Epon<sup>® 49,50</sup>, largamente usada para inclusão de amostras biológicas. A inclusão foi feita numa câmara de vidro ligada a um bomba de vácuo, aplicando-se vácuo e pressão atmosférica alternadamente (10 min cada, 5 x). Na moldagem, foram feitos moldes contendo de 2 a 4 fios de cabelo e outros com apenas um fio. Os cortes feitos com blocos de vários fios não possuíam forma adequada e aqueles com apenas um fio estavam enrugados ou rasgados e de espessura variável, o que caracteriza uma inclusão pobre da resina no cabelo<sup>54</sup>. A adição de uma etapa de desidratação não influenciou significativamente no processo de inclusão dos fios de cabelo com resina

Epon<sup>®</sup>. Experimentou-se então, a inclusão com resina Spurr<sup>®</sup>, recomendada para amostras de difícil inclusão<sup>55</sup>, em um rotor de acrílico com velocidade de rotação de 3 rpm. Estas alterações proporcionaram a obtenção de uma inclusão adequada, o que melhorou significativamente a qualidade dos cortes. A etapa de desidratação com álcool etílico e óxido de propileno foi definitivamente incluída na preparação, já que a presença de água ou umidade nos fios de cabelo pode comprometer a inclusão e a cura da resina Spurr<sup>®</sup>.

Na pós-coloração dos cortes obtidos foram usados corantes eletrônicos comuns em microscopia eletrônica. Utilizou-se acetato de uranila 2% (AcU) aquoso e alcoólico, citrato de chumbo 1% (Pb) e ácido fosfotúngstico 2% (PTA) em solução etanólica. Realizou-se também a pós-coloração em bloco, que consiste em corar o espécime (incluído em resina) antes do corte, com PTA 2%, 60°C durante 24h. Os melhores resultados foram obtidos utilizando acetato de uranila 2% por 15 min e citrato de chumbo 1% por 8 min. Estes reagentes devem ser, se possível, recém preparados ou estocados na geladeira em seringas de 10 mL com a ponta da agulha lacrada, para aumentar o tempo de utilização.

#### **IV.2 - Caracterização da morfologia e ultra-estrutura do cabelo por microscopia de luz e eletrônica**

A descrição morfológica e ultra-estrutural de fibras de queratina por microscopia eletrônica foi feita principalmente na década de 50. Neste trabalho, a caracterização morfológica e ultra-estrutural do cabelo foi feita basicamente por microscopia, objetivando estudar detalhes ainda pouco conhecidos, principalmente nas cutículas do cabelo. Detalhes tais, como a existência danos nos componentes da cutícula, do córtex e medula, o mecanismo de perda das células cuticulares, e se há relação entre os danos e a formação do fio no folículo capilar.

É importante ressaltar que as micrografias e foto-micrografias são representativas das várias observações feitas para cada uma das amostras de cabelo; e estas estão apresentadas em **VIII - Anexo: Micrografias**.

Cada uma das técnicas de microscopia permite observar detalhes diferentes no cabelo. Assim, faz-se necessário um breve esclarecimento do que se pode ver com cada uma delas.

➤ *Relação entre macro, micro e ultra caracterização*

O cabelo é uma fibra macroscópica com cerca de 40 a 120  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Neste trabalho, a descrição dos detalhes estruturais e morfológicos do cabelo abrange uma escala de aumentos finais (negativos e micrografias ampliadas) que vão desde cerca de 300x no estereo-microscópio ótico, de 1000 a 10.000x no microscópio eletrônico de varredura e até 120.000x no microscópio eletrônico de transmissão.

No estereo-microscópio de luz (ML), o poder de resolução,  $d_{\text{ML}}$ , é de cerca de 0,2 $\mu\text{m}$  (ou 2000 Å, onde  $d$  é a separação mínima de dois pontos-objeto resolvidos, da equação de Abbé) e está limitado ao olho e ao comprimento de onda da luz. Portanto, é possível obter uma imagem tridimensional geral do objeto. Para o cabelo, que é uma fibra translúcida e de cerca de 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro, a imagem obtida parece bidimensional e os detalhes da topografia são perdidos. Porém, esta característica permite a clara observação da presença ou ausência da medula, um dos componentes do cabelo que se localiza no interior do córtex.

No microscópio eletrônico de varredura (MEV) o poder de resolução,  $d_{\text{MEV}}$ , aumenta bastante para cerca de 100 Å a 20 kV em modo SEI. Para as dimensões do cabelo, pode-se obter informações topográficas tridimensionais, como a disposição e a integridade física das cutículas do fio de cabelo, e como a constituição fibrilar do córtex.

A constituição interna das células cuticulares e corticais, ou seja, a ultra-estrutura de cada tipo de célula presente no fio, é estudada no microscópio eletrônico de transmissão (MET). No MET, as lentes eletromagnéticas, o feixe eletrônico de 200 kV e a observação de amostras incluídas em resina e preparadas em cortes ultrafinos (60 a 120 nm de espessura) adequadamente corados, conferem um poder de resolução,  $d_{\text{MET}}$ , de 4 a 2 Å. No MET não são obtidas informações topográficas. A imagem é bidimensional, e a densidade eletrônica observada na micrografia depende da concentração, tempo de exposição e da afinidade química do corante eletrônico utilizado pela amostra. No MET, observou-se a estrutura fina do cabelo, como as várias camadas constituintes das células cuticulares, o arranjo das fibras e fibrilas de queratina nas células corticais, as membranas que separam as

células e ainda estimou-se os aminoácidos presentes em cada região da célula, de acordo com a especificidade do corante eletrônico utilizado.

➤ *A medula*

A Figura 6 mostra micro-fotografias de cabelo padrão com detalhe para a presença da medula no centro do fio. Em geral, vê-se que os fios de cabelo padrão possuem medula ao longo do comprimento observado e que a medula está distribuída nos fios de maneira irregular, com variações na espessura e regiões falhadas. As micro-fotografias mostraram que, na região da raiz, 9 fios (52%) apresentavam medula, e na região da ponta, 18 fios (75%) mostraram medula. Na Figura 6A (campo claro, luz refletida), é interessante notar as reflexões de luz provocadas pelas cutículas do fio, que não são visíveis neste aumento. Estas reflexões provocam um efeito que dá uma idéia da rugosidade superficial no cabelo. Vê-se na Figura 6B (campo claro, luz transmitida) que a rugosidade não aparece, porém a característica de material translúcido do cabelo é perfeitamente observada. Ademais, nas foto-micrografias observa-se que a tridimensionalidade da imagem é perdida devido à espessura e diâmetro pequenos e à característica translúcida dos fios.

A Figura 7 mostra uma micrografia eletrônica de transmissão (barra 340 nm = 3  $\mu$ m) de corte transversal ultrafino de um fio de cabelo comum, com detalhe para a medula. Vê-se que a medula aparece com a mesma densidade eletrônica da matriz intercelular e com algumas regiões não densas eletronicamente no seu interior. Observa-se um tipo de membrana não densa eletronicamente ou espaço delimitando a medula e o córtex. Na literatura consultada não se encontrou registro fotográfico por TEM para comparação com esta observação.

➤ *As cutículas*

A Figura 8 mostra micrografias eletrônicas de varredura de pontas de cabelo padrão (Figura 8A) e de cabelo comum (Figura 8B). Vê-se que a superfície do fio é formada por

cutículas ou células cuticulares<sup>†</sup> orientadas no mesmo sentido. A orientação das cutículas é no sentido da raiz (região mais próxima do couro cabeludo) para a ponta, ou seja, no sentido em que usualmente penteamos o cabelo. Observa-se que no cabelo comum e no padrão, as cutículas têm uma forma arredondada e contorno irregular, como se uma parte tivesse se quebrado, o que era esperado, pois a ponta é a parte mais danificada de um fio de cabelo. A superfície das cutículas é relativamente lisa e o comprimento da parte exposta, no sentido raiz-ponta, varia de cerca de 2 a 10  $\mu\text{m}$ .

A Figura 9 apresenta micrografias eletrônicas de um corte transversal do fio de cabelo comum, onde se vê em diferentes aumentos a sobreposição das células cuticulares e uma pequena parte do córtex. Na Figura 9A (varredura 0002-1 $\mu\text{m}$ ), observa-se duas camadas distintas em cada célula cuticular, uma camada externa de contorno liso e definido com cerca de 0,3 a 0,6  $\mu\text{m}$  de espessura, e a outra camada interna de contorno rugoso e irregular com espessura de cerca de 0,2  $\mu\text{m}$ . Vê-se algumas cavidades circulares com cerca de 0,1 a 0,2  $\mu\text{m}$  de diâmetro ao longo do comprimento da camada mais rugosa. Estas cavidades não são observadas na camada lisa da cutícula. Observa-se também, no lado direito da micrografia, o início de uma nova célula cuticular entre a segunda e a terceira cutícula. Na região do córtex, vê-se algumas esferas e cavidades de diâmetro equivalente. A literatura não descreve uma observação das células cuticulares como a desta micrografia. Contudo, comparando os dados existentes com a espessura das camadas da célula e o aumento da micrografia, pode-se dizer que a camada lisa é a exocutícula, a região rugosa é a endocutícula e, as esferas no córtex, os grânulos de melanina. Porém, as cavidades observadas não estão descritas na literatura.

A Figura 9B é uma micrografia eletrônica de transmissão de cabelo, onde se observa a cutícula e o córtex. Vê-se que cada célula cuticular possui várias camadas. A camada mais fina, externa, densa eletronicamente e com cerca de 0,08  $\mu\text{m}$  é a camada A, a seguir a camada mais espessa, no meio da célula, também com intensa e uniforme

---

<sup>†</sup> A palavra célula não tem significado biológico. As chamadas células da cutícula e do córtex não apresentam atividades de célula viva. Na literatura convencionou-se denominar cada uma das camadas cuticulares como "célula cuticular". No córtex, as macrofibrilas e a matriz que as envolve são as células corticais.

densidade eletrônica e com cerca de  $0,4 \mu\text{m}$  é a exocutícula, e a última camada de espessura variável, menos eletronicamente densa, irregular e com cerca de  $0,2$  a  $0,5 \mu\text{m}$  é a endocutícula. Separando cada célula cuticular está o complexo da membrana celular, "cmc", que nesta micrografia quase não se nota. Observa-se também que a endocutícula possui pelo menos duas regiões circulares distintas, uma de menor densidade eletrônica do que o restante da camada e outra com ausência de densidade eletrônica (branca). No córtex, na região de menor densidade eletrônica, vê-se o discreto contorno das células corticais, e esferas circulares muito densas eletronicamente que correspondem aos grânulos de melanina. Estas regiões rompidas e circulares podem ser relacionadas com as cavidades observadas por MEV na endocutícula, obviamente sem o efeito de profundidade.

As Figuras 10 e 11 mostram em detalhe as células cuticulares de cabelo comum e seus constituintes. A diferença na densidade eletrônica das micrografias é devida ao procedimento de fixação aplicado a cada um dos fios de cabelo. Na Figura 10A, vê-se o contraste invertido na endocutícula (camada mais densa eletronicamente) e exocutícula (camada menos densa eletronicamente) com relação às Figuras 9B e 10B. Observa-se também a ausência da camada A e a definição da constituição do complexo da membrana celular e a camada interna i, mais densa eletronicamente. De acordo com a literatura, "cmc" é constituído por três camadas, a do meio mais densa eletronicamente é denominada camada  $\beta$  e as outras duas não coloradas são denominadas camadas  $\delta$ . Porém, alguns autores preferem incluir a camada  $\bar{i}$  como parte dos componentes do "cmc"<sup>56</sup>. Na endocutícula vê-se que há regiões circulares com contraste muito semelhante ao da exocutícula, das quais não há registro anterior. Ademais, vê-se pequenas estruturas circulares ou ovaladas que são delimitadas por algo que parece ser uma membrana. Existe na literatura, uma única micrografia em cujo rodapé estas estruturas são denominadas remanescentes citoplasmáticos<sup>56</sup>. Como o nome sugere, estas estruturas são ditas remanescentes do citoplasma das células durante a formação do fio no folículo. Na estrutura da exocutícula não se observam detalhes.

Nas Figuras 10B e 11, vê-se em cada célula cuticular a endocutícula (camada com menor densidade eletrônica), a exocutícula (camada com densidade eletrônica

intermediária), a camada A (camada maior densidade eletrônica) e o complexo da membrana celular separando as células cuticulares. Novamente, observa-se a exocutícula sem detalhes estruturais e o "cmc" e seus constituintes (duas camadas  $\delta$  e no meio delas uma camada  $\beta$  com a mesma densidade eletrônica anterior. Na endocutícula, vê-se regiões onde há *cavidades vazias* e outras regiões circulares de menor densidade eletrônica do que o restante da camada. Sabe-se que uma diminuição de densidade eletrônica, numa mesma camada, significa menor concentração de corante eletrônico no local e, portanto menor concentração do substrato ao qual o corante eletrônico se liga quimicamente. Logo, é menor a densidade protéica neste local. Por outro lado, sabe-se que a fragilidade da resina de inclusão ocasiona furos no corte ultrafino. A incidência prolongada e concentrada do feixe eletrônico no local provoca um aumento destes furos, levando à perda da região de observação. Estas cavidades não aumentam de diâmetro e não rasgam com a incidência prolongada do feixe eletrônico, portanto não são artefatos. Em geral, vê-se que (Figuras 10A e 10B) as regiões circulares de menor contraste e as cavidades estão aleatoriamente distribuídas na endocutícula e possuem os mais variados diâmetros que vão desde 50 a 250 nm.

A Figura 12 apresenta micrografias eletrônicas de transmissão das cutículas do cabelo padrão. Vê-se que os constituintes da célula: camada A, exocutícula, endocutícula, e o "cmc" estão bem definidos. Novamente, observa-se que a exocutícula não têm detalhes na sua estrutura e que a endocutícula possui as mesmas estruturas observadas para o cabelo comum: remanescentes citoplasmáticos, regiões circulares com menor densidade eletrônica e as cavidades. Porém, as cavidades estão em quantidade relativa bem maior do que no cabelo comum, dando a impressão de uma distribuição quase regular ao longo da endocutícula. Ademais, vê-se algumas vezes que as cavidades parecem se iniciar onde estão os remanescentes citoplasmáticos, ou seja, de alguma maneira os remanescentes podem contribuir na formação de cavidades na endocutícula. A constatação que as cutículas do cabelo padrão são mais danificadas foi de fato uma surpresa, por conta disso as observações de cabelo padrão foram redobradas. Do que se sabe, não há observações como estas na literatura. A estimativa estatística feita com as micrografias de cabelo padrão referência

mostrou que 15% da cutícula corresponde às cavidades, e destas 7% são cavidades preenchidas com algum material orgânico.

A Figura 13 mostra micrografias eletrônicas de varredura de cabelo comum com as cutículas danificadas. Vê-se que o contorno das células cuticulares está bastante recortado, há largas regiões onde partes das células foram extraídas e outras regiões onde algumas células e às vezes um conjunto de duas ou três células estão descoladas da adjacente inferior. Observa-se uma substância de aspecto rugoso onde parte das cutículas foi removida, o que pode indicar uma remoção parcial da célula. A observação deste material rugoso foi feita utilizando MEV e MET<sup>57, 58</sup> e Microscopia de força atômica (AFM)<sup>59, 60</sup>. Através do contraste do material rugoso quando preparado para MET<sup>58</sup>, este foi identificado como endocutícula, porém nenhum outro tipo de análise foi feita.

A Figura 14 mostra micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo comum com danos nas cutículas, com detalhe para o descolamento das células cuticulares da superfície do fio. Vê-se que a exocutícula e a camada A não parecem danificadas e que preferencialmente as cutículas descolam da adjacente pelo rompimento das cavidades na endocutícula ou ainda através do desprendimento do complexo da membrana celular. Em geral, observa-se que o descolamento cuticular acontece deste modo tanto em fios com várias células cuticulares, ou seja, pouco danificados, como em fios com apenas duas cutículas, nos quais a maioria das cutículas foi removida, ou seja, muito danificados. Estas são as primeiras observações deste processo que se tem conhecimento.

➤ *As cutículas do cabelo tingido*

As Figuras 15 e 16 mostram micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo tingido. No córtex, vê-se que os grânulos de melanina estão aparentemente intactos e que existem danos no cimento inter-macrofibrilar. Nas várias células cuticulares, a endocutícula aparece como a camada de maior densidade eletrônica. A quantidade relativa de cavidades na endocutícula do cabelo tingido é menor do que a observada no cabelo comum e padrão.

As Figuras 15A e 16 mostram em detalhe as células cuticulares do cabelo tingido. Em geral, não se observa a presença do complexo da membrana celular "cmc" delimitando as células cuticulares ou em algumas regiões, o "cmc" aparece mal definido.

Nas observações de cabelo tingido, verificou-se que os fios estavam danificados, alguns sem cutícula e outros com cutículas desprendendo-se (Figura 15A e 16), porém não se observou a presença de tantos danos na endocutícula. Os corantes da tintura, que se ligam covalentemente às proteínas do fio, inicialmente devem ocupar as regiões hidrofílicas da cutícula do cabelo, como a endocutícula.

Resumindo, observamos que as cutículas de cabelo comum, cabelo padrão e cabelo tingido possuem, na endocutícula, *cavidades vazias* e *cavidades com menor densidade de material protéico*. Estas cavidades podem estar relacionadas com remanescentes citoplasmáticos observados na endocutícula e com a remoção de material protéico solúvel. Observamos também que o descolamento das células cuticulares da superfície do fio pode ocorrer entre as células através do rompimento do "cmc" e na célula através do rompimento da endocutícula, e que este último está relacionado à presença de cavidades na endocutícula.

Durante as observações no MET, constatamos que a resina de inclusão penetra no cabelo em uma ou duas células cuticulares no máximo.

#### ➤ *O córtex*

A Figura 17 mostra uma micrografia eletrônica de varredura (17A) e uma transmissão (17B) do córtex de cabelo. A Figura 17A mostra uma fratura do fio, onde vê-se a constituição fibrilar do córtex e a orientação longitudinal destas fibras de queratina. Observa-se algumas fibras menores, porém não é possível delimitar precisamente as células corticais (macrofibrilas). Na Figura 17B, vê-se a constituição estrutural do córtex: o complexo da membrana celular "cmc", as células corticais (macrofibrilas) e os grânulos de melanina. As células corticais possuem forma aproximadamente oval e um diâmetro que varia de 150 a 400 nm. Cada célula do córtex apresenta pontos claros (não eletronicamente densos) espalhados numa região escura ou mais densa eletronicamente. Sabe-se que a

região densa eletronicamente é a matriz amorfa de  $\gamma$ -queratina e que os pontos claros, com cerca de 5 nm, correspondem às microfibrilas cristalinas de  $\alpha$ -queratina. Observa-se que as células corticais são delimitadas pela presença do complexo da membrana celular ou pela mudança no arranjo geométrico das microfibrilas. As variações no sentido do arranjo das microfibrilas são mostradas em detalhe nas micrografias da Figura 18. Embora, não se possa garantir que o fio de cabelo esteja completamente perpendicular ao plano de corte, algumas microfibrilas aparecem perpendiculares à direção do corte, logo orientadas na direção do fio. Outras microfibrilas apresentam-se mais inclinadas ou quase parecendo transversais à direção do fio. Observa-se para cada uma das células corticais uma direção particular no arranjo das microfibrilas inclinadas, indicando que este efeito não foi produzido pela pressão da navalha de diamante durante o corte. Na Figura 18B observa-se o complexo da membrana celular, grânulos de melanina e em detalhe as células corticias. Vê-se que as microfibrilas perpendiculares ao corte apresentam uma região central eletronicamente densa, o que sugere que as cadeias polipeptídicas de queratina, constituintes das microfibrilas, se arranjam de forma a deixar um espaçamento no centro de cada microfibrila. Alguns autores sugerem que cada microfibrila pode ser de certa forma oca ou preenchida com o mesmo material da matriz inter-macrofibrilar<sup>61</sup>. As observações no córtex, principalmente o arranjo das macro e microfibrilas, concordam com o modelo para queratina proposto por Mercer<sup>3</sup> em 1957.

➤ *Os folículos do cabelo*

Após as observações de regiões do cabelo que efetivamente estiveram expostas a intempéries, decidimos observar os folículos. Esta observação objetiva verificar se as cavidades da endocutícula teriam algum tipo de origem durante a formação do fio no folículo. Os fios de cabelo e seus folículos foram arrancados do couro cabeludo de uma voluntária e levados diretamente à preparação para MET. Foram feitas observações em três profundidades diferentes do mesmo folículo: a primeira profunda, a mais próxima da papila dermal no couro cabeludo; a segunda cerca de 2 mm acima desta região e a terceira cerca (mais externa) de 5  $\mu$ m acima de segunda região.

Um folículo maduro consiste de um bulbo, estrutura que produz o fio de cabelo. Durante sua vida, o folículo passa repetidamente por três fases de desenvolvimento: catagênese, quando as células próximas à papila dermal começam a morrer e o fio de cabelo é empurrado para fora do folículo; telogênese, quando o fio de cabelo é expulso e as células do folículo repousam; e anagênese, quando sobre instruções da papila dermal as células do bulbo começam a produzir um novo fio de cabelo<sup>1, 13, 62</sup>. Um folículo na fase de anagênese possui três zonas distintas: a) *zona de diferenciação e síntese biológica*, onde entre outras estruturas do bulbo, estão os melanócitos e a papila dermal envoltos pelo envelope epidérmico; b) *zona de queratinização*, onde estão os queratinócitos do bulbo médio; e c) *zona do fio permanente*, próximo a glândula sebácea<sup>1, 13, 62</sup>. A Figura 19 apresenta um diagrama representativo dos componentes e das três zonas distintas de um folículo na fase de anagênese.

As Figuras 20 e 21 mostram micrografias eletrônicas de transmissão do folículo. Estas micrografias são da primeira região, aquela mais profunda e próxima ao bulbo no couro cabeludo. De acordo com a observação da forma, comprimento e espessura das células ao redor do fio, supomos que este folículo se encontra no estágio de anagênese. Na Figura 20A tem-se uma visão geral do corte. Observa-se pelo menos três regiões ou camadas distintas: a mais externa com cerca de 18  $\mu\text{m}$ , uma mediana com cerca de 6  $\mu\text{m}$ , e uma região central. Vê-se em detalhe (Figura 20B) na região externa, estruturas muito densas eletronicamente, amorfas, de tamanhos variados e distribuídas aleatoriamente, outras estruturas menores, menos densas eletronicamente, tipo bastão e com aspecto parecido ao de membranas do "cmc". Observa-se também regiões de contornos indefinidos e textura variável, algumas granuladas e outras lisas.

Na Figura 21A, vê-se em detalhe a "interface" entre a região mediana e a central. Na região mediana é possível observar alguma diferenciação celular que parece levar à formação de camadas distintas. Na região central, observa-se algumas estruturas mais densas eletronicamente, de forma circular e elíptica, e a mesma textura vista na região mediana.

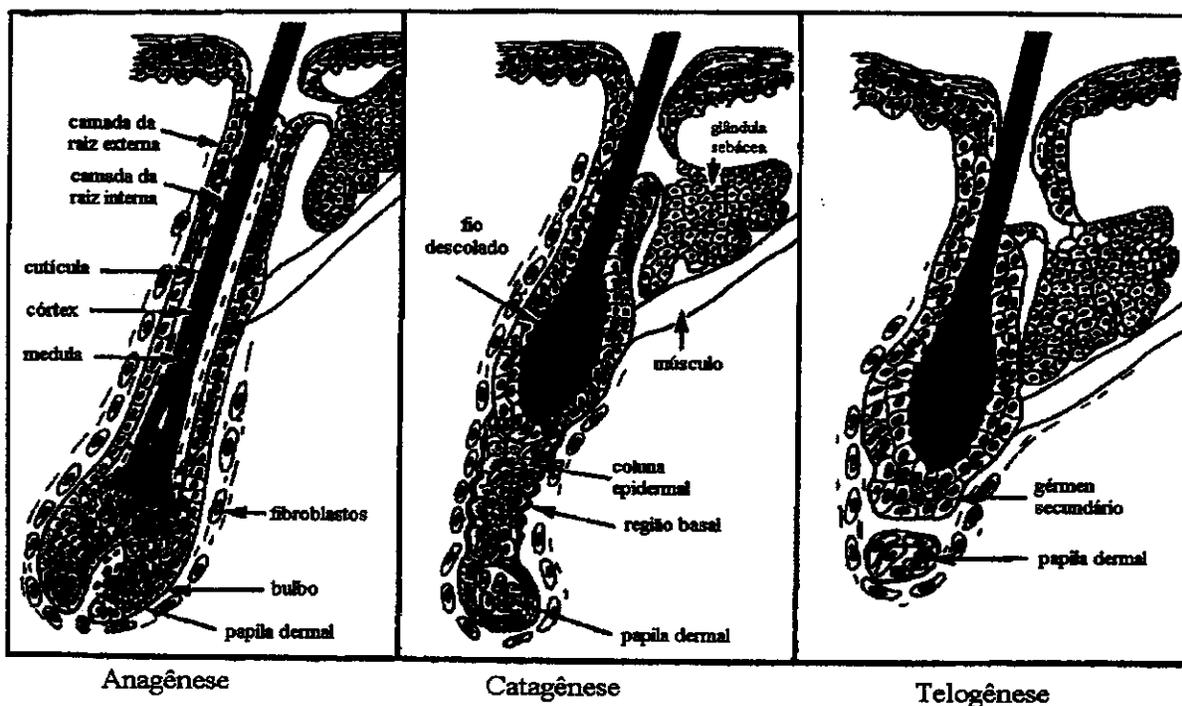


Figura 19: Representação das três fases de desenvolvimento do fio no folículo capilar: anagênese, catagênese e telogênese <sup>1, 63</sup>.

Na Figura 21B vê-se em detalhe a textura às vezes granulada e outras vezes lisa do tecido da região central, e as estruturas circulares e elípticas mais densas eletronicamente e as estruturas tipo bastão que se assemelham a membranas do “cmc”. De acordo com o que se pode ver na literatura, estas estruturas circulares e elípticas podem ser grânulos de melanina em diferentes estágios de formação <sup>64, 65</sup>. Em geral, observa-se nas três camadas, externa, mediana e central, o mesmo tipo de textura no tecido.

A Figura 22 e 23 apresenta micrografias eletrônicas de transmissão do fio de cabelo jovem no folículo. Estas micrografias são da segunda região de observação a cerca de 2 mm acima da primeira região mostrada na Figura 21. Aqui, não serão mostradas micrografias do tecido celular que envolve o fio jovem. Na Figura 22A, vêem-se algumas das células cuticulares e seus constituintes. Observa-se que as células cuticulares e os seus constituintes, a camada A, exocutícula, endocutícula e “cmc”, estão dispostas como em fio de cabelo adulto, porém sem a definição e os contornos característicos vistos no fio adulto. Vê-se que na região da endocutícula há várias estruturas que se assemelham aos chamados

remanescentes citoplasmáticos e outras regiões de maior densidade eletrônica de granulometria fina, que se assemelham a algum tipo de depósito ou remanescente. Estas regiões granuladas e eletronicamente densas não foram observadas anteriormente. Na endocutícula (Figura 22A) de uma das células cuticulares, observa-se um furo no corte, porém não é possível comparar este furo com as cavidades observadas anteriormente nos fios adultos, uma vez que a região celular que envolve o fio jovem não permitiu uma inclusão adequada deste, e uma parte das cutículas rasgou durante a exposição ao feixe eletrônico no MET.

Ao contrário do que nas cutículas, as células no córtex parecem estar bem formadas (Figura 23). Observam-se as células corticias delimitadas pelo "cmc" ou pela mudança na direção em que as microfibrilas estão arranjadas, do mesmo modo que no fio maduro. Entretanto, vê-se regiões com material de maior densidade eletrônica, que parecem ser algum tipo de remanescente distribuído aleatoriamente pelo córtex. Este material parece ser finamente granulado e assemelha-se àquele visto na endocutícula na Figura 22. Destas observações, não foi possível concluir sobre as cavidades nas cutículas do fio jovem no folículo.

Na terceira região de observação, cerca de 5  $\mu\text{m}$  acima de segunda região, não foi possível observar as cutículas do fio jovem, pois novamente o corte rasgou. Logo, estas observações não serão comentadas.

#### **IV.3 – Otimização da metodologia de espectrofotometria de refletância difusa (ERD) para o estudo de cabelo**

O espectrofotômetro de refletância difusa utilizado neste trabalho é um equipamento robusto e preciso, porém tem cerca de dez anos com raras manutenções. Este ensaio foi realizado para verificar a reprodutibilidade de medida do equipamento para amostras com cor e textura diferentes. Além disso, foi avaliado o efeito da cor e da textura das amostras nas medidas de ERD.

#### IV. 3.1 – Reprodutibilidade de medida, da influência da cor e da textura da amostra

A Tabela 4 mostra os valores médios e estimativas de desvio padrão das medidas de ERD do sistema CIELAB para várias amostras: cerâmica branca, cerâmica preta, capa de caderno amarela, capa de plástico azul e um disquete preto.

O equipamento apresenta medidas de RD com dois algarismos depois da vírgula, porém neste trabalho convencionou-se utilizar apenas um algarismo significativo depois da vírgula. Na Tabela 4, observa-se que as medidas de ERD para todas as amostras apresentam uma estimativa de desvio padrão menor que 0,4.

No caso Referência = Amostra, vê-se que os valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  são coerentes com a cor das amostras. Para a cerâmica branca, o parâmetro  $L^* = 96,2$  indica proximidade com o branco puro teórico ( $L^* = 100$ )<sup>37</sup> e os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  mostram pequenas componentes verde e amarela na cor branca da cerâmica branca. Nos parâmetros de diferença de cor não se observa variabilidade nas medidas. Para a cerâmica preta, os valores de  $L^*$  indicam que a amostra é escura ( $L^*=0$  corresponde a preto puro teórico)<sup>37</sup>. Há ainda, uma pequena componente de cor amarela ( $b^* = 0,2$ ) e nenhum traço de verde ou vermelho ( $a^* = 0$ ). Vê-se que a amostra capa amarela tem sua cor descrita por uma luminosidade alta ( $L^* = 82,7$ ), uma pequena componente vermelha ( $a^*=3,0$ ) e uma significativa componente amarela ( $b^* = 74,2$ ), o que mostra coerência nas medidas de ERD. Para o plástico azul, observa-se um  $L^* = 45,0$  (luminosidade média), menor do que o observado para capa amarela e cerâmica branca, o que era esperado já que a cor azul é visualmente mais escura do que as cores amarela e branca. Os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  indicam respectivamente os componentes de cor verde e azul para esta amostra.

O efeito da textura da amostra nos parâmetros de cor do sistema CIELAB foi observado para as amostras cerâmica preta lisa (referência) e disquete preto, no caso Referência  $\neq$  Amostra (mesma cor). A percepção de superfície lisa e rugosa nas amostras é clara, tanto visualmente como através do tato. Esta diferença é traduzida pelo equipamento como uma diferença de luminosidade entre amostras de mesma cor ( $DL^*=7,1$ ). Vê-se o efeito da textura também em  $DE^* = 7,2$  (diferença de cor total), o que era esperado, pois  $DE^*$  é uma somatória dos parâmetros de diferença de cor. Para as amostras de cor

diferente, no caso Referência  $\neq$  Amostra (cor diferente) observa-se valores expressivos para todos os parâmetros de cor e diferença de cor.

TABELA 4: Valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor e diferença de cor obtidos para amostras variadas sem alterar a posição da amostra no equipamento:

Amostras	L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE*
<b>Referência = Amostra</b>							
Cerâmica branca	96,2 $\pm$ 0,0	-0,3 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0
Cerâmica preta	22,0 $\pm$ 0,1	-0,0 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,0 $\pm$ 0,1	-0,1 $\pm$ 0,2	-0,1 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
Capa amarela	82,7 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,0	74,2 $\pm$ 0,1	-0,0 $\pm$ 0,0	-0,0 $\pm$ 0,0	-0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0
Plástico azul	45,2 $\pm$ 0,0	-7,8 $\pm$ 0,0	-37,0 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	-0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0
<b>Referência <math>\neq</math> Amostra (mesma cor)</b>							
Cerâmica preta lisa #	22,1	-0,1	0,3				
Disquete preto rugoso	29,2 $\pm$ 0,3	0,0 $\pm$ 0,1	-0,5 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,1	-0,8 $\pm$ 0,1	7,2 $\pm$ 0,3
<b>Referência <math>\neq</math> Amostra (cor diferente)</b>							
Cerâmica branca #	96,4	-0,4	0,9				
Capa Amarela	82,7 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 0,0	74,2 $\pm$ 0,1	-13,7 $\pm$ 0,0	3,4 $\pm$ 0,0	73,4 $\pm$ 0,1	74,7 $\pm$ 0,1

# Referências utilizadas nas medidas de ERD. Decuplicata de medida.

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade da cor), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total).

#### IV.3.2 – Avaliação da reprodutibilidade e do erro do método de medida para cabelo

O cabelo é uma fibra de geometria aproximadamente elíptica e com superfície 'rugosa' devido às cutículas. Portanto, faz-se necessário conhecer o erro do método\* e a reprodutibilidade de medida para avaliar os dados de ERD obtidos. Este ensaio tem por objetivo estimar a reprodutibilidade e o erro do método utilizado na obtenção de medidas de ERD de amostras de cabelo.

A Tabela 5 mostra os valores médios e as estimativas de desvio padrão, para os parâmetros de cor e diferença de cor, obtidos para amostras de cabelo comum e cabelo padrão limpas com éter e uma amostra de cabelo padrão tratada 120x como descrito em Experimental em III.2.8. Vê-se que as medidas de ERD obtidas são reprodutíveis para todas as amostras de cabelo nas regiões da raiz, meio e ponta. Para os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , a estimativa de desvio padrão varia de 0,2 a 0,8, o que significa uma porcentagem máxima de desvio de cerca de 3,5% para  $L^*$  e cerca de 12,5% para  $a^*$ ,  $b^*$ . Observa-se que os valores médios dos parâmetros de cor e as estimativas de desvio padrão destas são muito próximos para os parâmetros de diferença de cor ( $DL^*$ ,  $Da^*$ ,  $Db^*$ ). Neste ensaio, sabendo que referência interna e amostra são iguais, os valores  $DL^*$ ,  $Da^*$ ,  $Db^*$  dão uma idéia da variabilidade inerente a cada uma das amostras de cabelo e do erro do método utilizado. Esta variabilidade é esperada, pois se trata de uma fibra de origem natural.

Os valores  $DE^*$  permitem avaliar e estabelecer um limite para esta variabilidade do cabelo. Vê-se que a amostra de cabelo padrão apresentou os menores valores de  $DE^* < 1,0$  e em geral as outras amostras apresentaram  $DE^* > 1,0$ . Observa-se que os valores de  $DE^*$  são reprodutíveis para as duas amostras de cabelo comum. Já que o cabelo padrão que foi utilizado na maioria dos experimentos deste trabalho, as medidas de ERD serão consideradas significativas a partir de um  $DE^* = 1,0$ , sendo este o erro do método.

É importante notar que, primeiramente o software do equipamento calcula  $DE^*$  para cada medida [ $DE^* = \{(DL^*)^2 + (Da^*)^2 + (Db^*)^2\}^{1/2}$ ] e depois calcula  $DE^*_M$  (valor

---

\* O erro do método é uma expressão usada neste trabalho para descrever a variabilidade das medidas de ERD feitas para as amostras de cabelo.

médio), logo na Tabela 5 a soma dos valores médios de DL\*, Da\*, Db\* não é igual ao  $DE^*_M$ , ou seja:  $DE^*_M \neq \{(DL^*_M)^2 + (Da^*_M)^2 + (Db^*_M)^2\}^{1/2}$ .

TABELA 5: Valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor e de diferença de cor obtidos para amostras de cabelo:

Amostras	Região	L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE*
<b>Cabelo</b>	raiz	25,0±0,8	3,8±0,2	4,8±0,2	-0,3±0,2	-0,5±0,2	-0,6±0,3	1,0±0,5
<b>Comum</b>	meio	24,8±0,8	3,9±0,2	4,9±0,3	0,7±0,8	-0,5±0,2	-0,1±0,3	1,2±0,4
<b>(amostra1)</b>	ponta	24,7±0,6	3,9±0,2	4,9±0,5	0,0±0,6	-0,5±0,2	-0,3±0,5	0,9±0,3
<b>Cabelo</b>	raiz	24,3±0,7	3,9±0,3	4,9±0,5	-0,0±0,7	0,0±0,3	0,6±0,4	1,0±0,3
<b>Comum</b>	meio	23,8±0,6	4,0±0,2	5,1±0,3	-1,2±0,6	-0,2±0,2	-0,2±0,3	1,3±0,6
<b>(amostra2)</b>	ponta	25,0±0,5	4,0±0,3	4,9±0,3	0,7±0,5	-0,2±0,3	-0,2±0,3	0,8±0,3
<b>Cabelo</b>	raiz	20,6±0,4	3,7±0,2	3,7±0,4	-0,2±0,4	0,3±0,2	0,4±0,4	0,5±0,5
<b>Padrão</b>	meio	21,1±0,5	3,9±0,2	3,8±0,5	0,1±0,5	0,2±0,2	0,5±0,5	0,9±0,3
	ponta	21,9±0,6	4,3±0,3	4,5±0,5	0,1±0,6	0,1±0,3	0,1±0,5	0,8±0,4
<b>Cabelo</b>	raiz	22,0±0,6	3,4±0,3	3,3±0,3	1,2±0,6	0,0±0,3	0,1±0,3	1,2±0,8
<b>Padrão</b>	meio	21,7±0,8	3,7±0,4	3,5±0,6	-0,1±0,8	0,1±0,4	-0,3±0,6	0,9±0,5
<b>(amostra lavada 120x)</b>	ponta	22,4±0,6	4,2±0,3	4,4±0,4	1,1±0,6	-0,2±0,3	-0,1±0,4	1,3±0,5

Todas as medidas são feitas em decuplicata para região da raiz, meio e ponta, girando-se a amostra de cabelo no porta-amostra do equipamento. A referência interna escolhida é a medida mais próxima da média da decuplicata.

Referência interna para cada uma das amostras:

Cabelo comum ('Amostra 1'): Raiz: L\*=24,7, a\*=4,1, b\*=5,3; meio: L\*=24,2, a\*=4,5, b\*=5,1; ponta: L\*=24,7; a\*=4,4; b\*=5,3

Cabelo comum ('Amostra 2'): Raiz: L\*=24,3, a\*=3,9, b\*=4,4, meio: L\*=24,9, a\*=4,2, b\*=5,4; ponta: L\*=24,3, a\*=4,2, b\*=5,1

Cabelo padrão: Raiz: L\*=20,9, a\*=3,4, b\*=3,5; meio: L\*=21,0, a\*=3,7, b\*=3,3, ponta: L\*=21,8, a\*=4,2, b\*=4,5

Cabelo padrão (amostra lavada 120x): Raiz: L\*=20,8, a\*=3,5, b\*=3,3; meio: L\*=21,6, a\*=3,6, b\*=3,8; ponta: L\*=21,3, a\*=4,3, b\*=4,5

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total).

#### **IV.4 – Influência de alterações ultra-estruturais nas propriedades de cor do cabelo**

Sabemos que os cabelos passam por tratamentos simples todos os dias. Muitos estudos já foram realizados simulando estes tratamentos, entretanto ainda há necessidade de um estudo detalhado dos efeitos destes atos comuns na ultra-estrutura e na cor dos cabelos. Estes ensaios objetivam verificar as alterações ultra-estruturais provocadas por tratamentos simples e sua influência nas propriedades de cor do cabelo.

##### ***IV. 4.1 – Efeito do calor produzido pelo secador no cabelo padrão***

O hábito de secar os cabelos com secador após a lavagem é comum, porém há poucos relatos sobre quais são os efeitos do calor sobre o fio. Este experimento tem por objetivos identificar o efeito do calor do secador na estrutura do fio, com ênfase na região da medula, e verificar o efeito das alterações nas propriedades de cor do cabelo.

##### ***➤ Averiguação de alterações estruturais por microscopia de luz***

As observações da amostra no estereo-microscópio ótico foram feitas antes e após uma sequência de cinco exposições de 10 min ao secador e após uma exposição contínua de 60 min. Em cada uma das observações, utilizou-se um grupo diferente de dez fios de cabelo. Como descrito anteriormente no item IV.2 (Figura 6), nos fios observados antes da exposição ao secador, metade possuíam medula, na região da raiz, e dois terços possuíam medula, na região da ponta.

A Figura 24 mostra as foto-micrografias obtidas para a região da raiz do cabelo padrão após os tratamentos com secador, tem-se em (a) e (b) a sequência de cinco exposições de 10 min e em (c) e (d) a exposição contínua de 60 min. Após os primeiros cinco tratamentos de 10 min com secador, foi observada a presença de medula na região da raiz em cerca de um terço dos fios fotografados, e após a exposição contínua de 60 min, em cerca de 20% dos fios; vê-se que há uma diminuição no número de fios com medula em relação aos não tratados.

➤ *Verificação de alterações nas propriedades de cor por ERD*

A Tabela 6 mostra os valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor e de diferença de cor obtidos para uma amostra de cabelo padrão submetida ao calor produzido pelo secador durante diferentes intervalos de tempo. As medidas de ERD foram feitas para a região da raiz e meio da amostra. Observando os dados de diferença de cor, vê-se que os valores médios são iguais ou menores às respectivas estimativas de desvio padrão e, portanto não são significativos. Os valores de DE\* confirmam esta observação. De acordo com o “erro do método” estabelecido para cabelo,  $DE^* = 1,0$ , os valores obtidos não são significativos. Observa-se apenas alguma alteração em DE\* obtido para 30 min e 60 min de exposição ao secador. Neste trabalho, a exposição do cabelo ao calor do secador não produz alteração significativa nas propriedades de cor deste.

#### ***IV. 4.2 – Efeito do tratamento com água a 40°C no cabelo padrão***

Sabendo que muitas pessoas lavam os cabelos todos os dias e que um banho dura em média 15 minutos, ao final de um mês o cabelo passou cerca de 8h na água quente do chuveiro. Portanto os efeitos que este tratamento pode causar na ultra-estrutura e na cor dos cabelos devem ser considerados. O objetivo deste ensaio é verificar o efeito da água 40°C na ultra-estrutura do cabelo e relacionar com alterações nas suas propriedades óticas.

➤ *Verificação do efeito da água a 40°C na ultra-estrutura do cabelo*

A Figura 26 mostra micrografias eletrônicas de transmissão da região da raiz de uma amostra de cabelo padrão tratada com água 40°C por 16h. Em geral, observa-se sete ou oito células cuticulares e a endocutícula está pouco danificada, em relação à presença de cavidades observadas no cabelo padrão referência. As cavidades observadas são de dois tipos, *cavidade vazia* (região sem material) e *cavidade com algum material* (região de menor densidade eletrônica na endocutícula). Também na endocutícula observa-se a presença de remanescentes citoplasmáticos. Nos outros constituintes da célula cuticular, camada A, exocutícula e o “cmc” não há danos. Vê-se também o que pode vir a ser o início

de uma trinca na primeira célula cuticular (Figura 26A) e o descolamento de uma célula cuticular através do “cmc” (Figura 26B).

TABELA 6: Valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e diferença de cor ( $DL^*$ ,  $Da^*$ ,  $Db^*$ ,  $DE^*$ ) obtidos para cabelo padrão submetido ao calor produzido pelo secador em intervalos de 10 min e 60 min ininterruptos:

t (min) <sup>#</sup>		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$DL^*$	$Da^*$	$Db^*$	$DE^*$
<b>Medidas feitas após cada 10 min de exposição ao secador</b>								
10	Raiz	20,9±0,6	3,0±0,3	2,9±0,4	0,4±0,6	0,1±0,3	-0,3±0,4	0,9±0,2
	Meio	21,6±0,5	3,2±0,2	3,3±0,5	0,3±0,5	0,4±0,2	0,2±0,4	0,7±0,3
20	Raiz	21,3±0,8	3,0±0,2	3,2±0,5	-0,1±0,8	-0,1±0,8	0,0±0,5	0,9±0,3
	Meio	22,2±0,5	3,5±0,2	3,6±0,1	0,4±0,5	-0,1±0,2	0,2±0,1	0,6±0,2
30	Raiz	20,8±0,1	3,5±0,2	3,2±1,1	-0,5±1,0	-0,1±0,2	0,4±0,4	1,2±0,4
	Raiz (frente)	20,9±0,8	3,4±0,3	3,6±0,3	-0,4±0,8	-0,1±0,4	0,6±0,3	1,2±0,6
	Meio	22,4±0,5	3,6±0,2	3,9±0,4	0,6±0,5	0,1±0,2	0,5±0,4	1,0±0,2
	Raiz	20,8±0,5	3,3±0,3	3,6±0,4	-0,5±0,5	0,1±0,4	0,5±0,4	1,0±0,4
40	Raiz (frente)	20,7±0,6	2,8±0,3	3,1±0,3	-0,6±0,6	-0,3±0,3	-0,1±0,3	0,9±0,4
	Meio	21,7±0,5	3,5±0,3	4,0±0,5	-0,1±0,5	-0,1±0,3	0,6±0,5	0,9±0,3
50	Raiz	21,6±0,7	3,3±0,3	3,6±0,5	0,2±0,9	0,2±0,3	0,5±0,4	1,1±0,4
	Meio	21,4±0,8	3,5±0,3	4,0±0,4	-0,5±0,8	-0,1±0,3	-0,4±0,6	1,1±0,4
<b>Medidas feitas após de exposição ininterrupta ao secador de 60 min</b>								
t (min) <sup>+</sup>		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$DL^*$	$Da^*$	$Db^*$	$DE^*$
60	raiz	21,5±0,9	3,1±0,3	3,1±0,5	0,5±0,9	-0,3±0,3	-0,6±0,5	1,3±0,2

# tempo de exposição ao secador em intervalos de 10 minutos. Decuplicata de medida. Secador Traveller Britânia 1300W. Referência interna: Raiz:  $L^*=21,3$  ,  $a^*=3,2$  ,  $b^*=3,2$  Meio:  $L^*=1,8$  ,  $a^*=3,6$  ,  $b^*=3,4$

+ tempo de exposição contínua ao secador (min). Referência interna: Raiz:  $L^*=21,0$  ,  $a^*=3,5$  ,  $b^*=3,7$  (medida 50 min raiz 3)

Sistema CIELAB:  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (coordenada vermelho - verde),  $b^*$  (coordenada amarelo - azul),  $DL^*$  (diferença de luminosidade),  $Da^*$  (diferença vermelho - verde),  $Db^*$  (diferença amarelo - azul) e  $DE^*$  (diferença de cor total).

A análise feita com as micrografias das amostras de cabelo tratadas com água 40°C mostrou que 9% da área das cutículas corresponde às cavidades e, dentre estas, 6% da área corresponde às cavidades preenchidas com algum material orgânico. Portanto, houve uma diminuição da área total das cavidades (que era 15% e 7%, respectivamente, no cabelo padrão referência) após o tratamento com água 40°C.

➤ *Verificação do efeito da água a 40°C nas propriedades óticas*

A Tabela 7 apresenta as medidas de ERD obtidas para duas amostras de cabelo padrão após os tratamentos com água 40°C durante 8, 16, 24 e 32 horas. Neste ensaio em particular, as amostras foram colocadas na água 40°C por 8h para medidas de referência interna. As cores nas colunas de DL\*, Da\* e Db\* na Tabela 7 mostram a tendência geral à mudança de cor observada para as amostras. Para a 'Amostra 1', a referência interna escolhida é a medida mais próxima da média da decuplicata. Para a 'Amostra 2', a referência interna é o valor médio da decuplicata de medida e os parâmetros de diferença de cor foram calculados subtraindo a referência (valor médio) e o valor médio obtido para a amostra [ $DL^* = L^*_M$  (amostra) -  $L^*_M$  (referência)]. Por isso, não há estimativa de desvio padrão para estas médias.

Em geral, observa-se que após os tratamentos as amostras tornaram-se mais claras e verdes. A 'Amostra 1' mostra uma tendência ao azul e a 'Amostra 2' ao amarelo. Para as duas amostras, vê-se uma alteração significativa na diferença de luminosidade (DL\*) na região da raiz e da ponta, após o tratamento água 40°C, 8h, que se mantém constante até o último tratamento. Esta variação não ocorre para região do meio das amostras. Os valores médios de Da\* e Db\* são muito próximos da estimativa de desvio padrão, a não ser por Db\* obtido para 'Amostra 1', região do meio, 16h. Os valores de DE\* estão acima do erro do método ( $DE^* = 1,0$ ) medido para as regiões da raiz, meio e ponta da 'Amostra 1', e para raiz e ponta da 'Amostra 2'. Estes DE\*s indicam uma alteração significativa nas propriedades de cor com os tratamentos e que esta alteração se dá nas primeiras 8 h de tratamento. Exceto para região do meio da 'Amostra 2', em que o único DE\* significativo é obtido após 24h de tratamento.

TABELA 7: Valores médios e estimativa de desvios padrão dos parâmetros de cor e de diferença de cor obtidos para duas amostras de cabelo padrão após tratamentos com água 40°C durante 8, 16, 24 e 32 horas.

tempo (horas)		L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE*
<b>'Amostra 1'</b>								
8	R <sup>#</sup>	21,0±0,6	3,4±0,2	3,5±0,3	1,7±0,6	0,1±0,2	0,2±0,2	1,8±0,5
	M <sup>#</sup>	21,9±0,6	3,6±0,3	3,8±0,4	0,9±0,6	-0,2±0,3	-0,4±0,4	1,2±0,5
	P <sup>#</sup>	22,1±0,5	3,9±0,4	4,1±0,4	1,4±0,5	0,2±0,4	0,6±0,4	1,6±0,4
16	R	21,0±0,8	3,3±0,3	3,3±0,4	1,8±0,8	-0,1±0,3	-0,4±0,4	1,9±0,7
	M	21,1±0,9	3,4±0,3	3,1±0,3	0,1±0,9	0,5±0,3	1,1±0,3	1,5±0,4
	P	22,2±0,3	3,8±0,3	3,8±0,4	1,5±0,3	-0,3±0,3	0,9±0,4	1,8±0,3
24	R	20,9±0,7	3,2±0,3	3,6±0,4	1,7±0,7	-0,4±0,3	-0,1±0,4	1,8±0,7
	M	21,7±1,0	4,0±0,2	3,8±0,5	0,7±1,0	-0,5±0,2	-0,4±0,5	1,4±0,3
	P	22,2±0,7	4,0±0,3	4,5±0,4	1,5±0,7	-0,2±0,3	-0,2±0,4	1,6±0,6
32	R	20,6±0,6	3,1±0,3	3,5±0,3	1,3±0,6	-0,4±0,3	-0,2±0,3	1,5±0,5
	M	20,6±3,5	3,4±0,2	3,6±0,4	0,2±1,1	-0,5±0,2	-0,6±0,4	1,4±0,3
	P	22,3±0,8	3,8±0,3	4,3±0,6	1,6±0,8	-0,3±0,3	-0,4±0,6	1,9±0,6
<b>'Amostra 2'</b>								
8	R	21,5±0,9	3,5±0,2	4,0±0,3	3,1	-0,2	-0,5	3,1
	M	21,7±0,8	3,6±0,2	4,0±0,4	0,7	0,3	0,4	0,9
	P	23,0±1,0	3,9±0,3	4,7±0,6	1,6	-0,4	-0,3	1,7
16	R	21,3±0,7	3,6±0,2	3,7±0,2	2,9	-0,1	-0,6	3,0
	M	21,3±0,7	3,6±0,1	3,9±0,1	0,4	0,0	0,3	0,5
	P	23,0±0,6	4,1±0,3	4,5±0,4	1,7	-0,2	0,4	1,7
24	R	21,4±0,8	3,5±0,1	4,1±0,3	3,0	-0,2	-0,2	3,0
	M	22,4±0,9	3,4±0,4	4,1±0,6	1,5	-0,1	0,4	1,6
	P	22,7±0,5	3,9±0,3	4,7±0,4	1,4	-0,4	0,2	1,5

#R,M,P significam a região da medida na amostra respectivamente raiz, meio e ponta.

Referência interna ('Amostra 1'): Raiz: L\* = 19,2 , a\* = 3,5 , b\* = 3,7 ; Meio: L\* = 21,0 , a\* = 3,8 , b\* = 4,2 e Ponta: L\* = 20,7 , a\* = 4,1 , b\* = 4,7

Referência interna ('Amostra 2', valores médios): Raiz: L\*=18,4 , a\*=3,7 , b\*=4,3 ; Meio: L\*=20,9 , a\*=3,6 , b\*=4,4 ; Ponta: L\*=21,4 , a\*=4,4 , b\*=5,0

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total).

#### ***IV. 4.3 – Efeito de lavagens consecutivas no cabelo padrão***

Todos os dias as pessoas realizam algum tipo de tratamento nos cabelos, como lavar com xampu, pentear o cabelo úmido, secar com secador ou simplesmente escovar ou pentear o cabelo seco. Os ensaios a seguir objetivam verificar a influência de atos simples como lavar, pentear e secar com secador realizados repetidas vezes na ultra-estrutura e nas propriedades de cor do cabelo.

Três amostras de cabelo padrão foram submetidas ao procedimento de lavagem, apenas variando o número de lavagens, em 5, 10, 15 e 20 lavagens (duplicata de amostra) ou 30, 60, 90 e 120 lavagens consecutivas. Cada lavagem consiste de uma seqüência de ações que simulam cuidados diários com o cabelo. O procedimento de lavagem está descrita no item III.2.8 de Experimental.

##### ***➤ Verificação do efeito das lavagens consecutivos na ultra-estrutura***

As Figuras 27 e 28 mostram micrografias eletrônicas de transmissão da região da raiz de uma das amostras submetida a 5 lavagens consecutivas. Vê-se várias células cuticulares, indicando que a abrasão aplicada durante as lavagens não causou uma extensa remoção cuticular. Na Figura 27, observa-se que parte da cutícula mais externa foi arrancada pelo rompimento da endocutícula e que a parte restante da célula esta descolando através do rompimento do “cmc”. A endocutícula possui várias regiões de menor contraste, algumas cavidades e remanescentes citoplasmáticos ao longo do seu comprimento. Novamente aqui, os remanescentes citoplasmáticos parecem ser a origem das cavidades. Ademais, vê-se que os outros constituintes das células, camada A, exocutícula e o “cmc” estão intactos.

Na Figura 28A, observa-se que uma parte das cutículas externas foi arrancada na junção entre duas células pelo rompimento da endocutícula numa região onde há cavidades. Na célula adjacente, a endocutícula possui várias regiões de menor contraste e algumas cavidades. Vê-se ainda, na Figura 28B, remanescentes citoplasmáticos e cavidades na

endocutícula das células mais próximas ao córtex. A camada A, a exocutícula e o "cmc" não estão danificados.

Em geral, observa-se que os fios de cabelo submetidos a 5 lavagens surpreendentemente parecem menos danificados na endocutícula do que os fios referência (sem tratamento). A análise das micrografias do cabelo padrão após 5 lavagens mostrou que 16% da área das cutículas corresponde às cavidades, e 13% desta área corresponde às cavidades preenchidas com algum material orgânico. Vê-se que a área total das cavidades não mudou significativamente (não foram formadas novas cavidades), mas que a área das cavidades preenchidas com material aumentou de 7% no cabelo referência para 13% no cabelo após 5 lavagens.

A Figura 29 mostra micrografias eletrônicas de transmissão da cutícula e do córtex da região da raiz de uma das amostras submetida a 30 lavagens consecutivas. Observa-se na Figura 29A que a amostra possui apenas três células cuticulares presas a superfície do fio e uma quarta célula deslocada e que está acima do fio. O que indica que após 30 lavagens, cerca de metade das cutículas foi arrancada pela abrasão. Vê-se que a endocutícula da segunda célula possui várias cavidades e que noutra região a célula está praticamente dividida em duas partes pelo rompimento das cavidades da endocutícula. Este deve ser um local de desprendimento cuticular na sequência das lavagens. Observa-se também que o "cmc" e a camada A não aparecem bem definidos, o que sugere algum tipo de dano nestes componentes.

Vê-se no córtex (Figura 29B) que em geral as células corticais, o cimento intermacrofibrilar, o "cmc" e os grânulos de melanina não estão danificados. Entretanto, em algumas regiões há cavidades no cimento intermacrofibrilar inclusive próximo às melaninas, indicando os primeiros danos no córtex.

A Figura 30 apresenta micrografias eletrônicas de transmissão da região da ponta de uma das amostras submetida a 30 lavagens consecutivas, onde vê-se que o cabelo está extremamente danificado na cutícula e no córtex. Na Figura 30A, observa-se apenas uma célula cuticular, que está completamente descolada do córtex e cuja endocutícula possui várias cavidades. A união das cavidades deve ter levado ao rompimento da endocutícula.

Vê-se no córtex, que há rompimento na matriz inter-marcofibrilar, no “cmc” e ao redor dos grânulos de melanina. Observa-se em detalhe na Figura 30B, que o rompimento no “cmc” é causado pela união de várias cavidades e que a melanina parece estar se despreendendo ou sendo dissolvida. Estas observações do córtex são inéditas.

A Figura 31 mostra micrografias eletrônicas de transmissão da região da raiz da amostra submetida a 120 lavagens consecutivas. Vê-se que o fio possui duas ou três células cuticulares, indicando que as restantes foram arrancadas com as lavagens. Na Figura 31A, observa-se que a endocutícula possui *cavidades preenchidas com algum material* (regiões de menor densidade eletrônica), *cavidades vazias* e que o “cmc” não aparece bem definido, podendo estar danificado. O córtex não aparece com seus componentes danificados. Na Figura 31B, vê-se novamente o descolamento de parte da célula cuticular através do rompimento da endocutícula e no restante da célula parece haver um prolongamento da região rompida pela união das cavidades. Aqui o “cmc” não parece danificado. Outros fios de cabelo desta amostra observados por MET, vê-se que a ausência de cutículas e o córtex exposto, indicando que durante as lavagens todas as cutículas descolaram e foram arrancadas da superfície do fio.

➤ *Verificação do efeito de lavagens consecutivas nas propriedades de cor do cabelo*

A Tabela 8 mostra as medidas de ERD obtidas para duas amostras de cabelo padrão submetidas a 5, 10, 15 e 20 lavagens consecutivas. Observa-se uma tendência geral à mudança de cor para mais claro e amarelo nas duas amostras após os tratamentos. A ‘Amostra 1’ tende ao vermelho e a ‘Amostra 2’ ao verde.

Para a ‘Amostra 1’, vê-se que há alterações significativas na luminosidade da cor (DL\*), porém estas alterações não seguem a sequência de lavagens. As primeiras 5 cinco lavagens promovem um aumento da luminosidade (clareamento) na região da raiz e meio da amostra, enquanto que a região da ponta clareia mais intensamente somente após 10 lavagens. Com 15 e 20 lavagens, as regiões raiz e ponta mostram um aumento em DL\* respectivamente.

TABELA 8: Valores médios e estimativa de desvios padrão dos parâmetros de cor e de diferença de cor obtidos duas amostras de cabelo padrão após 5, 10, 15 e 20 lavagens consecutivas.

(R) <sup>#</sup>	Região	L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE*
<b>'Amostra 1'</b>								
5	Raiz	22,3±0,4	3,4±0,3	3,3±0,3	1,4±0,4	0,5±0,3	0,3±0,3	1,6±0,4
	Meio	23,0±0,6	3,8±0,2	3,8±0,4	1,1±0,6	0,1±0,2	0,5±0,4	1,3±0,6
	Ponta	22,8±0,6	4,1±0,2	4,5±0,6	0,7±0,6	0,0±0,2	0,3±0,6	1,0±0,4
10	Raiz	21,6±0,6	3,3±0,4	3,4±0,4	0,7±0,6	0,3±0,4	0,4±0,4	1,1±0,3
	Meio	21,9±1,2	3,4±0,3	3,3±0,5	0,0±1,2	-0,3±0,3	0,1±0,5	1,2±0,4
	Ponta	23,2±0,6	3,8±0,2	4,1±0,5	1,1±0,6	-0,3±0,2	-0,1±0,5	1,3±0,4
15	Raiz	22,1±0,5	3,3±0,2	3,4±0,4	1,2±0,5	0,4±0,2	0,4±0,4	1,4±0,5
	Meio	22,6±0,7	3,5±0,5	3,7±0,6	0,7±0,7	-0,1±0,5	0,4±0,6	1,2±0,5
	Ponta	23,5±0,3	4,3±0,4	4,78±0,6	1,4±0,3	0,2±0,4	0,6±0,6	1,7±0,5
20	Raiz	22,3±0,4	3,3±0,2	3,4±0,3	1,4±0,4	0,4±0,2	0,4±0,3	1,5±0,4
	Meio	22,1±0,5	3,3±0,3	3,1±0,5	0,3±0,5	-0,3±0,3	-0,2±0,5	0,8±0,3
	Ponta	23,6±0,3	4,2±0,3	4,5±0,4	1,5±0,3	0,1±0,3	0,3±0,4	1,6±0,4
<b>'Amostra 2'</b>								
5	Raiz	21,9±0,5	3,5±0,2	3,6±0,4	1,2±0,4	-0,1±0,2	0,1±0,4	1,3±0,4
	Meio	22,3±0,5	3,7±0,3	3,6±0,3	0,7±0,5	0,0±0,4	0,5±0,2	1,0±0,3
	Ponta	23,0±0,6	4,1±0,3	4,5±0,3	0,9±0,6	-0,1±0,3	0,5±0,5	1,3±0,8
10	Raiz	21,1±0,7	3,2±0,3	3,4±0,6	0,4±0,7	-0,4±0,3	-0,1±0,6	1,0±0,3
	Meio	22,2±0,3	3,5±0,3	3,9±0,6	0,6±0,3	-0,2±0,3	0,8±0,6	1,2±0,4
	Ponta	22,8±0,7	4,0±0,2	4,3±0,4	0,6±0,7	-0,2±0,2	0,3±0,4	1,0±0,3
15	Raiz	21,4±0,9	3,2±0,3	3,2±0,4	0,7±0,9	-0,4±0,3	-0,3±0,4	1,2±0,4
	Meio	22,3±0,9	3,4±0,3	3,5±0,4	0,6±0,9	-0,3±0,3	0,4±0,4	1,2±0,4
	Ponta	22,9±0,4	4,1±0,3	4,5±0,4	0,8±0,4	-0,1±0,3	0,5±0,4	1,1±0,4
20	Raiz	21,7±0,8	3,5±0,3	3,3±0,4	1,0±0,4	-0,1±0,3	-0,2±0,4	1,3±0,3
	Meio	22,6±0,7	3,7±0,2	3,9±0,3	0,9±0,7	0,1±0,2	0,8±0,3	1,3±0,5
	Ponta	23,1±0,9	4,1±0,3	4,5±0,7	1,0±0,9	-0,1±0,3	0,5±0,7	1,5±0,3

<sup>#</sup>R significa repetições das lavagens. Decuplicata de medida.

Referência interna ('Amostra 1'): Raiz: L\* = 20,9 , a\* = 3,0 , b\* = 3,0 ; Meio: L\* = 21,8 , a\* = 3,6 , b\* = 3,2 e Ponta: L\* = 22,1 , a\* = 4,1 , b\* = 4,2

Referência interna ('Amostra 2'): Raiz: L\* = 20,8 , a\* = 3,6 , b\* = 3,5; Meio: L\* = 21,7 , a\* = 3,7, b\* = 3,1 ; Ponta: L\* = 22,2 , a\* = 4,2 , b\* = 4,0

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total).

Já os valores de  $Da^*$  e  $Db^*$  e as estimativas de desvio padrão são muito próximos e, portanto não são significativos. Todos os valores de  $DE^*$  são significativos, com exceção para a região de meio, 20 lavagens, indicando que houve uma alteração na cor com as lavagens. Vê-se que  $DE^*$  inicialmente diminui e volta a aumentar para raiz, diminui para o meio e aumenta para a ponta com a seqüência de lavagens.

Para a 'Amostra 2', vê-se que as alterações mais significativas também são na diferença de luminosidade ( $DL^*$ ) para raiz, 5 lavagens e ponta, 20 lavagens. Novamente,  $Da^*$  e  $Db^*$  não são significativos. Os valores de  $DE^*$  são significativos. Observa-se que para raiz e ponta,  $DE^*$  inicialmente diminui e volta a aumentar e para o meio  $DE^*$  aumenta com a seqüência de lavagens.

Observa-se que as amostras apresentam um comportamento diferente para cada uma das regiões de medida, o que era esperado, pois sabemos que os danos no cabelo aumentam no sentido raiz – ponta e que as pessoas podem tratar algumas regiões dos seus cabelos de maneiras diferentes, por exemplo usando prendedores ou elásticos no cabelo.

A Tabela 9 apresenta medidas de ERD obtidas para uma amostra de cabelo padrão submetida a 30, 60, 90 e 120 lavagens consecutivas.

Na Tabela 9, vê-se que após os tratamentos a amostra exibe uma tendência geral a mudança de cor para mais claro, vermelho e amarelo. Observa-se algumas alterações significativas em  $DL^*$ , como em raiz, 30 e 60 lavagens e meio, 60 lavagens. Entretanto, em geral os valores de  $DL^*$ ,  $Da^*$  e  $Db^*$  estão muito próximos do desvio. Os valores de  $DE^*$  são na maioria significativos. Vê-se que para as regiões raiz e meio  $DE^*$  diminui e para ponta  $DE^*$  aumenta até 90, com a seqüência de lavagens. Os  $DE^*$ s para amostra após 120 lavagens, principalmente meio e ponta, estão dentro da faixa do erro do método. A estimativa de desvio padrão é de cerca de 5% para  $L^*$  e de 10% para  $a^*$  e  $b^*$ , indicando uma boa reprodutibilidade de medida em concordância com os desvios obtidos para as amostras nos outros tratamentos.

TABELA 9: Valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor e de diferenças de cor para uma amostra de cabelo padrão submetida a 30, 60, 90 e 120 lavagens consecutivas:

R <sup>#</sup>	Região	L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE*
30 *	Raiz	22,2±1,3	3,0±0,4	2,9±0,4	0,8±1,3	0,1±0,4	0,1±0,4	1,5±0,3
	Meio	22,1±0,8	3,8±0,2	3,9±0,5	0,6±0,8	0,5±0,2	0,6±0,5	1,2±0,4
	Ponta	21,7±0,3	3,2±0,3	3,0±0,4	-0,2	-0,6	-0,9	1,1
60	Raiz	22,4±0,7	3,2±0,3	3,1±0,5	1,0±0,7	0,3±0,3	0,2±0,5	1,2±0,7
	Meio	22,1±0,5	3,6±0,1	3,2±0,2	0,9±0,5	0,3±0,1	0,4±0,2	1,0±0,4
	Ponta	22,3±0,5	4,3±0,4	4,7±0,7	0,5±0,5	0,4±0,4	0,8±0,7	1,2±0,6
90	Raiz	21,9±0,6	3,5±0,5	3,5±0,3	0,5±0,6	0,4±0,3	0,6±0,3	1,1±0,4
	Meio	21,8±0,7	3,6±0,3	3,6±0,5	0,5±0,7	0,3±0,3	0,3±0,5	0,9±0,6
	Ponta	21,7±1,1	4,3±0,3	4,6±0,6	-0,1±1,1	0,4±0,3	0,8±0,6	1,4±0,5
120	Raiz	21,1±0,7	3,5±0,2	3,4±0,3	-0,3±0,7	0,5±0,2	0,5±0,3	1,0±0,5
	Meio	21,5±0,6	3,5±0,2	3,4±0,4	0,3±0,6	0,2±0,2	0,1±0,4	0,6±0,5
	Ponta	22,0±0,6	4,2±0,2	4,6±0,4	0,1±0,6	0,2±0,3	0,7±0,3	0,9±0,3

<sup>#</sup>R significa repetições das lavagens. Decuplicada de medida . \* Quintuplicata de medida

Referência interna: Raiz: L\* = 21,5 , a\* = 3,0 , b\* = 2,9 , Meio = L\* = 21,5 , a\* = 3,3 , b\* = 3,3 e Ponta: L\*=21,8 , a\* = 4,0 , b\* = 3,8.

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total ).

#### IV. 4.5 – Efeito da irradiação UV-A no cabelo comum

Este experimento pretende verificar as mudanças nas propriedades de cor do cabelo comum provocadas pela radiação UV-A (365 ± 12 nm). As amostras foram utilizadas como recebidas, sem tratamento de limpeza prévio. Nas condições deste experimento, 24h de irradiação da lâmpada correspondem às 4h de sol para radiação UV-A.

A Tabela 10 apresenta as medidas de ERD obtidas para duas amostras de cabelo comum expostas à irradiação UV-A durante 24 e 48h. Em geral, observa-se a tendência das amostras à mudança de cor para vermelho e amarelo após a irradiação. A ‘Amostra 1’ tornou-se mais escura e a ‘Amostra 2’ mais clara. Os parâmetros de diferença de cor são

igualmente afetados. Embora, algumas alterações sejam significativas, são pontuais e sem sequência. De acordo com os valores de DE\*, a região da raiz sofre mudanças significativas nas primeiras 24h de irradiação (4h sol) para as duas amostras. Após 48h, os valores de DE\* diminuem para 'Amostra 1' e se mantêm constantes para 'Amostra 2'.

TABELA 10: Valores médios e estimativas de desvio padrão dos parâmetros de cor e de diferença de cor para amostras de cabelo comum exposta a irradiação UV-A :

t (h)#		L*	a*	b*	DL*	Da*	Db*	DE
<b>'Amostra 1'</b>								
24	Raiz	19,6±0,6	3,8±0,2	3,8±0,5	-1,5±0,6	0,1±0,2	0,7±0,5	1,8±0,4
	Meio	20,3±0,7	4,1±0,2	4,4±0,3	-0,2±0,7	0,3±0,2	0,7±0,3	1,1±0,2
	Ponta	19,9±0,8	4,0±0,4	4,0±0,6	-0,8±0,8	0,4±0,4	0,6±0,6	1,4±0,2
48	Raiz	20,3±0,7	3,4±0,2	4,2±0,2	-0,8 ±0,7	-0,2±0,2	1,0±0,2	1,5±0,3
	Meio	19,9±0,6	3,9±0,2	4,4±0,2	-0,6±0,2	0,1±0,3	0,8±0,2	1,2±0,3
	Ponta	21,1±0,4	3,8±0,2	4,4±0,3	0,4±0,4	0,3±0,2	1,0±0,3	1,2±0,2
<b>'Amostra 2'</b>								
24	Raiz	21,7±0,6	3,7±0,1	3,6±0,2	0,5±0,5	0,6±0,1	0,7±0,2	1,2±0,1
	Meio	21,5±0,5	3,6±0,3	3,4±0,2	0,9±0,5	0,1±0,3	0,2±0,2	1,1±0,2
	Ponta	22,0±0,6	3,8±0,3	3,6±0,4	0,8±0,6	0,5±0,3	0,0±0,4	1,1±0,4
48	Raiz	20,7±0,4	3,4±0,2	4,0±0,4	-0,5±0,4	0,4±0,2	1,1±0,3	1,3±0,4
	Meio	21,7±0,5	3,4±0,3	3,8±0,3	1,0±0,5	-0,1±0,3	0,6±0,3	1,2±0,5
	Ponta	22,0±0,4	3,6±0,2	4,0±0,2	0,8±0,4	0,2±0,2	0,3±0,3	0,9±0,2

# tempo em horas de exposição da amostra a radiação UVA

Referência interna ('Amostra 1'): Raiz: L\*=21,1 , b\*=3,7 , a\*=3,1 ; Meio: L\*=20,5 , a\*= 3,7 ; b\*=3,6; Ponta: L\*=21,7 , a\*=3,6 , b\*= 3,4

Referência interna ('Amostra 2'): Raiz: L\*=21,3 , a\*=3,0 , b\*=3,0 ; Meio: L\*=20,7 , a\*= 3,5 ; b\*=3,2; Ponta: L\*=21,2 , a\*=3,4 , b\*= 3,7

Sistema CIELAB: L\* (luminosidade), a\* (coordenada vermelho - verde), b\* (coordenada amarelo - azul), DL\* (diferença de luminosidade), Da\* (diferença vermelho - verde), Db\* (diferença amarelo - azul) e DE\* (diferença de cor total).

Hoting e colaboradores<sup>17</sup> estudaram as mudanças de cor em cabelo castanho sem tratamento, tingido, descolorido e com permanente devidas a irradiação com UV-A, UV-B, Visível e Infravermelha. O tempo de irradiação foi de 2 e 4 semanas. Os autores observaram que radiações UV-A e visível produziram alterações de cor significativas em todos os cabelos irradiados. Todas as amostras se tornaram mais claras, vermelhas e amarelas com estas irradiações. Quatro semanas de irradiação de cabelo sem tratamento com UV-A produziram  $DL^* = 1,3$ ,  $Da^* = 1,3$  e  $Db^* = 1,8$ . De um modo geral, o nosso resultado concorda com o artigo. Uma comparação mais efetiva não é possível, pois os autores não esclarecem como e quantas medidas de cor foram feitas e ainda as condições de irradiação (lâmpadas, filtros e tempo) são diferentes.

## V – DISCUSSÃO

### V.1 - Sobre as cavidades no cabelo

O aparecimento de “buracos” na endocutícula do cabelo como resultado de lavagens com xampu aniônico convencional é relatado por Kaplin e colaboradores (1982)<sup>31</sup>. Estes “buracos”, observados por MET, foram atribuídos à dissolução de material protéico causada pelo xampu. Entretanto, neste artigo os autores não esclarecem qual tipo de cabelo foi utilizado, quantas e como foram feitas as lavagens, não citam as dimensões destes “buracos” e apresentam apenas uma micrografia mostrando a endocutícula com “buracos”.

De acordo com Gould e Sneath<sup>32</sup> da The Gillette Company, Boston, EUA (1985), os “buracos” são observados por MET nas regiões da raiz e da ponta de cabelo comum. Na cutícula, se localizam na endocutícula com área média de  $0,007 \mu\text{m}^2$  na região da raiz e  $0,030 \mu\text{m}^2$  na região da ponta. No córtex, os buracos possuem área média de  $0,200 \mu\text{m}^2$  e se localizam no cimento inter-macrofibrilar e complexo da membrana celular. Após lavagens com xampu aniônico, é descrito um aumento de 50% no número destes “buracos” na endocutícula para a região da ponta e a área média aumenta para  $0,040 \mu\text{m}^2$ . Para a região da raiz na cutícula, e para o córtex, os autores não observaram alterações significativas. No artigo, não se menciona como as lavagens foram feitas e há apenas uma micrografia mostrando os “buracos” da endocutícula. Os autores explicam que não foi possível distinguir os “buracos” causados pelas lavagens daqueles causados durante a preparação dos fios ou exposição ao feixe eletrônico no MET.

Diferentemente dos trabalhos citados, J.A. Swift<sup>66</sup> (1976)<sup>(#)</sup> relata a formação de “buracos” na endocutícula, observados por MET, em cortes finos submetidos à 5h de digestão a  $38^\circ\text{C}$  com uma solução da enzima tripsina 0,1% w/v em 0,1M de tampão acetato

---

(#) Conversando com Dr. J. Alan Swift, fui informada da sua constante observação por MET dos referidos “buracos” na endocutícula do cabelo, geralmente preenchidos com a resina de inclusão, e que ele não tem dúvidas sobre a relação entre “remanescentes” na endocutícula e os “buracos”. Dr. J. Alan Swift realizou pesquisas sobre fibras de queratina, com ênfase para microscopia eletrônica, há 30 anos e atualmente é colaborador no Department of Fetal and Infant Toxicology, University of Liverpool, Liverpool, England. U.K.

de amônia / amônia pH 7,8 contendo 10% de etanol. E que, após 60h de digestão com tripsina, os “buracos” se juntam formando uma camada distinta, que ocupa cerca de metade da espessura e 2/3 do comprimento visível da endocutícula. De acordo com o autor, a tripsina remove os remanescentes nucleares presentes na endocutícula. O artigo não traz micrografias mostrando estes “buracos”.

Além destas três referências, não há outras na literatura relatando a observação de “buracos” na endocutícula ou em qualquer outra região do fio de cabelo.

Neste trabalho estudamos as cavidades ou “buracos” nas cutículas e no córtex. Em cabelo comum foi estudada a região da ponta por MEV e MET. Determinamos por MET, que em cabelo padrão a quantidade relativa de cavidades ou “buracos” nas cutículas da região da raiz é maior do que nas cutículas da ponta do cabelo comum. As cavidades possuem diâmetro que varia de cerca de 0,05 a 0,25  $\mu\text{m}$  (50 a 250 nm). Nos cortes ultrafinos, as cavidades podem ser observadas de duas maneiras diferentes: *cavidades vazias*, principalmente as de diâmetro maior, e *cavidades de menor densidade eletrônica* do que o restante da endocutícula (Figura 10), portanto que contêm algum material orgânico. Este material orgânico não é resina de inclusão<sup>\*\*\*</sup>, pois em geral esta não preenche as cavidades de fios de cabelo antes dos tratamentos. Verificamos também que as cavidades estão relacionadas com a presença de algumas estruturas na endocutícula, ou seja, parecem se formar preferencialmente ao redor ou próximas destas estruturas (Figuras 12A, 10B e 27). Estas estruturas são citadas em único artigo, e são chamadas de remanescentes citoplasmáticos<sup>56</sup>. As *cavidades vazias* e *cavidades de menor densidade eletrônica* estão distribuídas aleatoriamente na endocutícula das células dos fios de cabelo com até 4 ou 5 células cuticulares. Em fios de cabelo com mais 6 células cuticulares, as cavidades têm uma localização preferencial na endocutícula das células mais internas, ou seja, mais próximas ao córtex. Frequentemente, as células cuticulares com cavidades na endocutícula se descolam ou destacam da superfície dos fios de cabelo comum. Verificamos por MET que as lavagens severas com tensoativo (30x a 120x) aumentam significativamente a

---

\*\*\* A resina de inclusão penetra no máximo em uma ou duas camadas cuticulares no fio de cabelo.

quantidade relativa de cavidades nas cutículas (endocutícula) e no córtex, no cimento intermacrofibrilar e complexo da membrana celular “cmc”. Neste caso, vê-se que estas cavidades da endocutícula estão geralmente preenchidas com a resina de inclusão, pois apresentam o mesmo contraste do fundo da foto. Além disso, estes tratamentos severos promovem o descolamento e a remoção das células cuticulares. Entretanto, nas primeiras lavagens com tensoativo (5x) e água 40°C, 16h, aparentemente há um “desaparecimento” ou uma diminuição na quantidade relativa de *cavidades vazias* (Figuras 26, 27 e 28) na região da raiz do cabelo padrão.

➤ *As cavidades são artefatos?*

As micrografias eletrônicas de transmissão dos dois artigos que mostram os “buracos” na endocutícula do cabelo não apresentam a região que corresponde ao chamado “fundo da foto”. Assim, não é possível comparar o contraste dos “buracos” com o contraste do “fundo” e saber se os “buracos” são furos no corte ou se há material no seu interior. Em nenhum momento os autores citam o efeito da diferença de contraste e se os “buracos” são furos no corte. A observação da micrografia no artigo original de Gould e Sneath dá a impressão de artefato de preparação, pois todos os “buracos” aparecem rompidos e é clara a observação dos riscos provocados pelos dentes da navalha de diamante. Em nossos estudos determinamos que as cavidades ou “buracos” não são artefatos, pois também foram observados no MEV, onde os fios não passam por uma preparação longa como para MET, apenas são cortados com tesoura, montados no porta-amostra e recobertos com uma fina camada de ouro. Verificamos também que a incidência prolongada do feixe eletrônico do MET nas cavidades não aumenta o diâmetro e nem provoca o rompimento da região de observação, confirmando que não são artefatos de preparação.

➤ *O que há nas cavidades?*

A verificação por MET de cavidades de menor contraste que o restante da camada na endocutícula do cabelo comum, padrão e tingido, indica a presença de material orgânico de diferentes densidades no local. Não se vê diferença nos espectros de microanálise de

raios-X (EDA-X) obtidos durante as observações no MET, para as *cavidades de menor densidade eletrônica* e para outras regiões da endocutícula. Sabe-se que os corantes eletrônicos utilizados não são específicos e que o tetróxido de ósmio reage com proteínas que contêm triptofano, cistina e metionina a pH 7, com lipídeos insaturados, oxidando as ligações duplas e também com grupos sulfidril, hidroxil, carbonil, fenólico, amino e dissulfeto <sup>50</sup>, portanto aqui é possível concluir apenas sobre a diferença de densidade e não sobre a natureza do material.

➤ *De onde vêm as cavidades?*

No folículo capilar, a endocutícula é formada como resultado da compressão ou achatamento do núcleo, citoplasma, complexo de golgi e mitocôndria das células matriz que originam as cutículas <sup>13</sup> e por isso pode conter remanescentes do núcleo e citoplasma das células originais <sup>56</sup>. O citoplasma de uma célula, em geral é constituído por proteínas incluindo enzimas, vitaminas, íons, ácidos nucleicos, aminoácidos, açúcares, carboidratos, ácidos graxos, que em sua maioria são solúveis em água.

Propomos que a água difunde pelas cutículas até regiões da endocutícula onde se encontram os remanescentes solúveis e os dissolve até remoção completa do material, dando origem a uma cavidade vazia. De acordo com nossos estudos por MET, os remanescentes citoplasmáticos ou nucleares e as *cavidades de menor densidade eletrônica* são precursoras de *cavidades vazias* na endocutícula.

Atualmente, o mecanismo mais aceito de difusão de moléculas no cabelo é a difusão intercelular, ou seja, entre as células cuticulares e através da camada  $\delta$  no "cmc" e da endocutícula <sup>67,7</sup>. A camada  $\delta$  (150 Å de espessura) é constituída de aminoácidos ácidos e básicos e cercada por duas camadas lipídicas, insolúveis em água <sup>9</sup>. Sant'Anna <sup>68</sup> encontrou um coeficiente de difusão aparente de rodamina B (uma molécula semi-esférica de MM = 479 g/mol) na cutícula de cabelo padrão (da mesma mecha cabelo padrão utilizada neste trabalho) de  $0,98 \times 10^{-10}$  cm<sup>2</sup>/s. King <sup>69</sup> relata um coeficiente de difusão da ordem de  $10^{-9}$  cm<sup>2</sup>/s a 25°C para o sistema fibra de lã seca - vapor d'água. Estes

coeficientes de difusão indicam uma difusão mais lenta do que a observada para o sistema água - água, que é da ordem de  $10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/s<sup>9</sup>. De acordo com Sant'Anna<sup>68</sup>, a difusão de rodamina B nas cutículas ocorre em 30 minutos. Então durante um banho de 10 min, tensoativos como dodecilsulfato de sódio, CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub>OSO<sub>3</sub>Na (MM = 288,38 g/mol), e outros componentes do xampu podem difundir em pelo menos algumas das cutículas e dissolver os solúveis.

➤ *Porque há cavidades nas cutículas mais internas?*

Água e solução de tensoativo difundem intercelularmente no “cmc” das cutículas até alcançar o último “cmc” (antes do córtex). Como o coeficiente de difusão no córtex é menor, se acumulam nesta região e a uma dada concentração por diferença de potencial químico, escapam do “cmc” para a endocutícula e para o córtex. Na endocutícula, água dissolve as substâncias mais solúveis, dando origem às cavidades. No córtex, difundem pelo cimento inter-macrofibrilar e do mesmo modo originam cavidades.

A rodamina difunde pelas cutículas com velocidade de 55 nm/s (consideramos  $D_{\text{apar}} = 0,98 \times 10^{-10}$  cm<sup>2</sup>/s e área =  $\pi.r^2$ ). No córtex, o coeficiente de difusão aparente da rodamina B,  $D_{\text{apar}} = 0,49 \times 10^{-10}$  cm<sup>2</sup>/s<sup>68</sup>, diminui à metade em relação as cutículas e a velocidade é de 39 nm/s. Deste modo, o córtex funciona como um tipo de barreira, provocando um eventual acúmulo de solução nas cutículas adjacentes. Sabemos que os constituintes não queratinosos, ou seja, pouco reticulados do cabelo são a endocutícula e o “cmc”. Na cutícula, a endocutícula e a camada  $\delta$  do “cmc” possuem caráter hidrofílico, e estão localizadas entre os constituintes hidrofóbicos, como a camada interna, reticulada e hidrofóbica, as duas camadas  $\beta$ , lipídicas, e a epicutícula, também reticulada e hidrofóbica. No córtex, o cimento inter-macrofibrilar é constituído de  $\gamma$ -queratina amorfa e reticulada. A constituição química e a estrutura da cutícula e do córtex corroboram os coeficientes de difusão e explicam porque muitas vezes há cavidades nas cutículas próximas ao córtex.

➤ *Por que as cavidades “desaparecem” nas primeiras lavadas?*

Verificamos que nas primeiras lavagens com tensoativo (5x) e com água 40°C, 16h, aparentemente há um desaparecimento das cavidades vazias na região da raiz do cabelo padrão.

O cabelo padrão foi extraído com éter etílico em soxhlet por 8h antes dos experimentos, o que significa que a amostra passou cerca de 8h mergulhada no éter etílico, portanto todo o material removível de baixo peso molecular foi extraído. Vê-se da observação em MET e MEV que éter etílico não remove material estrutural, como por exemplo, as membranas celulares ou cimento inter-macrofibrilar, e não provoca descolamento e remoção das cutículas ou qualquer dano aparente no cabelo. Entretanto, cavidades com algum material podem ter sido literalmente “lavadas” pelo éter durante a extração, daí a observação de *cavidades vazias*. Porém, um estudo sistemático por microscopia eletrônica comparando amostras de cabelo antes e depois da extração com éter não foi feito.

Durante os primeiros tratamentos, as soluções aquosas ou a água podem causar uma migração do material protéico solúvel para as *cavidades vazias* já existentes. Como as *cavidades vazias* não possuem membranas e as proteínas da endocutícula não são reticuladas, não há impedimento para esta migração. Assim, as cavidades seriam preenchidas pela migração do material protéico, mas apenas temporariamente, pois com a continuidade dos tratamentos, acontece a dissolução definitiva e remoção deste material protéico.

➤ *Como se formam as cavidades no córtex?*

Observamos por MET que, antes dos tratamentos, no cabelo comum (região da ponta) há poucas *cavidades vazias* no cimento inter-macrofibrilar do córtex, e no cabelo padrão (região da raiz) não há cavidades no córtex. Após 30 lavagens consecutivas com tensoativo, encontramos mais *cavidades vazias* na região da raiz. Na região da ponta, a quantidade de cavidades é muito maior do que na raiz. Estas cavidades (região da ponta)

estão preenchidas com resina de inclusão. Diferentemente da região da raiz, o fio de cabelo na região da ponta possui pouco ou nenhuma cutícula. Tanto na raiz quanto na ponta, vê-se que há cavidades preferencialmente nas regiões intercelulares ao redor das células corticais, ou seja, no cimento inter-macrofibrilar (Figura 29), no “cmc” e também ao redor dos grânulos de melanina (Figura 30).

Propomos que a água ou líquidos difundem pelo “cmc” da cutícula até o córtex, onde ainda pelo “cmc” alcançam o cimento inter-macrofibrilar e lá dissolvem o material protéico, originando as cavidades. De acordo com nossas observações, a difusão de líquidos no córtex se dá via intercelular como nas cutículas, pelo “cmc” e também pelo cimento inter-macrofibrilar.

Sabe-se que a difusão intercelular de rodamina B é mais lenta no córtex do que na cutícula <sup>68</sup>. Portanto, a dissolução de material protéico no córtex não deve acontecer nas primeiras lavagens e deve ser favorecida pelo descolamento das cutículas durante as lavagens mais severas. A presença de *cavidades vazias* no córtex antes dos tratamentos, nos sugere o mesmo “efeito de lavagem” destas observado para as cutículas após extração com éter etílico.

No entanto, o efeito de preenchimento das cavidades pela migração de material protéico parece pouco provável no córtex, pois há pouco material que possa migrar. De modo que, as cavidades observadas nos fios antes dos tratamentos não se preenchem durante as primeiras lavagens como no caso das cavidades nas cutículas.

As células corticais são constituídas de microfibrilas cristalinas de  $\alpha$ -queratina distribuídas numa matriz amorfa de  $\gamma$ -queratina. A matriz possui concentração relativa de pontes de dissulfeto alta em comparação com a endocutícula <sup>56</sup>, o que implicaria na quebra destas pontes para migração de material.

Resumindo, propomos que o(s) líquido(s) difunde(m) por via intercelular através do “cmc”, tanto na cutícula quanto no córtex. A velocidade de difusão é menor no córtex <sup>68</sup>, o que ocasiona saturação de líquido no “cmc” das cutículas, antes de saturar o córtex.. Na

endocutícula, o líquido promove a solubilização e migração de material protéico às cavidades vazias pré-existentes ou às de menor concentração deste material. Prolongando a exposição do cabelo ao líquido, ocorre a remoção do material protéico das cavidades na endocutícula, resultando a formação de cavidades na endocutícula das células mais internas e/ou rompimento da endocutícula. No córtex, o líquido difundido através do “cmc” chega ao cimento inter-macrofibrilar e às células corticais, até a saturação nestas regiões. Inicialmente, o material protéico do cimento inter-macrofibrilar é solubilizado e removido, resultando na formação de cavidades nestas regiões. Posteriormente, a solubilização e a remoção de material ocorrem também ao redor dos grânulos de melanina e no “cmc”.

## V.2 - Sobre o descolamento das células cuticulares do cabelo

O descolamento das cutículas do cabelo como resultado de agitação mecânica dos fios em água, é relatado por Swift <sup>58</sup>. De acordo com o autor, o melhor método de separação foi obtido utilizando-se tubo plástico apropriado (30 mL) com 0,3 g de cabelo (região da raiz) e 15 mL de água em agitador orbital (30 Hz). Após 2h de agitação, foram separadas 50 mg de material cuticular. As fibras secas antes e após agitação, as fibras mergulhadas em água, imediatamente congeladas e secas pelo método de “freeze dry”, e o material extraído com a agitação foram observados por MEV. No artigo há micrografias de cada uma das observações feitas. Nas fibras submetidas à agitação, as cutículas estavam quebradas e havia um material granuloso na região da quebra. Nas fibras úmidas e congeladas, as cutículas estavam intumescidas e este efeito foi atribuído ao intumescimento da endocutícula. O material extraído possuía partículas finas e de aspecto granuloso. No MET, o autor identificou o material granuloso como parte da endocutícula, devido sua intensa densidade eletrônica devida a prata amoniacal/PTA. O autor propôs um mecanismo de intumescimento e fragmentação das células cuticulares sob agitação em água, no qual primeiro ocorre o intumescimento da endocutícula em água e a seguir com a agitação acontece o descolamento de parte da endocutícula e a fragmentação da célula cuticular. O esquema ilustrando este mecanismo está mostrado na Figura 32.

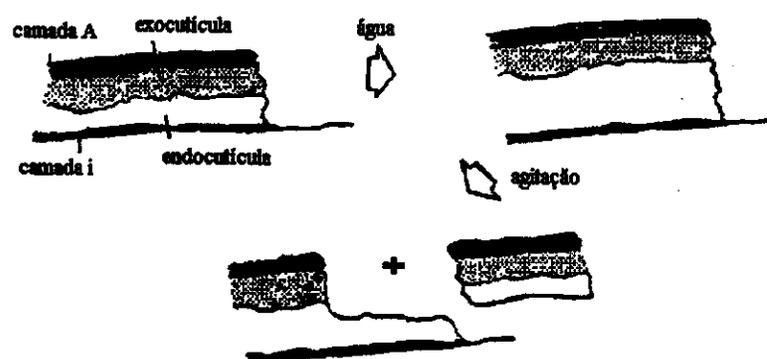


Figura 32: Diagrama esquemático ilustrando o intumescimento e fragmentação da cutícula dos fios de cabelo submetidos à agitação mecânica <sup>58</sup>.

Esta é a única referência encontrada na literatura sobre descolamento cuticular em cabelo.

Neste trabalho verificamos, por MEV e MET, o descolamento das células cuticulares no cabelo comum e tingido (região da ponta), ambos sem tratamento e no cabelo padrão (região da raiz e ponta) antes e depois dos tratamentos aplicados. Observamos que o descolamento se dá de dois modos: 1) através do rompimento da endocutícula (Figura 14) e 2) através descolamento do “cmc” (Figuras 14 e 15). Por MEV, vê-se células descoladas da superfície, células quebradas e uma substância rugosa onde parte das células foi removida (Figura 13). Por MET, vê-se que na endocutícula o rompimento ocorre preferencialmente nas regiões onde se localizam as cavidades. No “cmc”, aparentemente a membrana inteira descola da célula cuticular adjacente, porém não foi possível concluir em qual das três camadas constituintes do “cmc” ocorre o rompimento. No cabelo padrão e comum, não se observa preferência no modo de descolamento das cutículas. Para o cabelo tingido, há um descolamento cuticular preferencial via “cmc”, o que era esperado, pois verificamos que o tingimento danifica o “cmc”.

O modelo de descolamento das células cuticulares proposto pela literatura descreve rompimento através da endocutícula, em concordância com as observações feitas neste trabalho. Como propomos anteriormente, durante a difusão ocorre a saturação do “cmc”

com o líquido difundido, este migra para a endocutícula e promove o intumescimento, a formação de cavidades, o rompimento e posterior descolamento de parte da endocutícula.

Já o modo de rompimento via “cmc” não está descrito na literatura. Entretanto, como o caminho preferencial de difusão de líquidos nas cutículas é a via intercelular, ou seja, pelo “cmc”<sup>9</sup>, durante a difusão, pode ocorrer algum dano que favoreça o rompimento e descolamento desta membrana da célula cuticular adjacente. Verificamos cavidades na “cmc” do córtex, somente na região da ponta após lavagens severas com tensoativo (30x), quando as cutículas já tinham sido removidas. Os tensoativos, presentes em xampus e nos tratamentos realizados neste trabalho, podem acelerar o processo de descolamento das células cuticulares via “cmc”, pois estes podem dissolver as camadas lipídicas do “cmc”. Porém, nas primeiras lavagens não se observa cavidade no “cmc”. Considerando a camada  $\delta$  (150 Å de espessura) como a via preferencial de difusão no “cmc”, imaginamos que a molécula de água difunde mais facilmente que a rodamina B e o tensoativo (lauril sulfato de sódio) e que, portanto, os primeiros danos seriam provocados pela água e pela abrasão durante as lavagens. Sabe-se que o dodecil benzeno sulfonato de sódio, DBS, possui um raio teórico de 5,78 Å, e uma área da molécula para empacotamento denso de 133,6 Å<sup>2</sup><sup>70</sup>. Tomando as dimensões do DBS como semelhante às do lauril sulfato de sódio, tensoativo usado neste trabalho, e os coeficientes de difusão da rodamina B (ordem de 10<sup>-10</sup> cm<sup>2</sup>/s) no cabelo<sup>68</sup> e da água em lã (ordem de 10<sup>-9</sup> cm<sup>2</sup>/s)<sup>69</sup> é justificável a ação inicial da água nestas regiões e sua difusão pela camada  $\delta$ .

Um efeito semelhante, porém mais acentuado, deve ocorrer no “cmc” através da ação dos agentes oxidantes durante o tingimento do cabelo.

#### ➤ *A formação de trincas nas cutículas do cabelo*

Neste trabalho verificamos a formação de trincas nas cutículas (Figura 25) do cabelo padrão (região do meio) tratado com água 40°C por 16h. Após o tratamento, o excesso de água é retirado com toalha e o cabelo seco a temperatura e umidade ambientes por 12h. Observamos que a forma, o contorno irregular e a disposição das cutículas são

semelhantes ao observado para o cabelo sem tratamento. O tratamento com água 40°C não promoveu um descolamento acentuado das extremidades das cutículas, contudo causou trincas nas cutículas do fio. Estas trincas estão em toda parte observada do fio, as menores com cerca de 2 a 5  $\mu\text{m}$  até a uma das maiores com cerca de 40  $\mu\text{m}$  de comprimento. Na região exposta pela trinca (Figura 24B), vemos um material de aspecto mais rugoso que a superfície da própria cutícula. Considerando a profundidade e a característica rugosa, a região exposta pode ser parte da endocutícula ou do "cmc", indicando que a exocutícula ou a célula toda descolou.

White <sup>71</sup>, Stam <sup>72</sup> e colaboradores obtiveram dados quantitativos de mudanças no diâmetro e comprimento de cabelo loiro em função da umidade relativa (U.R.) como resultado de adsorção de água. O cabelo loiro foi previamente extraído com álcool e éter, lavado em água e seco ao ar. Os dados foram obtidos adaptando-se uma cela com fluxo de ar de umidade controlada ou água no caso de U.R.=100%, onde estão os fios de cabelo, a um microscópio ótico equipado com escala micrométrica nas lentes objetivas. As medidas foram feitas em 20 regiões diferentes ao longo do cabelo, antes e após 8h da exposição deste a uma dada umidade relativa, e sob tensões de 0, 0,2, 1, 2 e 5 g. Os autores obtiveram que com a adsorção de água, o comprimento e o diâmetro do cabelo (sem tensão) aumentam com o aumento da umidade relativa. O aumento no diâmetro é cerca de 14% e o aumento no comprimento é de cerca de 2% e cada grama de fibra sorve cerca de 20% do seu peso em água, para 100% U.R.. A aplicação de tensão à fibra diminui o intumescimento e a quantidade de água sorvida; este efeito é mais acentuado no diâmetro. As curvas de sorção para mudanças de diâmetro e de comprimento possuem forma diferente, além da magnitude diferente. Os autores sugerem que os efeitos anisotrópicos observados nas isotermas de comprimento e diâmetro indicam diferenças no mecanismo de adsorção de água e que praticamente toda água sorvida contribui para o intumescimento. As diferenças são atribuídas à composição morfológica das fibras de cabelo.

Em seu livro, Robbins <sup>9</sup> cita trabalhos onde em UR=100%, o intumescimento de fibras de queratina causa um aumento de cerca de 15% no diâmetro e 2% no comprimento. Outros reagentes como lauril sulfato de sódio, ácido fórmico e ácido tioglicólico

intumescem as fibras de maneira similar. O intumescimento é atribuído a sorção de água pelas regiões não-queratinosas da fibra, o “cmc” e a endocutícula na cutícula, e o cimento inter-macrofibrilar no córtex.

Nos trabalhos anteriores, os autores não citam a formação de trincas nas cutículas dos fios de cabelo como resultado do intumescimento.

O maior efeito do intumescimento pela água é diâmetro do cabelo. O córtex é composto de microfibrilas cristalinas orientadas na direção do fio, este arranjo cristalino é uma barreira para o intumescimento na direção do comprimento. No entanto, na direção radial, a contribuição para o intumescimento é dos constituintes amorfos e pouco reticulados, como a endocutícula, o “cmc” e o cimento inter-macrofibrilar. No cabelo, entre as cadeias polipeptídicas das proteínas amorfas, há interações devido às pontes de enxofre cistínico (S-S), ligações de hidrogênio, interações iônicas e forças de van der Waals<sup>73</sup>. A água sorvida interfere nestas interações formando novas ligações de hidrogênio, interações iônicas e modificando as vizinhanças e as forças de van de Waals, resultando no aumento do espaçamento intermolecular, no intumescimento e até na solubilização de material protéico. As trincas podem originar-se nesta fase de intumescimento. Durante a secagem do cabelo, com a evaporação das moléculas de água, outras ligações intermoleculares devem se formar e nas regiões do cabelo onde a ação da água tenha produzido espaçamento suficiente para que interações intermoleculares não se estabeleçam, ocorre a propagação das trincas.

### **V. 3 - Sobre as propriedades de cor do cabelo**

#### **➤ *Das alterações nos parâmetros de diferença de cor***

Neste trabalho, verificamos que tratamentos suaves promovem alterações significativas na luminosidade do cabelo. Nos tratamentos com água à 40°C e de 5 a 20x lavadas (tratamentos suaves), obtivemos valores de diferença de luminosidade (DL\*) de até 3,0 e de até 1,6, respectivamente. Para ambos os casos, a diferença de cor total (DE\*)

mostra o mesmo perfil obtido para diferença de luminosidade e os valores dos parâmetros que expressam diferenças de cor verde - vermelho ( $Da^*$ ) e azul - amarelo ( $Db^*$ ) pouco influenciam  $DE^*$ . Por microscopia eletrônica, verificamos modificações superficiais no cabelo com os tratamentos suaves, como o intumescimento e a formação de trincas nas cutículas, o inicial desaparecimento e posterior formação de *cavidades* na endocutícula.

Verificamos que para os tratamentos severos (30 a 120x lavadas) a alteração na luminosidade do cabelo é pouco significativa, e o parâmetro de diferença de cor total é o que melhor descreve as alterações promovidas pelos tratamentos e observadas por microscopia eletrônica. No cabelo com praticamente todas as cutículas arrancadas e com danos no “cmc” e cimento inter-macrofibrilar do córtex (ponta, 30x), os valores de  $DE^*$  são próximos do erro do método ( $DE^* = 1,0$ ), ou seja, são próximos às medidas obtidas para a referência. Para o córtex completamente exposto e com grânulos de melanina danificados,  $DE^*$  é de cerca de 1,4 (ponta, 90x), e quando o dano atinge as células corticais, a diferença de cor total novamente entra na faixa do erro do método (ponta, 120x). Nestas modificações estruturais no córtex, a diferença de cor azul – amarelo ( $Db^*$ ) é o que mais contribui com para a diferença de cor total.

Nos ensaios do efeito do calor produzido pelo secador, vê-se o desaparecimento da medula após 50 min de exposição ao calor, mas os valores de  $DE^*$  estão, em sua maioria, dentro do erro do método.

Assim, podemos concluir que para os tratamentos suaves que causam alguns danos superficiais nas cutículas, o equipamento de espectrofotometria de refletância difusa, ERD, é muito sensível, e o parâmetro que descreve estas alterações nas cutículas é a diferença de luminosidade. Nos tratamentos severos que causam danos no interior da fibra de cabelo, córtex e medula, em geral, o equipamento de ERD não acusa diferença entre a referência (cabelo sem tratamento) e a amostra (cabelo depois do respectivo tratamento). Portanto, as cutículas são as responsáveis pela luminosidade ou tendência ao clareamento nos cabelos e o equipamento de ERD detecta estas diferenças.

Na literatura não há outros estudos que sobre alterações de cor que utilizem a técnica de ERD para medidas de cor ou brilho do cabelo, exceto um trabalho recentemente

publicado pelo nosso grupo de pesquisa <sup>41</sup>, sobre o efeito de alguns produtos comerciais nas propriedades de brilho dos cabelos. Os cabelos foram tratados com 2 mL de produto por 2 min, em seguida enxaguados em água corrente, sem a utilização de abrasão manual ou pente. Observou-se que o equipamento de ERD é suficientemente sensível para medir as alterações promovidas pelos produtos e que o parâmetro de diferença de cor total descreve estas modificações no brilho. Com os valores de DE\*, estabeleceu-se uma escala relativa de brilho para os produtos. Os dados do artigo concordam com as observações feitas nesta tese.

Sabemos que os parâmetros de cor estão intimamente ligados à refletância de um material <sup>37</sup>. A seguir, a discussão trata dos espectros de refletância obtidos para o cabelo referência e após os tratamentos, e propõe um modelo para explicar os resultados de refletância e relacionar com as observações feitas por microscopia eletrônica para o cabelo.

➤ *Os espectros de refletância do cabelo*

Sabemos que cabelo é um material translúcido <sup>74</sup>, o que foi confirmado pela observação da medula no estereo-microscópio, uma vez que parte da luz é transmitida. A cor dos cabelos é conferida pelos grânulos de melanina presentes no córtex, que absorvem uma parte da luz visível incidente. Um cabelo sem grânulos de melanina é branco, o que significa que a luz visível não é absorvida, e sim transmitida e refletida em todos os comprimentos de onda. Como no cabelo, a melanina está na forma de grânulos aleatoriamente distribuídos no córtex e corresponde a cerca de 3% em massa da fibra, podemos considerar que a absorção de luz é pequena, ou seja, apenas uma pequena porção luz interage com os grânulos de melanina.

Além da absorção e da transmissão, outros fatores que influenciam a reflexão da luz por uma superfície são a heterogeneidade química e a rugosidade, que contribuem o espalhamento da luz nesta. A disposição das cutículas na superfície do cabelo é semelhante à de degraus em uma escada ou de telhas em um telhado. Assim, para os efeitos de reflexão da luz, as cutículas com cerca de 200 a 400 nm de altura (ou espessura) poderiam ser

comparadas à rugosidade em superfícies planas. Para verificar se a superfície do cabelo pode ser considerada opticamente lisa ou rugosa, utiliza-se o critério de Rayleigh <sup>75</sup> :

$$h > \lambda / 8 \cos\theta$$

onde:  $h$  é a altura máxima de um defeito, para que uma superfície possa ser considerada opticamente lisa,  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação,  $\theta$  é o ângulo de incidência.

Para  $\theta = 30^\circ$  e à  $\lambda = 360$  nm, temos que  $h = 52$  nm, e à  $\lambda = 740$  nm, temos que  $h = 110$  nm. As cutículas possuem espessura ou altura de cerca de 400 nm, ou seja, maior do que o  $h$  calculado em ambos os comprimentos de onda. Portanto, a superfície do cabelo é opticamente rugosa, o que contribui para o espalhamento da luz incidente.

Os espectros de refletância na região do visível para o cabelo, independente de sua cor, correspondem à reflexão esperada para a melanina. A Figura 33 mostra espectros de refletância para o cabelo loiro padrão, o cabelo preto comum e o cabelo castanho padrão (utilizado aqui), obtidos nas mesmas condições e no mesmo equipamento de ERD deste trabalho. O cabelo loiro apresenta um aumento na porcentagem de refletância quase linear com o comprimento de onda, e este aumento é acentuado a partir de  $\lambda > 550$  nm. O cabelo castanho e o cabelo preto mostram refletância menor e muito próximas, com %R máxima de cerca de 8% à  $\lambda = 740$  nm.

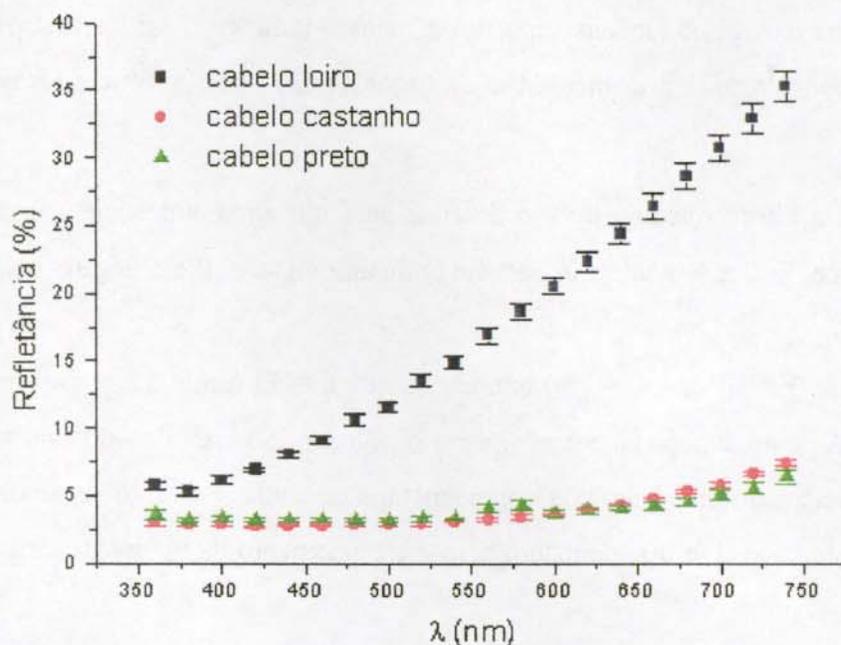


Figura 33: Espectros de refletância obtidos para cabelo loiro padrão (■), cabelo castanho padrão (●) e cabelo preto comum (▲). Cada ponto indica um valor médio e as barras indicam a estimativa de desvio padrão para triplicata de medida (loiro), decuplicata (castanho), triplicata (preto).

A Figura 34 mostra espectros de refletância (%R) vs. comprimento de onda ( $\lambda$ , nm) do cabelo castanho padrão na região da raiz, para a referência (sem tratamento) e quatro amostras tratadas. Os tratamentos das amostras são exposição a água 40°C (8h), lavagens com tensoativo (5x, tratamento suave), lavagens com tensoativo, 60x e 120x (tratamentos severos). Nos espectros, vê-se que a refletância é máxima em  $\lambda = 740$  nm para todos os tratamentos, e que esta varia de cerca de 7,0 a 8,5%. Este comprimento de onda está na faixa de reflexão da cor vermelha (650-750 nm), o que está em concordância com o espectro de absorbância da eumelanina, onde a absorção mínima ocorre à  $\lambda = 740$  nm. Observa-se que as %R para o cabelo tratado com água 40°C, 8h ( $7,2 \pm 0,7$  %), o cabelo referência ( $7,4 \pm 0,7$ %) e o cabelo lavado 120x ( $7,5 \pm 0,3$ %) são próximas. Observa-se que para lavagens suaves (5x) e à  $\lambda = 740$  nm, obtém-se a refletância máxima de  $8,5 \pm 0,3$ % em relação aos outros tratamentos.

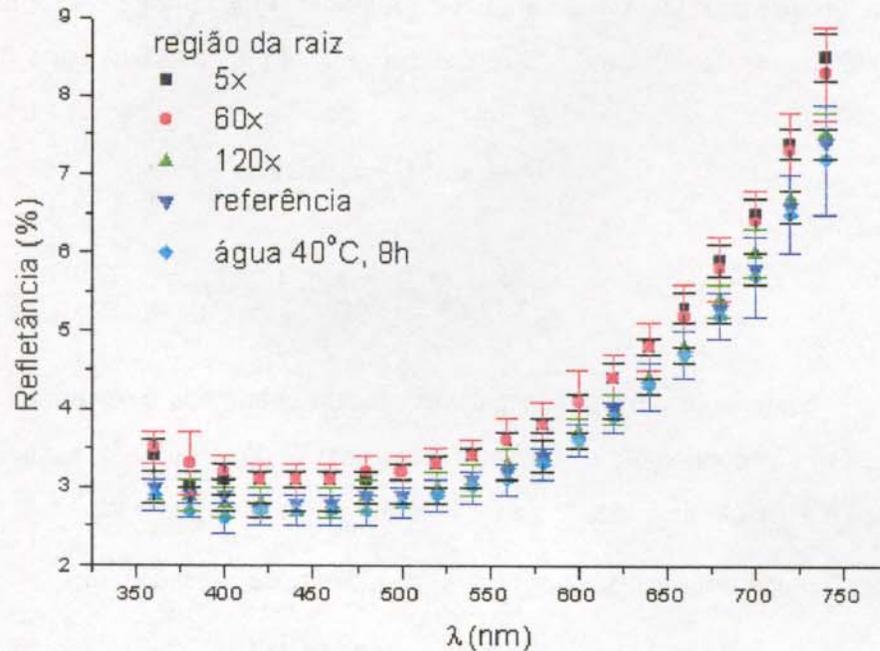


Figura 34: Espectros de refletância (%R) vs. comprimento de onda ( $\lambda$ , nm) do cabelo castanho referência (▼), e de cabelo submetido à tratamento com água 40°C, 8h (◆), lavagens suaves, 5x (■), lavagens consecutivas severas, 60x (●) e 120x (▲). Cada ponto indica um valor médio e as barras indicam a estimativa de desvio padrão para decuplicata de medida.

Sabemos de nossas observações por microscopia eletrônica, que o cabelo referência possui um número relativamente maior de *cavidades vazias* na endocutícula das suas cutículas do que o cabelo tratado com água à 40°C, 8h. E, que o cabelo após 120x lavadas pode ter poucas ou nenhuma cutícula e ainda apresenta cavidades na “cmc” e no cimento inter-macrofibrilar do córtex. Considerando as cavidades vazias como interfaces de reflexão da luz onde há ar, realizaremos alguns cálculos utilizando um modelo de placas planas da ótica clássica muito simplificado para comparação com os dados de %R obtidos.

#### ➤ Modelos para reflexões da luz no cabelo

Consideremos o cabelo um material isotrópico, homogêneo, não absorvente, e ainda desprezemos a sua forma elíptica e a rugosidade superficial conferida pelas cutículas. Deste modo, a reflexão da luz na superfície do cabelo é dependente somente do índice de refração

( $n$ ), do ângulo de incidência ( $i$ ), do ângulo de refração ( $r$ ) e da polarização da luz incidente. Nestas condições, os coeficientes de reflexão da luz são dados pelas equações de reflexão de Fresnel <sup>76</sup>:

$$b^2 = \sin^2 (i - r) / \sin^2 (i + r)$$

$$B^2 = \text{tg}^2 (i - r) / \text{tg}^2 (i + r)$$

onde:  $b^2$  é o coeficiente de reflexão para uma onda polarizada perpendicular ao plano de incidência,  $B^2$  é o coeficiente de reflexão para uma onda polarizada paralela ao plano de incidência,  $i$  é o ângulo de incidência e  $r$  é o ângulo de refração da onda.

Para luz não polarizada, temos que o coeficiente de reflexão <sup>75</sup> é:

$$R_{(np)} = (b^2 + B^2) / 2$$

onde:  $R_{(np)}$  é o coeficiente de reflexão total.

A porcentagem de refletância (%R) obtida em nosso equipamento de ERD corresponde aproximadamente aos valores percentuais de  $R_{(np)}$ , pois desconsideramos fatores que influenciam diretamente nesta, tais como o espalhamento e a absorção da luz, as diferenças de composição entre cutícula e córtex e a forma elíptica do cabelo.

#### *1º modelo:*

A Figura 35 mostra o 1º modelo para o cabelo sem cavidades ou com basicamente uma interface de reflexão. Consideramos que este 1º modelo corresponde à situação observada para o cabelo tratado com água 40°C, 8h, onde observamos poucas cavidades na endocutícula dos fios e, portanto a maior parte da luz incidente não interage com estas cavidades.

De acordo com Stamm e colaboradores <sup>77</sup>, o cabelo (a fibra toda) e a cutícula (sem o córtex) possuem o mesmo índice de refração  $n$  de 1,548. Então, consideramos que o córtex e a cutícula têm mesmo índice de refração e, portanto, não há reflexão na interface cutícula

e córtex. Aqui, ainda consideramos que o córtex possui diâmetro infinito ( $d \rightarrow \infty$ ), ou seja, não há interface e nem reflexão na face do cabelo oposta a incidência (córtex / ar).

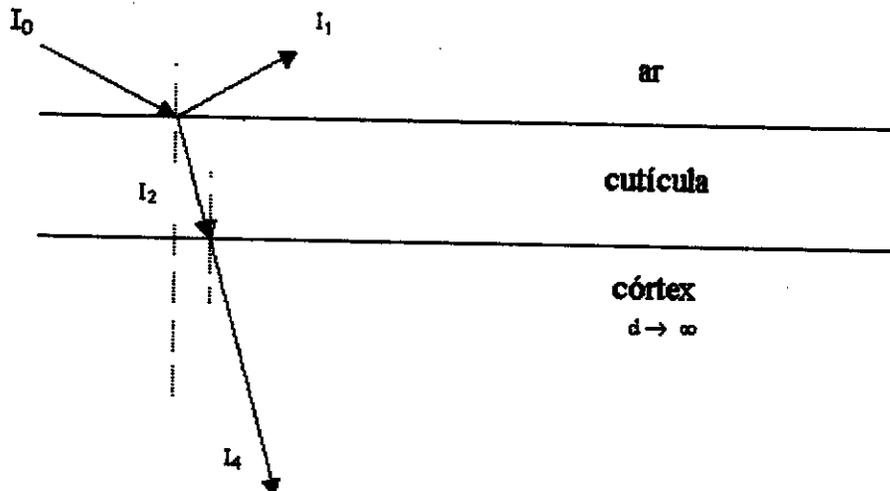


Figura 35: Esquema representativo do 1º modelo proposto para reflexão da luz no cabelo.

Considerando que  $n_{\text{ar}} = 1,000$ ;  $n_{\text{cabelo}} = 1,548$ ;  $i = 10,0^\circ$  (ângulo de incidência), calculamos pela lei de Snell que  $r = 6,6^\circ$  (ângulo de refração). Na Figura 35, temos que:

$$I_0 = I_{\text{refletido}} + I_{\text{transmitido}} + I_{\text{absorvido}} = 1$$

Tomando  $I_{\text{absorvido}} = 0$  e utilizando as equações de Fresnel, podemos estimar a reflexão na interface ar/cutícula. Assim,

$$I_0 = I_1 (\text{refletido}) + I_2 (\text{transmitido})$$

e

$$I_2 = I_4$$

Então,  $I_1 = 0,0416$  e portanto  $I_2 = 0,9584$

$$\therefore I_{\text{refletido total}} = I_1 = 0,0416 \text{ ou } I_{\text{refletido total}} = 4,16\%.$$

Portanto, no cabelo sem ou com poucas cavidades, onde grande parte da luz incidente reflete e refrata sem passar pela interface com as cavidades, temos que a  $I_{\text{refletido total}}$  é cerca de 4,16% para os ângulos  $i$  (incidência) e  $r$  (refração) adotados neste cálculo. Este valor é próximo da porcentagem de refletância máxima (%R) a  $\lambda = 740 \text{ nm}$  obtida experimentalmente para o cabelo tratado com água  $40^\circ\text{C}$ , 8h, que é de cerca de 7,2%. A variação pode ser atribuída à rugosidade superficial e a reflexão no interior do córtex que foram desprezadas no cálculo.

### 2º modelo

Neste 2º modelo, representado na Figura 36, consideramos o efeito da presença de cavidades preenchidas por ar, nas cutículas do cabelo. Este modelo corresponde a situação observada para o cabelo referência, que possui cavidades ao longo de toda a cutícula. Para tanto, propomos a existência de uma camada de ar entre a cutícula e o córtex. Novamente aqui,  $I_{\text{absorvido}} = 0$ , o córtex possui diâmetro infinito ( $d \rightarrow \infty$ ), as cutículas têm a mesma espessura do 1º modelo,  $i = 10,0^\circ$  e  $r = 6,6^\circ$ .

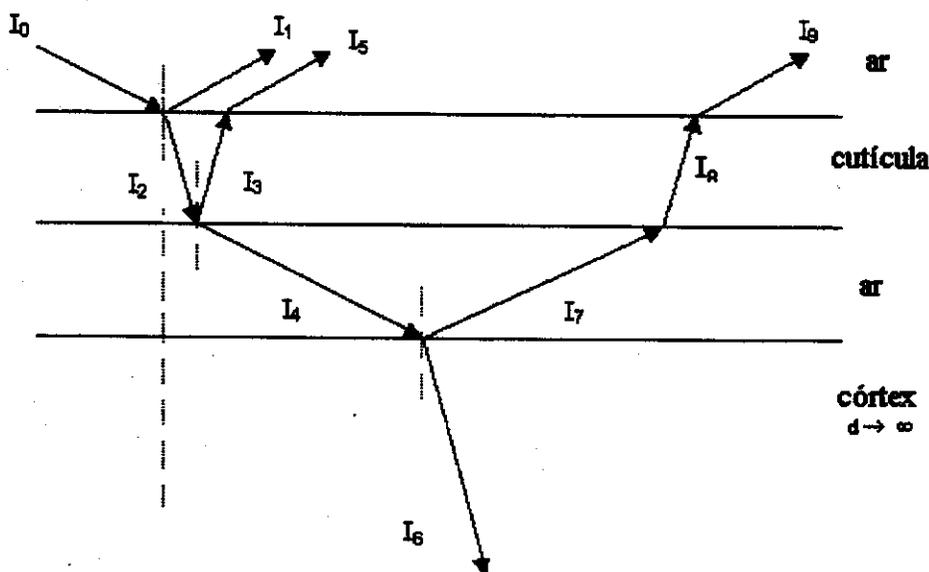


Figura 36: Esquema representativo do 2º modelo proposto para reflexões da luz no cabelo com cavidades.

Assim temos:

$$I_0 = I_{\text{refletido}} + I_{\text{transmitido}} = 1$$

$$I_0 = I_1 (\text{refletido}) + I_2 (\text{transmitido})$$

Do mesmo modo:

$$I_2 = I_3 (\text{refletido}) + I_4 (\text{transmitido})$$

$$I_4 = I_7 (\text{refletido}) + I_6 (\text{transmitido})$$

Do 1º modelo, sabemos que:

$$I_1 = 0,0416 \quad \text{e} \quad I_2 = 0,9584$$

Utilizando as equações de Fresnel, temos que:

$$I_3 = 4,16\% I_2 \quad \text{e, portanto} \quad I_4 = 95,84\% I_2$$

$$I_7 = 4,16\% I_4 \quad \text{e, portanto} \quad I_6 = 95,85\% I_2$$

Então,

$$I_3 = 0,0398 \quad , \quad I_4 = 0,9200 \quad \text{e} \quad I_7 = 0,0382$$

*Considerando*

$$I_3 \cong I_5 = 0,0398 \quad \text{e} \quad I_7 \cong I_8 \cong I_9 = 0,0382$$

Temos que:

$$I_{\text{refletido total}} = I_1 + I_5 + I_9 = 0,1196 \quad \text{ou} \quad I_{\text{refletido total}} = 11,96\%$$

Portanto, para o cabelo com cavidades preenchidas por ar, ou seja, com um número maior de interfaces de reflexão da luz, o  $I_{\text{refletido total}}$  é de 11,96%. Este valor é maior do que o encontrado no 1º modelo ( $I_{\text{refletido total}} = 4,16\%$ ), e é próximo da %R à  $\lambda = 740 \text{ nm}$  medida experimentalmente para o cabelo referência, e é de cerca de 7,4%. O aumento no valor da refletância calculada em relação ao experimental pode vir da consideração de uma

cada única de ar entre as cutículas, ao contrário da situação real, onde temos algumas regiões da cutícula com cavidades de diâmetro definido.

Vê-se que a refletância calculada nos modelos apresenta o mesmo perfil daquela obtida experimentalmente, apesar das simplificações e das considerações feitas nos dois modelos para utilização das equações de Fresnel. Os dados experimentais mostram que a refletância no cabelo referência é um pouco menor do que no cabelo tratado com água 40°C, 8h. Podemos concluir que os dados do modelo corroboram os nossos dados experimentais, e a presença de cavidades nas cutículas aumentam a reflexão total da luz.

No tratamento de lavagens consecutivas, onde se utiliza tensoativo e abrasão, a interação da luz com o cabelo é influenciada por outros fatores além da presença de cavidades nas cutículas. Dentre estes fatores, podemos citar a sorção de tensoativo na superfície e para o interior do cabelo, a diminuição da espessura das cutículas pelo descolamento e remoção das mesmas durante a abrasão e as cavidades podem estar preenchidas com tensoativo.

Se considerarmos cavidades preenchidas pelo tensoativo no 2º modelo, podemos trocar a camada de ar entre a cutícula e o córtex por uma camada de água. Tomando o índice de refração da água  $n = 1,330$  para o tensoativo, calculando pela lei de Snell o novo ângulo de refração ( $r$ ) e pelas equações de Fresnel os coeficientes de reflexão para os novos ângulos, verificamos que  $I_{\text{refletido total}}$  é de cerca de 5,26%. Então, de acordo com nossos cálculos a refletância de um cabelo com *cavidades preenchidas com tensoativo* (5,26%) é maior do que a refletância de um *cabelo sem cavidades* (4,16%). Porém, é menor que a refletância de um cabelo com *cavidades cheias de ar* (11,96%).

Nos dados experimentais mostrados na Figura 34, verificamos que a refletância nos cabelos tratados com tensoativo (5x e 60x) é maior do que para o cabelo sem cavidades (água 40°C, 8h), em concordância com nossos cálculos. E, também é maior do que no cabelo com *cavidades cheias de ar* (referência), o que discorda de nossos cálculos. Entretanto, estas medidas experimentais de refletância (lavagem, 5x e 60x) são o resultado de uma combinação de fatores, que não consideramos no modelo, além das cavidades, temos a sorção do tensoativo e o descolamento e remoção das cutículas.

Para os tratamentos abrasivos com tensoativos (5x e 60x), podemos dizer que os efeitos da abrasão e da sorção de tensoativo na superfície têm uma maior influência na refletância do que a presença de *cavidades* nas cutículas. A remoção de uma ou duas cutículas durante os tratamentos suaves, por exemplo, de 5x lavagens, resulta na máxima refletância obtida, e também valores significativos de diferença de cor total ( $DE^* = 1,6$ ).

Com a remoção completa das cutículas e a exposição do córtex (120x), temos uma situação próxima à descrita no 2º modelo, onde o córtex possui muitas *cavidades cheias de ar*, ocasionando uma refletância próxima à do cabelo referência. Este mesmo comportamento é observado nos valores de diferença de cor total ( $DE^* = 1,0$ ).

Resumidamente, confirmamos que a presença de cavidades nas cutículas, preenchidas por ar ou água, produz um aumento na refletância (%R) do cabelo em relação ao cabelo sem cavidades. Este aumento de refletância produz um aumento na luminosidade  $L^*$ , ou seja, torna o cabelo mais claro. Lembramos que, de acordo com nossas observações de microscopia eletrônica, consideramos sem cavidades o cabelo tratado com água a 40°C. Este aumento de refletância é suave, mas perceptível, tanto nos dados experimentais quanto nos dados de refletância calculados pelo modelo. Nestes casos, os valores de diferença de cor total  $DE^*$  também indicam significantes alterações de cor nas amostras em relação à referência. A Figura 37 mostra uma o perfil de nossos dados de refletância experimentais respectivamente em uma escala de refletância.

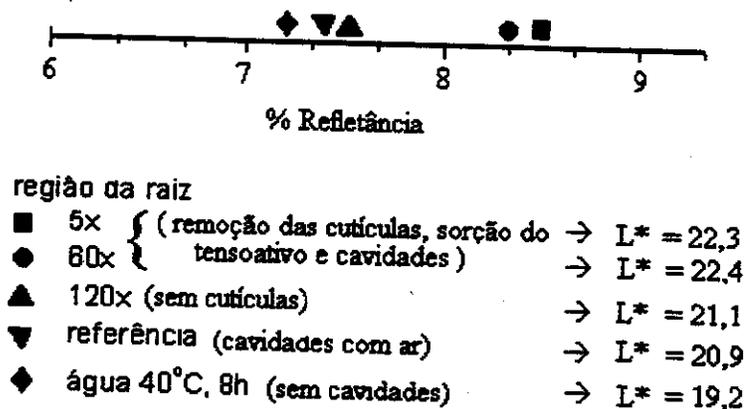


Figura 37: Escala de porcentagem de refletância (%R) e os respectivos valores de luminosidades ( $L^*$ ) para as amostras de cabelo referência e de cabelos tratados. Valores de refletância obtidos para  $\lambda = 740$  nm.

## VI – CONCLUSÕES

➤ A exposição do cabelo à água quente, a lavagem consecutiva com tensoativo, ao penteamento e a secagem com secador são tratamentos que causam danos à ultra-estrutura. Os danos mais relevantes são a formação de cavidades na endocutícula, o descolamento e perda das células, e a formação de trincas nas cutículas. Estes danos influenciam significativamente as propriedades de cor do cabelo, alterando principalmente sua luminosidade, ou seja, tornando-o mais claro.

A microscopia eletrônica foi usada para observar os danos na ultra-estrutura, e revelou que:

1. As cavidades são regiões circulares presentes na endocutícula e se apresentam de duas formas: a) regiões de menor densidade de material protéico, e b) regiões com ausência de material protéico, ambas com diâmetro variando de cerca de 50 a 200 nm. Em geral, nas cavidades de diâmetro maior há ausência de material protéico, as quais denominamos cavidades vazias. A origem das cavidades está relacionada com a extração de proteínas da componente hidrofílica da cutícula, a endocutícula, e com a presença de remanescentes citoplasmáticos nesta.
2. Há dois mecanismos de descolamento e perda das células cuticulares: o primeiro através do rompimento do “cmc” e o segundo pelo rompimento da endocutícula. O rompimento da endocutícula pode ter início com a formação das cavidades.
3. O córtex do cabelo comum e padrão, em geral, não apresenta danos na sua estrutura e as observações do arranjo das macrofibrilas concordam com o modelo proposto por Mercer.
4. Nas lavagens suaves com tensoativo (5x) o descolamento cuticular é suave e a endocutícula mostra cavidades com algum material, que pode ser protéico ou o tensoativo.
5. Nas lavagens severas com tensoativo (30x e 120x) os danos na cutícula e no córtex são acentuados. Os fios possuem apenas uma ou duas células cuticulares. A endocutícula

apresenta várias cavidades, o “cmc” não se mostra bem definido e ainda no córtex, há cavidades no cimento inter-macrofibrilar, no “cmc” e a melanina está danificada.

6. O tratamento com água à 40° C causa trincas nas cutículas e ao redor das trincas ocorre o descolamento da cutícula. A endocutícula destes fios está aparentemente menos danificada do que a do cabelo referência, devido à migração de proteínas para as cavidades. Este tratamento não danifica os outros constituintes da fibra.

As alterações de cor foram analisadas por espectroscopia de refletância difusa, e mostraram que:

1. A técnica de ERD usada é sensível a danos superficiais no cabelo, como a formação de cavidades na endocutícula, a formação de trincas, o descolamento e remoção cuticular em pequena extensão. Estes danos cuticulares produzem um aumento da luminosidade ( $L^*$ ).
2. Dentre os tratamentos, a exposição á água 40° C que produz trincas nas cutículas, promoveu as alterações mais significativas nas propriedades óticas do cabelo padrão, principalmente na diferença de luminosidade ( $DL^*$ ) e como consequência na diferença de cor total ( $DE^*$ ).
3. As lavagens consecutivas (30 a 120 x, raiz) severas, que causaram remoção cuticular quase que completa, produziram um aumento na diferença de cor total ( $DE^*$ ). Quando o dano atinge o córtex (30x, ponta), como cavidades no cimento inter-macrofibrilar e “cmc”,  $DE^*$  diminui até valores não significativos caindo na faixa do erro do método.
4. Verificamos, por microscopia de luz, que o uso de secador de cabelos danifica a medula dos fios de cabelo padrão, mas esta alteração não produz efeito nas propriedades de cor do cabelo.
5. A degradação protéica causada pela radiação UVA produz mudanças na diferença de luminosidade e na diferença amarelo - azul ( $Db^*$ ), indicando dano na cutícula e no córtex.

Utilizamos um modelo simples da ótica clássica para relacionar os dados de refletância e as observações microscópicas do cabelo danificado, e concluímos que:

1. O perfil dos coeficientes de reflexão calculados para o cabelo sem cavidades (referência) e com cavidades (cabelo tratado) concorda com o aumento de refletância observado experimentalmente. O aumento no número de cavidades na endocutícula, causado pelos tratamentos, é interpretado como aumento na quantidade de interfaces de reflexão e como consequência em um acréscimo na reflexão total.
2. Observamos, de acordo com nosso modelo, que a reflexão na primeira interface ar/cutícula é a determinante do valor da refletância, e que as reflexões subseqüentes no interior da cutícula adicionam apenas pequenas intensidades à refletância total, concordando com as pequenas variações de refletância observadas nos valores experimentais.

## VII - REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> "The Hair" in *Harry's Cosmetology*, edited by J.B. Wilkinson and R.J. Moore, 7<sup>th</sup> edition, chapter 23, 396-426, 1984.
- <sup>2</sup> Naito, S.; Arai, K. "Type and location of SS linkages in human hair and their relation to fiber properties in water", *Journal of Applied Polymer Science*, **61**, 2113-2118, 1996.
- <sup>3</sup> Mercer, E.H.; "The fine structure of keratin", *Textile Research Journal*, **27**, 11, 860-866, 1957.
- <sup>4</sup> Rogers, G.E.; "Electron microscopy of wool", *Journal of Ultrastructure Research*, **2**, 309-330, 1959.
- <sup>5</sup> Rogers, G.E.; "Electron microscope studies of hair and wool", *Annals of the New York Academy of Sciences*, **83**, 378-399, 1959.
- <sup>6</sup> Wall, R.A.; Hunter, L.D.; "Normal adult hair - structure and properties", *Cosmetics and Perfumery*, **89**, 2, 31-36, 1974.
- <sup>7</sup> Roper, K.; Fohles, J.; Peters, D.; Zahn H.; "Morphological composition of the cuticle from treated wool - Part I: Calculating endocuticle content in isolated cuticle from the results of amino acids analysis", *Textile Research Journal*, **54**, 139-142, 1984.
- <sup>8</sup> Jones, L.N.; Horr, T.J.; Kaplin, I.J.; "Formation of surface membranes in developing mammalian hair fibers", *Micron*, **25**, 6, 589-595, 1994.
- <sup>9</sup> Robbins, C. R.; "Chemical and physical behavior of human hair"; edited by Springer-Verlag New York, 3<sup>rd</sup> edition, 1994.
- <sup>10</sup> Swift, J.A.; "Minimum depth electron probe x-ray microanalysis as means for determining the sulfur content on human hair surface", *Scanning*, **2**, 83-88, 1979.
- <sup>11</sup> Kulkarni, V.G.; Baumann, H.; "Studies on Wool Cuticle and Cuticle Components", *Textile Research Journal*, **49**, 675-677, 1979.
- <sup>12</sup> Swift, J. A.; Holmes, A. W.; "Degradation of human hair by papain III: some electron microscope observations", *Textile Research Journal*, **35**, 1014-1019, 1965.
- <sup>13</sup> Swift, J.A.; "The histology of keratins fibers" in *Chemistry of natural protein fibers*, edited by por R.S. Asquith, chapter 3, 81-145, 1977.
- <sup>14</sup> Carr, C.M.; Holt, L.O.; Drennan, J.; "Using electron microscopy and x-ray microanalysis to study wool morphology and composition", *Textile Research Journal*, **56**, 669-673, 1986.

- <sup>15</sup> Barnicot, N.A.; Birbeck, M. S. C.; "The electron microscopy of human melanocytes and melanin granules" in *Biology of hair growth*, Academic Press Inc., chapter 12, 239-252, 1958.
- <sup>16</sup> Beste, M.D.; Moyer, A.; "An instrumental description and classification of natural hair color; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **19**, 595-609, 1968.
- <sup>17</sup> Hoting, E.; Zimmermann, M.; "Sunlight-induced modifications in bleached, permed or dyed human hair"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **48**, 79-91, 1997.
- <sup>18</sup> Hoting, E.; Zimmermann, M.; "Photochemical alterations in human hair I. artificial irradiation and investigations of hair proteins"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **46**, 85-99, 1995.
- <sup>19</sup> Hoting, E.; Zimmermann, M.; "Photochemical alterations in human hair III. investigations of internal lipids"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **47**, 201-211, 1996.
- <sup>20</sup> Hoting, E.; Zimmermann, M.; "Photochemical alterations in human hair. II. analysis of melanin"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **46**, 181-190, 1995.
- <sup>21</sup> McMullen, R.; Jachowicz, J.; "Thermal degradation of hair I. effect of curling irons"; *Journal of Cosmetic Science*, **49**, 223-244, 1998.
- <sup>22</sup> Schafer, K.; "The natural fluorescence of wool"; *The Journal of Dyers and Colorists*; **107**, 206-211, 1991.
- <sup>23</sup> Jones, L.N.; Holt, L.A.; Leaver, I.H.; Sideris, V.; "Photomodification of the cell membrane complex of wool – the effect on dyeability", *The Journal of Dyers and Colorists*, **108**, 436 – 440, 1992.
- <sup>24</sup> Alexander-Kartz, R.; Barrerra, R.G.; "Surface correlation effects on gloss", *Journal of Polymer Science - Part B: Polymer Physics*, **36**, 1321-1334, 1998.
- <sup>25</sup> ASTM D 523-85 <sup>81</sup>, Standard test method for specular gloss, 52-56, 1985.
- <sup>26</sup> Stamm, R.F, Garcia, M.L.; Fuchs, J.J.; "The optical properties of human hair II. The luster of hair fibers", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **28**, 601-609, 1977.
- <sup>27</sup> Reich, C.; Robbins, C.R.; "Light scattering and shine measurements of human hair: a sensitive probe of the hair surface", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **44**, 221-243, 1993.
- <sup>28</sup> Loof, H.; "Goniophotometry with the Zeiss GP2", *Journal of Paint Technology*, **38**, 501, 632-639, 1966.

- <sup>29</sup> Sauremann, G.; Hoppe, U.; Lunderstadt, R.; Schubert, B.; "Measurement of the surface profile of human hair by surface profilometry", *Journal of Cosmetic Science*, **39**, 27-42, 1988.
- <sup>30</sup> Clarke, J.; Robbins, C.R.; Schorff, B.; "Selective removal of sebum components from hair by surfactants", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **40**, 309-320, 1989.
- <sup>31</sup> Kaplin, J.I.; Schwan, A.; Zahn, H.; "Effects of cosmetic treatment on the ultrastructure of hair", *Cosmetics & Toiletries*, **97**, 22-27, 1982.
- <sup>32</sup> Gould, J.; Sneath, R.L.; "Electron microscopy image analysis: quantification of ultrastructural changes in hair fiber cross sections as a result of cosmetic treatment", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **26**, 53-59, 1985.
- <sup>33</sup> Holt, L.A.; "Cationic-anionic surfactant interactions on wool: implications for the conditioning of human hair", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **42**, 351-359, 1991.
- <sup>34</sup> Robbins, R.C.; Scott, G.V.; Barnhurst, J.D.; "Sorption of quaternary ammonium surfactants by human hair", *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **20**, 135-152, 1969.
- <sup>35</sup> Sandhu, S.; Ramachandran, R.; Robbins, C.R.; "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**, 39-52, 1995.
- <sup>36</sup> Rocco Behrens, A. M.; "Aplicação da espectroscopia de refletância difusa ao estudo de transformações sólido-sólido em sistemas coloidais", Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Unicamp, dezembro de 1988.
- <sup>37</sup> Billmeyer, F.W.Jr.; Saltzman, M.; "Principles of Color Technology"; edited by Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, 1981.
- <sup>38</sup> Lozano, R.D.; "El color e su medición"; editorial Américalee S.R.L., 1978.
- <sup>39</sup> Bernardin, A.M.; Riella, H.G.; "Variação de tonalidades em placas cerâmicas e escalas colorimétricas: CMC x CIELAB e CIELCH", *Cerâmica Industrial*, **4**, 43-46, 1999.
- <sup>40</sup> Sharpe, F.R.; Garvey, T.B. and Pyne, N.S.; "The measurement of beer and wort color – a new approach"; *Journal of the Institute of Brewing*, **98**, p.321-324, 1992.
- <sup>41</sup> Scanavez, C.; Zoega, M.; Barbosa, A.; Joekes, I.; "Measurement of hair luster by diffuse reflectance spectrophotometry"; *Journal of Cosmetic Science*, **51**, 289-302, 2000.
- <sup>42</sup> Manual do Espectrofotômetro Macbeth® Color-eye® 2020.
- <sup>43</sup> Chong, P.T.F.; "Colorimetry for textile applications" in *Modern textile characterization methods*, edited by Mastura, chapter 21, 355-391, 1983.

- 
- <sup>44</sup> Curry, K.V.; Golding, S.; "Hair lipids – I. the extraction of fatty materials from hair clippings"; *Journal of the Society of Cosmetics Chemists*, **22**, 691-699, 1971.
- <sup>45</sup> Reid, N.; *Ultramicrotomy* in Practical methods in electron microscopy, edited by Audrey M. Glauert, volume 3, part II, 1974.
- <sup>46</sup> Locke, M.; Krishnan, N.; "Hot alcoholic phosphotungstic acid and uranyl acetate as routine stains for thick and thin sections"; *The Journal of Cell Biology*, **50**, 550 - 557, 1971.
- <sup>47</sup> Silverman, L., Glick, D.; "The reactivity and staining of tissue proteins with PTA"; *The Journal of Cell Biology*, **40**, 761- 767, 1969.
- <sup>48</sup> ASTM D2244-85; "Standard method for calculation of color differences from instrumentally measured color coordinates", 292-295, 1985.
- <sup>49</sup> Hayat, M.A.; *Principles and techniques of electron microscopy: biological applications*, edited by Nostrand Reinhold Company, volume 1, 1970.
- <sup>50</sup> Dykstra, M.J., "A manual of applied techniques for biological electron microscopy", edited by Plenum Press, 1993.
- <sup>51</sup> Filshie, B.K.; Rogers, G.E.; "An electron microscope study of the fine structure of feather keratin"; *The Journal of Cell Biology*; **13**, 1-12, 1962.
- <sup>52</sup> Wagner, L.; Giesen, M.; Zahn H.; "Histochemical localization of high-sulfur keratin with silver nitrate"; *Colloid & Polymer Science*, **261**, 365-369, 1983.
- <sup>53</sup> Scanavez, C.; Joekes, I. and Silveira, M.; "Electron Microscopy of Human Hair"; *Acta Microscopica*, **8**, 581-582, 1999.
- <sup>54</sup> Reid, N.; "Ultramicrotomy" in Practical methods in electron microscopy, edited by Audrey M. Glauert, volume 3, part II, 1974.
- <sup>55</sup> Spurr, A.R.; "A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy"; *Journal of Ultrastructure Research*, **26**, 31- 43, 1969.
- <sup>56</sup> Jones, L.N.; Rivett, D.E.; "The role of 18-methyleicosanoic acid in the structure and formation of mammalian hair fibers"; *Micron*, **28**, 6, 469-485, 1997.
- <sup>57</sup> Swift, J.A.; Brown, A.C.; "The critical determination of fine changes in the surface architecture of human hair due to cosmetic treatment"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **23**, 695-702, 1972.

- 
- <sup>58</sup> Swift, J.A.; Bews, B.; "The chemistry of human hair cuticle – I: a new method for the physical isolation of cuticle"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*; **25**, 13-22, 1974.
- <sup>59</sup> Smith, J.R.; "Use of atomic force microscopy for high-resolution non-invasive structural studies of human hair"; *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, **48**, 199-208, 1997.
- <sup>60</sup> Swift, J.A.; Smith, J.R.; "Atomic force microscopy of human hair"; *Scanning*, **22**, 301-318, 2000.
- <sup>61</sup> Fraser, R.D.B.; Macrae, T.P.; Rogers, G.E.; "Molecular organization in alpha-keratin"; *Nature*, **193**, 4820, 1052-1055, 1962.
- <sup>62</sup> Valkoovic, V. "Human hair: fundamentals and methods for measurement of element composition, edited by CRC Press, Inc. Florida, volume 1, 39-59, 1988.
- <sup>63</sup> Rusting, R. "By 50 age", *Scientific American*, june, 56-63, 2001.
- <sup>64</sup> Haynes, M.E.; "Quantitation of normal human hair pigmentation by electron microscopy", *Micron*, **11**, 475-477, 1980.
- <sup>65</sup> Kidson, S.H.; Ricahrds, P.D.G, Rawoot, F.; Kromberg, J.G.R.; "An ultrestrutural study fo melanocytes and melanosomes in the skin and hair bulbs of rufous albinos", *Pigment Cell Research*, **6**, 209-214, 1993.
- <sup>66</sup> Swift, J.A.; "The chemical composition of various morphological componentes isolated from human hair cuticle"; *Cosmetics & Toiletries*, **91**, 46-48, 1976.
- <sup>67</sup> Kelch, A., Wessel, S.; Will, T.; Hintze, U.; Werf, R.; Wiesendanger, R.; "Penetration pathways of fluorescent dyes in human hair fibers investigated by scanning near-field optical microsocopy", *Journal of Microscopy*, **200**, 3, 179-186, 2000.
- <sup>68</sup> Sant'Anna, A.L.S.; "Estudo da deposição de ceramidas sobre a fibra capilar para o combate a danos cuticulares", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, abril de 2000.
- <sup>69</sup> King, G.; "Sorption of vapors by keratin and woll"; *Transactions of Faraday Society*, **41**, 479, 1945.
- <sup>70</sup> Fachini, A.; "Crisotila na degradação de dodecilbenzenosulfonato de sódio"; Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, dezembro de 1999.

- 
- <sup>71</sup> White Jr., H.J.; Stam, P.B.; "An experimental and theoretical study of the adsorption and swelling isotherms of human hair in water vapor"; *Textile Research Journal*, **19**, 136-151, 1949.
- <sup>72</sup> Stam, P.B.; Kratz, R.F.; White Jr., H.J.; "The swelling of human hair in water and water vapor"; *Textile Research Journal*, **22**, 448-465, 1952.
- <sup>73</sup> "Cometicos de las producciones cutaneas" in *Cometicos: Ciencia e Tecnologia*, Editado por Editorial Ciencia 3 S.A., 197-287, 1988.
- <sup>74</sup> Bustard, H.K.; Smith, R.W.; "Investigation into the scattering of light by human hair", *Applied Optics*, **30**, 24, 3485-3491, 1991.
- <sup>75</sup> Trezza, T.A.; Krochta, J.M.; "Specular reflection, gloss, roughness and surface heterogeneity of biopolymer coatings"; *Journal of Applied Polymer Science*, **79**, 2221-2229, 2001.
- <sup>76</sup> Feymann, R.; Leighton, R.; Sands, M.; "*The Feyman Lectures on Physics*"; Addison-Wesley Publishing Company, chapter 33, 33-1 - 33-9, 1963.
- <sup>77</sup> Stam, R.F.; Garcia, M.L.; Fuchs, J.J.; "The optical properties of human hair 1: fundamental considerations and goniophotometer curves"; *Journal of the Society of Cosmetics Chemists*, **28**, 571-599, 1977.

## VIII - ANEXO

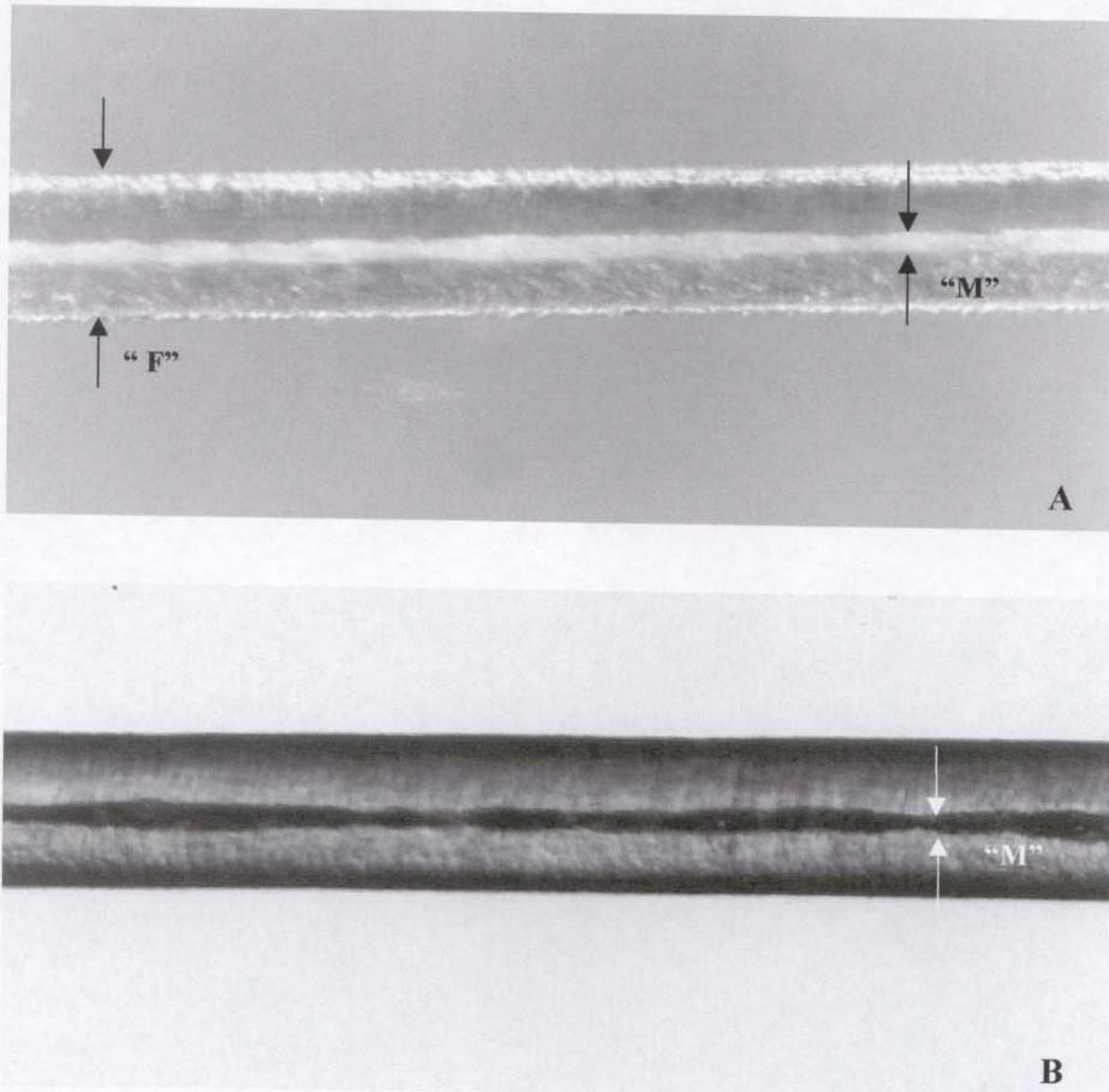


Figura 6: Foto-micrografias óticas de cabelo padrão com detalhe para medula no interior centro do fio. O aumento final das foto-micrografias é de 660x, "F" indica o fio e a "M" indica a medula. Em **A**: utiliza-se luz refletida e um fundo não transparente, indica a medula e; em **B**: luz transmitida e sem fundo.

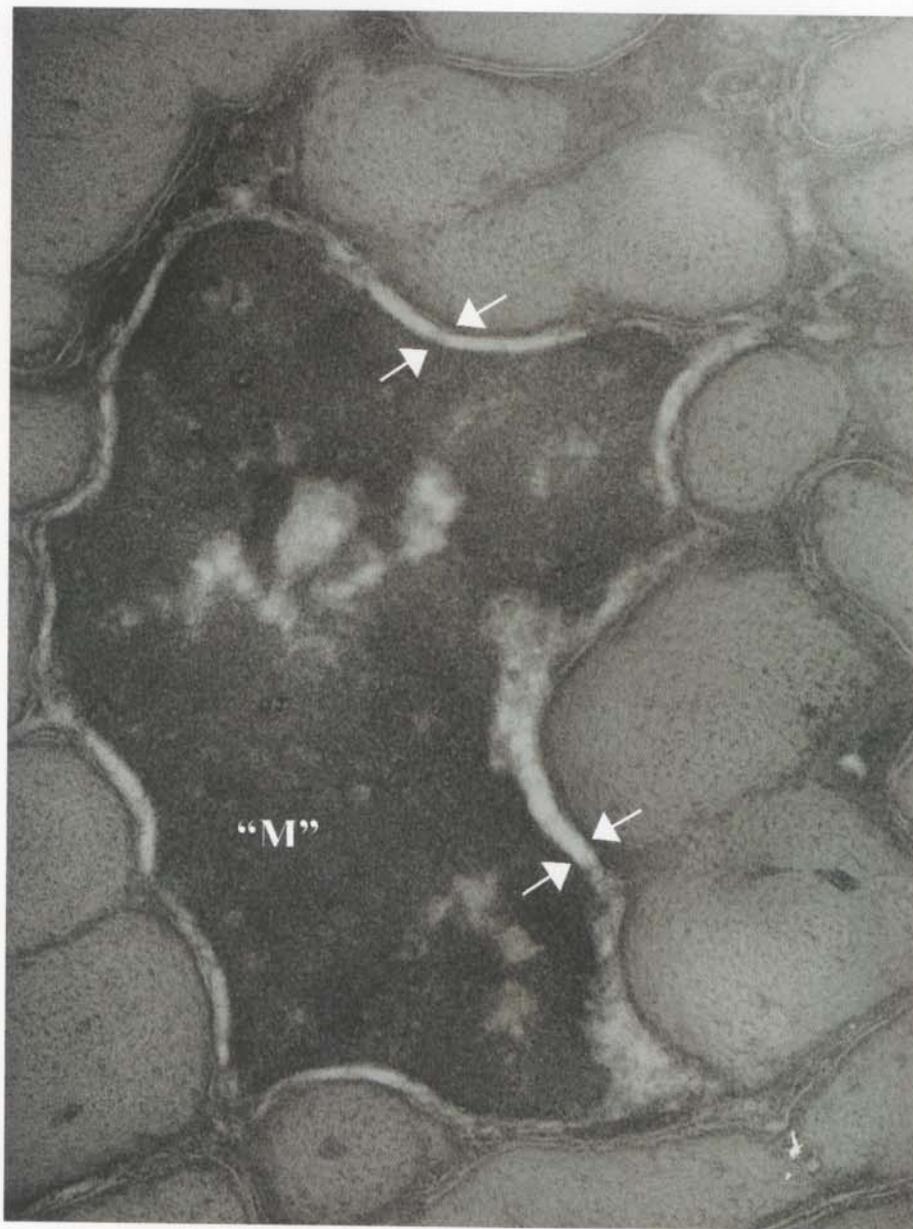


Figura 7: Micrografia eletrônica de transmissão de cabelo comum. Observa-se a medula "M", na região central do fio. As setas (→) mostram a membrana de pouca densidade eletrônica que envolve a medula, separando-a das células cortícias. Esta micrografia foi feita no MET Elmiskop 101 operando a 80 kV; é interessante notar a diferença entre a resolução obtida para um corte feito com navalha de vidro e observado a 80 kV e outro corte feito com navalha de diamante e obtido no Philips CM200, 160 kV (Figuras 17 e 18). Nesta micrografia as microfibrilas do córtex não aparecem bem definidas.

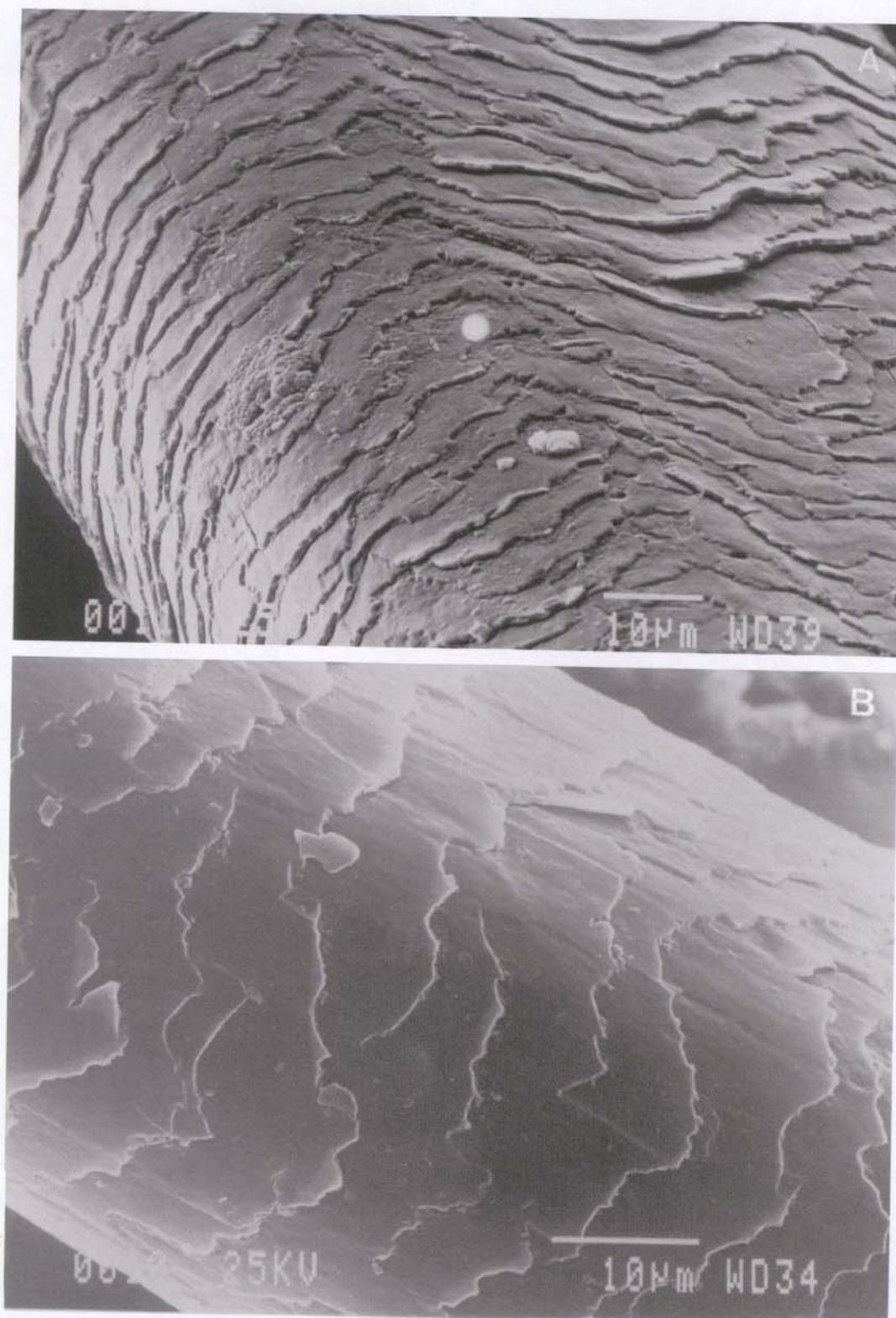


Figura 8: Micrografias eletrônicas de varredura de cabelo padrão (8A) e cabelo comum (8B), região da ponta. Em A e B, observa-se o contorno arredondado e forma irregular das cutículas na superfície do cabelo.

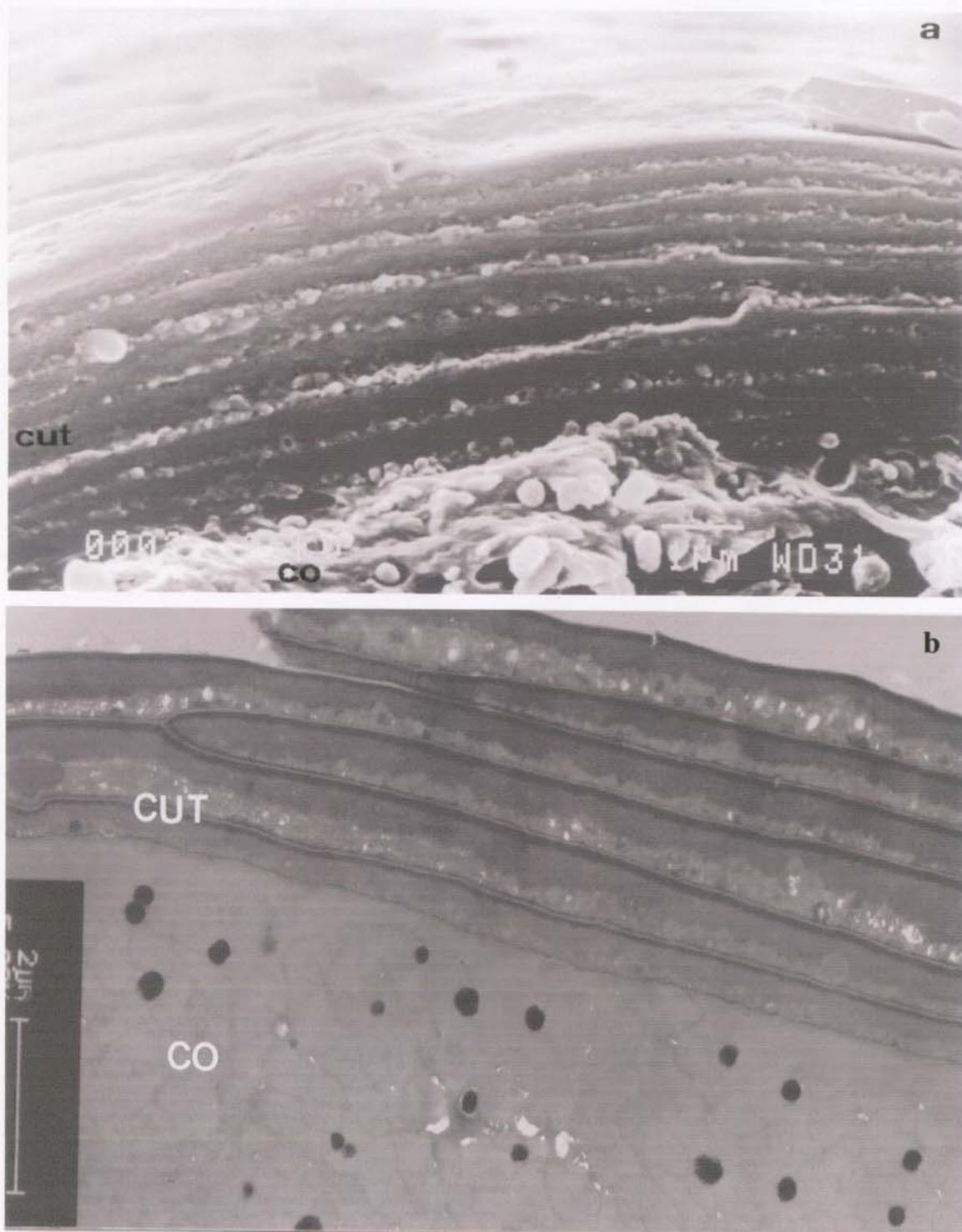


Figura 9: Micrografias eletrônicas de varredura (9A) e transmissão (9B) de um corte transversal de cabelo comum, região da ponta. Em A e B, observa-se a sobreposição das várias células cuticulares e uma pequena parte do córtex. CO corresponde á região do cortex e CUT á cutícula.

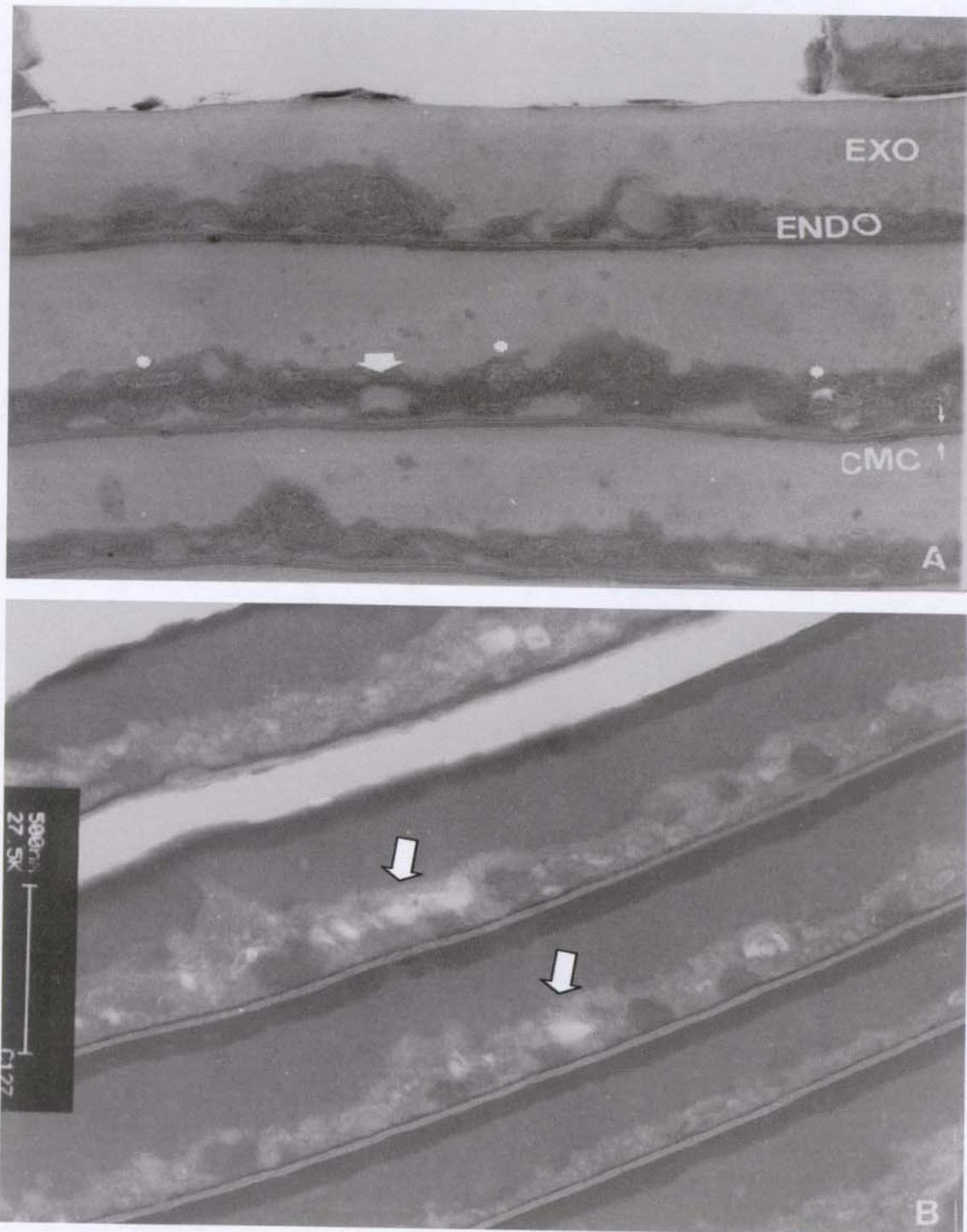


Figura 10: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo comum com detalhe para as cutículas, região da ponta. Em A, vê-se a endocutícula “ENDO” possui maior densidade eletrônica do que a exocutícula “EXO”; (\*) indicam os remanescentes citoplasmáticos, a seta (→) regiões de menor densidade eletrônica na endocutícula e “CMC” o complexo da membrana celular. Em B, observa-se o contraste invertido entre EXO e ENDO; as setas (→) indicam as cavidades na endocutícula.

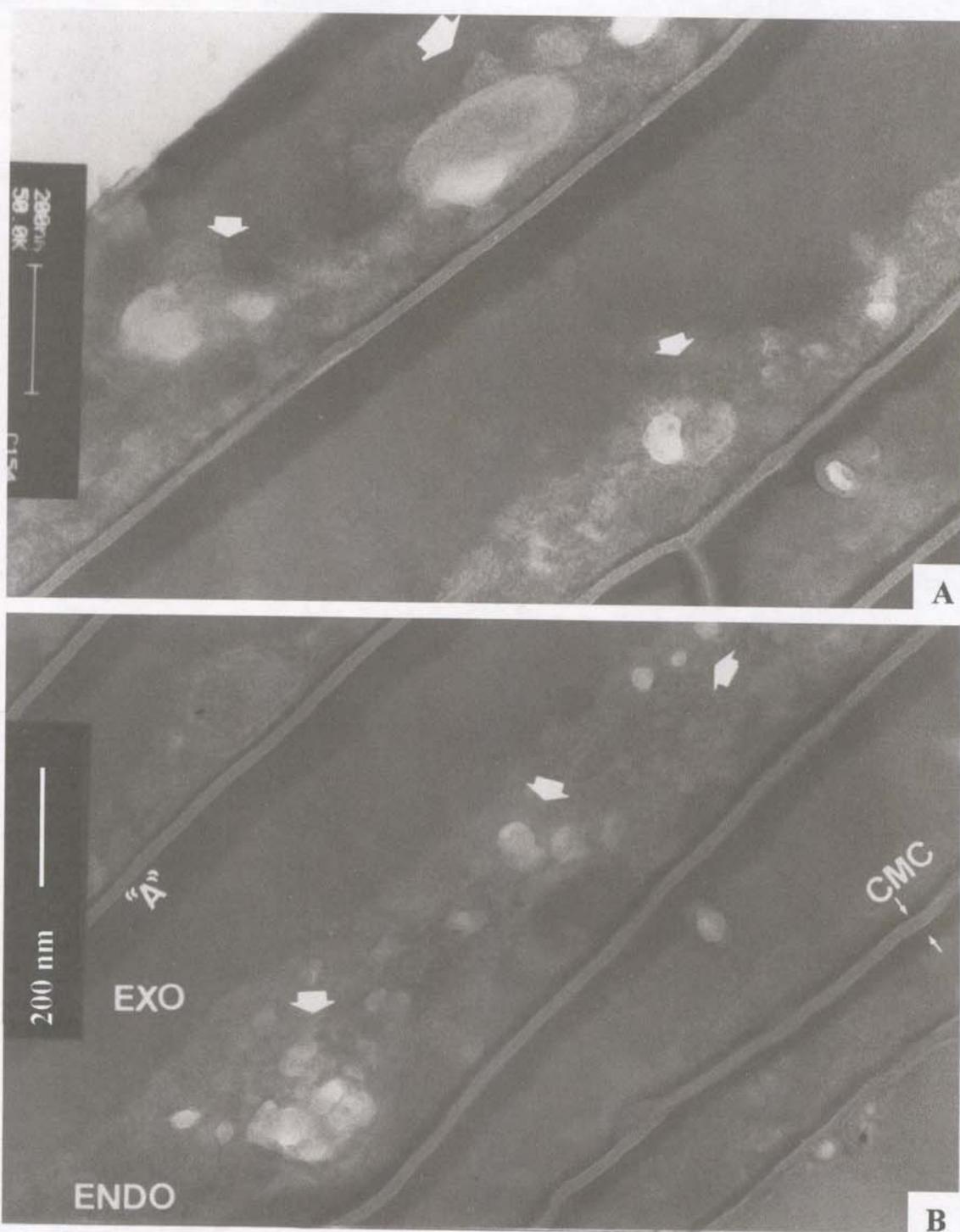


Figura 11: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo comum com detalhe para os danos na cutícula, região da ponta. Em A e B, as setas (➡) mostram cavidades de menor densidade eletrônica que a endocutícula “ENDO”; observa-se também a camada A “A”, a exocutícula “EXO” e o complexo da membrana celular “CMC”.

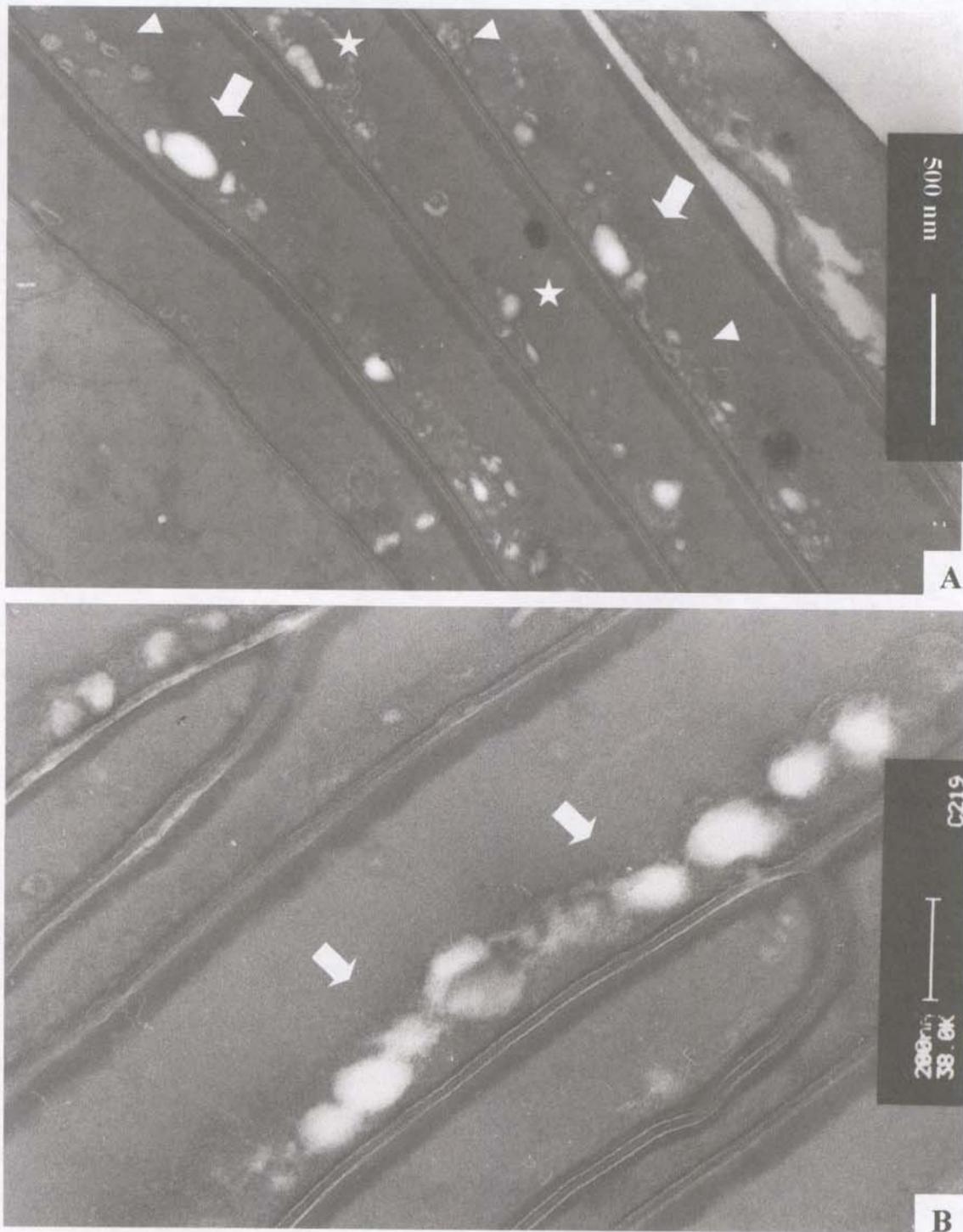


Figura 12: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão com detalhe para a cutícula, região da raiz. Em **A** vê-se o desprendimento da cutícula mais externa, os remanescentes citoplasmáticos ( $\blacktriangleleft$ ), cavidades vazias ( $\blacktriangleright$ ) e cavidades de menor densidade eletrônica ( $\star$ ). Em **B** observa-se uma fileira de cavidade vazias ( $\blacktriangleright$ ) em uma das cutículas mais interna.

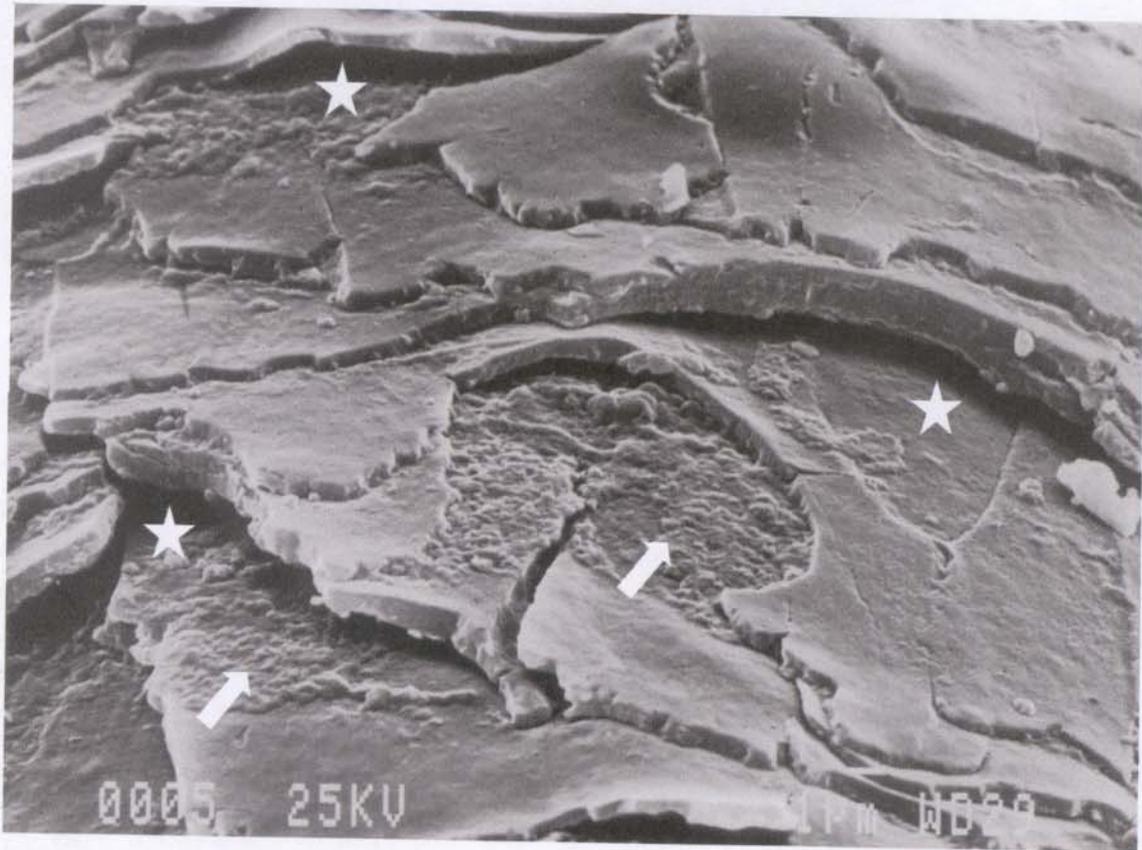


Figura 13: Micrografia eletrônica de varredura do cabelo comum com detalhe para as cutículas, região da ponta. Observa-se o descolamento (★) de cutículas da superfície do fio e em algumas regiões onde as cutículas foram quebradas existe um material de aspecto rugoso (➡).

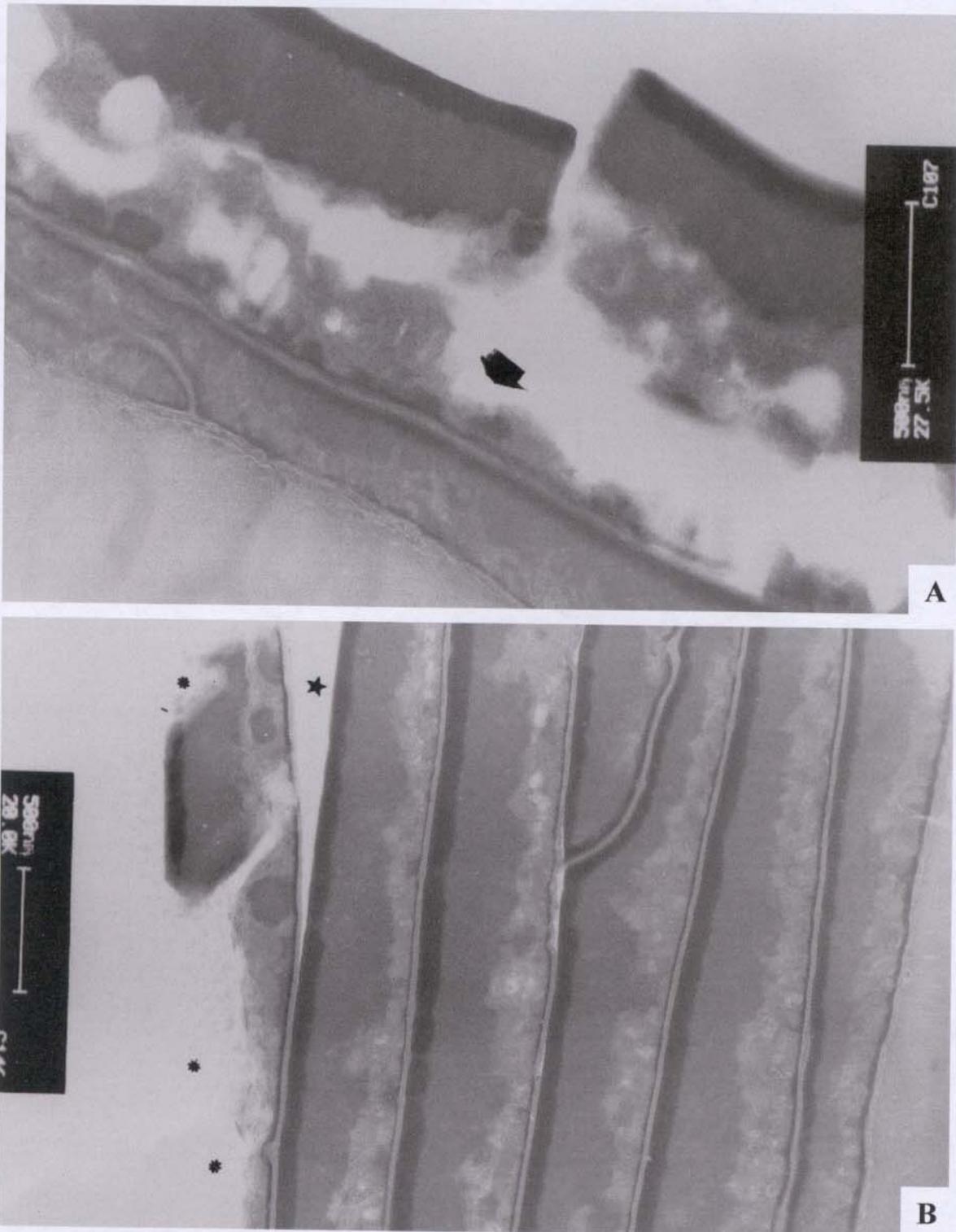


Figura 14: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo comum com detalhe para a cutícula, região da ponta. Em A observa-se o descolamento cuticular (➔) através do rompimento da endocutícula na região das cavidades. Em B vê-se o descolamento cuticular através do complexo da membrana celular (★) e da endocutícula (\*).

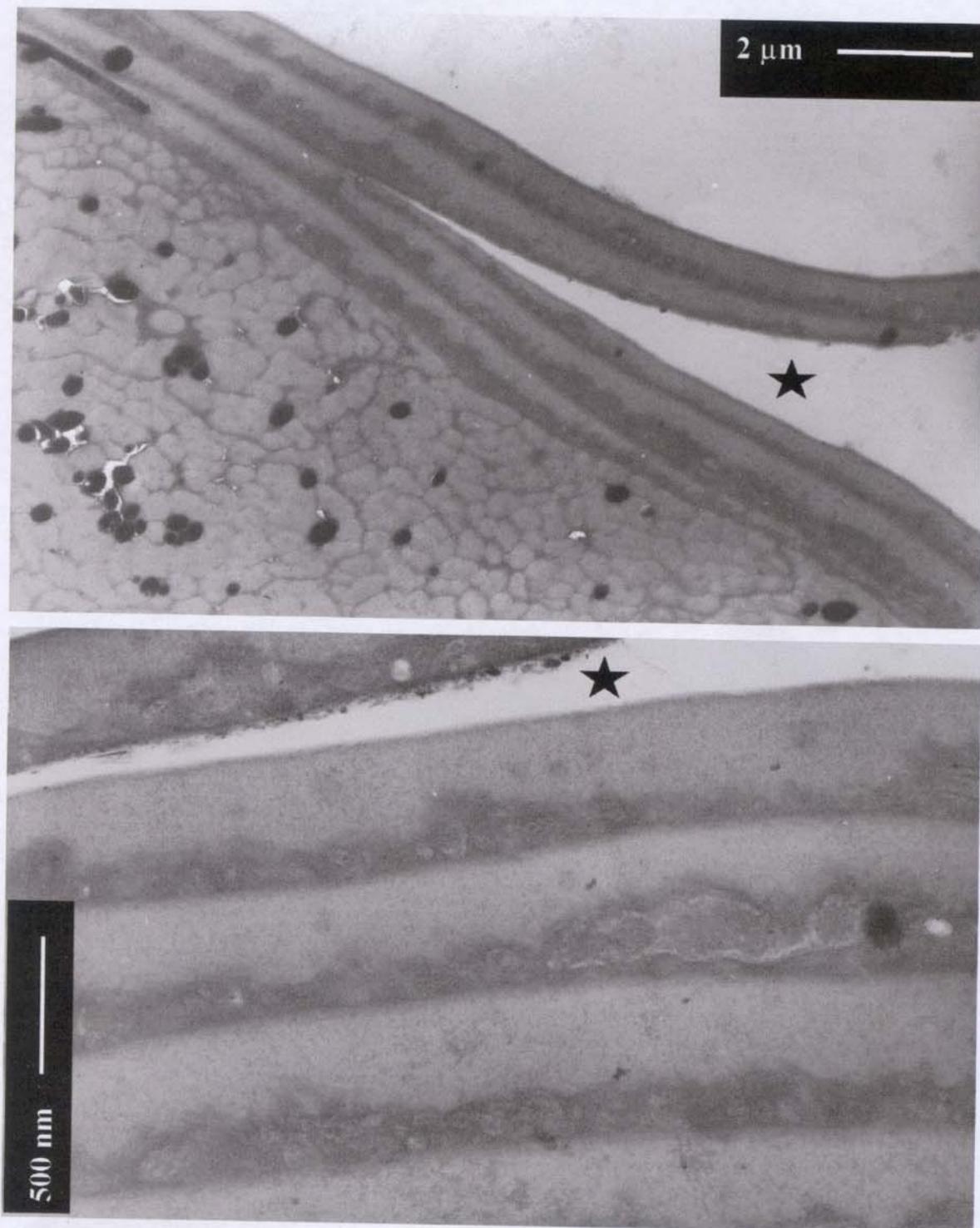


Figura 15: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo tingido, região da ponta. Em A e B observa-se descolamento cuticular na região do “cmc” (★), que não aparece delimitando as células, o que indica algum dano nesta membrana.

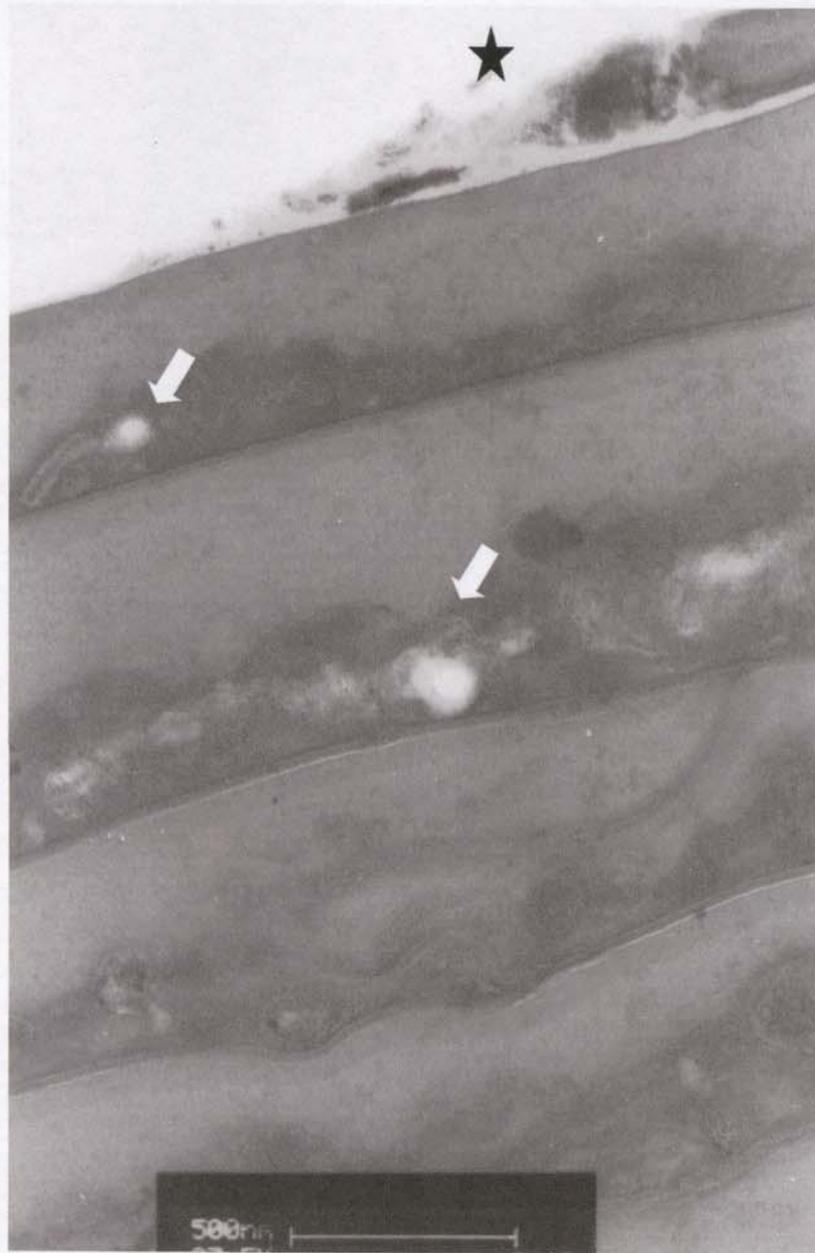


Figura 16: Micrografia eletrônica de transmissão de cabelo tingido, região da ponta. Observa-se em detalhe as cutículas, onde apenas em algumas regiões o “cmc” aparece bem definido. Vê-se também que a cutícula mais externa descolando através do “cmc” (★) e que há cavidades vazias (➡) na endocutícula.

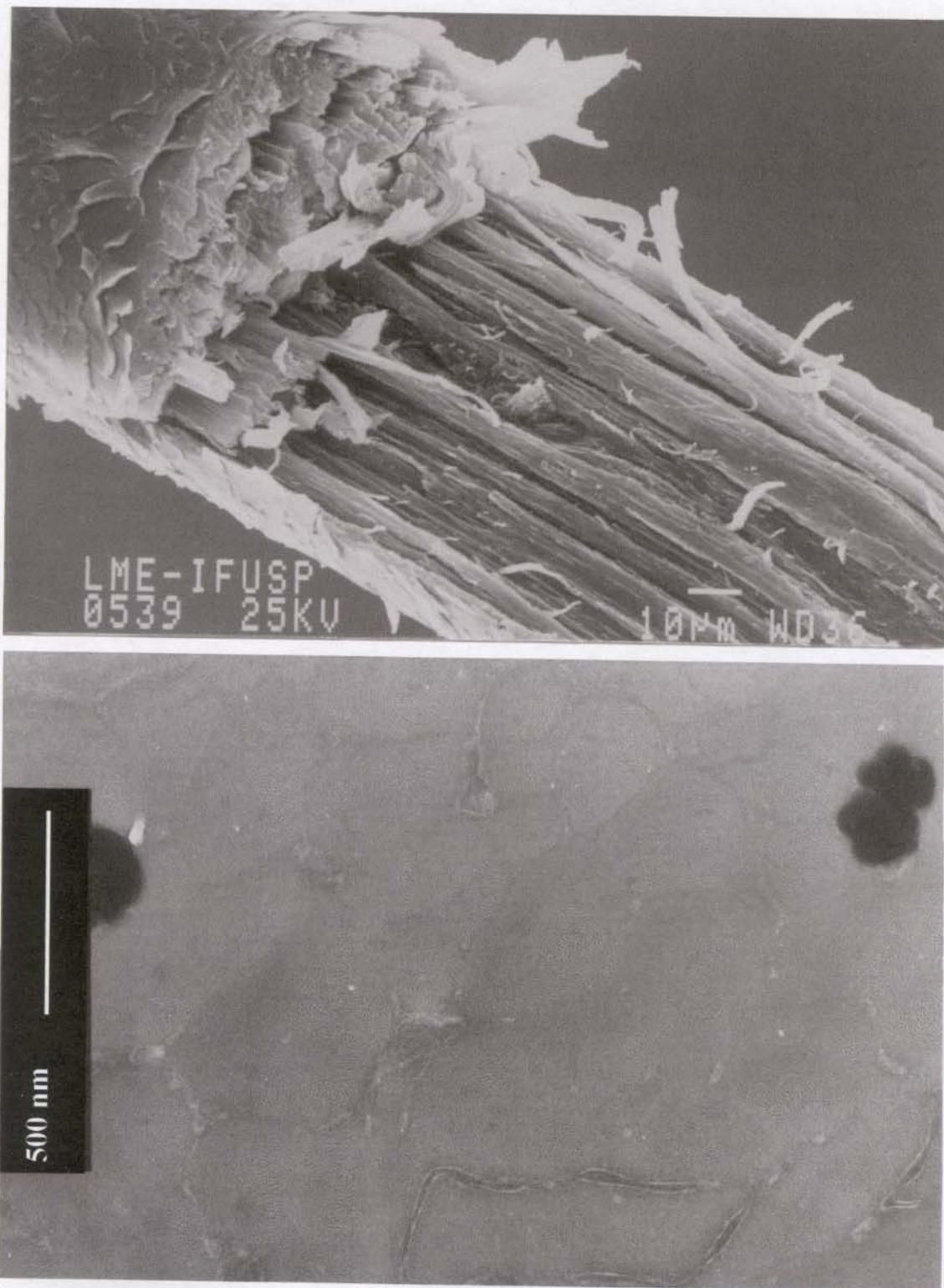


Figura 17: Micrografias eletrônicas de varredura (A) e transmissão (B) do córtex do cabelo comum, região da ponta. Em **A** observa-se a estrutura fibrilar do córtex orientada longitudinalmente ao fio. Em **B** vê-se no corte transversal do fio, as macrofibrilas, os granulos de melanina e o “cmc” do córtex.



Figura 18: Micrografias eletrônicas de transmissão do cabelo comum, região da ponta, (A) e cabelo padrão, região da raiz (B), com detalhe para o córtex. Em A e B observam-se o detalhe da mudança de orientação das fibrilas nas células corticais. Em B vê-se também em detalhe o “cmc” (entre setas) e parte de um grânulo de melanina.

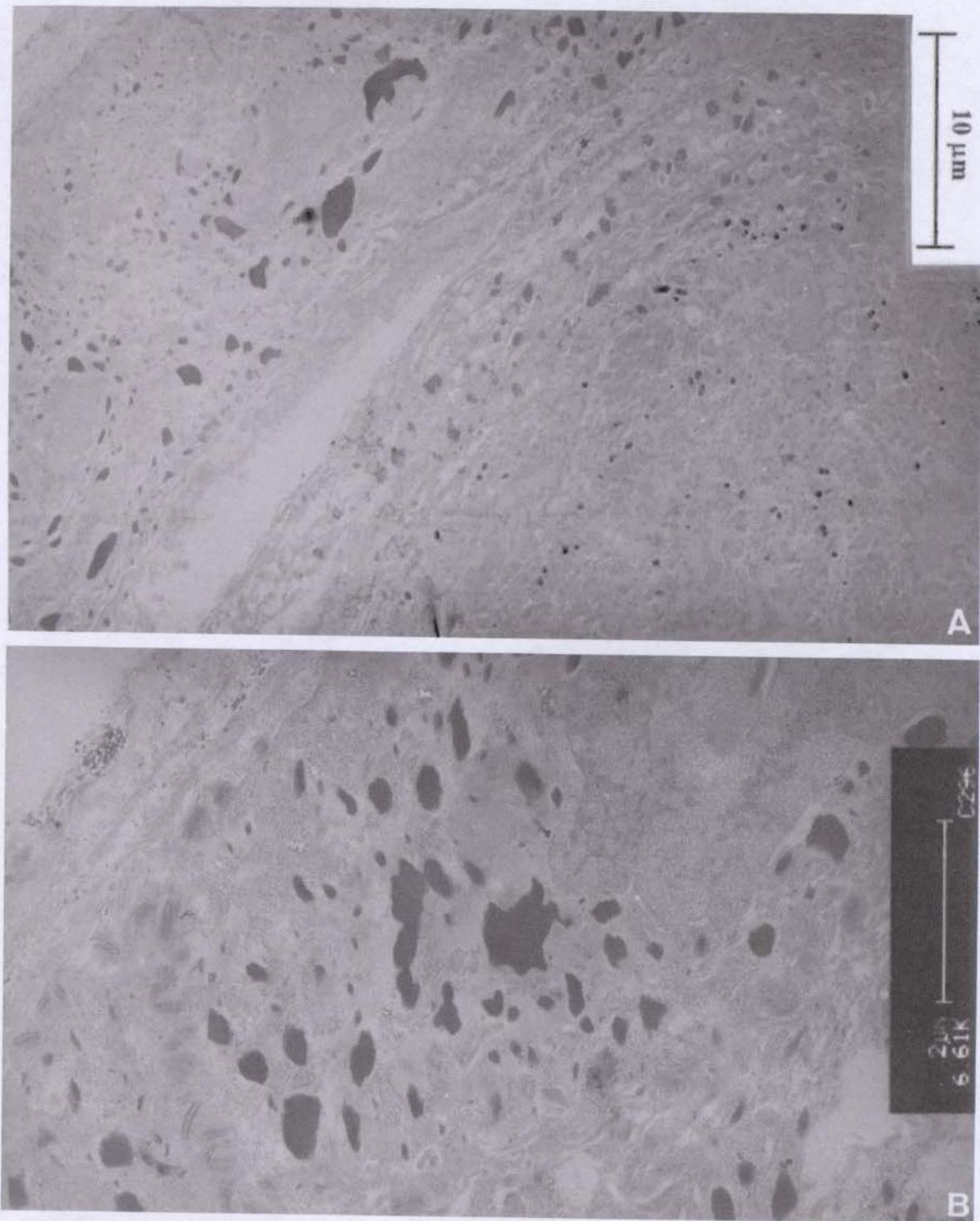


Figura 20: Micrografias eletrônicas de transmissão do bulbo de cabelo comum, na primeira região, mais profunda próxima ao bulbo.

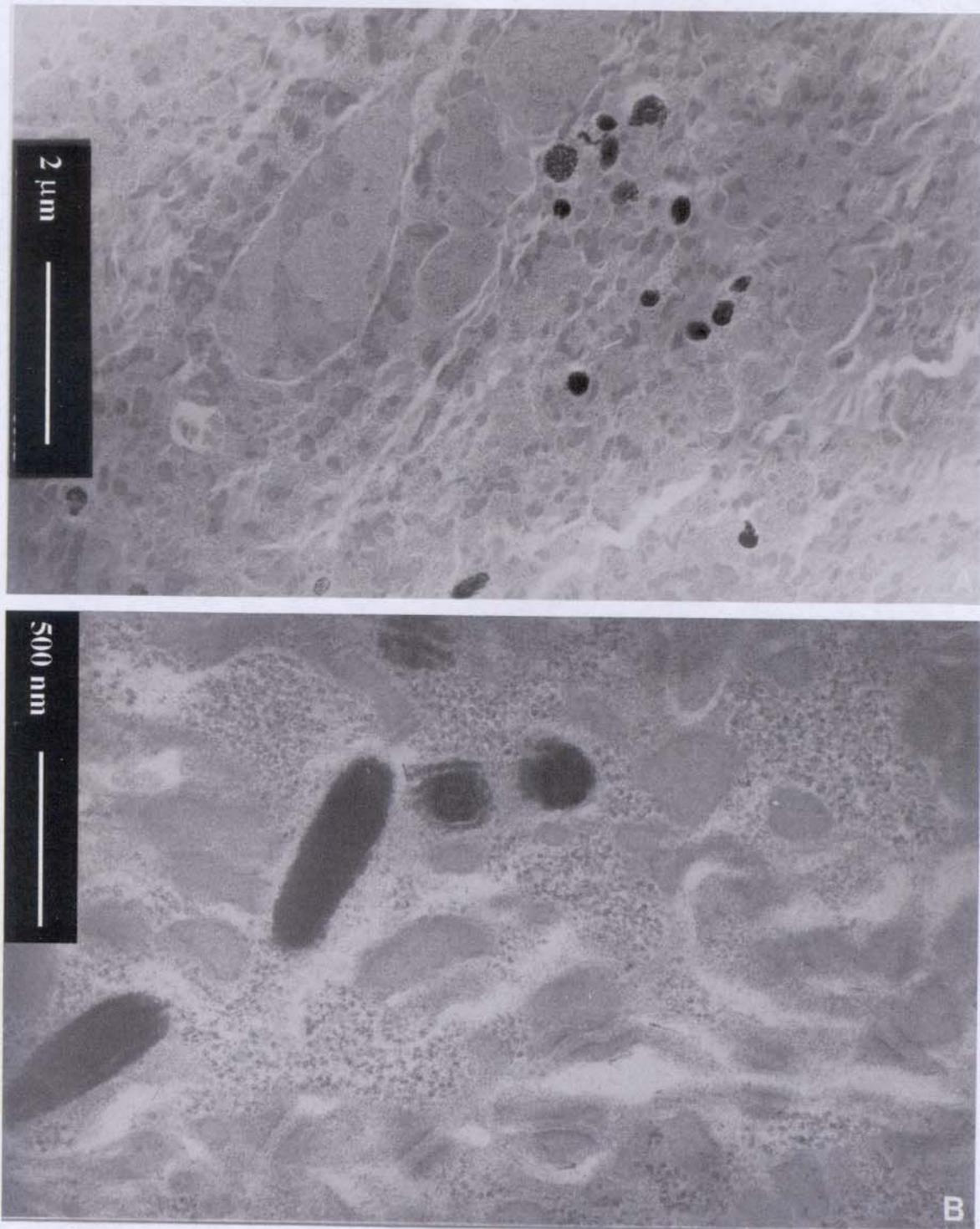


Figura 21: Micrografias eletrônicas de transmissão do bulbo de cabelo comum mostrando detalhes da estrutura, na região mais interna.

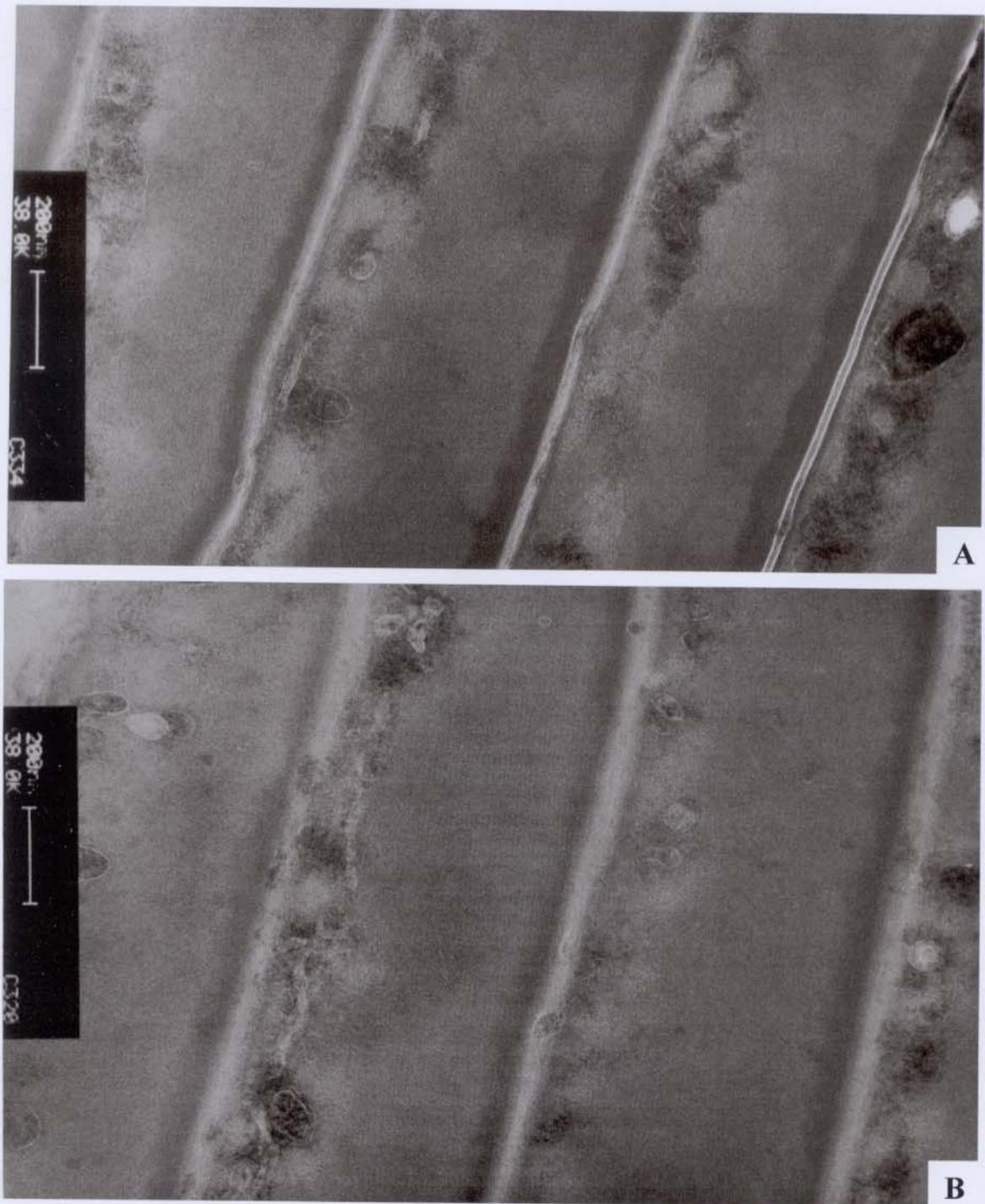


Figura 22: Micrografias eletrônicas de transmissão de um corte transversal no folículo de cabelo comum na segunda região, com detalhe para as cutículas do fio jovem.

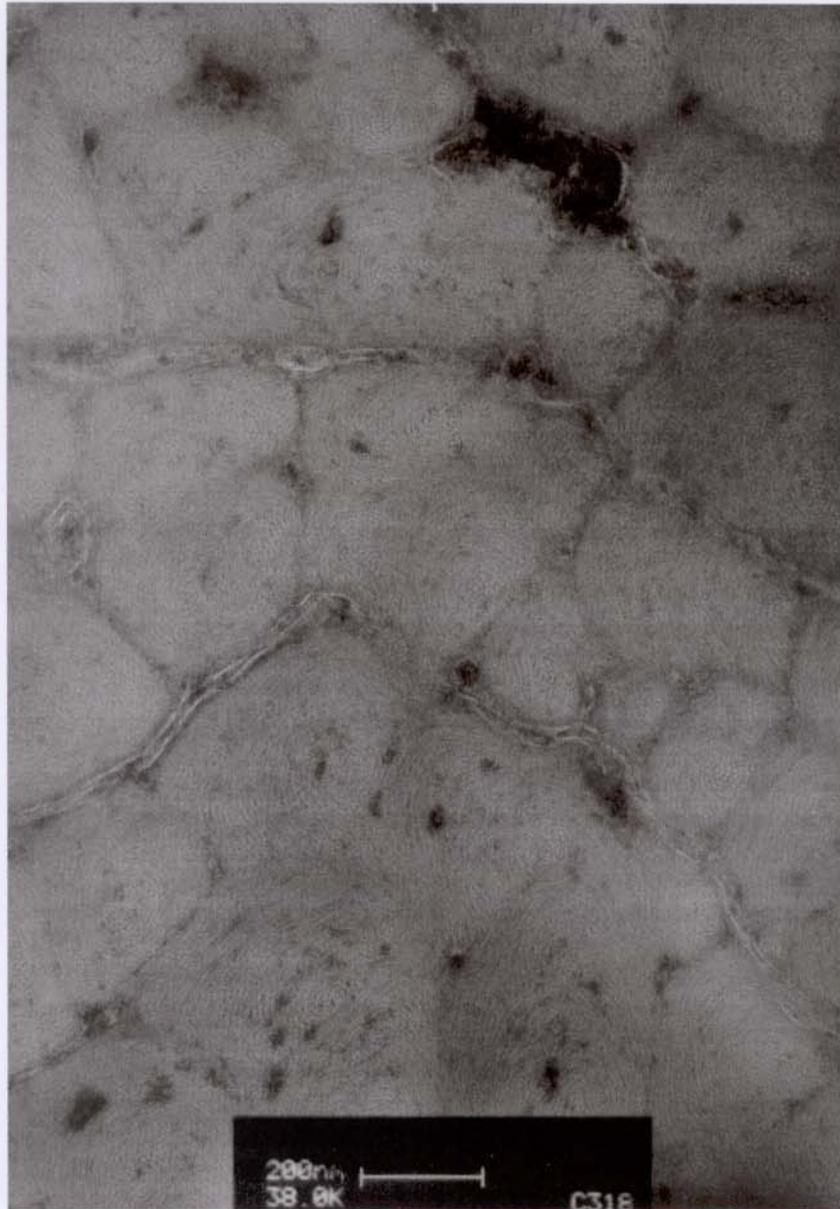
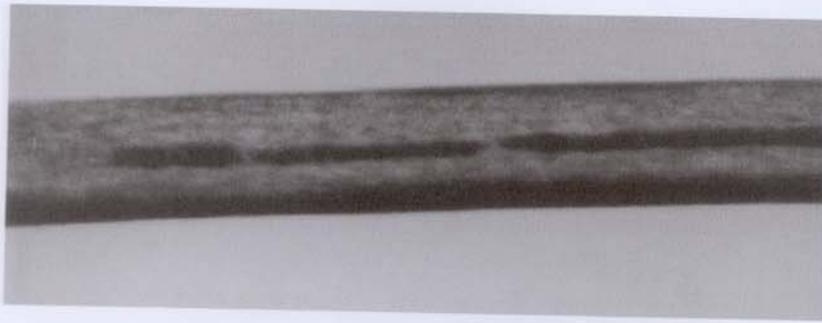


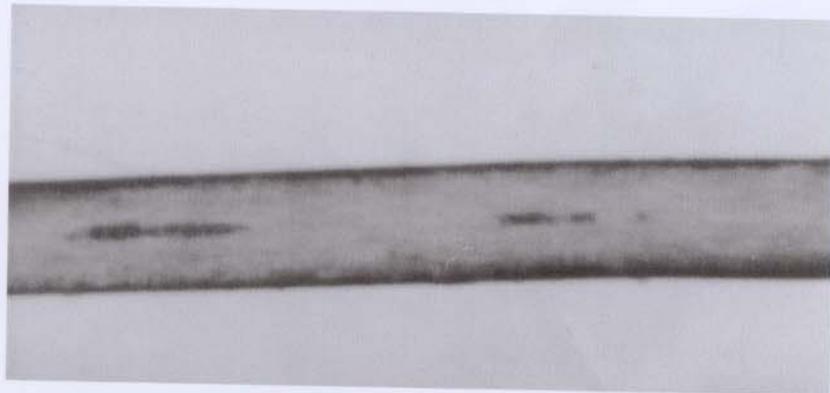
Figura 23: Micrografia eletrônica de transmissão de um corte transversal no folículo de cabelo comum na segunda região, com detalhe para o córtex do fio jovem.



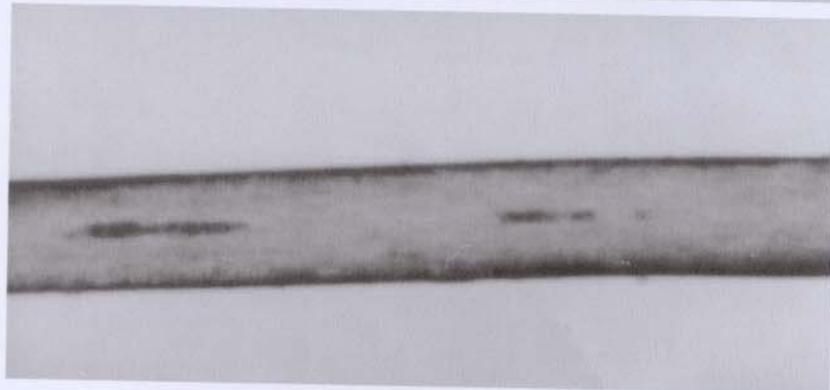
**a**



**b**



**c**



**d**

Figura 24: Foto-micrografias óticas de cabelo padrão exposto ao calor do secador de cabelo. Em **a** e **b** temos os fios expostos à seqüência de cinco exposições de 10 min; e em **c** e **d** temos os fios expostos 60 min. sem interrupção. Aumento final de 480x.

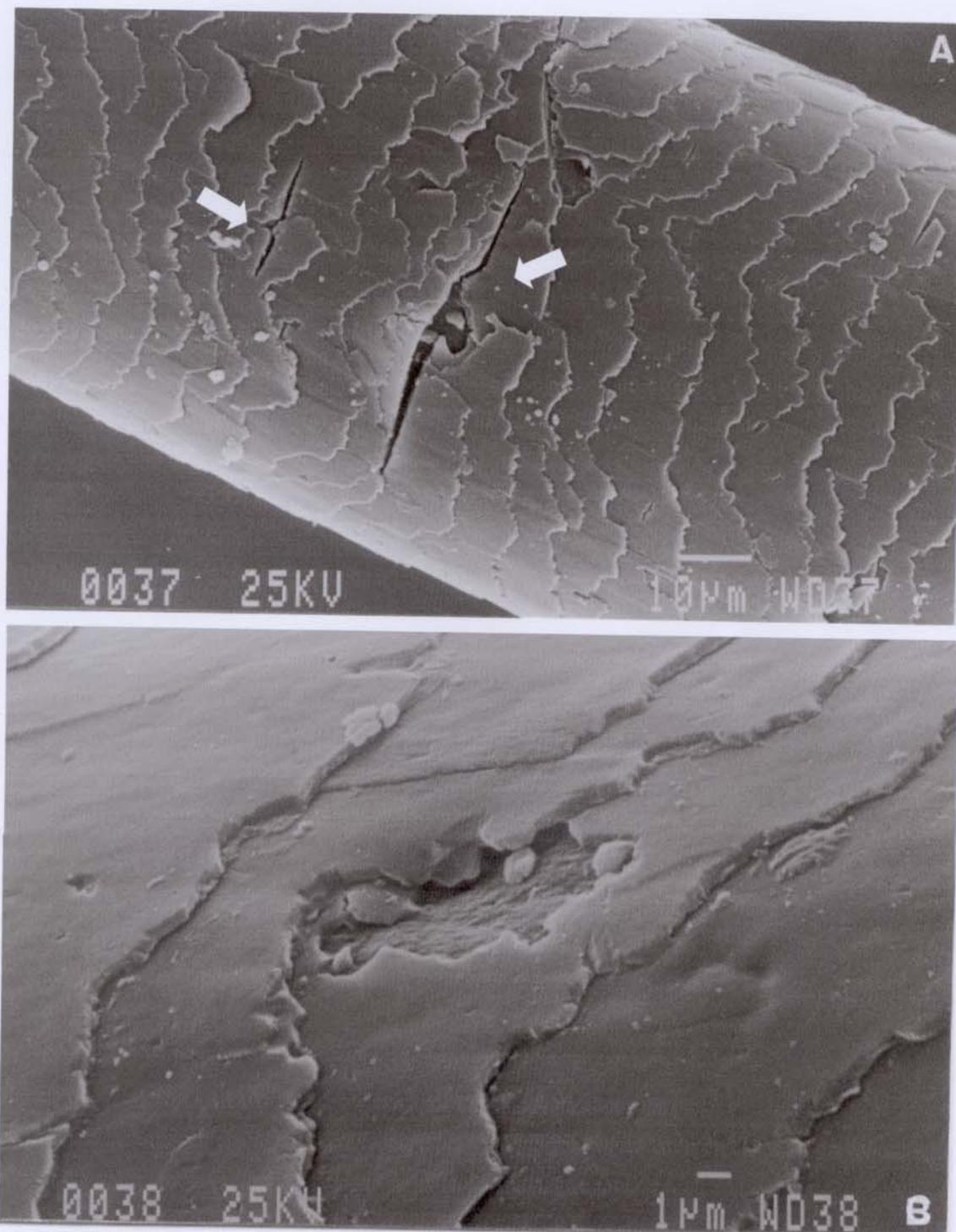


Figura 25: Micrografias eletrônicas de varredura do cabelo padrão tratado com água 40° C durante 16h, região do meio. Em A observa-se trincas com comprimentos diferentes em várias das cutículas (→). As trincas estão transversais ao fio. Em B vê-se em detalhe a trinca e a região exposta de aspecto rugoso.

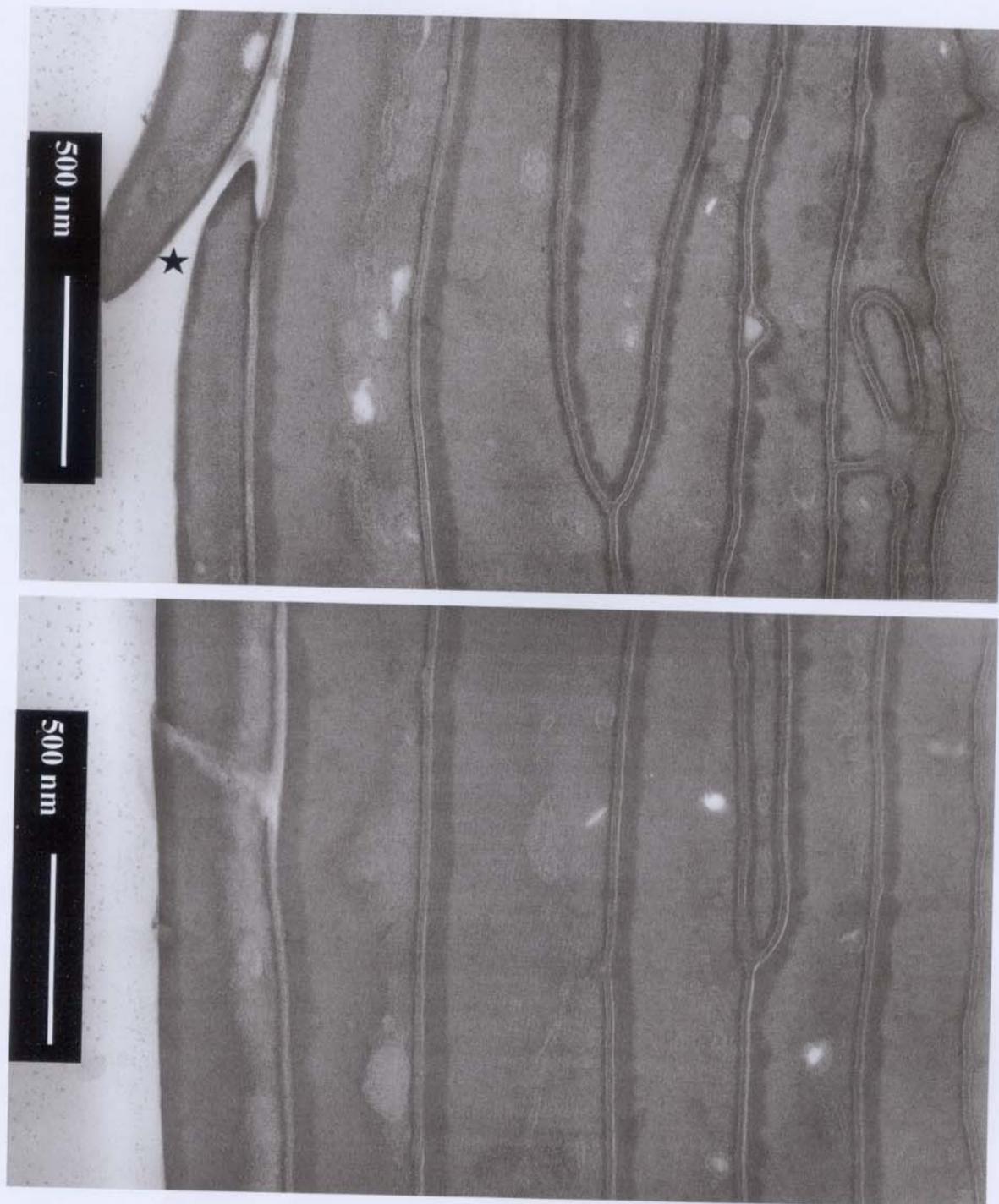


Figura 26: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão tratado com água 40°C por 16h, região da raiz. Em A observa-se o descolamento (★) da cutícula mais externa através do “cmc”. Em A e B vê-se poucas cavidades na endocutícula.

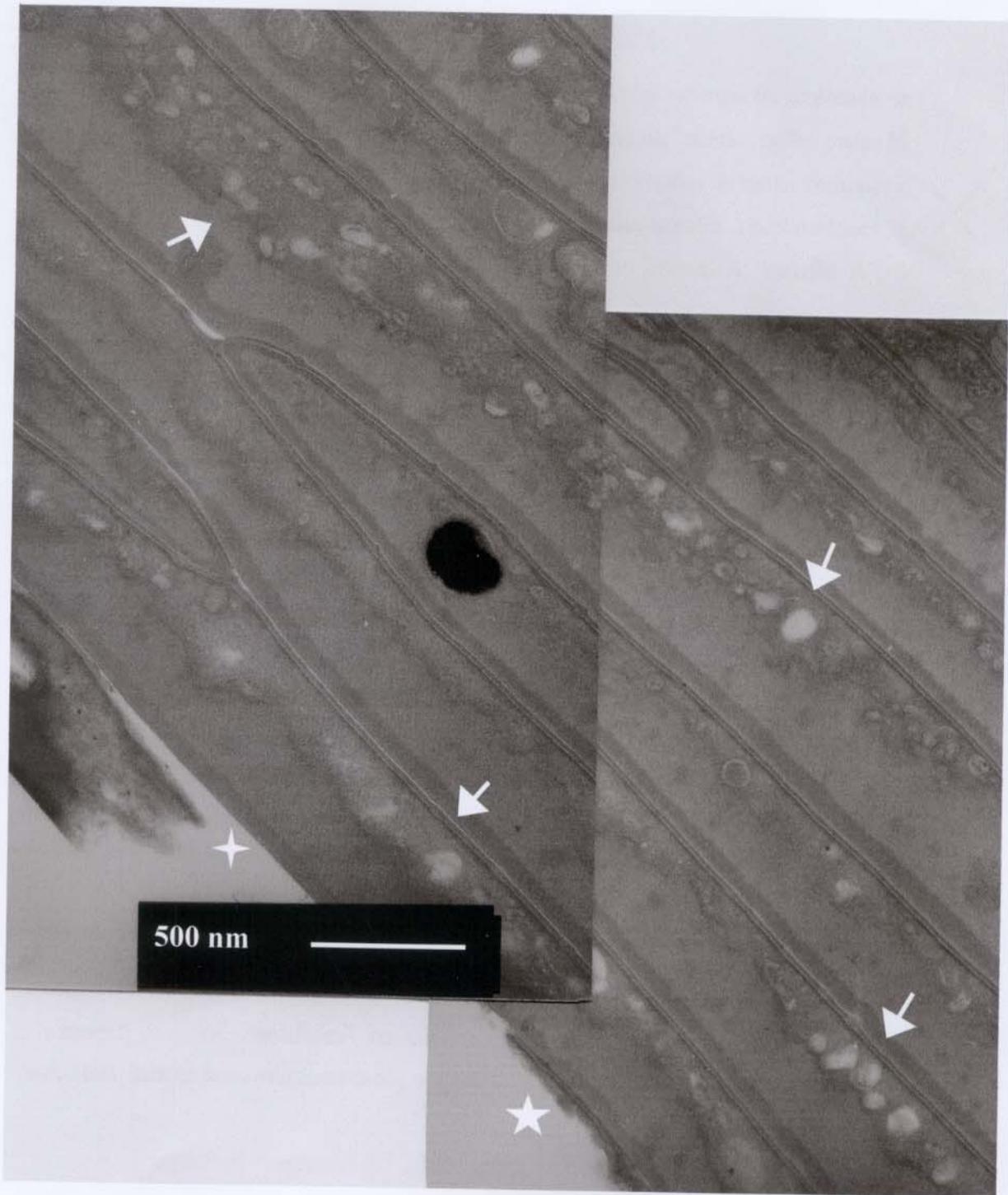


Figura 27: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão submetido a 5 lavagens consecutivas, região da raiz. Observa-se o descolamento da cutícula mais externa através do "cmc" (★) e outra parte desta descolou através pela endocutícula (★). As setas mostram cavidades na endocutícula presentes em toda extensão da região de observação.

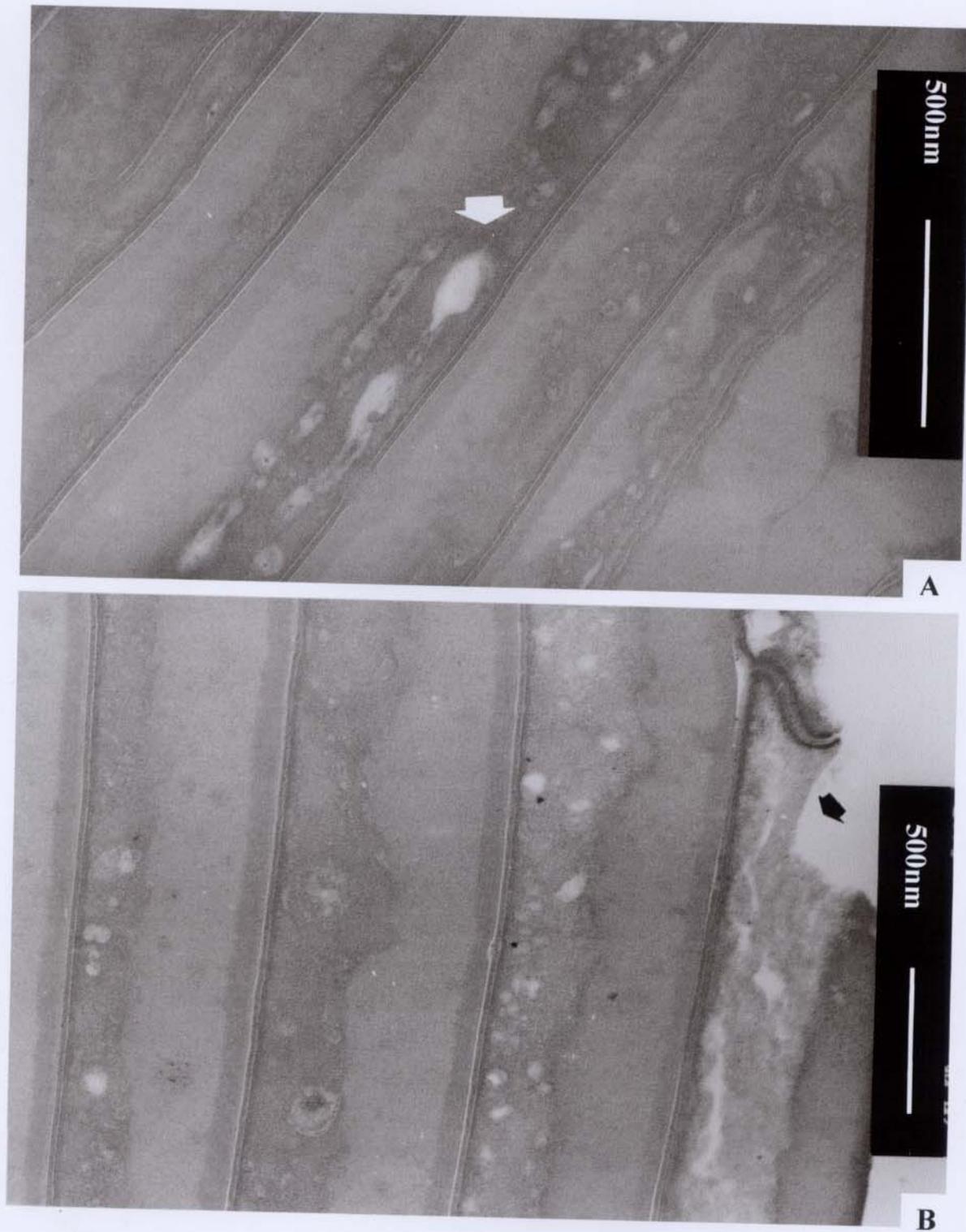


Figura 28: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão submetido a 5 lavagens consecutivas, região da raiz. Em A observa-se cavidades (➡) na endocutícula de uma das cutículas mais internas. Em B observa-se o descolamento (➡) através da endocutícula em uma região próxima as cavidades.

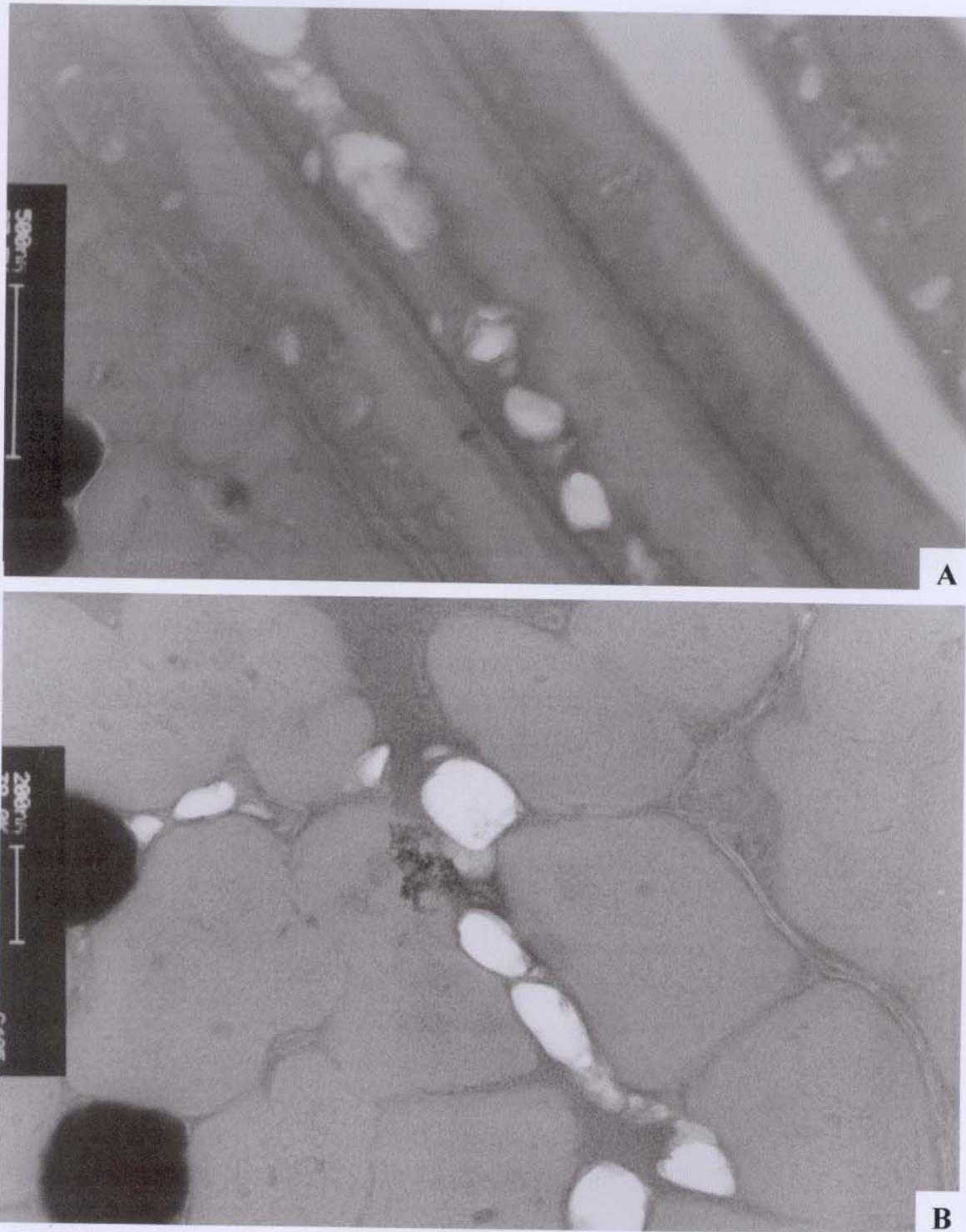


Figura 29: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão submetido a 30 lavagens consecutivas, região da raiz. Em **A** observa-se poucas cutículas na superfície do fio, indicando descolamento. Há cavidades na endocutícula. Em **B** vê-se cavidades no cimento inter-macrofibrilar do cortex (➡).

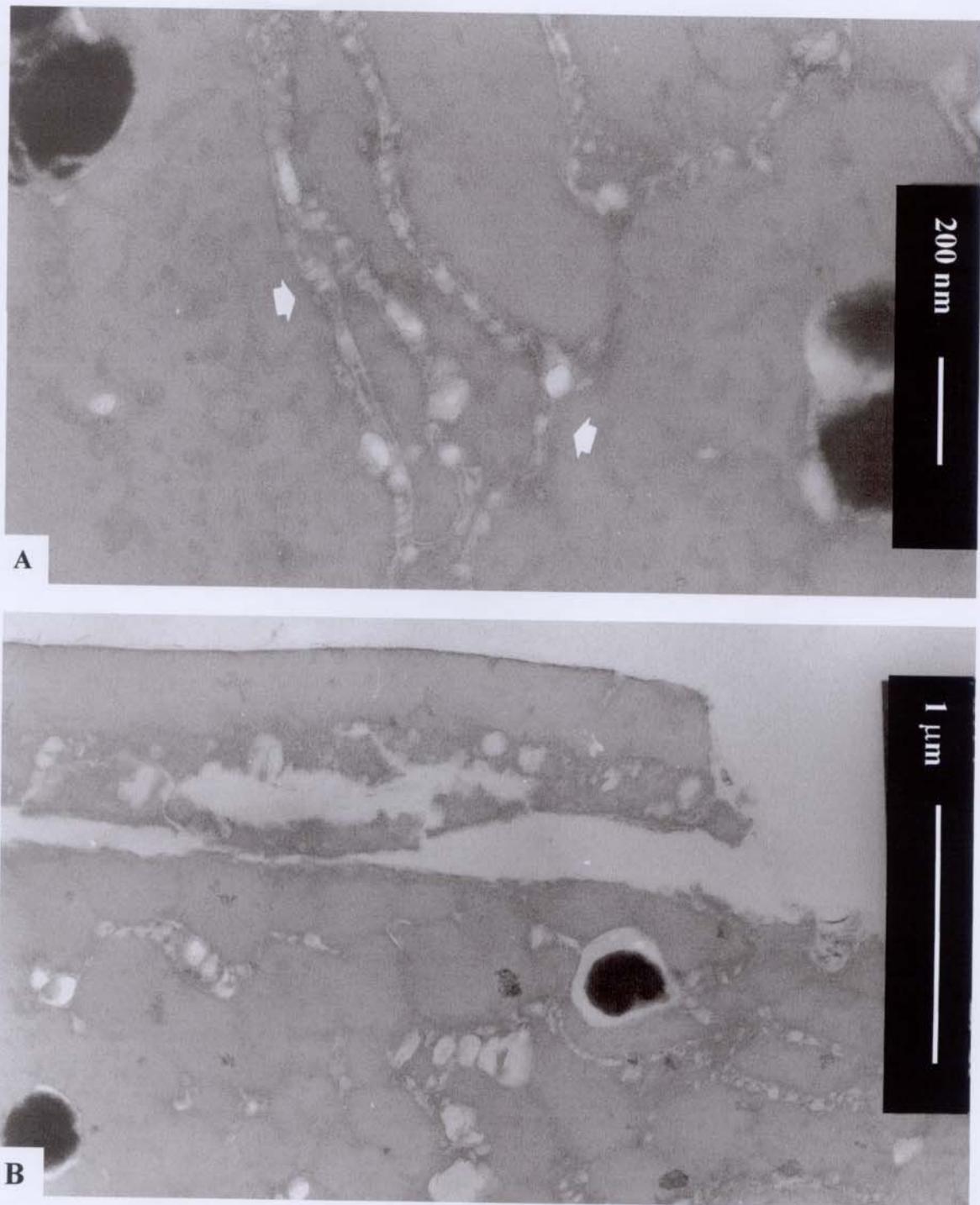


Figura 30: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão submetido a 30 lavagens consecutivas, região da ponta. Em **A** observa-se em detalhe várias cavidades (➡) no “cmc” do córtex e ao redor dos grânulos de melanina. Em **B** tem-se uma visão geral do cabelo, onde vê-se apenas uma cutícula e no córtex: cavidades no “cmc”, matriz intermacrofibrilar e ao redor das melaninas.

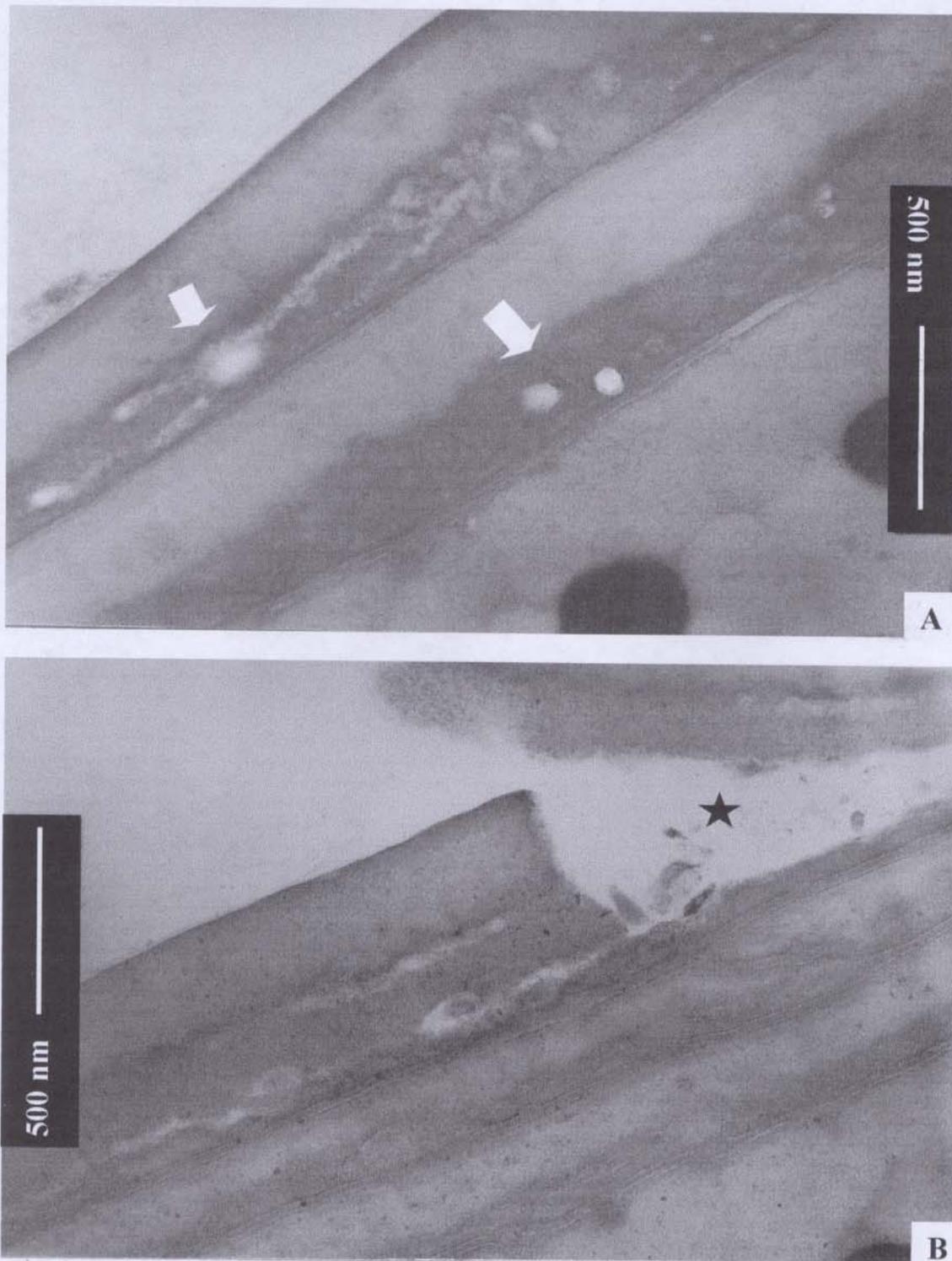


Figura 31: Micrografias eletrônicas de transmissão de cabelo padrão submetido a 120 lavagens consecutivas, região da raiz. Em **A** e **B** observa-se cavidades na endocutícula (➔), descolamento cuticular pela endocutícula (★) e poucas cutículas, indicando remoção destas durante as lavagens.