



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

**Instituto de Química**

**ANDRÉ LUIZ AFFONSO MEDICE SILVA**

**RETENÇÃO DE FRAGRÂNCIAS EM CABELOS  
CAUCASIANOS VIRGENS E DESCOLORIDOS**

**CAMPINAS**

**2015**

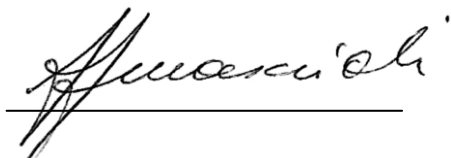
ANDRÉ LUIZ AFFONSO MEDICE SILVA

**RETENÇÃO DE FRAGRÂNCIAS EM CABELOS CAUCASIANOS  
VIRGENS E DESCOLORIDOS**

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Química da Universidade Estadual de  
Campinas como parte dos requisitos  
exigidos para obtenção do título de Mestre  
em química, na Área de Físico-Química*

**Orientadora: PROFA. DRA. ANITA JOCELYNE MARSAIOLI**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL  
DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO  
ANDRÉ LUIZ AFFONSO MEDICE SILVA, E ORIENTADA PELA  
PROFA. DRA. ANITA JOCELYNE MARSAIOLI



---

Assinatura da Orientadora

**CAMPINAS**

**2015**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Química  
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

M438r Medice Silva, André Luiz Affonso, 1986-  
Retenção de fragrâncias em cabelos Caucasianos virgens e descoloridos /  
André Luiz Affonso Medice Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Anita Jocelyne Marsaioli.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de  
Química.

1. Cabelo. 2. Fragrância. 3. Descoloração. I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II.  
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Fragrances retention in virgin and bleached Caucasian hair

**Palavras-chave em inglês:**

Hair

Fragrance

Bleaching

**Área de concentração:** Físico-Química

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

**Banca examinadora:**

Anita Jocelyne Marsaioli [Orientador]

Carla Maria Sanches Scanavez de Paula

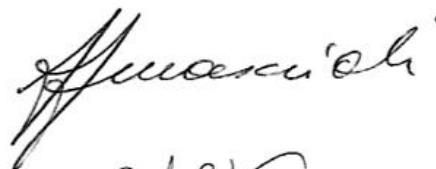
Camila Alves de Rezende

**Data de defesa:** 19-06-2015

**Programa de Pós-Graduação:** Química

## BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli (Orientadora)



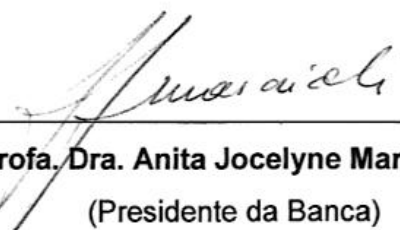
Dra. Carla Maria Sanches Scanavez de Paula (Natura Inovação e Tecnologia de Produtos)



Profa. Dra. Camila Alves de Rezende (IQ-UNICAMP)



Este exemplar corresponde à redação final da  
Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno **ANDRÉ  
LUIZ AFFONSO MEDICE SILVA**, aprovada pela  
Comissão Julgadora em 19 de junho de 2015.



---

**Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli**  
(Presidente da Banca)

*“... as pessoas podiam fechar os olhos diante da grandeza, do assustador, da beleza, e podiam tapar os ouvidos diante da melodia ou de palavras sedutoras. Mas não podiam escapar ao aroma. Pois o aroma é um irmão da respiração - ele penetra nas pessoas, elas não podem escapar-lhe caso queiram viver. E bem para dentro delas é que vai o aroma, diretamente para o coração, distinguindo lá categoricamente entre atração e menosprezo, nojo e prazer, amor e ódio. Quem dominasse os odores dominaria o coração das pessoas.”*

*O perfume, de Patrick Süskind*

*Dedico este trabalho à Profa Inés Joeques pelos ensinamentos transmitidos, pelos valores humanos compartilhados e pelos bons exemplos deixados.*

## **Agradecimentos**

A minha família, em especial minha mãe, por todo o apoio emocional, e ao meu pai, por sempre ter me incentivado a estudar;

A Profa. Inés Joeques pela orientação, amizade e por ter ensinado a nunca me contentar com pouco;

A Profa. Anita Jocelyne Marsaioli por ter me adotado e pela coragem de orientar um trabalho fora de sua área;

Aos professores Celso Bertram, Camila Rezende e Pedro Volpe pela ajuda com físico-química;

Aos professores Edvaldo Sabadini e Marcelo Ganzarolli por toda ajuda e solidariedade em um momento tão difícil do meu mestrado;

À Carla Scanavez e à Adriana Fregonesi, por toda ajuda oferecida e pelo entusiasmo em participar de minha banca;

Aos colegas de trabalho do grupo em Físico-química Aplicada: Scheila Alves, Rafael Pires, Matheus Pavani, Pedro Cominal, Anita Macedo, Marina Richena e Natália Tetzner;

Aos colegas de laboratório de Química Orgânica: Michel Chaves, Thiago, Bruna Zucoloto, Bárbara Melanda, Lair Saboia, Eraldo Fontes, Jonas Costa, Matheus Bofinger, Julia Bezerra, Lucas Said e Simone Dias;

Aos técnicos de laboratório Ricardo, Priscila e Aline, pelo auxílio concedido no dia-a-dia laboratorial;

Aos funcionários do Instituto de Química por toda a ajuda prestada, em especial ao pessoal da secretaria de pós-graduação;

À Renata Magueta e ao Renato Vieira Bacchi, pelo incentivo, conselho, apoio, suporte e todas as coisas que podem ser atribuídas aos melhores amigos;

Aos amigos da república Lixo com Pera (e agregados): Ximbinha, Panetone, Peter, Bronha, Coruja, Sid, Rods, Machado e Miguel, pelo incentivo, pelas conversas e pelos momentos de entretenimento;

Aos amigos caninos Bóris, George e Tupi, por me mostrar que o nariz é uma ferramenta muito útil e menosprezada por muitos seres humanos;

À empresa Symrise, pelo financiamento da pesquisa que resultou nesse trabalho, em especial aos colegas Paulo Junior, Carolina Lourenço, Amanda Frank e Thatiane Ramos;

Ao Adelino Nakano, pela ajuda, pela exigência e pelo convívio amistoso;

À Karen Hoster, por ter me ensinado tanto sobre aromas e por todo o auxílio com as análises cromatográficas;

Aos perfumistas Philippe Roques, Joachim Corel e Magali Lara pela ajuda e pelos conhecimentos de fragrâncias transmitidos;

A Universidade Estadual de Campinas e ao Instituto de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho e aos professores do Depto de Físico-química pelos conhecimentos transmitidos.

## Resumo

### RETENÇÃO DE FRAGRÂNCIAS EM CABELOS CAUCASIANOS VIRGENS E DESCOLORIDOS

O cabelo é constituído principalmente de queratina e quando descolorido, sofre oxidação dos grânulos de melanina e da matriz proteica que forma sua estrutura. O presente trabalho busca comparar a retenção de fragrâncias em cabelos virgens e descoloridos, levando em consideração as interações das substâncias fragrantes com o cabelo antes e após a modificação química. Para isso, foram utilizados cabelos de origem Caucasiana castanho escuro e liso, descoloridos com peróxido de hidrogênio 4,5 % m/m, em pH = 9,5. As matérias primas de fragrâncias foram incorporadas em formulações de xampu e a aplicação delas nos cabelos foi realizada através de lavagem e posterior enxague. A análise de retenção foi realizada por meio da coleta dos voláteis por SPME e a quantificação por CG-EM, após os cabelos permanecerem secando em ambiente com temperatura e umidade relativa controladas. O 2-metilbutanoato de etila e o aldeído C9 apresentaram menor permanência em cabelos descoloridos que em cabelo virgem, após duas horas de secagem e o 2-metilbutanoato de etila e o mintonat, após 6 horas de secagem. Esse comportamento foi atribuído ao aumento da difusão intercelular e transcelular de substâncias nos cabelos, devido à diminuição de inter cruzamentos das cadeias proteicas da cutícula e formação de buracos na estrutura capilar. O linalol foi menos retido pelo cabelo virgem que o aldeído C9, após duas horas de secagem por realizar ligações de hidrogênio mais eficientes com a água que está evaporando, sendo carregado por ela. Os ésteres 2-metilbutanoato de etila e o mintonat apresentaram menor persistência em ambos os tipos de cabelo, demonstrando possuir pouca interação com a estrutura capilar. O acetato de benzila apresentou maior persistência em comparação aos demais ésteres, que foi explicada pela presença do substituinte aromático, capaz de realizar ligações intermoleculares com o enxofre dos resíduos de cistina e anéis aromáticos dos resíduos de aminoácidos do cabelo. Além disso, foi verificado que, quanto maior o grau de descoloração, maior a quantidade de substâncias sorvidas nos cabelos durante a lavagem com

xampu, devido à formação de cavidades na estrutura capilar, que promovem a formação/aumento de sítios ativos de adsorção nos cabelos.

**Palavras-chave:** cabelo; fragrância; descoloração; retenção.

## **Abstract**

### **FRAGRANCES RETENTION IN VIRGIN AND BLEACHED CAUCASIAN HAIR**

Human hair, when bleached, undergoes oxidation of melamine grains and of its structural protein. This work aims to compare fragrance retention in both virgin and bleached hair, taking into consideration the interactions between fragrance compounds and hair before and after chemical modification. The bleaching process of straight dark brown Caucasian hair was carried out using a 4.5 % wt. hydrogen peroxide solution at pH 9.5. Fragrance raw materials were incorporated in a shampoo formulation and applied on hair by washing, followed by rinsing. Hair was then let to dry under controlled conditions of temperature and humidity and the volatiles were collected by SPME and quantified by GC-MS. Ethyl 2-methylbutanoate and aldehyde C9 exhibited lower retention on bleached hair after 2 hours of drying and ethyl 2-methylbutanoate and mintonat after 6 hours. This was caused by an increase in intercellular and transcellular diffusion of the fragrances in hair after protein structure degradation and cross link density decrease. Linalool was less retained on virgin hair after 2 hours of drying in comparison to aldehyde C9, because of its higher capacity to form hydrogen bonds with water, which favors its transference to the vapor phase by water evaporation carrying. 2-methylbutanoate and mintonat showed lower retention in both types of hair, due to its low interaction with human hair. Benzyl acetate was more retained by hair in comparison with 2-methylbutanoate and mintonat after 6 hours of drying, due to the presence of an aromatic ring that interacts with cystine's sulphur and amino acids' aromatic residues of hair. Moreover, the more bleached the hair, the higher is the amount of sorbed substances during shampoo washing. This happens because bleaching reaction increases the amount of holes into hair structure which increases its sorption capacity.

**Key words:** hair, fragrance; bleaching; retention.

## Lista de abreviaturas

<b>CMC</b>	Complexo da membrana celular
<b>SPME</b>	Microextração em fase sólida
<b>CG-EM</b>	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
<b>CG</b>	Cromatografia gasosa
<b>HS</b>	<i>Headspace</i>
<b>LESS</b>	Lauril éter sulfato de sódio
<b>Q.s.p.</b>	Quantidade suficiente para
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetra-acético
<b>PEG</b>	Polietileno glicol
<b>DEA</b>	Dietanolamina
<b>SDS</b>	Dodecilsulfato e sódio
<b>DE*</b>	Diferença total de cor
<b>ERD</b>	Espectroscopia de Reflectância Difusa
<b>CIE</b>	Comissão internacional de Iluminação
<b>L*</b>	Coordenada de luminosidade
<b>a*</b>	Coordenada de cor verde-vermelho
<b>b*</b>	Coordenada de cor azul-amarelo
<b>DL*</b>	Diferença na coordenada luminosidade
<b>Da*</b>	Diferença de cor na coordenada verde-vermelho
<b>Db*</b>	Diferença de cor na coordenada azul-amarelo
<b>UR</b>	Umidade Relativa
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxano
<b>DVB</b>	Divinilbenzeno

<b>CAR</b>	Carboxen
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>EI</b>	Impacto de elétrons
<b>R</b>	Regressão
<b>r</b>	Resíduo
<b>EP</b>	Erro puro
<b>Faj</b>	Falta de ajuste
<b>SQ</b>	Soma quadrática
<b>MQ</b>	Média quadrática
<b>t</b>	Tempo
<b>T</b>	Temperatura
<b><math>R_f</math></b>	Fator de retenção
<b>RMN</b>	Ressonância magnética nuclear
<b>MET</b>	Microscopia eletrônica de transmissão
<b>MEV</b>	Microscopia eletrônica de varredura

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Formulação da base xampu perolado, utilizada como veículo das fragrâncias.....	36
<b>Tabela 2.</b> Condições de temperatura e tempo de reação da descoloração de cabelos Caucasianos.....	39
<b>Tabela 3.</b> Condições experimentais de descoloração das mechas de cabelo Caucasiano castanho, segundo as condições estipuladas pelas variáveis estipuladas e pelo planejamento 2 <sup>2</sup> com ponto central. ....	40
<b>Tabela 4.</b> Valores de variação de cor para os parâmetros Da*, Db*, DL* e DE*, das mechas de cabelo Caucasiano castanho, descoloridas com peróxido de hidrogênio, utilizando as condições estipuladas pelo planejamento 2 <sup>2</sup> com ponto central. ....	48
<b>Tabela 5.</b> Tabela ANOVA para o planejamento 2 <sup>2</sup> de ponto central e estrela .....	50
<b>Tabela 6.</b> Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio, por 10, 20, e 40 minutos. ....	54
<b>Tabela 7.</b> Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucasiano castanho claro virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio, por 10, 20, 30 e 40 minutos. ....	55
<b>Tabela 8.</b> Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucasiano loiro claro virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio por 30 e 60 minutos.....	57
<b>Tabela 9.</b> Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Negroide virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio por 30 e 60 minutos.....	59
<b>Tabela 10.</b> Valores aproximados dos deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup> C de sólidos (CP/MAS) observados de cabelo Caucasiano loiro claro e Negroide .....	61
<b>Tabela 11.</b> Mudança da fração de proteína em estrutura α-hélice e randômica em cabelo Caucasiano loiro e Negroide após tratamento de descoloração oxidativa, determinado pelos sinais de carbono da carbonila da estrutura primária por <sup>13</sup> C CP/MAS.....	67
<b>Tabela 12.</b> Valores de retenção de fragrância, log <i>P</i> e temperatura de ebulição e pressão de vapor das matérias primas eluídas .....	71

**Tabela 13.** Quantidade das matérias primas em cabelos virgens e descoloridos por 40 minutos, após os períodos de 0, 2 e 6 horas de secagem a 60 % UR e T = 21 °C, em relação ao tempo zero.....72

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Representação da estrutura do cabelo humano (centro) destacando suas partes principais .....	21
<b>Figura 2.</b> Representação da estrutura do cabelo humano.....	22
<b>Figura 3.</b> Estruturas químicas dos aminoácidos cisteína, cistina e resíduo de cistina na estrutura de queratina .....	23
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática de vários tipos de reações de oxidação das ligações de dissulfeto, contidas na estrutura capilar. ....	25
<b>Figura 5.</b> Representação estrutura do cabelo humano destacando as partes da cutícula e os caminhos de difusão intercelular e transcelular.....	26
<b>Figura 6.</b> Ilustração de uma fibra de SPME inserida em suporte amostrador. ....	30
<b>Figura 7.</b> Matérias primas utilizadas no projeto: linalol, 2-metil-butanoato de etila, mintonat, acetato de benzila e aldeído C9. ....	34
<b>Figura 8.</b> Coordenada de cores oponentes do sistema CIELAB. ....	38
<b>Figura 9.</b> Representação esquemática do planejamento fatorial $2^2$ com estrela .....	41
<b>Figura 10.</b> Montagem experimental da análise de sorção de umidade em cabelo Caucasiano castanho claro em tubo eppendorf. ....	43
<b>Figura 11.</b> Montagem experimental da análise de sorção/dessorção de umidade em cabelo Caucasiano castanho escuro virgem e descolorido por 10, 20 e 40 minutos, dispostos em criotubos.....	43
<b>Figura 12.</b> Mechas de cabelos descoloridas e disposta de acordo com as condições estipuladas no planejamento experimental $2^2$ com estrela, sendo $x_1$ o tempo e $x_2$ a temperatura. ....	49
<b>Figura 13.</b> Superfície de resposta para as variáveis tempo ( $x_1$ ) e temperatura ( $x_2$ ), tendo a variação total de cor $DE^*$ (Y) como resposta.....	51
<b>Figura 14.</b> Mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro (Amostra 3) virgem e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % mm em pH 9,5 a 55 °C, por 10, 20 e 40 minutos.....	53
<b>Figura 15.</b> Mechas de cabelo Caucasiano castanho claro virgem e descoloridas com peróxido de hidrogênio, por 10, 20, 30 e 40 minutos. ....	54
<b>Figura 16.</b> Mechas de cabelo Caucasiano loiro claro virgem e descoloridas com peróxido de hidrogênio, por 30 e 60 minutos. ....	56

<b>Figura 17.</b> Mechas de cabelo Negroide virgem e descoloridas com peróxido de hidrogênio, por 30 e 60 minutos. ....	58
<b>Figura 18.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C CP/MAS de cabelo Caucasiano loiro virgem e cabelo Negroide virgem. ....	60
<b>Figura 19.</b> Estrutura dos aminoácidos atribuídos no espectro de RMN de <sup>13</sup> C de sólidos (CP/MAS) de cabelo Caucasiano e Negroide virgens. ....	62
<b>Figura 20.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C CP/MAS de cabelo Caucasiano loiro virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio, por 30 e 60 minutos. ....	63
<b>Figura 21.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C CP/MAS de cabelo Negroide virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio, 30 e 60 minutos. ....	63
<b>Figura 22.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C de sólidos CP/MAS da região de carbonilas de cabelo Caucasiano virgem. ....	65
<b>Figura 23.</b> Ampliação dos espectros de RMN de <sup>13</sup> C CP/MAS de cabelo Caucasiano loiro virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio por 30 e 60 minutos. ....	67
<b>Figura 24.</b> Ampliação dos espectros de RMN de <sup>13</sup> C CP/MAS de cabelo negroide virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio, por 30 e 60 minutos. ....	68
<b>Figura 25.</b> Atribuição dos deslocamentos químicos dos C <sub>β</sub> das estruturas químicas da cistina e variações oxidadas da cisteína com resíduo de ácido sulfínico e com resíduo de ácido sulfônico. ....	69
<b>Figura 26.</b> Fotografia de amostras de cabelo descolorido e inseridas no recipiente de amostragem, após lavagem com xampu contendo as matérias primas, e deixadas em condições controladas de temperatura e umidade relativa por 0, 2 e 6 horas. ...	74
<b>Figura 27.</b> Aminoácidos com anéis aromáticos presentes na estrutura proteica do cabelo triptofano, fenilalanina e histidina. ....	77
<b>Figura 28.</b> Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio, em função do tempo de descoloração para o período de 0 h de secagem. ....	79
<b>Figura 29.</b> Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio, em função do tempo de descoloração para o período de 1 h de secagem. ....	79
<b>Figura 30.</b> Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio, em função do tempo de descoloração para o período de 2 h de secagem. ....	80

<b>Figura 31.</b> Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucásiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio, em função do tempo de descoloração para o período de 4 h de secagem.....	80
<b>Figura 32.</b> Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucásiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio, em função do tempo de descoloração para o período de 6 h de secagem.....	81
<b>Figura 33.</b> Imagem da esquerda: micrografia obtida por MET do corte transversal da região preta de cabelo grisalho padrão descoloridos com peróxido de hidrogênio e persulfato de amônio, mostrando buracos no córtex e na endocutícula .....	83
<b>Figura 34.</b> Isoterma de sorção de umidade, obtida pelo aumento gradativo de umidade a temperatura constante, de cabelo Caucásiano ruivo virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio por 3 horas. ....	86
<b>Figura 35.</b> Quantidade de água sorvida pelo cabelo Caucásiano castanho claro virgem e descolorido por 10, 20, 30 e 40, em função da umidade relativa. ....	87
<b>Figura 36.</b> Quantidade de água sorvida pelo cabelo virgem e descolorido por 10, 20, 30 e 40 mins, após até 55 horas a 98 % UR. ....	88
<b>Figura 37.</b> Quantidade de água sorvida pelo cabelo virgem e descolorido por 40 minutos, após até 55 horas a 98 % UR. ....	89
<b>Figura 38.</b> Quantidade de água dessorvida pelo cabelo virgem e descolorido por 10, 20, 30 e 40 min, após até 55 horas a 98 % UR. ....	90
<b>Figura 39.</b> Teor de água em função do período a 0 % UR, para cabelo virgem e descolorido por 40 minutos em até 74,5 horas a 0 % UR .....	91
<b>Figura 40.</b> Ln do teor de água dessorvida por grama de cabelo virgem e descolorido por 40 minutos após 74,5 horas a 0 % UR.....	93
<b>Figura 41.</b> Ln da quantidade de água dessorvida por cabelo virgem e descolorido por 40 minutos, após mais de 25 horas a 0 % UR. ....	94

# Sumário

I.	INTRODUÇÃO .....	21
1.	O cabelo e sua estrutura .....	21
1.1.	Descoloração oxidativa do cabelo.....	25
1.2.	Difusão em cabelo.....	26
2.	Fragrâncias.....	27
2.1.	Persistência de fragrância em cabelo .....	28
3.	Análise de fragrâncias.....	29
3.1.	Microextração e fase sólida (SPME) .....	29
II.	OBJETIVO .....	32
III.	EXPERIMENTAL .....	33
1.	Materiais e reagentes.....	33
1.1.	Cabelo.....	33
1.2.	Matérias primas de fragrâncias .....	33
1.3.	Base xampu.....	35
2.	Métodos gerais .....	36
2.1.	Preparo de amostras e limpeza dos cabelos .....	36
2.2.	Descoloração dos cabelos.....	37
2.3.	Caracterização dos cabelos por espectrometria de refletância difusa (ERD).....	37
2.4.	Otimização de experimentos.....	39
2.5.	Análise de sorção de umidade em cabelo .....	42
2.6.	Ensaio com fragrâncias .....	44
2.7.	Análises Cromatográficas .....	45
2.8.	Métodos espectrométricos de Ressonância Magnética Nuclear .....	46
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	47
1.	Otimização da descoloração.....	47
2.	Mudança de cor dos cabelos Caracterização por Espectrofotometria de Refletância difusa (ERD).....	52
3.	Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	60
4.	Polaridade das substâncias.....	70

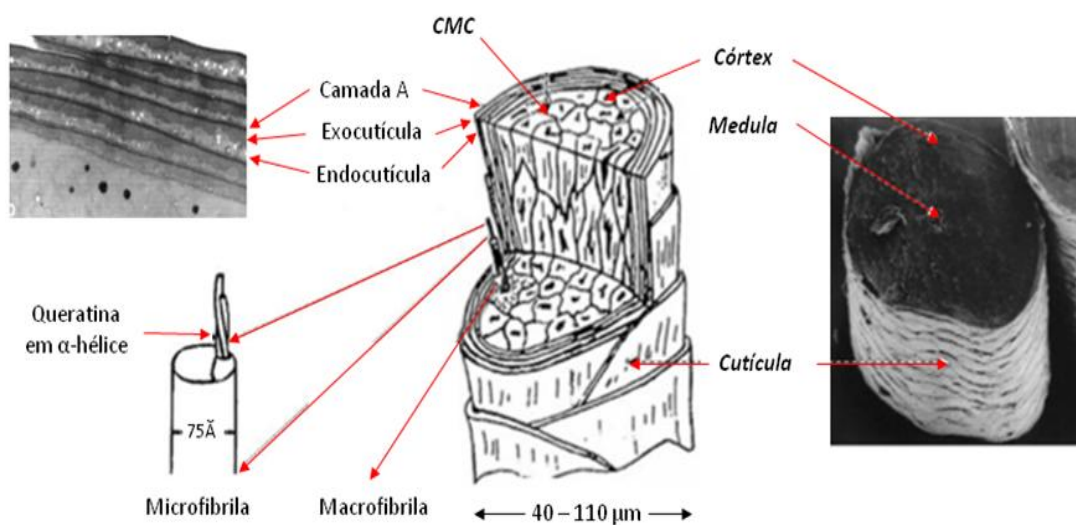
5.	Perfil de liberação de fragrâncias .....	71
5.1.	Análise de retenção das matérias primas em formulações distintas de xampu.....	71
5.2.	Análise de retenção das matérias primas em formulação única de xampu perolado.....	77
6.	Sorção de umidade .....	84
6.1.	Isoterma de sorção.....	85
6.2.	Cinética de sorção.....	87
V.	CONCLUSÃO .....	95
VI.	REFERÊNCIAS.....	97

# I. INTRODUÇÃO

## 1. O cabelo e sua estrutura

O cabelo tem como função, além de proteger a pele contra agentes externos, proporcionar a atração sexual e sensorial de um indivíduo. Desde os tempos primordiais, é considerado símbolo de força, poder e beleza e conseqüentemente é visto como objeto de status social, fator extensivamente aproveitado pela indústria de cosméticos e impulsionado pela moda.<sup>2</sup>

O cabelo é uma fibra proteica, na forma de um apêndice epidérmico de matriz queratinosa multicelular que cresce em cavidades do couro cabeludo denominados folículos pilosos. Os fios de cabelo se estendem desde a superfície da pele através do estrato córneo e epiderme para a derme. Sua presença, em organismos vivos vertebrados, está associada à proteção contra o frio e a umidade.<sup>1, 2</sup>



**Figura 1.** Representação da estrutura do cabelo humano (centro) destacando suas partes principais: cutícula (micrografia eletrônica de transmissão, à esquerda e acima), córtex e medula (micrografia eletrônica de varredura, à direita) e CMC. Adaptado de Robbins [1] e Scanavez [3].

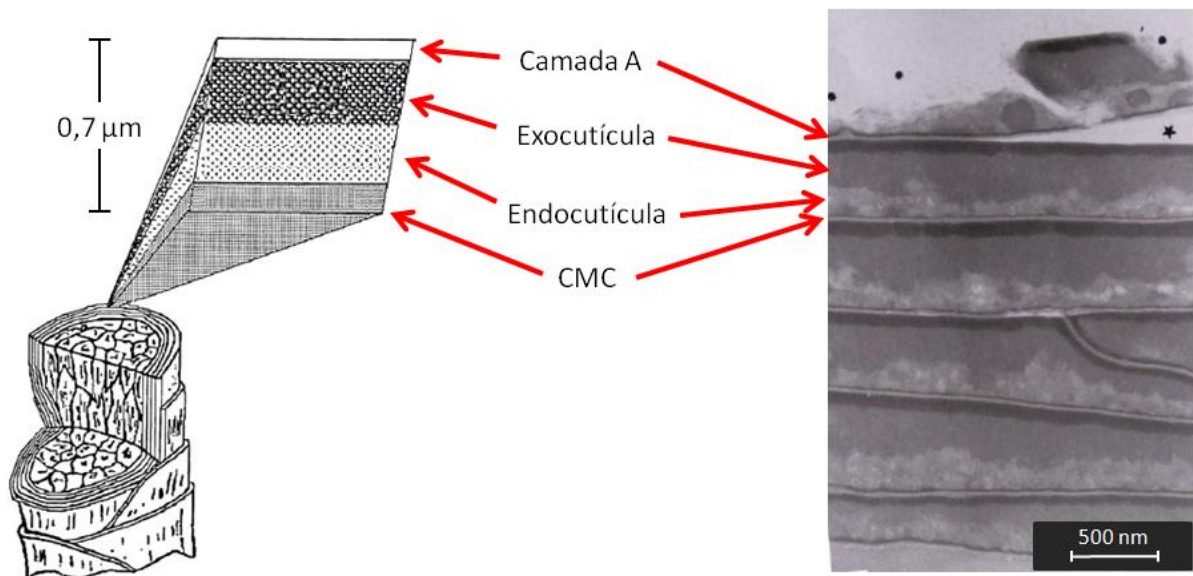
Morfologicamente, o cabelo humano possui geometria cilíndrica, com diâmetro variando entre 40 e 110 μm e possui quatro componentes principais, cada

qual com uma composição química específica: cutícula (ca. 10 % em massa da fibra), córtex (ca. 88 %), complexo da membrana celular, ou CMC (ca. 2 %) e medula.<sup>1,2</sup>

A localização desses componentes na fibra capilar e a sua composição encontram-se destacados na Figura 1. Apesar de ser formado por várias partes, o cabelo possui uma estrutura que forma um sistema integrado e possui comportamento químico e físico devido à presença desses componentes, que podem atuar separadamente ou como uma unidade.<sup>1,2</sup>

### *Cutícula*

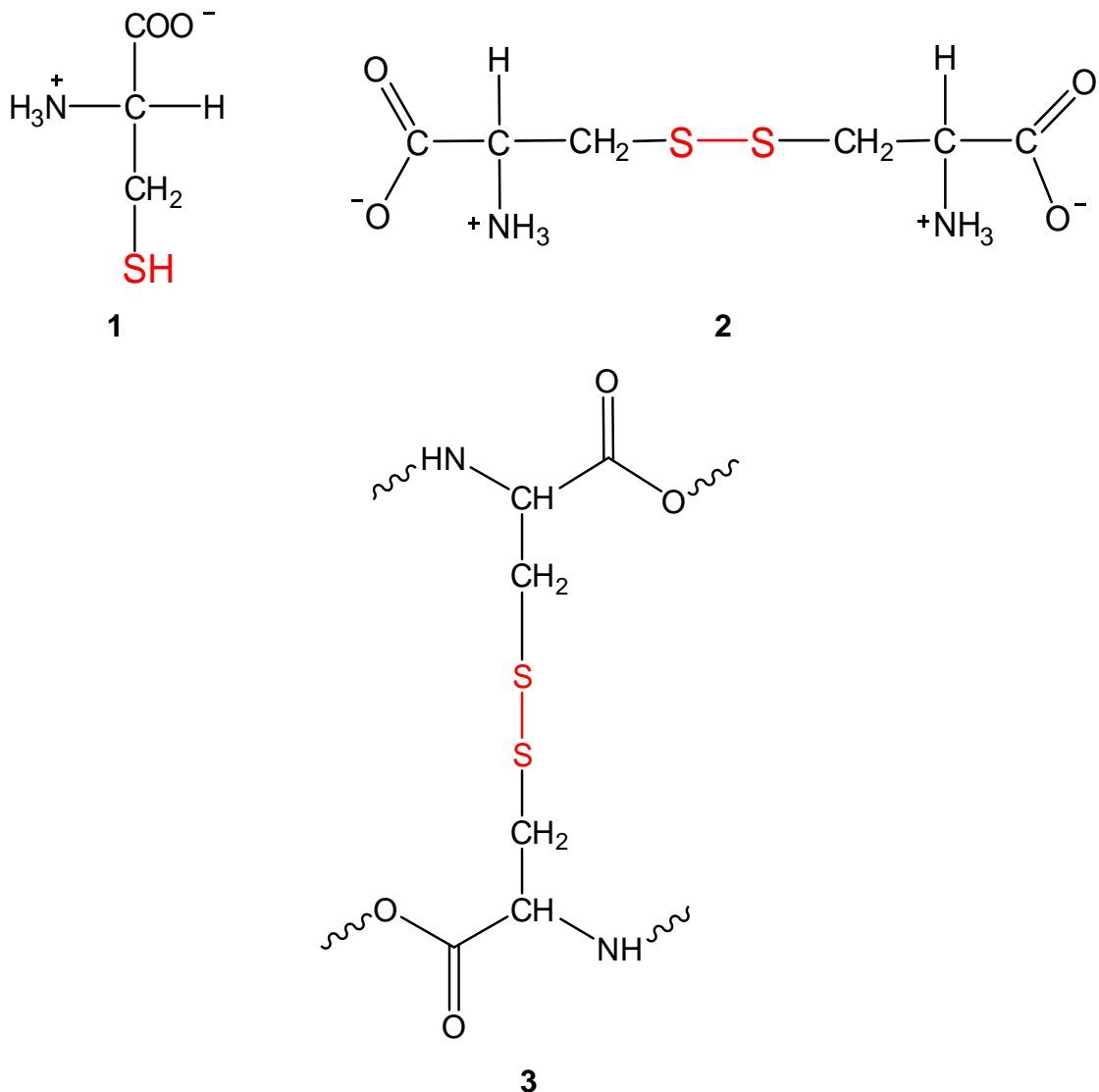
A região central do cabelo é recoberta por uma estreita camada de células cuticulares que se sobrepõem umas as outras ao longo do fio, no sentido raiz para as pontas. Cada camada possui aproximadamente 0,5  $\mu\text{m}$  de espessura, com bordas arredondadas, envolvendo o fio de cabelo de maneira circular.<sup>4</sup>



**Figura 2.** Representação da estrutura do cabelo humano (esquerda) destacando as partes da cutícula (micrografia eletrônica de transmissão, à direita). Adaptado de Robbins [1] e Scanavez [3].

As células cuticulares se sobrepõem formando camadas, sendo que um indivíduo adulto possui entre 6 a 8 camadas, que podem ser observadas na imagem da seção transversal de um fio de cabelo (Figura 2, à direita). No sentido

longitudinal, as camadas são inclinadas possuindo um ângulo de aproximadamente 5° com a superfície do fio. As células cuticulares são eventualmente irregularmente espaçadas, com separação média de aproximadamente 5 pm.<sup>1, 4</sup>



**Figura 3.** Estruturas químicas dos aminoácidos cisteína (1), cistina (2) e resíduo de cistina na estrutura de queratina (3), contendo ligação de dissulfeto responsável pelo intercruzamento de cadeias de proteína no cabelo humano.<sup>5</sup>

A região mais externa da célula cuticular é chamada de camada A e é formada, em mais de 30 % em massa por proteínas compostas pelo aminoácido cisteína (estrutura 1, Figura 3), na forma de cistina (estrutura 2, Figura 3). Esta região possui intercruzamentos adicionais originados das ligações isopeptídicas,

entre as cadeias de proteína, conforme apresentado na Figura 3 (estrutura 3). A camada seguinte, a exocutícula também é rica em proteínas altamente inter cruzadas por ligações de dissulfeto de cistina, devido ao alto teor de cisteína (aproximadamente de 15 a 20 %), porém não extensivamente como as proteínas da camada A. A camada seguinte, a endocutícula, ao contrário das duas primeiras é constituída por proteína, porém pobre em cistina (aproximadamente 3 %). Esta região contém grande parte dos remanescentes nucleares não queratinizados e um alto teor de resíduos ácidos e básicos de aminoácidos que constituem as proteínas. Além disso, sua espessura varia bastante, sendo de 50 a 300 nm. Por fim, uma camada de complexo da membrana celular une uma célula cuticular a outra e as células cuticulares às células corticais.<sup>1, 6</sup>

### *Córtex*

Em massa, o maior constituinte do cabelo é o córtex, que é formado por células corticais e complexo da membrana celular. As células corticais são alongadas e interdigitadas, com aproximadamente 100 µm de comprimento e 5 µm de espessura em sua máxima extensão transversal. São fortemente unidas, orientadas paralelamente ao eixo de crescimento do fio.<sup>2, 4</sup>

Cada macrofibrila representa um componente estrutural formado por hastes de microfibrilas incorporadas em uma matriz rica em cistina, denominada material intermacrofibrilar.<sup>6</sup> As microfibrilas são filamentos finos orientados axialmente ao cabelo, são constituídas por proteínas altamente organizadas em  $\alpha$ -hélice, possuindo aproximadamente 7 µm de espessura e são organizadas em domínios maiores denominados macrofibrilas.<sup>2, 4</sup>

### *Medula*

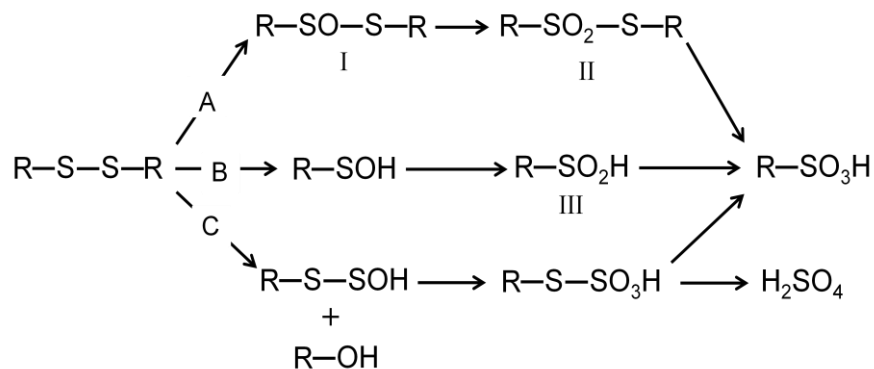
A medula é uma região formada por vacúolos preenchidos com ar, que pode estar presente ou não na região mais central da estrutura do fio de cabelo, de maneira contínua ou fragmentada.<sup>6, 7</sup> Comparado às demais partes do cabelo, ela possui um alto teor de lipídios. Dessa forma, as ligações de dissulfeto são substituídas por ligações peptídicas que mantem a coesão na estrutura, tornando as proteínas presentes na medula insolúveis.<sup>7</sup>

## Complexo da membrana celular (CMC)

O complexo da membrana celular (CMC) é responsável pela adesão das células cuticulares entre si, das células corticais entre si e das células cuticulares com as células corticais, formando as fibras de queratina que constituem o cabelo. <sup>1</sup> Ele é formado por remanescentes de membranas celulares e sua composição ainda não foi totalmente determinada, mas há evidências de que este material contenha uma pequena porcentagem de proteína e seja constituído majoritariamente por polissacarídeos. <sup>1,6</sup>

### 1.1. Descoloração oxidativa do cabelo

Os cabelos descoloridos sofrem oxidação dos grânulos de melanina, presentes em 2 % (*m/m*) na estrutura capilar, e da matriz proteica que forma a estrutura do cabelo. <sup>8</sup> O principal sítio de ataque são as pontes de dissulfeto dos resíduos de cistina nas fibras. Foi demonstrado que, durante um procedimento usual de descoloração, entre 15 a 25 % de pontes de dissulfeto são degradadas.



**Figura 4.** Representação esquemática de vários tipos de reações de oxidação das ligações de dissulfeto, contidas na estrutura capilar. Adaptada de Mito [9].

A Figura 4 mostra os diversos tipos de compostos químicos formados a partir da reação de oxidação das ligações de dissulfeto presentes na estrutura do cabelo.

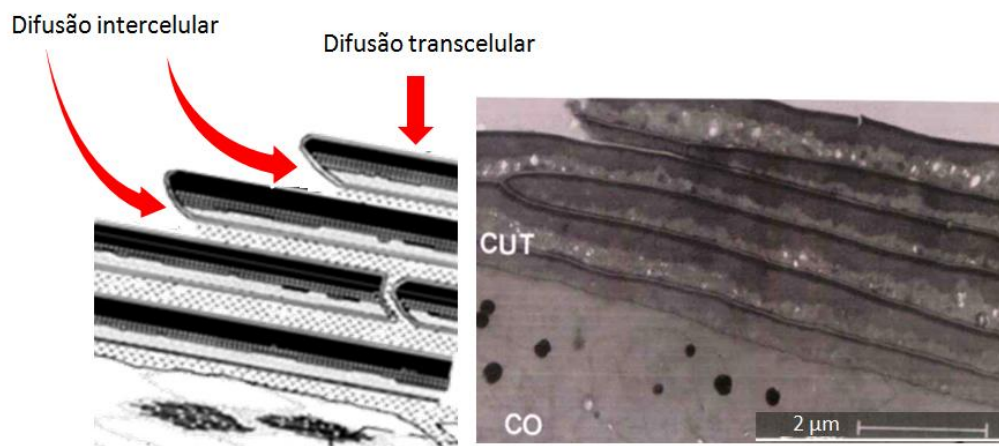
Com a formação dos produtos oxidados, o cabelo passa a ser mais hidrofílico, tendo sua hidrofobicidade aumentada. Wortmann *et al.* afirmam que a

descoloração dos cabelos leva a um aumento da concentração de ácido cistéico e assim, à formação de interações iônicas entre o cabelo e adsorbatos. <sup>15</sup>

## 1.2. Difusão em cabelo

As camadas de células cuticulares sobrepostas constituem uma barreira de difusão. Muitos tratamentos capilares são conduzidos em fase aquosa e permitem a transferência de substâncias químicas para o interior dos fios de cabelos através de canais, pela endocutícula. <sup>6</sup> Levando-se em consideração que as substâncias utilizadas em fragrâncias são constituídas por moléculas pequenas, ao serem aplicadas nos cabelos, elas difundem para regiões internas da fibra. Wortmann demonstrou que até mesmo moléculas relativamente grandes de surfactantes podem penetrar nos fios de cabelos. <sup>10</sup>

Teoricamente, são dois os caminhos de difusão: difusão transcelular e difusão intercelular. A rota transcelular envolve a difusão atravessando as células da cutícula, permeando as proteínas, sejam elas muito ou pouco inter cruzadas. Já a rota de difusão intercelular envolve a penetração entre as células da cutícula, através da estrutura de proteínas da endocutícula e do complexo da membrana celular, que é uma região de baixa densidade de inter cruzamentos. <sup>1</sup> A Figura 5, ilustra a diferença entre esses dois tipos de difusão, comparado com uma imagem real das camadas cuticulares da seção transversal de um fio de cabelo.



**Figura 5.** Representação estrutura do cabelo humano (esquerda) destacando as partes da cutícula e os caminhos de difusão intercelular e transcelular (micrografia eletrônica de transmissão), à direita. Adaptado de Robbins [1] e Scanavez [3].

A rota intercelular é a mais provável em muitos casos, particularmente para moléculas grandes, porque a queratina constituinte da endocutícula é uma proteína com baixo teor de enxofre e, por isso, é mais facilmente atravessada que as regiões de alto intercruzamento. Essa região possui baixa densidade de intercruzamento, combinada com um caráter hidrofílico, fazendo dela um material de fácil intumescimento. Apesar disso, a difusão transcelular, sob certas condições, deve ser a rota preferencial para moléculas pequenas, porém não a única.<sup>1, 6</sup> O aumento da difusão transcelular ocorre especialmente quando a exocutícula altamente inter cruzada está danificada ou as ligações inter cruzadas foram quebradas através de tratamentos oxidativos e/ou redutivos.<sup>1</sup>

Além disso, a descoloração dos cabelos atinge as regiões mais internas do fio e enfraquece o complexo da membrana celular através da oxidação dos grupos tioésteres entre as células cuticulares. Os descolorantes oxidam os resíduos de cistina da matriz no córtex e regiões ricas em cistina como a camada A e a exocutícula dentro das células cuticulares. Essas reações são responsáveis pela ruptura do complexo da membrana celular, da cutícula e dos componentes do córtex, dissolvendo as proteínas dessas regiões.<sup>1</sup>

Portanto, a descoloração dos cabelos causa uma diminuição do intercruzamento do cabelo e dos componentes nas camadas cuticulares, facilitando as difusões intercelular e transcelular. Consequentemente, a descoloração aumenta a taxa de difusão e permeabilidade interna e externa das substâncias nos cabelos.<sup>1</sup>

## 2. Fragrâncias

Fragrâncias são compostas por substâncias químicas orgânicas voláteis, que estimulam nosso olfato, criando sensações agradáveis ou não. Ao detectar uma fragrância, as informações sensoriais, obtidas pela interação das moléculas com os receptores olfativos, são processadas em áreas definidas do cérebro, resultando na sua percepção.<sup>11, 12</sup>

Para que uma fragrância seja percebida, seus constituintes devem ser voláteis a temperatura ambiente, numa concentração adequada a sua percepção. Por isso, além da natureza do grupo funcional e da estrutura molecular, a massa

molecular também é um fator importante. A maior parte das substâncias utilizadas em perfumaria possui massa molecular por volta de 200 u.<sup>11, 12, 13</sup>

O custo de uma fragrância não é negligenciável, portanto cada ingrediente da fragrância tem que ser eficiente, econômico e contribuir para a satisfação do consumidor.<sup>13, 14</sup> Atualmente, milhões de dólares são investidos para desenvolver e lançar uma nova fragrância. Além disso, a fragrância é o ingrediente chave em produtos finalizados e frequentemente o motivo de diferenciação de um produto de seus competidores. Por isso, as casas de perfumaria precisam ter uma garantia de sucesso desse lançamento.<sup>14</sup> Por trás dos bastidores da criação, toda uma indústria se empenha em melhorar as fragrâncias, para torná-las mais eficientes duradouras e relevantes.<sup>13</sup>

## 2.1. Persistência de fragrância em cabelo

Um fator a ser considerado na criação de uma fragrância para xampu é sua permanência no cabelo. O consumidor espera que ele ou seu cabelo sejam percebidos como limpos e frescos. Esta impressão está estreitamente conectada com a longevidade dos ingredientes da fragrância no cabelo. Neste caso, as moléculas de mais alta massa molecular (~300 u) tendem a ser as que permanecem mais nos cabelos após o enxague ou secagem dos fios.<sup>13</sup>

Para entender como as fragrâncias interagem com matrizes complexas como xampus e superfícies sobre as quais são aplicadas (e.g. tecido, assoalho, cabelo e pele), é necessário considerar as forças atrativas e repulsivas entre os componentes que as constituem e deles com a superfície. As propriedades físico-químicas de uma fragrância influenciam a volatilidade e outros aspectos do comportamento de um perfume, como a retenção, por exemplo. O termo retenção indica a afinidade de um composto pelo suporte, que no presente caso é o cabelo, já o termo volatilidade é usado, geralmente, para designar a taxa de evaporação.<sup>15</sup>

O primeiro estudo de persistência de fragrâncias em cabelos foi feito por Blakeway e Seu-Salerno [16], que constataram maior afinidade do salicilato de amila pelo cabelo virgem, permanecendo nos fios por mais de 24 horas após a deposição. Além disso, esse trabalho afirma que a transferência de fragrância da composição de xampu para os cabelos ocorre por um mecanismo de partição das moléculas

orgânicas da fase aquosa para a queratina do cabelo. Porém, o trabalho citado realizou as extrações de fragrâncias que permaneceram nos cabelos utilizando extração com solvente orgânico, após serem lavados, enxaguados e deixados pra secar. Esse tipo de extração limita a amostragem dos compostos de fragrâncias, pois leva em consideração a interação/solubilização dos compostos químicos pela fase orgânica. Este trabalho também destaca o comportamento apolar dos cabelos como principal fator de interação com os componentes de fragrâncias e avaliou a retenção deles de acordo com a polaridade.

### 3. Análise de fragrâncias

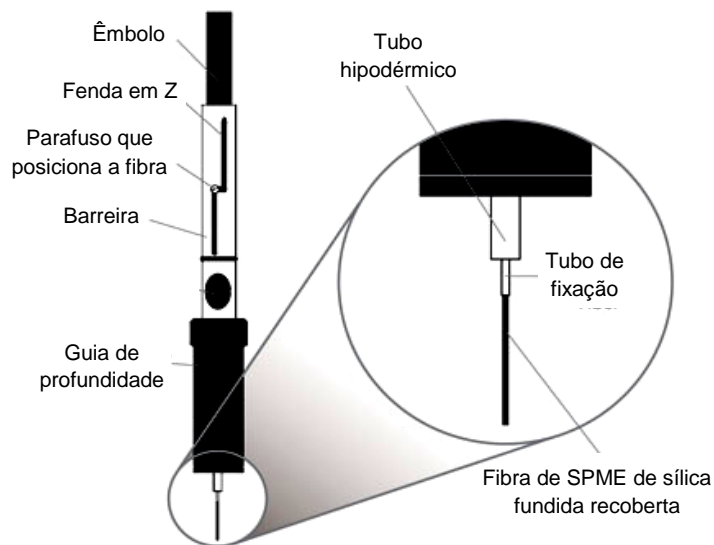
O desenvolvimento de um perfume para aplicação em produtos mudou muito nos últimos tempos. O desenvolvimento tradicional de fragrâncias através de tentativa e erro e avaliando-se o odor do produto em vários estágios de aplicação continua sendo o *modus operandi*. Porém dados de desempenho de matérias primas de perfume em aplicação aumentaram exponencialmente com o passar dos anos.<sup>14</sup>

Atualmente, as fragrâncias são criadas com o suporte de uma grande quantidade de informações técnicas que fazem com que o produto não só cheire maravilhosamente, mas também transmita ao consumidor o benefício com um valor adicional, trazido pela composição da fragrância.<sup>14</sup>

#### 3.1. Microextração e fase sólida (SPME)

A microextração em fase sólida, conhecida pela sigla SPME oriunda do nome em inglês (solid phase microextraction) é uma técnica de extração e pré-concentração de analitos desenvolvida por Janusz Pawliszyn em 1990 e tem sido bastante utilizada em análises qualitativas e quantitativas de substâncias de fragrâncias e aromas, devido a sua simplicidade, rapidez, baixo custo, alta sensibilidade e, principalmente, por não necessitar de solvente, como outras técnicas de extração.<sup>17, 18, 19</sup>

Durante a amostragem por SPME, a fibra é exposta a uma pequena quantidade de amostras, por um período de tempo predeterminado. As moléculas do analito se deslocam da matriz onde está inserida e penetram no material adsorvente polimérico, que recobre uma fina haste de sílica fundida (Figura 6), onde será adsorvida e concentrada. Para isto, resistências a transferências de massa devem ser vencidas, até que se estabeleça um equilíbrio de partição, ou de adsorção, no caso de recobrimentos sólidos, do analito entre a fibra e o meio que a envolve.<sup>20, 18</sup>



**Figura 6.** Ilustração de uma fibra de SPME inserida em suporte amostrador.<sup>21</sup>

Após a etapa de amostragem, os analitos sorvidos pela fibra são liberados por dessorção térmica diretamente no injetor de um cromatógrafo gasoso (CG). A evolução das técnicas hifenizadas, CG-EM e CG-olfatometria, e dos métodos de amostragem, como *CG trapping*, juntamente com a invenção da extração por SPME permitem identificar materiais presentes em quantidades de parte por bilhão até quantidades abaixo de picogramas. Isso significa que um componente que gere um traço que frequentemente é caracterizado como o impacto olfativo característico do material, pode ser identificado segundo algumas técnicas descritas.<sup>22</sup>

A técnica de amostragem por SPME é comumente realizada através da análise da fase gasosa acima da amostra, o *headspace* (HS), tornando a técnica mais simples e adequada para detecção de fragrâncias. A associação das duas técnicas é especialmente útil para matrizes que fornecem uma grande quantidade de

odor, como flores e frutas, e quando a matriz não possui odor tão intenso, pode ser aplicado um aquecimento brando para facilitar a volatilização dos compostos.<sup>22</sup>

## **II. OBJETIVO**

Este trabalho pretende avaliar a retenção de matérias primas de fragrâncias em cabelo Caucásiano virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio, buscando entender os fenômenos de interação entre as diferentes substâncias e o comportamento do cabelo antes e após a modificação química.

### **III. EXPERIMENTAL**

#### **1. Materiais e reagentes**

##### **1.1. Cabelo**

Foram utilizados cabelos padrão, que consistem em uma mistura de cabelos advindos de vários indivíduos, comercializados por empresas que garantem que os fios não tenham sido submetidos a nenhum tratamento químico prévio, como alisamento, tintura, descoloração, etc.

Neste trabalho, foram utilizadas quatro amostras distintas de cabelo, denominadas de Amostra 1, 2, 3 e 4:

Amostra 1: Cabelo de origem Caucasiana, castanho, com 22 cm de comprimento e liso, adquiridos da empresa De Meo Brothers. Utilizado nos experimentos de planejamento experimental.

Amostra 2: Cabelo de origem Caucasiana, castanho claro, com 26 cm de comprimento e liso, adquiridos da empresa De Meo Brothers. Utilizado no experimento de variação de cor e sorção de umidade.

Amostra 3: Cabelo de origem Caucasiana, castanho escuro, com 10,5 cm de comprimento e liso, adquiridos da empresa International Hair Importers. Utilizado nos experimentos de variação de cor e retenção de fragrâncias.

Amostra 4: Cabelo de origem Caucasiana, loiro claro, com 12 cm de comprimento e liso, adquiridos da empresa International Hair Importers. Utilizado nos experimentos de variação de cor e RMN de baixo campo.

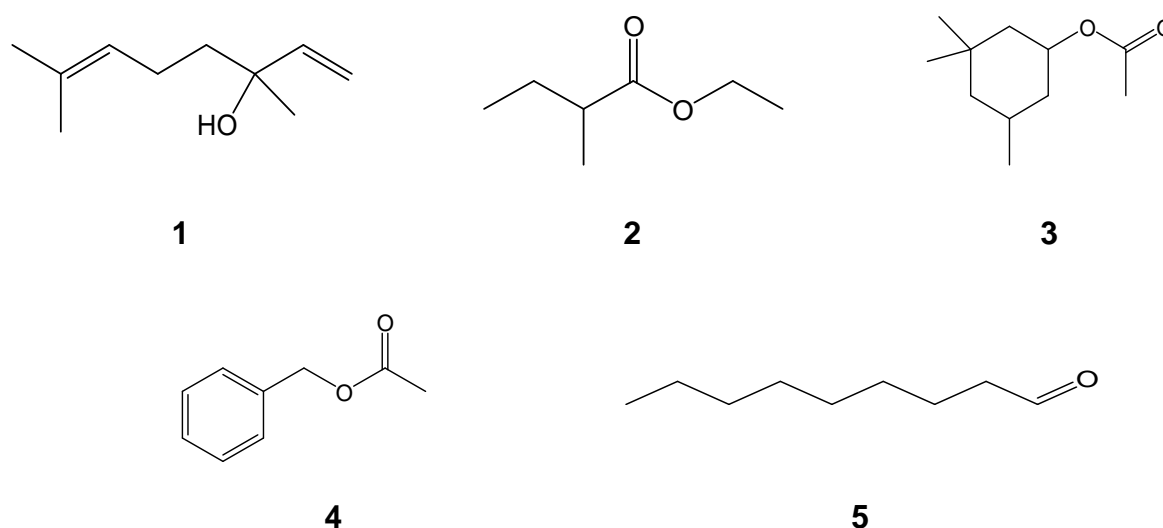
Amostra 5: Cabelo de origem Negroide, castanho escuro, com 15 cm de comprimento e ondulado, adquiridos da empresa International Hair Importers. Utilizado nos experimentos de variação de cor e RMN de baixo campo.

##### **1.2. Matérias primas de fragrâncias**

Para a comparação da retenção de fragrâncias nos cabelos, foram escolhidas substâncias utilizadas como matéria prima pela indústria de fragrâncias,

sendo elas, linalol (1), 2-metilbutanoato de etila (2), acetato de benzila (3), mintonat (4) e aldeído C9 (5), cujas fórmulas estruturais encontram-se na Figura 7.

Cada uma das matérias primas foi incorporada separadamente em uma formulação para xampu, utilizada pela indústria de fragrâncias como produto de demonstração de desempenho, na concentração de 0,5 % em massa. Também foi utilizada uma formulação da mesma base xampu contendo as cinco matérias primas misturadas, na proporção de 0,1% cada.



**Figura 7.** Matérias primas utilizadas no projeto: linalol (1), 2-metilbutanoato de etila (2), mintonat (3), acetato de benzila (4) e aldeído C9 (5).

O isômero (-)-linalol (estrutura 1, Figura 7) é encontrado em muitos óleos essenciais. Possui um odor fresco, floral, doce e frutado, que lembra o odor de lírio do vale (*Convallaria majalis*).<sup>12, 23</sup> É uma das substâncias mais usadas em fragrâncias e é produzido em larga escala. Pode ser encontrado naturalmente no pau rosa (*Aniba rosaeodora*), no coentro (*Coriandrum sativum*), na lavanda (*Lavandula angustifolia*) e no manjeriço (*Ocimum basilicum*).<sup>12</sup>

O 2-metilbutanoato de etila (estrutura 2, Figura 7) é um líquido com odor verde frutado, que se assemelha ao odor de maçã. É encontrado em frutas cítricas e frutos silvestres do tipo *berry* e é muito utilizado em composições de aromas frutados.<sup>12</sup>

O mintonat (estrutura 3, Figura 7) é uma matéria prima classificada como mentolada, herbal e adocicada, com reminiscência de lavandin (*Lavandula hybrida*).

38

O acetato de benzila (estrutura 4, Figura 7) é particularmente importante comercialmente e ocupa uma posição de destaque na indústria de fragrâncias e aromas. É o principal componente do absoluto, e do óleo de jasmim (*Jasminum* L.) desempenhando um papel importante no odor total desses produtos. Também é o componente majoritário do óleo de gardênia, mas pode ser encontrado como componente minoritário em uma série de outros óleos essenciais e extratos, como o de Ylang-ylang (*Cananga odorata*). Possui um forte odor de jasmim e um caráter frutado.<sup>12, 13, 23</sup>

### 1.3. Base xampu

Uma típica formulação de xampu é baseada na mistura de um detergente aniônico de alto poder espumante, geralmente o lauril éter sulfato de sódio (LESS) e um surfactante anfotérico mais suave, a betaína, que diminui o potencial de irritação do aniônico. Um agente perolizante concentrado é adicionado a frio para dar uma aparência atraente, esbranquiçada e de brilho perolado ao produto. Além disso, são adicionados vários materiais condicionantes que interagem com a queratina do cabelo, depositando uma camada de filme protetor superficial, que aplaina as células cuticulares e previne a formação de eletricidade estática nos fios. Além disso, ainda são incorporados copolímeros de trigo/silicone e glicóis, que promovem a lubrificação dos fios, prevenindo a formação de danos causados pela fricção entre eles. Os ingredientes finais são conservantes para prevenir a contaminação microbiana do produto, cloreto de sódio para aumentar a viscosidade da solução de surfactante e água deionizada.<sup>13</sup>

A formulação de xampu utilizada, cujos componentes estão apresentados na Tabela 1, é denominada base xampu perolada pela indústria de fragrâncias e é constantemente utilizada como demonstrativo do produto final, contendo a fragrância que se deseja apresentar para os clientes. Os componentes foram citados como é usual na indústria, sem a preocupação com a nomenclatura IUPAC.

**Tabela 1.** Formulação da base xampu perolado, utilizada como veículo das fragrâncias.

Componente	Quantidade / %
Água desmineralizada	Q.s.p 100,00
EDTA dissódico	0,10
Lauril sulfato de sódio	37,03
Caprilil glicol, 1,2-hexanodiol, 1-feniletanol	0,50
Cocamidopropil betaina	5,00
Trideceth-9, PEG-5, Isononanoato e água	1,00
Distearato glicol, lauril sulfato de sódio	3,00
PEG-150, distearato	1,00
Cocamida DEA	1,00
Cloreto de sódio	0,15

## 2. Métodos gerais

### 2.1. Preparo de amostras e limpeza dos cabelos

Mechas de cabelo virgem com 1,5 g foram unidas pela raiz com cola quente. Para uma limpeza inicial da amostra de cabelo, fez-se a lavagem das mechas com solução de dodecilsulfato de sódio (SDS) 2 % (m/m) na proporção 1 g de solução para cada 1 g de cabelo. Para isso, fez-se a fricção manual das mechas, delicadamente, com a solução, por 1 minuto, seguida de enxague com água de torneira aquecida (~ 34 °C), por 30 segundos. Uma nova aplicação de solução acompanhada de fricção foi realizada, seguida de enxague por 2 minutos. As mechas foram deixadas secando por mais de 12 horas em condições ambiente antes da realização de qualquer procedimento.

## 2.2. Descoloração dos cabelos

As mechas das Amostras 2 e 3 foram descoloridas aos pares com solução de persulfato de amônio (15 % *m/m*), peróxido de hidrogênio (4,5 % *m/m*) e água (80,5 % *m/m*), cujo pH de 9,5 foi acertado com solução concentrada de NaOH. A reação foi conduzida a 55 °C por períodos determinados, mexendo-se os cabelos, delicadamente com um bastão de vidro, para que todos os fios ficassem submersos e o resultado de descoloração fosse o mais homogêneo possível. Após o tempo de reação, as mechas foram retiradas e enxaguadas em água corrente a temperatura ambiente, por 2 minutos. Para garantir a retirada de todo o resíduo de material descolorante, as mechas foram submersas, separadamente, em 500 mL de água destilada por 10 minutos e um novo enxague com 1 minuto de duração foi realizado. As mechas foram penteadas 4 vezes com pente de polietileno e deixadas secando por mais de 12 horas em condições ambientes de temperatura e umidade, longe de luz natural e artificial.

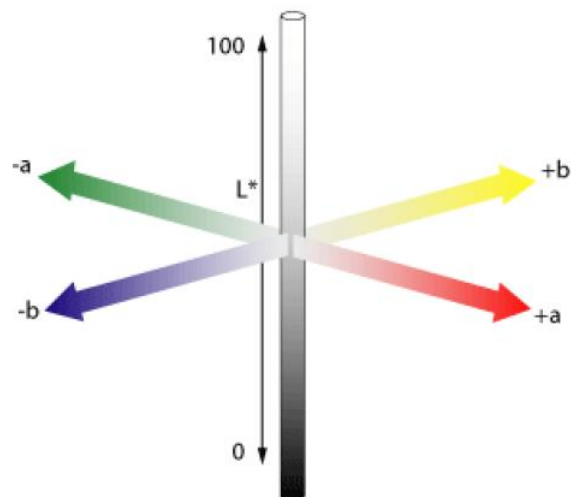
## 2.3. Caracterização dos cabelos por espectroscopia de refletância difusa (ERD)

Para caracterizar as mechas devido à mudança de cor e garantir um tratamento homogêneo de descoloração, medidas de cor foram realizadas, antes e depois da descoloração. Para isso, foi utilizado um espectrofotômetro de refletância difusa Gretag Macbeth® Color-eye 2180. Esse equipamento faz medidas na faixa espectral de 360 a 740 nm, em intervalos de 10 nm, sendo a iluminação difusa proveniente de uma lâmpada de xenônio. Para realizar a medida, utilizou-se o iluminante D65, ângulo de observação a 10° e a configuração CRIIS, sendo: C a calibração com cerâmica branca (referência), R a refletância, I a radiação ultravioleta inclusa, I o componente especular incluso e S a abertura para pequenas amostras.

24, 25

Foram realizadas 10 medidas por mecha, para todas as amostras antes e após o tratamento de descoloração, tomando-se o cuidado de realizar as medidas em pontos diversos ao longo dos fios de cabelo, na parte da frente e de trás das

mechas. Os parâmetros de cor obtidos pertencem ao sistema CIE (Comissão Internacional de Iluminação) e são relativos às coordenadas de cores oponentes ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), como mostra a Figura 8. A coordenada  $L^*$  (luminosidade) varia de 0 (preto) até 100 (branco);  $a^*$  corresponde ao eixo verde-vermelho e varia de -60 a +60, sendo que valores positivos nessa coordenada representam a cor vermelha e valores negativos representam a cor verde; já  $b^*$  é o eixo azul-amarelo, que varia de -60 a +60. Nesse caso, valores negativos nessa coordenada representam a cor azul e valores positivos representam a cor amarela. As diferenças de cor ocorridas entre cabelos antes e após os tratamentos de descoloração são calculadas para cada parâmetro de cor, separadamente, conforme as equações a seguir: <sup>24, 25</sup>



**Figura 8.** Coordenada de cores oponentes do sistema CIELAB.

- $DL^*$ , mais claro se positivo, mais escuro se negativo;

$$DL^* = L_{desc}^* - L_{virg}^* \quad \text{Equação 1}$$

- $Da^*$ , mais vermelho se positivo, mais verde se negativo;

$$Da^* = a_{desc}^* - a_{virg}^* \quad \text{Equação 2}$$

- $Db^*$ , mais amarelo se positivo, mais azul se negativo;

$$Db^* = b_{desc}^* - b_{virg}^* \quad \text{Equação 3}$$

O cabelo apresenta uma variação de cor natural, em relação aos fios entre si e em um mesmo fio ao longo de seu comprimento. Sendo assim, há uma diferença de cor inerente ao cabelo e a medição dessa variabilidade intrínseca é necessária para avaliar se ocorreu uma alteração significativa em sua cor com a descoloração. Os valores de diferença de cor  $DL^*$ ,  $Da^*$  e  $Db^*$  foram obtidos através da subtração dos valores médios de cor dos cabelos virgens dos valores de cor de cada mecha descolorida. Já o valor médio de diferença total de cor foi obtido a partir dos valores de  $DE^*$ , que é calculado utilizando-se a Equação 4: <sup>24, 25</sup>

$$DE^* = \sqrt{(DL^*)^2 + (Da^*)^2 + (Db^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

#### 2.4. Otimização de experimentos

Para estabelecer um grau máximo de descoloração, levando em consideração uma máxima alteração da cor dos cabelos descoloridos em comparação ao seu estado virgem, foi desenvolvida uma análise de otimização de experimentos, para os fatores tempo e temperatura de ensaio.

**Tabela 2.** Condições de temperatura e tempo de reação da descoloração de cabelos Caucasianos.

Variável	Níveis		
	-	0	+
Temperatura / °C	40	55	70
Tempo / minutos	20	40	60

As reações de descoloração foram realizadas segundo um planejamento experimental do tipo estrela, sendo necessários 11 experimentos com triplicata no

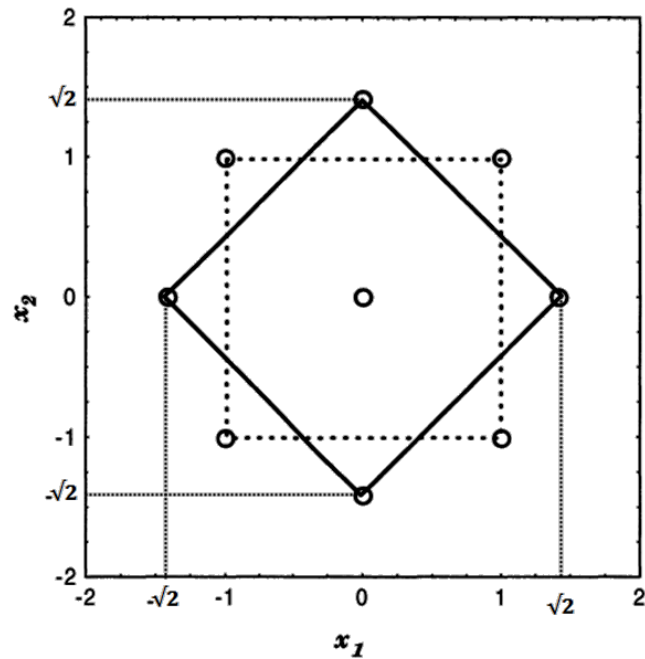
ponto central e os resultados dessas replicatas foram utilizados nos cálculos de variância. A partir das condições de tempo e temperatura estipuladas (Tabela 2), montou-se o planejamento fatorial  $2^2$ , calculando os pontos centrais e os pontos da estrela. Os pontos centrais são calculados através da média entre os valores de condição alta e baixa e os pontos da estrela utilizando um valor do ponto central com o valor  $\sqrt{2}$  deslocado nas extremidades, conforme ilustrado na Figura 9. Nesse conjunto de experimentos, foram utilizadas mechas de cabelo da Amostra 1.

**Tabela 3.** Condições experimentais de descoloração das mechas de cabelo Caucasiano castanho (Amostra 1), segundo as condições estipuladas pelas variáveis estipuladas e pelo planejamento  $2^2$  com ponto central.

Ensaio (ordem)	Variáveis em unidades originais		Variáveis em unidades codificadas	
	Tempo / minutos	Temperatura / °C	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>		
1 (10)	20	40	-1	-1
2 (2)	60	40	+1	-1
3 (6)	20	70	-1	+1
4 (4)	60	70	+1	+1
5 (8)	40	55	0	0
6 (5)	40	55	0	0
7 (11)	40	55	0	0
8 (7)	40	33,8	0	$-\sqrt{2}$
9 (9)	11,7	55	$-\sqrt{2}$	0
10 (1)	68,3	55	$\sqrt{2}$	0
11 (3)	40	76,2	0	$\sqrt{2}$

Os experimentos foram realizados em ordem aleatória, para evitar erros sistemáticos e depois organizados de maneira a ficar na ordem padrão. A Tabela 3

mostra os resultados obtidos e calculados para os valores de diferença de cor  $Da^*$ ,  $Db^*$ ,  $DL^*$  e variação total de cor ( $DE^*$ ).



**Figura 9.** Representação esquemática do planejamento fatorial  $2^2$  com estrela, adaptada da referência [26].

Os dados obtidos para a determinação da variação de cor  $DE^*$  foram utilizados para a construção da superfície de resposta. Para isso, fez-se uso do software JMP Statistical Discovery 10.0.0 da SAS para obter a regressão usando um modelo de superfície de resposta. A Equação 5, referente ao modelo de segunda ordem para duas variáveis possui a seguinte forma. <sup>26</sup>

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad \text{Equação 5}$$

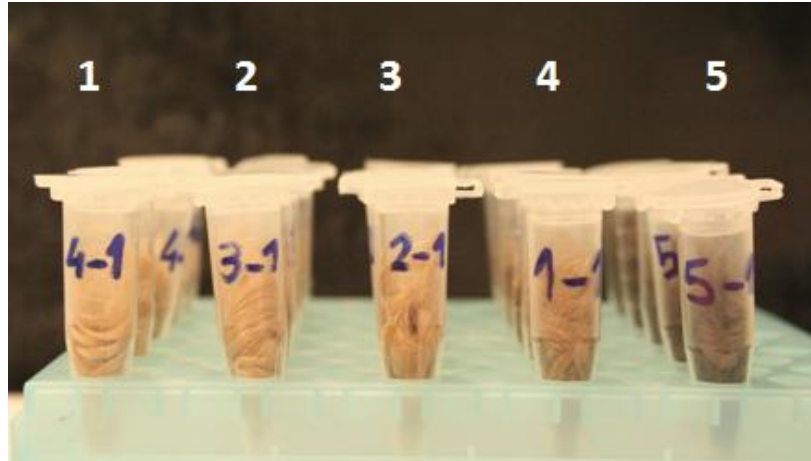
Sendo  $x_1$ ,  $x_2$  correspondentes às variáveis independentes codificadas e  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_{11}$ ,  $b_{22}$ ,  $b_{12}$  às estimativas dos coeficientes do modelo. Os termos lineares  $b_1x_1$  e  $b_2x_2$  representam os efeitos principais, os termos quadráticos são responsáveis pelos efeitos da curvatura e o produto  $b_{12}x_1x_2$  representa a interação entre as duas variáveis.

## 2.5. Análise de sorção de umidade em cabelo

Para caracterizar os cabelos virgens e descoloridos com relação à capacidade de sorver e dessorver água, foram realizados experimentos de sorção de umidade, de acordo com a norma técnica das referências [27] e [28]. As amostras de cabelo foram mantidas em ambiente de condições precisas de umidade controlada, ao serem inseridas em um dessecador que foi mantido à temperatura constante. Esta técnica é aplicada para se obter um ambiente com umidade relativa controlada e constante variando de 0 % UR até quase próximo da saturação com água (~ 98-99 % UR), a temperaturas variando de 0 a 50 °C. Uma aplicação bastante frequente é a calibração de termohigrômetros.

### 2.5.1. Absorção e adsorção de umidade em cabelo

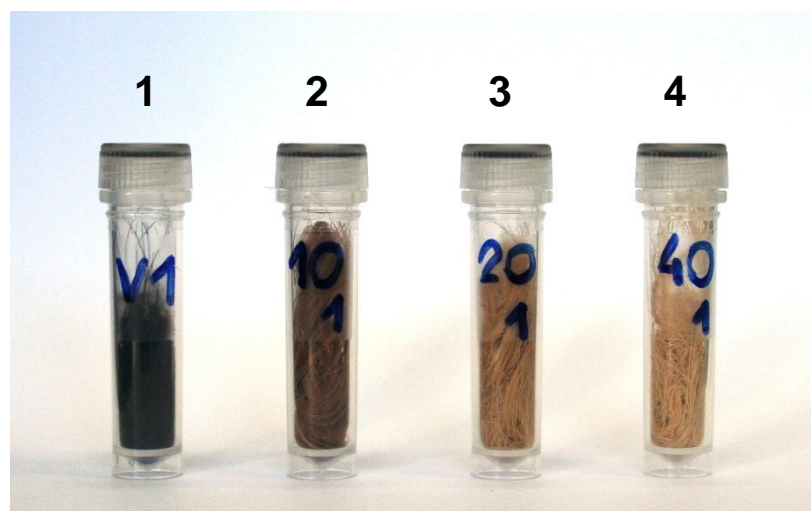
Cerca de 0,2 g de cabelo da Amostra 3, virgem e descolorido por 10, 20, 30 e 40 minutos foi colocado em tubos eppendorf ou criotubos de 1,5 mL, que tiveram sua massa previamente medida (Figura 10). Inicialmente, os tubos com cabelos foram mantidos abertos em dessecador com umidade relativa (UR) de 0 % contendo  $P_2O_5$  em placa de Petri, para que se retirasse o máximo possível de umidade. O sistema foi mantido em sala com temperatura controlada de 21 °C. Após 20 dias, as amostras foram pesadas em balança analítica (0,00005 g de limite de confiança) e colocadas em dessecador com UR controlada de 98-99 %, contendo água destilada em placa de Petri. A variação de massa foi monitorada, inicialmente a cada 30 minutos no dessecador até as primeiras 3 horas, a cada 1 hora até o período de 8 horas e em períodos maiores e irregulares até completar 55 horas. O experimento foi realizado com triplicata de amostra, para cada grau de descoloração avaliada.



**Figura 10.** Montagem experimental da análise de sorção de umidade em cabelo Caucasiano castanho claro (Amostra 2) em tubos eppendorf.

### 2.5.2. Dessorção de umidade

Para obter a curva de dessorção, as amostras foram submetidas ao processo inverso, da sorção, ou seja, após permanecer por 20 dias em dessecador com UR 99-98 %, as mechas foram transferidas para o dessecador com UR de 0%. A variação de massa foi monitorada a cada 1 hora dentro do dessecador até as primeiras 11 horas e após períodos maiores, irregulares e crescentes até completar 74,5 horas.



**Figura 11.** Montagem experimental da análise de sorção/dessorção de umidade em cabelo Caucasiano castanho escuro (Amostra 3) virgem (1) e descolorido por 10 (2), 20 (3) e 40 minutos (4), dispostos em criotubos.

## 2.6. Ensaaios com fragrâncias

### 2.6.1. Preparo de amostras de cabelo

Para as análises com fragrâncias, foram utilizadas mechas de cabelo da Amostra 3, contendo aproximadamente 0,6 g, preparadas a partir do cabelo previamente lavado, descolorido ou virgem e caracterizado por ERD (2.3.). Os fios de cabelo foram unidos com abraçadeira de poliamida e cada mecha foi guardada em um saco plástico, individualmente.

### 2.6.2. Aplicação das fragrâncias nos cabelos

As fragrâncias foram incorporadas nos cabelos através da lavagem com as formulações de xampu segundo o procedimento:

1 – Após retirar a abraçadeira, a mecha de cabelo foi molhada em água corrente aquecida ( $\sim 33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e sobre ela foram aplicados 120  $\mu\text{L}$  de solução diluída 1:1 de xampu com uma única matéria prima ou mistura de matérias primas.

2 – Os fios foram esfregados, delicadamente com as pontas dos dedos, durante 1 minuto, no sentido raiz ponta, utilizando luvas.

3 – As mechas foram enxaguadas por 30 segundos em água corrente de torneira ( $\sim 33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), com taxa de vazão de aproximadamente  $0,13\text{ L s}^{-1}$ .

### 2.6.3. Perfil de liberação de fragrâncias

O perfil de liberação de fragrância em cabelos foi avaliado de duas maneiras diferentes. As mechas lavadas com formulação contendo uma única matéria prima (cabelos virgem ou descolorido por 40 minutos) foram analisadas após permanecerem em ambiente controlado de umidade relativa (60 %) e temperatura ( $\sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 0, 2 e 6 h. O controle da umidade relativa foi realizado, mantendo-se as mechas presas em compartimento fechado (50 x 40 x 60) cm, acima de um recipiente contendo aproximadamente 250 mL solução saturada de NaBr. Este ajuste da umidade relativa do ambiente do sistema fechado foi feito com base na referência [29].

As mechas que foram lavadas com a formulação contendo as cinco matérias primas sofreram quatro graus de descoloração (0, 10, 20 e 40 minutos descoloridos) foram analisadas após permanência de 0, 1, 2, 4 e 6 horas em ambiente controlado, tomando-se o cuidado de realizar todas as análises de um mesmo período de secagem no mesmo dia.

#### 2.6.4. Coleta de voláteis por microextração em fase sólida (SPME)

As coletas dos voláteis foram conduzidas em frascos de fundo plano, com dimensões de 7,5 cm de altura e 1,0 cm de diâmetro. Estes foram selados imediatamente após a inserção da amostra com tampa contendo septo de silicone e PTFE. Para adsorção e concentração dos voláteis foram empregados dois tipos de fibra para microextração em fase sólida, cujas características encontram-se a seguir:

Fibra azul, Supelco, Sigma Aldrich (Análise de retenção de linalol, na formulação de xampu com linalol a 0,5 %): Consiste em uma fibra de sílica fundida revestida com resina de polidimetilsiloxano (PDMS) e divinilbenzeno (DVB), com 65  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 1 cm de comprimento.

Fibra cinza, Supelco, Sigma Aldrich (Análise de retenção das demais formulações contendo as matérias primas separadas ou misturadas): Consiste em uma fibra tripla, de sílica fundida flexível, revestida com resina de carboxen (CAR), polidimetilsiloxano (PDMS) e divinilbenzeno (DVB), com 50/30  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 2 cm de comprimento.

As fibras foram acopladas a um suporte para amostragem automática (Supelco, Sigma Aldrich, Alemanha).

### 2.7. Análises Cromatográficas

#### 2.7.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para a caracterização das substâncias com relação à polaridade, fez-se a análise por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando-se cromatofolhas

de alumínio (folha 2,5 x 5 cm), cobertas com sílica gel com indicador de fluorescência (Merck) como fase estacionária e tolueno e acetato de etila na proporção de 95:5, como fase móvel. A revelação dos compostos foi realizada por irradiação com lâmpada UV254 nm, imersão em solução reveladora de ácido fosfomolibdico a 10 % m/v em etanol, seguido por aquecimento de aproximadamente 300 °C com pistola aquecedora.

### 2.7.2. Cromatografia a gás

Os ensaios de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) foram realizados em um cromatógrafo Agilent 6890 acoplado a detector seletivo de massas HP 5973, operando por impacto de elétrons (EI) com energia de ionização de 70 eV, na faixa de  $m/z$  50-700. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida ZB-1 (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) com 100% de polidimetilsiloxano para a separação dos compostos analisados. As análises foram realizadas em vazão constante de He (1,5 mL/min), com injetor a 250 °C e detector a 260 °C, e injeções em modo “splitless”. A taxa de aquecimento da coluna foi ajustada de modo a obter boa resolução dos picos, baseada na seguinte rampa: 50 °C mantidos por 1,5 min, seguidos de uma taxa de 60 °C  $\text{min}^{-1}$  até atingir 140 °C. Em seguida a taxa de aquecimento foi de 5 °C  $\text{min}^{-1}$  até 185 °C e diminuída novamente para 1 °C  $\text{min}^{-1}$  até atingir 190 °C. Por fim, a taxa de aquecimento foi alterada para 10 °C  $\text{min}^{-1}$  até atingir 235 °C e foi mantida a esta temperatura por 3 min.

### 2.8. Métodos espectrométricos de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de alto campo foram obtidos, à temperatura ambiente, em um espectrômetro Bruker Avance III 400 ( $B_0 = 9,4$  T), operando a 100,63 MHz para o  $^{13}\text{C}$ , equipado com acessório para CP/MAS e com rotação de 10 kHz. Uma quantidade suficiente de cabelo úmido (~150 mg), foi inserida em um rotor cilíndrico feito de zircônia de 4 mm. O tempo de contato e tempo entre pulso (*delay*) foi de 4 ms e 1 s, respectivamente. A janela espectral utilizada foi de 29,7 kHz, com

10280 pontos para a aquisição do espectro. Os espectros foram acumulados com número de varredura de 10240 para obter uma razão adequada entre os sinais e o ruído. Os deslocamentos químicos dos átomos de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ) foram registrados em partes por milhão (ppm), tomando-se como padrão de referência o sinal do adamantano em 29,5 ppm, relativo ao tetrametilsilano (TMS).

Os espectros foram processados utilizando o programa TopSpin 3.1, para os experimentos realizados no espectrômetro Bruker Avance III 400. A deconvolução dos sinais dos carbonos das carbonilas da queratina do cabelo foi realizada utilizando o programa FeatPik 4.0.

## **IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **1. Otimização da descoloração**

A otimização da descoloração por planejamento experimental foi realizada como o intuito de verificar a influência da temperatura e do tempo de ensaio na variação da cor de cabelo Caucásico castanho e com isso definir as condições reacionais para a descoloração das amostras de cabelo utilizadas nos ensaios de retenção de fragrância, sorção de umidade e caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN).

A otimização de experimentos é uma área de estudos diretamente relacionada à busca da melhoria de um resultado e a obtenção de valores de rendimento máximo de processos, mediante um planejamento experimental prévio e uma cuidadosa análise estatística posterior. O conhecimento estatístico utilizado na otimização de experimentos pode ser utilizado no estudo de reações químicas, sistemas biológicos, processos mecânicos e etc, e pode ser aplicado em processos de diferentes escalas de interesse, desde reações em bancada até processos industriais em larga escala, sem desconsiderar o conhecimento técnico já conhecido pelos especialistas sobre o sistema em estudo.<sup>26</sup>

O resultado de um planejamento experimental, que geralmente é chamado de resposta, é obtido através da definição de variáveis que em princípio o influenciam, como tempo, temperatura, pH e etc. Essas variáveis são conhecidas

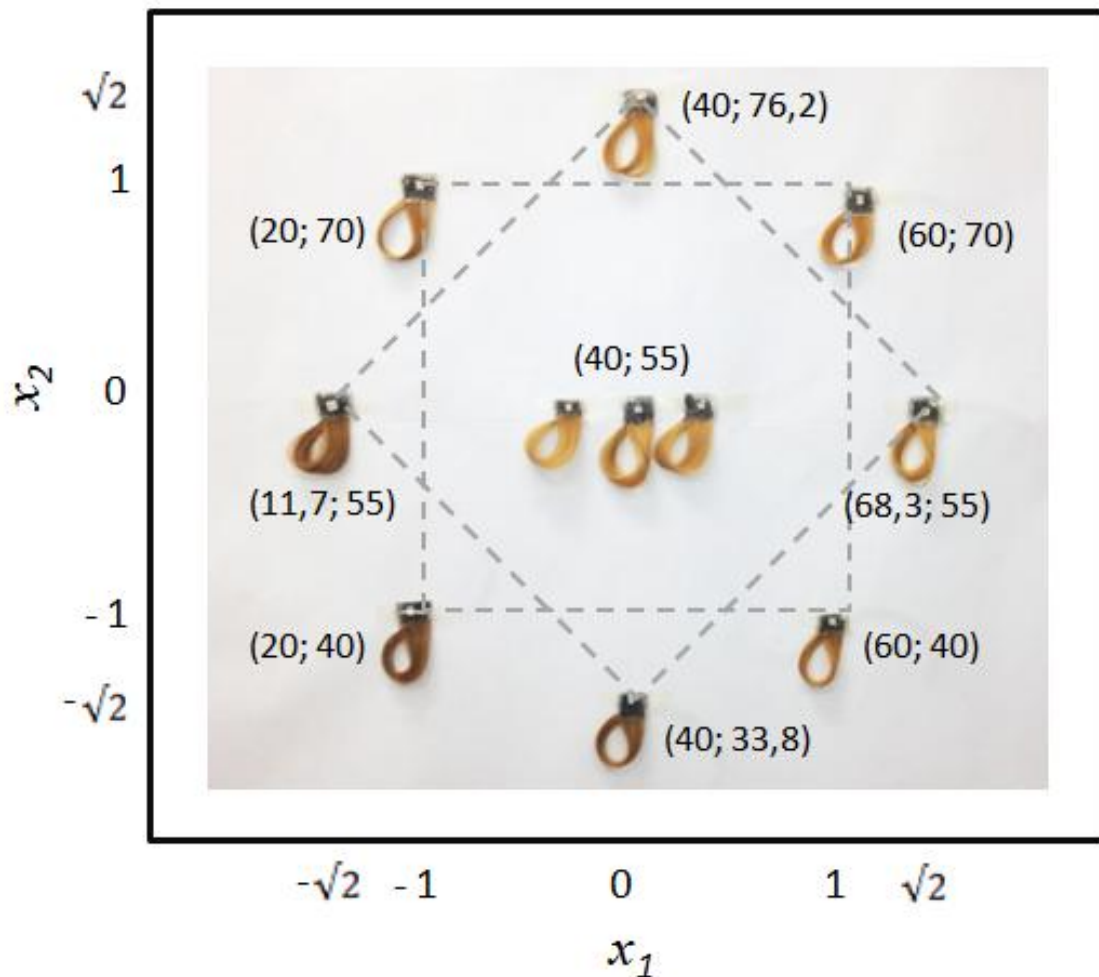
como fatores e a função que descreve essa influência é chamada de superfície de resposta.<sup>26</sup>

A realização de um planejamento de experimento é descobrir quais os valores, ou seja, os níveis dos fatores que produzem a maior resposta possível, como a variação de cor, no processo de descoloração oxidativa com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m*, minimizando o trabalho necessário e o custo dos experimentos. Isso é realizado através da variação de todos os fatores envolvidos ao mesmo tempo, para que sejam levadas em consideração as interações das variáveis, que no caso desse trabalho foi o tempo e a temperatura da reação de descoloração com peróxido de hidrogênio.<sup>26</sup>

**Tabela 4.** Valores de variação de cor para os parâmetros  $Da^*$ ,  $Db^*$ ,  $DL^*$  e  $DE^*$ , das mechas de cabelo Caucásiano castanho (Amostra 1), descoloridas com peróxido de hidrogênio, utilizando as condições estipuladas pelo planejamento  $2^2$  com ponto central.

Ensaio	Tempo / minutos	Temperatura / °C	Resposta (Y)			
	$x_1$	$x_2$	$Da^*$	$Db^*$	$DL^*$	$DE^*$
1	20	40	7,8	19,3	17,8	27,4
2	60	40	7,3	24,1	27,4	37,2
3	20	70	7,6	24,1	26,6	36,7
4	60	70	7,9	26,5	31,0	41,6
5	40	55	7,1	25,2	28,8	38,9
6	40	55	6,7	24,7	31,1	40,3
7	40	55	7,3	24,7	28,5	38,4
8	40	33,8	8,5	21,1	20,8	30,9
9	11,7	55	7,2	19,0	18,3	27,4
10	68,3	55	6,9	25,9	31,7	41,5
11	40	76,2	8,2	25,4	29,9	40,1

A partir dos ensaios de descoloração, foram obtidas as mechas descoloridas. A Figura 12 mostra o resultado da descoloração das mechas, que estão dispostas na posição de condições de ensaio, da mesma forma que os pontos no diagrama de planejamento experimental da Figura 9.



**Figura 12.** Mechas de cabelos descoloridas e disposta de acordo com as condições estipuladas no planejamento experimental 22 com estrela, sendo  $x_1$  o tempo e  $x_2$  a temperatura.

Adaptando os valores dos parâmetros ( $x_1$  e  $x_2$ ) das variáveis de trabalho (tempo e temperatura), foi obtida a Equação 6 da regressão quadrática para os ensaios realizados:

$$DE^* = 39,20 + 4,33 x_1 + 3,34 x_2 - 1,23 x_1 x_2 - 2,19 x_1^2 - 1,66 x_2^2$$

$$(\pm 0,57) \quad (\pm 0,70) \quad (\pm 0,70) \quad (\pm 0,99) \quad (\pm 0,83) \quad (\pm 0,83)$$

Equação 6

Os parâmetros em negrito mostraram ser significativos após serem testados na distribuição t de Student no intervalo de 95% de confiança, sendo:

$$\text{Tempo (minutos)} = 40 + x_1 * 20 \quad \text{Equação 7}$$

$$\text{Temperatura (°C)} = 55 + x_2 * 15 \quad \text{Equação 8}$$

Abaixo se encontra a Tabela 5 de ANOVA do planejamento  $2^2$  com Ponto Central e estrela.

**Tabela 5.** Tabela ANOVA para o planejamento  $2^2$  de ponto central e estrela

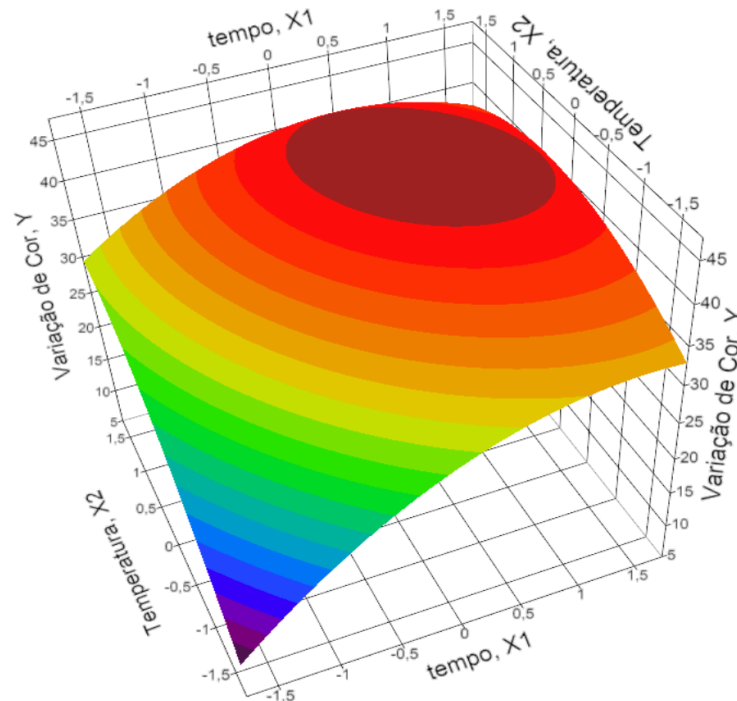
Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)	MQ <sub>R</sub> /MQ <sub>r</sub>	F <sub>v1,v2</sub> <sup>a</sup> (95 %)	R <sup>2</sup>
Regressão	5	287,8009	57,5602	43,8487	5,05	0.9769
Resíduo (r)	5	6,5637	1,3127			
Erro puro	2	1,9400	0,9700			
Falta de ajuste	3	4,6237	1,5412	1,5889	19,16	
Total	10	289,7889				

a) v1,v2 = 5,05 para a significância da regressão e 3,2 para a falta de ajuste.

A hipótese nula foi rejeitada, comparando o MQ<sub>R</sub>/MQ<sub>r</sub> com o valor de F tabelado num intervalo de confiança de 95% para 5 no numerador e 5 no denominador, pois MQ<sub>R</sub>/MQ<sub>r</sub> > F tabelado.

A análise do ponto de máxima variação de cor foi realizada através da construção do gráfico de superfície de resposta (Figura 13). A partir dele foi encontrado o ponto de máximo para os valores de  $x_1 = 0,7900$  e  $x_2 = 0,7131$ , cujos

valores normalizados e convertidos em valores reais são: tempo = 55,8 minutos e temperatura = 65,6 °C. O valor máximo de variação de cor ( $DE^*$ ) obtido foi de 42,1.



**Figura 13.** Superfície de resposta para as variáveis tempo ( $x_1$ ) e temperatura ( $x_2$ ), tendo a variação total de cor  $DE^*$  ( $Y$ ) como resposta.

Levando-se em consideração o tempo de exposição das mechas de cabelo ao sistema reacional, foi possível observar com os ensaios 1 ( $t = 20$  min,  $T = 40$  °C e  $DE^* = 27,4$ ) e 2 ( $t = 60$  min,  $T = 40$  °C e  $DE^* = 37,2$ ), um aumento de 35,8 % no valor de  $DE^*$ . Esse efeito ocorreu também para os ensaios 3 ( $t = 20$  min,  $T = 70$  °C e  $DE^* = 36,7$ ) e 4 ( $t = 60$  min,  $T = 70$  °C e  $DE^* = 41,6$ ), com um aumento de 13,4 %. Este aumento de  $DE^*$  está associado ao maior tempo de exposição dos grânulos de melanina com a substância oxidante, que resulta na maior dissolução e degradação deste pigmento natural do cabelo, resultando na maior variação de cor medida.

Comparando-se os valores obtidos para os ensaios 1 ( $t = 20$  min,  $T = 40$  °C e  $DE^* = 27,4$ ) e 3 ( $t = 20$  min,  $T = 70$  °C e  $DE^* = 36,7$ ), tem-se que um incremento de 30 °C na temperatura do ensaio ocasionou um aumento de 33,9 % no valor de  $DE^*$ . Esse mesmo efeito é observado comparando-se aos ensaios 2 ( $t = 60$  min,  $T =$

40 °C e  $DE^* = 37,2$ ) e 4 ( $t = 60$  min,  $T = 70$  °C e  $DE^* = 41,6$ ), com aumento de 11,8 %. Este aumento da variação de cor pode estar associado à maior velocidade da reação de oxidação dos grupos cromóforos e isto pode ser atribuído à maior reatividade do peróxido de hidrogênio em condições de altas temperaturas.

Porém, comparando-se o aumento de  $DE^*$  obtido entre os ensaios 1 e 2 (~ 36 %), ambos com temperatura de ensaio de 40 °C, com o aumento de  $DE^*$  obtido entre os ensaios 3 e 4 (~13), ambos com temperatura de 70 °C, pode-se notar que em temperatura mais baixa, um incremento de 40 minutos de reação ocasionou um aumento de variação total de cor maior que o obtido para a temperatura reacional mais alta, com um mesmo valor de incremento de tempo de descoloração. Este resultado deve estar relacionado com o aumento da velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio no meio reacional, uma vez que em altos valores de temperatura de ensaio é observado o maior desprendimento de bolhas do meio reacional, que cessam a partir de certo momento. Isto mostra que em altas temperaturas, a reação de decomposição do peróxido de hidrogênio é mais rápida que a reação de descoloração dos grânulos de melanina do cabelo e em certo momento a solução deixa de ser reativa. Por isso, a forma do gráfico de superfície de resposta atinge um ponto máximo e não demonstra um crescimento constante com o aumento do tempo e da temperatura de reação.

Levando-se em consideração essas informações e uma vez que é necessário ponderar a respeito das condições de ensaio também em função da mimetização das condições reais de descoloração de cabelo e salões, foi escolhido o valor de 40 minutos como o tempo máximo de descoloração e a temperatura de 55 °C como o valor de temperatura em todos os ensaios de descoloração realizados para a preparação das amostras, para os ensaios de retenção de fragrâncias e sorção de umidade.

## 2. Caracterização por espectroscopia de refletância difusa (ERD)

As medidas de cor foram realizadas com o intuito de avaliar de maneira indireta o grau de degradação do cabelo, uma vez que, com a degradação dos grânulos de melanina que dão a coloração natural do cabelo, durante o processo de

descoloração com peróxido de hidrogênio, ocorrem também reações laterais com a matriz da fibra capilar. Neste sentido, quanto maior a variação de cor das amostras, maior a degradação provocada na estrutura do cabelo. Para este estudo de variação de cor, foram utilizados cabelos com diferentes cores (castanho escuro, castanho claro e loiro claro) e de diferentes etnias (cabelo Caucasiano e Negroide).

A variação de cor das mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro (Amostra 3) é visualmente bastante evidente, conforme pode ser observado na Figura 14.



**Figura 14.** Mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro (Amostra 3) virgem (1) e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, por 10 min (2), 20 min (3) e 40 minutos (4).

Os valores médios de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  obtidos para as mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro virgens e descoloridas, bem como os valores médios de diferença de cor  $DL^*$ ,  $Da^*$ ,  $Db^*$  e  $DE^*$  calculados para as mechas descoloridas estão registrados na Tabela 6.

O cabelo Caucasiano castanho escuro virgem utilizado neste trabalho apresenta-se escuro, com baixos valores de luminosidade ( $L^* \approx 20$ ), e possuem pouca tonalidade vermelha ( $a^* \approx 2$ ) e amarela ( $b^* \approx 1$ ), como pode ser observado na segunda coluna da Tabela 6. Após o processo de descoloração das mechas de cabelo (terceira, quarta e quinta coluna da Tabela 6), os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  aumentaram, mostrando que as mechas se tornaram mais claras ( $DL^* > 0$ ), mais vermelhas ( $Da^* > 0$ ) e mais amarelas ( $Db^* > 0$ ). Na última linha da Tabela 6 constam os valores de diferença total de cor ( $DE^*$ ) das mechas antes e após a descoloração com peróxido de hidrogênio. Vê-se que a diferença total de cor ( $DE^*$ ) é significativa em todos os casos (10 min, 20 min e 40 min de exposição das mechas de cabelo ao

descolorante). A diferença total de cor ( $DE^*$ ) para o cabelo descolorido por 10 min foi de  $33,4 \pm 0,8$ , enquanto que para tempos maiores de exposição à solução descolorante, essa diferença total de cor foi maior,  $45,1 \pm 0,4$  para 20 min de exposição e  $49,6 \pm 1,1$  para 40 min de exposição. Portanto, é observado um aumento progressivo da variação total da cor com o tempo de exposição das mechas de cabelo ao descolorante. Essa variação total de cor ( $DE^*$ ) se deve principalmente, pela grande variação proporcionada pelos parâmetros  $L^*$  e  $b^*$ .

**Tabela 6.** Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucasiano castanho escuro (Amostra 3) virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, por 10, 20, e 40 minutos.

Parâmetros de cor	Virgens	Descoloridas		
		10 min	20 min	40 min
$L^*$	$20,1 \pm 0,2$	$42,2 \pm 0,8$	$56,0 \pm 0,6$	$64,6 \pm 1,6$
$a^*$	$1,8 \pm 0,1$	$10,7 \pm 0,1$	$8,3 \pm 0,5$	$4,2 \pm 1,0$
$b^*$	$1,4 \pm 0,1$	$24,7 \pm 0,4$	$27,9 \pm 0,4$	$23,0 \pm 1,7$
$DL^*$		$22,2 \pm 0,8$	$35,9 \pm 0,6$	$44,5 \pm 1,6$
$Da^*$		$8,9 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,5$	$2,4 \pm 1,0$
$Db^*$		$23,3 \pm 0,4$	$26,5 \pm 0,4$	$21,6 \pm 1,7$
$DE^*$		$33,4 \pm 0,8$	$45,1 \pm 0,4$	$49,6 \pm 1,1$



**Figura 15.** Mechas de cabelo Caucasiano castanho claro (Amostra 2) virgem (1) e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, por 10 min (2), 20 min (3), 30 min (4) e 40 minutos (5).

Tal qual a amostra de cabelo Caucásiano castanho escuro, as amostras de cabelo Caucásiano castanho claro (Amostra 2) apresentaram grande variação de cor bastante significativa e gradual, como pode ser notado visualmente pela variação de cor na Figura 15 e através da análise dos valores dos parâmetros de cor, na Tabela 7.

**Tabela 7.** Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucásiano castanho claro (Amostra 2) virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, por 10, 20, 30 e 40 minutos.

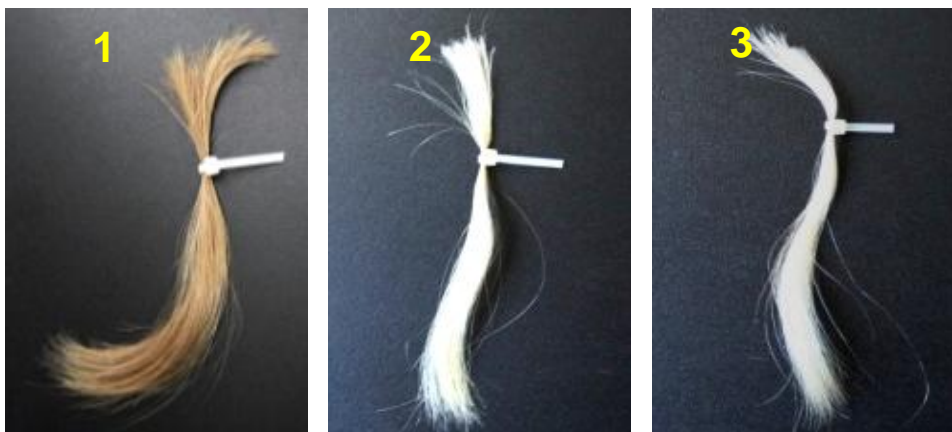
Parâmetros de cor	Virgens	Descoloridas			
		10 min	20 min	30 min	40 min
L*	30,3 ± 1,4	47,6 ± 1,6	57,1 ± 1,9	57,5 ± 1,9	60,9 ± 2,2
a*	5,9 ± 0,3	8,9 ± 0,2	7,1 ± 0,5	6,1 ± 0,7	5,0 ± 0,8
b*	10,4 ± 1,2	23,9 ± 0,6	25,8 ± 0,7	25,6 ± 1,1	25,1 ± 1,3
DL*		17,2 ± 2,4	25,3 ± 2,3	26,2 ± 2,7	29,8 ± 2,9
Da*		3,1 ± 0,5	1,1 ± 0,6	-	-
Db*		13,5 ± 1,6	14,5 ± 1,4	14,6 ± 2,0	14,4 ± 1,6
DE*		22,1 ± 2,8	29,2 ± 2,2	30,0 ± 3,2	33,1 ± 3,1

O cabelo Caucásiano castanho claro virgem utilizado neste trabalho é mais claro que o castanho escuro, com maior valor médio de luminosidade ( $L^* \approx 30$ ), tonalidade vermelha ( $a^* \approx 6$ ) e amarela ( $b^* \approx 10$ ), como pode ser observado na segunda coluna da Tabela 7. Analogamente ao que ocorreu com o cabelo Caucásiano castanho escuro, após o processo de descoloração das mechas de cabelo (terceira, quarta, quinta e sexta coluna da Tabela 7), os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  aumentaram, mostrando que as mechas se tornaram mais claras ( $DL^* > 0$ ), mais vermelhas ( $Da^* > 0$ ) e mais amarelas ( $Db^* > 0$ ). Os ensaios de 30 e 40 minutos apresentaram variação muito baixa do parâmetro  $a^*$ , comparado ao valor desse mesmo parâmetro para a amostra virgem, sendo que a variação da tonalidade pode então ser considerada desprezível. Na última linha da Tabela 7 constam os valores de diferença total de cor ( $DE^*$ ) das mechas antes e após a descoloração com peróxido de hidrogênio. Vê-se que a diferença total de cor ( $DE^*$ ) é significativa em todos os casos (10, 20, 30 e 40 minutos de descoloração). A diferença total de cor

(DE\*) para o cabelo descolorido por 10 min foi de  $22,1 \pm 2,8$ , enquanto que para tempos maiores de exposição à solução descolorante, essa diferença total de cor foi maior e gradativa,  $29,2 \pm 2,2$  para 20 min de exposição,  $30,0 \pm 3,2$  para 30 min de exposição e  $33,1 \pm 3,1$  para 40 min de exposição.

Apesar dos valores de variação total da cor do cabelo Caucasiano castanho claro terem aumentado de maneira progressiva com o tempo de exposição ao descolorante, são inferiores aos calculados para o cabelo Caucasiano castanho escuro. Isso se deve aos valores iniciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  mais altos para o cabelo Caucasiano castanho claro e valores muito próximos de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  para ambos os cabelos castanhos após a descoloração por 10, 20 e 40 minutos, que fazem com que a diferença final seja menor para o cabelo Caucasiano castanho claro, em comparação ao cabelo Caucasiano castanho escuro. Novamente, a variação total de cor (DE\*) se deve principalmente, pela grande variação proporcionada pelos parâmetros  $L^*$  e  $b^*$ , enquanto o parâmetro  $a^*$  possui uma variação muito pequena, sendo até desprezível, para os tempos de descoloração de 30 e 40 minutos.

As amostra de cabelo Caucasiano loiro claro (Amostra 4), apresentaram uma variação extrema após a descoloração por 30 minutos, mas essa variação se manteve constante após 60 minutos de descoloração, como é possível verificar na Figura 16 e pelos valores dos parâmetros de cor, na Tabela 8.



**Figura 16.** Mechas de cabelo Caucasiano loiro claro (Amostra 4) virgem (1) e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, por 30 min (2) e 60 minutos (3).

Embora a tonalidade vermelha ( $a^* \approx 6$ ) do cabelo Caucasiano loiro claro (Amostra 4) virgem utilizado neste trabalho seja semelhante a do cabelo Caucasiano

castanho claro, essa amostra apresentou maior valor médio de luminosidade ( $L^* \approx 46$ ) e tonalidade amarela ( $b^* \approx 18$ ), como pode ser observado na segunda coluna da Tabela 8. Analogamente ao que ocorreu com o cabelo Caucásiano castanho escuro e claro, após o processo de descoloração das mechas de cabelo (terceira e quarta colunas, Tabela 8), o valor de  $L^*$ , aumentou, mostrando que as mechas se tornaram mais claras ( $DL^* > 0$ ). Porém, contrário ao que ocorreu com as amostras de cabelos castanhos, as mechas de cabelo Caucásiano loiro claro, se tornaram menos vermelhas ( $Da^* < 0$ ) e menos amarelas ( $Db^* < 0$ ). Isto está de acordo com o observado visualmente (Figura 16), uma vez que as amostras de cabelo Caucásiano loiro claro possuíam coloração amarelada em seu estado virgem e se tornou esbranquiçada após 30 e 60 minutos de descoloração.

**Tabela 8.** Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Caucásiano loiro claro (Amostra 4) virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % em pH 9,5 a 55 °C, por 30 e 60 minutos.

Parâmetros de cor	Virgem	Descolorido	
		30 min	60 min
$L^*$	$46,4 \pm 1,5$	$71,9 \pm 1,7$	$75,5 \pm 1,4$
$a^*$	$6,3 \pm 0,3$	-	$-0,9 \pm 0,2$
$b^*$	$18,4 \pm 0,6$	$16,6 \pm 1,5$	$12,2 \pm 1,1$
$DL^*$		$25,6 \pm 2,2$	$28,8 \pm 1,9$
$Da^*$		-	$-7,2 \pm 0,3$
$Db^*$		$-1,8 \pm 1,5$	$-6,3 \pm 1,4$
$DE^*$		$26,5 \pm 2,0$	$30,1 \pm 1,6$

Na última linha da Tabela 8 constam os valores de diferença total de cor ( $DE^*$ ) das mechas antes e após a descoloração com peróxido de hidrogênio. Vê-se que os valores de diferença total de cor ( $DE^*$ ) são crescentes e significativos em todos os casos (30 e 60 min de descoloração), uma vez que o valor da variação de cor de cada parâmetro é considerado em módulo, para o cálculo de  $DE^*$  (Equação 4). A diferença total de cor ( $DE^*$ ) para o cabelo descolorido por 30 min foi de  $26,5 \pm 2,0$ , enquanto que para período de 60 minutos de exposição à solução descolorante, essa diferença total de cor foi maior ( $DE^* = 30,1 \pm 1,6$ ). Considerando os valores de

desvio que acompanham os valores médios para os dois tempos de descoloração dos cabelos, pode-se afirmar que não houve variação total de cor significativa a partir de 30 minutos de descoloração, para a amostra de cabelo Caucásico loiro claro, apesar de exibir uma tendência de crescimento, com o aumento do tempo de descoloração.

As amostra de cabelo Negroide (Amostra 5), apresentaram uma variação gradativa após a descoloração por 30 minutos e 60 minutos de descoloração, como é possível verificar na Figura 17 e pelos valores dos parâmetros de cor, na Tabela 9.



**Figura 17.** Mechas de cabelo Negroide (Amostra 5) virgem (1) e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, por 30 min (2) e 60 minutos (3).

O cabelo Negroide virgem utilizado neste trabalho apresenta-se escuro, com baixos valores de luminosidade ( $L^* \approx 19$ ), e possuem pouca tonalidade vermelha ( $a^* \approx 1,4$ ) e amarela ( $b^* \approx 0,5$ ), como pode ser observado na segunda coluna da Tabela 9. Após o processo de descoloração das mechas de cabelo (terceira e quarta colunas da Tabela 9), os valores de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  aumentaram, mostrando que as mechas se tornaram mais claras ( $DL^* > 0$ ), mais vermelhas ( $Da^* > 0$ ) e mais amarelas ( $Db^* > 0$ ). Na última linha da Tabela 9 constam os valores de diferença total de cor ( $DE^*$ ) das mechas antes e após a descoloração com peróxido de hidrogênio. Vê-se que a diferença total de cor ( $DE^*$ ) é significativa em todos os casos (30 e 60 min de exposição das mechas de cabelo ao descolorante). A diferença total de cor ( $DE^*$ ) para o cabelo descolorido por 30 min foi de  $43,3 \pm 1,3$ , e para o tempo de 60 minutos foi de  $49,5 \pm 0,7$ . Portanto, é observado um aumento progressivo da variação total da cor com o tempo de exposição das mechas de

cabelo ao descolorante. Tal qual foi observado para as amostras de cabelo Caucasião castanho escuro e castanho claro, essa variação total de cor ( $DE^*$ ) se deve principalmente, pela grande variação proporcionada pelos parâmetros  $L^*$  e  $b^*$ .

**Tabela 9.** Valores dos parâmetros de cor e de diferença de cor das mechas de cabelo Negroide (Amostra 5) virgens e descoloridas com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 a 55 °C, 30 e 60 minutos.

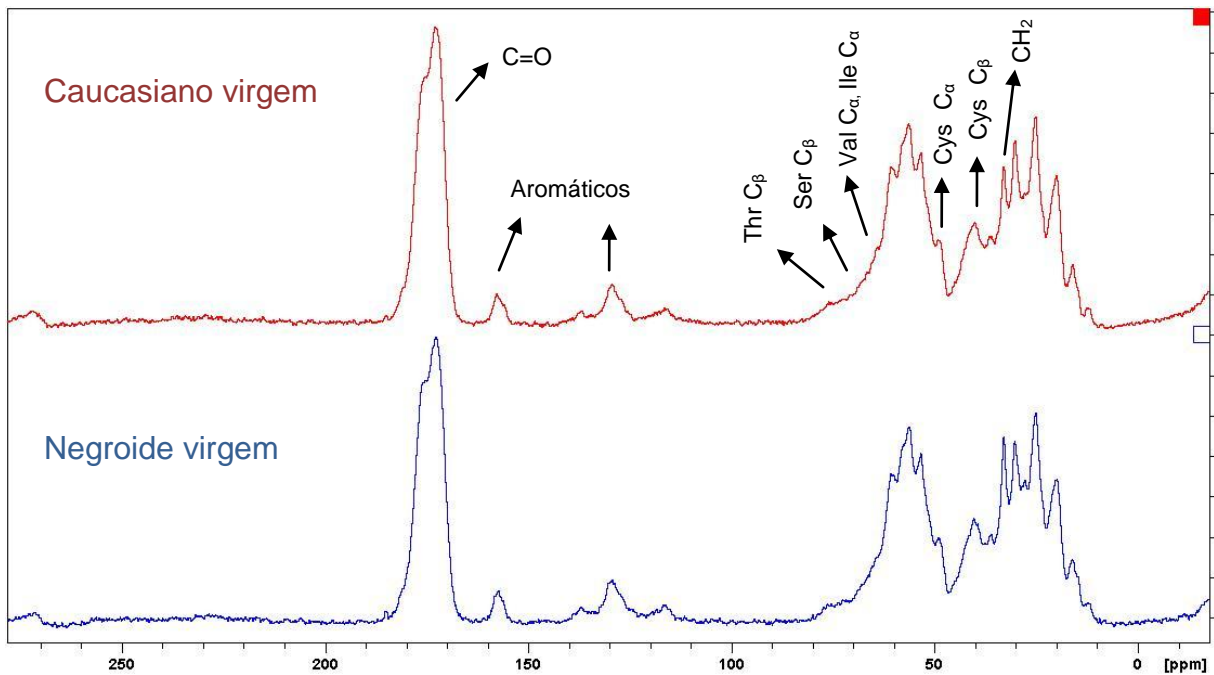
Parâmetros de cor	Virgem	Descolorido	
		30 min	60 min
$L^*$	$19,2 \pm 0,5$	$51,8 \pm 1,4$	$62,5 \pm 1,1$
$a^*$	$1,4 \pm 0,3$	$10,4 \pm 0,5$	$5,7 \pm 0,8$
$b^*$	$0,5 \pm 0,3$	$27,5 \pm 0,6$	$24,4 \pm 0,8$
$DL^*$		$32,6 \pm 1,5$	$43,3 \pm 1,0$
$Da^*$		$9,0 \pm 0,6$	$4,3 \pm 0,8$
$Db^*$		$27,0 \pm 0,8$	$23,5 \pm 0,9$
$DE^*$		$43,3 \pm 1,3$	$49,5 \pm 0,7$

Os resultados de variação de cor total ( $DE^*$ ) dos cabelos descoloridos demonstram que a degradação dos grânulos de melanina, como indicativo indireto da degradação da estrutura proteica do cabelo pode levar a erros de interpretação, se não for considerada a coloração inicial da amostra virgem. Os cabelos mais claros e conseqüentemente com menor quantidade de melanina e maiores valores iniciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , ou seja, os cabelos Caucasiões castanho claro e loiro claro, apresentaram menores valores de  $DE^*$ , em comparação aos cabelos com maior quantidade de melanina e menores valores iniciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , (cabelo Caucasião castanho escuro e cabelo Negroide). Quanto maiores os valores iniciais de  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , menor a quantidade de melanina no cabelo a ser degradada e, portanto, menor a variação total de cor ( $DE^*$ ). Conseqüentemente, cabelos inicialmente mais claros dão a impressão de estarem menos degradados que os cabelos inicialmente mais escuros. Além disso, o cabelo Caucasião loiro claro não apresentou uma variação total de cor significativa após 60 minutos de descoloração, em comparação ao tempo de 30 minutos, ou seja, com o dobro de tempo em contato com a solução descolorante, demonstrando para este tipo de cabelo não se pode utilizar a variação da cor total ( $DE^*$ ) como medida indireta de grau da degradação da

estrutura proteica, com a descoloração com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m*, em pH alcalino.

### 3. Caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN)

Além da caracterização dos cabelos antes e após o tratamento oxidativo por espectrofotometria de refletância difusa (ERD), foi realizada a caracterização por ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{13}\text{C}$  de sólidos (CP/MAS), para as amostras de cabelo Caucasiano loiro (Amostra 4) e cabelo Negroide (Amostra 5), virgens e descoloridas por 30 e 60 minutos.



**Figura 18.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS ( $B_0 = 9,4 \text{ T}$ ) de cabelo Caucasiano loiro virgem e cabelo Negroide virgem.

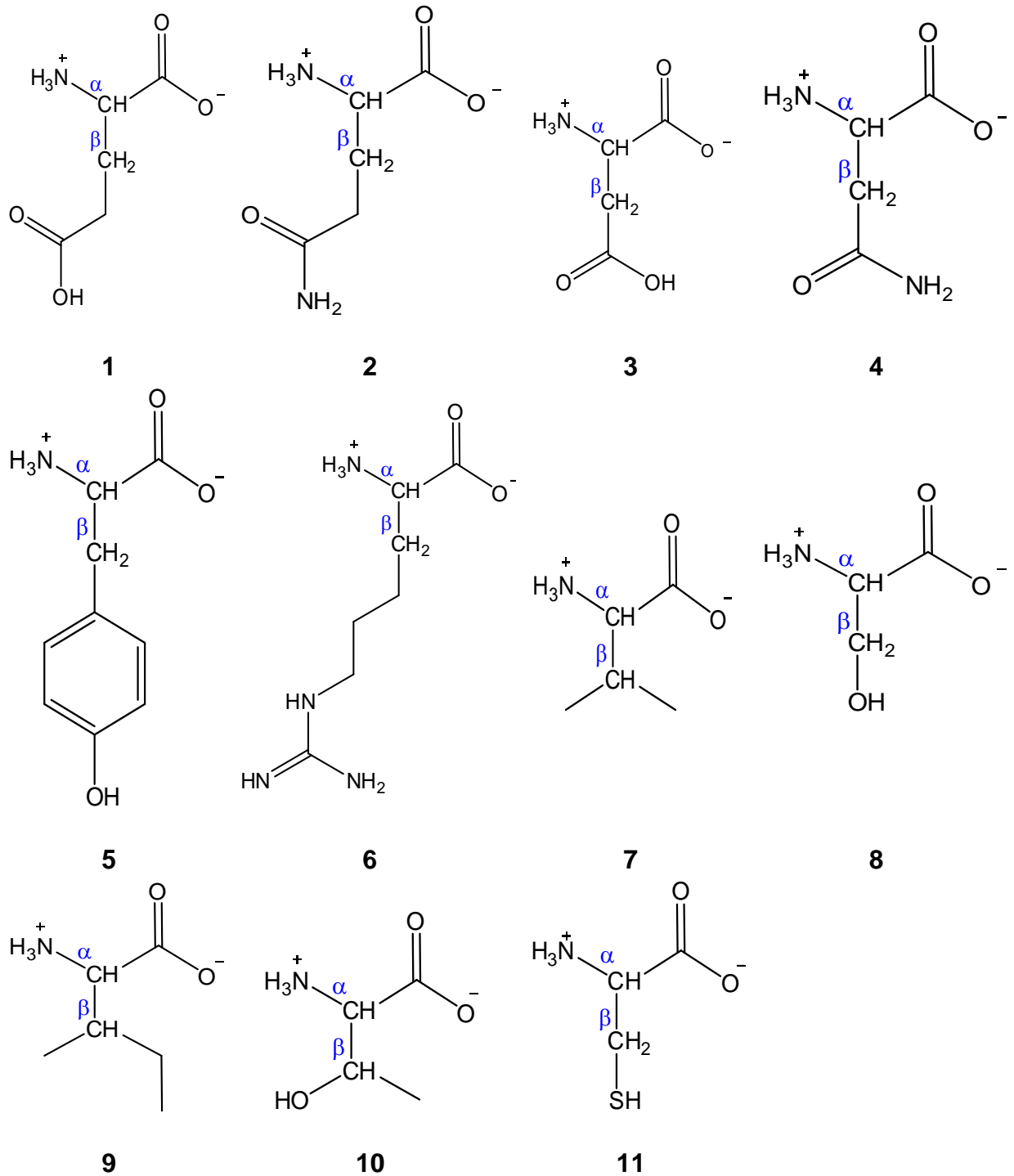
A partir dos espectros obtidos para o cabelo Caucasiano e Negroide virgens, foi possível fazer as atribuições dos principais sinais (Figura 18), que também estão resumidas na Tabela 10. A atribuição dos deslocamentos dos sinais foi feita com base nos estudos de Yoshimizu e Ando [30] e os valores foram confrontados com os valores dos deslocamentos dos aminoácidos isolados [31], cujas estruturas, com os respectivos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  destacados estão representadas na Figura 19.

Comparando-se os espectros dos dois tipos de cabelo virgem, Caucasiano loiro e Negroide, pode-se perceber que ambos são muito semelhantes, variando apenas na intensidade do sinal em ~ 33 ppm, referente aos carbonos em CH<sub>2</sub> de cadeias alifáticas, como foi atribuído por Yoshimizu e Ando [30]. Essa diferença pode ser devido à quantidade de lipídios presente nesses diferentes tipos de cabelo, Caucasiano e Negroide.

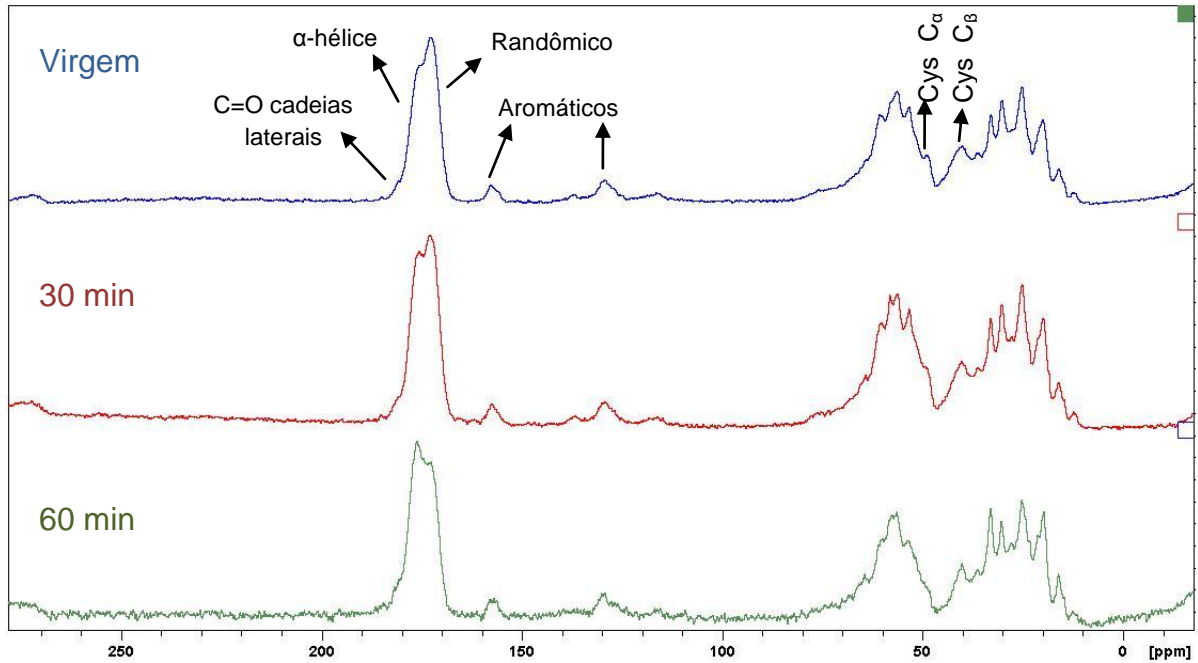
**Tabela 10.** Valores aproximados dos deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup>C de sólidos (CP/MAS) observados de cabelo Caucasiano loiro claro (Amostra 4) e Negroide (Amostra 5).

Deslocamento químico / ppm		Atribuição
Caucasiano	Negroide	
181	182	C=O cadeias laterais dos aminoácidos Asp/Asn e Glu/Gyn
175	176	C=O das ligações peptídicas em α-hélice
173	173	C=O das ligações peptídicas em α-hélice e randômico
~ 157	~ 157	Tyr e Arg (C aromáticos)
69	69	Thr C <sub>β</sub> e Ser C <sub>β</sub>
66	66	Val C <sub>α</sub> , Ile C <sub>α</sub>
49	49	Cys C <sub>α</sub>
40	39	Cys C <sub>β</sub>
33	33	CH <sub>2</sub> em lipídios

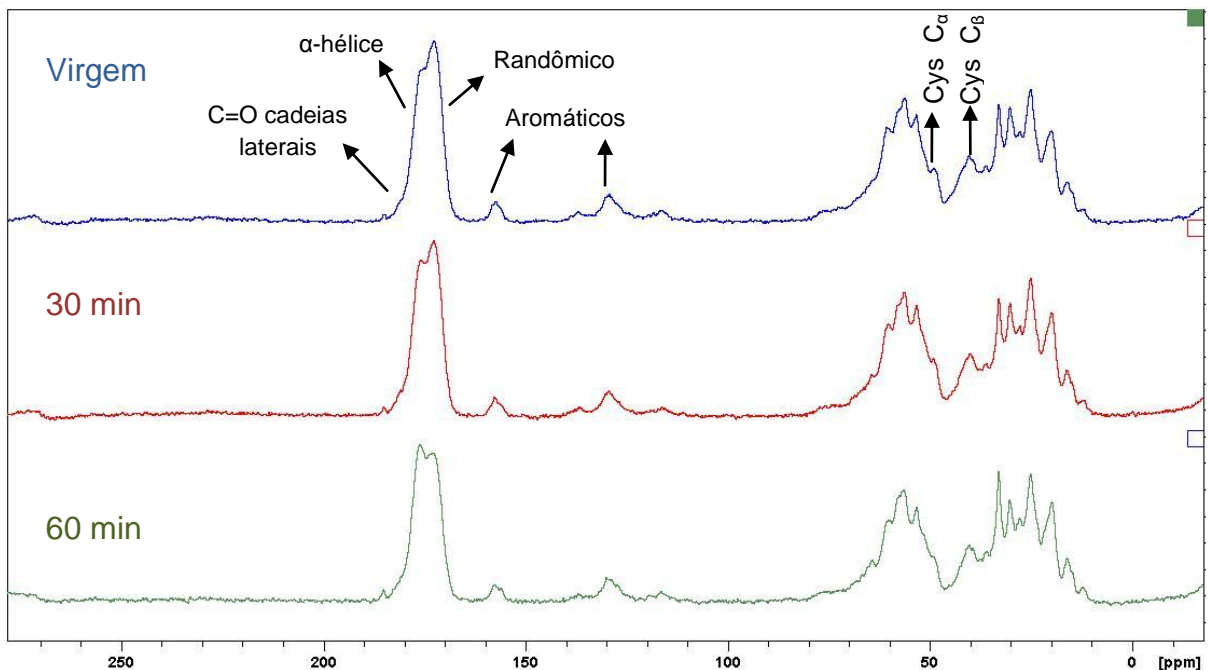
Tyr = tirosina, Thr = treonina, Arg = arginina, Ser = serina, Val = valina, Ile = isoleucina e Cys = cistina.



**Figura 19.** Estrutura dos aminoácidos atribuídos no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de sólidos (CP/MAS) de cabelo Caucasiano e Negroide virgens (Figura 18). Na figura: ácido glutâmico (1), glutamina (2), ácido aspártico (3), asparagina (4), tirosina (5), arginina (6), valina (7), serina (8), isoleucina (9), treonina, (10) e cisteína (11).



**Figura 20.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS ( $B_0 = 9,4$  T) de cabelo Caucasiano loiro virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, por 30 e 60 minutos.



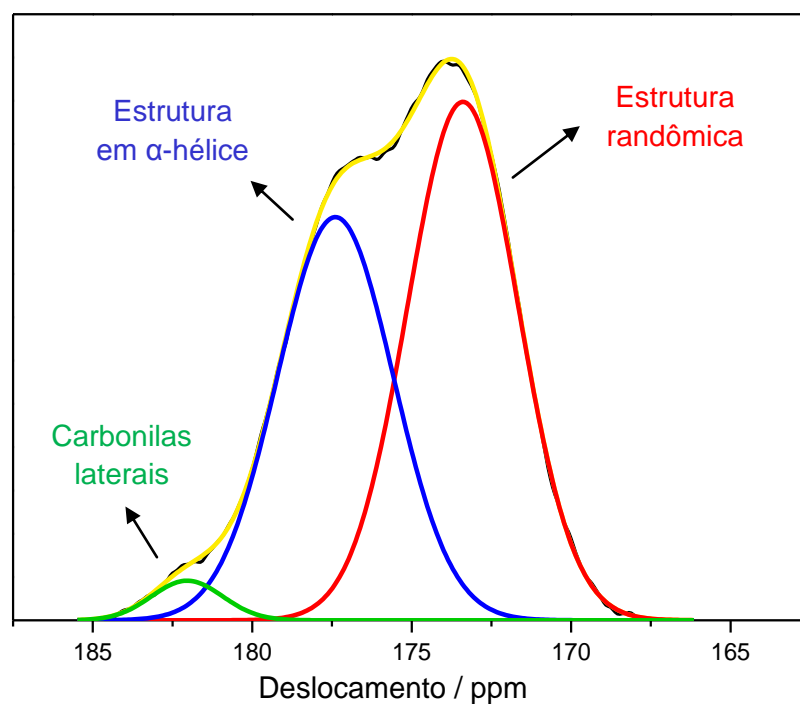
**Figura 21.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS ( $B_0 = 9,4$  T) de cabelo Negroide virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, 30 e 60 minutos.

Os espectros de RMN para o cabelo Caucasiano loiro e para o cabelo Negroide, antes e após o tratamento oxidativo por 30 e 60 minutos, estão apresentados na Figura 20 e Figura 21, respectivamente. É possível observar uma variação nítida na região compreendida entre 166 e 187 ppm, com o aumento do tempo de exposição do cabelo à solução descolorante, para ambos os tipos de cabelo. Essa região tem sido bastante estudada e está associada aos carbonos das carbonilas da queratina, principal constituinte do cabelo, a qual se apresenta na forma de estrutura secundária em  $\alpha$ -hélice (176 ppm), ou a estrutura randômica (173 ppm).<sup>32, 33</sup> Yoshimizu e Ando [30] fizeram a atribuição desses sinais referentes aos carbonos das carbonilas de lâ e de fragmentos isolados de microfibrila de lâ, as S-carboximetil querateínas, denominadas por SCMKA, fração com baixo teor de cistina, e da matriz cortical, e por SCMKB, com alto teor de cistina. Eles afirmaram que, enquanto as microfibrilas são compostas por queratina em  $\alpha$ -hélice, a matriz cortical é composta por queratina com estrutura do tipo folha  $\beta$  pregueada. Porém, Nishikawa *et al* [34], confrontando os dados obtidos de RMN, com experimentos de dicroísmo circular (DC), atribuíram a configuração randômica para a matriz cortical, ao invés de folha  $\beta$ . Com isso, foi possível distinguir um material do outro, com relação à estrutura secundária.

Outro trabalho de Nishikawa *et al* [33] verificou que o tratamento redutivo, seguido de oxidativo, comumente utilizado para o cacheamento permanente do cabelo, ocasiona a transição da estrutura em  $\alpha$ -hélice da queratina constituinte da microfibrila para a estrutura randômica e que esse aumento é maior conforme se aumenta o tempo da reação de redução. Essa transição foi observada pela diminuição do sinal em  $\delta \approx 173$  ppm, referente aos carbonos da carbonilas de queratina em  $\alpha$ -hélice e um consequente aumento do sinal em  $\delta \approx 171$  ppm, referente aos carbonos das carbonilas em estrutura randômica, no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de sólidos (CP/MAS).

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos cabelos Caucasiano loiro (Figura 20) e Negroide (Figura 21) demonstram um decréscimo do sinal referente à estrutura randômica, em relação ao sinal da estrutura em  $\alpha$ -hélice. Este resultado é contrário ao obtido com o experimento de redução dos cabelos, realizado por Nishikawa *et al* [33].

Com a deconvolução das diferentes populações de carbono presentes nos sinais da região das carbonilas, como a apresentada na Figura 22, para o cabelo Caucasiano loiro virgem, foi possível quantificar a quantidade em porcentagem da porção de queratina em  $\alpha$ -hélice da porção em estrutura randômica (Tabela 11). O sinal que aparece em menor quantidade em 182 ppm foi atribuído aos carbonos da carbonila dos resíduos de aminoácidos, como a glutamina/ácido glutâmico e o ácido aspártico/asparagina (Figura 19).



**Figura 22.** Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de sólidos CP/MAS ( $B_0 = 9,4 \text{ T}$ ) da região de carbonilas de cabelo Caucasiano virgem. Os dados foram tratados baseando-se em um modelo de ajuste com referência em perfis Gaussiano e Lorentziano.

A variação da proporção dos dois tipos de população de carbono das carbonilas das diferentes estruturas primárias de queratina está relacionada com a diminuição da quantidade de queratina em estrutura randômica e isto está relacionado com o processo de perda proteica do cabelo com o tratamento de descoloração com peróxido de hidrogênio. Ruetsch *et al* [35] demonstraram, com estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que a descoloração do cabelo com peróxido de hidrogênio ocasiona, além da dissolução dos grânulos de

melanina, presentes na matriz cortical dos cabelos, a formação de buracos nas células cuticulares, com a desintegração de parte da queratina constituinte da cutícula. Levando-se em consideração que as células cuticulares são majoritariamente formadas por queratina amorfa, ou seja, em estrutura randômica, e que esta parte está mais em contato com a solução descolorante, durante a reação oxidativa, pode-se afirmar que grande parte da diminuição do sinal atribuído a carbonila da estrutura secundária randômica em  $\delta \approx 173$  ppm é devido à perda proteica da cutícula do cabelo. Portanto, a perda do material cuticular, juntamente com a perda proteica da queratina da matriz cortical que é lixiviada durante o processo de descoloração são responsáveis pelo decréscimo do sinal em 173 ppm, no espectro de RMN de cabelo Caucasiano e Negroide.

Comparando a variação da proporção de carbonila da queratina em estrutura randômica do cabelo Caucasiano loiro claro com o cabelo Negroide (coluna 4 da Tabela 11), após 30 minutos de descoloração, pode-se perceber que a variação do cabelo Caucasiano em relação a quantidade inicial (de  $\sim 53$  para  $\sim 51$  %) foi maior que do cabelo Negroide (de  $\sim 50,5$  para  $\sim 51$  %). Esse comportamento fica mais evidente após 60 minutos de descoloração, sendo que o cabelo Caucasiano loiro apresentou uma quantidade bem inferior ( $\sim 40$  %) em comparação ao Negroide (50 %).

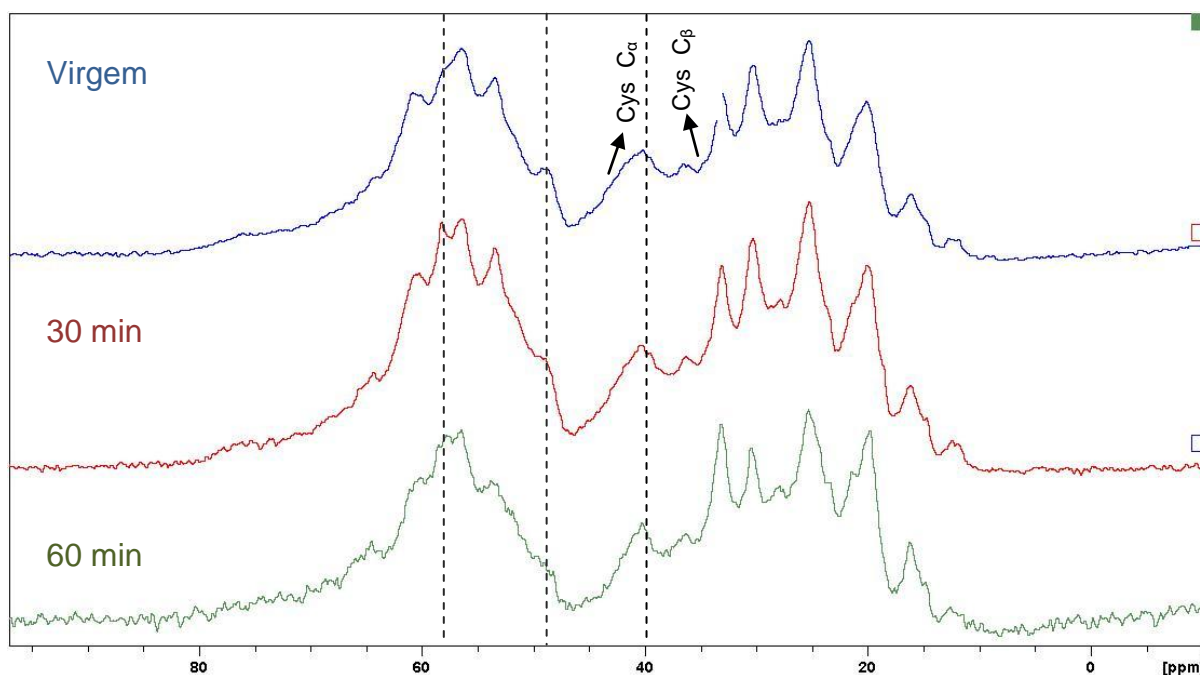
Comparando esse resultado de variação da proporção de sinais dos carbonos das carbonilas das estruturas secundárias em  $\alpha$ -hélice e randômica para o cabelo Caucasiano loiro claro, com seu respectivo resultado de mudança de cor por espectrometria de refletância difusa (ERD), pode-se perceber que ambos os experimentos apresentam resultados muito distintos para os cabelos virgens e descoloridos. Enquanto a variação de cor total ( $DE^*$ ) apresentou uma diferença mais abrupta entre o cabelo virgem e descolorido por 30 minutos ( $DE^* = 26,5 \pm 2,0$ ), porém não muito maior entre o cabelo virgem e descolorido por 60 minutos ( $DE^* = 30,1 \pm 1,6$ ) o resultado obtido por RMN de  $^{13}C$  de sólidos foi oposto, sendo que foi observada uma menor variação entre cabelos virgens e descoloridos por 30 minutos (-2,4) e uma variação mais abrupta entre cabelos virgens e descoloridos por 60 minutos (-13,5).

A comparação dos resultados obtidos para o cabelo Caucasiano loiro claro por ERD e por RMN de  $^{13}C$  de sólidos mostra que a variação de cor não é uma

técnica adequada para a quantificação indireta de danos causados aos cabelos com pouca pigmentação natural, pela descoloração oxidativa com peróxido de hidrogênio. Neste sentido, a variação das proporções entre os sinais dos carbonos das carbonilas das estruturas secundárias em  $\alpha$ -hélice e randômica é uma técnica mais adequada para esse tipo de amostra de cabelo.

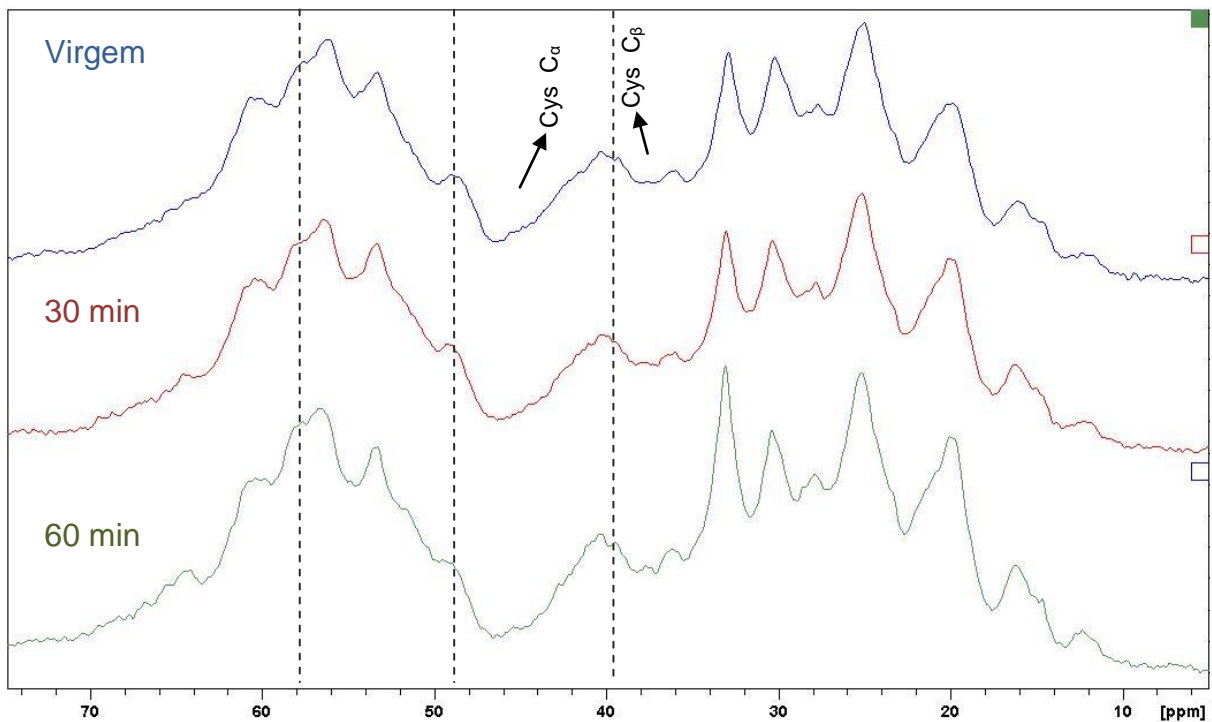
**Tabela 11.** Mudança da fração de proteína em estrutura  $\alpha$ -hélice e randômica em cabelo Caucasiano loiro e Negroide após tratamento de descoloração oxidativa, determinado pelos sinais de carbono da carbonila da estrutura primária por  $^{13}\text{C}$  CP/MAS.

Amostra	Tratamento	$\alpha$ -hélice / %	Randômico / %	Razão / $\frac{\% \text{ randômico}}{\% \alpha\text{-hélice}}$
Caucasiano	Virgem	44,9	53,0	1,2
	30 min	46,7	50,6	1,1
	60 min	53,3	39,5	0,7
Negroide	Virgem	46,7	51,5	1,1
	30 min	46,5	51,2	1,1
	60 min	48,4	50,0	1,0



**Figura 23.** Ampliação dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS ( $B_0 = 9,4$  T) de cabelo Caucasiano loiro virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C por 30 e 60 minutos.

A região compreendida entre 109 a 161 ppm dos espectros das Figura 20 e Figura 21 foi atribuída aos carbonos dos anéis aromáticos dos resíduos do aminoácido tirosina (estrutura 5, Figura 19) e aos carbonos ligado a três nitrogênios no resíduo do aminoácido arginina (estrutura 6, Figura 19). Visualmente, não houve alteração dos sinais referentes a essas atribuições com a descoloração oxidativa do cabelo, para ambos os tipos, Caucasiano loiro claro e Negroide.

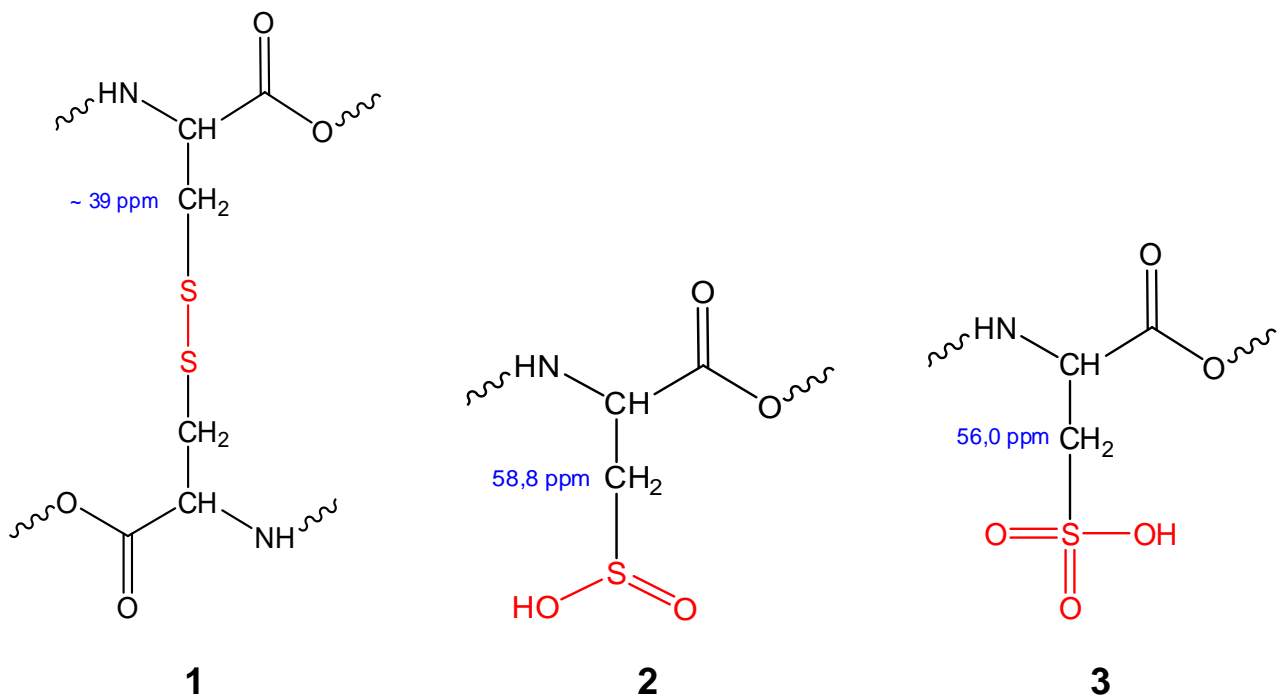


**Figura 24.** Ampliação dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS ( $B_0 = 9,4$  T) de cabelo negroide virgem e descolorido com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, por 30 e 60 minutos.

A região entre 30 e 60 ppm apresentou algumas variações com a descoloração dos cabelos. O cabelo Caucasiano loiro (Figura 23) teve um aumento no sinal em  $\sim 59$  ppm, indicado pela primeira linha vertical tracejada, a partir da esquerda para a direita da Figura 23, ao ser descolorido por 30 minutos. Segundo Crane *et al* [36], em seu trabalho com análise por RMN de sólidos por  $^{13}\text{C}$  de cistina, cisteína e suas variações oxidadas, este sinal está relacionado ao  $\text{C}_\beta$  dos resíduos de  $\text{Cys-S(=O)OH}$ , conforme pode ser observado na Figura 25, que sumariza as atribuições das espécies estudadas. De 30 para 60 minutos, é possível observar a formação de um sinal duplo próximo da região de  $\delta = 57$  ppm, que pode indicar a

transição dos resíduos Cys-S(=O)OH ( $\delta \approx 59$  ppm), para a Cys-S(=O)<sub>2</sub>OH ( $\delta = 56,0$  ppm), no cabelo Caucasiano, com a extrema oxidação do cabelo. O cabelo Negroide (Figura 24) apresenta os sinais mais alargados e por isso não foi possível observar tais variações.

O sinal em 49 ppm (2ª linha vertical tracejada, da esquerda para a direita), atribuído ao carbono  $\alpha$  do resíduo de cisteína por Yoshimizu e Ando [30] apresentou uma variação bastante significativa tanto para o cabelo Caucasiano loiro claro (Figura 23), quanto para o cabelo Negroide (Figura 24). A supressão desse sinal conforme se aumenta o tempo de contato dos cabelos com a solução descolorante está relacionada com a oxidação da cisteína da queratina do cabelo que está fazendo ligação de dissulfeto no cabelo, na forma de cistina. Quanto maior a tempo de descoloração com peróxido de hidrogênio, maior a supressão do sinal.



**Figura 25.** Atribuição dos deslocamentos químicos dos  $C_{\beta}$  das estruturas químicas da cistina (1) e variações oxidadas da cisteína com resíduo de ácido sulfínico (2) e com resíduo de ácido sulfônico (3).<sup>36</sup>

Além disso, é possível observar o estreitamento do sinal em  $\sim 40$  ppm (3ª linha vertical tracejada, da esquerda para a direita), tanto para o cabelo Caucasiano loiro claro (Figura 23), quanto para o cabelo Negroide (Figura 24). Este sinal foi atribuído ao  $C_{\beta}$  do resíduo de Cys-S-S-Cys (estrutura 1, Figura 25) por Craner *et al*

[36] e por Utiu *et al* [37]. A diminuição desse sinal pode indicar a transição da cistina, em cabelo virgem para variações oxidadas, com o aumento do grau de descoloração.

Considerando todas as variações observadas para os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  de sólidos (CP/MAS) dos cabelos Caucásico loiro claro e Negroide, virgens e descoloridos por 30 e 60 minutos, pode-se concluir que a ressonância magnética nuclear mostrou ser uma técnica bastante adequada para avaliar o grau de danificação nos cabelos com o tratamento de descoloração com peróxido de hidrogênio. Enquanto a variação da proporção entre os sinais dos carbonos das carbonilas da estrutura secundária em  $\alpha$ -hélice e randômica ( $\delta = 173$  e  $176$  ppm, respectivamente) fornecem uma quantificação da perda de material protéico do cabelo, a supressão dos sinais relacionados aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  dos resíduos de cisteína ( $\delta = 49$  e  $39$  ppm, respectivamente) que formam a cistina através de ligação de dissulfeto, indica a oxidação e posterior ruptura da reticulação das proteínas no cabelo.

#### 4. Polaridade das substâncias

Através da análise por cromatografia em camada delgada (CCD), foi possível calcular os valores dos fatores de retenção de cada composto (Tabela 12) e classificá-los quanto a sua polaridade.

O composto 2-metilbutanoato de etila não foi revelado na placa. O mesmo ocorreu utilizando-se anilsaldeído como revelador, seguido de aquecimento com pistola aquecedora. Pode-se atribuir esse comportamento ao baixo ponto de ebulição deste composto, que faz com que ele evapore totalmente da superfície da sílica, não aparecendo posteriormente na imagem após a revelação.

Levando-se em consideração que a placa de sílica, a fase estacionária, é bastante polar e que a fase móvel é medianamente apolar, quanto menor o valor do fator de retenção, maior a polaridade da substância. Portanto, elas seguem a seguinte ordem de polaridade: aldeído C9 < mintonat < acetato de benzila < linalol.

Com exceção do mintonat e do aldeído C9, a ordem dos fatores de retenção obtidos está de acordo com a ordem do parâmetro  $\log P$  das substâncias,

que é o logaritmo do coeficiente de partição entre o octanol e a água. Nesse sentido, quanto maior o valor de  $\log P$ , maior a hidrofobicidade da substância e quanto menor o valor, maior a hidrofiliabilidade. Porém pode-se considerar que no geral, houve uma boa correlação entre o resultado obtido por CCD com os valores de  $\log P$ . Dessa forma, com exceção do 2-metilbutanoato de etila, os valores de  $R_f$  serão considerados para classificar os compostos com relação a sua polaridade.

**Tabela 12.** Valores de retenção de fragrância,  $\log P$  e temperatura de ebulição e pressão de vapor das matérias primas eluídas com tolueno e acetato de etila na proporção de 95:5, em cromatofolha de alumínio, cobertas com sílica gel com indicador de fluorescência, e revelada com ácido fosfomolibdico a 10 % m/v em etanol.

Substância	$R_f$	$\log P^a$	Pressão de vapor <sup>a</sup> / mm Hg (25 °C)	Temperatura de ebulição <sup>a</sup> / °C
2-metilbutanoato de etila	-	2,158	7,853	132,0 - 133,0
Linalol	0,46	2,970	0,037	194,0 - 197,0
Acetato de benzila	0,66	3,017	0,016	238,0 - 240,0
Mintonat	0,72	3,700	0,199	-
Aldeído C9	0,74	3,461	0,532	191,0 - 193,0

<sup>a</sup> Valores retirados da referência <sup>38</sup>.

Além disso, foram observados dois compostos de diferentes valores de fator de retenção, na corrida referente ao aldeído C9. Isso demonstra que há presença de uma impureza, cuja presença foi desconsiderada na análise de retenção de fragrância em cabelos, por não se avaliar outro pico no cromatograma dos ensaios de quantificação por CG-EM, além das matérias primas descritas.

## 5. Perfil de liberação de fragrâncias

### 5.1. Análise de retenção das matérias primas em formulações distintas de xampu

Para esse conjunto de dados, os resultados acerca dos perfis de liberação das substâncias fragrantes são interpretados e comparados em termos de

sua persistência, com o intuito de comparar as diferenças de retenção das substâncias de fragrâncias pelos dois tipos de cabelo, virgem e descolorido por 40 minutos. Para isso, considerou-se a média dos valores de abundância do pico de quantificação de determinado composto no tempo 0 (zero) de análise, ou seja, o cabelo que foi inserido no recipiente de amostragem imediatamente após ser lavado com a formulação de xampu, como sendo 100 %, e as áreas obtidas nos períodos subsequentes foram calculadas proporcionalmente a esse valor inicial. Dessa forma, os valores de abundância foram transformados em abundância relativa, sendo expressos em porcentagem.

**Tabela 13.** Quantidade das matérias primas em cabelos virgens e descoloridos por 40 minutos, após os períodos de 0, 2 e 6 horas de secagem a 60 % UR e T = 21 °C, em relação ao tempo zero.

Matéria prima	Abundância relativa de substância retida / %					
	0 h		2 h		6 h	
	Virgem	Descolorido	Virgem	Descolorido	Virgem	Descolorido
EMB <sup>a</sup>	100 ± 4,3	100 ± 34,3	64,3 ± 4,2	6,2 ± 4, 6	4,1 ± 1,0	-
Linalol	100 ± 13,5	100 ± 19,4	54,9 ± 5,8	64,8 ± 7,0	13,8 ± 4,8	20,6 ± 8,8
Ac. benzila	100 ± 21,6	100 ± 15,8	56,4 ± 13,3	38,6 ± 12,9	18,4 ± 5,0	22,3 ± 5,6
Mintonat	100 ± 6,7	100 ± 24,5	42,9 ± 5,0	40,8 ± 3,3	3,1 ± 1,1	0,3 ± 0,1
Aldeído C9	100 ± 15,9	100 ± 12,8	79,6 ± 5,8	59,8 ± 7,8	22,8 ± 4,4	24,6 ± 13,6

<sup>a</sup> EMB = 2-metil-butanoato de etila

Os resultados da análise por CG-EM com monitoramento de íons foram obtidos por meio da integração de íons previamente selecionados para cada substância: *m/z* 71 para o linalol; *m/z* 57, para o 2-metilbutanoato de etila e para o aldeído C9, *m/z* 108 para o acetato de benzila e *m/z* 109 para o mintonat. A escolha de cada pico foi realizada levando-se em consideração a ausência de qualquer outra substância que gerasse um pico de mesmo valor de razão massa carga no mesmo tempo de retenção e que pudesse gerar uma quantificação maior do que a real.

Os valores médios dos resultados de porcentagem de substância odorante retidas no cabelo para os períodos de 2 horas (4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> colunas, Tabela 13) apresentaram poucas variações, considerando os valores de desvio que

acompanham os valores médios. Os valores mais discrepantes são do 2-metilbutanoato de etila em cabelo descolorido, com  $(6,2 \pm 4,6) \%$ , que está bem mais abaixo dos demais e do aldeído C9 em cabelo virgem, com  $(79,6 \pm 5,8) \%$ , que é o mais alto de todos. Os valores para o período de 6 horas de secagem (6ª e 7ª colunas, Tabela 13) mostram que as substâncias com maior retenção em cabelos virgens e descoloridos foram o linalol, o acetato de benzila e o aldeído C9, (5ª, 6ª e 8ª linhas da Tabela 13, respectivamente), enquanto que o 2-metilbutanoato de etila e o mintonat (4ª e 7ª linhas da Tabela 13, respectivamente) mostraram uma quantidade bem inferior aos demais.

Comparando-se a diferença de perfil de decaimento entre cabelos virgens e descoloridos, para o tempo de 2 horas de secagem (3ª e 4ª colunas da Tabela 13) é possível notar que somente o 2-metilbutanoato de etila e o aldeído C9 apresentaram variação significativa de abundância relativa, considerando-se os valores de desvio que acompanham os valores médios calculados. O 2-metilbutanoato de etila mostrou uma variação de pelo menos 49,3 % e o aldeído C9 teve uma diferença de pelo menos 6,2 %. É possível notar que a variação do 2-metilbutanoato de etila é a mais expressiva de todas e provavelmente está associada à alta volatilidade deste composto, que o difere dos demais, como observado anteriormente em seu desempenho frente ao ensaio de polaridade por cromatografia em camada delgada (item 4). Para o período de 6 horas de secagem (5ª e 6ª colunas da Tabela 13), os valores de abundância relativa dos compostos linalol, acetato de benzila e aldeído C9 continuaram não apresentando variação significativa entre os cabelos virgem e descolorido por 40 minutos. O 2-metilbutanoato de etila e o mintonat apresentaram diferença de 3,1 e 1,7 %, respectivamente.

Para interpretar os resultados obtidos, dois fatores devem ser levados em consideração. O primeiro é a modificação da estrutura morfológica e química do cabelo com a descoloração que faz com que a retenção de substâncias na estrutura capilar seja modificada. Para que seja possível comparar as substâncias fragrantes entre si, é necessário distinguir seu comportamento frente a esses dois tipos de cabelo. O segundo fator está relacionado com o processo de liberação de fragrância, considerando as condições de umidade das amostras avaliadas antes e após a secagem em microambiente de condições controladas.



**Figura 26.** Fotografia de amostras de cabelo descolorido e inseridas no recipiente de amostragem, após lavagem com xampu contendo as matérias primas, e deixadas em condições controladas de temperatura (21°C) e umidade relativa (UR = 60 %) por 0, 2 e 6 horas.

A Figura 26 mostra mechas de cabelos descoloridos que foram lavados e deixados por períodos de secagem diferentes no microambiente, antes de serem inseridos no recipiente de amostragem por SPME. Observa-se que o cabelo deixado secando por 0 h se encontra bastante molhado, uma vez que foi inserido no frasco de amostragem imediatamente após a lavagem. O cabelo de 2 h, por sua vez ainda apresenta umidade significativa, enquanto que o cabelo de 6 horas demonstra ter perdido grande parte da água incorporada nos fios, com a lavagem e posterior enxague da mecha. Isso demonstra dois fatores importantes. O primeiro é que a evaporação da água nos cabelos ocorre em microambiente fechado, indicando o sucesso da mimetização de condições ambiente naturais. O segundo é que a amostragem das fragrâncias foi realizada com os cabelos ainda molhados. Logo, não se pode atribuir a liberação de fragrância unicamente como uma consequência da interação da substância com os cabelos, mas sim um resultado dessa interação e da interação da substância com a água ainda presente nos fios e que está evaporando ao longo do tempo.

Em cabelos virgens, ao serem incorporadas no cabelo através da lavagem, as fragrâncias sofrem partição entre a queratina (o suporte mais hidrofóbico) e a água que está evaporando (substância polar). Dessa forma, quanto maior a polaridade da fragrância, maior sua afinidade com a água, portanto menor sua retenção. Entre os períodos de 0 e 2 horas ocorre uma grande perda de água sorvida nos cabelos. Dentre todas as substâncias fragrantes, o aldeído C9 é a mais apolar, segundo seu valor de  $R_f$  (2ª coluna, Tabela 13). Por esse motivo, apresentou

uma maior persistência em cabelos virgens após 2 horas de secagem, em relação ao período de 0 hora, comparando-se às demais substâncias. O mintonat, por ser o segundo mais apolar apresentou um comportamento inesperado, pois seu decaimento deveria ser menor, ou seja, mais parecido com do aldeído e não maior que o do linalol, que possui maior polaridade. Esse comportamento mostra que a polaridade não é o único fator a ser considerado para se diferenciar a retenção de fragrâncias de diferentes funções orgânicas em cabelo virgem.

Ao se comparar a persistência do aldeído C9 com a do linalol em cabelo virgem (substâncias de cadeias lineares e mais parecidas em termos de massa molar, mas com funções orgânicas distintas), após 2 h de secagem, pode-se fazer uma relação entre a capacidade de interação de ambos com a água que está evaporando. O álcool, por possuir um grupo hidroxila, é capaz de formar ligações de hidrogênio com a água presente na estrutura do cabelo molhado. Esta interação faz com que ele seja arrastado pelas moléculas de água que estão sendo transferidas para o estado gasoso, durante o período de 2 horas de secagem. As moléculas de aldeído, por sua vez, fazem ligações intermoleculares mais fracas com as moléculas de água, justificando sua maior abundância relativa e, conseqüentemente, sua maior persistência nos cabelos virgens, após o período de 2 horas de secagem.

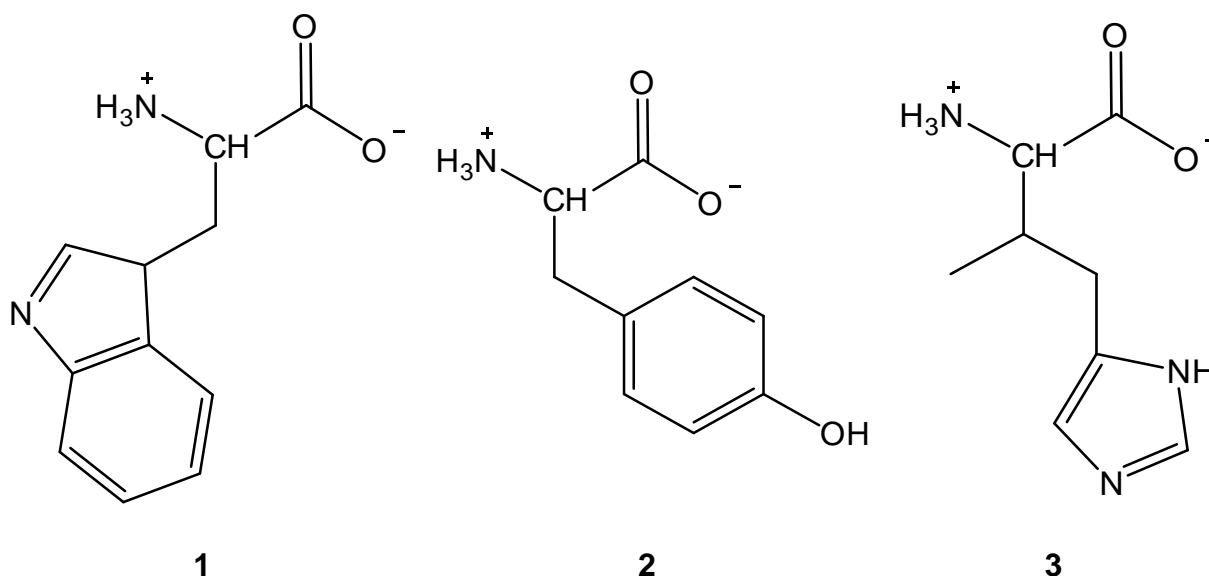
Este resultado está de acordo com obtido por Pavani [39], que verificou que o mirceno, um hidrocarboneto mais apolar, apresenta maior persistência em cabelos virgens em comparação ao linalol, que é mais polar. Como ambos são monoterpenos, possuem estruturas químicas e valores de massa molecular muito próximas, permitindo a comparação, tal qual foi realizado acima, para o linalol e o aldeído C9. Isso mostra que substâncias compostas por moléculas que possuem grande capacidade de formar ligações intermoleculares com moléculas de água possuem menor persistência em cabelo virgem, como o linalol, que por ser um álcool, forma ligações de hidrogênio com a água, sendo menos retido pela queratina estrutural do cabelo e conseqüentemente possui menor persistência, 2 horas após.

Em cabelos descoloridos, a retenção de fragrância já não pode mais ser associada ao fenômeno de partição entre o suporte (cabelo) e a água, porque neste caso a competição da interação das substâncias é entre uma superfície já menos apolar e um carreador polar. Dessa forma, um novo modelo deve ser considerado pra explicar os resultados observados.

Considerando as substâncias que apresentaram menor persistência em cabelo, é possível perceber, que ambos os compostos, 2-metilbutanoato de etila e mintonat, pertencem ao grupo dos ésteres. O acetato de benzila, apesar de também ser um éster, mostrou possuir maior persistência, sendo que seu valor de abundância relativa é semelhante a dos compostos linalol e aldeído C9, após o período de 6 h secagem (5ª e 6ª colunas da Tabela 13).

O acetato de benzila se diferencia dos outros dois ésteres por possuir um grupo benzila na estrutura química (estrutura 4, Figura 7). Portanto, pode-se dizer que as interações que ele realiza com os grupos ligantes do cabelo, virgem e descolorido, são mais fortes que as dos ésteres que não possuem este substituinte. Ligações intermoleculares entre grupos ligantes em proteínas foram investigadas por cristalografia e foi comprovado que ocorrem interações entre enxofre de resíduos de cisteína com porções aromáticas de resíduos de tirosina, (estrutura 5, Figura 19), triptofano e fenilalanina (estruturas 1 e 2, Figura 27). Segundo Reid *et al* [40] este tipo de ligação ocorre de maneira eletrostática entre o enxofre, rico em elétrons, e os hidrogênios do anel aromático com caráter positivo, de maneira análoga ao que já havia sido calculado por mecânica quântica para a interação entre oxigênio e o anel aromático da fenilalanina. Segundo os autores, essa interação contribui para a estabilidade de certas proteínas e não se dá com os elétrons  $\pi$  do anel aromático com o enxofre, de maneira *stacking* planar, mas sim com o enxofre e as bordas do anel aromático. Considerando que o cabelo possui uma grande quantidade de enxofre, devido ao alto teor de cistina em sua estrutura, é bem provável que possam ocorrer interações desse tipo com a porção aromática do acetato de benzila.

Outro tipo de interação que pode ocorrer entre o acetato de benzila e os aminoácidos constituintes do cabelo está relacionada com a presença de grupos aromáticos dos resíduos de tirosina (estrutura 5, Figura 19), triptofano, histidina e fenilalanina (estruturas 1, 2 e 3, Figura 27). A presença de anéis aromáticos nesses aminoácidos pode ser responsável pela interação entre eles e o anel benzênico do acetato de benzila, através de interações  $\pi - \pi$ , um dos principais tipos de interações não covalentes que governam o reconhecimento molecular em sistemas biológicos. <sup>41</sup>



**Figura 27.** Aminoácidos com anéis aromáticos presentes na estrutura proteica

do cabelo (1) triptofano (1), fenilalanina (2) e histidina (3).<sup>1</sup>

Assumindo a existência de tais interações entre os resíduos de aminoácido da queratina constituinte do cabelo com a porção aromática do acetato de benzila, pode-se dizer que as interações totais desse composto com o cabelo são mais fortes em comparação às interações entre o cabelo e o 2-metilbutanoato de etila ou o mintonat, que possuem como substituintes cadeias de hidrocarboneto alifático ramificado e cíclico, respectivamente. Portanto, pode-se dizer que a presença do anel aromático no acetato de benzila é responsável pela maior persistência deste composto em ambos os tipos de cabelo, em comparação aos demais ésteres, após o tempo de secagem de 6 horas, devido à formação de interações mais fortes com os resíduos de aminoácidos do cabelo.

## 5.2. Análise de retenção das matérias primas em formulação única de xampu perolado

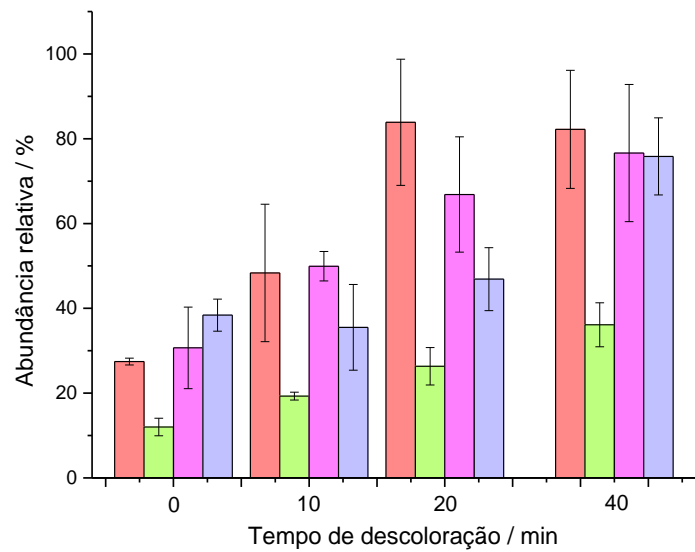
Para esse conjunto de dados, os resultados de quantidade de substâncias fragrantes retidas nos cabelos, após permanecerem 0, 1, 2, 4 e 6 horas secando em ambiente com condições controladas de temperatura e umidade relativa, são interpretados e comparados em termos de sua liberação, sendo que quanto maior a

liberação de uma substância do fio de cabelo, maior sua detecção no *headspace* do recipiente de amostragem. A comparação dos resultados obtidos nessa parte do trabalho tem como intuito investigar as diferenças nos perfis de liberação de substâncias de fragrâncias em cabelo Caucásiano castanho escuro virgem (Amostra 3) com o mesmo descolorido por 10, 20 e 40 minutos com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m*.

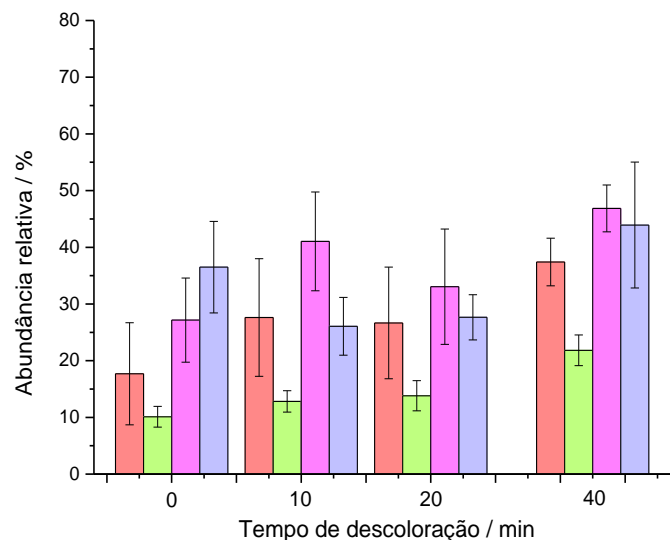
Os resultados da análise por CG-EM com monitoramento seletivo de íons foram obtidos por meio da integração dos íons utilizados anteriormente, com exceção do linalol, que por coeluir com o aldeído C9, teve o valor de *m/z* 71 substituído por *m/z* 93. Além disso, devido a esta coeluição, não foi possível fazer a quantificação do aldeído C9, presente na formulação única de xampu, uma vez que este não possui um pico de fragmentação com valor de razão massa carga que não tenha na fragmentação do linalol.<sup>42, 43</sup>

Os valores das áreas dos picos cromatográficos foram transformados em abundância relativa, sendo o maior valor obtido de todas as análises considerado 100 % e os demais relativos e proporcionais a este. Os gráficos de abundância relativa em função do tempo de descoloração, referentes a cada período de secagem encontram-se nas Figuras 28, 29, 30, 31 e 32.

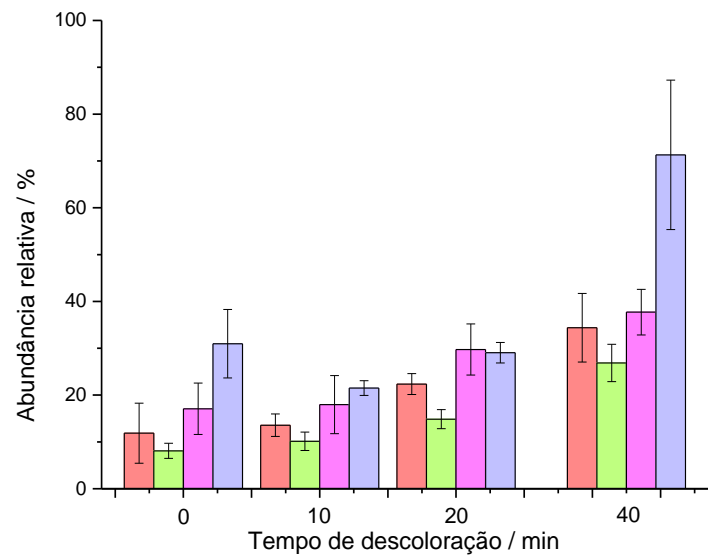
O gráfico referente ao período de 0 hora mostra que quanto maior o grau de descoloração, maior a abundância relativa das substâncias fragrantes liberadas para a fase gasosa, durante a amostragem por microextração em fase sólida (SPME). Comparando-se os valores obtidos entre os cabelos virgens e descoloridos por 40 minutos, esta diferença é de pelo menos 40,0 % para o 2-metilbutanoato de etila, 16,8 % para o linalol, 20,2 % para o acetato de benzila e 24,6 % para o mintonat. Como as mechas desse período de secagem não permaneceram secando, essa quantidade representa a quantidade transferida da solução de formulação xampu para os cabelos. Esse resultado mostra que quanto maior o grau de descoloração do cabelo, maior a quantidade de substância sorvida durante a etapa de deposição de fragrância, ou seja, durante a lavagem do cabelo com xampu e posterior enxague.



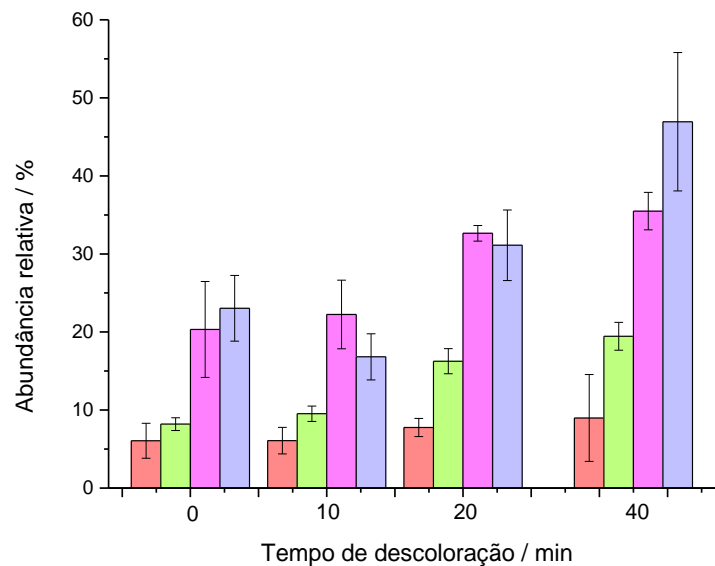
**Figura 28.** Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, em função do tempo de descoloração para o período de 0 h de secagem, para as substâncias: 2-metilbutanoato de etila (■), linalol (■), acetato de benzila (■) e mintonat (■).



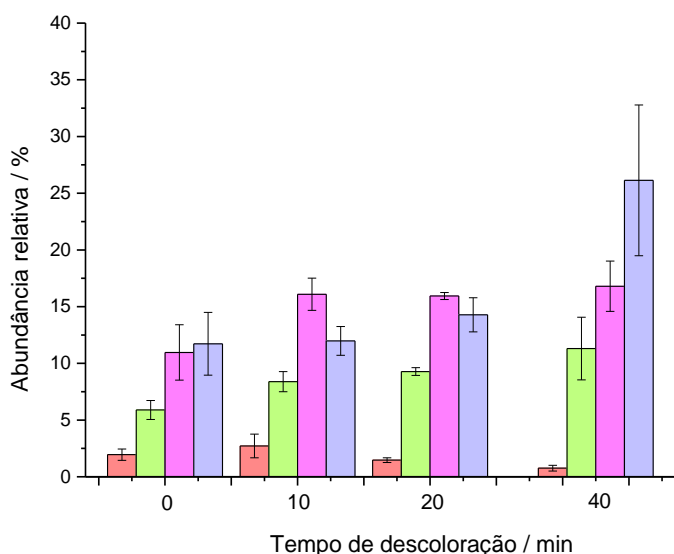
**Figura 29.** Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, em função do tempo de descoloração para o período de 1 h de secagem, para as substâncias: 2-metilbutanoato de etila (■), linalol (■), acetato de benzila (■) e mintonat (■).



**Figura 30.** Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, em função do tempo de descoloração para o período de 2 h de secagem, para as substâncias: 2-metilbutanoato de etila (■), linalol (■), acetato de benzila (■) e mintonat (■).



**Figura 31.** Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, em função do tempo de descoloração para o período de 4 h de secagem, para as substâncias: 2-metilbutanoato de etila (■), linalol (■), acetato de benzila (■) e mintonat (■).



**Figura 32.** Abundância da liberação de fragrância de cabelo Caucasiano castanho escuro, com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m* em pH 9,5 à 55 °C, em função do tempo de descoloração para o período de 6 h de secagem, para as substâncias: 2-metilbutanoato de etila (■), linalol (■), acetato de benzila (■) e mintonat (■).

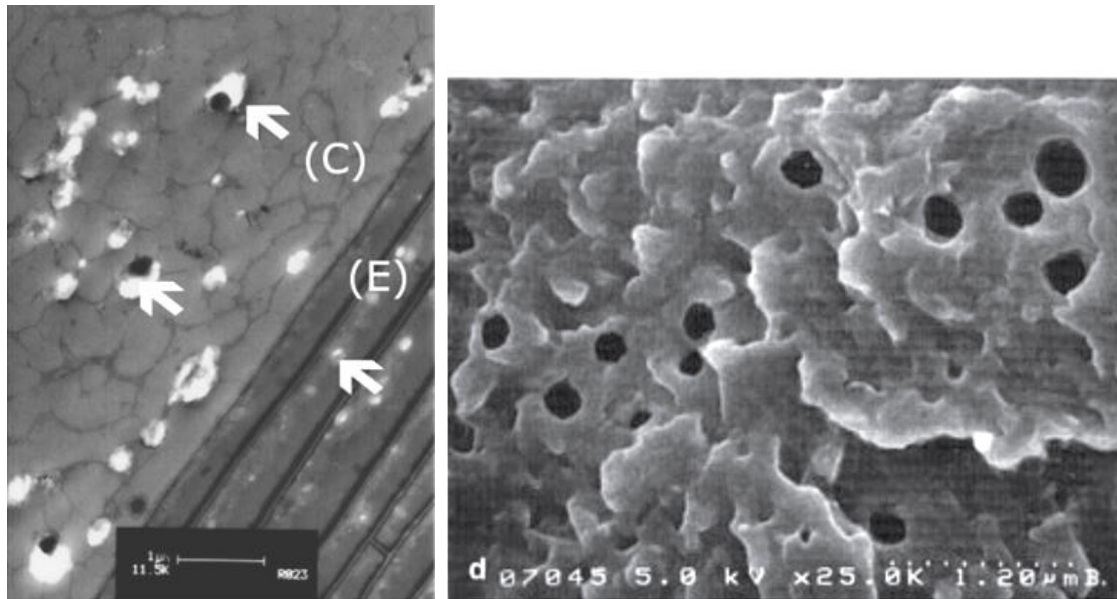
Os gráficos dos períodos de 1, 2, 4 e 6 horas de secagem apresentam o mesmo comportamento do gráfico de 0 hora, sendo que quanto maior o grau de descoloração, maior a abundância relativa dos compostos extraídos do cabelo, na etapa de amostragem por SPME. A única exceção foi o resultado obtido para o 2-metilbutanoato de etila, para o período de 6 horas de secagem (Figura 32), que apresentou uma diferença de 0,3 % a mais em cabelos virgens em comparação ao descolorido. Contudo, essa diferença é pequena o suficiente para ser considerada não significativa. Esse resultado está de acordo com o obtido na análise de retenção do 2-metilbutanoato de etila em formulações distintas de xampu (Tabela 13), que apresenta valores muito baixos de abundância relativa desse composto após 6 horas de secagem. Apesar dessa exceção, pode-se notar que a quantidade total de matérias primas liberada durante as primeiras 6 horas foi maior em cabelos descoloridos em relação aos virgens e isto está associado com a maior quantidade sorvida nos fios de cabelo com a aplicação e posterior enxague.

Para entender esse fenômeno, é necessário entender as modificações químicas e estruturais ocasionadas no cabelo com o processo de descoloração oxidativa com peróxido de hidrogênio em meio alcalino. Além da degradação das

regiões queratinosas da cutícula e córtex, demonstrada pela inversão dos sinais de  $^{13}\text{C}$  das canoílas em estrutura secundária em  $\alpha$ -hélice e randômica, nas Figuras 20 e 21), a descoloração do cabelo também promove a degradação do complexo da membrana celular e parte da estrutura do cabelo localizada entre as camadas cuticulares adjacentes e entre as células corticais.<sup>1</sup>

Esse efeito foi comprovado por Richena *et al* [44], com ensaios de micrografia de eletrônica de transmissão (MET). A Figura 33 (esquerda) mostra a imagem de um corte ultra-fino da seção transversal da região preta de um fio de cabelo grisalho que foi descolorido com os mesmos reagentes utilizados neste trabalho. Pela imagem pode-se notar que o córtex (C), onde estão dispersos os grânulos de melanina, possui espaços vazios (pontos brancos), mostrando que a descoloração oxidativa do cabelo promove a dissolução e perda dos grânulos de melanina, deixando buracos na estrutura em seu lugar. Esse mesmo efeito pode ser notado pela imagem da direita da mesma figura (Ruetsch *et al* [45]), que apresenta uma micrografia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de cabelo descolorido por 4 horas com peróxido de hidrogênio 6 % em meio alcalino. Nesse caso, os pontos pretos são as cavidades formadas na estrutura do cabelo após a dissolução dos grânulos de melanina.

Como consequência deste tipo de degradação, o cabelo descolorido possui uma maior quantidade de sítios de adsorção e conseqüentemente, maior capacidade de sorver as matérias primas de fragrâncias. Dessa forma, os cabelos descoloridos sorvem uma quantidade maior de substâncias durante a lavagem com xampu contendo as matérias primas e, por isso, possuem uma maior quantidade de substâncias em comparação ao virgem, durante as primeiras 6 horas de secagem. Quanto maior o tempo de descoloração do cabelo, maior o grau de degradação da estrutura capilar e, conseqüentemente, maior a abundância relativa de substâncias odorantes liberadas ao longo do tempo durante as primeiras horas de secagem das mechas (Figuras 28, 29, 30, 31 e 32).



**Figura 33.** Imagem da esquerda: micrografia obtida por MET do corte transversal da região preta de cabelo grisalho padrão descoloridos com peróxido de hidrogênio e persulfato de amônio, mostrando buracos no córtex (C) e na endocutícula (E). Barra de escala = 1000 nm. [44] Imagem da direita: micrografia obtida por MEV do corte transversal de cabelo descolorido com peróxido de hidrogênio 6 % em meio alcalino por 4 horas. [45].

A imagem da Figura 33 (esquerda) também mostra que a região intercelular (E) também foi afetada com a descoloração, demonstrando possuir espaços vazios causados pela degradação da endocutícula. A presença dessas cavidades explica porque as fragrâncias possuem menor permanência em cabelos descoloridos, como no caso das substâncias 2-metilbutanoato de etila e aldeído C9, após 2 horas de secagem, e das substâncias 2-metilbutanoato de etila e mintonat, após 6 horas de secagem (Tabela 13). Com a degradação da região entre as cutículas do cabelo, ocorre a diminuição do impedimento físico dos caminhos de difusão intercelular, por onde as substâncias difundem para fora do fio de cabelo após serem incorporadas na estrutura capilar, durante a secagem em ambiente controlado de temperatura e umidade relativa. Como consequência, a liberação de substâncias em função do tempo é maior em cabelo descolorido que em cabelo virgem, cuja estrutura capilar é mais íntegra e possui maior impedimento físico para a difusão de substâncias.

Essa consequência da degradação da endocutícula foi abordada por Colombera [46], que obteve valores de coeficiente de difusão aparente maiores para

Rhodamina B em cabelos descoloridos em comparação ao cabelo virgem. Segundo a autora, é razoável pensar que o tratamento oxidativo danifique a endocutícula e o complexo da membrana celular (CMC), porque estas regiões são facilmente intumescidas, por possuírem baixo conteúdo de cistina. Com isso, Colombera associou a maior velocidade de difusão de moléculas de corante através das camadas cuticulares à degradação da endocutícula, uma vez que a diminuição do impedimento físico, pela perda de material entre as cutículas com a descoloração oxidativa, facilita a mobilidade de substâncias, que no caso do presente trabalho são as matérias primas de fragrâncias, através dos caminhos de difusão intercelular.

Este estudo de difusão também aponta como consequência da descoloração de cabelos a diminuição da reticulação da estrutura de queratina da cutícula causados pelo rompimento de ligações de dissulfeto, com a oxidação do enxofre dos resíduos de cistina, responsáveis pelo intercruzamento das cadeias proteicas. Este efeito da degradação do cabelo foi observado com a supressão dos sinais referentes aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$  dos resíduos de cistina ( $\delta = 49$  e  $39$  ppm, respectivamente), nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de sólidos (Figuras 23 e 24). Com a diminuição dos intercruzamentos das cadeias de queratina ocorre o favorecimento da absorção de moléculas de Rhodamina B para dentro dos fios de cabelo e a dessorção de substâncias fragrantas que foram incorporadas na fibra através da lavagem com xampu, através dos caminhos de difusão transcelular.

## 6. Sorção de umidade

Para confirmar o desempenho de persistência e liberação de matérias primas de fragrâncias em cabelo, que foram interpretados pelo aumento da capacidade de sorção e aumento da difusão intercelular e transcelular de substâncias em cabelos descoloridos em comparação ao virgem, foi estudada a absorção/adsorção e dessorção de umidade nos dois tipos de cabelo. Nesse contexto, a água que condensa ou evapora na estrutura capilar e difunde através dos caminhos de difusão intercelular e transcelular, à temperatura constante, foi utilizada como substância modelo de interação de substâncias com cabelos virgens e descoloridos.

## 6.1. Isoterma de sorção

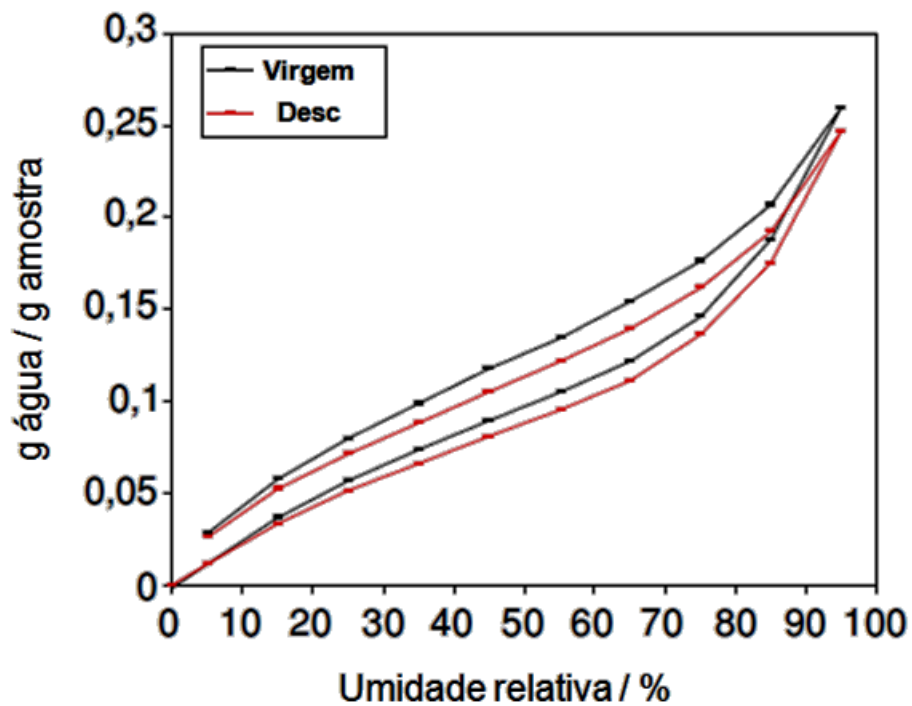
Isotermas são curvas obtidas através de experimentos de sorção/dessorção e são construídas utilizando-se a massa de um material que é adsorvido, dividida pela massa do adsorvente ( $n/m$ ), em função da pressão que varia com esse processo, mantendo-se a temperatura do sistema constante.<sup>47</sup> Elas têm sido estudadas de maneira aprofundada há muito tempo e analisando o formato das curvas obtidas, é possível desenvolver modelos que descrevem o processo de absorção/adsorção e dessorção. Com eles são obtidos coeficientes de difusão aparente e a quantidade total de água sorvida na amostra, após o estabelecimento do equilíbrio.<sup>48</sup>

O gráfico de uma isoterma de sorção de umidade relaciona a quantidade de água incorporada pelo material (cabelo, unha, etc.) em função da variação da concentração desse adsorbato no ambiente. O aumento ou decréscimo de umidade sorvida no material é conduzido com o aumento discreto da umidade em um ambiente fechado e restrito, como um dessecador, por exemplo, ou equipamento específico para isso. A medição de água sorvida geralmente é feita por análise gravimétrica da amostra antes e após ocorrer o equilíbrio de sorção imposto, em cada etapa de variação da umidade relativa.<sup>48</sup>

Barba *et al* [48] obtiveram, através da construção da isoterma de sorção/dessorção de umidade (Figura 34) que o cabelo descolorido sorve uma menor quantidade de água, para o valor máximo de umidade relativa a qual as amostras foram expostas, em comparação ao cabelo virgem e isto foi atribuído a menor capacidade da superfície do cabelo em reter água, após o tratamento oxidativo.

Este resultado entra em discordância com o esperado, uma vez que o processo de descoloração oxidativa torna a fibra mais polar e conseqüentemente mais hidrofílica. Linus Pauling [49], através de compilações de dados de estudos de proteínas na década de 40, avaliou que, de maneira geral, quanto maior o número de grupos polares na estrutura da proteína, sobretudo nos resíduos ligantes das cadeias laterais, maior a quantidade de água sorvida. Este trabalho também afirma que as ligações peptídicas da estrutura primária de proteínas não estão disponíveis para fazerem ligações de hidrogênio com moléculas de água, pois já fazem esse tipo

de ligação secundária com outras cadeias de proteína. Levando em consideração que a oxidação do cabelo promove a quebra de ligações peptídicas, além da formação de ácido cistéico, advindo da ruptura das ligações de dissulfeto entre resíduos de cisteína, é de se esperar que a descoloração aumente a número de sítios polares de adsorção e conseqüentemente leve ao aumento de moléculas de água sorvidas por grama de cabelo.

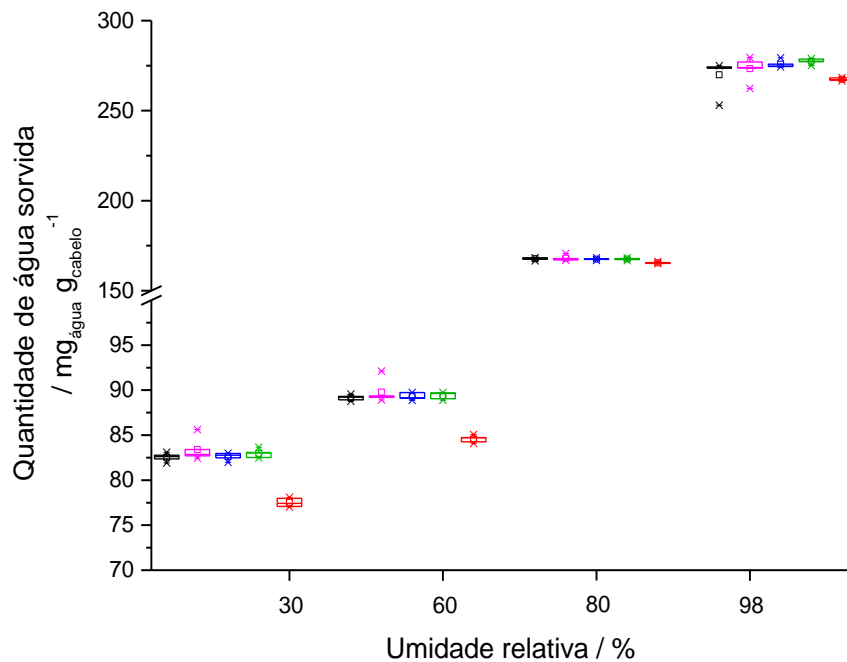


**Figura 34.** Isoterma de sorção de umidade, obtida pelo aumento gradativo de umidade a temperatura constante, de cabelo Caucasiono ruivo virgem (■) e descolorido (■) com peróxido de hidrogênio 4,5 %, em pH 8,3 por 3 horas. <sup>48</sup>

A partir dos valores de massa obtidos, o teor de umidade ( $u$ ) em cabelo foi calculado segundo a Equação 9 e é dado em miligrama de água por grama de cabelo. <sup>27, 50</sup> Para isso foram utilizados os valores médios de massa das replicatas, em cada condição do teste realizado.

$$u = \frac{(m - m_0)}{m_0} \quad \text{Equação 9}$$

Sendo,  $m$  a massa de cabelo úmido, na condição de equilíbrio, e  $m_0$  a massa de cabelo seco.



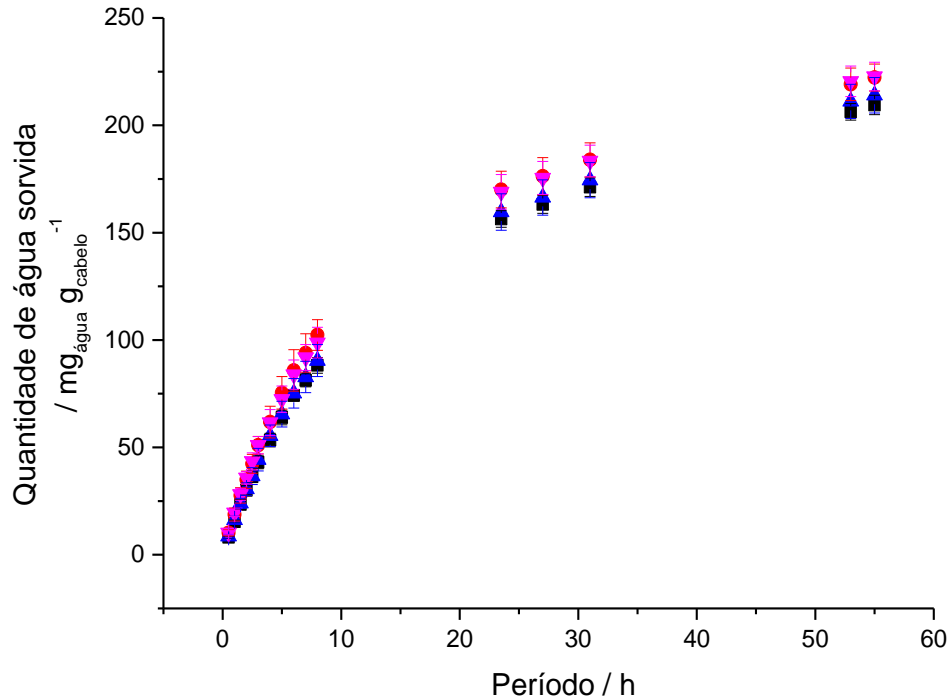
**Figura 35.** Quantidade de água sorvida pelo cabelo Caucasiano castanho claro virgem (■) e descolorido por 10 min (●), 20 min (■), 30 min (▲) e 40 minutos (■), em função da umidade relativa.

Através da análise do gráfico da Figura 35, pode-se perceber que de maneira semelhante a isoterma de sorção da referência [48], o cabelo descolorido por 40 minutos apresentou menor capacidade de sorção de umidade conforme se aumentava a umidade relativa (UR) no sistema. Este comportamento é mais evidente para os valores de umidade relativa de 30 e 60 %. Em 80 % UR não houve uma distinção significativa, entre os diferentes graus de descoloração e em 98 % há distinção entre os cabelos descoloridos por 40 minutos dos descoloridos por 20 e 30 minutos. Não houve diferença significativa entre os cabelos virgens e descoloridos por 10, 20 e 30 minutos, para todos os graus de umidade avaliados.

## 6.2. Cinética de sorção

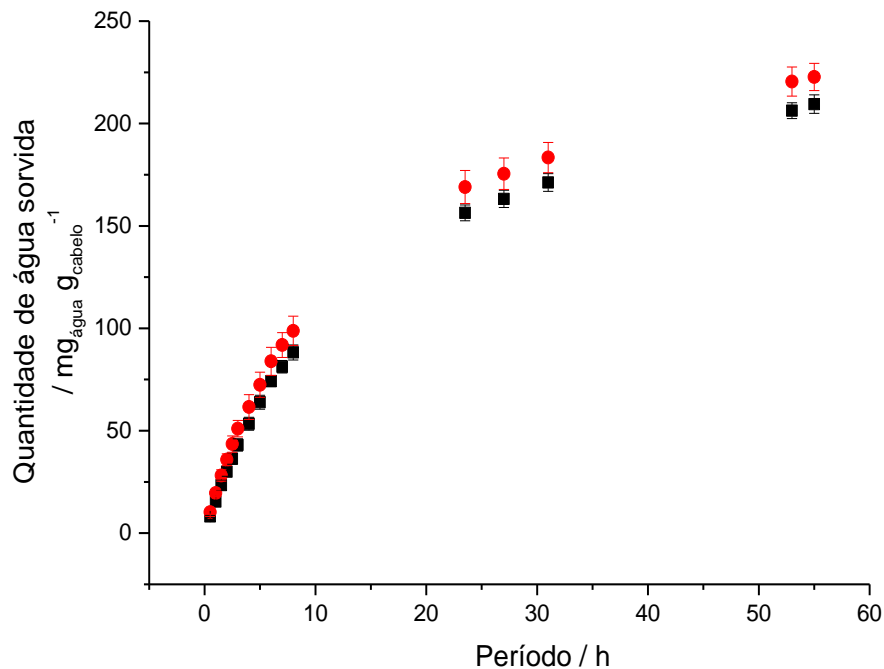
Os resultados de sorção de umidade, através do monitoramento do teor de água em função do período mantido no dessecador para os cabelos com

variação abrupta de umidade relativa do ambiente são interpretados em termos de cinética de sorção e dessorção.



**Figura 36.** Quantidade de água sorvida pelo cabelo virgem (■) e descolorido por 10 min (●), 20 min (■), 30 min (■) e 40 minutos (■), após até 55 horas a 98-99 % UR.

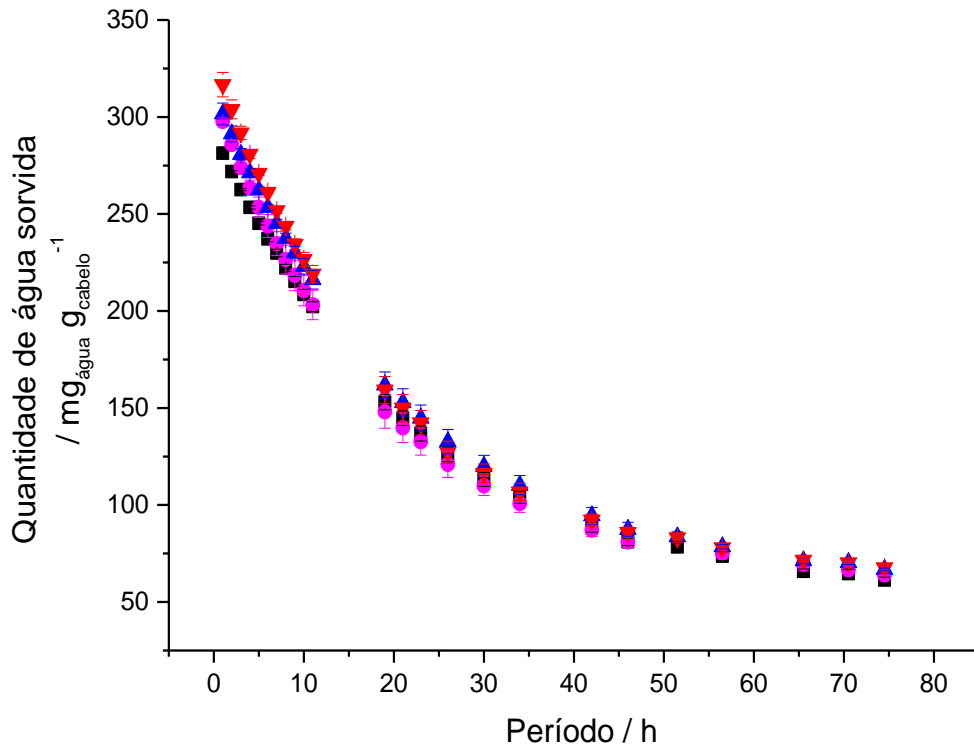
Como é possível observar na Figura 36, a diferença entre os valores de teor de água em cabelo, considerando todos os graus de descoloração, fica bastante difícil de ser observada. A curva referente à amostra de cabelo virgem (em preto na figura) parece estar mais abaixo em relação às outras, enquanto que a de cabelo mais descolorido (em vermelho) está mais acima, demonstrando ter sorvido uma quantidade superior de água. Porém não é possível verificar a extensão dessa separação, nem o momento a partir do qual isso ocorre. Por isso, foram considerados apenas os valores extremos de descoloração do cabelo, ou seja, virgem e descolorido por 40 minutos:



**Figura 37.** Quantidade de água sorvida pelo cabelo virgem (■) e descolorido por 40 minutos (●), após até 55 horas a 98 % UR.

A Figura 37 mostra as curvas de absorção do cabelo virgem em comparação ao descolorido por 40 minutos. Nota-se que, a partir de 8 horas em contato com a umidade, as amostras de cabelo descolorido apresentam uma capacidade de sorção um pouco maior que as de cabelo virgem. Esse comportamento fica mais evidente após um período de mais de 50 horas em dessecador a UR 98-99 %. O cabelo descolorido sorveu  $(222,7 \pm 6,6) \text{ mg}_{\text{água}} \cdot \text{g}_{\text{cabelo}}^{-1}$ , enquanto o cabelo virgem sorveu  $(209,5 \pm 4,5) \text{ mg}_{\text{água}} \cdot \text{g}_{\text{cabelo}}^{-1}$ .

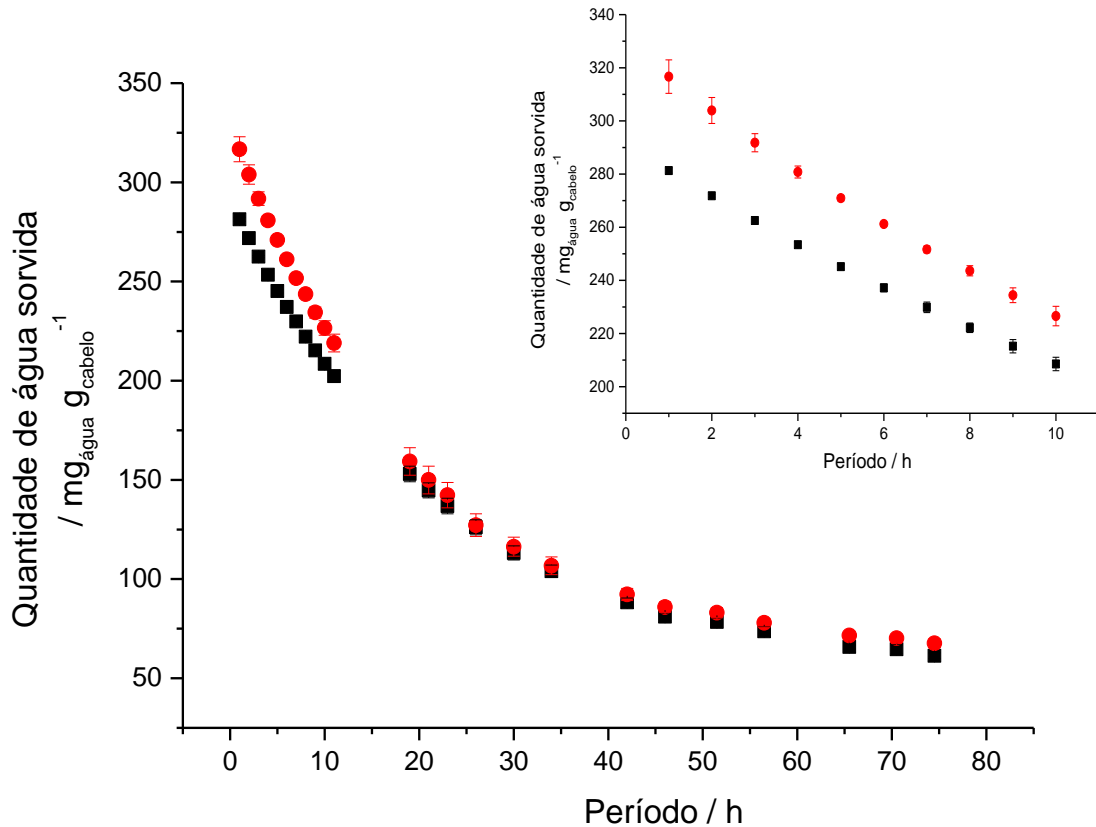
Tal qual observado para o processo de absorção/adsorção, o gráfico da cinética de dessorção para todos os graus de descoloração (Figura 38) é bem difícil de avaliar, apesar de ser possível perceber uma distinção clara de quantidade de água sorvida durante as primeiras 10 horas em dessecador. Novamente foram considerados apenas os resultados obtidos para as amostras de cabelo virgem e descolorido por 40 minutos.



**Figura 38.** Quantidade de água dessorvida pelo cabelo virgem (■) e descolorido por 10 min (■), 20 min (■), 30 min (■) e 40 minutos (■), após até 55 horas a 98-99 % UR.

No processo de dessorção, os resultados de quantidade de água em massa em função do período em que as amostras foram deixadas em dessecador a UR 0 % (Figura 39) revelaram que o cabelo descolorido é capaz de sorver uma quantidade de água ainda superior ao cabelo virgem, comparando-se com o experimento de cinética de sorção. Isso mostra que o período de 55,5 horas não foi suficiente para que ocorresse a sorção máxima de água nas amostras de cabelo, dentro das condições experimentais disponíveis e dos limites da metodologia utilizada. Após permanecer 20 dias em dessecador a UR 98-99 %, as amostras de cabelo descolorido sorveram pelo menos  $28,1 \text{ mg}_{\text{água}} \cdot \text{g}_{\text{cabelo}}^{-1}$  a mais que as amostras de cabelo virgem. Esse valor corresponde a quase 10 %, considerando os dois primeiros pontos da curva do gráfico na Figura 39, ou seja, na condição máxima possível de sorção de umidade, à temperatura de 21 °C. À medida que o período de exposição à UR 0 % aumentou, o cabelo descolorido continuou mantendo uma maior quantidade de água sorvida e esse comportamento persistiu até as primeiras

10 horas, como pode ser observado no detalhe da Figura 39. Após 19 horas em baixa umidade, ambas as amostras de cabelo (virgem e descolorido) passaram a possuir a mesma quantidade de água sorvida.



**Figura 39.** Teor de água em função do período em ambiente a 0 % UR, para cabelo virgem (■) e descolorido por 40 minutos (●) em até 74,5 horas, à  $T = 21 \text{ } ^\circ\text{C}$ . O detalhe da figura apresenta a ampliação do gráfico para o período de 10 horas em dessecador.

Esse resultado confirma que o cabelo descolorido é capaz de sorver uma maior quantidade de substâncias em relação ao virgem, como foi observado nos ensaios de retenção de matérias primas de fragrâncias em formulação única de xampu (Figuras 28, 29, 30, 31 e 32). A descoloração com peróxido de hidrogênio provavelmente deixa o cabelo com cavidades no interior de sua estrutura, na endocutícula, complexo da membrana celular e matriz cortical. Essa degradação pode ser responsável pelo aumento da área superficial interna do cabelo descolorido em relação ao cabelo virgem, levando à formação de sítios de sorção no interior da

fibra, que são responsáveis pela maior capacidade de adsorção de substâncias, tais como água e matérias primas de fragrâncias. Quanto maior a descoloração do cabelo, maior a formação de cavidades na estrutura capilar e maior o aumento da capacidade de adsorção da fibra. Conseqüentemente, em cabelo descolorido, a quantidade de substâncias de fragrância sorvidas durante a lavagem com xampu (Figura 28) deve ser maior que em cabelo virgem.

Considerando-se que tanto a adsorção/absorção quanto a dessorção seguem a equação de hidratação/desidratação do cabelo, expressa pela Equação 10, pode-se verificar se o processo segue uma cinética de primeira ordem. Neste caso, o decaimento deve seguir a Equação 11, sendo  $r = k[A]$  e  $[A]$  a concentração de água no cabelo, expressa em miligrama de água por grama de cabelo.<sup>47</sup>

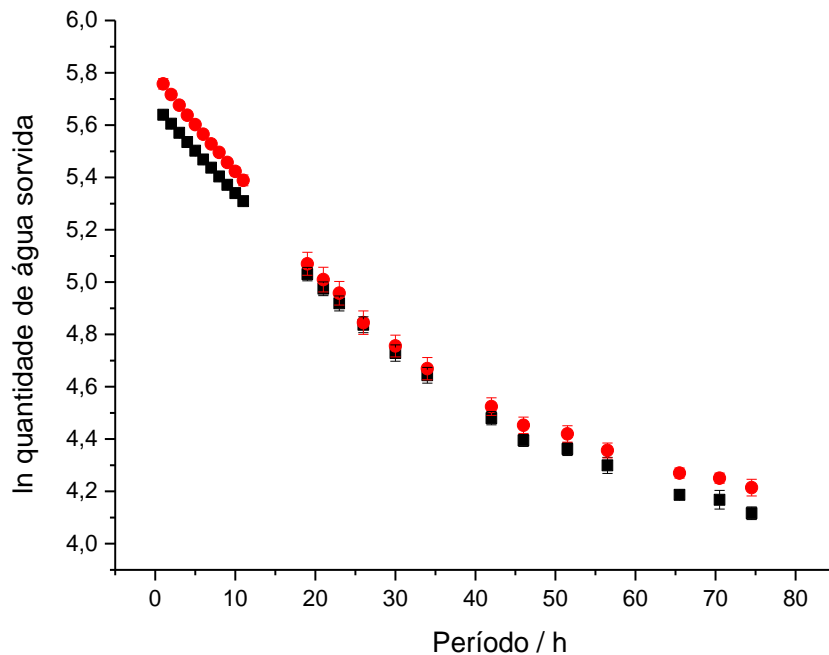


$$r = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = k[A] \quad \text{Equação 11}$$

A solução da integral e o rearranjo da Equação 11 fornecem a Equação 12, que define como a concentração de água sorvida no cabelo decresce exponencialmente ao longo do tempo,  $t$ , sendo  $[A]_0$  a quantidade de água inicial nos cabelos completamente hidratados.<sup>47</sup>

$$\ln \frac{[A]}{[A]_0} = -k_A t \quad \text{Equação 12}$$

Para seguir uma cinética de primeira ordem, a dessorção de água no cabelo deve gerar um gráfico de  $\ln [A]/[A]_0$  em função do tempo na forma de uma reta, uma vez que a Equação 12 é uma equação do primeiro grau.

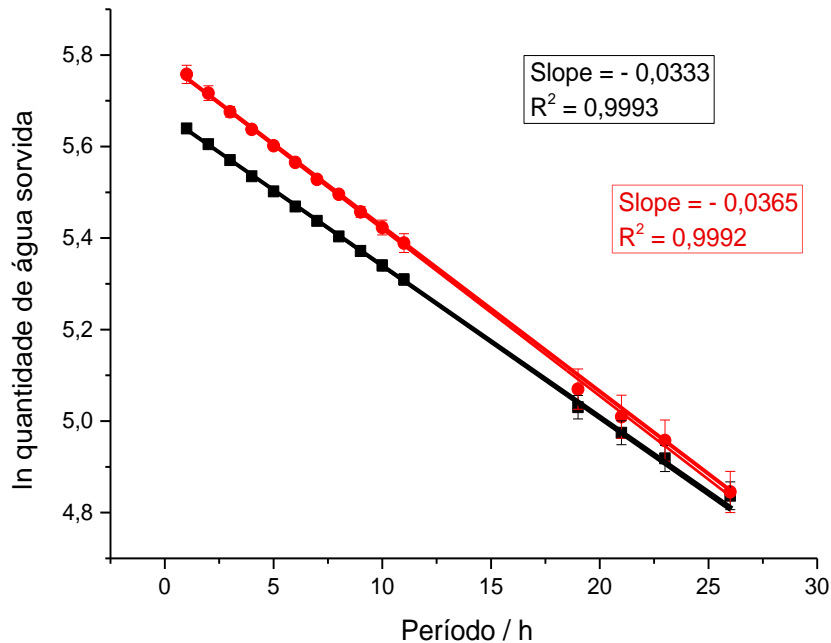


**Figura 40.** Ln do teor de água dessorvida por grama de cabelo virgem (■) e descolorido por 40 minutos (●) após 74,5 horas em ambiente a 0 %UR, à  $T = 21\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A partir do gráfico da Figura 40, pode-se observar a não linearidade das curvas obtidas, tanto para o cabelo virgem quanto para o descolorido. É possível observar a presença de dois ou possivelmente três tipos de retas, dentro das curvas obtidas, demonstrando que a umidade sofre um processo de dessorção complexo, difundindo-se através da estrutura do cabelo de diferentes formas. As moléculas de água podem estar ligadas com as espécies químicas do cabelo, de maneira intermolecular, na superfície dos fios ou em poros nas regiões mais internas. Neste caso, a água está associada à queratina, como numa monocamada. Ou então a água pode se associar à água residual já associada, aumentando o número de camadas acima da monocamada e ocupando os espaços vazios dos fios de cabelo. Esta água é considerada mais livre, por estar ligada somente a outras moléculas de água.

Apesar disso, o gráfico da Figura 40, apresenta um decaimento linear logo no início da curva de dessorção e isso é mais fácil de notar para as primeiras 25 horas de secagem dos cabelos, em dessecador a 0 % de umidade relativa (Figura 41). Isso mostra que para as primeiras horas de secagem dos cabelos, a

dessorção de umidade seguem uma cinética de primeira ordem, seguindo, portanto a Equação 12.



**Figura 41.** Ln da quantidade de água desorvida por cabelo virgem (■) e descolorido por 40 minutos (●) após mais de 25 horas em ambiente a 0 % UR.

A partir da regressão linear das retas, foram obtidos os valores dos coeficientes angulares para os dois tipos de cabelo, sendo que o descolorido com peróxido de hidrogênio por 40 minutos apresentou um valor menor (-0,0365) em comparação ao virgem (-0,0333), demonstrando possuir maior decaimento em função do tempo. Essa diferença observada mostra que a dessorção de umidade é mais rápida em cabelos descoloridos em comparação ao virgem, para as primeiras 10 horas em ambiente a 0 % UR e pode ter sido causada pela formação de cavidades na estrutura na endocutícula, com o processo de descoloração com peróxido de hidrogênio, como demonstrado por Richena *et al* [44], por micrografias obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (Figura 33, imagem da esquerda). Com a degradação do material entre as cutículas, a difusão de umidade através do caminho de difusão intercelular é facilitada, fazendo com que a dessorção de umidade seja mais rápida em cabelo descolorido, em comparação ao virgem, cuja estrutura é mais íntegra e possui maior impedimento físico para a difusão de

substâncias. O aumento da velocidade de descoloração com a descoloração do cabelo confirma os resultados obtidos nos ensaios de persistência de fragrâncias para o aldeído C9 e o 2-metilbutanoato de etila, após 2 horas de secagem, e para o 2-metilbutanoato de etila e mintonat, após 6 h de secagem (Tabela 13), que apresentaram menor persistência em cabelo descolorido que em cabelo virgem.

## V. CONCLUSÃO

O planejamento de experimento de clareamento do cabelo Caucasiano castanho com peróxido de hidrogênio 4,5 % *m/m*, em pH 9,5, variando-se o tempo e a temperatura do ensaio, gerou uma superfície de resposta que forneceu um ponto máximo de variação total de cor ( $DE^*$ ) igual a 42,1, para o tempo de reação de 55,9 minutos e a temperatura de ensaio igual a 65,6 °C. Todos os parâmetros da equação do modelo obtida foram significativos para um intervalo de 95% de confiança, não havendo evidência de falta de ajuste.

A variação de cor total dos cabelos por espectroscopia de refletância difusa (ERD), indicada pelo valor de  $DE^*$ , demonstrou ser pouco satisfatória para quantificar de maneira indireta a degradação do cabelo Caucasiano loiro claro pela reação de descoloração com peróxido de hidrogênio. Em cabelo com pouca quantidade inicial de melanina, os valores iniciais dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) são bastante altos, fazendo com o que o valor de  $DE^*$  não varie muito a partir de 30 minutos de descoloração.

Os ensaios de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{13}C$  de sólidos apresentaram uma diminuição do sinal em 173 ppm, referente aos carbonos das carbonilas da estrutura secundária randômica da queratina (amorfa), em relação ao sinal em 176 ppm, da estrutura em  $\alpha$ -hélice. Foi sugerido que esta variação se deve à perda de material proteico causada pela degradação da matriz cortical e da cutícula e pode ser utilizada como ferramenta de quantificação da degradação do cabelo com a descoloração com peróxido de hidrogênio, sendo que o cabelo Caucasiano loiro claro sofreu maior degradação que o cabelo Negroide, para o mesmo tempo de contato com a solução descolorante. A supressão dos sinais com valores de deslocamento químico em 49 e 39 ppm, referentes aos carbonos  $\alpha$  e  $\beta$

dos resíduos de cisteína, indicam a degradação do cabelo devido à oxidação do enxofre da ligação de dissulfeto, e conseqüentemente possíveis rupturas das ligações de intercruzamento das cadeias de proteína no cabelo.

Os ensaios de retenção de matérias primas de fragrâncias em formulações distintas de xampu mostraram que o aldeído C9 teve maior persistência em cabelo virgem em comparação ao linalol, com 2 horas de secagem, e esse comportamento foi associado à capacidade desse álcool em realizar ligações intermoleculares mais fortes com a água que está evaporando e o arrastando para a fase gasosa. O aldeído C9 e o 2-metilbutanoato de etila apresentaram menor persistência em cabelo virgem que em descolorido por 40 minutos, após 2 horas de secagem. Este comportamento está associado à degradação do material da endocutícula do cabelo que facilita a difusão intercelular e à diminuição da reticulação da queratina das células cuticulares que facilita a difusão transcelular das substâncias para fora da estrutura do cabelo. Após 6 horas de secagem, os compostos do grupo éster, mintonat e 2-metilbutanoato de etila, apresentaram baixa persistência em ambos os cabelos, virgem e descolorido por 40 minutos. O acetato de benzila se diferencia dos outros dois ésteres por possuir um substituinte aromático em sua estrutura química, que é capaz de realizar ligações intermoleculares com o enxofre dos resíduos de cistina e com os anéis aromáticos dos resíduos de aminoácido tirosina, fenilalanina, triptofano e histidina do cabelo.

Os ensaios de retenção de matérias primas de fragrâncias em formulação única de xampu mostraram que o cabelo descolorido é capaz de sorver uma maior quantidade de substâncias durante a lavagem com xampu e este comportamento se mantém durante as primeiras 6 horas de secagem. Esse fenômeno está relacionado à formação de cavidades no complexo da membrana celular (CMC), devido à degradação e dissolução dos grânulos de melanina, na endocutícula e na matriz cortical, como demonstrado pelos ensaios de RMN.

O ensaio de cinética de dessorção de umidade demonstraram que o cabelo Caucásico castanho escuro descolorido por 40 minutos foi capaz de sorver  $28,1 \text{ mg}_{\text{água}} \cdot \text{g}_{\text{cabelo}}^{-1}$  a mais que as amostras de cabelo virgem, confirmando que a degradação do cabelo pela reação com peróxido de hidrogênio causa a formação de cavidades na estrutura interna dos fios, promovendo a formação/aumento de sítios ativos de absorção que também foram responsáveis pela maior quantidade de

matérias primas de fragrâncias sorvidas durante a etapa de lavagem das mechas com xampu. A inclinação da reta de  $\ln$  da quantidade de água sorvida em cabelo descolorido apresentou maior decaimento, com coeficiente angular de -0,0365, em comparação ao cabelo virgem, com coeficiente angular de -0,0333, mostrando que a velocidade de desorção de umidade em cabelo descolorido é mais rápida que em cabelo virgem, para as primeiras 10 horas em que as amostras de cabelo foram mantidas a 0 % de umidade relativa. Esse comportamento confirma os resultados obtidos nos ensaios de persistência de fragrâncias para o aldeído C9 e o 2-metilbutanoato de etila, após 2 horas de secagem, e para o 2-metilbutanoato de etila e mintonat, após 6 h de secagem (Tabela 13), que apresentaram menor persistência em cabelo descolorido que em cabelo virgem, devido ao aumento da difusão intercelular e transcelular, causada pela degradação da endocutícula e diminuição da reticulação da queratina das camadas A e exocutícula, pela reação de descoloração com peróxido de hidrogênio.

## VI. REFERÊNCIAS

- 
- [1] C.R. Robbins, "Chemical and Physical Behavior of Human Hair", 4<sup>a</sup> Ed. New York: Springer-Verlag, 2002.
- [2] C. Popescu, H. Höcker, "Hair: the most sophisticated biological composite material", *Chemical Society Reviews*, 36, p. 1282 – 1291, (2007).
- [3] C. Scanavez, "Aterações na ultra-estrutura do cabelo induzidas por cuidados diários e seus efeitos nas propriedades de cor", Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 2001.
- [4] J.A. Swift, "Human hair cuticle: Biologically conspired to the owner's advantage", *Journal of Cosmetic Science*, 50 (1), 23–47, (1999).
- [5] D.L. Nelson, M.M. Cox, "Lehninger: Principles of biochemistry", 4<sup>a</sup> Ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2005.
- [6] L.J. Wolfram, "Human hair: A unique physicochemical composite", *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, 106-114, (2003).
- [7] R.C.C. Wagner, I. Joekes, "Hair protein removal by sodium dodecyl sulfate", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 41 (1), 7–14, (2005).
- [8] L.J. Wolfram, K., Hall, I., Hui, "The Mechanism of Hair Bleaching", *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 21, p. 875-900, (1970).

- 
- [9] A.M. Mitu, "Damage assessment of human hair by electrophoretical analysis of hair protein", Tese de Doutorado, Faculdade de Matemática, Informática e Ciências da Natureza, RWTH-Aachen, 2004.
- [10] F.J. Wortmann, M. Gotsche, H. Schmidt-Lewerkühne, "Diffusion and distribution of element-labelled surfactants in human hair", *Journal of Cosmetic Science*, 26, p. 61-69, (2004).
- [11] E.T. Theimer, "Fragrance Chemistry: The Science of Smell", New Jersey: Editora, 1982.
- [12] H. Surburg, J. Panten, "Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, properties and uses", 5ª Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.
- [13] D.H. Pybus, C.S. Shell "The chemistry of fragrances", Ashford: RSC Paperbacks, 1999.
- [14] T. Stora, S. Escher, A. Morris, "The physicochemical basis of perfume performance in consumer products", *Chimia*, 55 (5), p. 406-412, (2001).
- [15] F.J. Wortmann, C. Springob, G. Sendelbach, "Investigations of Cosmetically Treated Human Hair by Differential Scanning Calorimetry in Water", *Journal of Cosmetic Science*, 53, p. 219-228, (2002).
- [16] J.M. Blakeway, M. Seu-Salerno. "Substantivity of perfume materials to hair", *International Journal of Cosmetic Science*, 5, p 15-23, (1983)
- [17] A.L.P. Valente, F. Augusto, Microextração por Fase Sólida, *Química Nova*, 23 (4), 523 – 530, 2000.
- [18] F. Augusto, A.L. Lopes, C.A. Zini, Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances, *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (3), 160 – 169, 2003.
- [19] Z. Zhang, J. Pawliszyn, Solid-Phase Microextraction, *Analytical Chemistry*, 66 (17), 844 – 853, 1994.
- [20] J. Pawliszyn, "Handbook of Solid-Phase Microextraction, Pequim: Chemical Industry Press, 2009.
- [21] <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/reporter-us/bioanalysis-with-spme.html>, acessado em 8 de maio de 2014.
- [22] D. Rowe, "Chemistry and technology of flavours and fragrances", CRC Press, 2005.
- [23] R.G. Berger, "Flavours and fragrances: Chemistry, bioprocess and sustainability", Berlim: Springer-Verlag, 2007.
- [24] A.C.S. Nogueira, "Foto-degradação do cabelo: Influência da pigmentação da fibra", Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, 2008.
- [25] S.D.F. Alves, "Efeito de tensoativos e radiação ultravioleta na solidez de cabelos tingidos", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 2013.
- [26] B. Barros Neto, I.S. Scarminio, R.E. Bruns, Planejamento e Otimização de Experimentos, Ed. UNICAMP: Campinas, 1995.

- 
- [27] Standard test method for hygroscopic sorption isotherms of building materials ASTM C 1498 – 04a.
- [28] Standard practice for maintaining constant relative humidity by means of aqueous solutions E 104 – 02
- [29] “Constant Humidity Solutions”. In “CRC Handbook of Chemistry and Physics”. 93rd Ed., Internet Version 2013, Section 15, p.33.
- [30] H. Yoshizu, I. Ando, “Conformational Characterization of Wool Keratin and S-(Carboxymethyl) keratin in the Solid State by  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR Spectroscopy”, *Macromolecules*, 23, 2908-2912, (1990).
- [31] E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, W. Simon, Tables of spectral data for structure determination of organic compounds, Berlin: Springer-Verlag, (1989).
- [32] I. Ando, “Helix change of polypeptides in the solid state as studied by NMR spectroscopy”, *Macromolecular Symposia*, 101, 371-377, (1996).
- [33] N. Nishikawa, Y. Tanizawa, S. Tanaka, Y. Horiguchi, T. Asakura, “Structural change of keratin protein in human hair by permanent waving treatment”, *Polymer*, 39 (16), 3835–3840, (1998).
- [34] N. Nishikawa, Y. Tanizawa, S. Tanaka, Y. Horiguchi, H. Matsuno, T. Asakura, “Carbon-13 n.m.r. studies of keratin intermediate filament of human hair”, *Polymer*, 39 (4), 1001-1004, (1998).
- [35] S. B. Ruetsch, Y. Kamath, H.-D. Weihmann, “Photodegradation of human hair: An SEM study”, *Journal of Cosmetic Science*, 51, 103-125, (2000).
- [36] E.J. Crane, J. Vervoort, A. Claiborne, “ $^{13}\text{C}$  NMR Analysis of the Cysteine-Sulfenic Acid Redox Center of Enterococcal NADH Peroxidase”, *Biochemistry*, 36, 8611 – 8618, (1997).
- [37] L. Utiu, D.E. Demco, R. Fechete, M. Möller, C. Popescu, “Morphology and molecular dynamics of hard  $\alpha$ -keratin based micro-tubes by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR”, *Chemical Physics Letters*, 517, 86–91, (2011).
- [38] The Good Scents Company Database: <http://www.thegoodscentscompany.com/>, acessado em 24 de junho de 2014.
- [39] M. Pavani, “Persistência de fragrância em cabelo: Influência das propriedades físico-químicas e da encapsulação de óleo essencial”, Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP, 2013.
- [40] K.S.C. Reid, P.F. Lindley, J.M. Thornton, “Sulphur-aromatic interactions in proteins”, *Federation of European Biochemical Societies*, 190 (2), 209 – 213, (1995).
- [41] M.O. Sinnokrot, E.F. Valeev, C.D. Sherrill, “Estimates of the Ab Initio Limit for  $\pi$ - $\pi$  Interactions: The Benzene Dimer”, *Journal of American Chemical Society*, 124 (36), 10887 – 10893, (2002).
- [42] <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C78706&Mask=200>, acessado em 11 de agosto de 2014.

- 
- [43] <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=124-19-6>, acessado em 11 de agosto de 2014.
- [44] M. Richena, M. Silveira, C.A. Rezende, I. Joekes, "Yellowing and bleaching of grey hair caused by photo and thermal degradation", *Journal of Photochemistry and Photobiology B (Biology)*, (2014).
- [45] S. B. Ruetsch, Y. Kamath, H. D. Weigmann, "Photodegradation of human hair: An SEM study", *Journal of Cosmetic Science*, 51, 103-125, (2000).
- [46] K.M Colombero, "Efeito de condicionadores comerciais nas propriedades mecânicas e nos processos de difusão de fibras capilares", Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UNICAMP, 2004.
- [47] I.N. Levine, "Physical-chemistry", 6a ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 2009.
- [48] C. Barba, M. Martí, A.M. Manich, J. Carilla, J.L. Parra e L. Coderch, "Water absorption/desorption of human hair and nails", *Termochimica Acta*, 503-504, 33-39,(2010).
- [49] L. Pauling, "The adsorption of water by proteins", *Journal of American Chemical Society*, 67 (4), 555-557, (1945).
- [50] S. Ülkü, D. Blaköse, T. Çaga, F. Özkan e S. Ulutan, "A study of adsorption of water vapour on wool under static and dynamic conditions, *Adsorption*, 4, 63-73, (1998).