

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Bioquímica)

DANIELE BORNEA BARRA

**AÇÃO DA LUZ VISÍVEL NA OXIDAÇÃO DA MELANINA E NO
DESCOLORIMENTO DO CABELO**

Versão corrigida da dissertação

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

15/03/2021

DANIELE BORNEA BARRA

**AÇÃO DA LUZ VISÍVEL NA OXIDAÇÃO DA MELANINA E NO
DESCOLORIMENTO DO CABELO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre/Doutor em
Ciências (Bioquímica) ou
Química

Orientador: Prof . Dr. Maurício da Silva Baptista

São Paulo

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

B223 BARRA, Daniele
AÇÃO DA LUZ VISÍVEL NA OXIDAÇÃO DA MELANINA E NO
DESCOLORIMENTO DO CABELO / Daniele BARRA. - São
Paulo, 2021.
124 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de
Bioquímica.

Orientador: Baptista, Maurício

1. Oxidação de melanina . 2. melanina. 3.
clareamento de fio. 4. oxidação de melanina por ação
da luz. I. T. II. Baptista, Maurício , orientador.

Dedicatórias

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, que por sua misericórdia, me permitiu estudar mais do que a média da população brasileira, fui privilegiada, sem merecer para tal.

Dedico aos meus pais, que tão firmemente e amorosamente nos ensinou sobre responsabilidades e liberdades, pois sem responsabilidade, a liberdade é temerosa.

Dedico à família que criei, que juntamente com meu marido, assumimos a responsabilidade de criar nosso amado filho.

Dedico aos amigos, que me alegram e me permitem ser como gosto de ser...livre e leve.

Dedico a todas as experiências (as boas e as difíceis), que me fez chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao meu professor e orientador, Prof. Dr. Maurício Baptista, que tão pacientemente esteve ao meu lado, principalmente nos momentos mais angustiantes desse trabalho.

A todos do laboratório de Processos Fotoinduzidos e Interfaces, em especial a Helena que desenvolveu testes que avaliam a superfície do cabelo e ao Divinomar e a Alessandra, que me deu treinamentos para aprender usar o microscópio Zeiss e todas as pessoas do laboratório que diretamente ou indiretamente me ajudaram com dicas e sugestões.

A todos do IQ USP, principalmente os colaboradores da administração.

A empresa Aquia e a Farma, em especial ao Nestor, por patrocinar uma série de ensaios e experimentos.

Ao Renan Evaristo e ao laboratório de histologia evolutiva ICB 1 do professor José Roberto Machado Cunha da Silva.

E a todos que diretamente ou indiretamente estiveram comigo nessa jornada.

AÇÃO DA LUZ VISÍVEL NA OXIDAÇÃO DA MELANINA E NO DESCOLORIMENTO DO CABELO

Resumo

O dano capilar causado pelo descolorimento oxidativo é muito intenso, sendo que dois fatores são responsáveis por essa ação: primeiro, a ação direta e danosa do oxidante em diversas estruturas capilares e segundo, o dano oxidativo primário facilita o dano causado por outros agentes físicos (luz, temperatura) e químicos (tensoativos), que comumente tem ação nos cabelos. Desenvolver conceitos e tecnologias que possam tornar o oxidante específico para a melanina e por conseguinte efetuando o descolorimento sem causar danos ao fio é extremamente desejável. Neste trabalho buscaremos entender de que forma a luz visível pode aumentar a ação do oxidante sem danificar o fio colateralmente. O objetivo principal deste trabalho é demonstrar que é possível utilizar a luz visível, que é absorvida pela melanina, para tornar esse pigmento mais suscetível ao agente oxidante e desta forma, permitir que o descolorimento seja realizado com concentrações pequenas de oxidante. Também almejamos desenvolver métodos de análises por microscopia ótica de fluorescência e de reflexão para mensurar o dano nas estruturas dos fios processados com oxidante e na presença ou ausência da luz.

Palavras-Chave: descoloração, melanina, luz visível, oxidante, dano capilar, fluorescência, microscopia.

ACTION OF THE VISIBLE LIGHT ON THE MELANIN OXIDATION AND HAIR DISCOLORATION

ABSTRACT

Barra D. B. **ACTION OF THE VISIBLE LIGHT ON THE MELANIN OXIDATION AND HAIR DISCOLORATION** 2021. 127p. Masters Thesis - Graduate Program in Biochemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The capillary damage caused by oxidative discoloration is very intense, and two factors are responsible for this action: first, the direct and harmful action of the oxidant on several capillary structures and second, the primary oxidative damage facilitates the damage caused by other physical agents (light, temperature) and chemicals (surfactants), which commonly have action on the hair. Developing concepts and technologies that can make the oxidant specific to melanin and therefore discoloring without causing damage to the hair is extremely desirable. In this work we will try to understand how visible light can increase the oxidant's action without damaging the hair collaterally. The main objective of this work is to demonstrate that it is possible to use visible light, which is absorbed by melanin, to make this pigment more susceptible to the oxidizing agent and, thus, to allow the discoloration to be carried out with small concentrations of oxidizer. We also aim to develop methods of analysis by optical fluorescence and reflection microscopy to measure the damage to the structures of the threads processed with oxidizer and in the presence or absence of light.

Keywords: discoloration, melanin, visible light, oxidant, capillary damage, fluorescence, microscopy

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Corte transversal de um fio de cabelo	17
Figura 2.	Desenho esquemático da queratina β -folha e α -hélice de queratina	18
Figura 3.	Desenho morfológico da estrutura capilar	20
Figura 4.	Desenho sobre a estrutura de composição do folículo piloso	21
Figura 5.	Representação esquemática das melaninas. Estruturas da eumelanina e da feomelanina	23
Figura 6.	Esquema adaptado para a síntese do grânulo de eumelanina e feomelanina. DQ representa Dopaquinona	19
Figura 7.	Mecanismos básicos do fotobranqueamento da melanina	25
Figura 8.	Espectro de absorção e emissão da melanina SA	26
Figura 9.	Foto-oxidação da melanina	27
Figura 10.	Efeito da luz visível na melanina	30
Figura 11.	Reação de oxidação da melanina por oxidantes (persulfatos ou peróxidos de hidrogênio)	31
Figura 12.	Especificidades dos novos métodos sensoriais	35
Figura 13.	Imagem sensorial de dois produtos cosméticos	36
Figura 14.	L-triptofano e suas derivadas foto-oxidadas	43
Figura 15.	Microscópio invertido	46
Figura 16.	Tabela de cores naturais dos cabelos	48
Figura 17.	Foto de uma lâmina com fio inteiro preparada	49
Figura 18.	Tabela de amostras e controles	57
Figura 19.	Fotos de mechas dos cabelos naturais e após a descoloração	59
Figura 20.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 3N, 200ms de exposição, objetiva ApoChrom40X	64
Figura 21.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 3P40, 200ms de exposição, objetiva ApoChrom40X	64
Figura 22.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 3N, 40 de exposição, EpiPlan50x	66
Figura 23.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 3P40, 40 de exposição, Epiplan 50x	66
Figura 24.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 4N, 200 de exposição, ApoChrom40x	68
Figura 25.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 4P40, 200 de exposição, ApoChrom40x	68
Figura 26.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 4N, 40 de exposição, 50xEpiplan	68

Figura 27.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 4P40, 40 de exposição, 50xEpiplan	69
Figura 28.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 5N, 200 de exposição, ApoChrom40X	71
Figura 29.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 5P40, 200 de exposição, ApoChrom40X	71
Figura 30.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 5N, 40 de exposição, 50xEpiplan	72
Figura 31.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 5P40, 40 de exposição, 50xEpiplan	72
Figura 32.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 6N, 200 de exposição, ApoChrom40X	73
Figura 33.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 6P40, 200 de exposição, ApoChrom40X	74
Figura 34.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 6N, 40 de exposição, 50xEpiplan	74
Figura 35.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 6P40, 40 de exposição, 50xEpiplan	75
Figura 36.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 7N, 200 de exposição, ApoChrom40X	76
Figura 37.	Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 7P40, 200 de exposição, ApoChrom40X	76
Figura 38.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 7N, 40 de exposição, 50xEpiplan	77
Figura 39.	Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 7N, 40 de exposição, 50xEpiplan	77
Figura 40.	Intensidade de fluorescência/área nos cortes histológicos de cabelos naturais (N) e de cabelos descoloridos com tratamento oxidativo (p40)	78
Figura 41.	Fotos das mechas naturais com suas respectivas fotos de transmissão do corte histológico evidenciando a quantidade de melanina	80
Figura 42.	Intensidade de fluorescência por área no fio inteiro de cabelos naturais (N) e de cabelos descoloridos com tratamento oxidativo (P40)	81
Figura 43.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 3N, 12ms de exposição, 50xEpiplan	83
Figura 44.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 3P40, 12 de exposição, 50x Epiplan	83
Figura 45.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 4N, 12ms de exposição, 50xEpiplan.	84
Figura 46.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 4P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan	84
Figura 47.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 5N, 12ms de exposição, 50xEpiplan	85
Figura 48.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 5P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan.	85
Figura 49.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos	86

	cabelos 6N, 12ms de exposição, 50xEpiplan	
Figura 50.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 6P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan	86
Figura 51.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 7N, 12ms de exposição, 50xEpiplan	87
Figura 52.	Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 7P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan.	87
Figura 53.	Gráfico das medidas de contraste das camadas cuticulares nos fios inteiros.	88
Figura 54.	Fotos dos fios da série N, que estão na linha de cima e fotos da série P40, nas linhas abaixo.	90
Figura 55.	Gráfico da contagem de fios nos cortes histológicos com ou sem rachaduras	91
Figura 56	Fios de cabelo de cor inicial 4, antes e após os descolorimentos químico e fotoquímico (410nm xx J.cm-2), variando-se o pH de 3,5 à 10, a temperatura ambiente.	95
Figura 57.	Fotos de fios naturais de tom 4, embebidos em solução de peróxido de hidrogênio (2mol.L-1) por 1hora e mantidos no escuro (N) irradiados com luz azul (AZ), verde (VD), vermelho (VM)	97
Figura 58.	Fios de cabelos tom 4 tratados Foto do resultado obtido após a oxidação nas mais variadas formas.	99
Figura 59.	Foto em detalhe das amostras 1, 2, 3 em comparação com o Controle CP30. Essa foto tem alteração de brilho e contraste para destacar a variação das cores obtidas com a oxidação	99
Figura 60.	Micrografias dos cortes histológicos das amostras AAZ	101
Figura 61.	Micrografias dos cortes histológicos das amostras CAE	101
Figura 62.	Micrografias dos cortes histológicos do controle de irradiação, amostras CAZ	102
Figura 63.	Micrografias dos cortes histológicos do fio natural. Controle natural (CN)	102
Figura 64.	Micrografias dos cortes histológicos da mecha de controle de cor, amostra CP30	103
Figura 65.	Gráfico Intensidade de fluorescência/área nos cortes histológicos das amostras AAZ, CAE, CAZ, CN e CP30	104
Figura 66.	Fotos dos fios inteiros de todas as amostras geradas nesse teste. AAZ	107
Figura 67.	Gráfico da intensidade de fluorescência/área dos fios inteiros	107
Figura 68.	Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros AAZ	109
Figura 69.	Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros AE	110
Figura 70.	Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros dos	110

	controles.	
Figura 71.	Fotos em detalhe das superfícies de um cabelo AAZ (irradiado com luz azul embebido em peróxido de hidrogênio), CN: cabelo natural, CP30 (descolorido com massa descolorante)	111
Figura 72.	Gráfico das medidas de contraste das camadas cuticulares nos fios inteiros	112
Figura 73.	Fotos em detalhe do corte histológico de um cabelo AAZ (irradiado com luz azul embebido em peróxido de hidrogênio), CN: cabelo natural, CP30 (descolorido com massa descolorante)	113
Figura 74.	Gráfico da contagem de fios nos cortes histológicos com ou sem rachaduras.	115

SUMÁRIO

1. Introdução.....	16
1.1. Contextualização do assunto.....	16
1.2. Fio de cabelo.....	17
1.3. Melanina.....	22
1.4. Ação da luz no fio.....	28
1.5. Ação dos agentes oxidantes para descoloração do fio.....	30
1.6. Comparação entre ações dos agentes oxidantes e por radiação.....	32
1.7. Métodos de análise para avaliar dano no fio.....	33
1.7.1. Especificidade dos testes novos sensoriais.....	35
1.7.2. Testes macroscópicos.....	37
1.7.2.1 Alterações mecânicas e de hidrofobicidade.....	38
1.7.2.2 Tipos de testes mais comuns para alterações.....	40
1.7.3. Testes microscópicos e testes de composição química.....	41
1.7.3.1. Análise de estrutura e dano do fio por método fluorescente.....	42
2. Objetivos	44
2.1. Objetivos Específicos.....	44

3. Detalhes experimentais	45
3.1. Reagentes.....	45
3.1.1. Materiais e reagentes.....	45
3.2. Equipamentos.....	46
3.2.1. Microscópio Invertido de fluorescência.....	46
3.2.2. Máquina de corte histológico.....	47
3.3. Métodos.....	47
3.3.1. Método de determinação da cor de cada mecha.....	47
3.3.2. Método de tratamento das amostras de cabelo.....	48
3.3.3. Método de preparação da lâmina com o fio inteiro para anal. microsc.....	49
3.3.4. Cortes histológicos.....	50
3.3.5. Microscopia de fluorescência (condições do microscópio).....	51
3.3.6. Detalhamento das análises de fio inteiro.....	52
3.3.7. Análise de fluorescência dos cortes histol. dos fios de cabelos.....	52
3.3.8. Análise de transmissão dos cortes histológicos.....	53
3.3.9. Anál. de medida de intens. de fluoresc. do fio inteiro e do corte histológico....	53
3.3.10. Contagem de fios inteiros e partidos após o corte histológico.....	53
3.3.11. Análise da estrutura da cutícula do fio.....	54
3.3.12. Análise estatística.....	55

3.3.13. Preparo das amostras de cabelo para irradiação.....	55
3.3.14. Método de preparo das amostras para o teste com luz azul e oxidante brando (solução de 2M e pH 11).....	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	58
4.1. Descolorimento químico e validação dos métodos de análise.....	58
4.1.1 Fluorescência.....	60
4.1.2. Microscopia de Reflectância.....	81
4.1.3. Resistência ao corte histológico.....	89
4.1.4. Considerações finais da parte 1.....	92
4.2. Descolorimento fotoquímico.....	93
4.2.1. Maximização do descolorimento fotoquímico.....	94
4.2.2. Fluorescência.....	100
4.2.3. Microscopia de Refletância.....	108
4.2.4. Resistência ao corte histológico.....	113
4.2.5. Considerações finais da parte 2.....	115
5. CONCLUSÕES.....	117
6. REFERÊNCIAS.....	119

1. Introdução

1.1. Contextualização do Assunto

O desenvolvimento da tecnologia de mudança da cor dos cabelos trouxe uma variedade enorme de possibilidades de serviços para atender pessoas que queiram transformar seus cabelos. As possibilidades em termos de cores, brilhos, tons, técnicas de aplicação etc., tem evoluído significativamente ao longo do tempo. No entanto, apesar das cores e técnicas de coloração mudarem com grande frequência, a tecnologia de descoloração não mudou significativamente nas últimas décadas.

As descolorações ou decapagens são processos muito agressivos para o fio de cabelo, pois são realizadas através de reações químicas oxidativas almejando a melanina ou os pigmentos artificiais, porém que agem sem especificidade, ou seja, além de oxidar pigmentos, oxidam também outras estruturas, como as cutículas e internas do fio (no córtex), danificando severamente o fio.

As melaninas são grânulos densos presentes em uma grande variedade de seres vivos. Geralmente tem função de proteção e, por conseguinte são relativamente estáveis a danos químicos e físicos (Solano F. 2014). A descoloração da melanina é um processo complexo, (Korytowski; Sarna, 1990), que necessita de oxidantes fortes e envolve dois estágios principais. Na primeira etapa ocorre a oxidação reversível dos grupos superficiais derivados da hidroquinona. A partir deste processo a estrutura do grânulo de melanina começa a ceder permitindo a oxidação irreversível dos monômeros, que causam a quebra da cadeia e a degradação do polímero. Uma vez que o descolorimento do fio requer uso de oxidantes fortes, ocorre naturalmente danos em outras estruturas da fibra capilar.

1.2. Fio de cabelo

O fio de cabelo é uma fibra biológica constituída pela organização de macromoléculas principalmente proteicas, mas também lipídicas, organizadas por estruturas complexas supramoleculares, através de ligações covalentes e não covalentes. As proteínas fibrosas possuem propriedades que fornecem força e flexibilidade às estruturas. Todas as proteínas fibrosas do cabelo, são estruturas simples de alfa-hélice de queratina, com seus filamentos torcidos entre si, formando espirais enroladas (Figura 1). A queratina é uma proteína fibrosa que pode ser composta por estruturas secundárias alfa-hélice e/ou beta-folha. Essas torções proteicas é que fornecem a resistência, porém sem perda de flexibilidade, como se fosse uma corda (Nelson et al, 2014).

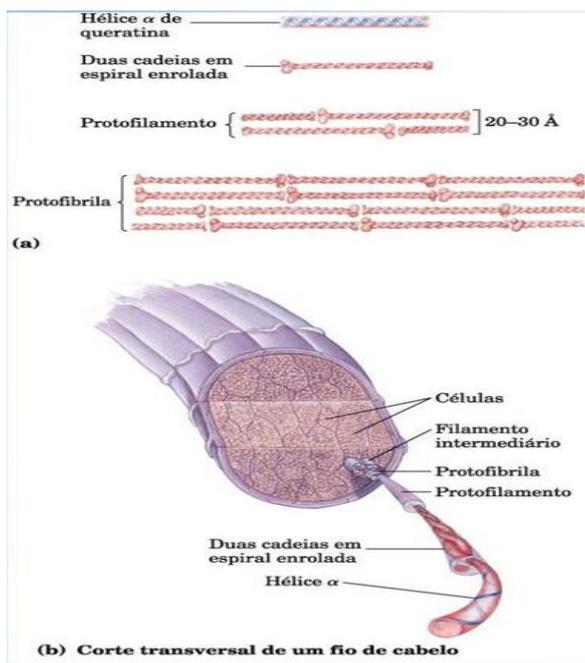


Figura 1. Corte transversal de um fio de cabelo (Nelson et al, 2014).

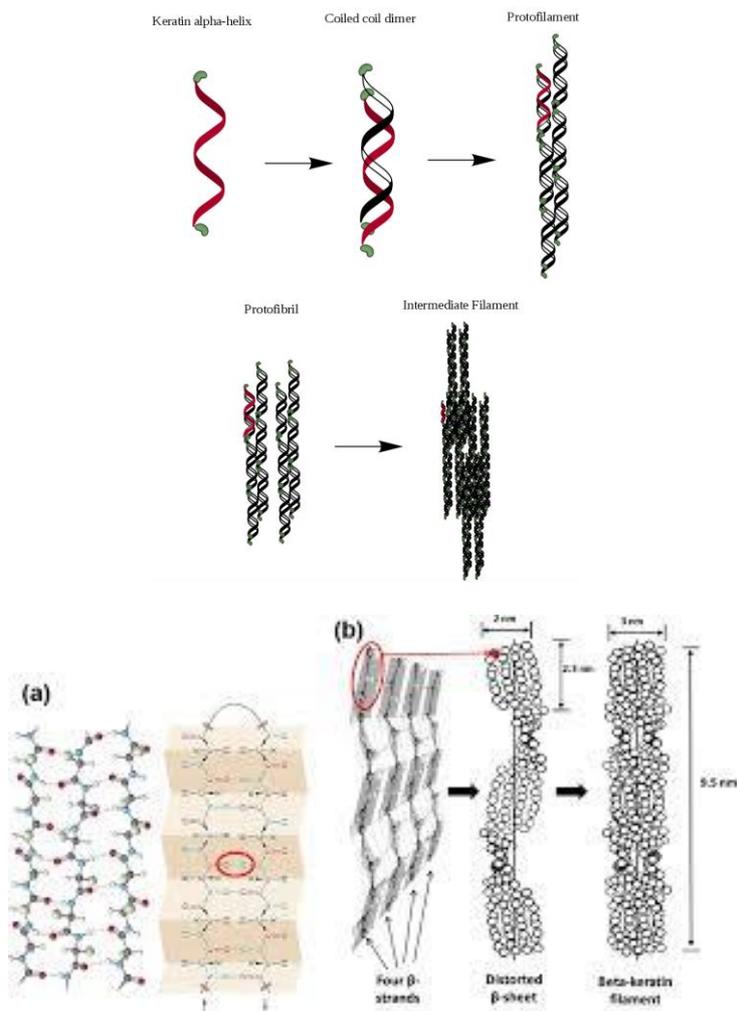


Figura 2. Desenho esquemático da queratina β -folha e α -hélice de queratina (Nelson et al, 2014).

As alfa-hélices de queratinas fornecem a força contra a ruptura dos fios e constituem praticamente todo o peso seco do cabelo. O alto conteúdo de enxofre (~5%) pela presença frequente do aminoácido cisteína, geralmente formando ligações dissulfeto, fornecem uma parte importante da rigidez e da resistência das fibras. Os segmentos de alfa-hélice se entrelaçam, até formar protobrilas (32 alfa-hélices de queratina entrelaçadas). Quatro protofibrilas se combinam para formar um filamento intermediário. A resistência das proteínas fibrosas é aumentada pelas ligações covalentes entre as cadeias peptídicas nas “cordas” multi-helicoidais e

entre as cadeias adjacentes em um arranjo supramolecular. Nas queratinas, as ligações entre cadeias que estabilizam a estrutura quaternária são as ligações dissulfeto (Nelson et al, 2014). Nas regiões cuticulares, são as folhas beta e não de alfa-hélices que compõe o fio de cabelo (Santos, 2017). Estruturas em folhas beta podem também aparecer após o estiramento do fio. Dependendo do nível estiramento, a transição alfa-hélice/folha beta é reversível, e após humedecimento do fio, a queratina volta à sua configuração alfa-hélice (Leszek; Hall e Hui, 1970).

O fio de cabelo possui cerca de 80µm de diâmetro, cerca de 10% do fio é constituído por células da cutícula sobrepostas queratinizadas ao redor das células corticais e da medula central, que nem sempre se encontra presente e, às vezes, se encontra de forma descontínua (Figura 3). Um complexo de membranas celulares ricos em lipídios abraça as células corticais, mantendo as microfibrilas juntas, sendo estas formadas pelos filamentos intermediários. O córtex forma a maior parte do eixo do cabelo (cerca de 65 a 95%) e é composto por paracórtex com filamentos intermediários (FI) alinhados hexagonalmente na matriz e o ortocórtex com o FI arranjados em espirais. A proporção de células paracorticais e ortocorticais irão determinar a curvatura do fio. A matriz entre as fibras proteicas embebe todas as células corticais. Ela é composta por proteínas, núcleos remanescentes, complexo de membranas celulares e cimento intercelular (Nogueira; Dixelio; Joeques, 2006 e Wang et al. 2016).

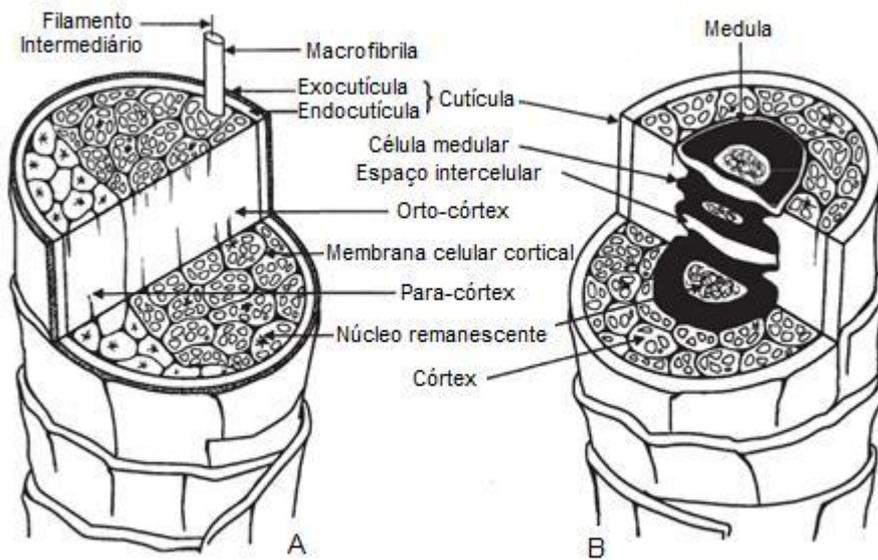


Figura 3. Desenho morfológico da estrutura capilar (Paulo, 2017).

Outra estrutura muito encontrada no córtex do fio é a melanina, que é um pigmento depositado pelos melanócitos no momento da formação do fio. Encontramos cerca de 2 a 3% de melanina no fio, definindo a cor do cabelo por seu tamanho e quantidade (Leszek; Hall; Hui, 1970 e Nogueira; Dicelio; Joekes, 2006). O melanócito se encontra na região externa da papila dérmica. Essas células liberam seus produtos celulares (melanina) dentro do folículo piloso, logo acima da região da papila. As células corticais (paracórtex e ortocórtex) recebem os filamentos intermediários, que ficarão queratinizados (Barnicot; Birbeck; Cuckow, 1955 e Leszek; Hall; Hui, 1970) e coloridos pela presença da melanina na sua composição (Figura 4).

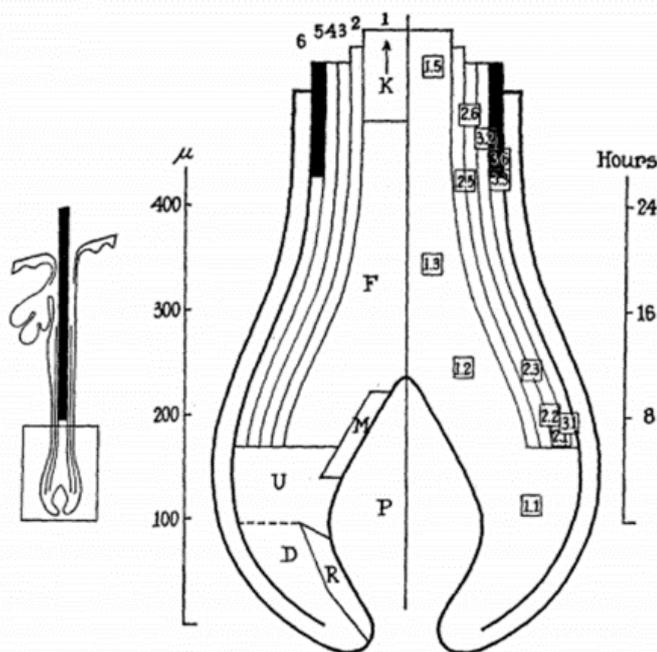


Figura 4. Desenho sobre a estrutura de composição do folículo piloso. P: papila dérmica. M. melanócitos. F: região em que as fibras de queratina são formadas. K: zona de diferenciação. U: matriz indiferenciada. D: zona de divisão e R: camada germinativa. (Barnicot; Birbeck e Cuckow, 1955).

1.3. Melanina

A melanina é um polímero sintetizado a partir da L- tirosina sob a ação da enzima tirosinase, enzima produzida no melanócito numa organela específica chamada de melanossomo. O melanócito está ao redor do folículo e enquanto o folículo encontra-se na fase anágena, o melanócito fica ativo, produzindo e liberando a melanina que será parte constituinte do fio de cabelo.

Existem dois tipos de melanina, a eumelanina e a feomelanina (Figura 5). A primeira possui coloração marrom, marrom escura e até mesma preta, já a feomelanina possui coloração que varia do vermelho ao amarelo. A melanogênese da eumelanina e da feomelanina possuem etapas de síntese em comum, porém se na etapa da dopaquinona estiver em presença de cisteína, a reação se desloca para

a produção de feomelanina e na ausência de cisteína, a reação se direciona para a formação de eumelanina (Figura 6).

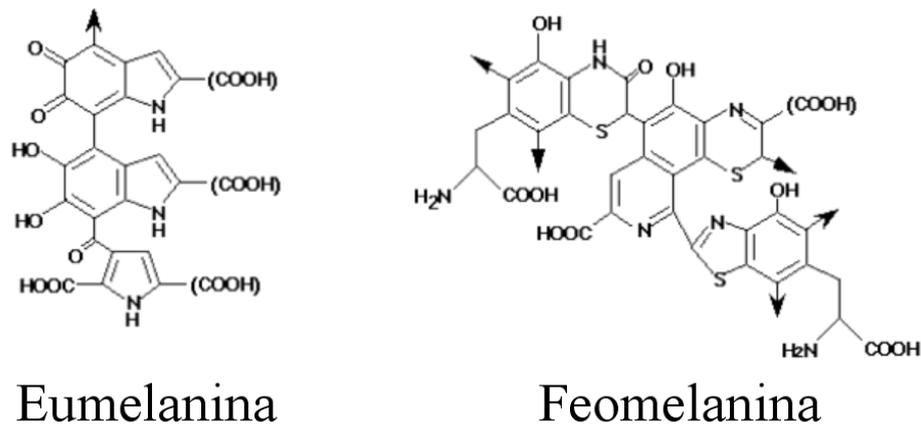


Figura 5. Representação esquemática das melaninas. Estruturas da eumelanina e da feomelanina (Wakamatsu K, Ito S. 2002).

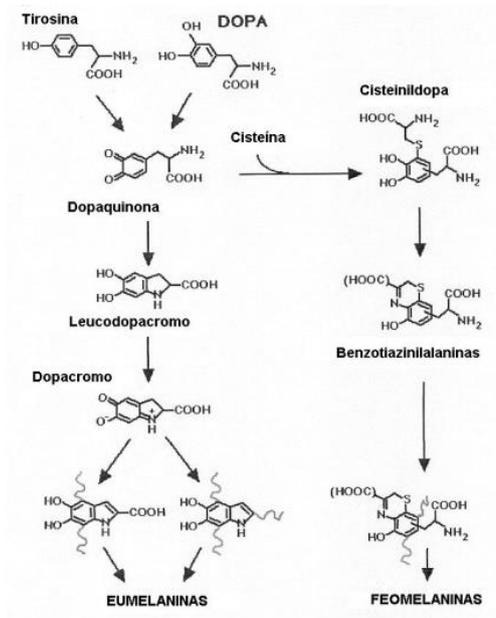


Figura 6. Esquema adaptado para a síntese do grânulo de eumelanina e feomelanina. DQ representa Dopachinona (Ito S, Wakamatsu K., 2008).

Melaninas são biomoléculas fotoprotetores naturais da pele e do cabelo. Em suas moléculas há muitas duplas ligações conjugadas, de tal forma que ocorre absorção de luz em toda faixa espectral e principalmente no UVB. De fato, as melaninas agem como filtros protetores, servindo como moléculas de sacrifício absorvendo a luz UVB. As melaninas também tem ação anti-oxidante comprovada (Gonçalves R. C. R, Pombeiro-Sponchiado S. R, 2005).

. Embora sejam fotoprotetoras, as melaninas também podem formar espécies reativas como radical ânion super peróxido ($O_2^{\cdot-}$) (Sotomatsu A., Tanaka M. e Hirai S., 1994) e oxigênio singlete (Chiarelli-Neto, 2011). A absorção luminosa e a formação de espécies reativas oxidantes são uma das características da melanina que a torna fotossensibilizante (Chiarelli-Neto Plos One 2014). Os fotossensibilizadores absorvem luz em um comprimento de onda específico e transferem esta energia de excitação para moléculas aceptoras. Inicialmente essas moléculas passam do estado fundamental para um estado eletronicamente excitado singlete, podendo retornar ao estado fundamental emitindo luz (fluorescência), calor ou passar para um estado excitado triplete. Por serem reativos e terem tempo de vida relativamente longos, estados tripletes são os principais envolvidos nas reações de foto-oxidação (Chiarelli-Neto, 2014).

As espécies reativas geradas pelas moléculas fotossensíveis que foram estimuladas pela luz UV e visível podem causar oxidação em biomoléculas como DNA, proteínas e lipídeos. Respostas celulares que utilizam a oxidação para ativar vias de sinalização do organismo são usados para sinalizar situações de estresse relacionadas à foto-oxidação (Chiarelli-Neto, 2014).

O dano no cabelo acaba acontecendo em função da degradação de alguns aminoácidos, como por exemplo, o triptofano (mais sensível a fotodegradação) e a própria melanina (Chiarelli-Neto 2011). A cutícula também sofre fotodegradação por, sendo os cabelos claros que sofrem mais danos que os escuros (Robbins, 2012). O modo mais bem definido sobre como a radiação é capaz de danificar aminoácidos é explicado através de reações de oxidação do tipo I e tipo II que acabam atingindo as biomoléculas estruturais do cabelo, levando ao dano (Baptista et al, 2017; Robbins, 2012 e Severino et al, 2016).

As melaninas têm claramente características dicotômicas, pois enquanto de um lado a melanina é uma fotoprotetora da pele e do cabelo, por outro lado é uma molécula fotossensível, podendo ser produtora de ROS. A interação da melanina com a luz no comprimento de ondas do visível e a formação subsequente de espécies tripletes e de oxigênio singlete, torna essa molécula um alvo para ações fotoquímicas almejando fotobranqueamento do fio.

A melanina é um cromóforo que absorve radiação no UV e no visível e essa capacidade é responsável pelos efeitos fotofísicas produzidas na melanina, especificadamente a absorção e a emissão luminosa na região do visível. Como pode ser observado na Figura 7, a melanina apresenta absorção e fluorescência, que se estende por toda a região do visível.

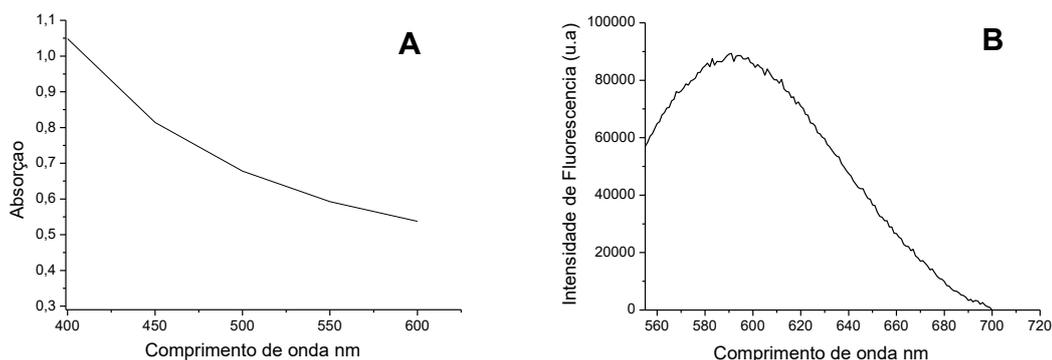


Figura 7. Espectro de absorção e emissão da melanina. A: Espectro de absorção. B: espectro de Fluorescência da melanina SA em NaOH 0,01M a 25°C (Chiarelli-Neto, 2014).

Uma parte dos estados excitados da melanina acaba levando a formação de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) (Figura 8). Quanto mais desestruturado está o polímero, maior a exposição dos seus cromóforos e por conseguinte maior é a geração de oxigênio singlete (Figura 9B). Além de gerar $^1\text{O}_2$, Chiarelli-Neto e coautores demonstraram que a melanina também reage com $^1\text{O}_2$ o suprimindo por processos físicos e químicos (Chiarelli-Neto 2011).

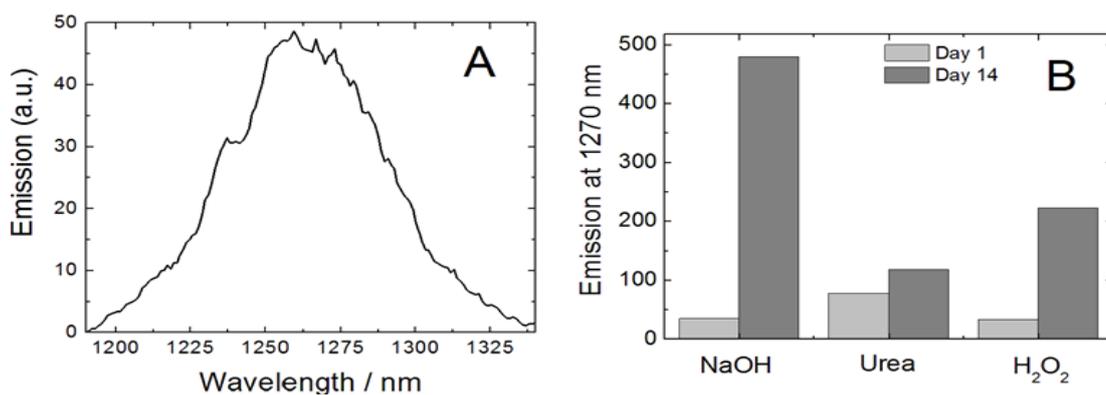


Figura 8. Espectro de emissão de O_2 da melanina em solução de NaOH 0,1 M obtido no dia da preparação da amostra. (B) Intensidade de emissão de O_2 nos dias 1 e 14 em NaOH 0,1 M, 6,0 M ureia e H_2O_2 0,1 M. (Figura publicada originalmente Chiarelli-Neto 2011 FRBM).

A supressão química leva ao fotobranqueamento do pigmento. Chiarelli-Neto e co-autores propuseram que esse processo de fotobranqueamento ocorre inicialmente pela formação de hidroperóxido derivado dos grupos indóis da melanina (Figura 10). A irradiação da melanina com seu consequente clareamento sob luz visível mostrou a formação de um pico de RMN de H^1 a 8,4 ppm (singlete) e com um subsequente decréscimo nos picos dos padrões indol aromáticos (7,7-7,8 ppm). Katritzky e colaboradores também observaram o mesmo pico em 8,4 ppm quando oxidaram a melanina com peróxido de hidrogênio. Uma vez que a via da reação principal de 1O_2 com indol é a formação de um hidroperóxido no carbono C3, notamos que o deslocamento da ligação dupla para a vizinhança do nitrogênio pode explicar a formação de tal grupo químico (Chiarelli-Neto, 2014), como pode ser observado na figura 10. Estes resultados demonstraram que a luz visível é capaz de induzir a degradação do anel indólico da melanina e o passo inicial desta reação é a formação de um hidroperóxido na posição C3 do grupo indol.

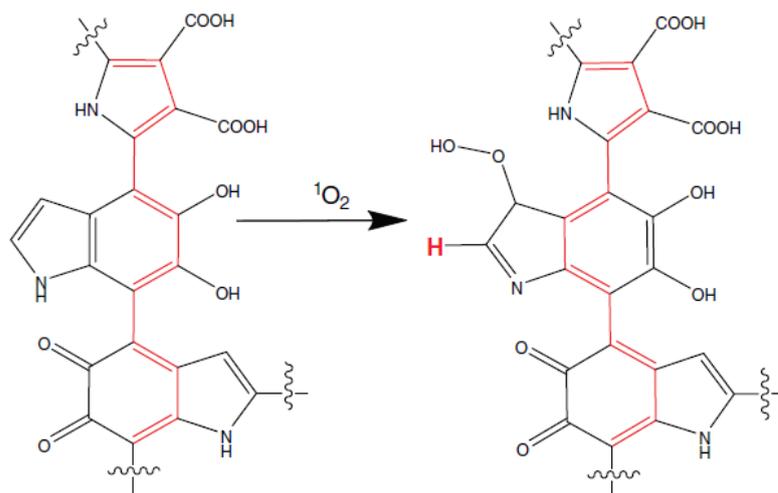


Figura 10. Foto-oxidação da melanina. O esquema mostra a proposta de mecanismo de reação da foto-oxidação da melanina pelo oxigênio singlete, e a formação de hidroperóxido demonstrada pela técnica de RMN H^1 , compatível com a reação de oxigênio singlete e grupo indol (Chiarelli-Neto, 2011).

A geração de $^1\text{O}_2$ indica que a excitação de melanina no visível leva a formação de estados excitados de tempo de vida longo (estados tripletes). Estes são suscetíveis a reagir tanto com oxigênio formando $^1\text{O}_2$ como também com substratos presentes na sua proximidade por transferência de elétrons (mecanismo tipo I). A formação de radicais derivados dos tripletes (pode tanto ser compostos formados pela oxidação ou redução dos substratos), permite que estes reajam com oxigênio e podem gerar outros radicais livres. Embora só tenhamos comprado o intermediário derivado da reação do oxigênio singlete com melanina, este conjunto de reações é responsável por causar o fotobranqueamento da melanina (Figura 11).

O reconhecimento da formação de espécies tripletes geradas a partir da melanina é um aspecto bem interessante da fotoquímica da melanina. Tripletes são alvos relativamente fáceis para espécies redutoras e oxidantes presentes no seu microambiente. Dai surge a possibilidade de usar um agente nucleofílico (peróxido de hidrogênio desprotonado) como composto que aumentaria a velocidade do fotobranqueamento induzido pela irradiação de cabelos. Buscaremos realizar testes que possam demonstrar que a irradiação do fio na presença de oxidantes brandos, poderia facilitar o processo de descolorimento, com efeitos benéficos ao fio de cabelo. Identificar agentes oxidantes que possam na presença de luz causar o branqueamento da melanina sem causar danos nas demais estruturas do cabelo é muito desejável, pois o cabelo contribui significativamente com a imagem visual do indivíduo. Infelizmente, grande parte das pessoas não se preocupa com a consequência dos agentes químicos usados no clareamento capilar.

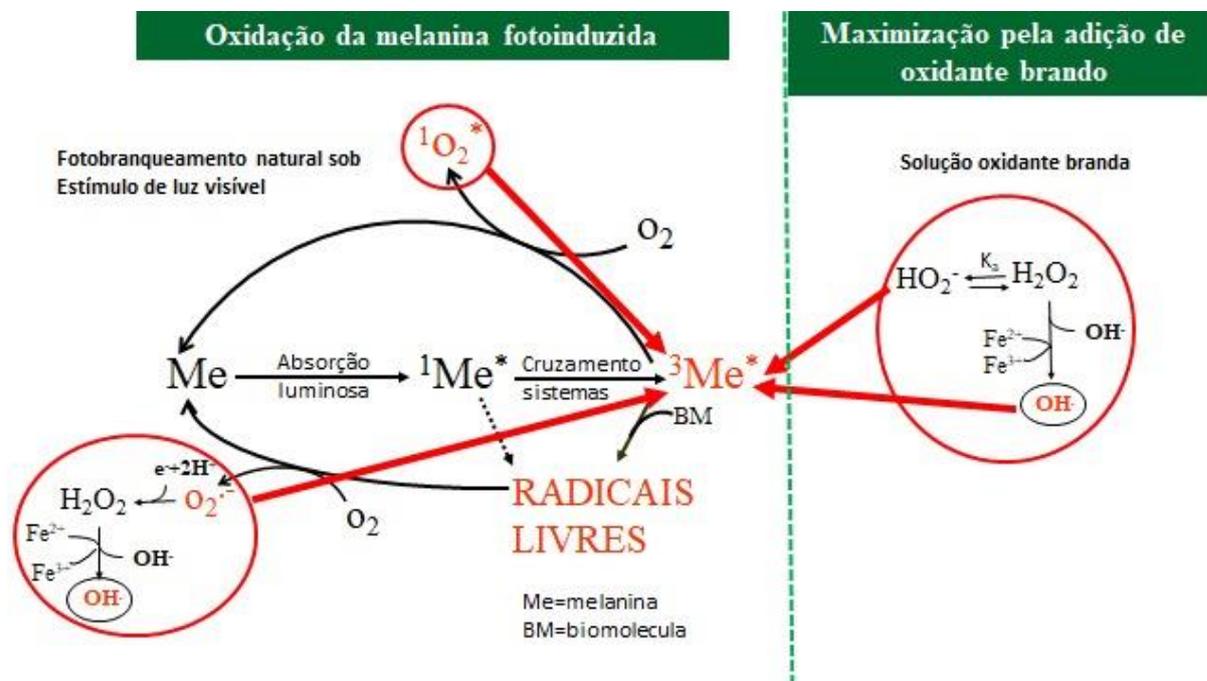


Figura 11. Mecanismos básicos do fotobranqueamento da melanina. (Esquerda) Fossensibilização da melanina leva a processos oxidativos de fotobranqueamento em cabelos naturais. A Melanina do cabelo (Me) absorve luz, formando o estado excitado singlete (1Me*). Através do cruzamento de sistemas forma-se o estado excitado tripleto (3Me*), que vive por tempo de vida longa, podendo reagir com oxigênio formando oxigênio singlete (1O₂). 3Me* pode reagir com compostos biomoléculas formando radicais livres, que podem formar com oxigênio formando ânion radical super oxido (O₂^{·-}), que pode gerar radical hidroxila (OH[·]). 1O₂, O₂^{·-}, OH[·] causam a oxidação degradativa da melanina. Uma vez que espécies excitadas são geradas, será possível maximizar a fotodegradação utilizando peróxido de hidrogênio em pH alcalino em condições bem mais branda do que aquelas utilizadas pelo branqueamento puramente químico.

1.4. Ação da luz no fio

O cabelo possui diversas moléculas capazes de interagir com as faixas de luz visível, UVA e UVB. Apesar da queratina ser uma molécula transparente na região do visível, diversos aminoácidos (cisteína, triptofano, tirosina e histidina) interagem com as radiações na faixa do UV (Nogueira; Dicelio; Joekes, 2006 e Nogueira; Joekes, 2004). Por conseguinte, a luz solar produz uma série de ações diferentes no

fio de cabelo, dependendo do tipo de radiação, tempo de exposição, cor do cabelo e qual parte do fio estamos considerando.

A radiação UVB (280-320nm) é a radiação que mais causa danos na queratina do cabelo, mas não é capaz de clarear o fio (Takada et al, 2003). Como a cutícula é a estrutura de queratina mais externa existe no fio, é a primeira a se danificar e que proporcionalmente é a que mais se danifica, podendo levar até a sua queda do fio (Nogueira; Dicelio; Joekes, 2006 e Nogueira; Joekes, 2004). Como a cutícula não possui melanina na sua estrutura, esse dano causado pela radiação UVB não varia com a cor do cabelo e não afeta a cor do cabelo. Ou seja, desde os cabelos mais claros aos mais escuros, o dano proteico é semelhante em qualquer cor de cabelo (Nogueira; Joekes, 2004).

A radiação UVA (320-400nm) também tem diversas ações no fio, pois atravessa a cutícula e chega até o córtex do fio, local em que a queratina se encontra. A radiação UVA é capaz de clarear o fio de cabelo, demonstrando sua ação sobre a melanina. No entanto, a radiação UVA também causa amarelamento do fio, porque age tanto sobre as ligações duplas e do grupo indol da melanina, quanto em alguns aminoácidos e seus derivados produtos de oxidação, facilitando reações cruzadas e o amarelamento do fio (Millington K. R., Church J. S., 1997).

A radiação UVA acaba sendo absorvida por diversas moléculas, que podem se engajar em reações radicalares e que produzem radicais livres, que atacam estruturas do cabelo de forma inespecífica (Figura 11). Embora a melanina seja mais suscetível ao dano pela luz solar e responda à radiação em toda faixa do espectro solar (UV e visível), esta corresponde a apenas 3% da massa total do fio, o que acaba favorecendo dano à queratina. A melanina é capaz de estabilizar alguns

radicais, mas não todos e os radicais que permanecem na fibra, que acabam lesionando a queratina, que se encontra em muito maior quantidade. O principal local de ação destes radicais livres será nas ligações S-S da cistina, levando a formação de ácido cisteíco (Nogueira; Dicelio e Joekes, 2006).

Por outro lado, a luz visível é absorvida especificamente pela melanina, uma vez que nenhuma outra molécula do cabelo absorve nesta faixa espectral eficientemente. De fato, aspectos característicos da fotoquímica da melanina, como por exemplo a geração de oxigênio singlete quando excitada na faixa do visível, acaba sendo também observada no próprio cabelo (Chiarelli-Neto FRBM 2011). Nota-se que a irradiação com luz visível causa o descolorimento lento da fibra capilar, que parece ser um efeito resultante da fotodegradação da melanina, como descrita acima e mostrado na Figura 12B.

Não há dúvidas que a melanina do cabelo sofre ação de despigmentação através da luz (Pavani et al, 2018 e Severino et al, 2018). A luz é capaz oxidar primeiramente a melanina e posteriormente as estruturas internas (Chiarelli-Neto et al, 2011) A melanina também tem ação de proteção contra a radiação solar, sofrendo a oxidação primeiramente, preservando as moléculas estruturas do fio (Severino et al, 2016).

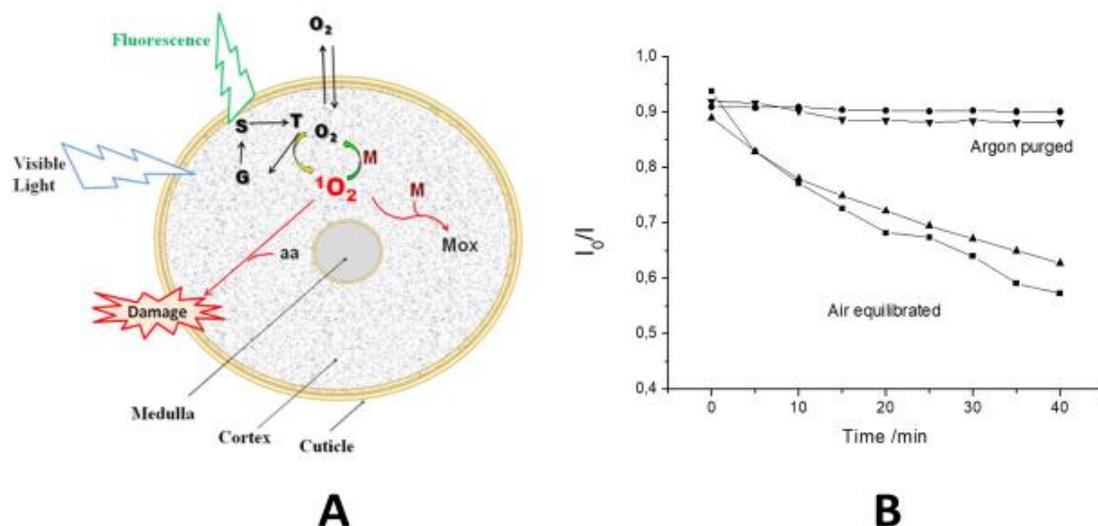


Figura 12. Efeito da luz visível na melanina. (A) Modelo de corte do fio de cabelo mostrando as principais estruturas do fio e o efeito da absorção de luz e fotossensibilização, gerando oxigênio singlete (1O_2), que oxida a própria melanina causando o seu fotobranqueamento. (B) Fotobranqueamento da melanina solubilizada na presença oxigênio (amostra equilibrada com ar) e em solução purgada sem oxigênio (amostra purgada com argônio). Figuras retiradas da referência 1 com algumas alterações. (Chiarelli-Neto, 2011)

1.5. Ação dos agentes oxidantes para descoloração do fio

Agentes oxidantes têm sido largamente utilizados para promover o descolorimento do cabelo, sendo que o peróxido de hidrogênio em pH básico (com a principal espécie ativa sendo o peróxido de hidrogênio monobásico, OOH^-) é o mais prevalente. Importante mencionar que o efeito do peróxido de hidrogênio na cor do cabelo não é unicamente pela sua ação na cor da melanina, mas também por facilitar a remoção do grânulo de melanina da estrutura do fio. Enquanto na solubilização da melanina é necessário apenas romper algumas ligações cruzadas, para a descoloração é necessário a destruição oxidativa do sistema altamente conjugado da melanina (Leszek; Hall e Hui, 1970). Para isso é preciso clivar

totalmente a porção benzenóide reduzindo a melanina a suas frações ácidas de menor peso molecular (Figura 13) (Korytowwski e Sarna, 1990).

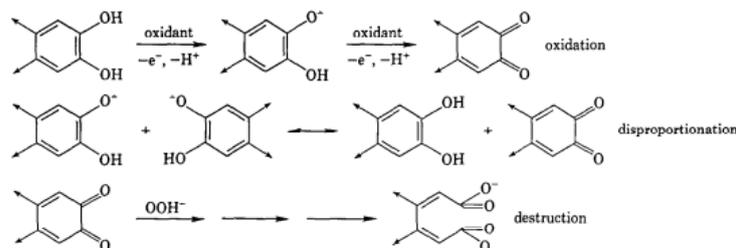


Figura 13. Reação de oxidação da melanina por oxidantes (persulfatos ou peróxidos de hidrogênio) Korytowwski e Sarna, 1990.

De fato, o peróxido de hidrogênio é capaz de desestruturar e solubilizar os grânulos de melanina mais rapidamente do que de os descolorir (Leszek; Hall e Hui, 1970). Embora nenhuma outra substância se mostrou tão competente quanto o peróxido de hidrogênio na solubilização da melanina, diversos outros compostos são capazes de descolorir a melanina. Por exemplo, permanganato de potássio e ácido peracético descolorem o cabelo sem causar a solubilização do grânulo (Leszek; Hall e Hui, 1970).

Ainda que o peróxido de hidrogênio aja prioritariamente sobre a melanina, este composto também reage e danifica outras estruturas do cabelo, como a queratina. A melanina é de fato a substância mais suscetível ao ataque químico do OOH^- , mas como a melanina está presente em somente 3% da massa do fio o dano na queratina e na estrutura do fio é bastante significativo. O peróxido de hidrogênio age inicialmente quebrando as pontes dissulfeto da estrutura da queratina,

transformando a cistina em ácido cisteíco, enfraquecendo a estrutura mecânica do cabelo (Takada et al, 2003). Vale lembrar que as estruturas mais danificadas no fio serão as que tem altas concentrações de cistina, ou seja, na cutícula e mesmo na matriz do córtex (Grosvenor A. J. et al, 2018).

As consequências para o fio são bastante significativas: i. enfraquecimento da estrutura mecânica e da espessura do fio. Não é incomum os fios quebrarem durante o banho, pois a perda de rigidez na estrutura mecânica torna-se mais severa no fio molhado; ii. Perda da estrutura da cutícula e perda da sua hidrofobicidade, que causa o aumento da absorção da água pela fibra com perda de brilho, diminuição na penteabilidade e com aumento no frizz (Robins, 2012).

1.6. Comparação dos danos causados por agentes oxidantes e por luz visível

Apesar dos oxidantes químicos e da radiação solar na faixa do visível serem de origens distintas, ambos agentes têm ação oxidante e os alvos químicos são análogos, de tal forma que os danos ocorrem em locais semelhantes do fio. Os agentes de descoloração agem preferencialmente nos grupos indóis da melanina, causando inicialmente oxidação e posteriormente a quebra das ligações, destruindo as estruturas de duplas ligações conjugadas que confere cor às melaninas. Como mencionado acima, ocorrerão também oxidações das ligações da melanina com a queratina, facilitando a saída do grânulo da estrutura do fio e nas pontes dissulfeto das cistinas da queratina, afetando a estrutura mecânica do fio (Nogueira; Nakano e Joekes, 2004).

No caso de irradiação luminosa, o dano acomete locais que apresentam moléculas que absorvem a luz incidida. A luz visível é absorvida preferencialmente pela melanina, que gera estados excitados e radicais livres, que atacam principalmente a própria melanina (alvo principal também são os grupos endois - Figura 10). A geração destas espécies oxidantes, causa também danos em outras estruturas do fio, como a queratina, especialmente em resíduos de oxidação facilitada, como as ligações cistina. Vale mencionar, que a melanina tem também atividade anti-oxidante importante, de tal forma, que a sua presença protege as outras estruturas do fio (Gonçalves R. C. R, Pombeiro-Sponchiado S. R, 2005).

O que é significativamente distinto é o tempo de exposição aos diferentes agentes que causa dano significado no cabelo. No caso dos agentes químicos 30-90 minutos é suficiente para ter o efeito desejado. No caso da luz, dependerá o tipo de intensidade luminosa, mas geralmente o tempo necessário para ter um efeito significativo é muito mais longo (Hoting; Zimmermann e Hilterhaus-Bong, 1955). Por exemplo, a exposição ao sol durante o verão causa um leve tom de descolorimento nos cabelos, o que é muitas vezes até visto como um sinal de beleza nos cabelos e nos indivíduos. Obviamente, esse tipo de efeito não pode ser usado como tecnologia de descolorimento nos salões de beleza.

Sabe-se que a cor do cabelo é diretamente proporcional a quantidade e tipo de melanina do cabelo (Slawinska D. and Slawinski J, 1982). Conseqüentemente, a intensidade do campo de fótons na faixa do visível dentro do grânulo de melanina é maior do que o externo em muitas ordens de grandeza. A energia do estado de excitação no grânulo de melanina é dissipada através de calor ou através de formação de estados excitados que reagem quimicamente (McGinnes J. e Proctor

P., 1983). Desta forma, dependendo da intensidade, feixes de fóton podem causar descolorimento da melanina. Fótons coerentes e pulsados como os da luz laser na faixa do visível (532nm do Neodímio, por exemplo) podem causar descolorimento de cabelo por si só. Com 10 pulsos (4ns com 30 a 100J de energia por pulso) são capazes de foto branquear cabelos. (Stan D. Kozikowski; J. Menkart; L. J. Wolfram, 1988). Cabe mencionar, que o uso de lasers pulsados em tecnologias de descolorimento ainda tem custo proibitivo e impossibilidade plena em termos de segurança, tanto para o aplicador quanto para o cliente, que deseja descolorir os cabelos, uma vez que este nível de energia requer equipamentos de segurança sofisticados. De qualquer forma, agentes oxidantes brandos e luz visível de baixa energia podem a princípio apresentarem um efeito sinérgico e possibilitar o descolorimento capilar.

1.7. Métodos de análise para avaliar dano no fio

A qualidade do cabelo pode ser avaliada de maneiras muito diversas, que são comumente classificados em testes sensoriais e macroscópicos, que se baseiam respectivamente na avaliação da sensação de pentear ou de tocar os cabelos, em mensurações acuradas de suas propriedades físicas e químicas. Os testes sensoriais são testes feitos por painéis e utilizam a capacidade sensorial humana como método de avaliação. Precisam determinar os atributos dos produtos e validade e para que possam ofertar reprodutibilidade e resultados confiáveis. Já para os testes macroscópicos, avaliamos atributos tais como: brilho, frizz, maciez, penteabilidade à seco e a úmido, hidrofobicidade, resistência e força. Os testes macroscópicos são realizados em laboratórios, com equipamentos e métodos

específicos para cada tipo de análise. Há também os testes microscópicos e moleculares, que são mais frequentes em laboratórios de pesquisa. Entre estes testes, os mais usados são os testes de espectroscopia, espectrofotometria, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão, microscopia atômica, métodos por fluorescência.

1.7.1. Especificidade dos testes novos sensoriais

Estes ensaios não serão realizados nesta dissertação e reportamos o leitor a um artigo de revisão completo dos testes sensoriais (Pensé-Lhéritier, 2015).

1.7.2. Testes macroscópicos e de composição química

Os testes macroscópicos já são testes com caráter mais quantitativo do que o sensorial, com menos interferência de percepção que os testes sensoriais. Estes testes são muito usados quando se deseja, em valores percentuais, medir características de um determinado cabelo e são muito utilizados para avaliar matérias-primas para produtos capilares e produtos para consumo e tratamentos capilares. Já nos de análise de composição química, incluem desde métodos qualitativos e quantitativos clássicos, bem como, métodos baseados em espectroscopia tais como, espectrofotometria, espectroscopia Raman e Infravermelho (Robins 2012).

1.7.2.1 Alterações mecânicas e de hidrofobicidade

Uma das consequências mais importantes quando transformamos a fibra capilar é a diminuição da sua força e resistência. Obviamente, sempre que

desejarmos demonstrar que um fio piora com determinado procedimento ou melhora, em função da utilização de métodos de tratamento do fio, conseguiremos demonstrar isso através de testes que meçam essa força antes e depois de um determinado procedimento. A mudança de resistência e força estão ligados a perda de massa, pois quando danificamos o fio, aumentamos a quantidade de produção de ácido cisteíco, consequências da transformação de cistina em ácido cisteíco, que será arrastado para fora junto com a água, quando esta sair do fio. Essa diminuição de massa pode ser verificada através da diminuição do diâmetro da fibra, antes e depois de uma ação de danos do fio. Logo, a diminuição da resistência está ligada à diminuição do diâmetro do fio e a mudança interna, através da fragilização das ultraestruturas da fibra por mudanças conformacionais químicas internamente, principalmente nas regiões com grande quantidade de cistina como matriz e CMC, pois as pontes dissulfeto são desfeitas, alterando a resistência do fio (Imai, 2011; Kojima et al, 2014 e Jeong et al, 2010).

Outra característica que muda muito são as características de hidrofobicidade do fio, em que podemos medir a diminuição da hidrofobicidade de forma direta ou aumento do embaraçamento do fio, que indiretamente mostra a diminuição da hidrofobicidade, pois o aumento do embaraçamento é uma das consequências das mudanças de hidrofobicidade do cabelo, logo quando aumenta a dificuldade na penteabilidade do fio, tanto à úmido, quanto à seco, estamos verificando um efeito prático nessa característica do fio (Dias, 2015). No caso da penteabilidade à seco, haverá uma outra consequência com a diminuição da hidrofobicidade, que é o aumento de frizz e volume (Dias, 2015). A diminuição da hidrofobicidade leva o aumento e a manutenção de cargas eletrostáticas na superfície da cutícula, levando

o aumento do volume do cabelo como um todo, em função do frizz (fios que se repelem) produzido pelas cargas deixadas na superfície da cutícula (Leszek; Hall e Hui, 1970). O frizz aparece também quando a quantidade de água intramolecular diminui e dizemos que o cabelo ficou “seco” (Dias, 2015). Ambientes muito secos também aumentam o frizz, por isso é importante realizar esses testes em condições controladas de umidade. Outra característica que se modifica com o frizz é a percepção de brilho, que será maior com fios alinhados num determinado formato (liso ou encaracolado) (Dias, 2015). Se houver frizz no cabelo, a percepção de brilho diminuirá e toda vez que um produto alinhar os cabelos numa mesma direção, com grande proximidade entre si, funcionando como um único corpo, tenderá ao aumento de brilho. Logo, duas características modificadas no fio, diminuição da resistência e hidrofobicidade, nos levará a mudanças perceptíveis macroscopicamente de: resistência e força, penteabilidade à seco e à úmido, brilho, frizz e volume (Dias, 2015 e Gama, 2010).

A hidrofobicidade não é a única responsável pelo frizz, volume, perda de brilho e penteabilidade. Quando fragilizamos o fio, as cutículas, por ser mais externa por proteger o fio, se fragilizam, descamando parcialmente ou totalmente, levando a uma superfície irregular, expondo as partes hidrofílicas e deixando as cargas existirem por mais tempo. A consequência direta disso é o aumento do frizz, volume e diminuição do brilho (Dias, 2015 e Leszek; Hall; Hui, 1970).

1.7.3. Testes microscópicos

Nos testes microscópicos são analisadas as variações de imagens do fio de cabelo, baseadas tanto por métodos óticos (microscopia de transmissão e de

fluorescência) quanto eletrônicos (microscopia eletrônica de varredura ou de transmissão). Os testes microscópicos exigem uma quantidade pequena de amostras e geralmente foca na análise da cutícula, quando analisando um fio inteiro, tanto na microscopia ótica, fluorescente ou no MEV, ou na estrutura interna, no caso das avaliações dos cortes histológicos do cabelo.

1.7.3.1. Análise de estrutura e dano do fio por método fluorescente

A fluorescência é uma característica intrínseca de algumas moléculas, que retornam a energia de excitação emitindo um fóton luminoso. Estados excitados singlete vivem na faixa de tempo de nanosegundos e podem retornar a energia luminosa absorvida, tanto através do calor quanto através da emissão de luz. Essas moléculas são chamadas de fluoróforos. Quanto mais rígida for a estrutura do composto absorvedor, maior a chance de ele viver tempo o suficiente no estado excitado, e liberar pelo menos parte da energia de excitação na forma de emissão de fluorescência (Lakowicz J. R., 2006).

Nas proteínas do cabelo há aminoácidos com capacidade de emitir luz, sendo eles principalmente, o triptofano, a tirosina, fenilalanina. Esses aminoácidos apenas absorvem luz no UV e emitem na região do UVA e visível azul. Principalmente o triptofano, as também em menor grau a tirosina e a fenilalanina, podem sofrer oxidação e outras conversões químicas metabólica gerando outros cromóforos como N-formilquinurenina, quinurenina e 3-hidroxiquinurenina (Figura 14).

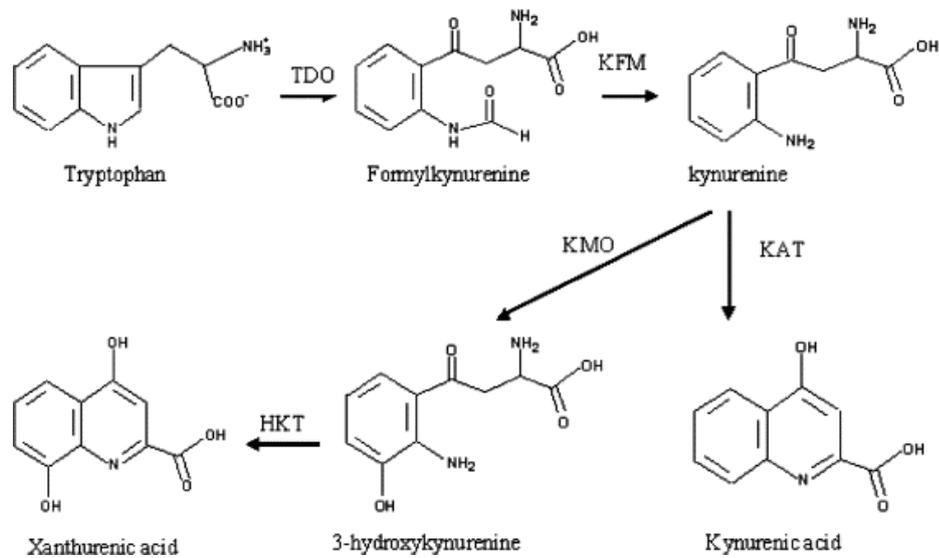


Figura 14. L-triptofano e suas derivadas foto-oxidadas (Han e Beernstsen, 2007).

Muito embora o grânulo íntegro de melanina seja pouco fluorescente, os derivados oxidativos da melanina e alguns dos seus precursores são emissores de fluorescência. A fluorescência da melanina não é trivial, sendo representada por inúmeros fluoróforos distintos na estrutura polimérica. A capacidade de interagir com a luz, depende também de quanto internalizado ou superficial o fluoróforo se encontra na estrutura do grânulo. Quando a luz que atinge o cabelo é na faixa do visível, esses pigmentos derivados e precursores da melanina são os que interagem com a luz e promovendo a emissão de fluorescência do fio de cabelo (Chiarelli-Neto, 2011), (Baptista, 2018 e 2019). Microscopia e espectroscopia de fluorescência no visível já se provaram úteis na análise de dano e proteção de cabelos submetidos a diferentes tipos de agentes estressores. (Pavani C., et al, 2018).

2. Objetivo

Desenvolver o conceito de clareamento fotoquímico (clarear cabelos sob efeito da luz visível na presença de oxidantes brandos), e caracterizar a possível diminuição do dano estrutural comparativamente ao descolorimento puramente químico.

2.1. Objetivos Específicos

1. Desenvolver métodos de avaliação de dano e proteção da fibra capilar por microscopia de fluorescência.
2. Identificar as condições que favoreçam o clareamento capilar fotoquímico.
3. Comparar o dano nas estruturas do cabelo pelos métodos de clareamento puramente químico e fotoquímico.

3. Detalhes experimentais

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Processos Fotoinduzidos e Interfaces, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, SP. Os detalhes experimentais serão divididos em três partes: reagentes, equipamentos e métodos.

3.1. Reagentes

Na parte experimental, serão feitas a descrição das soluções e reagentes e dos tipos de cabelos utilizados nos experimentos.

3.1.1. Materiais e reagentes

A água foi purificada por meio de um sistema de água millipore Milli-Q. O peróxido de hidrogênio (Labsynth) e o Hidróxido de amônio (Labsynth) foram utilizados como recebidos. Para preparar solução de peróxido de hidrogênio 2M, partiu-se de uma solução de peróxido de hidrogênio 30% ($8,82\text{mol.L}^{-1}$) diluindo-se com água destilada até a concentração de 2M. O pó descolorante era um produto comercial (produto de perfumaria, da marca AltaModa), sendo constituída de uma mistura do persulfato de amônio e potássio com peróxido de hidrogênio (12%), na proporção 1:2 (10g de pó para 20g de peróxido de hidrogênio). As amostras de cabelo foram obtidas de doadores anônimos nas cores 3.0 (castanho escuro), 4.0 (castanho médio), 5.0 (castanho claro), 6.0 (loiro escuro), 7.0 (loiro médio). As lâminas de cabelo com cortes histológicos de cabelo foram realizadas com o kit de resina e cola Entellan® (Leica embedding kit).

3.2. Equipamentos

Utilizou-se principalmente quatro equipamentos: pHmetro AJX-512 (Digital), irradiadores LED-box (Biolambda, Brazil), micrótomo American Optical AO modelo 820 (Leica) e o microscópio invertido de fluorescência (detalhes abaixo).

3.2.1. Microscópio Invertido de fluorescência

Nas análises de microscopia de fluorescência foram utilizadas o microscópio invertido de epifluorescência da empresa Carl-Zeiss, modelo Axiovert 200M. Simplificadamente, a luz de excitação da amostra é de uma fonte contínua, sendo que a faixa de comprimento de onda necessária para excitar os fios de cabelo é selecionada por um cubo composto de filtros e espelhos dicróicos. Após excitar a amostra, esse mesmo cubo evita que a faixa de excitação atinja o detector, permitindo que somente que a faixa de luz de emissão seja transmitida (Figura 15). O cubo utilizado nas análises de fluorescência foi o Filter set 49 (excita em 365 e emite de 420 a 470). A imagem de fluorescência do cabelo é aumentada de 400 a 500 vezes nos nossos experimentos. No caso de observações com o fio inteiro, utilizou-se a lente de aumento Epiplan 50x/0,7 e para as amostras de cortes histológicos, a lente 40x/0,17 W.

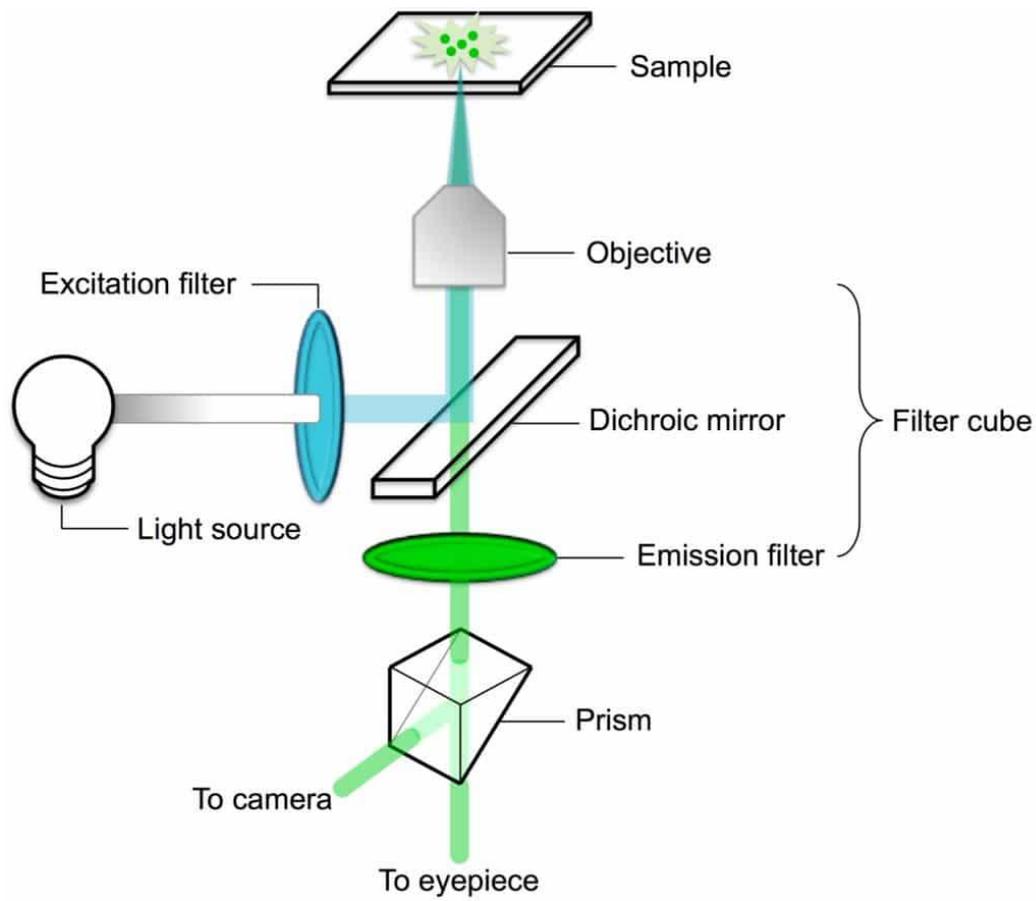


Figura 15. Esquema de um microscópio de fluorescência invertido. (<http://cable-gossip.pietrodavico.it/cable-gossip-guide/epifluorescence-microscope-diagram>).

3.2.2. Corte histológico

Os cortes histológicos foram realizados utilizando o micrótomo American Optical AO modelo 820 (Leica), que foi gentilmente cedido pelo professor José Roberto Machado Cunha da Silva, de Histologia Evolutiva, do ICB 1. O nossos agradecimentos ao Renan dos Santos Evaristo por ter preparado essas amostras.

3.3. Métodos

3.3.1. Método de determinação da cor de cada mecha

Para a determinação da cor natural de cada mecha de cabelo, foi usado parâmetros de cor de uma tabela de cores naturais. As cores são nomeadas por números, sendo a mecha mais escura chamada de preto e seu número é 1.0. A mecha mais clara é o loiro ultraclaro, que recebe a numeração 10. Dessa forma, a numeração aumenta na medida em que o cabelo é mais claro (Figura 16). Os estudos dessas dissertação foram realizados com mecha variando de tom 3.0 (castanho escuro) a 7.0 (loiro). Neste trabalho, as mechas seguiram uma nomenclatura baseado na sua cor natural, sendo castanho escuro (3N), castanho médio (4N), castanho claro (5N), loiro escuro (6N) e loiro médio (7N).



Figura 16. Tabela de cores naturais dos cabelos (Blogspot Ruiva Diva).

3.3.2. Método de tratamento das amostras de cabelo

As mechas foram separadas em grupos e o número de grupos variou com o experimento. Assim que separadas, as mechas foram etiquetadas com caneta retroprojetora na ponta superior. O grupo controle foi a mecha conservada em seu estado natural, em todas as cores naturais utilizadas. A nomenclatura utilizada menciona o tipo de cabelo, no caso da mecha controle utilizou-se “N” de natural, e foi adicionado na nomenclatura o número da cor, por exemplo, no caso de mechas de cabelo castanho escuro (Severino et al, 2016), o nome final desta mecha foi 3N. Já as outras mechas, receberam nomes que tinham a cor inicial do cabelo, acrescidas do tratamento recebido. Por exemplo, as mechas de cabelo castanho escuro que foram tratadas com pós descolorante P40, foram nomeadas 3P40.

Os tratamentos químicos foram realizados imitando fielmente o procedimento de descoloramento empregado em salões de beleza. Inicialmente, prepara-se a pasta oxidante e espalha-se por toda a mecha em excesso. Cobre-se as mechas completamente com papel alumínio e aguarda-se a ação do produto pelo período definido no protocolo do experimento. Após esse tempo, as mechas são lavadas com água corrente da torneira, secas ao ar e armazenadas em ambientes de ambiente, temperatura e luminosidade controlada.

3.3.3. Método de preparação da lâmina com o fio inteiro para análise microscópica

De cada mecha, natural ou oxidada, foi retirada 3 fios e com o auxílio de fita adesiva transparente, elas foram esticadas e coladas nas extremidades das lâminas de vidro (padrão de microscopia) A figura 17 apresenta um exemplo de lâmina pronta para análise como exemplo.



Figura 17. Foto de uma lâmina com fio inteiro preparada (próprio autor).

3.3.4. Cortes histológicos

Inicialmente, coleta-se entre 20 e 50 fios de modo aleatório. O comprimento do fio deve ser comparável ao tamanho do molde usado, nesse estudo foi usado um tubo Eppendorf, com cerca de 2 a 3 cm de comprimento. A resina é preparada segundo as diretrizes do kit da Leica (0,5 g de catalisador em 50mL de resina) e é adicionada ao tubo Eppendorf, que já contém os fios de cabelos. O tubo, com a resina e fios de cabelo é deixado na estufa por 37°C por 24h, para que a resina se polimerize. Após as 24h, retira-se a resina polimerizada do molde e cole-se num bloco de madeira com cola epóxi. Esse conjunto é levado ao micrômetro e a resina é cortada com navalha de vidro em lâminas de 3 micrômetros de espessura. As fatias

da resina cortadas são colocadas em água e as deixadas sobrenadando, até o momento da montagem das lâminas.

As lâminas são montadas da seguinte maneira: a lâmina é introduzida na água em que se encontram os cortes sobrenadantes, buscando aproximar os cortes na superfície da água à superfície da lâmina. Ao se retirar a lâmina de vidro da água os cortes ficam aderidos naturalmente (um fenômeno direcionado simplesmente pela tensão interfacial) à superfície da lâmina. Espera-se a água secar naturalmente (o que pode levar de duas a três horas) e após a secura, é adicionado uma espécie de cola, chamada Entellan® e posteriormente, uma lamínula é colocada em cima da lâmina com os cortes para fixá-los. Esse processo é repetido para cada lâmina montada.

3.3.5. Microscopia de fluorescência (condições do microscópio).

Para que informações analíticas relevantes possam retiradas, algumas condições precisam ser verificadas, sendo as que se seguem abaixo as mais importantes:

- A melhor objetiva, para se obter a melhor nitidez da imagem,
- Escolher o cubo correto,
- Os filtros certos para que não haja mais luz do que o necessário, diminuindo a nitidez da foto,
- Observar as espessuras das lâminas e lamínulas, pois isso interfere na resolução. Esses ajustes, se forem importantes, estarão na objetiva escolhida,

- Tempo de exposição, pois exposição a luz por muito tempo altera a imagem, podendo diminuir o contraste. Precisa sempre medir se o tempo de exposição será a melhor para comparar fios entre si.
- A intensidade de emissão da luz emitida também precisa ser controlada,
- Emergir as lentes em água ou óleo, se assim for indicada,
- Cuidado com as distorções das cores, pois podemos observar cores distorcidas se não tivermos o cuidado de resetar as cores, antes de ajustar as cores com o autoajuste do programa do Zeiss,

Esses cuidados e conhecimento sobre o equipamento deve ser sempre respeitado para obter as melhores fotos observadas através do equipamento.

3.3.6. Detalhamento das análises de fio inteiro

Duas análises foram realizadas com fio inteiro. Para análise de fluorescência, foi usado uma lente, *Epiplan* de 50x0,7 um cubo de filtro UV, com 12 unidades de *brightness* e 40 de exposição. Já para obter imagens da refletância de superfície do cabelo, foi usado uma lente *Epiplan* de 50x0,7, um cubo de reflexão, 12 *brightness* e 12 de exposição. Cada análise foi feita em triplicata. Cada lâmina, tinha 3 fios e se obteve 1 fotos de cada fio, sempre buscando encontrar a melhor nitidez e foco possível.

3.3.7. Análise de fluorescência dos cortes histológicos dos fios de cabelos

Lâminas (3 lâminas na validação do método e 2 lâminas para os testes com luz azul e oxidante brando) contendo diversos cortes histológicos foram sempre preparadas para cada controle e para os respectivos experimentos. Foi utilizado condições semelhantes às utilizadas no fio inteiro, sendo mesma lente (*Apocromatic* 43x0,17W), como cubo de filtro UV, 12 unidades de *brightness*, mas com 200 de exposição. Sempre buscar encontrar a melhor nitidez e foco possível para cada corte (cada lâmina possui mais 5 a 20 cortes).

3.3.8. Análise de transmissão dos cortes histológicos

As mesmas lâminas (3 lâminas para a validação do método) usadas para a análise de fluorescência foram observadas por transmissão no próprio microscópio Zeiss. As condições dessas observações foram: uma lente ApoChrom40X de 40x/0,17W, sem nenhum cubo (espaço do cubo vazio), 1000 de exposição e 7.0

3.3.9. Análise de medida de intensidade de fluorescência do fio inteiro e do corte histológico

O upload do programa *Image J* 1.53C foi realizado para que as fotos pudessem ser analisadas. Clicou-se sobre a opção de círculo (posicione o cursor sobre a área fluorescente do fio). Assim que o círculo aparecer, foi clicado sobre a opção *Analyse* e em seguida na opção *Measure*. O valor médio da integral dessa

área aparecerá na tabela do programa. Foi transferido esse valor para uma nova planilha no *Excel*. Esse procedimento foi repetido para cada amostra. Todos os valores de integral de intensidade de emissão/área foram inseridos na planilha do *Excel*. De posse dos valores médios de cada tipo de fio, um gráfico foi construído com intuito de facilitar a comparação das intensidades de fluorescência. Esses gráficos serão apresentados e discutidos no capítulo de resultado e discussões.

3.3.10. Contagem de fios inteiros e partidos após o corte histológico:

O corte histológico afeta de forma distinta os cabelos controle e os tratados com agentes oxidantes. Sendo assim, foi quantificado percentualmente os cortes que se apresentavam partidos nas lâminas. Primeiramente, é necessário abrir foto por foto e contar o número de fios que estavam inteiros (sem nenhuma rachadura) e o número de fios que apresentavam algum tipo de rachadura (a análise foi feita de forma manual, contando fio por fio). De posse desse número, foi possível calcular o percentual de fios com/sem rachaduras, possibilitando também gerar gráficos de barras com esses dados.

3.3.11. Análise da estrutura da cutícula do fio

O desenvolvimento deste método foi realizado em parceria com a Dra. Helena Couto Junqueira e Dr. Divinomar Severino, pesquisadores do laboratório do Prof. Baptista. Esse método foi desenvolvido para o nível de contraste das camadas cuticulares. Logo foi um tratamento baseado nas fotos de reflectância da superfície do fio inteiro. Primeiramente, usando o programa *Image J 1.53C*, em *File – open*,

uma foto da superfície da cutícula foi aberta. Em *Image - Type* – a foto foi alterada para 8bits, em *Edit* – posteriormente alterada para *Invert* e em *Image – Type – Adjust – Brightness/Contrast* aumentado o contraste em 100%. Após essas alterações, em *Analyse – Plot profile*, foi gerado um gráfico de intensidades de contraste no fio. No botão *List* desse gráfico, os dados foram copiados e transferidos para o *Origin*. Com este procedimento obteve-se uma somatória dos deltas de contrastes das cutículas. No *Origin*, a coluna Y foi selecionada, clicando-se no botão *Analyse*, escolhendo *Peaks and Baselines* e optando por *Open Dialog*. Um novo gráfico aparecerá e a opção *Finds Peaks* deve ser escolhida – *Next, Median – Next, Next* novamente e chega-se na última tela. Nessa tela, foi escolhido *Direction – Positive*, e *Threshold*. Clicou-se em *find* e verifica-se se os picos destacados estavam visíveis. Se não estivessem, buscava-se nova condição de *threshold*. Se estivesse visível escolhia-se só o eixo Y (intensidade de luz) e finalizava a pesquisa. Esse dado será colocado numa nova planilha. Finalmente, os valores de delta de contraste foram transferidos para uma planilha Excel, gerando gráficos de contrastes por tipo de amostra.

3.3.12. Análise estatística

O programa SigmaPlot 11.0 foi utilizado para realizar o Test T. Resultados serão citados no capítulo de Resultados e Análises.

3.3.13. Preparo das amostras de cabelo para irradiação

Com o mesmo tipo de cabelo e a mesma quantidade de fio (10 fios), foram separadas 5 amostras com 10 fios cada e reservadas. Foi preparado 30mL de uma solução 2M de peróxido de hidrogênio e ajustado usando hidróxido de amônio até o

pH 11, controlando-se a variação do pH da solução usando um pHmetro. Foram pegos novamente as amostras de fios e organizados da seguinte maneira: 1 amostra ficou guardada ao natural, outra, num recipiente, mergulhando-se os fios numa solução de 30mL de peróxido de hidrogênio 2M com pH 11 e cobriu-se, para que agisse no escuro, e as outras amostras foram mergulhadas também na mesma solução, porém cada uma delas, sobre as mesmas condições de irradiação: 25mW/cm² de potência, irradiados por 1 hora, sendo 1 amostra em luz azul de 400nm, 1 amostra em luz verde de 525nm e outra em 1 hora em luz vermelho de 650nm. Após o período de 1 hora de irradiação, as amostras foram lavadas com água destilada e secas ao natural.

3.3.14. Método de preparo das amostras para o teste com luz azul e oxidante brando (solução de 2M e pH 11)

Foi preparado 9 amostras de um único tipo de cabelo natural de cor castanho médio (4N), 15mg cada uma. Elas foram nomeadas e processadas das seguintes maneiras:

- 1 amostra se conservou natural (CN),
- 3 amostras foram separadas para serem imersas em solução de peróxido de hidrogênio 2M, pH 11 e 1 hora irradiado com luz de 425nm,
- Em paralelo, 3 amostras controles para serem imersas em solução de peróxido de hidrogênio em ambiente escuro, por 1 hora.
- 1 mecha controle embebida em água destilada irradiada por 1 hora em luz de 425nm.

- 1 amostra controle de cor, descolorida com pasta oxidante usada em salões de beleza (uma mistura de persulfatos de amônio e potássio com emulsão de peróxido de hidrogênio 9%). A cor obtida foi a mesma após das mechas que passaram pelo processo de 1 hora de irradiação com luz de 425nm, embebido em solução de peróxido de hidrogênio 2M, pH 11.

Segue abaixo, uma tabela com um resumo das amostras, controles e respectivos nomes, a fim de facilitar a visualização de como as amostras foram submetidas em seu preparo:

Tabela de amostras e controles	
Amostra 1	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural irradiado por uma hora com luz de 425nm e 270J/cm ² de potência, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Amostra 2	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural irradiado por uma hora com luz de 425nm e 270J/cm ² de potência, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Amostra 3	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural irradiado por uma hora com luz de 425nm e 270J/cm ² de potência, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Controle 1E	15mg cabelo castanho médio (4.0) em ambiente escuro, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Controle 2E	15mg cabelo castanho médio (4.0) em ambiente escuro, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Controle 3E	15mg cabelo castanho médio (4.0) em ambiente escuro, mergulhado em 30ml de solução de peróxido de hidrogênio com pH 11
Controle AZ	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural irradiado por uma hora com luz de 425nm e 270J/cm ² de potência, mergulhado em água destilada
Controle N	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural, sem nenhum preparo prévio
Controle P30	15mg cabelo castanho médio (4.0) natural, descolorido com pó descolorante e peróxido de hidrogênio 9% em quantidade suficiente para obter a mesma cor obtida após a irradiação de 1h com 425nm e peróxido de hidrogênio 2M, com pH 11

Figura 18. Tabela de amostras e controles (própria autora).

As metodologias de obtenção de imagem, métodos de análises e métodos estatísticos já foram descritos nos itens de 3.3.3 a 3.3.11.

4. Resultados e discussões

Nesse capítulo os resultados experimentais serão apresentados e já com a inclusão das análises e comparações, bem como, confrontando-se os resultados com outros previamente publicados na literatura científica. Esta seção foi dividida em duas partes: na primeira apresenta as validações dos métodos de avaliação dos danos oxidativos em fibras capilares de diferentes tons que foram descoloridas com procedimentos puramente químicos. Na segunda apresenta os resultados do descolorimento fotoquímico, analisando a performance deste método e comparando os danos na fibra capilar pelo método fotoinduzido com os danos que ocorrem após o descolorimento puramente químico.

4.1. Descolorimento químico e validação dos métodos de análise

A diversidade de cor no cabelo humano pode ser aferida tanto por meio da avaliação visual do tom do cabelo, bem como, através de medições colorimétricas. Uma vez que há forte correlação de resultados entre ambos os métodos e a avaliação visual não necessita do colorímetro, o método mais empregado é a simples inspeção visual dos cabelos. Uma das graduações mais utilizadas para classificar a cor do cabelo emprega uma escala numérica de 1 a 10, sendo que 1 é usado para cabelos pretos e 10 para cabelos brancos e os tons de cabelo castanho e loiro recebem numeração intermediária e crescente com a diminuição da tonalidade (Lozano; Saunier e Loussauarn, 2016).

Nos estudos apresentados nesta dissertação, utilizamos cabelos na faixa intermediária de cor, ou seja, cabelos de castanhos escuros a loiro médio, variando na escala visual de 3 a 7 (Figura 19). Testamos e padronizamos 3 métodos para avaliar o efeito das reações de descolorimento oxidativo nos cabelos: fluorescência (fio inteiro e corte histológico), microscopia de reflectância (fio inteiro) e resistência ao corte histológico. Os cabelos naturais (nomeados pelo número do tom seguido da letra "N" de natural) foram submetidos a procedimentos clássicos de descolorimento químico com a pasta oxidante (métodos, item 3.3.2) e o nível de dano foi caracterizado avaliando-se os cabelos antes e após o procedimento químico.

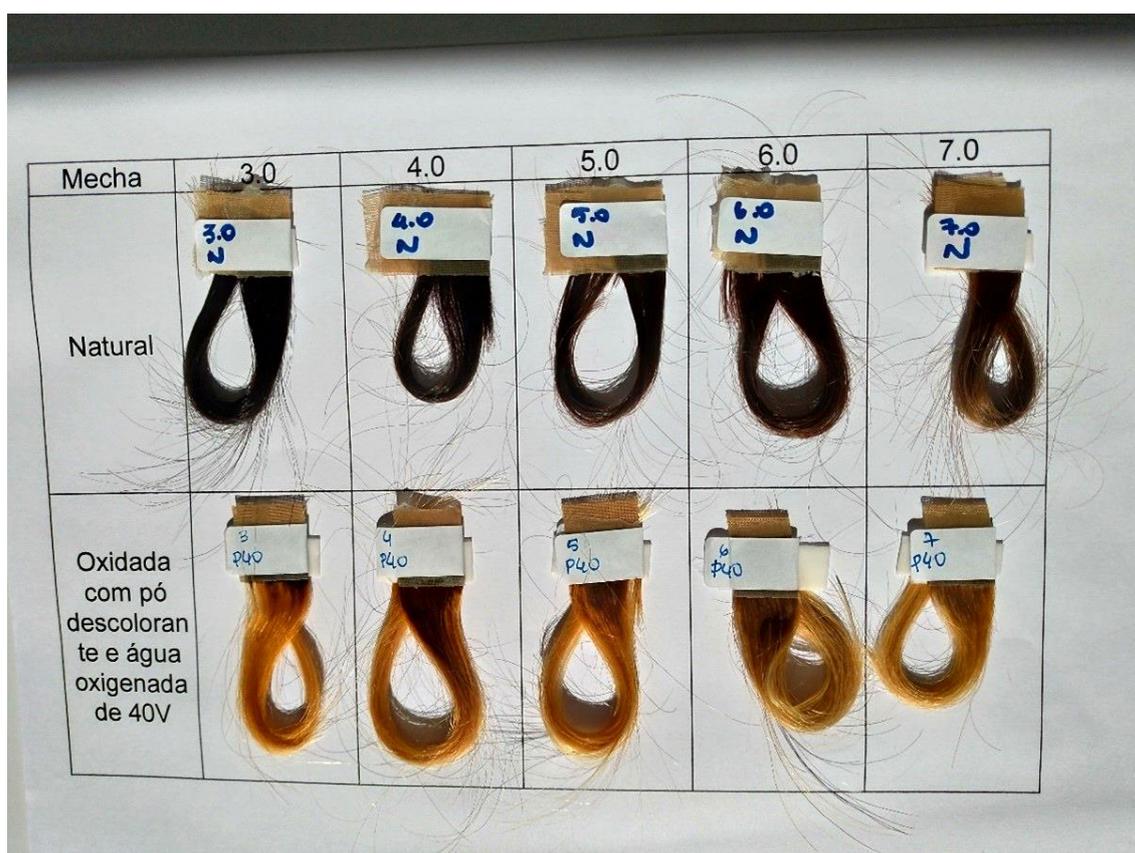


Figura 19. Fotos de mechas dos cabelos naturais e após a descoloração. Mechas naturais: 3N, 4N, 5N, 6N e 7N, na linha superior da foto. Mechas descoloridas: 3P40, 4P40, 5P40, 6P40 e 7P40, na linha inferior. Os cabelos naturais foram clareados por oxidação com a massa constante de descolorante (pó descolorante e água oxigenada de 40V), (métodos apresentados nos itens 3.3.3 e 3.3.4).

Pode-se observar o intenso clareamento das mechas naturais após 1 hora de oxidação. Note que as mechas tratadas (nomeados pelo número do tom que o cabelo tinha antes do procedimento químico, seguido pela combinação “P40” que indica o tipo de oxidante utilizado) clarearam de 5 a 3 tons, sendo que a mecha 3N obteve o maior grau de descolorimento (5 tons), pois passou de 3 para 8. Já a mecha que apresentou menor grau de clareamento foi a mecha 7N, pois após a oxidação, clareou apenas 2 tons, passando do tom 7 para 9. Este nível menor de descolorimento para cabelos naturais mais claros (com números de tons maiores) é esperado pela maior dificuldade de remover cores amareladas dos cabelos, utilizando somente a oxidação química (Guerra-Tapia e Gonzalez-Guerra, 2014).

4.1.1 Fluorescência

Fios inteiros e cortes histológicos, tanto de cabelos naturais (série “N”, Figura 19) quanto de cabelos submetidos ao descolorimento oxidativo-químico (série P40, Figura 19) foram analisados por microscopia de fluorescência. Quando a emissão luminosa do cabelo ocorre através da excitação na faixa do ultravioleta (UV, 200-400nm), há diversas moléculas e pigmentos que podem absorver/emitir luz, tais como, proteínas, aminoácidos, lipídeos, cofatores, melaninas e seus respectivos produtos de oxidação (Leite et al, 2018 e Pavani et al, 2018).

Neste trabalho as iluminações foram sempre realizadas com luz visível, de tal forma que somente pigmentos que absorvem nesta região foram elevados ao estado excitado. No caso de cabelos naturais, esses pigmentos são exclusivamente as melaninas, seus precursores e derivados, que absorvem na faixa do visível.

Conseqüentemente, não há conhecimento pleno e exato das moléculas absorvedoras/emissoras no visível, mas é um grupo bem mais restrito do que o dos absorvedores/emissores no UV. O grupo do laboratório de Fotoindução já havia demonstrado que a intensidade de fluorescência (IF) por área (intensidade de fluorescência do fio ou do corte dividida pela área de superfície avaliada - IF/cm²) no visível, pode ser útil na caracterização de mudanças estruturais de cabelos submetidos a tratamentos físicos e químicos (Assis et al, 2019).

As melaninas são grânulos poliméricos sintetizados principalmente a partir derivados oxidados da tirosina (L-DOPA, Dopaquinona etc.) e são classificadas em dois grandes grupos: eumelanina, que é um pigmento mais escuro, com tom próximo ao preto e não tem presença de enxofre na sua composição e feomelanina, um pigmento com tom avermelhado (Chedekel; Agin e Sayre, 1980). A feomelanina também é um polímero derivado da oxidação da tirosina, mas que tem derivados oxidados da cisteína na sua composição (Thody et al, 1991). As melaninas têm características fotofísicas peculiares (Huijser e Sunström, 2011). Uma vez que ela é um grânulo constituído por diversos agentes absorvedores e emissores (partes cromóforas do polímero que tem a capacidade de absorver e emitir luz) e que tem diferentes níveis de contato com a interface do seu microambiente (uma grande parte dos cromóforos estão internalizados no grânulo e tem menos interação com o meio externo), os espectros de emissão não seguem regras básicas dos fluoróforos simples. Por exemplo, o máximo do espectro de emissão descoloca-se com a variação no comprimento de onda de excitação. Um fluoróforos simples, via de regra, apresenta o mesmo espectro de emissão, independente do comprimento de onda de excitação eletrônica, ou seja, a emissão ocorre do orbital de menor energia

equilibrado termicamente (Lakowicz, 2006). Além da complexidade da fluorescência da própria melanina, a intensidade de fluorescência que provém de um fio de cabelo (inteiro) depende de vários fatores, como do efeito de matriz, que no caso de cabelo significa diferenças no caminho ótico e no espalhamento da luz absorvida e emitida. Vale notar que efeitos triviais que podem afetar um sinal de fluorescência, tais como os efeitos de filtro interno e de reabsorção de luz emitida, não são facilmente corrigíveis numa fibra capilar (Chiarelli-Neto et al, 2011).

Neste trabalho foi analisado a emissão de fluorescência de dois tipos de amostras de cabelo: fio inteiro e seções micrométricas do fio (cortes histológicos). As lâminas de microscópio foram preparadas ou com fio inteiro ou com cortes histológicos (Métodos desta dissertação). Essencialmente, as lâminas com fio inteiro foram preparadas pelos pesquisadores, aderindo os fios com fitas adesivas nas extremidades das lâminas. Os cortes histológicos foram realizados com espessuras em torno de ~3 micrometros, seguindo procedimentos descritos na seção 3.3.4. É importante antecipar que no caso dos cortes histológicos, tanto a luz de excitação quanto a de emissão sofrem uma influência bem menor do efeito matriz (espalhamento de luz, filtro interno, reabsorção da emissão etc.) do que no fio inteiro. Sendo assim, a fluorescência do corte histológico representa fundamentalmente a capacidade intrínseca emissora dos pigmentos naturais do cabelo (melanina, precursores e derivados), enquanto no fio inteiro, pode-se observar melhor o efeito de matriz (qualquer molécula ou estrutura que afete o caminho ótico da luz, mas que não absorva nesta faixa de comprimento de onda). Ou seja, a fluorescência do fio inteiro traz a informação de como a consistência material do fio afeta a fluorescência.

A seguir foi apresentado os dados das avaliações dos cabelos por fluorescência. Inicialmente as fotos obtidas por captura de fluorescência do corte histológico foram descritas, seguida das fotos de fluorescência do fio inteiro para cada tipo de cabelo, comparando-se sempre observações anteriores com as posteriores ao descolorimento oxidativo.

As figuras 20 e 21 mostram as imagens de microscopia de fluorescência de cortes histológicos de cabelos das mechas 3N e 3P40, respectivamente. É possível observar que nas imagens dos fios 3N (cabelos naturais) a emissão de fluorescência é bem mais intensa do que nas imagens nos fios 3P40 (cabelos oxidados). Considerando que os fios naturais emitem muito mais fluorescência do que os fios descoloridos, e que o efeito de matriz pode ser desconsiderado nos cortes histológicos, pode-se inferir que as moléculas emissoras (melanina, precursores e derivados) perderam a capacidade de emitir fluorescência após passaram pelo processo oxidativo (comparar figuras 20 e 21). Esse resultado era esperado, uma vez que os principais alvos das reações de oxidação são justamente os grânulos de melanina, seus precursores e derivados, que são os agentes emissores no visível (Grosvenor et al, 2018).

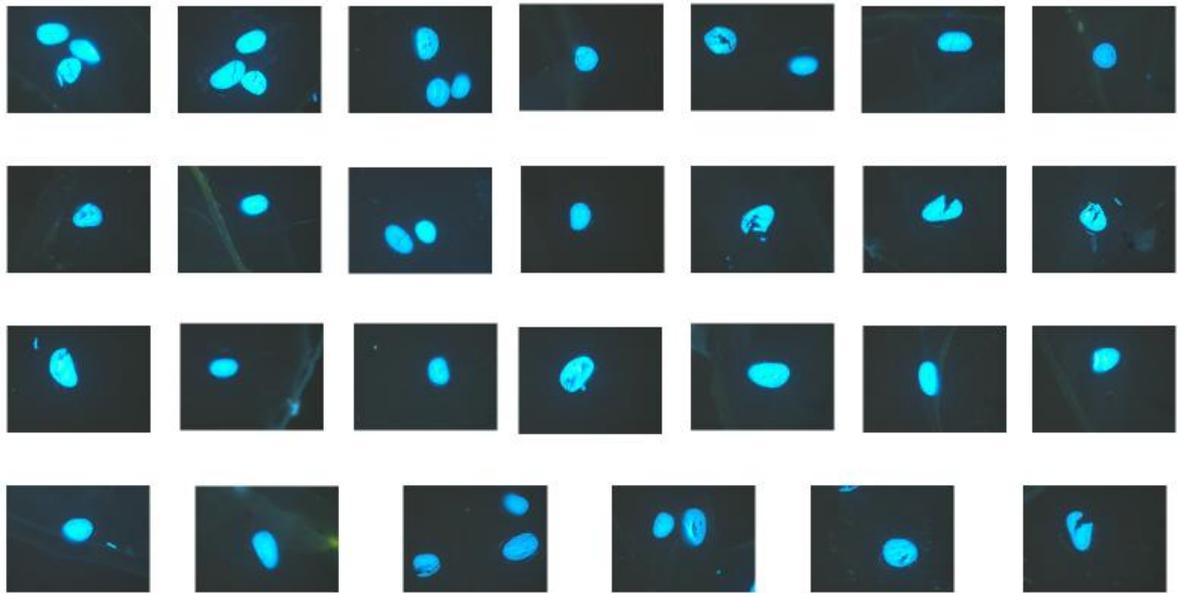


Figura 20. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 3N, 200ms de exposição, objetiva ApoChrom40X. Com as lâminas prontas, encontrou-se as melhores condições para observá-las no microscópio (lente ApoChrom40X/W, filtro UV, 40ms de exposição) para os cortes histológicos.

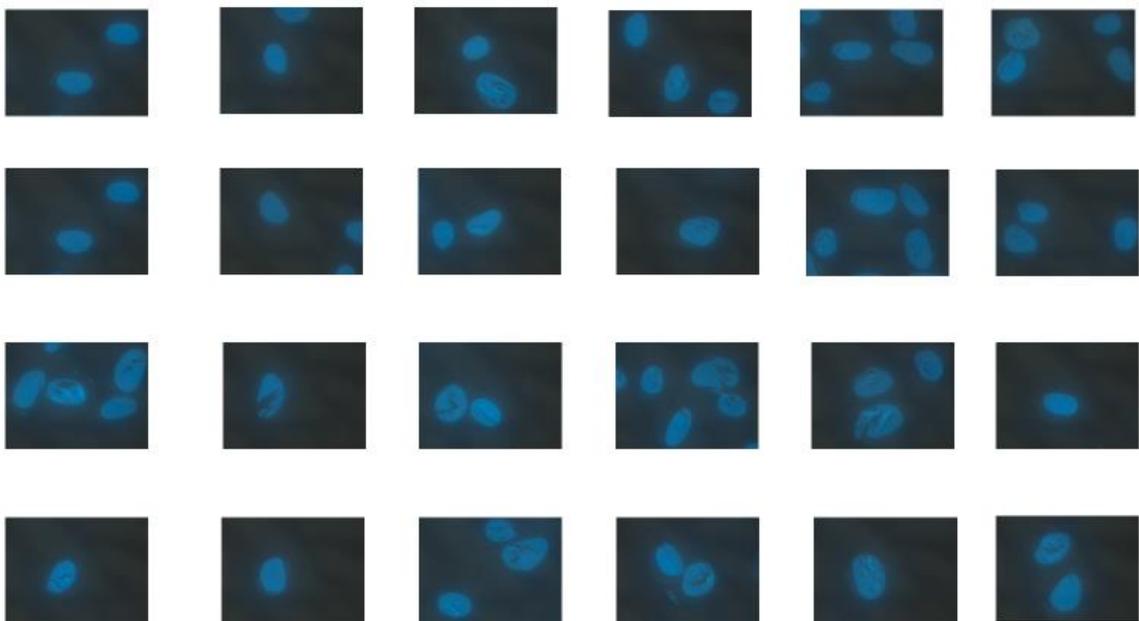


Figura 21. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 3P40, 200ms de exposição, objetiva ApoChrom40X.

É interessante notar que a variação na intensidade de emissão do fio inteiro, comparando a fluorescência antes e após o descolorimento químico, é justamente a oposta da observada no corte histológico (Figuras 22 e 23). Note que os fios inteiros naturais emitem substancialmente menos fluorescência do que os fios descoloridos (comparar Figuras 22 e 23). Além disso, os fios naturais mostram estruturas internas escuras (Figura 22), que não são mais visíveis nos cabelos oxidados (Figura 23). Também é possível perceber nas fotos do fio inteiro que há algumas cutículas levantadas após a descoloração (flechas brancas), que não são observadas nos cabelos naturais.

Vale ressaltar que se pode estabelecer comparações entre a emissão dos cortes histológicos com a emissão dos fios, pois ambas as observações foram realizadas com os mesmos cabelos. Ou seja, o efeito contraditório da oxidação, que causa aumento na fluorescência no fio inteiro (Figura 23) e diminuição da emissão nos cortes histológicos (Figura 21), pode ser explicado hipoteticamente. A oxidação diminui substancialmente a quantidade de agentes emissores, uma vez que provoca branqueamento dos pigmentos. Esse efeito causa diminuição da fluorescência intrínseca do cabelo, como de fato é observado nas seções micrométricas do fio (corte histológico). Logo, conclui-se que no fio inteiro também deve haver menos pigmentos emissores. Consequentemente, a única explicação razoável para o aumento da fluorescência é a ação oxidativa nas estruturas do cabelo, ou seja, uma alteração na matriz. Dito de forma mais direta, a oxidação química permite que mais luz entre e saia dos cabelos, causando esse aumento significativo da fluorescência.

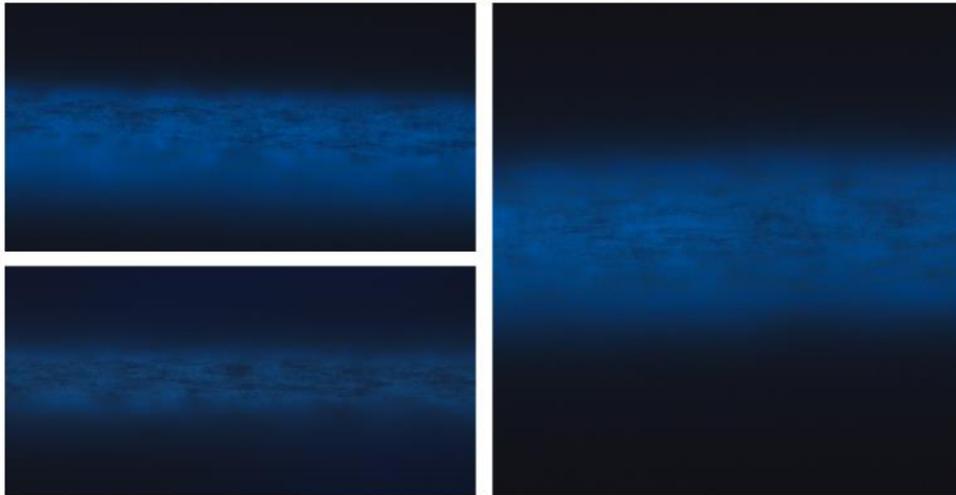


Figura 22. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 3N, 40 de exposição, EpiPlan50x. Após preparar as lâminas encontrou-se as melhores condições de observação no microscópio que para o fio inteiro foram: lente Epilan 50x, com filtro UV e 40 de exposição.

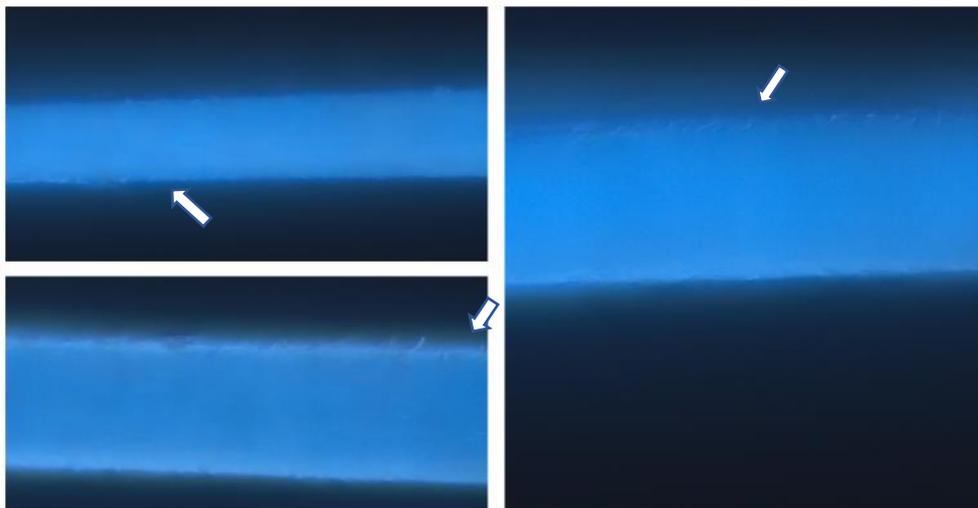


Figura 23. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 3P40, 40 de exposição, Epiplan 50x. (Flechas brancas mostram as cutículas levantadas).

É interessante notar que esse mesmo padrão de variações de intensidade de fluorescência é também observado em cabelos de outros tons. Ou seja, observa-se uma intensidade de fluorescência maior nos cortes histológicos dos cabelos naturais

do que nos cortes de cabelos oxidados, e o efeito contrário se observa na fluorescência do fio inteiro, ou seja, observa-se maior fluorescência nos fios descoloridos (Figuras 23, 27, 31, 35, 39).

Por exemplo, nas fotos dos cortes histológicos da mecha 4N, observa-se maior intensidade emissão de fluorescência nos fios 4N (figura 24) do que nos fios descoloridos, 4P40 (figura 25). Comparando as figuras 24 e 25, pode-se notar um outro efeito interessante. Há um contraste na fluorescência da cutícula e do córtex nos cabelos naturais, ou seja, maior fluorescência na região da cutícula dos cabelos 4N (observe a auréola mais clara ao redor do córtex), que é perdida após a descoloração.

Nas imagens de fluorescência dos fios inteiros, pode-se notar que os fios naturais (Figura 26) emitem menos fluorescência que os fios descoloridos (Figura 27). Novamente nota-se o aumento da irregularidade das bordas após o clareamento oxidativo (figura 27). Observe como as bordas são bem mais regulares e sem cutículas levantadas nos cabelos naturais (Figura 26) e menos lisa e com cutículas levantadas após a descoloração (Figura 27).

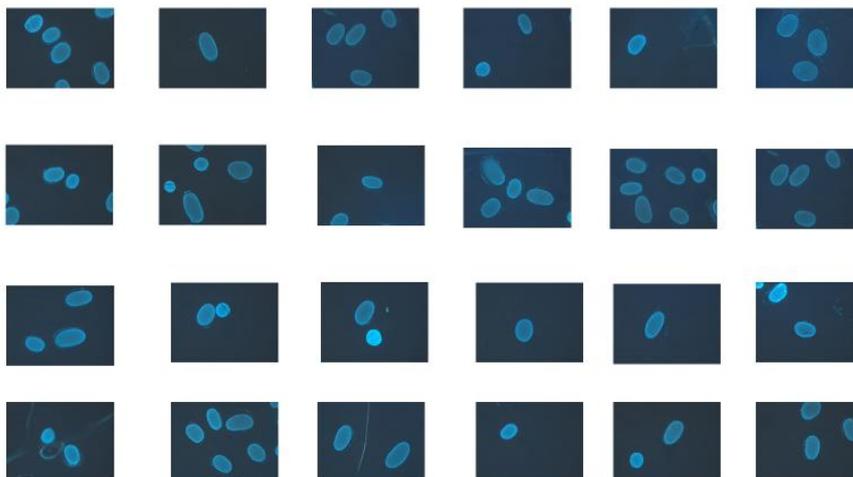


Figura 24. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 4N, 200 de exposição, ApoChrom40x.

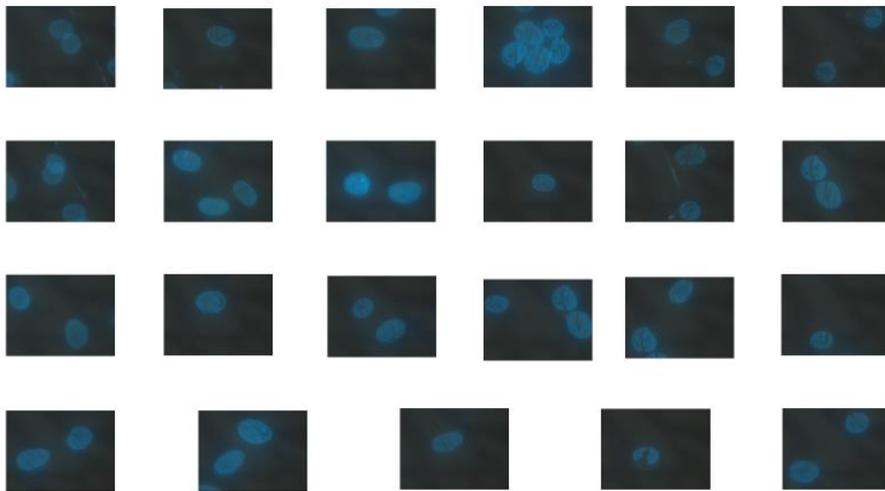


Figura 25. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 4P40, 200 de exposição, ApoChrom40x.

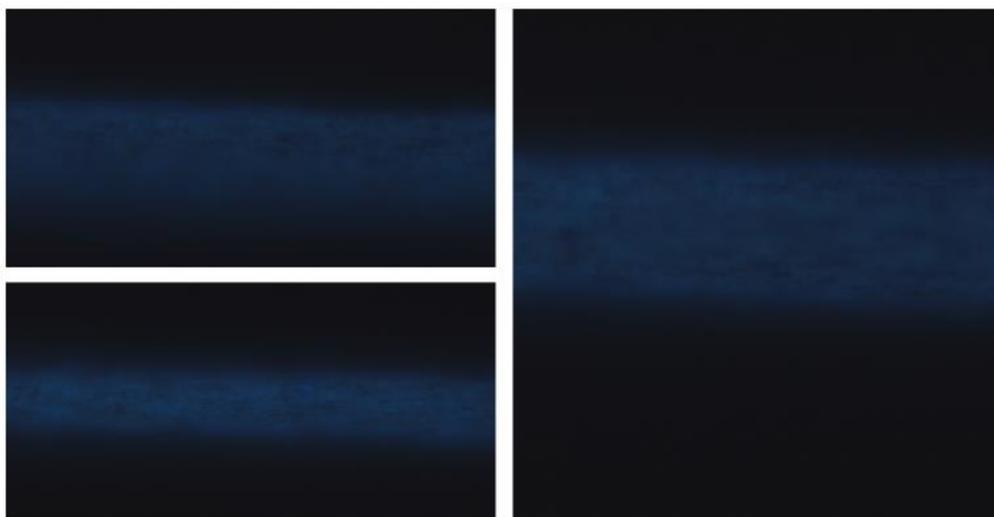


Figura 26. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 4N, 40 de exposição, 50xEpiplan.

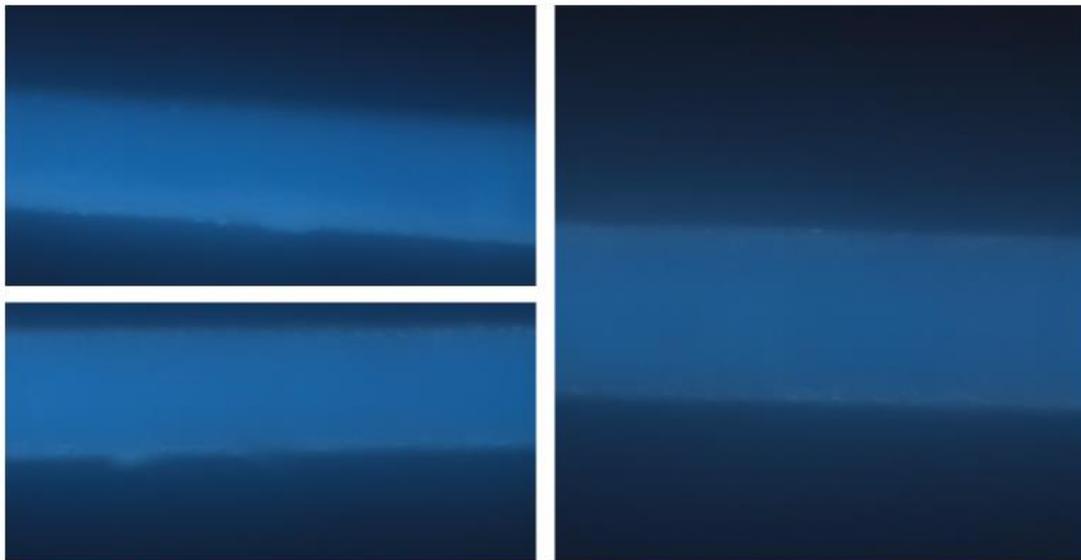


Figura 27. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 4P40, 40 de exposição, 50xEpiplan.

Note a repetição nos padrões de emissão de fluorescência (antes e após clareamento químico) nas mechas de cabelos 3N e 3P40, ou seja, há maior fluorescência nos cortes histológicos dos naturais e maior fluorescência nos fios inteiros nas mechas descoloridas. Apesar do padrão se repetir, se compararmos a intensidade de emissão dos cortes dos cabelos 3N com 4N (comparar a Figura 20 com a Figura 24), nota-se que a emissão é muito mais intensa nos cortes histológicos dos cabelos 3N, que tem maior conteúdo de melanina (castanho escuro) do que nos cortes do cabelo 4N (castanho mais claro). Vale ressaltar que as imagens dos cortes dos cabelos 3N e 4N foram obtidas no mesmo dia e nas mesmas condições experimentais. Sendo assim, a maior emissão nos cortes dos cabelos mais escuros (3N) pode ser correlacionada com a presença de mais agentes absorvedores/emissores. Irá de discutir mais sobre esse ponto ao analisar os gráficos de intensidade/área de fluorescência (Figuras 23, 27, 31, 35, 39).

É interessante notar que as mudanças de intensidade de fluorescência se reparam nos cabelos naturalmente mais claros (Figuras 28-31), mas percebe-se algumas diferenças, por exemplo, o contraste de intensidade de fluorescência no corte histológico entre as amostras naturais e descoloridas é menor (figuras 28 e 29). Além disso, nos cortes histológicos das mechas 5N (Figura 28) também aparecem uma auréola mais clara na região da cutícula, o que não é observado no seu par oxidado (5P40, Figura 29).

Seguindo o mesmo padrão, também se nota que a fluorescência é mais intensa nas fotos dos cortes histológicos dos fios 5N (figura 28) do que nas imagens dos cortes da mecha 5P40 (figura 29). Assim, nos cabelos castanhos claros, a oxidação também causa diminuição de fluorescência no corte e aumento de fluorescência do fio. As bordas das fotos do fio inteiro (figuras 30 e 31) também merecem atenção. Na amostra do fio 5N são regulares e contínuas, já as das amostras 5P40 (figura 31), apresentam leves irregularidades, mas não se encontram nitidamente as cutículas levantadas, como nas figuras 23 e 27. Note também que as mechas 4N e 5N (Figuras 24 e 28) possuem intensidades de fluorescência bem mais próximas entre si do que quando comparado as mechas do cabelo 3N (Figura 20).

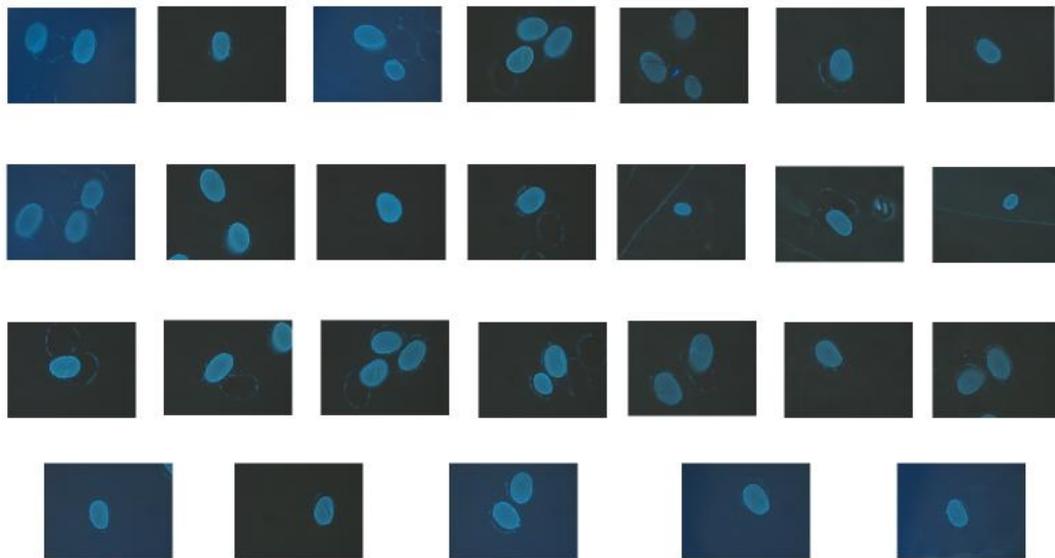


Figura 28. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 5N, 200 de exposição, ApoChrom40X.

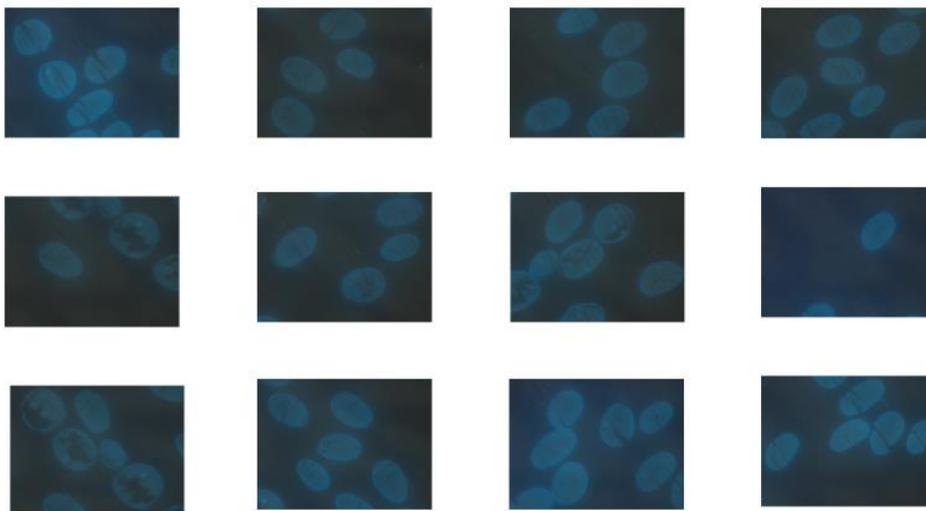


Figura 29. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 5P40, 200 de exposição, ApoChrom40X.

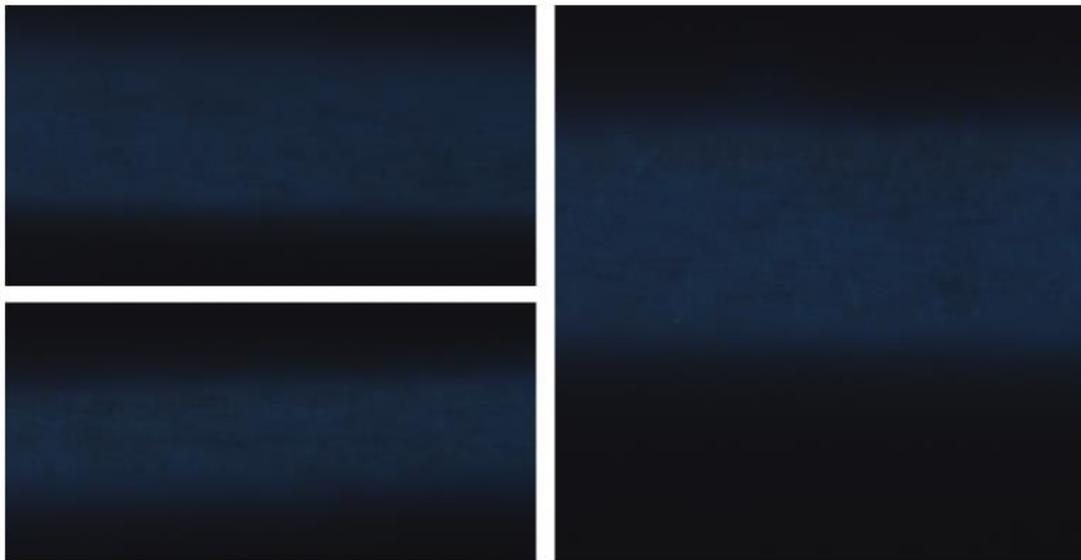


Figura 30. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 5N, 40 de exposição, 50xEpiplan.

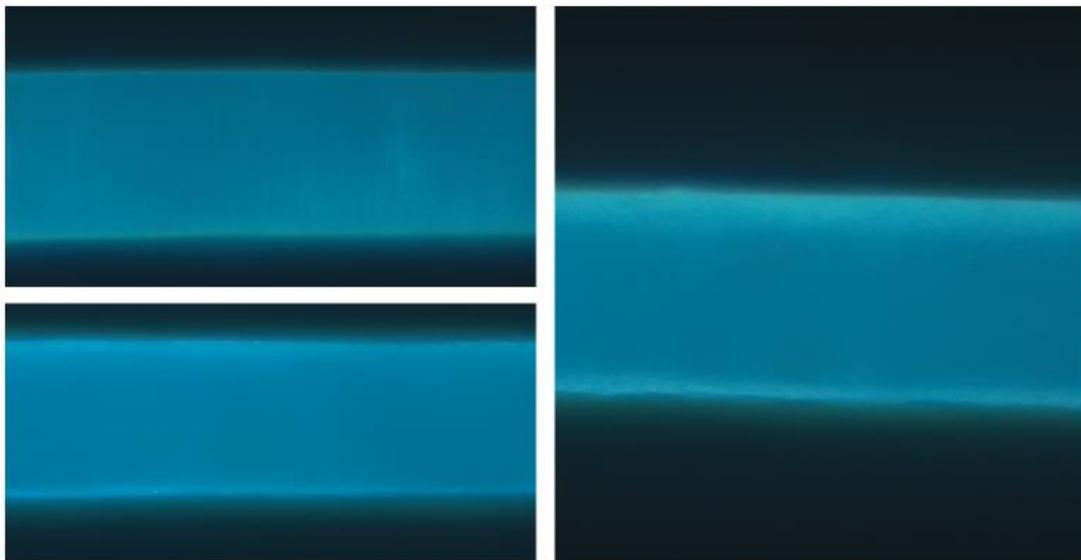


Figura 31. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 5P40, 40 de exposição, 50xEpiplan.

Com a diminuição do tom do cabelo natural (tom 6, Figuras 32-35) passa-se a observar um padrão diferente, pois a mudança de fluorescência no corte passa a ser pouco perceptível a olho nu. A quantificação de IF/área comprovará que continua

havendo diminuição de fluorescência do corte com a oxidação, mas o contrastaste é bem menor do que nos cabelos 3N (veja abaixo, Figura 40). Pode-se notar que o padrão de aumento de fluorescência do fio inteiro com a oxidação repete-se para os cabelos de tom 6. Os fios naturais (Figura 34) emitem menos fluorescência e apresentam estruturas internas (Figura 35). Os fios inteiros dos cabelos oxidados apresentam fluorescência mais intensa e bordas irregulares com cutículas levantadas (Figura 35).

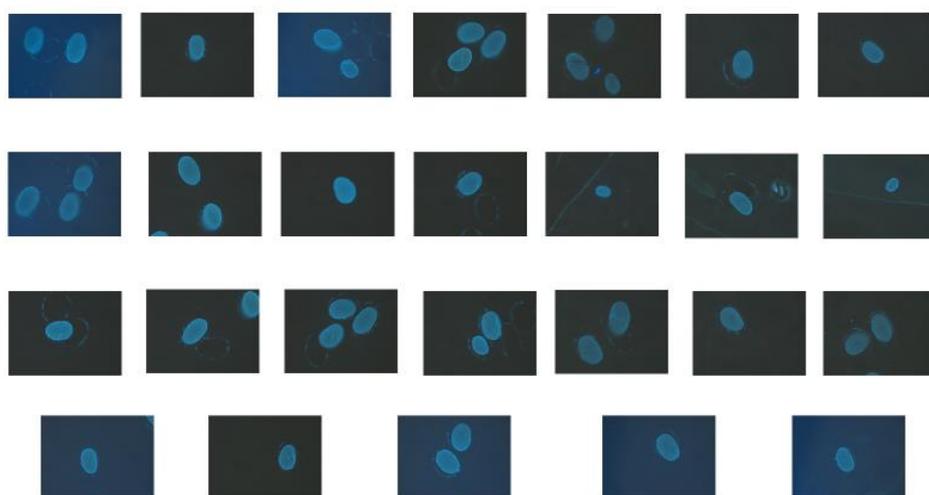


Figura 32. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 6N, 200 de exposição, ApoChrom40X.

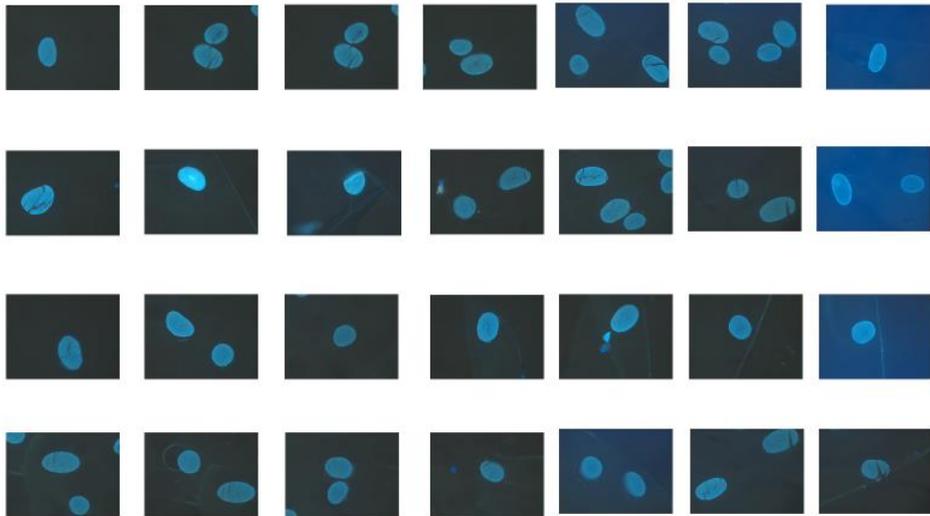


Figura 33. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 6P40, 200 de exposição, ApoChrom40X.

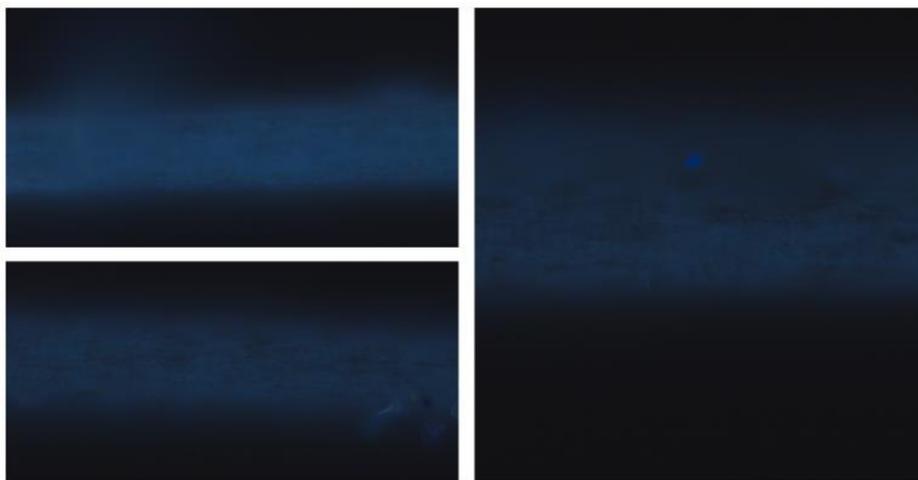


Figura 34. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 6N, 40 de exposição, 50xEpiplan.

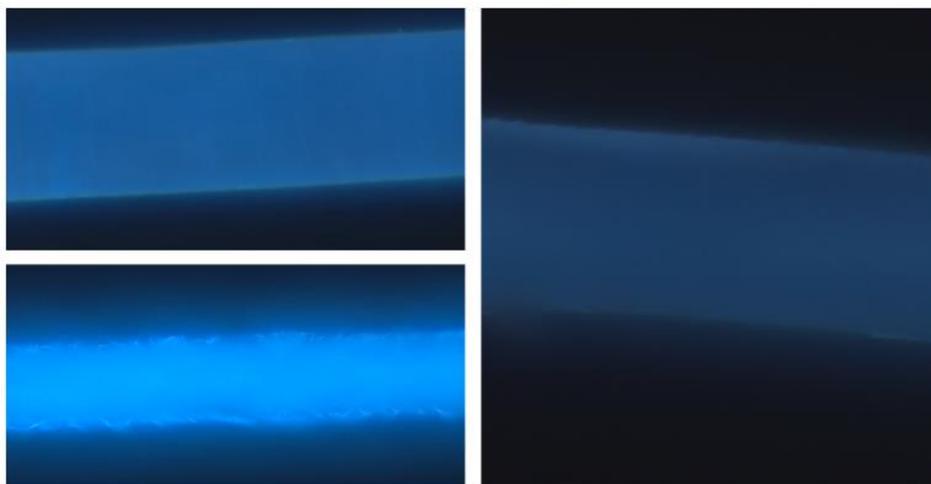


Figura 35. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 6P40, 40 de exposição, 50xEiplan.

O padrão de variação da fluorescência de cortes e fios inteiros dos cabelos castanhos claros (tom 7, Figuras 36-39) é parecida com aquele que se observou dos cabelos de tom 6. Nas figuras 36 e 37, percebe-se que a variação de intensidade de emissão de fluorescência nos cortes histológicos é visualmente imperceptível (através da quantificação da fluorescência – Figura 38 - nota-se que praticamente não há diminuição de fluorescência no corte histológico com a oxidação). Já o padrão de fluorescência do fio inteiro repete-se como nos outros tons (Figuras 38 e 39). Pode-se notar que os fios naturais (Figura 35) emitem menos fluorescência do que os fios descoloridos (Figura 39), além de mostrarem estruturas internas (Figura 38) ausentes nos cabelos descoloridos (Figura 39). Quanto as bordas, nos cabelos naturais observa-se regularidade (figura 38) e com oxidação ocorre aumento das irregularidades com muitas cutículas levantadas.

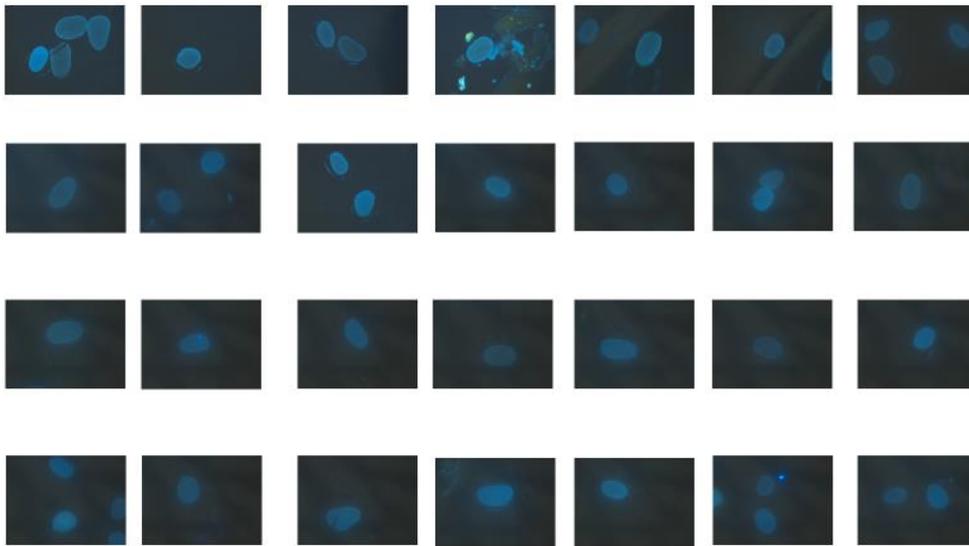


Figura 36. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 7N, 200 de exposição, ApoChrom40X.

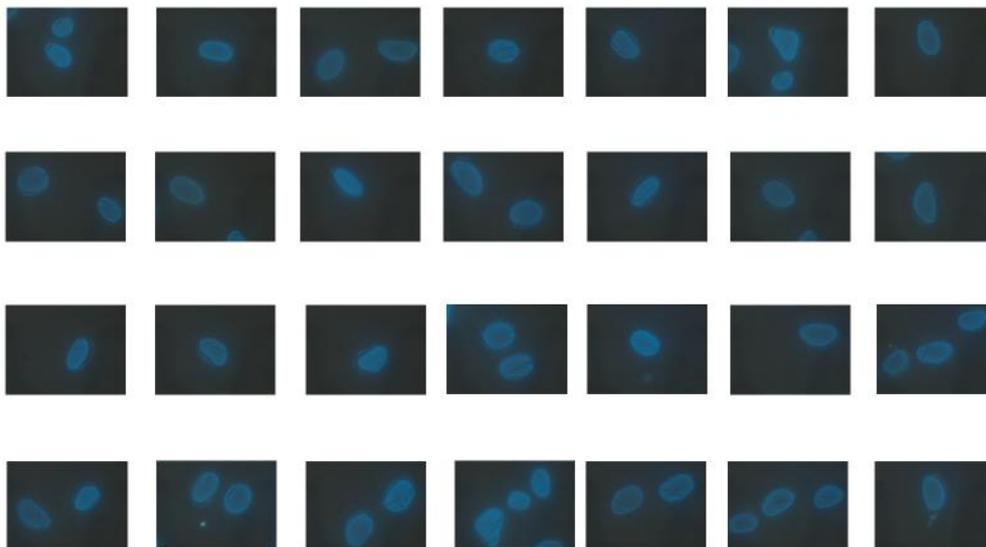


Figura 37. Fotos de fluorescência de cortes histológicos da mecha 7P40, 200 de exposição, ApoChrom40X.

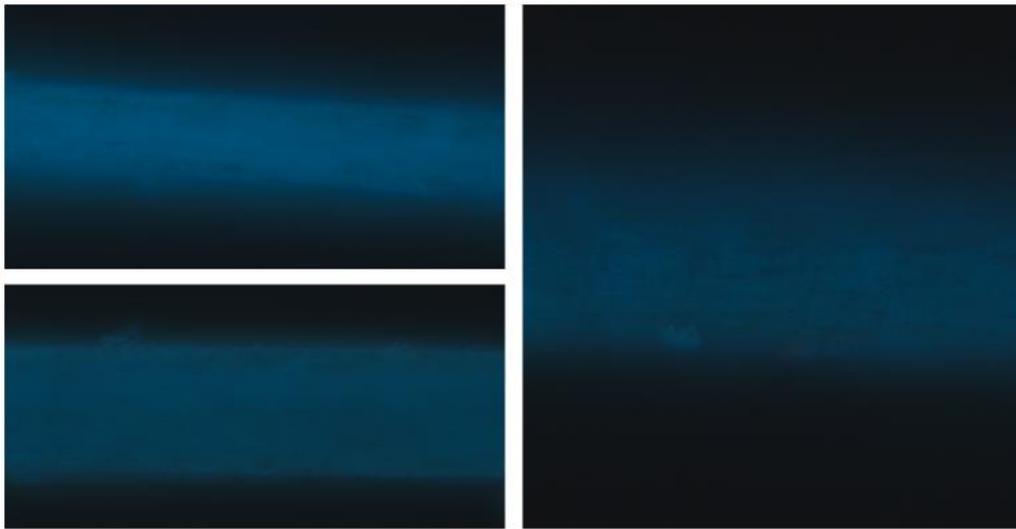


Figura 38. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 7N, 40 de exposição, 50xEpiplan.

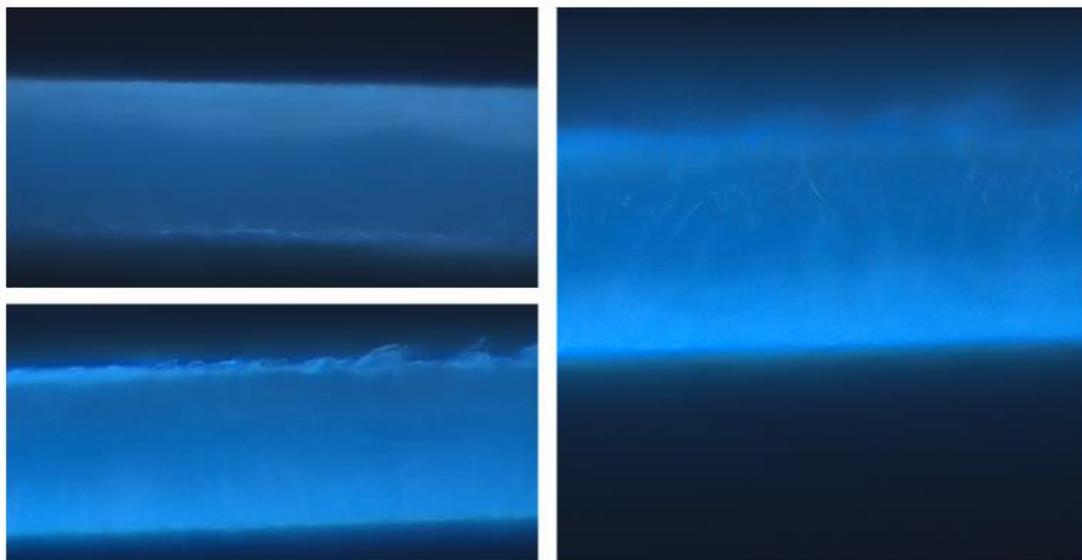


Figura 39. Foto da fluorescência do fio inteiro da mecha 7N, 40 de exposição, 50xEpiplan.

Com o objetivo de comparar quantitativamente os efeitos da oxidação química nos cortes histológicos e nos fios inteiros, integrou-se os valores de intensidade de emissão numa certa área (IF/área) do corte (Figura 40) ou do fio inteiro (Figura 42) e

graficou-se em função do tipo de cabelo (vários tons “N”) e do tratamento oxidativo (P40).

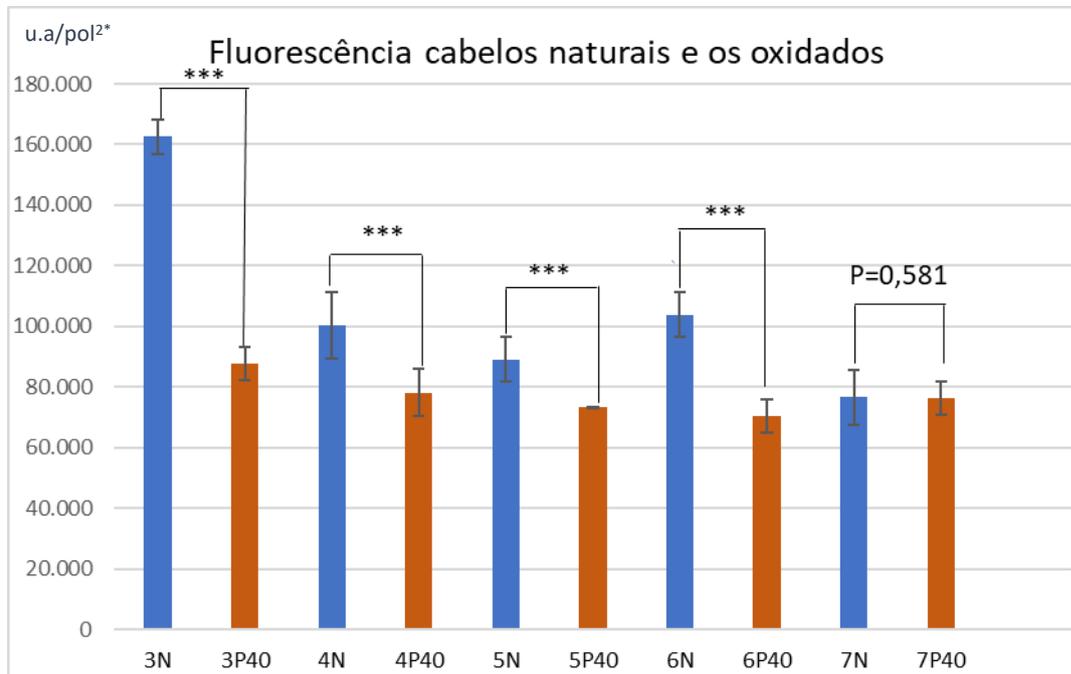


Figura 40. Intensidade de fluorescência/área nos cortes histológicos de cabelos naturais (N) e de cabelos descoloridos com tratamento oxidativo (p40). Os números antes de “N” e de “P40” representam os tons dos cabelos antes do clareamento.

*unidade arbitrária/polegadas²

De forma geral, os padrões qualitativos observados diretamente das imagens de fluorescência repetiram-se nos gráficos quantitativos (Figuras 40 e 42). Com exceção dos cabelos no tom 7, cortes histológicos dos cabelos naturais apresentarem emissão de fluorescência mais intensa do que os cabelos dos cabelos oxidados. Os testes estatísticos, (teste T), nos mostram que os resultados são diferentes entre si (***) = $P < 0,001$), para as amostras 3N e 3P40, 4N e 4P40, 5N e 5P40 e 6N e 6P40, no entanto não podemos afirmar isso para as amostras 7N e 7P40, pois os resultados dessas amostras muito parecidas entre si. O oposto é

observado na fluorescência do fio inteiro. Como podemos observar na Figura 40 a oxidação causa aumento de fluorescência em todos os tons de cabelos analisados. Neste caso há significância estatística para as variações da oxidação em todos os tons de cabelo.

Esse resultado nos permite refletir sobre os parâmetros e processos que afetam a fluorescência dos cabelos. Ao estar presente praticamente no fio todo, a melanina afeta de forma diversa a luz que entra e sai do cabelo, espalhando, absorvendo e re-emitindo a luz de excitação, bem como, a fluorescência produzida no cabelo. No corte histológico a luz percorre uma seção de pequeno caminho ótico, evitando percursos longos e repletos de agentes espalhadores/absorvedores e emissores, como acontece no fio inteiro. Desta forma, o sinal de emissão guarda uma relação mais forte com a quantidade de agentes absorvedores e emissores de luz. Com a oxidação, ocorre perda de melanina acarretando diminuição na intensidade de emissão do corte (Figura 40).

Quando analisamos o corte histológico do fio 3N, há uma emissão muito mais intensa do que nos cortes dos outros tons, o que segue o padrão de quantidade de melanina nos cabelos de tons menores. A microscopia de transmissão eletrônica de cortes de cabelos com tons 3, 5 e 7 mostram quão maior é a quantidade de melanina no tom mais escuro (Figura 41). Note que numa seção do cabelo 3N encontram-se muito mais pontos escuros de melanina e estes grânulos são maiores do que nos tons mais claros. Nos cabelos 5N encontramos pontos mais distribuídos, porém em quantidade e tamanho menor e assim também para a mechas de cabelos 7N. A figura 41 pode até nos dar a impressão de que as cores mais claras quase não possuem melanina. No entanto, é preciso lembrar, que um corte histológico é

uma amostra muito fina ($\sim 3\mu\text{m}$ de espessura) e a pouca de melanina observada é suficiente para produzir os diferentes tons de castanho dos cabelos. De qualquer forma, nos tons mais escuros há mais agentes absorvedores/emissores e a diminuição destes com a oxidação é maior.

Já no fio inteiro, além da melanina outras estruturas do cabelo também afetam a propagação da luz. Sabendo que a oxidação diminui a quantidade de espécies emissoras e que a fluorescência do fio aumenta com a oxidação em todos os tons de cabelos (Figura 42), podemos dizer que a oxidação definitivamente aumenta a propagação de luz no fio. Em outras palavras o fio de cabelo torna-se uma matriz que afeta muito menos a propagação luminosa. Tem menos agentes espalhadores, menos agentes que absorvem a luz de excitação e de emissão (Figura 42).

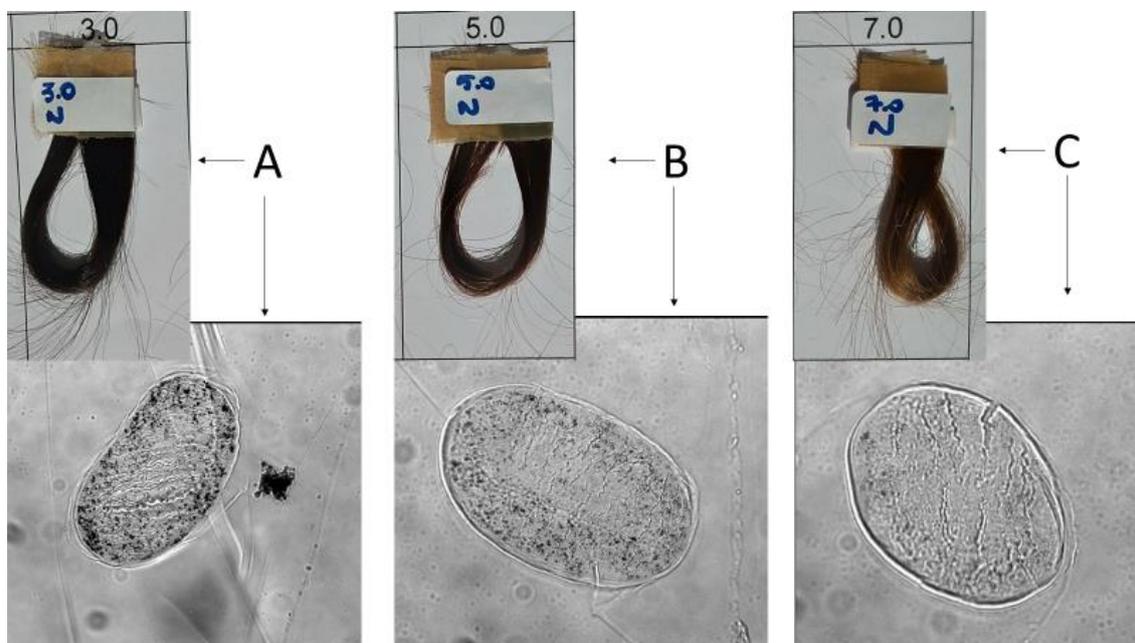


Figura 41. Fotos das mechas naturais com suas respectivas fotos de transmissão do corte histológico evidenciando a quantidade de melanina. A: mecha 3N. B: mecha 5N. C: mecha 7N

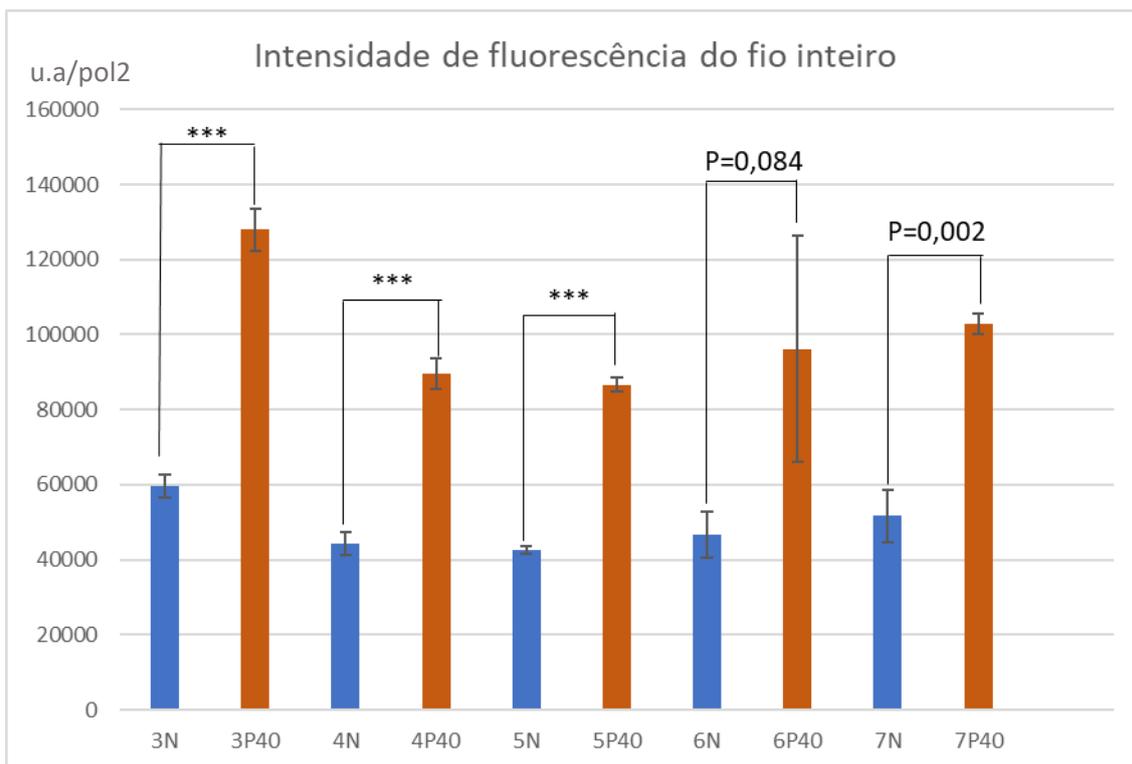


Figura 42. Intensidade de fluorescência por área no fio inteiro de cabelos naturais (N) e de cabelos descoloridos com tratamento oxidativo (P40). Os números antes de “N” e de “P40” representam os tons dos cabelos antes do clareamento.

*unidades arbitrárias/polegadas²

4.1.2. Microscopia de Reflectância

As cutículas dos cabelos são muito importantes para definir as propriedades individuais e coletivas dos cabelos. A cutícula controla a entrada e saída de moléculas na fibra capilar e controla as interações de um fio com outro, que afinal, afeta propriedades muito importantes das mechas de cabelo, como o *frizz*, o brilho, a penteabilidade e a maciez (Feroze et al, 2016). Fios processados quimicamente tem suas cutículas bastante danificadas, causando o descolamento de camadas cuticulares do córtex, o que subseqüentemente causa aumento de opacidade do fio, aumento do frizz e perda da hidrofobicidade do fio. Neste sentido, embora as

imagens de microscopia de fluorescência mostram um contraste de emissão na cutícula e a presença de cutículas descoladas (Figura 23). No entanto, as mudanças de contrastes da microscopia de fluorescência não foram reprodutíveis o suficiente para que fossem utilizadas na avaliação da estrutura da cutícula. Desta forma, foi necessário desenvolver maneiras de relatar essas mudanças de forma quantitativa por microscopia ótica.

Decidiu-se explorar a técnica microscopia de refletância, que é baseada na captação da luz refletida da superfície de interesse, neste caso a cutícula de uma fibra capilar. O próprio microscópio Zeiss, adaptado com módulos de objetivas e filtros apropriados, foi utilizado para obter as fotos de microscopia de reflectância. Assim, como nas análises de fluorescência, comparamos imagens de microscopia de reflectância de fios naturais com fios submetidos à oxidação.

Na figura 43 apresenta-se as fotos de microscopia de refletância dos fios 3N. Note que há bastante nitidez e contraste das cutículas. Já quando se observa as fotos das cutículas dos fios descoloridas quimicamente (3P40 - Figura 44) a perda do contraste e da definição das camadas cuticulares é bastante nítida. No fio natural (Figura 43) a cutícula é muito mais nítida e suas camadas cuticulares são bem definidas. Nos cabelos descoloridos as camadas cuticulares perdem nitidez e contraste, superfície fica visualmente mais lisa e com menor definição da cutícula (Figura 44). Esse perfil de cutículas bem definidas e danificadas em cabelos naturais e tratados quimicamente, respectivamente, repete-se para cabelos dos 4 (Figuras 45 e 46), 5 (Figuras 47 e 48), 6 (Figuras 49 e 50) e 7 (Figuras 51 e 52).

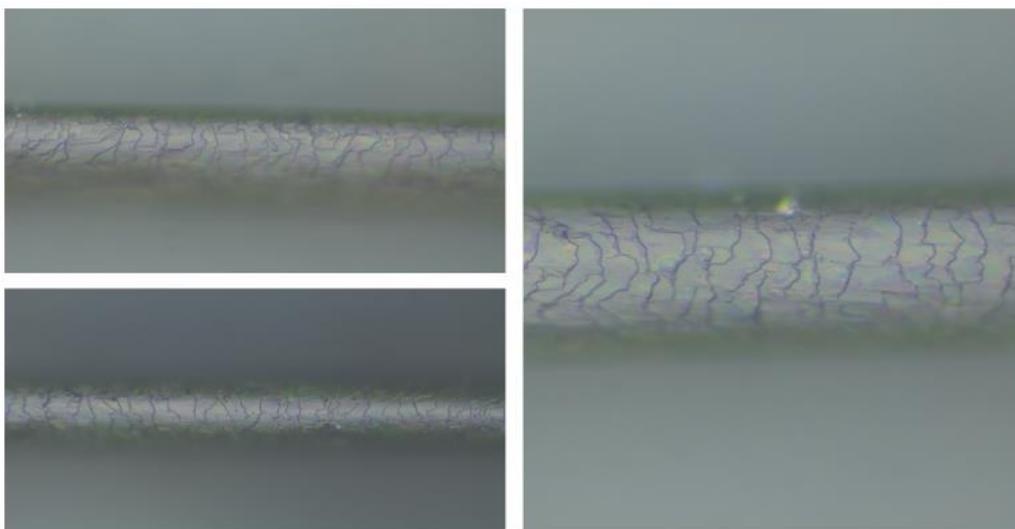


Figura 43: Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 3N, 12ms de exposição, 50xEiplan.

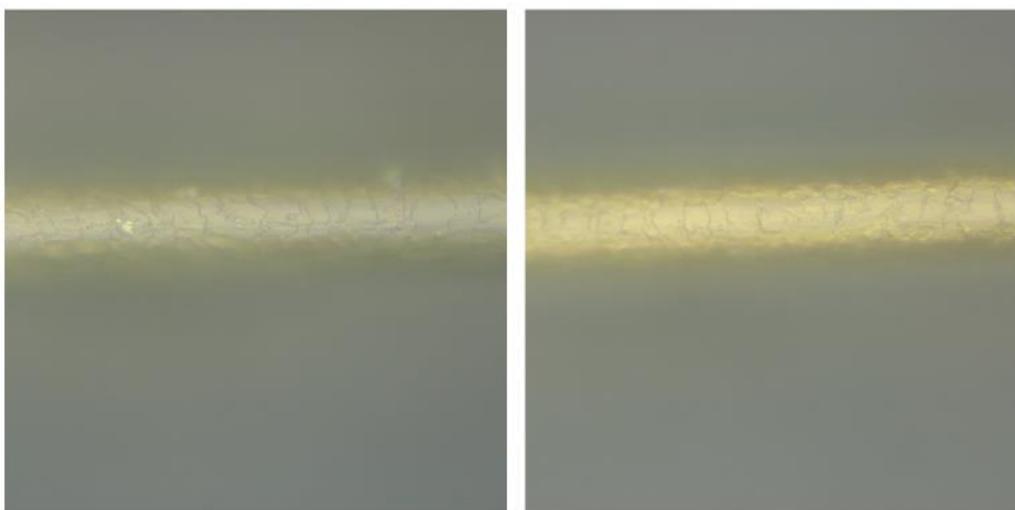


Figura 44: Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 3P40, 12 de exposição, 50x Eiplan.

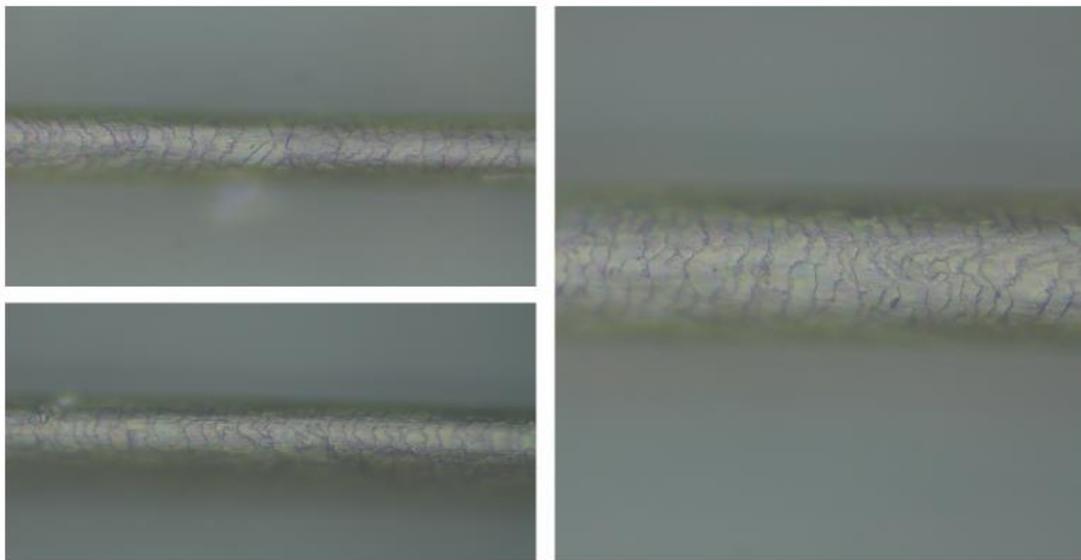


Figura 45. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 4N, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

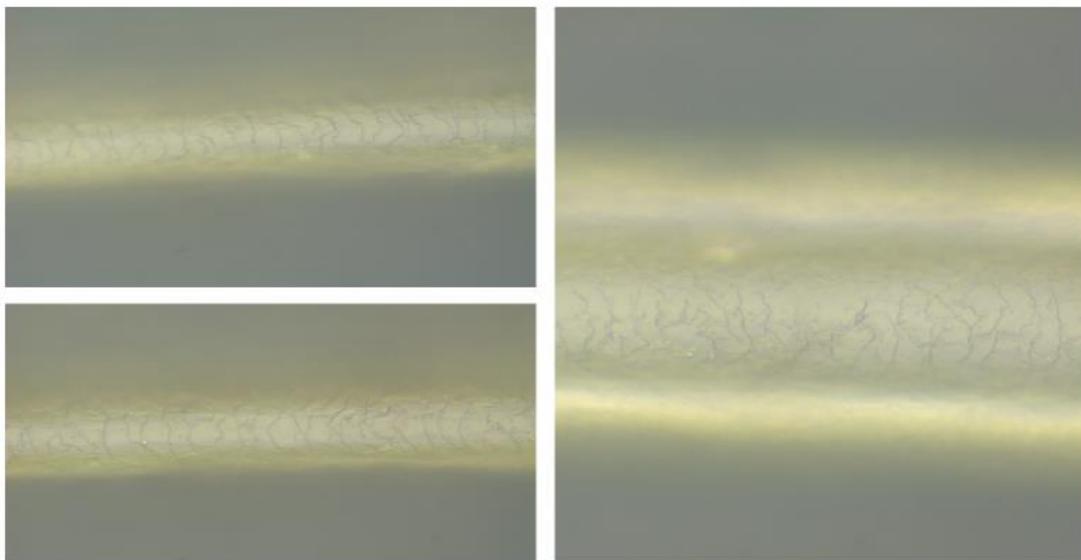


Figura 46. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 4P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

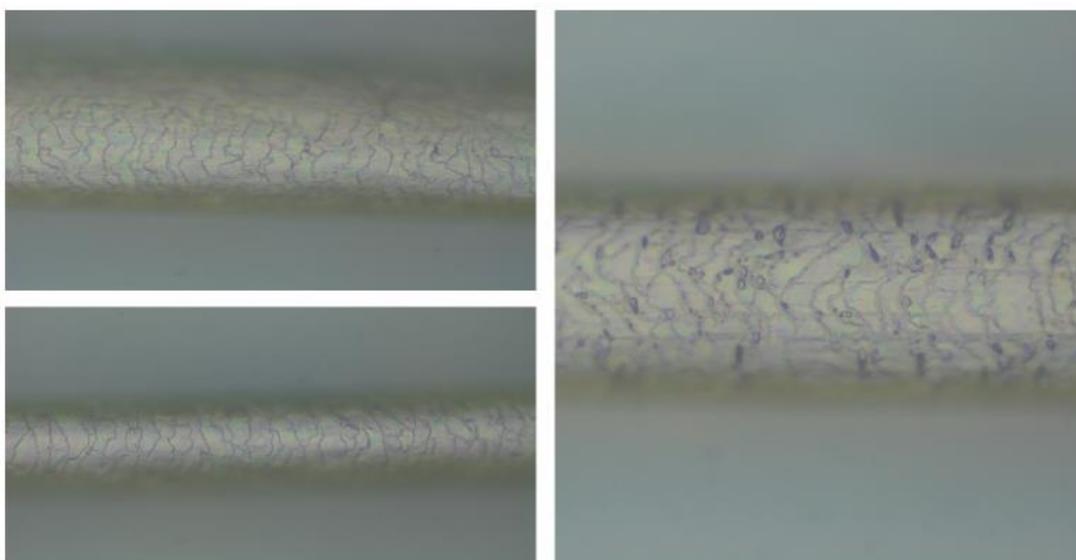


Figura 47. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 5N, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

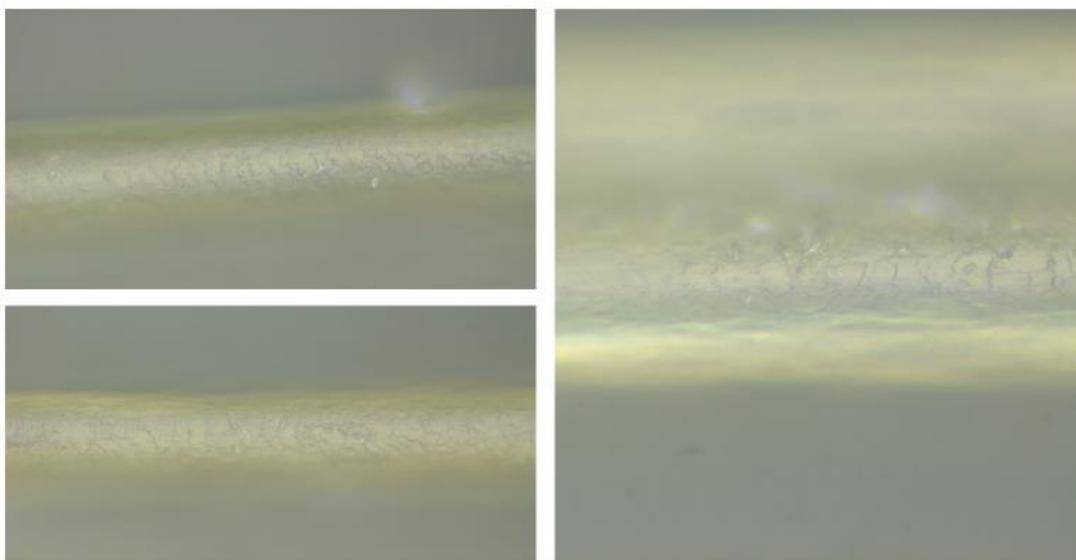


Figura 48. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 5P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

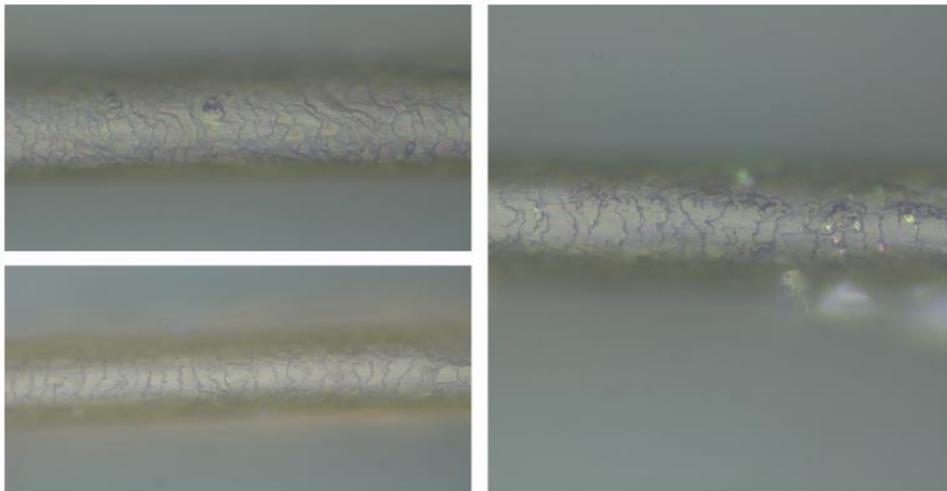


Figura 49. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 6N, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

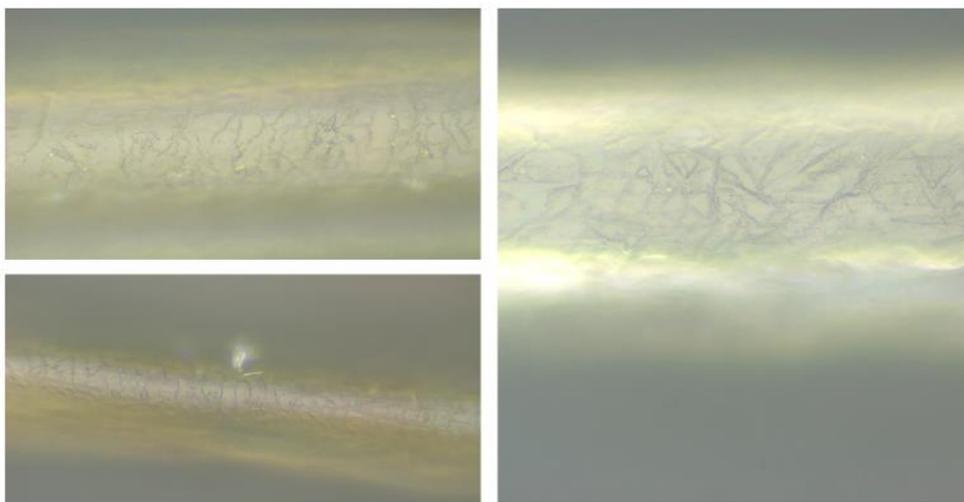


Figura 50. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 6P40, 12ms de exposição, 50xEpiplan.

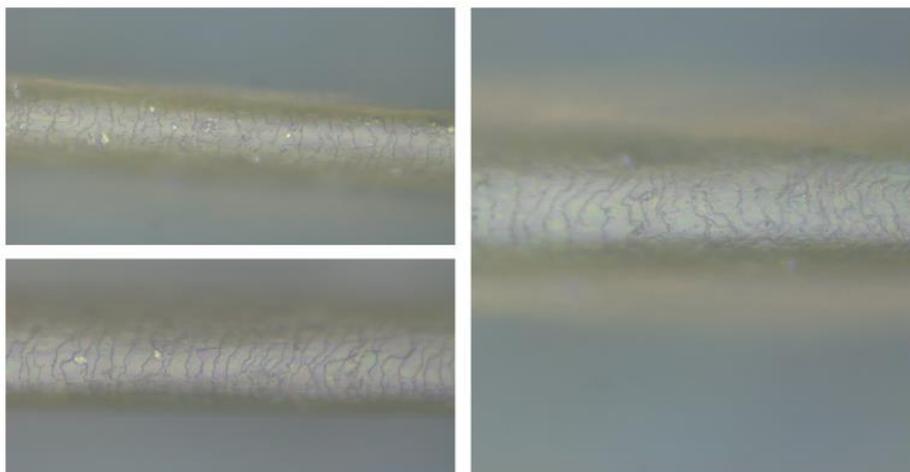


Figura 51: Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 7N, 12ms de exposição, 50xEiplan.

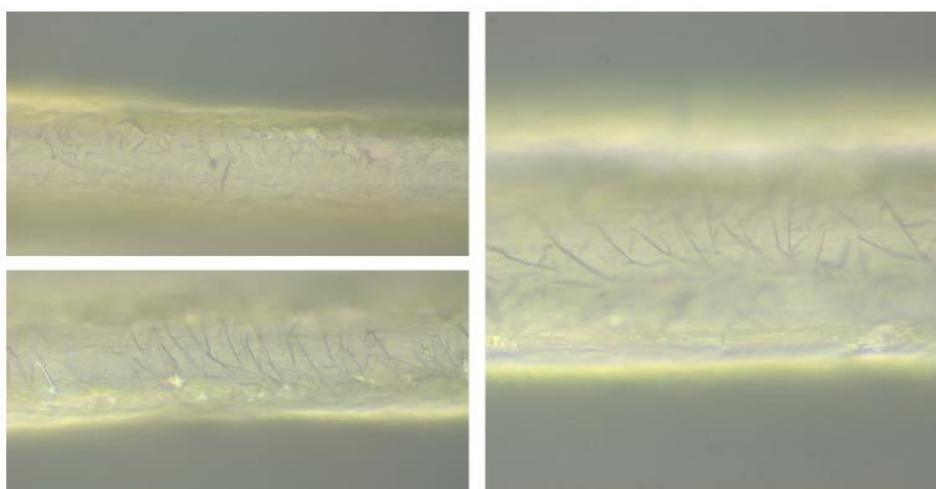


Figura 52. Foto da superfície do fio retirados das mechas dos cabelos 7P40, 12ms de exposição, 50xEiplan.

Para poder quantificar a integridades das cutículas nas fibras capilares naturais e submetidas ao tratamento químico oxidativo, desenvolveu-se um algoritmo usando o programa Image-J, que basicamente reconhece o contraste das cutículas e soma linearmente todas as regiões de contraste identificadas. No item 3.3.10, do capítulo de Detalhes experimentais, relatamos o processo de análise.

Na figura 53, encontra-se o gráfico de contraste integrado nas cutículas dos fios naturais e tratados. Nota-se que o tratamento de descolorimento oxidativo causa uma perda significativa de contraste nas cutículas, mais de 50% variando de castanho escuro a castanho claro. Os fios de cores mais escuras como o 3, 4 e 5 tiveram mudanças mais drásticas (perda de contraste se aproxima de 70%) comparando fios naturais com descoloridos. Nos tons mais escuros (6 e 7) houve uma mudança mais suave. A perda de contraste nesses casos é de cerca de 50% a 45% nessas cores.

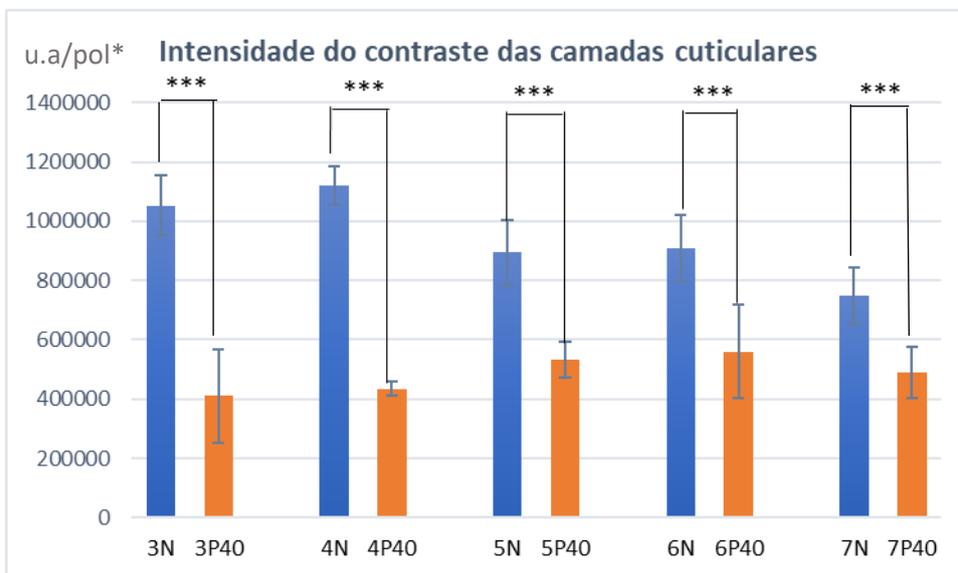


Figura 53. Gráfico das medidas de contraste das camadas cuticulares nos fios inteiros.

*unidades arbitrárias/polegadas.

Alterações na cutícula dos fios de cabelo são indesejáveis, pois causam perda de brilho, aumento do frizz, diminuição da maciez e na penteabilidade, ou seja, provoca tudo de mais indesejado nas propriedades do cabelo. Fica evidente que o tratamento oxidativo não ataca somente as melaninas e as estruturas internas dos cabelos, mas também causa mudanças significativas na estrutura da cutícula.

Será interessante avaliar se o procedimento fotoquímico também acarretará danos na cutícula e como esses danos se compararão com os danos causados pelos procedimentos puramente químicos.

4.1.3. Resistência ao corte histológico

Uma observação interessante, que já foi mencionada previamente (Comparar figuras 20 com 21, 24 com 25, 28 com 29, 32 com 33 e 36 com 37), é que os cabelos oxidados sofrem mais rachaduras durante a preparação dos cortes histológicos. Comparando as figuras 24 com 25, por exemplo, pode-se notar que as rachaduras aumentam tanto em número, quanto em intensidade nos cortes dos fios oxidados, ou seja, as rachaduras são mais profundas e mais largas do que nestes fios. Observe a figura 54, as imagens dos cabelos oxidados estão muito mais rachadas e com fendas muito mais profundas.

Essa medida tem relação com um dos principais problemas dos cabelos branqueados, que é a diminuição da resistência do fio, ou seja, o fio sobre ruptura com força de tração menor. Também está de acordo com outros trabalhos que demonstraram que a oxidação química diminui substancialmente o módulo de tensão dos cabelos, por oxidar tanto grupos sulfidrilas livres, quanto pontes de dissulfetos, além de outros aminoácidos, diminuindo significativamente a força coesiva das fibras capilares. Uma das principais mudanças químicas que ocorrem é a transformação da cisteína em ácido cisteíco, perdendo as ligações dissulfeto do fio, que são fundamentais para a estrutura fibrosa da proteína de queratina (Nogueira; Nakano e Joekes, 2004 e Robbins, 2012).

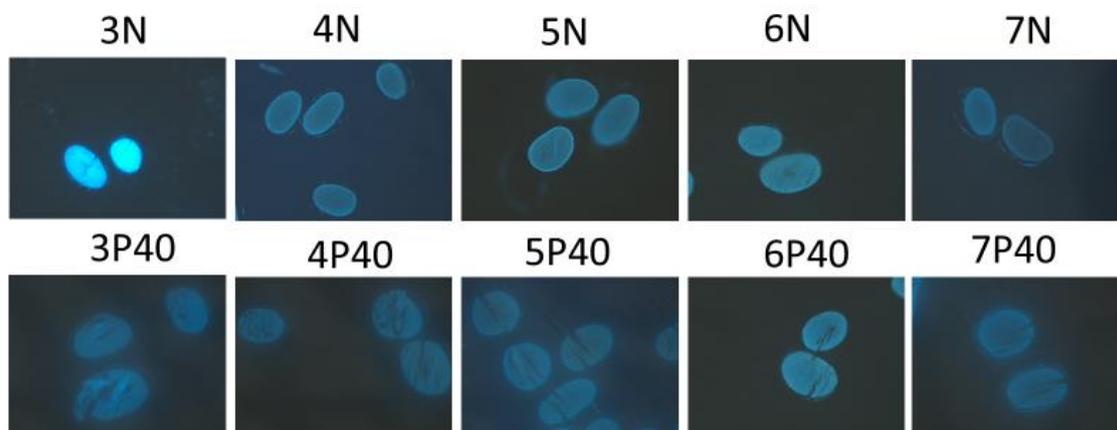


Figura 54: Fotos dos fios da série N, que estão na linha de cima e fotos da série P40, nas linhas abaixo.

Revisitamos as imagens de fluorescência de cortes histológicos de cabelos tratados e controle e quantificamos a percentagem da área total de rachadura nos cortes comparado com a área toda, utilizando algoritmo apropriado no ImageJ (Materiais e métodos, 3.3.8.). Os dados de percentagem de rachadura nos cabelos naturais (série N) e tratados com oxidante (série P40) estão apresentados na figura 55. Note que a percentagem de área de rachadura varia bastante (de 20 a 70%) nos cabelos naturais, no entanto, estão bem abaixo das áreas de rachadura nos cabelos oxidados que variam (de 90 a 95%). Podemos observar que os fios 4N, 5N, 7N que possuíam cerca de 80% de fios sem rachaduras, passam a ter somente 5% de fios inteiros. Mesmo nos casos os fios 3N e 6N, que tinham aproximadamente 30% de fios sem rachaduras, passaram a ter menos que 3% de fios inteiros.

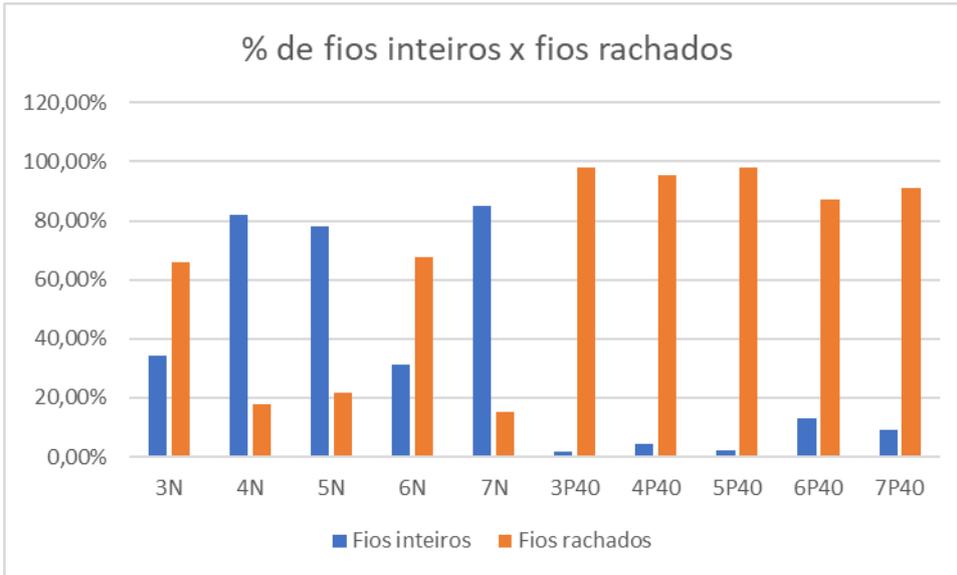


Figura 55: Gráfico da contagem de fios nos cortes histológicos com ou sem rachaduras

Resta evidencia de que os fios oxidados quebram muito mais durante o processo de corte histológico (Figura 54), demonstrando o aumento da fragilidade e do dano nos fios de cabelos. A ação de cortar finamente, através de uma lâmina de vidro parece ser muito estressante para o fio. Os cabelos naturais também apresentam rachaduras, mas a resistência ao cisalhamento é muito maior. Pode-se concluir que o nível de rachadura no fio tem relação com a sua oxidação e perda das estruturas internas que mantem a coesão do fio. Desta forma, a medida da porcentagem de área de rachadura pode ser um parâmetro interessante para se comparar métodos alternativos de descolorimento, por exemplo, para identificar métodos que preservem melhor a estrutura interna dos fios do que o descolorimento puramente químico-oxidativo.

4.1.4. Considerações finais da parte 1

As análises quantitativas em cabelo são sempre desafiadoras, pois há muitas variações fenotípicas como espessura, cor natural, formato entre outras características. Por isso é muito comum fazer avaliações comparativas, por exemplo resultados obtidos antes e o depois de um tratamento num dado tipo de cabelo. No entanto, utilizando um número suficiente de amostras é perfeitamente possível obter medidas e variações confiáveis e dentro de limites bastante razoáveis de significância estatística (Figuras, 40, 42 e 43).

As variações que ocorrem com a oxidação quase nunca são lineares. Algumas vezes são antagônicas. Por exemplo, ocorre aumento e diminuição de fluorescência, respectivamente, no fio inteiro e no corte histológico. A oxidação diminui o contraste das cutículas e aumenta a percentagem de rachaduras. No texto acima, tecemos possíveis explicações para esses fenômenos, mas independente da explicação, é possível notar que as mudanças com oxidação podem ser quantificadas e ocorrem num padrão semelhante para cabelos de tons que variam de 3 a 7.

As análises realizadas por microscopia (fluorescência, transmissão e reflexão), possuem suas particularidades que carregam informações distintas e complementares das mudanças ocorridas após a oxidação química. Na maior parte dos trabalhos científicos e tecnológicos desta área, as mudanças relacionadas à oxidação são realizadas no nível macroscópico, mensurando força/tensão, frizz ou perda de brilho. Em alguns destes métodos de avaliação, por exemplo avaliação do frizz, é difícil realizar a otimização de processos e formulações (almejando descolorir

mais causando menos danos), pois estas medidas são baseadas em observações qualitativas (frizz). No caso de medidas de força/tensão e brilho, equipamentos específicos são necessários (Gama, 2010). Nas análises microscópicas faz-se medidas quantitativas com quantidade de amostra muito pequena. Além disso, qualquer laboratório com um microscópio invertido de fluorescência pode realizar estes procedimentos avaliativos dos danos oxidativos.

4.2. Descolorimento fotoquímico

Uma vez que o descolorimento químico da melanina é muito danoso para o fio (Nogueira; Nakano e Joekes, 2004), é importante identificar condições que permitam o descolorimento com menos danos na estrutura do fio. Estudos anteriores demonstraram que a luz é capaz de degradar a melanina do fio de cabelo (Chiarelli-Neto O. et al, 2011), mas não identificaram as condições que podem permitir o uso desse efeito no descolorimento capilar. O mercado de beleza usa extensivamente técnicas de descolorindo/tingimento de cabelos, por conseguinte, se alcançarmos nosso objeto, desenvolveremos uma tecnologia muito útil para o setor cosmético.

Nessa parte do trabalho descreve-se o descolorimento fotoquímico de cabelos, ou seja, descolorimento obtido com a irradiação de cabelos previamente tratados com concentrações relativamente pequenas de peróxido de hidrogênio. O objetivo principal é comparar os descolorimentos puramente químico (peróxido de hidrogênio e pó-descolorante) com o fotoquímico, em termos dos danos que causam na estrutura dos cabelos. No entanto, antes de fazer esta comparação, realizamos alguns testes para avaliar o efeito do pH (3.5-10) e da faixa de comprimento de onda da luz visível (azul, verde, vermelho), que maximizam o descolorimento fotoquímico.

4.2.1. Maximização do descolorimento fotoquímico

Peróxido de hidrogênio foi utilizado como agente oxidante pela sua comprovada capacidade de degradar a melanina, (Korytowskine Sarna, 1990), por ser de fácil manipulação e por já ser muito usado no mercado cosmético. No entanto, foi necessário avaliar condições que favoreçam a sua ação em concentrações pequenas ($\sim 2\text{mol.L}^{-1}$). Para investigar o efeito do pH na eficiência do descolorimento fotoquímico, variou-se o valor do pH da solução de peróxido de hidrogênio de 3.50 a 10.0, mantendo todas as demais condições experimentais (tipo de cabelo, fonte de luz, temperatura, concentração de peróxido). Note que nos valores pequenos de pH há pouca variação na cor dos cabelos, tanto na ausência quanto na presença de irradiação (Figura 56). Percebe-se mudança significativa na cor do fio apenas em pH 10, tanto na ausência quanto na presença de luz, além da alteração de cor na presença de luz é muito mais significativa, sendo que o cabelo muda de castanho escuro (4.0) para loiro claríssimo (10.0).

O pka do peróxido de hidrogênio é 11,6 (Legrini e Braun, 1993), sugerindo que o aumento da eficiência de branqueamento ocorre paralelo ao desprotonamento do peróxido de hidrogênio. Íons peroxila (OOH^-) são agentes nucleofílicos muito mais fortes do que o peróxido de hidrogênio e reconhecidamente degradam a melanina (Korytowskine Sarna, 1990). Nos demais experimentos desta dissertação utilizamos soluções com pH 11, para ter soluções oxidantes com uma quantidade razoável de OOH^- .

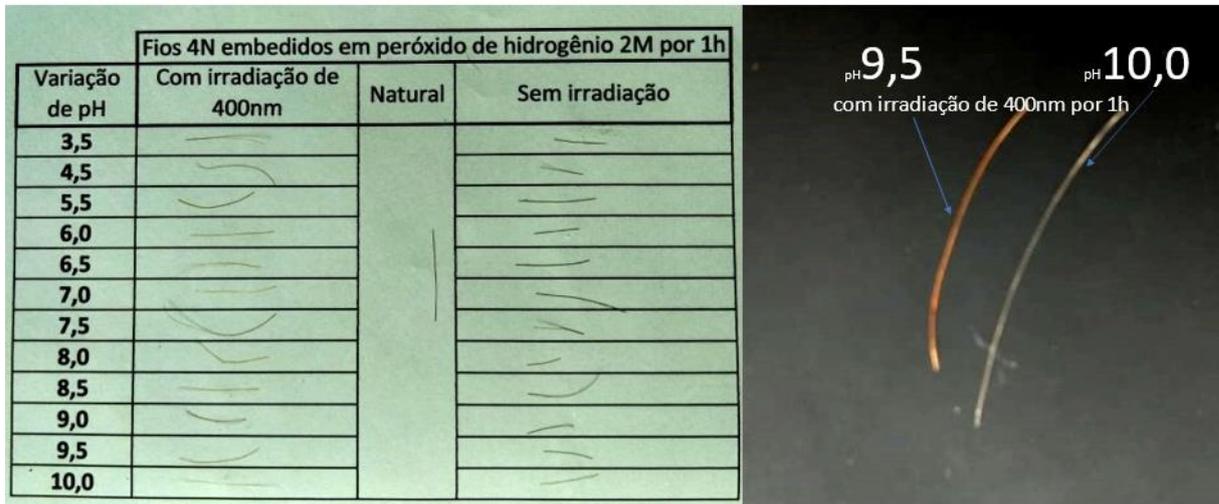


Figura 56: Fios de cabelo de cor inicial 4, antes e após os descolorimentos químico e fotoquímico (410nm 270 J.cm⁻²), variando-se o pH de 3,5 à 10, a temperatura ambiente. [H₂O₂] = 2M. Foto em detalhe dos fios que estavam sob a ação de irradiação, variando o pH de 9,5 para 10.

Estudou-se também a faixa de radiação luminosa mais propícia para induzir o descolorimento fotoquímico. É conhecido que o dano causado por radiação UVB depende criticamente da cor do cabelo, pois fótons nesta faixa de comprimento de onda (280-320nm) atravessam a cutícula do fio e chegam ao córtex de cabelos loiros ou brancos, causando muitos danos oxidativos, principalmente em aminoácidos fotoativos como o triptofano, tirosina, fenilalanina (Fernandez et al, 2012), mas não são capazes de chegar ao córtex de cabelos escuros (cores 3, 4, 5). Radiação UVA (320-400nm), além de ser absorvida pela melanina, é também absorvida pelas estruturas proteicas do cabelo e reconhecidamente causa danos na estrutura do fio, bem como, altera a sua cor causando o amarelamento do fio (Richena e Rezende, 2015; Nogueira A. C. S e Joekes I., 2004) Já a radiação visível é absorvida fundamentalmente pela melanina, que é o principal pigmento dos

cabelos. Sendo assim, a luz visível causa poucos danos nas estruturas proteicas do fio, mas causa eficiente degradação da melanina (Chiarelli-Neto O. et al, 2011). Logo, a escolha da luz visível para induzir o descolorimento do fio é justificada pelo fato desta radiação atingir principalmente a melanina, preservando as demais estruturas do fio.

Resta saber qual faixa de luz visível é mais eficiente, azul, verde ou vermelho? Para responder a esta pergunta, irradiou-se cabelos de tom 4 embebidos em solução 2mol.L^{-1} de peróxido de hidrogênio ($\text{pH}=11$) e irradiamos os fios por 1 hora com luz de azul (425 nm), verde (525nm) ou vermelha (625nm) e comparamos com cabelos controles, que foram mantidos em solução de peróxido de hidrogênio em ambiente escuro (Figura 58). Veja que a luz azul apresentou um efeito muito mais significativo, seguida pela verde e por último pela vermelha. Uma vez que o tempo de irradiação pode ser um fator importante para a utilização desta metodologia, optou-se por utilizar a faixa de luz que apresenta o efeito de descolorimento mais intenso, que foi a luz azul.

Antes de continuar, é necessário justificar por que não foi utilizado somente a luz (sem peróxido de hidrogênio) para realizar o descolorimento fotoquímico. Por mais que a luz visível promova a degradação da melanina, a magnitude de descolorimento na ausência de oxidante químico é pequena. De fato, cabelos escuros submetidos a radiação solar, perdem somente 1 tom de cor após mais de 1000 horas de irradiação (Hoting; Zimmermann e Hilterhaus-Bong, 1955). Conseqüentemente, esse efeito não seria útil como tecnologia para clarear cabelos. Por isso, surgiu a necessidade de utilizar também um oxidante brando, que age em

sinergia com a luz, entregando resultados efetivos de clareamento (4 tons de clareamento ou mais).



Figura 57. Fotos de fios naturais de tom 4, embebidos em solução de peróxido de hidrogênio (2mol.L^{-1}) por 1 hora e mantidos no escuro (N) irradiados com luz azul (AZ), verde (VD), vermelho (VM).

Quanto ao tipo de cabelo, optou-se por utilizar sempre cabelos naturais de tom escuro (tom 4.0), para que as mudanças de cor fossem facilmente percebidas a

olho nu. Sendo assim, as condições de teste foram assim estabelecidas: 15mg de cabelo natural 4.0 (cerca de 10 fios), foram embebidos em solução de peróxido de hidrogênio 2mol.L^{-1} (pH 11) e irradiados com luz azul por 1 hora (25mW/cm^2). Cabelos que receberam esse tratamento foram chamados de AAZ. Utilizou-se quatro outros tratamentos para comparar com os resultados das amostras AAZ. Controle natural, cabelos naturais sem nenhum processamento (chamado de CN); controle peróxido, cabelos foram embebidos em peróxido de hidrogênio (2mol.L^{-1}) e mantidos no escuro (chamado de AE); controle luz azul, cabelos foram embebidos em água destilada e irradiados com luz azul (chamado de CAZ); e o controle tratamento químico, cabelos foram tratados com peróxido de hidrogênio e pó-descolorante para que adquirissem a mesma cor das amostras AAZ (chamado de CP30).

Os resultados visuais destes experimentos podem ser observados na figura 59. Note que o descolorimento seguiu a seguinte ordem: AAZ~CP30>CAE>CAZ~CN. A Figura 60 mostra que as cores das amostras AAZ e CP30 realmente ficaram com cores iguais. Ou seja, as amostras que sofreram descoloramento fotoquímico ficaram com cor parecida com a do tratamento oxidativo puramente químico (peróxido de hidrogênio e pó descolorante, uma composição largamente usada em salões de embelezamento). Ambos os cabelos passaram do tom 4 para 9, e clarearam consideravelmente mais que os controles (CN e CAZ). Note também que a cor da amostra AAZ sofreu uma perda de cor bem maior do que as amostras do controle que foram tratadas somente com as amostras com peróxido de hidrogênio, indicando que a irradiação com luz azul de fato favorece o descolorimento. Fica evidente que a irradiação e o tratamento químico oxidativo

brando, sozinhos, não são capazes de fazer um clareamento significativo no fio (CAZ e CAE). Por outro lado, fica evidente que há um efeito sinérgico e quando estes dois agentes (luz e peróxido de hidrogênio a baixas concentrações) são aplicados conjuntamente nos cabelos há um uma ampliação significativa na eficiência de clareamento.



Figura 58. Fios de cabelos tom 4 tratados Foto do resultado obtido após a oxidação nas mais variadas formas. Todos as amostras utilizaram fios da mesma mecha de cabelo. Controle N: fio natural, sem nenhum processamento. Amostra AZ 1, 2 e 3: 15 mg de fios embebidos em 30ml solução de peróxido de hidrogênio 2M e pH 11 por 1h, irradiados em luz azul. Controle E1, E2 e E3: 15 mg de fios embebidos em 30ml solução de peróxido de hidrogênio 2M e pH 11 por 1h, no escuro. Controle AZ: 15mg de fios embebidos por água destilada irradiado por 1h por luz azul. Controle P30: 15mg de fios cobertos por uma mistura de massa oxidante (pó descolorante e água oxigenada de 30V), usada em salões de embelezamento, até obter a mesma cor das amostras 1, 2 e 3. Essa foto tem alteração de brilho e contraste para destacar a variação das cores obtidas com a oxidação.



Figura 59. Foto em detalhe das Amostras AZ 1, 2, 3 em comparação com o Controle CP30. Essa foto tem alteração de brilho e contraste para destacar a variação das cores obtidas com a oxidação.

A seguir, se apresentará experimentos que foram planejados para responder se além de clarear (ação específica sobre a melanina) irá também diminuir o dano nas demais estruturas do fio de cabelo. Para isso, comparações entre as amostras AAZ e CP30 poderão mostrar se há realmente benefícios para o fio no caso do descolorimento fotoquímico. As mesmas análises apresentadas na sessão 4.1 desta dissertação foram realizadas nessas amostras, ou seja, microscopia de fluorescência, tanto do fio inteiro quanto do fio cortado histologicamente, variação do contraste das camadas cuticulares, e a variação da resistência com a rachadura durante o corte histológico.

4.2.2. Fluorescência

Microscopia de fluorescência foi obtida tanto do fio inteiro quanto do corte histológico. Nas figuras 61 a 65 é possível observar, respectivamente, a fluorescência dos cortes histológicos das amostras AAZ, CAE, CAZ, CN e CP30. Não é possível tirar conclusões pela observação direta das imagens das micrografias, mas é possível fazer análises comparativas calculando a intensidade de emissão por área (Figura 66). Cabe lembrar também que a intensidade de fluorescência no corte histológico de um mesmo tipo de cabelo, tem relação com a quantidade de melanina ou seus derivados e precursores emissores que continuam ativos após o descolorimento (Figura 40).

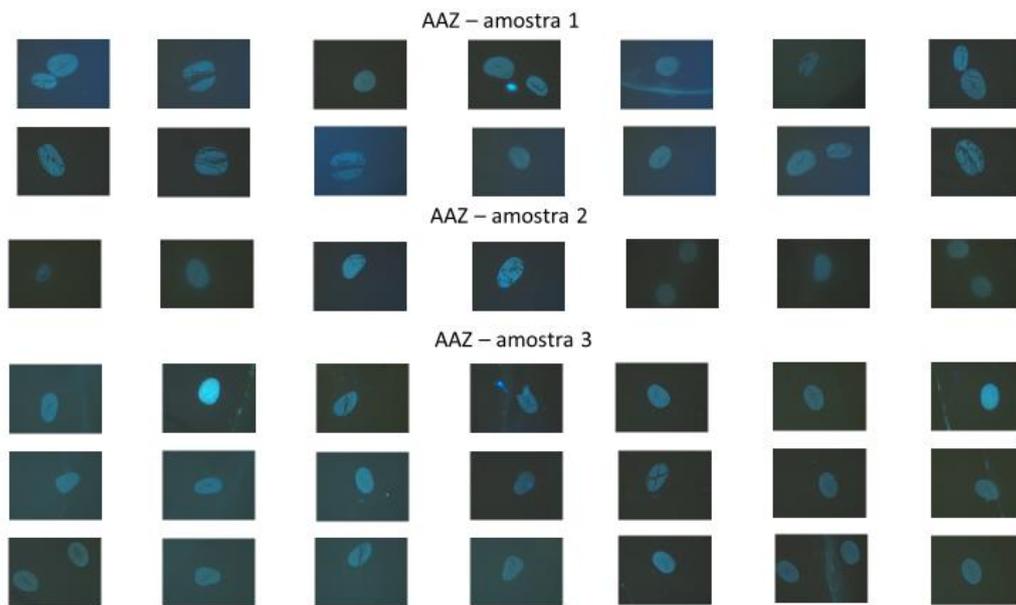


Figura 60. Micrografias dos cortes histológicos das amostras AAZ (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, irradiado por 1 hora por luz azul). Esse experimento foi repetido 3 vezes. Fotos das amostras 1, 2 e 3.

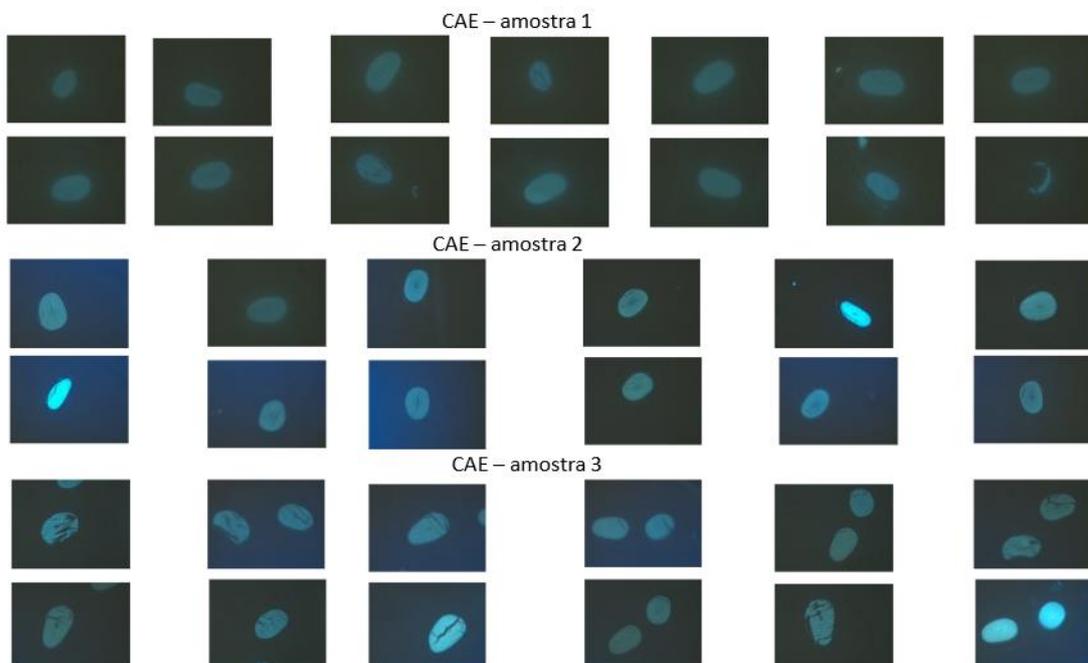


Figura 61. Micrografias dos cortes histológicos das amostras CAE (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, por 1h, no escuro). Esse teste foi repetido 3 vezes. Fotos das amostras 1, 2 e 3.

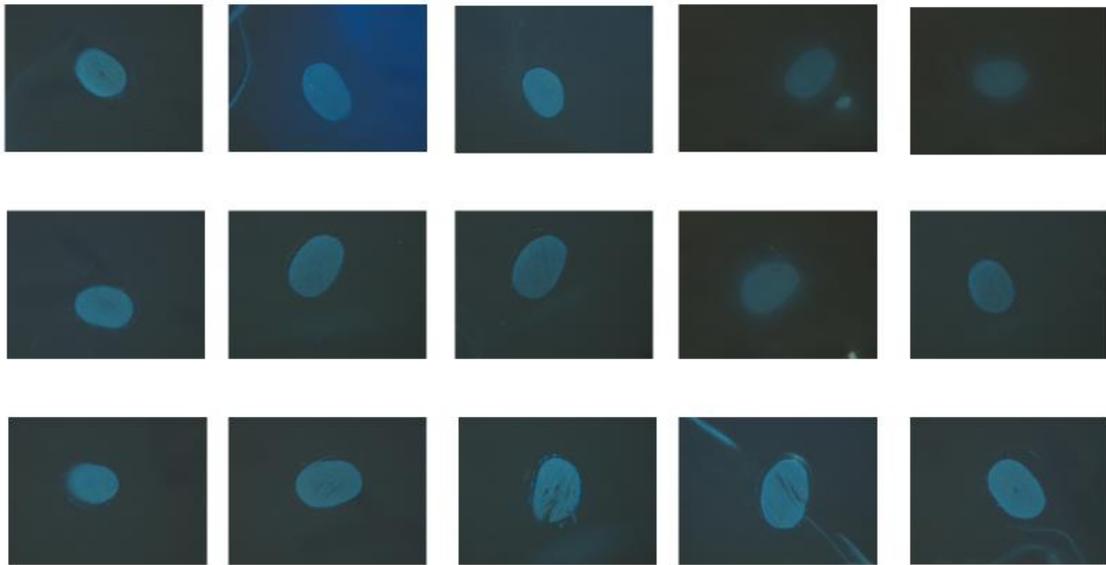


Figura 62. Micrografias dos cortes histológicos do controle de irradiação, amostras CAZ. Controle irradiado por luz azul: 15mg de cabelo natural 4.0, irradiado por luz azul por 1hora, embebido por água destilada.

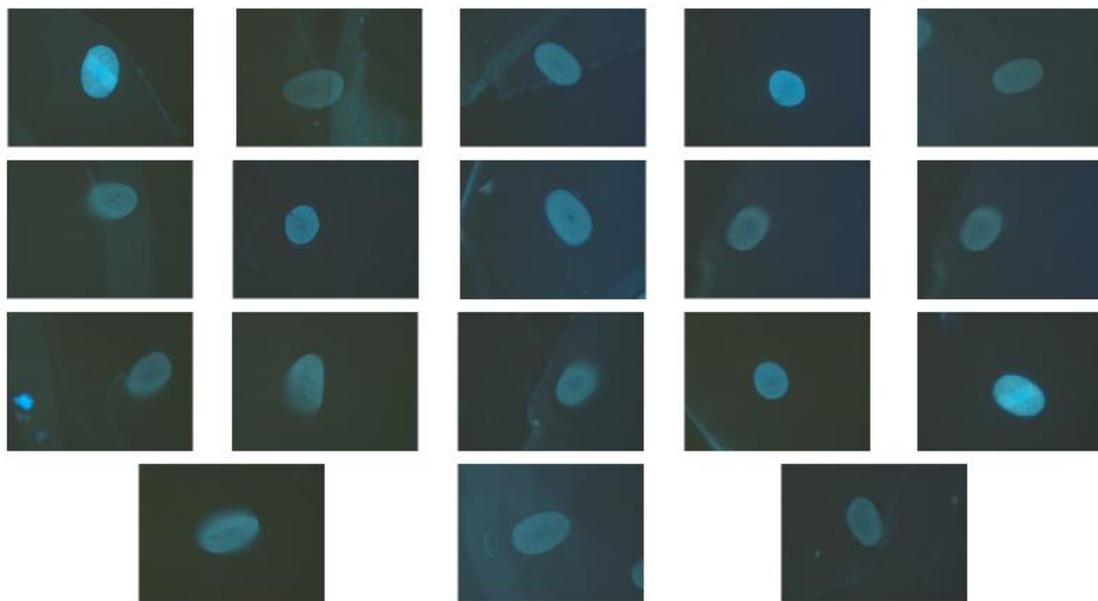


Figura 63. Micrografias dos cortes histológicos do fio natural. Controle natural (CN): 15mg de cabelo 4.0 naturais, sem nenhum tipo de procedimento.

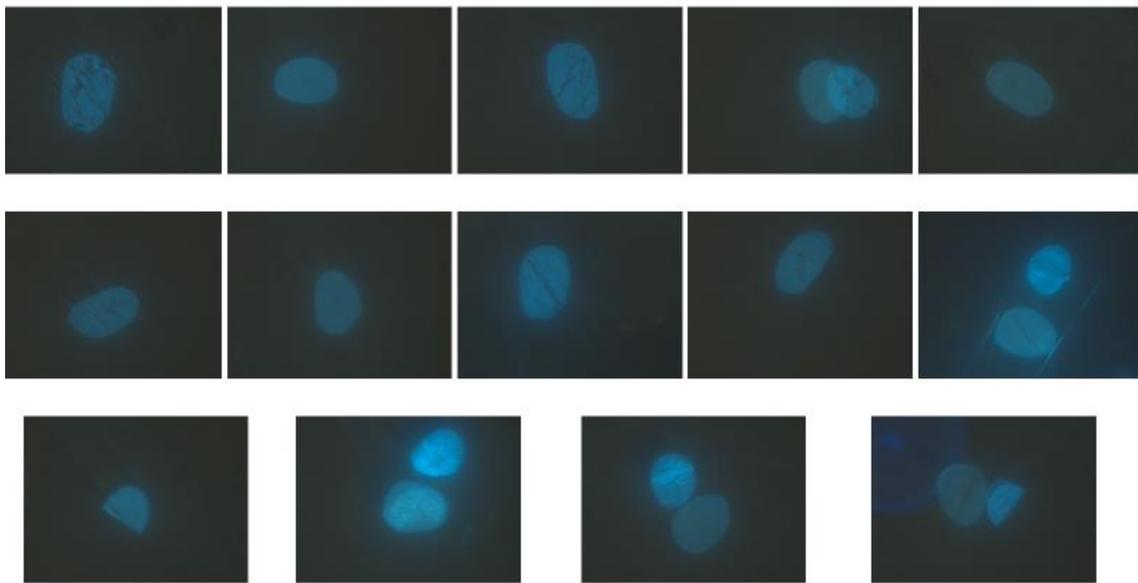


Figura 64. Micrografias dos cortes histológicos da mecha de controle de cor, amostra CP30. Controle de cor: 15mg de cabelo oxidado por pó descolorante e água oxigenada 30V (9% de peróxido de hidrogênio) até ficar com a mesma cor da amostra irradiada com luz azul por 1 hora.

Note que CN é a amostra que apresenta maior fluorescência/área, com valores semelhantes ao da amostra CAE. Ambos AAZ e CP30 apresentam fluorescência/área semelhantes entre si e significativamente menor do que a fluorescência dos controles CN e AE. Esse resultado está em concordância com as mudanças de cor dos fios (Figuras 59 e 60), ou seja, amostras AAZ e CP30, que tem níveis equivalentes de cor e consequentemente de melanina, tem a mesma fluorescência/área, e um nível significativamente menor de cor e de fluorescência/área do que as amostras CN e CAE. O dado da amostra que somente foi irradiada com luz azul (CAZ), não acompanha esse raciocínio, pois praticamente não teve mudança de cor (Figura 59), mas sofreu perda significativa na fluorescência/área. Além disso, vale ressaltar que embora as amostras CAE tenham tido uma diminuição do nível de cor, praticamente não houve alteração na

fluorescência/área. Talvez haja diferença entre as amostras fluorescência e que conferem cor, pois peróxido de hidrogênio sozinho age bastante na cor (Figura 59) e pouco na fluorescência (Figura 66), enquanto a luz azul age pouco na cor (Figura 59) e muito na fluorescência (Figura 66). Não há ainda explicação para essa observação e novos estudos estão sendo planejados a fim de esclarecer melhor esse resultado.

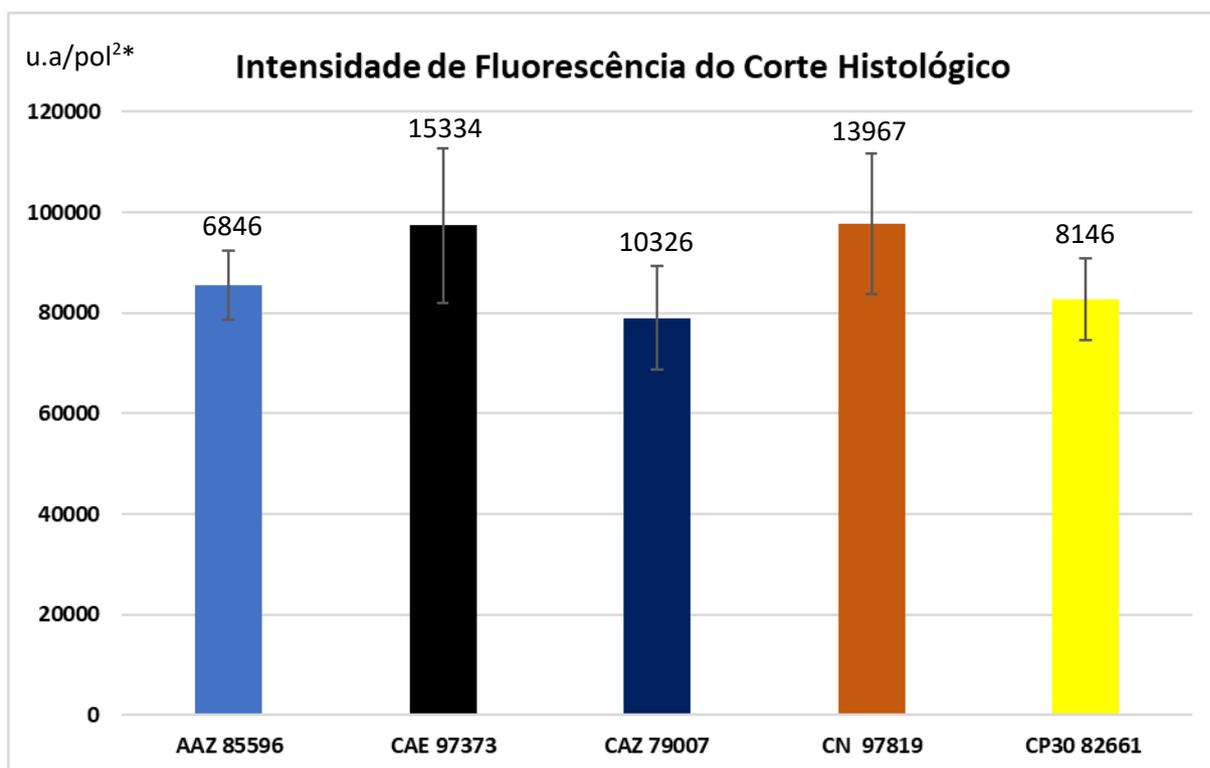


Figura 65. Gráfico Intensidade de fluorescência/área nos cortes histológicos das amostras AAZ, CAE, CAZ, CN e CP30.

*unidades arbitrárias/polegada².

A intensidade de fluorescência do fio inteiro também retornou resultados bem interessantes. As micrografias das amostras estão apresentadas na Figura 67. Note que há contrastes significativos na intensidade de fluorescência, inclusive alguns claramente observáveis visualmente. Compare, por exemplo, a emissão de fluorescência de fios das amostras CAZ com CP30. Na figura 68 estão apresentados os resultados de quantificação da emissão do fio em termos da fluorescência/área. Lembremos que a emissão do fio inteiro depende da quantidade e eficiência dos agentes emissores, bem como, e provavelmente principalmente, do efeito de matriz, ou seja, de como a estrutura do fio influencia a migração de fótons luminosos.

De forma geral, o comportamento observado das amostras foi parecido com os cabelos que passaram pela validação do método. As amostras AAZ e CP30 possuem as maiores emissões de fluorescência/área, seguida pelas amostras oxidadas no escuro e as amostras com menores níveis de fluorescência são as CAZ e CN. O aumento de fluorescência observado pela amostra que sofreu oxidação química (CP30, ~200%) é muito maior do que o aumento de fluorescência observado nas amostras em que o controle irradiado apenas com peróxido sem luz (CAE, ~50%) e com peróxido com luz (AAZ, 80%). Dessa forma, apesar de se observar intenso clareamento nas amostras 1, 2 e 3 (Figuras 59 e 60) assemelhando-se ao da amostra CP30, o aumento da intensidade de fluorescência (que é de alguma forma proporcional ao dano na estrutura do cabelo) foi bem menor do que no controle P30, demonstrando menor dano na estrutura do fio. Ou seja, os cabelos mais clareados e conseqüentemente mais danificados apresentaram maior intensidade de fluorescência do que o controle CN, como esperado para um dano na estrutura do cabelo, que permite a difusão mais eficiente de fótons luminosos.

É interessante comparar AAZ com CP30, pois ambos têm o mesmo nível de fluorescência no corte histológico (Figura 66), sugerindo mesma quantidade de espécies emissoras, e estas amostras foram tratadas respectivamente pelo clareamento fotoquímico e puramente químico. Note que a fluorescência/área é ~30% maior para CP30 do que para AAZ. Como há a mesma quantidade de espécies emissoras, o maior valor de fluorescência/área na amostra CP30, evidencia que há mais danos na estrutura do fio no tratamento puramente químico. Ou dito de outra forma, a diminuição relativa na emissão dos cabelos AAZ mostra que clareamento fotoquímico preserva melhor a estrutura do fio.

A comparação entre AAZ e CAE não traz informações passíveis de análise mais profunda, pois a fluorescência/área do fio inteiro não é tão diferente e há diferenças na quantidade de espécies emissoras, além das possíveis diferenças na estrutura do fio. Causa estranheza novamente o resultado do tratamento puramente luminoso (CAZ), cuja intensidade de fluorescência/área é menor inclusive do que a amostra CN. Sem maiores ponderações e sem tentar ser preciso nesta análise, esse resultado parece indicar que o tratamento com luz ataca unicamente as espécies emissoras de fluorescência sem afetar a estrutura do fio. Como já comentado para os cortes histológicos, esse resultado com luz azul, demanda uma análise mais aprofundada para ser explicada com propriedade.

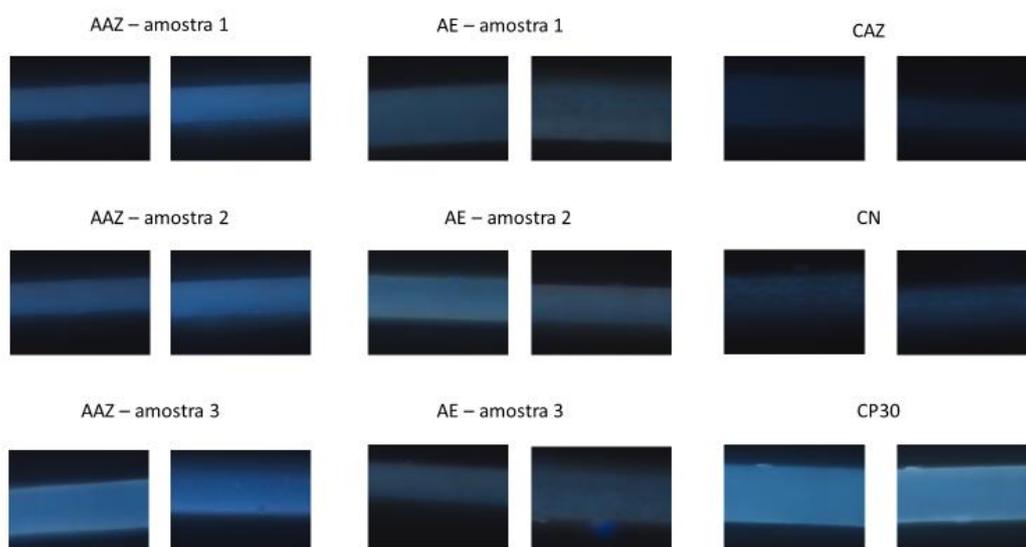


Figura 66. Fotos dos fios inteiros de todas as amostras geradas nesse teste. AAZ: (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, irradiado por 1 hora por luz azul). Esse teste foi repetido 3 vezes. Fotos das amostras 1, 2 e 3. AE: (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, por 1h, no escuro). Esse teste foi repetido 3 vezes. Fotos das amostras 1, 2 e 3. CAZ: 15mg de cabelo natural 4.0, irradiado por luz azul por 1hora, embebido por água destilada. CN: 15mg de cabelo 4.0 naturais, sem nenhum tipo de procedimento. CP30: 15mg de cabelo oxidado por pó descolorante e água oxigenada 30V (9% de ativo) até ficar com a mesma cor da amostra irradiada com luz azul por 1 hora.

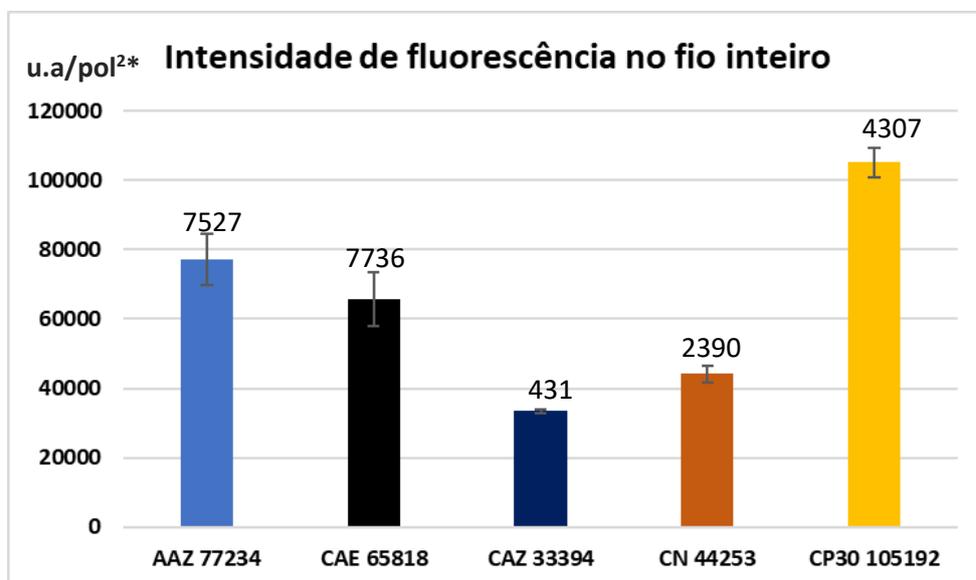


Figura 67. Gráfico da intensidade de fluorescência/área dos fios inteiros.

*unidades arbitrárias/polegas².

4.2.3. Microscopia de Refletância

Como já comentado no item 4.1.3, a microscopia de refletância permite avaliar a superfície do fio e avaliar quando a cutícula é danificada num determinado processo. A cutícula do fio é responsável por muitas propriedades do próprio fio e de como um fio interage com outros, afetando de forma significativa a penteabilidade, frizz e brilho dos cabelos. Além disso, a cutícula é um importante agente de proteção do fio. A diminuição na qualidade da cutícula e/ou a perda de interação com o córtex (descolamento da cutícula) implica também em aumento de fragilidade, que levará a uma ampliação dos danos pelos agentes externos (sol, detergentes, calor). Sendo assim, é fundamental comparar o efeito das descolorações químicas e fotoquímicas na cutícula do fio.

Em nosso método de análise da superfície do fio, levamos em consideração o contraste gerado entre as camadas cutículas. Logo, maior contraste significa cutículas mais aderidas e superfície mais regular. As figuras 69 e 70 apresentam as micrografias originais das amostras AAZ e do controle CEA em triplicata, respectivamente, e a Figura 71 apresenta os resultados da refletância de superfície dos controles CE, CN e CP30.

Na figura 72 apresentamos três imagens ampliadas representativas da amostra AAZ e dos controles CN e CP30. A refletância de superfície é afetada pela perda de cor e por outras alterações óticas do fio descolorido. As fotos foram aumentadas e seus brilhos e contrastes foram alterados para que pudessem ter uma maior visão da superfície do fio. Fica evidente que o fio CP30 (apenas descoloração

química) perdeu o seu contraste entre as cutículas e suas bordas se encontram mais irregulares. A micrografia da amostra AAZ, mostra menor perda de contraste e suas bordas são mais regulares, sendo mais parecido ao controle CN.

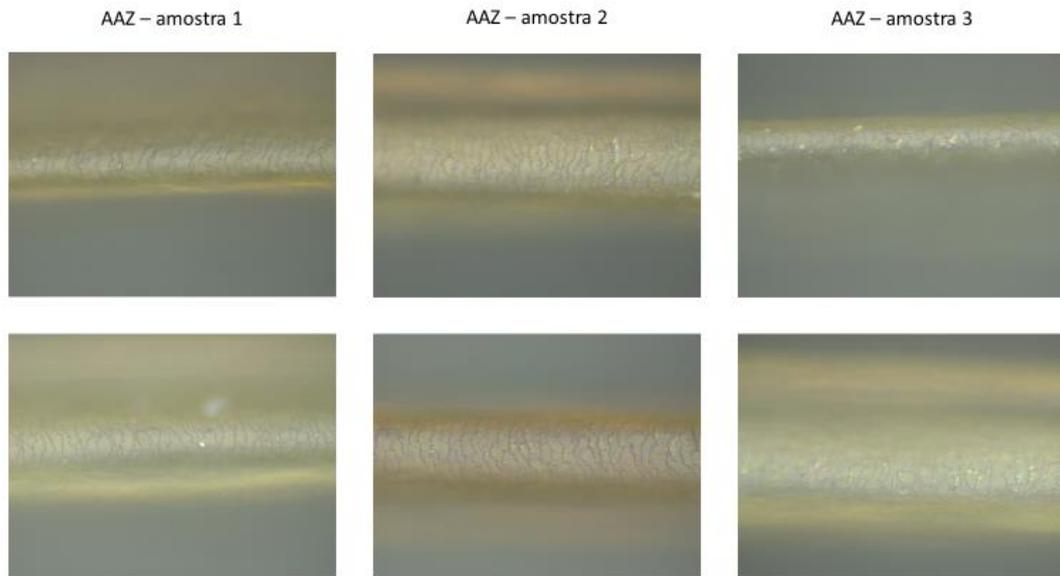


Figura 68. Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros AAZ: (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, irradiado por 1 hora por luz azul). Esse teste foi repetido 3 vezes.

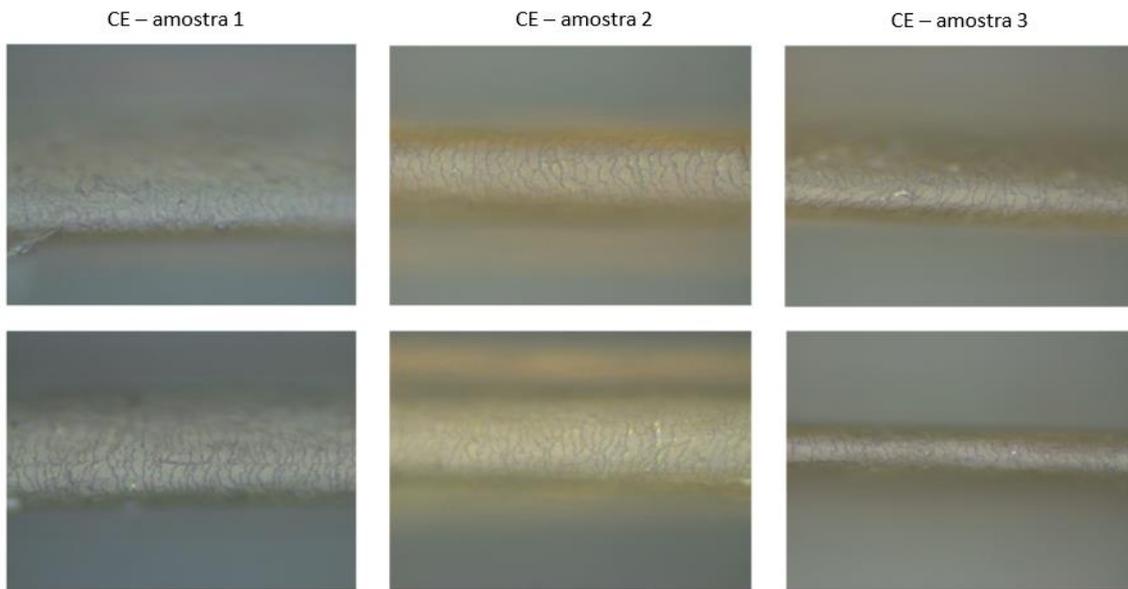


Figura 69. Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros CE: (amostras de 15mg de cabelo natural 4.0, embebidas por solução de peróxido de hidrogênio 2M em pH 11, por 1h, no escuro). Esse teste foi repetido 3 vezes. Fotos das amostras 1, 2 e 3.

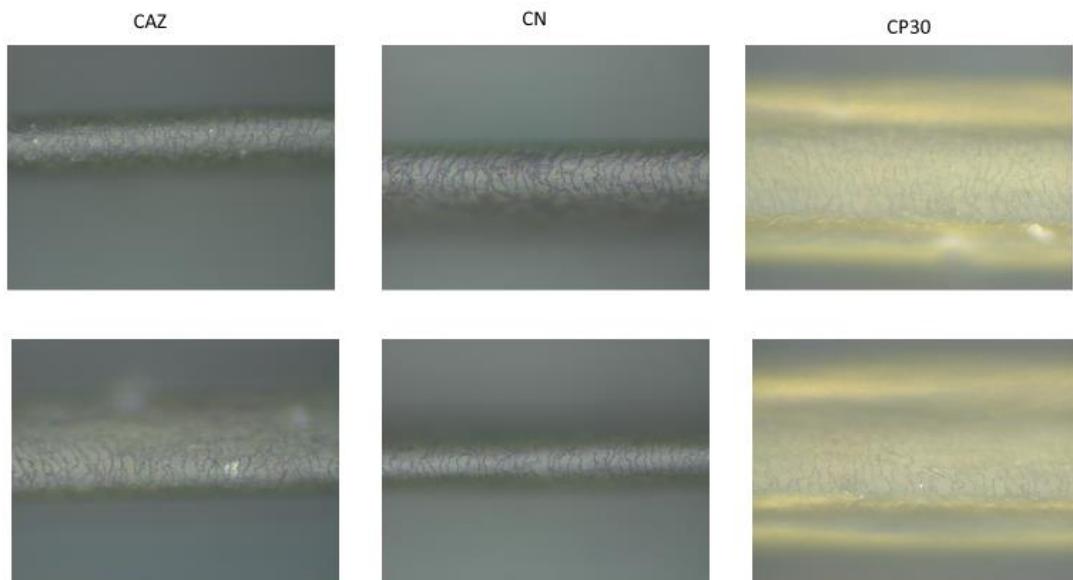


Figura 70. Fotos de refletância da superfície dos fios inteiros dos controles. CAZ: 15mg de cabelo natural 4.0, irradiado por luz azul por 1hora, embebido por água destilada. CN: 15mg de cabelo 4.0 naturais, sem nenhum tipo de procedimento. CP30: 15mg de cabelo oxidado por pó decolorante e água oxigenada 30V (9% de ativo) até ficar com a mesma cor da amostra irradiada com luz azul por 1 hora.

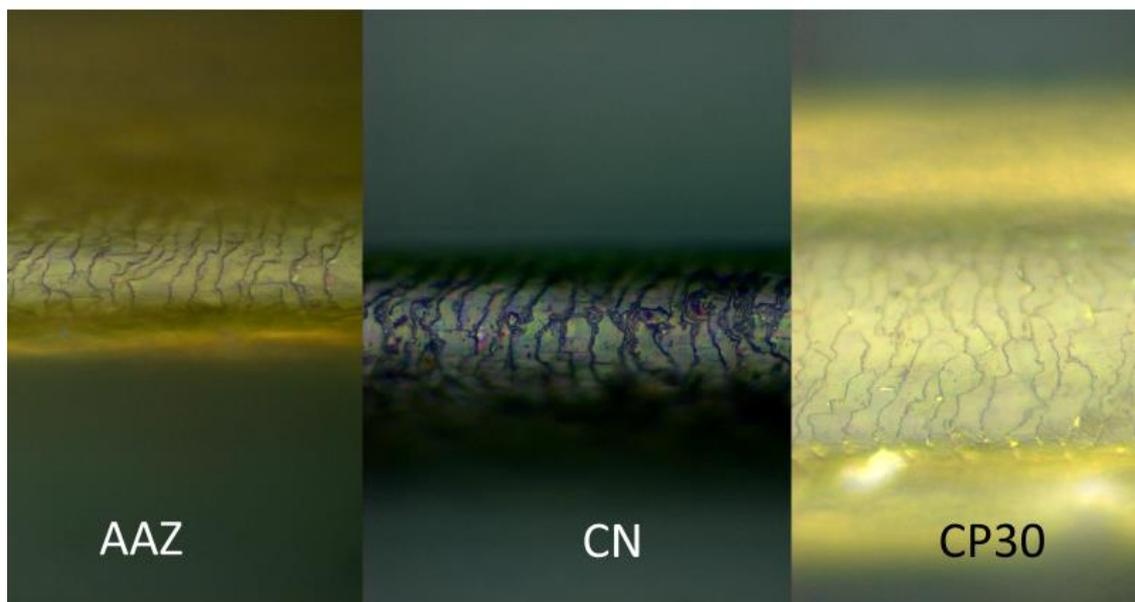


Figura 71. Fotos em detalhe das superfícies de um cabelo AAZ (irradiado com luz azul embebido em peróxido de hidrogênio), CN: cabelo natural, CP30 (descolorido com massa descolorante). Essas fotos foram alteradas no seu contraste e brilho, porém, as 3 fotos foram submetidas as mesmas condições de alteração de contraste e brilho.

As imagens de micrografia foram submetidas a análise de um algoritmo que integra todos as regiões das cutículas por área de imagem, que permite uma comparação quantitativa dos efeitos da oxidação nas cutículas do cabelo. Na Figura 73 está apresentado o resultado deste tratamento, onde as barras representam integral de contraste de cutícula. Note que os cabelos tratados com oxidação química (CP30) apresentam integral de cutícula 2.4 vezes menor do que a integral de cutícula no controle CN. Já o cabelo tratado com luz e peróxido (AAZ) apresenta um contraste de cutículas apenas 40% menor do que o controle. Ou seja, o tratamento luz e peróxido de fato protegeu significativamente as cutículas do fio, com mesmo nível de descolorimento. O tratamento com peróxido (sem luz) causou

uma redução de cutículas próximo de 30% ao passo que o tratamento somente com luz, praticamente não muda a estrutura da cutícula (diminuição de 5%).

Fica evidente que há uma ação benéfica para a estrutura e cutícula do cabelo no procedimento de descolorimento baseado na irradiação de luz LED (425nm), juntamente com a ação do peróxido de hidrogênio, comparado com o descolorimento puramente químico. Os demais tratamentos, ou seja, somente luz e somente peróxido, danificam menos ainda o fio, mas não atingem níveis adequados de descolorimento.

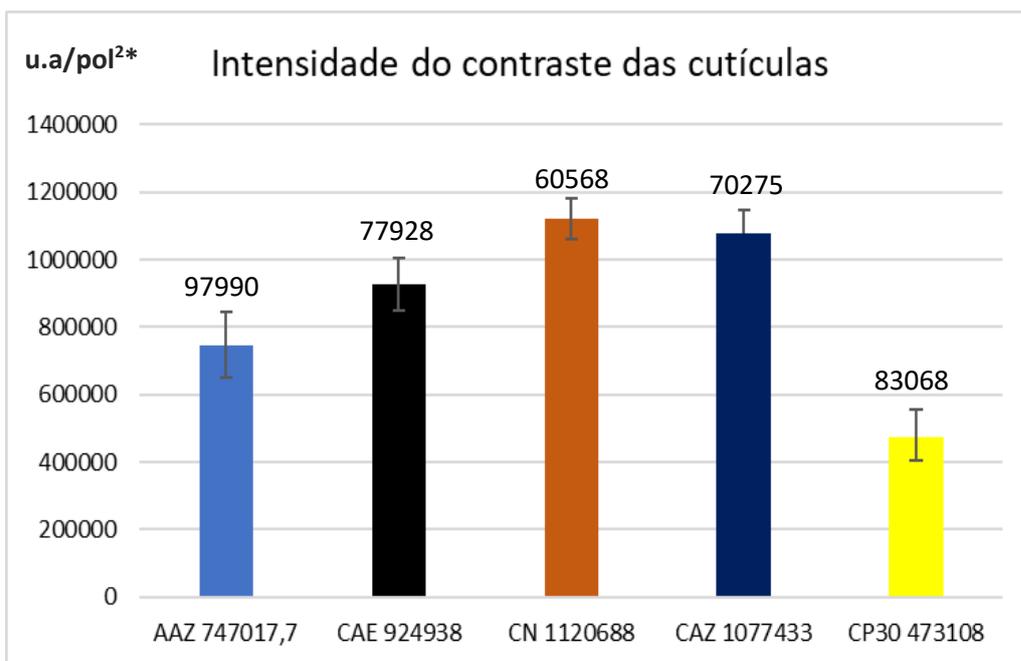


Figura 72. Gráfico das medidas de contraste das camadas cuticulares nos fios inteiros.

*unidades arbitrárias/polegadas.

4.2.4. Resistência ao corte histológico

A resistência ao corte histológico é uma medida que se relaciona diretamente com a resistência interna do fio. Na parte 1 (item 4.1.3) foi demonstrado que após o descolorimento oxidativo ocorre um grande aumento de quebras na estrutura do corte histológico, indicando a diminuição da resistência do fio. Na Figura 74, apresentou-se imagens características de cortes histológicos do controle (CN) e de cabelos submetidas ao descolorimento puramente químico (CP30) e fotoquímico (AAZ). Note que o processo oxidativo facilita a formação de rachaduras nos cortes histológicos (Figure 74).

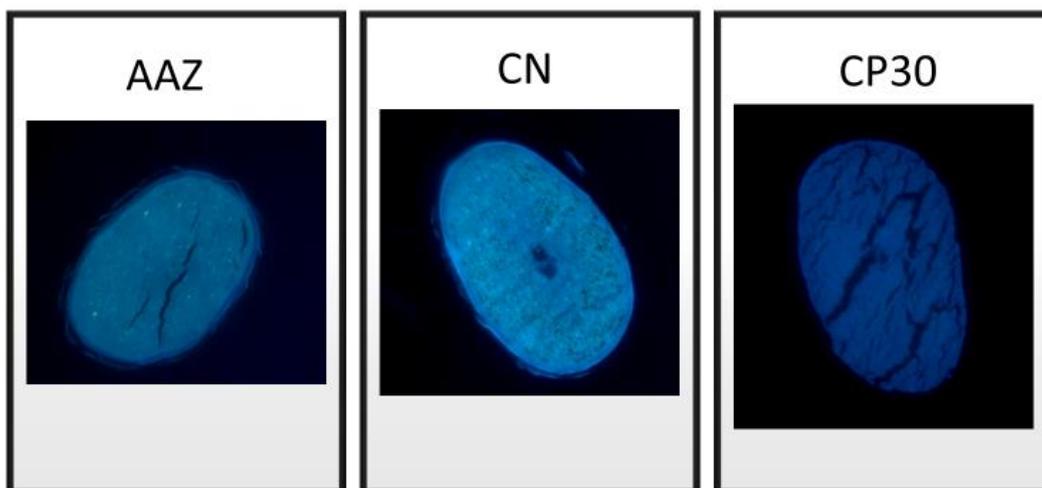


Figura 73. Fotos em detalhe do corte histológico de um cabelo AAZ (irradiado com luz azul embebido em peróxido de hidrogênio), CN: cabelo natural, CP30 (descolorido com massa descolorante). Essas fotos foram alteradas no seu contraste e brilho, porém, as 3 fotos foram submetidas as mesmas condições de alteração de contraste e brilho.

Como já comentado, observou-se um número significativo de cortes histológicos (de 30 a 50) e contabilizou-se cortes histológicos que tinham alguma

rachadura. A quantificação de cabelos íntegros em relação aos rachados esta apresentada na figura 75. Perceba que a amostra AAZ contém mais rachaduras do que o controle (CN), mas substancialmente menor do que cabelos tratados com tratamento oxidativo (CP30). CN apresenta percentagem de rachadura em torno de 50%, ou seja, metade dos fios sofre algum tipo de rachadura, mas metade permanece íntegro. Já na amostra CP30 é difícil achar algum fio que não apresenta rachadura e contabilizou-se que ~95% dos fios sofreram rachaduras. Veja que a amostra CAZ apresenta um aumento das rachaduras (em torno de 78% dos cabelos apresentam rachaduras) comparada com controle CN (50%), mas esse aumento da percentagem de rachaduras é bem menor do que aquele observado para as amostras CP30, demonstrando novamente proteção da estrutura do cabelo (para um mesmo nível de descolorimento) para amostra tratada com luz e peróxido. O nível de rachaduras em ambos os grupos tratados com peróxido 2M foi equivalente, indicando que o efeito de ter rachaduras no fio deve ser decorrente da oxidação produzida por peróxido nas estruturas do cabelo. A amostra tratada somente com luz também apresenta mais rachaduras do que o controle (70%), mas é a que menos se destoa do grupo controle CN.

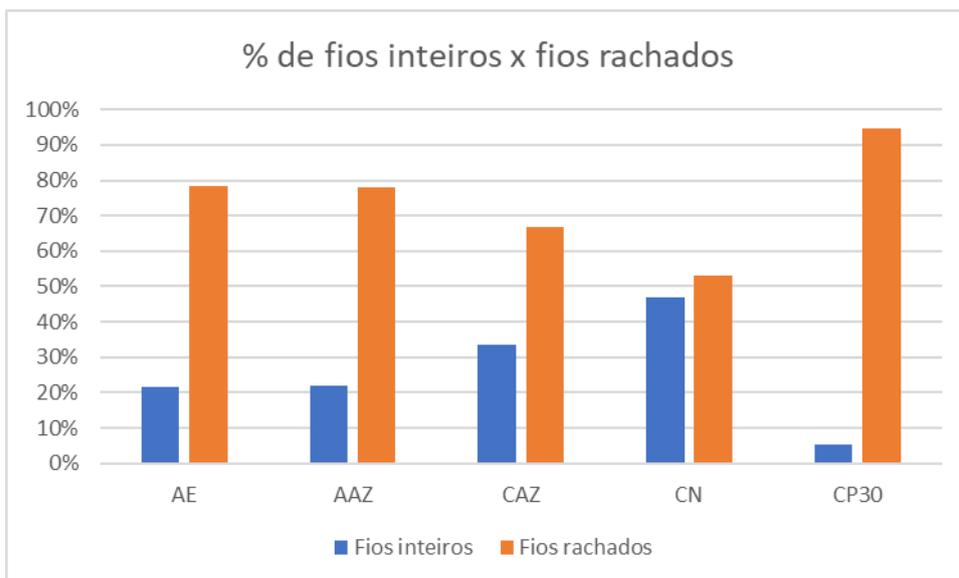


Figura 74. Gráfico da contagem de fios nos cortes histológicos com ou sem rachaduras.

4.2.5. Considerações finais da parte 2

Sabe-se que luz tanto UV quanto visível age tem ação em fios secos e molhados (Korytowski e Sarna, 1990 e Millington e Marsh, 2020). No entanto, não há relato de uso da luz para catalisar o descolorimento oxidativo. Fica evidente que o cabelo quimicamente descolorido (CP30) emitiu 25% mais fluorescência que o cabelo fotoquimicamente descolorido (AAZ), indicando que ocorre mais danos no caso do descolorimento químico. Quanto a diminuição de resistência do fio ao corte histológico, passou de 50% de fios com rachaduras para 95% de fios rachados após oxidação química, enquanto nos cabelos que sofreram oxidação fotoquímica, passou de 50% de fios naturais com rachaduras para 78%. O cabelo oxidado quimicamente perde muito mais contraste de cutícula, passando a ter aproximadamente 50% menos contrastes do que os fio oxidados pelo método fotoquímico e perde aproximadamente 2x o contraste encontrado num cabelo

natural, sendo bastante drástica a mudança da superfície do fio após a oxidação química.

Os resultados apresentados acima demonstraram que amostras que sofreram um mesmo nível de descolorimento, apresentam diferenças significativas na estrutura do fio. Em todos os parâmetros avaliados, o descolorimento fotoquímico causou menos danos na cutícula e no interior do fio. Esses resultados então comprovam a hipótese de que a luz realmente pode ser usada como um catalisador do descolorimento oxidativo. Ou seja, a luz azul de 425nm foi capaz de intensificar a descoloração com menor dano para o fio de cabelo. Um outro aspecto interessante e inesperado é que a luz azul age de forma bastante expressiva nos agentes fluorescentes do fio, sem afetar nem a cor nem a estrutura do fio. Esse dado merece uma investigação mais profunda para ser explicado mecanisticamente.

5. Conclusão Geral

Foi possível utilizar o clareamento do fio de cabelo pelo método fotoquímico com a ação de um oxidante brando e com o benefício de menor dano ao fio, quando comparado à oxidação química. Fica evidente pelos dados apresentados no principalmente no capítulo 4 que o descolorimento fotoquímico infere danos muito menos significativos ao cabelo para um mesmo nível de descolorimento capilar, comprovando nossa hipótese principal de trabalho.

Além do benefício do descolorimento fotoquímico, este estudo foi capaz de criar métodos rápidos e baratos que sejam capazes de demonstrar de forma inequívoca as mudanças que podem ocorrer no fio, barateando todo o processo de análises para dano capilar. O uso da microscopia eletrônica por fluorescência e de reflexão foi possível caracterizar padrões de alteração relacionados com os danos oxidativos, se mostrando muito eficiente, rápida e barata.

O estabelecimento dos parâmetros para o descolorimento fotoquímico foi obtido após a variação de vários parâmetros, permitindo estabelecer-se as melhores condições para que o clareamento do fio possa acontecer. Os métodos utilizados foram capazes de mensurar a quantidade de dano obtido através do método puramente químico com o método fotoquímico, possibilitando concluir que o método fotoquímico é menos danoso que o método químico.

6. Referências Bibliográficas

1. Baptista M. S., Bastos E. L. Fluorescence in Pharmaceutics and Cosmetics. Fluorescence in Industry, Springer Ser Fluoresc., 2018.
2. Baptista M. S., Jean C., Mascio P., Ghogare A. A., Greer A., Hamblin M. R., Lorente C., Nunez S. C., Ribeiro M. S., Thomas Andrés H., Vignoni M., Yoshimura T. M., Type I and Type II Photosensitized Reactions: Guidelines and Mecahnistic Pathways, Photochemistry and Photobiology, 2017, 93: 912 – 919.
3. Baptista, M. S. Fluorescence in Pharmaceutics and Cosmetics. Fluorescence in Industry, Spring, Flyorescence in Phamaceutics and Cosmetics, 2019.
4. Barnicot N. A., Birbeck M. S. C., Cuckow F. W. The electron microscopy of human hair pigments, First published. March 1955.
5. Chedekel R. M. Agin P. P. Sayre R. M. Fotoquímica da feomelanina: Espectro de ação para produção de superóxido. Photochemistry and Photobiology, Volume 31 , Edição 6, Jun. de 1980, Páginas 553-555. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12480680>.
6. Chiarelli-Neto, O. Efeitos da luz UVA e visível em células da pele e cabelo. 2014. 186p. Tese de doutorado – Programa de Pós Graduação em Ciências (Bioquímica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

7. Chiarelli-Neto, Pavani C., Ferreira A. S., Uchoa A. F., Severino D., Baptista M. S., Generation and supression of singlet oxygen in hair by photosensitization of melanin, *Free Radical Biology & Medicine* 51 (2011) 1195- 1202.
8. de Assis, L.V.M.; Moraes, M.N.; Castrucci, A.M.L. The molecular clock in the skin, its functionality, and how it is disrupted in cutaneous melanoma: a new pharmacological target? *Cellular and Molecular Life Sciences*, Basel, v. 76, n. 19, p. 3801-3826, 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-019-03183-5> > DOI: 10.1007/s00018-019-03183-5.
9. Dias, T. C. S. Avaliação in vitro do efeito de diferentes processos de alisamento químico/térmico na fibra capilar. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2015.
10. Fernandez E., Barba C., Alonso C., Martí M., Parra J. L., Coderch L. Photodamage determination of human hair. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 106, (2012) 101-106.
11. Feroze K. Gosai B. B. Al Melhim W. N. Feroze K. Qureshi H. A. Ibrahim S. Kuruvilla J. Estudo de microscopia eletrônica de varredura de danos à haste capilar secundários a tratamentos cosméticos do cabelo. *Internation of Trichology*. 2016. Volume 8. Edição 2, página 94-98.
12. Gama, R. M. Avaliação do dano a haste capilar ocasionado por uma tintura oxidativa aditivada ou não de substâncias condicionadoras. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2010.
13. Gonçalves R. C. R, Pombeiro-Sponchiado S. R. Antioxidant Activity of the Melanin Pigment Extracted from *Aspergillus nidulans*. *Biol. Pharm. Bull.* 28(6) 1129—1131 (2005).
14. Grosvenor A. J.; Deb - Choudhury S., Middlewood P. G., Thomas A., Lee E., Vernon J. A., Woods J. L., Taylor C., Bell F. I, Clerens S. A ruptura física e química do cabelo humano após o clareamento - estudos por microscopia eletrônica de transmissão e proteômica redox. *International Journal Cosmetic*

- Science. Volume 40, Edição 6, Dez. de 2018, Páginas 536-548. 10.1111/ics.12495.
15. Guerra-Tapia, A. Gonzalez-Guerra E. Cosméticos capilares: Tintes Hair Cosmetics: Dyes. Actas Dermo-Sifiliográficas. Volume 105, Issue 9, November 2014, Pages 833-839.
 16. Han, Q., Beerntsen B. T., Li J. The tryptophan oxidation pathway in mosquitos with emphasis on xanthurenic acid biosynthesis. Journal of Insect Physiology, V. 53, Issue 3, March 2007, pages 254-263.
 17. Hoting E., ZIMMERMANN M., and HILTERHAUS-BONG S. Photochemical alterations in human hair. I. Artificial irradiation and investigations of hair proteins. J. Soc. Cosmet. Chem., 46, 85-99 (March/April 1995).
 18. <http://ruivadiva.blogspot.com/2014/07/numero-de-cada-cor-natural-ou-tintura.html>
 19. <http://cable-gossip.pietrodavico.it/cable-gossip-guide/epifluorescence-microscope-diagram>
 20. Huijser A. Pezzella A. Sundström V. Funcionalidade dos pigmentos de melanina epidérmica: conhecimento atual sobre os mecanismos dissipativos de UV e perspectivas de pesquisa. Física, Química, Física Química. Edição 20, 2011. 10.1039/c1cp20131j
 21. Imai T. The influence of hair bleach on the ultrastructure of human hair with special reference to hair damage. Okajimas Folia Anat. Jpn., 88(1):1-9, 2011.
 22. Ito S, Wakamatsu K. Chemistry of Mixed Melanogenesis—Pivotal Roles of Dopaquinone. Photochemistry and Photobiology, 2008, 84: 582–592.

23. Jeong S., Lee C. M., Jeong G. J., Kim S. J., Lee K. Y. Significant damage of the skin and hair following hair bleaching. *Journal of Dermatology*, 37: 882-887, 2010.
24. Kojima, T., Yamada H., Isobe M., Yamamoto T., Takeuchi M., Aoki D., Matsushita Y., Fukushima K. Compositional changes of human hair melanin resulting from bleach treatment investigated by nanoscale secondary ion mass spectrometry. *Skin Research and Technology*, 20: 416-421, 2014.
25. Korytowski W., Sarna T. Bleaching of Melanin Pigments, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 265, July 25, pp. 12410 – 12416, 1990.
26. Korytowski W., Sarna S T. Bleaching of Melanin Pigments, Role of copper ions and hydrogen peroxide in autooxidation and photooxidation of synthetic dopa-melanin. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 265, No. 21, Issue of July 25, 1990.
27. Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 3rd edition, Springer 2006.
28. Legrini O., Oliveros E., and Braun A. M. Photochemical Processes for Water Treatment. *Chem. Rev.* 1993, 93, 671-698., página 676.
29. Leite, M. Almeida G. CAMPOS, P. M. Maia B. G. Photoprotective effects of a multifunctional hair care formulation containing botanical extracts, vitamins, and UV filters. *Photochemistry and Photobiology*, Lawrence, p. 1010-1016, 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/php.12932> > DOI: 10.1111/php.12932.
30. Leszek J. W., Hall K., Hui I. The mechanism of hair bleaching, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 21, 875-900p, 1970.
31. Lozano J. I. Saunier S. B. Loussouarn P. G. The diversity of the human hair colour assessed by visual scales and instrumental measurements. *A*

- worldwide survey. *Int J Cosmet Sci.* 2017 Feb;39(1):101-107. doi: 10.1111/ics.12359. Epub 2016 Sep 14.
32. McGinnes J. Proctor P. A importância do fato de que a melanina é Black, J. *Theor. Biol.*, 39 677-678, 1973.
33. Millington K. R., Church J. S. The photodegradation of wool keratin II. Proposed mechanisms involving cystine. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 39, 1997. Pag. 204-212
34. Millington K. R. Marsh J. M. UV damage to hair and the effect of antioxidants and metal chelators. *International Journal of Cosmetic Science*, 2020, 42, 174–184.
35. Nelson, D. L., Cox M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*, 6ª edição, 125, 126p.
36. Nogueira A. C. S., Joekes I. Hair color changes and protein damage caused by ultravioleta radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 74 (2004) 109-117.
37. Nogueira A. C. S., Nakano A. K., Joekes I. Impairment of hair mechanical properties by sun exposure and bleaching treatments. *J. Cosmet. Sci.*, 55, 533-537, 2004.
38. Nogueira, A. C. S., Dixelio L. E., Joekes I. About photo-damage of human hair. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 2006, 5, 165-169.
39. Paulo B. F. P. Desenvolvimento de método para determinação de anfetaminas e benzoilecgonina em amostras de cabelo. 2017, página 16.

40. Pavani C., Severino D., Villa dos Santos, Chiarelli Neto O. and Baptista M. S., Spectroscopy as a tool to evaluate hair damage and protection, *International Journal of Cosmetic Science*, 2018, 40, 596 – 603.
41. Pensé-Lhéritier, A. M. Recent developments in the sensorial assessment of cosmetic products: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 2015, 37, 465-473.
42. Richena M., Rezende C. A. Effect of photodamage on the outermost cuticle layer of human hair. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 153 (2015) 296-304.
43. Robbins C. R. *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, Springer, 2012. Fourth Edition.
44. Santos, J. D. Caracterização de fios de cabelo antes e após tratamentos químicos e físicos por espectroscopias Raman e no infravermelho e microscopia eletrônica. Dissertação de mestrado. Programa de pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2017.
45. Slawinska D. and Slawinski J., Electronically Excited Molecules in the Formation and Degradation of Melanins, *Physiol. Chem. Phys*, 14, 363-374, 1982.
46. Stan D. Kozikowski, Stamford; J. Menkart, Greenwich; L. J. Wolfram, Stamford. United States Patent (19) Patent Number: 4,792,341, Date of Patent: Dec. 20, 1988.
47. Severino D., Pavani C., Castellani, and Baptista M. S. Singlet Oxygen in Hair, *Royal Society of Chemistry*, Chapter 38, 2016, pag. 251 e 252.
48. Solano F. Melanins: Skin Pigments and Much More—Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science* Volume 2014, Article ID 498276, 28 pages.

49. Sotomatsu A. Tanaka M. Hirai S. Synthetic melanin and ferric ions promote superoxide anion-mediated lipid peroxidation. FEBS Letters 342 (1994) 105-108).
50. Takada K., Nakamura A., Matsuo N., Inoue A., Someya K., Shimogaki H. Influence of oxidative and/or reductive treatment on human hair (I): Analysis of hair-damage after oxidative and/or reductive treatment. Journal of Oleo Science by Japan Oil Chemist's Society J. Oleo Sci., Vol. 52, nº 10, 541-548, 2003.
51. Thody A. J., Higgins R. M., Wakamatsu K., Ito S., Burchill S. A., Marks J. M.. A feomelanina, bem como a eumelanina, estão presentes na epiderme humana. Journal of Investigative Dermatology. Volume 97, Issue 2, Ago. de 1991, páginas 340-344.
52. Wang B., Yang W., McKittrick J., Meyers M. A. Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. Progress in Materials Science, 2016, 229-318p.
53. Wakamatsu K, Ito S. (2002). Advanced chemical methods in melanina detrmination. Pigment cell research/sponsored by the European Society for Pigment Cell Reseaech and the International Pigment Cell Society 15: 174-183. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12028581>.

Súmula Curricular

Nome:		
1) Formação		
Ano	Título ou atividade	Instituição (Depto./Unidade/Entidade)
2006	Graduação	Farmácia e Bioquímica, FCF da USP
2020	Mestrado	Bioquímica no Instituto de Química da USP
2017	Outros cursos, treinamentos ou certificações (se for o caso)	MBA em Gestão Escolar – ESALQ USP
2) Histórico profissional		
<p><i>Larga experiência no mercado de beleza, em que começou atuando como estagiária em Microbiologia na Colgate Palmolive. Fez um estágio na Alemanha, na Universität Mainz em Farmácia hospitalar. Ao voltar para o Brasil, ingressou como estagiária na BASF, na área de Química Fina, na venda de matérias-primas cosméticas. Foi contratada pela Farmacopeia, distribuidora de matéria-prima cosméticas e através desse contato, acabou abrindo da Madarrô Cosméticos em 2006, uma empresa produtora de produtos capilares cosméticos para profissionais cabeleireiros e estando a frente da empresa até outubro de 2014. Simultaneamente, lecionava no curso de Estética e Cosmética com ênfase Capilar na Universidade Cruzeiro do Sul por 11 anos, hoje extinta essa modalidade. Dentro dessa grade, lecionou a disciplina de Colorimetria e devido a essa experiência, criou a equação da Colorimetria, ainda não publicado e o livro Criando Efeito, que ensina um novo método para avaliar e criar imagens pessoais, a partir da mudança do cabelo. Durante esses anos, atuou diretamente na formação e treinamento de cabeleireiros, além de participar como palestrante, em diversos momentos, nas principais feiras cosméticas do país. No ano de 2019, em parceria com o Prof. Maurício Baptista, criamos o curso de extensão sobre Produtos Capilares, da concepção ao cliente final, ofertado principalmente para os cabeleireiros graduados, desenvolvedores de fórmulas de indústrias cosméticas e especialistas em Marketing, dentro do IQ USP. De 2016 a 2019, elaborou pequenos salões de</i></p>		

estrutura familiar ou de micro-porte, através da marca Linda Gata.

3) Lista de até 10 resultados de pesquisa mais relevantes, podendo ser artigos científicos, livros, capítulos de livros, palestras a convite, patentes (solicitadas, concedidas e especialmente as licenciadas), softwares registrados, cultivares, empresas de base tecnológica criadas, relatórios técnicos de projetos que liderou ou em que teve papel destacado, novos produtos, novos processos ou outros tipos de resultados de pesquisa documentados que considere estarem entre as 10 mais relevantes de sua carreira.

09/19 – 03/20 Instituto de Química – Curso de Extensão Produtos Capilares: da concepção ao cliente final

Desenvolvedora e co-coordenadora do curso. Parceira no desenvolvimento dos conceitos fundamentais do curso. Curso criado para atender ao mercado cosmético capilar, em especial à equipe de marketing, desenvolvedores e pesquisadores e técnicos de aplicação capilar (cabeleireiros).

09/16 – 07/19 D. B. Barra Serviços e Comércio de Cosméticos EPP

Criadora e fundadora do Linda Gata Studio, empresa de assessoria e mentoria para salões de pequeno porte.

Responsável por dar suporte técnico, administrativo e comercial para pequenos salões. Prepara e leciona cursos técnicos para os profissionais cabeleireiros.

01/18 – Unicsul – Universidade Cruzeiro do Sul

Ministrar aulas para os alunos do Curso de Estética e Cosmética, preparar as aulas e as atividades curriculares e extracurriculares.

01/08 – 06/20 Unicsul – Universidade Cruzeiro do Sul

Ministrar aulas para os alunos do Curso de Visagismo e Estética Capilar, preparar as aulas e as atividades curriculares e extracurriculares.

10/14 – 08/15 Bouclé Equipe Educacional e Eventos Ltda.

Sócia responsável pela área comercial e administrativa da empresa, responsável pela estratégia de marketing e posterior busca de potenciais clientes no mercado, bem como acompanhar as rotinas administrativas e gerar e acompanhar dados financeiros e avaliação de custos realizados pela empresa, além de desenvolver treinamentos técnicos para equipes de vendas de cosméticos capilares. Trata-se de uma empresa de treinamento de cabeleireiros e agenciamento de profissionais cabeleireiros para eventos de marketing no segmento de beleza capilar e maquiagens.

03/07 – 10/14 Madarrô Comercial de Cosméticos Ltda EPP

Criadora da marca Madarrô Cosméticos, empresa voltada ao atendimento do profissional cabeleireiro com a criação e venda de produtos capilares.

Responsável pelo desenvolvimento de produtos, entre características técnicas e de apelos de marketing, pelo treinamento da equipe de vendas e técnica. Desenvolvimento de embalagem e de fórmula.

Diretora de Negócios da linha, promovendo a inserção do produto no mercado cosmético profissional. Responsável da parte administrativa da empresa.

09/09 – 04/14 Physiomed – Importadora e Distribuidora de Equipamentos Médicos

Realizar atividades diárias de controle de qualidade, atuar em grupos multifuncionais para garantia de qualidade, realizar auditorias internas e externas (certificação de fornecedor), preparar e aplicar treinamentos internos de garantia de qualidade, realizar testes especiais para aprovação de produtos desenvolvidos.

07/05 – 03/07 Sylvachem – Distribuidora Matérias-Primas Cosméticas e Farmacêutica

Apresentar novas matérias-primas para indústria cosmética, desenvolver carteira de clientes e acompanhar aprovação das matérias-primas, realizar pesquisas em internet para estudos de referência, participar do planejamento de feiras e congressos, dar treinamentos à equipe da força de vendas, desenvolver projetos em parceria com os clientes, realizar visitas técnicas para dar assistência e suporte ao cliente.

4) **Lista de financiamentos à pesquisa vigentes, de qualquer agência ou empresa, sob a responsabilidade do Pesquisador.** Não se aplica.

5) **Lista de orientações em andamento, com bolsas.** Não se aplica.

- a) **1 livro publicado**
- b) 8 capítulos de livros didáticos
- c) 2 marcas registradas
- d) 101 produtos lançados no mercado cosmético profissional capilar

7) **Link:** não se aplica

8) **Outras informações:** Canal no YouTube chamado Ciência da Beleza, membro diretivo da Comissão dos Cabeleireiros, palestrante da Hair Brasil.