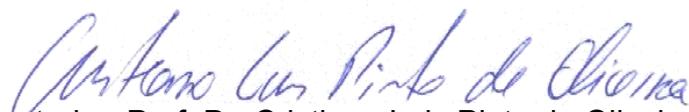


Universidade de São Paulo  
Instituto de Física

**Alterações estruturais em fibras capilares humanas  
induzidas por tratamentos cosméticos**

**Augusto Cesar de Camargo Bandeira**



Orientador: Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira

Coorientadora: Dra. Cibele Rosana Ribeiro de Castro Lima

Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Física como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira

Prof. Dr. Guinther Kellermann (UFPR)

Prof(a). Dr(a). Tereza da Silva Martins (UNIFESP)



# Ficha Catalográfica

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação**  
**do Instituto de Física da Universidade de São Paulo**

Bandeira, Augusto Cesar de Camargo

Alterações estruturais em fibras capilares humanas induzidas por tratamentos cosméticos. São Paulo, 2024.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Física. Depto. de Física Experimental.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira.  
Área de Concentração: Física.

Unitermos: 1. Cabelo humano; 2. Estrutura; 3. Alisamento químico; 4. SAXS.

USP/IF/SBI-031/2024



University of São Paulo

Institute of Physics

**Structural changes on human hair fibers induced by  
cosmetic treatments.**

**Augusto Cesar de Camargo Bandeira**

Advisor: Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira

Co-Advisor: Dra. Cibele Rosana Ribeiro de Castro Lima

Master's thesis presented to the  
Institute of Physics as a partial  
requirement for obtaining the title of  
Master of Science.

Examination Board:

Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira

Prof. Dr. Guinther Kellermann (UFPR)

Prof(a). Dr(a). Tereza da Silva Martins (UNIFESP)



## Agradecimentos

Agradeço a Deus e todos as divindades, que sempre me orientarem e apoiarem em minhas tomadas de decisões.

Sou grato aos meus amados pais, os quais me ensinaram que a honestidade é sempre a melhor virtude.

Aos meus familiares pelas orientações e ensinamentos, os quais me ajudam em minha formação como homem/pessoa.

A Unicamp (IFGW), por toda a jornada de aprendizado enquanto aluno de graduação e aos meus colegas da Unicamp em especial ao Alexandre Reggiolli e Giovani Buldroni, os quais me receberam de braços abertos e me fizeram sentir acolhido.

Agradeço principalmente a USP (Universidade de São Paulo), através do IFUSP e aos meus orientadores Prof. Dr. Cristiano Luis Pinto de Oliveira e Dra. Cibele Rosana Ribeiro de Castro Lima por todo apoio e incentivo durante o processo do Mestrado. Além de desenvolver um projeto correlacionado com esta dissertação com a multinacional SYENSQO (Solvay).

Aos técnicos dos laboratórios: Dennys Reis, Fernando Batalioto e Igino Martino, pelos ensinamentos e aprendizados desde meu ingresso no grupo GFCx em 2022 até o presente momento, onde pude compartilhar experiências, alegrias e preocupações no decorrer do mestrado.

Aos meus parceiros Gabriel Granado e Gabriel Teobaldo, que sempre foram muito prestativos e atenciosos.

Por último e mais importante a minha falecida e jamais esquecida avó Loiva Bandeira, pelos ensinamentos, sabedoria, paciência e carinho.

A todos dedico os meus sinceros agradecimentos.

Atenciosamente.

Augusto Camargo Bandeira



## Resumo

O uso de tratamentos cosméticos para transformação da cor, forma e textura dos cabelos têm sido utilizados cada vez mais por consumidores no mundo todo. No Brasil, alguns procedimentos necessitam de altas temperaturas associadas com alguns ativos de transformação química, que altera estruturas específicas da fibra capilar.

Neste trabalho tivemos um enfoque na avaliação das alterações e transformações causadas por um tipo de alisamento ácido pouco explorado na literatura, porém muito comercializado e utilizado pelos consumidores. Para isso, foram investigados os efeitos da descoloração de fibras capilares bem como a associação desta com procedimentos de alisamento ácido.

Mediante a combinação de diversas abordagens experimentais como Espalhamentos de Raios X a [(Ultra Baixos Ângulos (USAXS)), (Baixos Ângulo (SAXS)) e (Altos Ângulo (WAXS))], Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Ótica (MO) e Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) diversos resultados experimentais foram obtidos e correlacionados. Adicionalmente, mechas foram também submetidas a experimentos *in situ* associando espalhamento de raios X a processos de aquecimento controlado.

Estes experimentos tiveram como objetivo investigar em tempo real as mudanças nas estruturas cristalinas das fibras capilares induzidas pela mudança de temperatura. Os resultados de espalhamento de raios X e DSC evidenciaram que o alisamento ácido promoveu alterações no córtex das fibras capilares, como a desnaturação das cadeias de alfa-queratina, aumento da porosidade interna e mudança conformacional no complexo de membrana celular. As imagens de microscopia óptica e eletrônica de varredura mostraram alterações importantes na superfície da fibra, como o desprendimento das cutículas.

Os resultados das medidas *in situ* mostraram que acima de aproximadamente 250°C, a parte interna das fibras derrete enquanto a cutícula permanece ainda intacta, ou seja, o córtex é mais susceptível a temperatura do que a cutícula. Sendo assim, esta associação de técnicas permitiu investigar e caracterizar de madeira inédita na literatura as mudanças físico-químicas, estruturais, morfológicas e termodinâmicas que ocorrem nas fibras por meio do processo de aquecimento associado às transformações químicas da fibra capilar.

Palavras-chave: Cabelo humano; Estrutura; Alisamento químico; SAXS



## Abstract

The use of cosmetics treatments to transform the color, shape and texture of hair has been increasingly used by consumers around the world. In Brazil, some procedures require elevated temperatures associated with chemical transformation active ingredients, which may alter specific structures of the hair fiber.

In this work we focused on the evaluation of changes and transformations caused by a type of acid straightening that has been rarely explored in the literature but is widely used by consumers worldwide. To this end, the effects of discoloration of hair fibers were investigated, as well as its association with acid straightening procedures.

Through the combination of several experimental approaches such as X-ray Scattering at [(Ultra-Small Angles Scattering (USAXS)), (Small-Angle Scattering (SAXS)) and (Wide-Angle Scattering (WAXS))], Differential Scanning Calorimetry (DSC), Optical Microscopy (OM) and Scanning Electron Microscopy (SEM) several experimental results were obtained and correlated. Additionally, strands were also subjected to in situ experiments associating X-ray scattering with controlled heating processes. These experiments aimed to investigate in real time the changes in the crystalline structures of hair fibers induced by temperature variations.

The results of X-ray scattering, and DSC showed that acid straightening promoted changes in the cortex of hair fibers, such as denaturation of alpha-keratin chains, increased internal porosity and conformational change in the cell membrane complex. Optical and scanning electron microscopy images showed significant changes on the fiber surface, such as the detachment of the cuticles.

The results of in situ measurements showed that above approximately 250°C, the inner part of the fibers melts while the cuticle stays intact, showing that the cortex is more susceptible to temperature than the cuticle. Therefore, the proposed association of techniques allowed the investigation and characterization of the physical-chemical, structural, morphological, and thermodynamic changes that occur in the fibers through the heating process associated with the chemical transformations of the hair fiber, providing unprecedented results in the literature.

Keywords: Human hair, Structure, Chemical straightening, SAXS



## Lista de Figuras

- Figura 1 - A estrutura hierárquica do cabelo da cutícula aos aminoácidos. Imagem retirada de (Yang et al., 2014; Richena, 2015) adaptada. ....2*
- Figura 2: Escamas de cutícula do cabelo humano. (A): Perto da ponta da raiz e perto do couro cabeludo. Observe bordas de escala suaves. (B): Perto da ponta de outra fibra. Repare no desgaste das escamas cuticulares. Imagem retirada de (Robbins, 1988). ....3*
- Figura 3: O complexo da membrana celular (CMC). (A) Região da CMC para cutícula-cutícula do cabelo humano. Imagem retirada e modificada de (Lima et al., 2016). (B) Modelo da CMC para cutícula-cutícula. Imagem retirada e modificada de (E. Plowman et al., 2018). (C) A estrutura proposta da cutícula-cutícula CMC do cabelo humano. Imagem retirada de (Richena, 2015) adaptada. ....5*
- Figura 4: Modelo da estrutura da fibra capilar, ilustrando as subestruturas da cutícula e o córtex. Imagem retirada de (1988; Richena, 2015). ....6*
- Figura 5: Micrografia eletrônica de varredura de um cabelo dividido mostrando detalhes da estrutura cortical. Imagem retirada de (Robbins, 1988). ....6*
- Figura 6: Micrografia eletrônica de varredura de um aglomerado de macrofibrilas em uma célula cortical de uma fibra capilar humana. Imagem retirada de (Robbins, 1988). ....7*
- Figura 7: As proteínas dos filamentos intermediários apresentam um padrão comum, contendo uma região  $\alpha$ -hélice central, flanqueados por porções globulares em cada extremidade (A). Essas proteínas associam-se, de forma paralela, na formação de um dímero (B), que se caracteriza pelo enrolamento das regiões em  $\alpha$ -hélice, formando um “coiled-coil”. A associação dos dímeros em tetrâmeros (C) ocorre de forma antiparalela e com uma defasagem entre elas. Os arranjos de ordens superiores (D e E) são hipotéticos e levam à formação do filamento intermediário, com 10nm de espessura. Imagem retirada de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013). ....9*
- Figura 8: (A) Estrutura de uma alfa-hélice proposta por Pauling e Corey. Imagem retirada de (Sharma and Kumar, 2019) adaptada. (B) Modelo molecular de uma  $\alpha$ -hélice. Imagem retirada de (Robbins, 1988). ....10*

<i>Figura 9: Micrografia eletrônica de varredura ilustrando a forma de uma esfera oca estruturas da medula. Imagem retirada de (Robbins, 1988).</i>	12
<i>Figura 10: Formulação do alisante. Imagem retirada de (Alessandra, 2019) adaptada.</i>	15
<i>Figura 11: Mechas de cabelo dos grupos (VH) virgens; (BH) descoloridas; (SH) alisadas e (BSH) descoloridas e alisadas.</i>	17
<i>Figura 12: (A) Preparação das fibras capilares virgens no porta amostra de USAXS/SAXS/WAXS. (B) Ilustra a disposição das fibras no porta amostra.</i>	18
<i>Figura 13: Porta amostra (cadinho aberto) para DSC. (A) Tampa do cadinho. (B) Disposição das amostras de cabelo (sólida) no cadinho (panela) para DSC.</i>	18
<i>Figura 14: Lâminas com amostras de cabelo: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) para Microscopia Ótica (MO).</i>	19
<i>Figura 15: Colocação das amostras de cabelo: VH (virgens), SH (alisadas), BH (descoloridas) e BSH (alisadas/descoloridas) sob para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).</i>	19
<i>Figura 16: O microscópio óptico composto. Observe as localizações dos mostradores de foco da amostra, o botão de foco do condensador e o botão do foco da lente coletora no compartimento da lâmpada. Observe também as posições de dois diafragmas de íris variáveis: o diafragma de parada de campo próximo ao iluminador, e o diafragma do condensador na abertura frontal do condensador. Cada um tem um ótimo configuração no microscópio devidamente ajustado. Imagem retirada do (Formanek et al., 2006; Murphy and Dawson, 2001) adaptada.</i>	21
<i>Figura 17: Percepção de uma imagem virtual ampliada de uma amostra no microscópio. A lente objetiva forma uma imagem ampliada do objeto (chamada de imagem real intermediária) dentro ou perto da ocular; a imagem intermediária é examinada pela ocular e pelo olho, que juntos formam uma imagem real na retina. Imagem retirada e modificada do (Formanek et al., 2006; Murphy and Dawson, 2001).</i>	22
<i>Figura 18: (A) Microscópio óptico Leica modelo DM RX, (B) câmera digital Guppy F-503C, (C) Objetiva acromática de magnificação (20X).</i>	23

<i>Figura 19: Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura. Imagem retirada de (S Teixeira, 2013).</i>	25
<i>Figura 20: Equipamento Hitachi modelo TM 3000. Imagem retirada de (Ara et al., 2013).</i>	26
<i>Figura 21: <b>A)</b> Fluxo de calor DSC com sistema de medição tipo disco; 1-Disco, 2-Forno, 3-Tampas, 4-Termopares (sensor de temperatura), 5-Programa e controle da temperatura para cadinhos: amostra (A) e referência (R), (<math>\Phi_{FS}</math>) taxa de fluxo de calor do forno para o cadinho amostra, <math>\Phi_{FR}</math> taxa de fluxo de calor do forno para o cadinho de referência (R), <math>\Phi_{mt}</math> taxa de calor medido, (<math>K(T)</math>) fator de calibração. <b>B)</b> Taxa de fluxo de calor medida <math>\Phi_{mt}</math> (curva esquemática). Imagem retirada de (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996) adaptada.</i>	28
<i>Figura 22: Curva de DSC para cabelo virgem (CV ou VH).</i>	31
<i>Figura 23: (A) DSC-60 Shimadzu. (B) Local para colocação das amostras (C) Sistema de Aquecimento tipo disco.</i>	33
<i>Figura 24: <b>(A)</b> As mechas utilizadas para o experimento de DSC; (1) corresponde ao cabelo virgem (CV ou VH), (2) relaciona-se ao cabelo alisado (CA ou SH), (3) identifica o cabelo alisado/descolorido (CAD ou BSH) e (4) numera o cabelo descolorido (CD ou BH). <b>(B)</b> Os quatros eppendorfs enumerados de 1 a 4 com cabelos VH, SH, BSH e BH respectivamente, cartados e etiquetados.</i>	34
<i>Figura 25: A balança analítica utilizada para aferir as massas dos conjuntos (cadinho e tampa) e cabelos apenas.</i>	35
<i>Figura 26: Disposição dos cabelos nos cadinho.</i>	35
<i>Figura 27: Cadinho com tampa justaposta para realizar medida.</i>	36
<i>Figura 28: Tipos de interação da radiação com a matéria. Imagem retirada de (Attwood, 2009) adaptada.</i>	37
<i>Figura 29: Espalhamento de primeira ordem de uma onda plana por um potencial limitado no espaço. Imagem retirada de (Oliveira, 2005).</i>	37
<i>Figura 30: <b>(A)</b> Feixe de raios X espalhado por uma partícula fixa no espaço, formando um ângulo em relação ao feixe incidente. <b>(B)</b> A partir de considerações geométricas escreva-se o módulo de vetor de transferência de momento no espaço recíproco (<math>q</math>) em função do ângulo de espalhamento e do módulo do vetor de onda. Imagem retirada de (Oseliero Filho, 2013) adaptada.</i>	39

<i>Figura 31: Perfil bidimensional de espalhamento para uma partícula esférica. A: Intensidade espalhada em escala linear. B: Intensidade espalhada em escala logarítmica. Inserções: Cortes unidimensionais no plano de espalhamento. Imagem retirada de (Oliveira, 2005) modificada. ....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 32: Perfil bidimensional de espalhamento para uma partícula anisotrópica. A: Intensidade para a partícula fixa. B: Intensidade promediada para todas as orientações da partícula. Inserções: Cortes unidimensionais no plano de espalhamento. A simulação foi feita utilizando o programa Mathematica®. Imagem retirada de (Oliveira, 2005). ....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 33: Cada estrutura mostrada à direita (esfera, cilindro, prisma) possui um único perfil de intensidade assim como um único perfil de <math>p(r)</math>. Conhecendo esses perfis, pode-se em uma análise inicial dar palpites sobre a forma das partículas em um sistema qualquer assim como o tamanho máximo envolvido (<math>r_{m\acute{a}x}</math>), informação está relacionada com a curva <math>p(r)</math>. Imagem retirada de (Oseliero Filho, 2013). ....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 34: Representação esquemática dos modelos de sistemas gasoso, líquido e sólido, mediante os fatores de forma e estrutura. ....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 35: Imagem bidimensional de SAXS para o cabelo virgem a 30°Celsius, orientado em 10° em relação ao eixo X. Note que o sinal de espalhamento gerado pela fibra é mais intenso na direção na longitudinal do que na latitudinal, o que implica em uma análise setorial nas regiões Horizontal: Direita (H-D) e Esquerda (H-E) e Vertical: Topo (V-T) e Base (V-B) da imagem de espalhamento 2D. ....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 36: Curvas de intensidade de espalhamento do cabelo virgem a 30° Celsius, à curva da esquerda é referente a curva de SAXS 1D no corte horizontal direita, enquanto a curva da direita é correspondente a curva de SAXS 1D no corte vertical topo. ....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 37: Esquema de uma configuração experimental de SAS. O feixe proveniente de uma fonte é colimado utilizando elementos óticos (fendas, pinholes etc.) e incide na amostra. O feixe transmitido é coletado e pelo perfil de espalhamento é possível obter-se informações pertinentes à amostra. Imagem retirada de (Oliveira, 2005). ....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 38: Imagens do equipamento Xeuss 2.0 localizado no IFUSP. ....</i>	<i>53</i>

<i>Figura 39: Representação esquemática das medidas de SAXS com gradientes de temperatura.</i>	54
<i>Figura 40: Os raios X incidentes e refletidos formam um ângulo <math>\theta</math> simétrico à normal do plano cristalino. Imagem retirada de (Cullity and Stock, 2014).</i>	55
<i>Figura 41: Representação do ajuste da função distribuição Gaussian do Origin versão 2022. Imagem retirada do software de Origin versão 2022.</i>	58
<i>Figura 42: Imagens de microscopia óptica de amostras de fibra capilar: (A) virgem (sem tratamento) ;(B) e (E) e descoloridas; (C) e (D) e (F) alisadas; e (G) descoloridas e alisadas.</i>	60
<i>Figura 43: Imagens de microscopia óptica de amostras de fibras capilares alisadas (SH).</i>	60
<i>Figura 44: (A) Colocação das amostras de cabelo: VH (virgens), SH (alisadas), BH (descoloridas) e BSH (alisadas/descoloridas) para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). (B) Equipamento Hitachi modelo TM 3000. Imagem retirada de (Ara et al., 2013).</i>	61
<i>Figura 45: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 25°C.</i>	62
<i>Figura 46: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 100°C.</i>	63
<i>Figura 47: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 200°C.</i>	64
<i>Figura 48: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 250°C.</i>	65
<i>Figura 49: Curva de DSC para as fibras virgens (VH), descoloridas (BH), alisadas (SH) e descolorida/alisada (BSH).</i>	67
<i>Figura 50: As diferenças das Temperatura de Desnaturação (<math>T_D</math>) vista a partir das curvas dados DSC de cadinho aberto, onde VH (preto), BH (vermelho), SH (azul) e BSH (verde) com as ilustrações de MEV em 250°C para os respectivos cabelos.</i>	69
<i>Figura 51: As diferenças das Entalpias de Desnaturação (<math>\Delta H_D</math>) vista a partir das curvas dados DSC de cadinho aberto, onde VH (preto), BH (vermelho), SH (azul) e BSH (verde) com as ilustrações de MEV em 250°C para os respectivos cabelos.</i>	70
<i>Figura 52: Disposição das mechas durante o USAXS/SAXS/WAXS.</i>	72
<i>Figura 53: Procedimento para determinar a orientação de cada estrutura da fibra (Integração Radial).</i>	73
<i>Figura 54: Procedimento para determinar os cortes azimutais 1D (Integração Azimutal).</i>	74

<i>Figura 55: Representação das distâncias de repetição na imagem 2D de SAXS da fibra capilar virgem, com cortes horizontal direita (B) e vertical topo (C), e o (*) indica a estrutura da fibra capilar correspondente, imagem retirada de (Yang et al., 2014) adaptada. ....</i>	<i>76</i>
<i>Figura 56: Representação das distâncias de repetição na imagem 2D de WAXS da fibra capilar virgem, com cortes horizontal direita e vertical topo, e o (*) indica a estrutura da fibra capilar correspondente, Imagem retirada de (Yang et al., 2014; Sharma and Kumar, 2019; Alberts, 2015) adaptada. ....</i>	<i>78</i>
<i>Figura 57: (A) Dados 2D de USAXS da fibra capilar virgem bem como tratadas. Imagem retirada. (B) Cortes verticais e horizontais nas imagens 2D de USAXS para as 4 amostras capilares em escala logarítmica. Imagem retirada de. Sendo os símbolos (dados experimentais) e linhas (modelo teórico). ....</i>	<i>80</i>
<i>Figura 58: (A) Imagens 2D de SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 250°C e 270°C. (B) Curvas de USAXS, SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo, corte horizontal direita do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica. e (C) Curva de USAXS, SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo, corte vertical topo do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica. ....</i>	<i>83</i>
<i>Figura 59: <b>Curvas de SAXS (cortes horizontal direita) para as fibras: virgens (CV ou VH) - A, descoloridas (CD ou BH) - B, alisadas (CA ou SH) - C e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) – D em escala logarítmica. ....</b></i>	<i>84</i>
<i>Figura 60: <b>Curvas de SAXS (cortes vertical topo) para as fibras: virgens (CV ou VH) - A, descoloridas (CD ou BH) - B, alisadas (CA ou SH) - C e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) – D em escala logarítmica. ....</b></i>	<i>84</i>
<i>Figura 61: Representação lúdica da CMC. (A) Modelo fictício da disposição das bicamadas lipídicas da CMC. (B) Imagem bidimensionais de SAXS do cabelo virgem (CV ou VH) em 30°C, 150°C e 270°C, onde as setas vermelhas apontam para as transformações da CMC durante aquecimento. (C) Curvas de SAXS do corte horizontal direita do cabelo virgem (CV ou VH) em 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações do pico de 45Å da CMC durante aquecimento. ....</i>	<i>86</i>

<i>Figura 62: Curvas de SAXS corte horizontal direita para as fibras virgem (CV ou VH) - A, alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisada/descoloridas (CAD ou BSH) á 30°C em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações dos picos da CMC de cada mecha durante aquecimento. .</i>	<i>87</i>
<i>Figura 63: Representação lúdica das transformações das bicamadas lipídicas dos cabelos alisados (CA ou SH) e alisados/descoloridos (CAD ou BSH) em 30°C</i>	<i>89</i>
<i>Figura 64: Curvas de SAXS corte horizontal direita para as fibras virgem (CV ou VH) - A, alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisada/descoloridas (CAD ou BSH) á 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações dos picos da CMC de cada mecha durante aquecimento.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 65: Representação da via de desnaturação de um resíduo de material helicoidal de filamentos intermediários (Daniel, 2011).....</i>	<i>92</i>
<i>Figura 66: Modelo de um aminoácido. Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015).....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 67: Aminoácidos Apolares (Hidrofóbicos). Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015) adaptada. ....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 68: Aminoácidos Polares (Hidrofílicos). Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015) adaptada. ....</i>	<i>100</i>
<i>Figura 69: Ligação Peptídica. Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 70: Modelo da estrutura primária de uma proteína. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.....</i>	<i>103</i>
<i>Figura 71: Estrutura secundária da <math>\alpha</math>-hélice. (A) Vista de lado e (B) Vista de cima. Imagem retirada e de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 72: Estrutura secundária da <math>\beta</math> pregueada. (A) Vista planar e (B) Esquema de cadeias. Imagem retirada e modificada de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013). ....</i>	<i>105</i>
<i>Figura 73: Modelo da estrutura terciária de uma proteína. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.....</i>	<i>106</i>

<i>Figura 74: Tipos de ligações entre as cadeias laterais dos aminoácidos para estrutura terciária das proteínas. (A) Interações eletrostáticas, (B) Interações covalentes, (C) Ligações de Hidrogênios e (D) Interação hidrofóbicas. Imagem retirada e modificada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).</i>	107
<i>Figura 75: Modelo da estrutura quaternária de uma proteína. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.</i>	108
<i>Figura 76: Modelo da bicamada lipídica com a disposição dos lipídios. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.</i>	109
<i>Figura 77: Modelo de fosfolipídios. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.</i>	110
<i>Figura 78: Modelo de ácidos graxos saturados e insaturados. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.</i>	110
<i>Figura 79: Modelo de um esfingolipídio. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.</i>	111
<i>Figura 80: (A) Fórmula química do colesterol e (B) Modelo de inserção do colesterol em uma bicamada lipídica. Imagens retiradas e modificadas de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).</i>	111
<i>Figura 81: Arranjos do empacotamento das moléculas lipídicas em um ambiente aquoso. (A) Moléculas lipídicas em forma cônica produzindo micelas. (B) Moléculas lipídicas em forma cilíndrica produzindo bicamadas lipídicas. Vista em seção transversal das conformações de micela ou bicamada, estas formas podem acontecer de modo espontâneo quando imersas em água. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.</i>	112
<i>Figura 82: Curva da linha base inadequada sem limpeza e calibração.</i>	113
<i>Figura 83: Curva de calibração do DSC-60.</i>	114
<i>Figura 84: Curva da linha base adequada com limpeza e calibração.</i>	115
<i>Figura 85: Curvas de SAXS do VH, SH, BH e BSH – cortes horizontais direita com gradientes de temperatura.</i>	118
<i>Figura 86: Curvas de SAXS do VH, SH, BH e BSH – cortes verticais topo com gradientes de temperatura.</i>	119
<i>Figura 87: Capa do Artigo aceito na JAC.</i>	120

## Listas de Tabelas

<i>Tabela 1 - Configurações experimentais utilizadas no Xeuss 2.0 para estudos de fibras capilares. ....</i>	<i>52</i>
<i>Tabela 2 - Comparativo entre as temperaturas e entalpias de desidratação (<math>T_d</math>, <math>\Delta H_d</math>) e desnaturação (<math>T_D</math>, <math>\Delta H_D</math>), para os quatros tipos de mechas. ....</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 3: Caracterização da fibra capilar virgem (VH) a 30°C .....</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 4 – Comparativo entre as variações na periodicidade e domínio cristalino entre as fibras VH, SH, BH e BSH á 30°C .....</i>	<i>87</i>



## Listas de Siglas

18-MEA – ácido 18-metileicosanóico  
CA – Cabelo Alisado (*Straightened Hair* (SH))  
CD – Cabelo Descolorido (*Bleaching Hair* (BH))  
CAD – Cabelo Alisado e Descolorido (*Bleached and Straightened Hair* (BSH))  
CV – Cabelo Virgem (*Virgen Hair* (VH))  
CMC – Complexo de Membrana Celular  
DTA – Análise Térmica Diferencial  
DSC – *Differential Scanning Calorimetry* (Calorimetria Exploratória Diferencial)  
EMUSAXS – Equipamento Multi-Usuário em Espalhamento de Raios X à Baixos ângulos  
FIs – Filamentos Intermediários  
H – Potencial Termodinâmico Entalpia  
H-D – Corte Horizontal Direita  
H-E – Corte Horizontal Esquerda  
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura  
MO – Microscopia Ótica  
N – Número de partículas  
P - Pressão  
pH – Potencial Hidrogeniônico  
SAXS – *Small Angle X-Ray Scattering* (Espalhamento de Raios X a Baixos Ângulos)  
 $T_d$  – Temperatura de Desidratação  
 $T_D$  – Temperatura de Desnaturação  
U – Energia Interna  
USAXS – *Ultra Small Angle X-Ray Scattering* (Espalhamento de Raios X a Ultra Baixos Ângulos)  
V - Volume  
V-T – Corte Vertical Topo  
V-B – Corte Vertical Base  
WAXS – *Wide Angle X-Ray Scattering* (Espalhamento de Raios X a Altos Ângulos)  
XRD – *X-Ray Diffraction* (Difração de Raios X)  
 $\Delta T_d$  – Entalpia de Desidratação  
 $\Delta T_D$  – Entalpia de Desnaturação



## Sumário

1.	Introdução .....	1
1.1	Cutícula .....	2
1.2	Complexo da Membrana Celular (CMC) .....	4
1.3	Córtex .....	5
1.4	Macrofibrilas .....	7
1.5	Microfibrilas e Filamentos Intermediários (FIs) .....	8
1.6	Medula.....	11
1.7	Descoloração/Clareamento .....	12
1.8	Alisamento.....	13
2.	Objetivos .....	14
3.	Materiais e Preparos .....	15
3.1	Materiais – Fibras Capilares.....	15
3.2	Preparação para lavagem das mechas .....	16
3.3	Procedimento para Descoloração/Clareamento .....	16
3.4	Procedimento para Alisamento.....	16
3.5	Preparação das portas amostras para SAXS, DSC, MO e MEV .....	17
4.	Métodos Experimentais .....	20
4.1	Microscopia Ótica (MO).....	20
4.2	Procedimento de Microscopia Ótica (MO) .....	22
4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	24
4.4	Procedimento Experimental para (MEV) .....	26
4.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	26
4.6	DSC aplicado ao estudo de mechas de cabelo .....	30
4.7	Procedimento Experimental para DSC.....	32
4.8	Espalhamento de Raios X à Baixo Ângulo (SAXS) .....	36
4.9	USAXS/SAXS/WAXS aplicado em cabelo .....	49
4.10	Procedimentos Experimentais para USAXS/SAXS/WAXS aplicado em mechas de cabelo .....	51
4.11	Difração de Raios X (XRD).....	54
5.	Resultados e Discussão .....	58
5.1	Imagem de MO para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) .....	59
5.2	Imagem de MEV para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) .....	60
5.3	Dados de DSC para as mechas de cabelos: virgens (VH), alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisadas/descoloridas (BSH) .....	66

5.4	Disposição e orientação das mechas para USAXS/SAXS/WAXS.....	71
5.5	Dados de SAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH) .....	74
5.6	Dados de WAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH) .....	76
5.7	Dados de USAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH) e tratadas .	79
5.8	Combinação dos dados em várias configurações .....	80
5.9	Dados de USAXS/SAXS/WAXS para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) submetidas a variações de temperatura .....	83
6.	Conclusões e Perspectivas .....	93
7.	Referências Bibliográficas .....	95
Apêndices .....		98
a.	pH .....	98
b.	Aminoácidos, proteínas e $\alpha$ -hélice .....	99
c.	Lipídios .....	109
d.	Procedimentos de limpeza e calibração do DSC.....	113
e.	Entalpia (J/g) .....	116
f.	Curvas de SAXS – CORTE HORIZONTAL – DIREITA para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH).....	118
g.	Curvas de SAXS – CORTE VERTICAL – TOPO para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH).....	119
h.	Artigo na Journal Applied Crystallography (JAC).....	120

# 1. Introdução

Essa seção foi elaborada para orientar e guiar o leitor a compreender toda a natureza e peculiaridade do cabelo humano, porque trata-se do material de investigação desta dissertação.

O cabelo é constituído de três camadas principais: cutícula, córtex e medula. A cutícula constitui a superfície externa da fibra. O córtex corresponde a camada intermediária do cabelo, que abrange desde as macrofibrilas e microfibrilas ou filamentos intermediários, sendo a região em que ocorrem a maioria das transformações químicas em geral. Já a medula corresponde a parte interna da fibra delimitada pelo córtex, o que dificulta sua identificação sem aplicação de tratamentos específicos e instrumentos óticos apropriados, como microscópios eletrônicos de varredura.

Dentro das células corticais estão contidas as macrofibrilas formadas por material amorfo rico em enxofre denominado complexo de membrana celular (CMC), cujo interior é composto de microfibrilas dispostas em ( $\alpha$ -queratina), constituídas por quatro protofibrilas (tetrâmeros), que confinam os aminoácidos da própria (Figura 1) (Robbins, 1988; Kreplak et al., 2001; Kreplak et al., 2004; Velasco et al., 2009).

A  $\alpha$ -queratina trata-se da estrutura que define as propriedades mecânicas do cabelo como força e elasticidade, caso ocorra alguma alteração em sua estrutura molecular, a qual poderá avaliar os efeitos de tratamentos cosméticos aplicados em cabelos (Wortmann and Deutz, 1998).

Alguns desses procedimentos podem comprometer as propriedades mecânicas das fibras capilares, como por exemplo: (I) procedimentos químicos (descoloração e alisamento; (II) Modeladores térmicos ("prancha"). Estes tratamentos promovem nos cabelos uma diminuição da resistência à tração, aumento de fragilidade e porosidade que podem afetar a permeabilidade de água na fibra capilar e em casos mais sérios, levando a danos irreversíveis.

Na literatura ainda não há consenso a respeito de como esses tratamentos afetam as propriedades físico-químicas e estruturais dos cabelos, apesar do crescente consumo desenfreado destes procedimentos cosméticos.

Para esta investigação serão utilizadas diversas técnicas experimentais, tais como Espalhamento de Raios X a Ultra Baixo Ângulo (USAXS), Baixo Ângulo (SAXS) e Alto Ângulo (WAXS), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Microscopia Óptica (MO) e Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV). A associação destas metodologias experimentais possibilitou a verificação das alterações em toda a estrutura capilar, incluindo cutícula e córtex, em particular no material cristalino dos filamentos intermediários (FIs) e na matriz amorfa do cabelo (CMC).

Como base de comparação caracteriza-se a fibra capilar virgem (VH) sem tratamento (amostra padrão), para em seguida compreender as ações do descolorimento e alisamento nas fibras: alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisadas/descoloridas (BSH), verificando com experimentos as mudanças estruturais, termodinâmicas e fisiológicas das fibras em diversas escalas de tamanho.

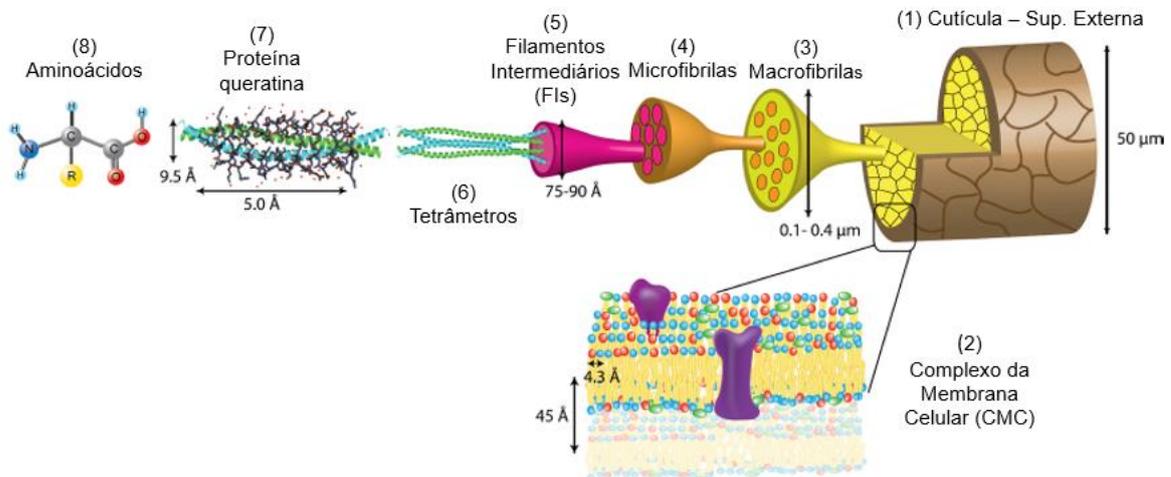
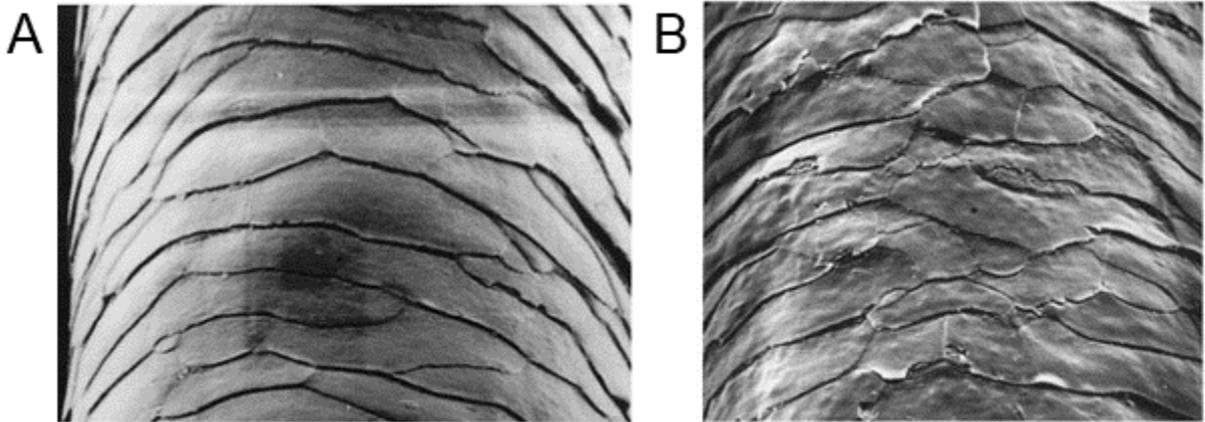


Figura 1 - A estrutura hierárquica do cabelo da cutícula aos aminoácidos. Imagem retirada de (Yang et al., 2014; Richena, 2015) adaptada.

## 1.1 Cutícula

A cutícula é a camada mais externa da fibra capilar, formadas de células planas sobrepostas (similares a escamas) que cercam a núcleo central da fibra (Figura 2).



*Figura 2: Escamas de cutícula do cabelo humano. (A): Perto da ponta da raiz e perto do couro cabeludo. Observe bordas de escala suaves. (B): Perto da ponta de outra fibra. Repare no desgaste das escamas cuticulares. Imagem retirada de (Robbins, 1988).*

Essas células sobrepostas dispõem-se paralelamente na extremidade da raiz de modo periférico, cujo crescimento ocorre na direção transversal do couro cabeludo.

Cada célula tem as seguintes dimensões aproximadamente: 0,5 mm de altura, 5  $\mu\text{m}$  de superfície exposta e com comprimento variável entre 45 e 60  $\mu\text{m}$  de comprimento (Robbins, 1988).

Na extremidade da raiz perto do couro cabeludo (Figura 2A) a cutícula do cabelo humano apresenta escamas lisas e ininterruptas. A sobreposição das células na borda é importante para auxiliar a permeabilidade (entrada e saída) de água, portanto na manutenção funcional e durabilidade da fibra.

Os domínios cuticulares são as regiões mais vulneráveis do cabelo, principalmente às interações mecânicas, químicas e físicas que causam danos à cutícula, devido a mecanismo de intemperismo ou efeitos de tratamentos térmicos e cosméticos (Figura 2B).

## 1.2 Complexo da Membrana Celular (CMC)

O complexo da membrana celular trata-se de uma estrutura laminar composta por camadas de proteínas e lipídios, cuja função é promover conexões intercelulares entre as células da cutícula e córtex (Figura 3A).

A constituição do CMC é subdividida em duas camadas denominadas  $\delta$  e  $\beta$ ; a camada  $\delta$  (Figura 3B) possui aproximadamente 15nm de espessura, cuja composição é de proteínas e polissacarídeos idealmente. No entanto, existe uma discordância na literatura a respeito da presença de glicoproteínas na camada  $\delta$ , pois a própria encontra-se disposta apenas em membranas, que apresentam uma característica adesiva entre revestimentos adjacentes. As camadas  $\beta$  (Figura 3B) possuem aproximadamente entre 2,5 a 5,0nm de espessura, sendo constituídas principalmente por lipídeos (Richena, 2015; Lima et al., 2016).

A estruturação da CMC consiste em uma camada  $\delta$  intercalada por outras duas camadas  $\beta$  adjacentes, denominadas interna e externa. A  $\beta$  interna encontra-se próximo da região central do fio, já  $\beta$  externa localiza-se perto da superfície cuticular.

A principal diferença entre as camadas  $\beta$  interna e externa consiste no tipo de lipídios que as compõem, uma vez que o revestimento  $\beta$  interno apresenta o lipídio 18-MEA ligado covalentemente à queratina do cabelo através das ligações tioéster (conforme representado pela região tracejada em vermelho na Figura 3C), ao passo que o revestimento  $\beta$  externo possui lipídeos (palmíticos, esteáricos, oleicos e outros) unidos à queratina mediante as ligações éster e/ou amida (região tracejada em azul na Figura 3C), porém sem apresentar o lipídio 18-MEA (Richena, 2015).

Por fim, as camadas  $\beta$  externa adjacentes a cutícula interagem com a camada  $\delta$  (central) através da parte apolar das cadeias lipídicas, mantendo-as unidas por interações de van der Waals (Richena, 2015).

No córtex, as camadas  $\beta$  são formadas por lipídeos livres, não covalentemente ligados à queratina do cabelo. Esses lipídeos são ácidos graxos, colesterol, sulfato de colesterol e ceramida e formam bicamadas. No caso das camadas  $\beta$  entre a cutícula e córtex, a  $\beta$  interna é formada por lipídeos livres organizados em bicamadas como no córtex, porém  $\beta$  externa é formada apenas por lipídeos ligados, como na cutícula (Richena, 2015).

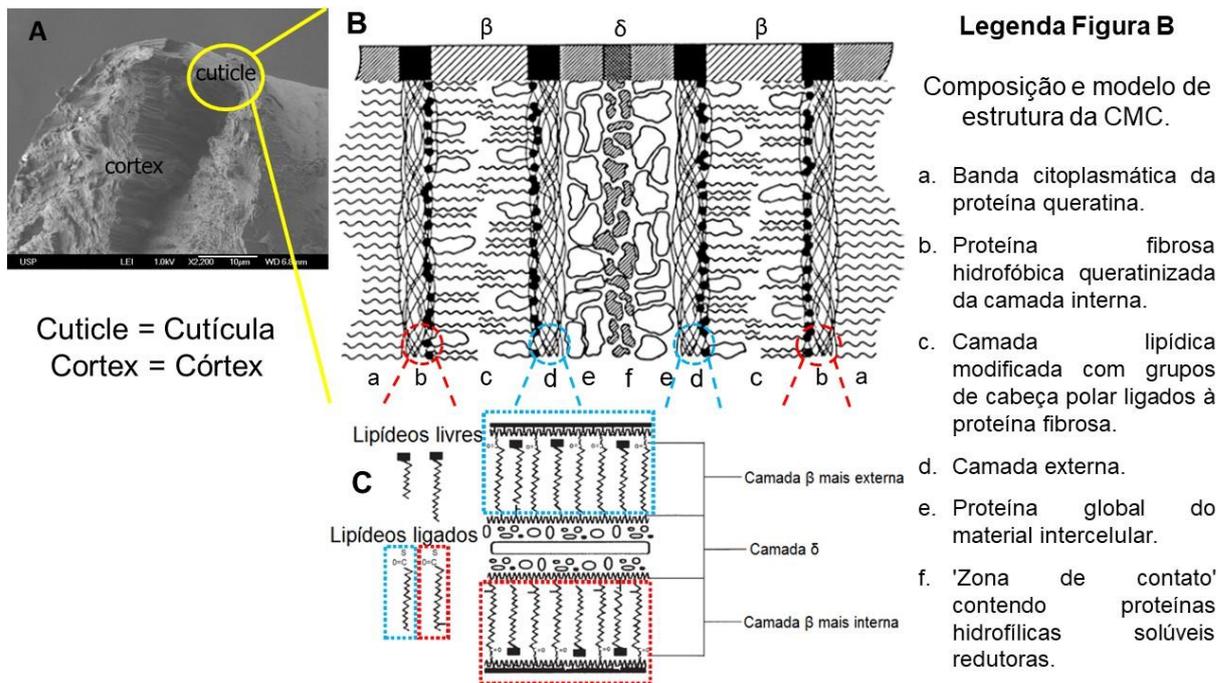


Figura 3: O complexo da membrana celular (CMC). **(A)** Região da CMC para cutícula-cutícula do cabelo humano. Imagem retirada e modificada de (Lima et al., 2016). **(B)** Modelo da CMC para cutícula-cutícula. Imagem retirada e modificada de (E. Plowman et al., 2018). **(C)** A estrutura proposta da cutícula-cutícula CMC do cabelo humano. Imagem retirada de (Richena, 2015) adaptada.

No apêndice b e c são apresentados aspectos gerais de proteínas e lipídios para dar suporte nesta dissertação.

### 1.3 Córtex

O córtex contém a maior parte da massa da fibra capilar permeado por queratina cristalina contida em uma matriz amorfa, que confere as características mecânicas do cabelo. As células corticais podem apresentar 1 a 6mm de espessura e 100µm de comprimento aproximadamente (Robbins, 1988), porém o respectivo autor comentou não existe um padrão sob essas dimensões.

As células corticais são formadas nas microfibrilas, as quais também estão contidas nas macrofibrilas e desse modo obedecem ao mesmo sentido de crescimento do cabelo, neste caso da raiz para a ponta. Dessa forma dentro de cada macrofibrila existem algumas microfibrilas, que revestem as cadeias de α-queratina

em duplas hélices alinhadas paralelamente ao comprimento do fio (Cássia Comis Wagner, 2006). Detalhes são mostrados nas Figura 4 e Figura 5.

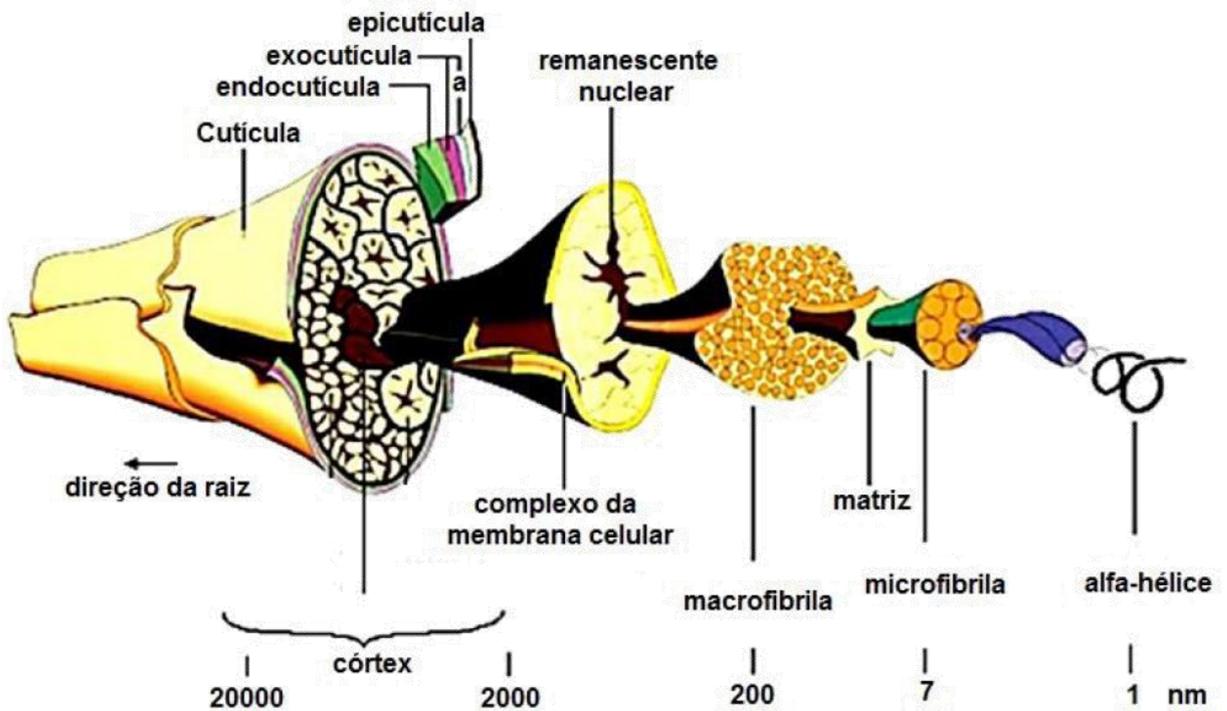


Figura 4: Modelo da estrutura da fibra capilar, ilustrando as subestruturas da cutícula e o córtex. Imagem retirada de (1988; Richena, 2015).

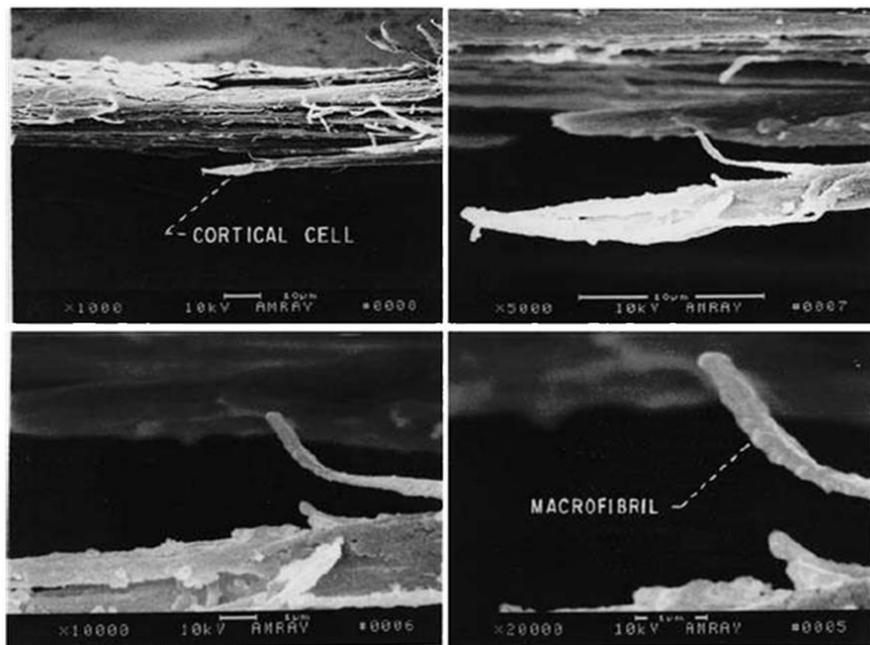


Figura 5: Micrografia eletrônica de varredura de um cabelo dividido mostrando detalhes da estrutura cortical. Imagem retirada de (Robbins, 1988).

## 1.4 Macrofibrilas

As macrofibrilas fusiformes possuem aproximadamente 0,1 a 0,4mm de largura ou diâmetro. Cada macrofibrila consiste em filamentos intermediários originalmente chamados de microfibrilas (unidades fibrilares altamente organizadas), e com uma matriz menos organizada que envolvem os filamentos intermediários (Robbins, 1988; Yu et al., 2017). Uma imagem das macrofibrilas obtida através de microscopia eletrônica de varredura é ilustrada na Figura 6.



*Figura 6: Micrografia eletrônica de varredura de um aglomerado de macrofibrilas em uma célula cortical de uma fibra capilar humana. Imagem retirada de (Robbins, 1988).*

A matriz de macrofibrilas compreende a maior subunidade estrutural do córtex, contendo uma alta concentração de ligações dissulfeto e cistina, cujas interações ocorrem de modo intracadeias. Este arranjo intracadeias pode aumentar de volume quando irrigada com água, o que causaria o inchaço da matriz macrofibrilar (Robbins, 1988).

A estruturação das microfibrilas apresenta um certo grau de organização, contudo não existe uma concordância literária que evidencie tal fato (Johnson and Sikorski, 1962).

## 1.5 Microfibrilas e Filamentos Intermediários (FIs)

As microfibrilas são compostas por estruturas subfilamentosas denominadas de filamentos intermediários (FIs) ou microfibrilas (microfilamentos), dispostas em espiral nas células corticais.

O raio de cada microfibrila em espiral é  $4.000\text{\AA}$  aproximadamente, sendo constituída de microfibrilas, cujo diâmetro é próximo de  $75\text{\AA}$  (Johnson and Sikorski, 1965).

Os filamentos intermediários são as estruturas filamentosas que possuem de 8 a  $10\text{nm}$  de diâmetro aproximadamente (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015) compondo assim as microfibrilas. Os monômeros dos FIs são proteínas fibrosas que se associam formando uma malha altamente organizada e resistente a estresses mecânicos.

A maioria dessas proteínas fibrosas encontra-se na forma polimerizada, existindo apenas uma pequena quantidade livre no citoplasma. Isto ocorre porque, uma vez sintetizados os monômeros tendem a se polimerizar imediatamente, dessa forma os filamentos intermediários são encontrados sempre na forma polimerizada (Figura 7) (Alberts, 2015).

Todos os filamentos possuem uma estrutura básica comum com um segmento central em  $\alpha$ -hélice e porções globulares amino e carboxiterminais, como apresentado na (Figura 7A).

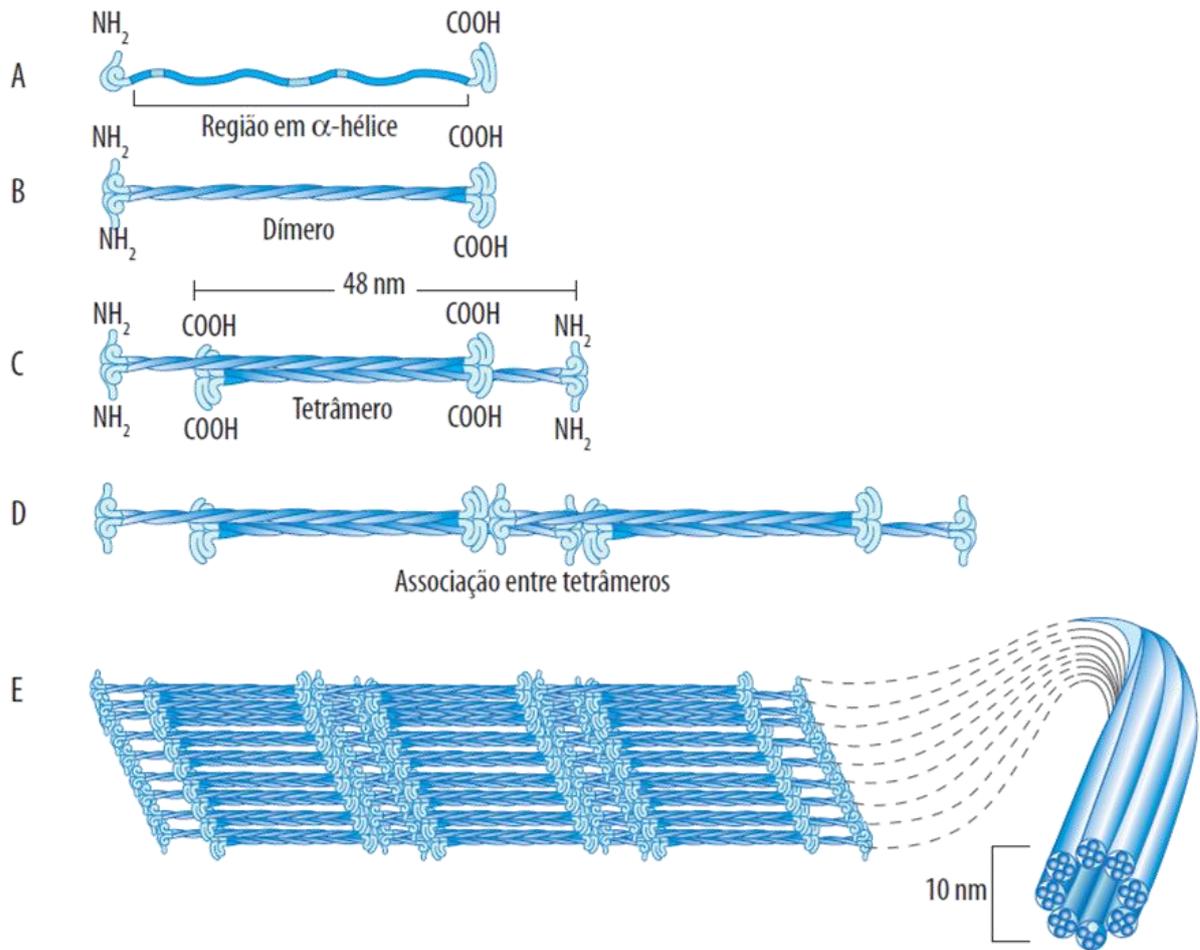


Figura 7: As proteínas dos filamentos intermediários apresentam um padrão comum, contendo uma região  $\alpha$ -hélice central, flanqueados por porções globulares em cada extremidade (A). Essas proteínas associam-se, de forma paralela, na formação de um dímero (B), que se caracteriza pelo enrolamento das regiões em  $\alpha$ -hélice, formando um “coiled-coil”. A associação dos dímeros em tetrâmeros (C) ocorre de forma antiparalela e com uma defasagem entre elas. Os arranjos de ordens superiores (D e E) são hipotéticos e levam à formação do filamento intermediário, com 10nm de espessura. Imagem retirada de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

O papel mecânico dos filamentos intermediários é decorrente de duas propriedades principais: a alta resistência e a estabilidade mecânica. A primeira diz respeito à capacidade de resistir a grandes forças de tração sem se romper, enquanto a segunda foi confirmada por experimentos que demonstraram que os filamentos intermediários se mantêm estáveis após tratamentos drásticos com soluções contendo detergentes ou altas concentrações iônicas (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015; B. Reece et al., 2015).

Os filamentos contribuem para a formação dos anexos epidérmicos como cabelos, unhas, chifres, cascos e pele que são basicamente compostos por citoqueratinas de alta massa molecular. No caso do tecido epitelial, as citoqueratinas são responsáveis pelas propriedades de regeneração e cicatrização da epiderme.

A organização exata dos filamentos intermediários nas microfibrilas ainda está sendo investigada, embora existam diversos modelos que tentam compreender a importância desta unidade estrutural (Crewther et al., 1983) e (Fraser et al., 1988).

Estes trabalhos concluíram que os filamentos intermediários possuem arranjos precisos de proteínas com baixo teor de enxofre, contendo seções curtas de proteínas alfa-helicoidais em formação espiralada, mostrando uma unidade de repetição heptadecagonal (polígono de 17 lados).

As subunidades que constituem os filamentos intermediários das fibras capilares são cadeias polipeptídicas de proteínas. As seções enroladas ou helicoidais dessas cadeias proteicas possuem 9,8Å de diâmetro aproximadamente (Figura 8A). Já a modelagem estrutural em hélice alfa (Figura 8B) foi proposta pela primeira vez por (Pauling and Corey, 1951, 1954).

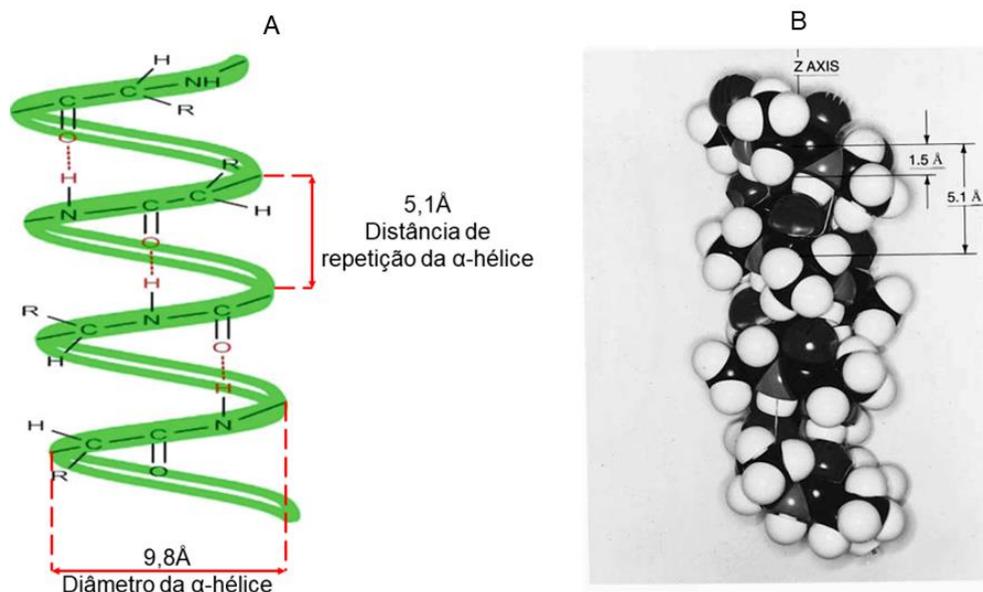


Figura 8: (A) Estrutura de uma alfa-hélice proposta por Pauling e Corey. Imagem retirada de (Sharma and Kumar, 2019) adaptada. (B) Modelo molecular de uma  $\alpha$ -hélice. Imagem retirada de (Robbins, 1988).

Pauling e Corey foram os pioneiros na caracterização da  $\alpha$ -hélice de fibras queratinizadas não esticadas através da difração de raios X (a partir dos trabalhos de (Astbury et al., 1932)). Os dados obtidos pelos autores (Pauling e Corey) demonstram algumas distâncias estruturais próprias da  $\alpha$ -hélice:

1. A distância entre os centros da  $\alpha$ -hélice em  $9,8\text{\AA}$  aproximadamente (Figura 8A), corresponde ao diâmetro desta estrutura.

2. A distância em  $5,1\text{\AA}$  aproximadamente corresponde ao espaço de repetição para o enrolamento da cadeia de aminoácidos, que torna a  $\alpha$ -hélice enrolada (Figura 8A e Figura 8B) já o espaçamento em  $1,5\text{\AA}$  corresponde a distância entre cada aminoácido da  $\alpha$ -hélice (Figura 8B).

## 1.6 Medula

As células medulares são esféricas, ocas por dentro e unidas por uma membrana celular compactada (Figura 9). Durante o crescimento, as células medulares deixam uma série de vacúolos ao longo do eixo da fibra, cuja contribuição é insignificante para as propriedades químicas e mecânicas das fibras do cabelo humano (Mercer, 1965).

Estudo da medula capilar é complicado, devido à dificuldade de separar as células medulares das corticais, sendo constituídas de pequenas quantidades de hidroxiaminoácidos e grandes quantidades de aminoácidos básicos e ácidos. Isso sugere que a medula é menos sensível com reagentes redutores (Robbins, 1988; Mercer, 1965).

Deve-se considerar que a medula localiza-se no núcleo da fibra a qual é protegida tanto pela cutícula quanto pelo córtex, neste caso toda nutrição e transporte de água das células medulares dependem do córtex e da cutícula (Robbins, 1988).

O baixo teor de cistina da proteína medular é consistente com seu baixo teor de enxofre (Consden et al., 1944). Algumas comparações interessantes das três regiões morfológicas do cabelo humano podem ser feitas, entre as grandes diferenças está o fato de que a cutícula tem um teor de cistina ainda maior do que a fibra inteira e a medula têm apenas vestígios de cistina.

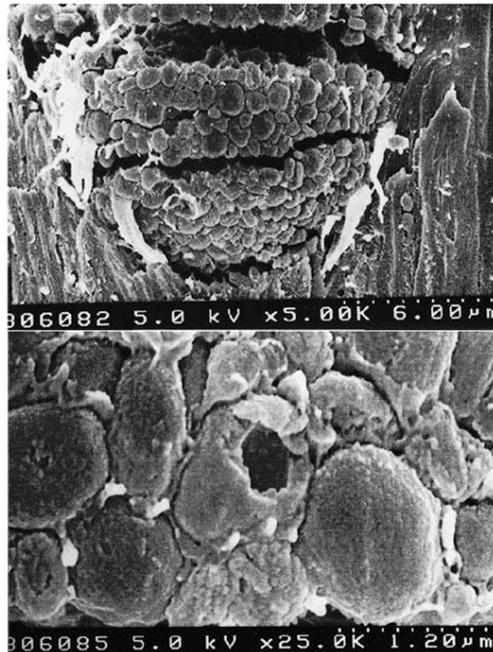


Figura 9: Micrografia eletrônica de varredura ilustrando a forma de uma esfera oca estruturas da medula. Imagem retirada de (Robbins, 1988).

## 1.7 Descoloração/Clareamento

O procedimento de descoloração trata-se de clarear ou descolorir o cabelo de tonalidade escura e aspecto opaco, transformando-o para um cabelo de coloração clara e aparência sedosa. Dessa forma esse processo modifica toda a disposição e concentração dos pigmentos de melanina da fibra capilar natural, essa alteração no aspecto fisiológico da fibra possibilita a graduação do clareamento ou descolorimento em diferentes escalas.

Na prática o clareamento dos cabelos é feito pela oxidação dos pigmentos de melanina, esse procedimento pode ser extremado até a eliminação total da melanina, sendo que neste caso ocorre a despolimerização, dando origem a derivados carboxilatos que são solúveis em ambiente alcalino e podem ser eliminados por enxágue.

A natureza e o conteúdo relativo dos derivados gerados pelo meio oxidativo alcalino dependem diretamente do grau de clareamento do cabelo (Claude and John,

2005), que propicia diversas reações controversas na fibra capilar desde a perda das propriedades mecânicas dos filamentos intermediários (FIs), aumento da solubilidade alcalina através da criação de grupos ácidos livres, aumento da porosidade na cutícula, alteração na permeabilidade de água e modificação das propriedades superficiais (Claude and John, 2005).

## 1.8 Alisamento

O procedimento de alisamento da fibra baseia-se na deformação do cabelo, através da aplicação dos alisantes (produtos): alcalino ou ácido em associação com alisante térmico (“prancha” ou “chapinha”), proporcionando assim uma transformação duradoura para diversos tipos de cabelos (liso, ondulado, cacheado ou crespo), cujas implicações são as quebras das ligações dissulfeto, rearranjo conformacional da  $\alpha$ -hélice para  $\beta$ -hélice, plastificação da fibra de modo irreversível e desestabilização mecânica e estrutural dos fios tornando-os quebradiço e frágil (Claude and John, 2005).

A escolha dos alisantes básico (alcalino) ou ácido acarreta uma determinada reação no cabelo. Os produtos de caráter básico agem na degradação das ligações dissulfeto da queratina, com o uso de agentes químicos à base de hidróxido de sódio e potássio, cujo pH igual a 13 potencializa a abertura das cutículas e penetração do aditivo no interior da fibra capilar (Alessandra, 2019).

No caso de aditivos ácidos com pH igual ou menor 2 é necessária uma maior atenção, pois quanto menor o pH do produto maior será as implicações nocivas ao usuário. No Brasil, por exemplo, o único alisante ácido permitido para comercialização é o *INCI name Glyoxyloyl Carbocysteine e Glyoxyloyl Keratin Amino Acids* (ácido glioxílico) de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A ANVISA recomendou um estudo mais detalhado para a produção de alisantes ácidos com pH abaixo de 2, pois deseja-se compreender os reais riscos e cuidados que devem ser tomados para manipulação e comercialização destes produtos (Alessandra, 2019).

No apêndice à é apresentado aspecto geral do potencial Hidrogeniônico (pH) para dar suporte nesta dissertação.

## 2. Objetivos

As metas principais deste projeto foram:

- I. Conhecer, manusear e correlacionar os métodos experimentais de Espalhamento de Raios X á (Ultra Baixo Ângulo (USAXS), Baixo Ângulo (SAXS) e Alto Ângulos (WAXS)) e Difração de Raios X, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Ótica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- II. Caracterizar as fibras capilares virgens através dos métodos de USAXS/SAXS/WAXS e Difração de Raios X, DSC, MO e MEV.
- III. Coletar e analisar os dados de espalhamento e difração de raios X para fibras capilares orientadas.
- IV. Aplicar o procedimento para as integrações de imagens de espalhamento e difração de raios X. Através de integrações radiais e azimutais de imagens anisotrópicas e o tratamento destes dados.
- V. Avaliar as alterações nos constituintes estruturais (CMC e FIs) das fibras capilares virgens quando submetida aos tratamentos cosmético e térmico.
- VI. Elaborar uma metodologia para calibração e limpeza do DSC-60 (Shimadzu) para amostra de fibras capilares.
- VII. Aplicar o método DSC para caracterizar as alterações da  $\alpha$ -queratina no processo de desnaturação das fibras capilares: Virgens (CV ou VH), Alisadas (CA ou SH), Descoloridas (CD ou BH), Alisados e Descoloridos (CAD ou BSH) mediante a avaliação dos parâmetros temperatura ( $T_D$ ) e entalpia ( $\Delta H_D$ ) de desnaturação.
- VIII. Correlacionar dados estruturais de SAXS com os termodinâmicos de DSC.
- IX. Avaliar preliminarmente as alterações superficiais das fibras através da MO e MEV.

### 3. Materiais e Preparos

#### 3.1 Materiais – Fibras Capilares

As mechas de cabelo caucasiano, castanho-escuro utilizadas foram obtidas junto a empresa **De Meo Brothers® (NY-EUA)**, a qual certificou a procedência do cabelo padrão fornecido como uma blenda de fios idênticos de mesmos indivíduos com características étnicas semelhantes, garantindo a representatividade e reprodutibilidade dos dados, possibilitando a comparação dos dados obtidos com a literatura.

As 24 mechas de cabelo possuem cerca de 20 cm de comprimento e 3,0 g, as quais foram submetidas aos seguintes procedimentos: **(a)** descoloração, **(b)** alisamento e **(c)** descoloração seguida de alisamento.

A solução alisante (Figura 10) foi preparada através da emulsão de bases alisantes e ativos (em uma mistura contendo ácido glicóxico (*INCI name Glyoxyloyl Carbocysteine e Glyoxyloyl Keratin Amino Acids*) na concentração de 15%; produzindo uma solução com pH = 1,0 que foi estabilizada através da aplicação do ácido cítrico ou trietanolamina, respectivamente (Alessandra, 2019).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Tabela 1. Descrição da formulação com as funções de cada componente.

Nome (INCI)	Função	Parte na emulsão
Aqua	Veículo	Base
Behentrimonium Methosulfate (and) Cetearyl Alcohol,	Cera auto-emulsificante/ auto espessante	Base
Cyclopentasiloxane (and) Dimethiconol (and) Dimethicone crosspolymer	Silicone	Base
Glyoxyloyl Carbocysteine and Glyoxyloyl Keratin Amino Acids	Alisante	Composto alisante
Isopropyl Palmitate	Emoliente	Base
PEG-90M	Agente lubrificante	Base
Polyqua ternium-67	Polímero p/ redução de volume do cabelo/ lubrificante e promove deposição de ativos insolúveis	Base
Shea Butter Amidopropyl Trimonium Chloride	Emulsificante	Base
Shea Butter Cetyl Esters	Emulsificante/emoliente	Base

Legenda: INCI International Nomenclature of Cosmetic Ingredient

Figura 10: Formulação do alisante. Imagem retirada de (Alessandra, 2019) adaptada.

### 3.2 Preparação para lavagem das mechas

As mechas foram inicialmente lavadas com água morna por 10s e posteriormente, lavadas com a dispersão de lauril éter sulfato de sódio a 10% p/v por 60s e enxaguadas por 30s; após secagem em temperatura ambiente, os cabelos foram distribuídos em 4 grupos: virgens (**V**), descoloridas (**CD ou BH**), alisados (**CA ou SH**) e descoloridas e alisadas (**CDA ou BSH**).

### 3.3 Procedimento para Descoloração/Clareamento

O clareamento foi realizado com uma preparação comercial contendo uma solução alcalina de peróxido de hidrogênio e persulfato de amônio, aplicado por 30 min em temperatura ambiente. Todo o procedimento seguiu as instruções de uso do rótulo do fabricante.

### 3.4 Procedimento para Alisamento

O produto foi aplicado nas mechas de acordo com o procedimento padronizado, com auxílio de um pincel e penteadas até que todas as fibras capilares estivessem em contato com a formulação, em seguida as mechas permaneceram em repouso por 20 min (Alessandra, 2019).

Após aplicação do procedimento, as mechas foram secas por meio de um alisante térmico (“chapinha”) secador de cabelos e então, aplicou-se o modelador térmico no caso a piastra, por 10 vezes em toda a extensão da mecha. Após, as próprias foram lavadas por 60 segundos com água morna, removeu-se o excesso de água e foram dispostas para secarem naturalmente (Alessandra, 2019).

Após os tratamentos de transformação química, as mechas foram separadas (Figura 11) e submetidas às técnicas de caracterização nas próximas sessões.



Figura 11: Mechas de cabelo dos grupos **(VH)** virgens; **(BH)** descoloridas; **(SH)** alisadas e **(BSH)** descoloridas e alisadas.

### 3.5 Preparação das portas amostras para SAXS, DSC, MO e MEV

Todas as medidas e análises das amostras de cabelo em USAXS/SAXS/WAXS (Figura 12), DSC (Figura 13), Microscopia Ótica (Figura 14) e Microscopia de Varredura Eletrônica (Figura 15) necessitaram de portas amostras adequadas, com o objetivo de priorizar a precisão nos resultados e obter uma maior reprodutibilidade e representatividade.

A Figura 12A apresenta o porta amostra de cabelo para as medidas de USAXS/SAXS/WAXS, o qual é preenchido com 30 fibras capilares virgens (VH) aproximadamente. Contudo, apenas as fibras que estão expostas no orifício da placa metálica do porta amostra serão irradiadas. A Figura 12B ilustra a disposição das mechas no porta amostra, note que todas as fibras permaneceram alinhadas vertical durante o experimento, perpendicular a direção de propagação do feixe de raios X. Esse procedimento foi análogo para os demais cabelos: alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH).



Figura 12: (A) Preparação das fibras capilares virgens no porta amostra de USAXS/SAXS/WAXS. (B) Ilustra a disposição das fibras no porta amostra.

As medidas térmicas foram realizadas no equipamento de DSC-60 (Shimadzu) a seco mediante a utilização do porta amostra (Figura 13) denominado cadinho aberto.

Note que, esta imagem (Figura 13A e Figura 13B) apresenta um cadinho aberto (tampa e panela, respectivamente) de Alumínio preenchido com cerca de 30 fragmentos de cabelo virgem (CV ou VH) com 3mm de comprimento aproximadamente, produzindo 2,5mg de massa capilar virgem apenas, desconsiderando a massa da panela e tampa. Esse procedimento foi análogo para os demais cabelos: alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH).

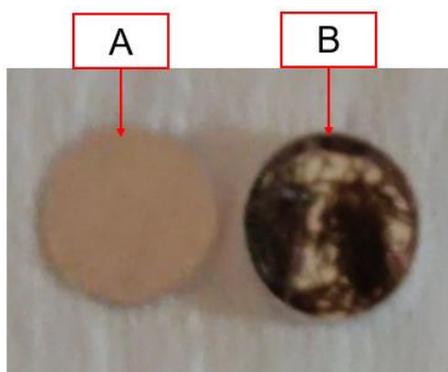


Figura 13: Porta amostra (cadinho aberto) para DSC. (A) Tampa do cadinho. (B) Disposição das amostras de cabelo (sólida) no cadinho (panela) para DSC.

As medidas óticas foram realizadas no microscópio óptico Leica modelo DM RX através da utilização de quatro lâminas de microscopia ótica denominadas virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) (Figura 14).

Note que, esta imagem apresenta as lâminas contendo 5 fibras alinhadas na horizontal para analisar as mudanças superficiais sofridas por cada uma das mechas, após os tratamentos cosméticos.

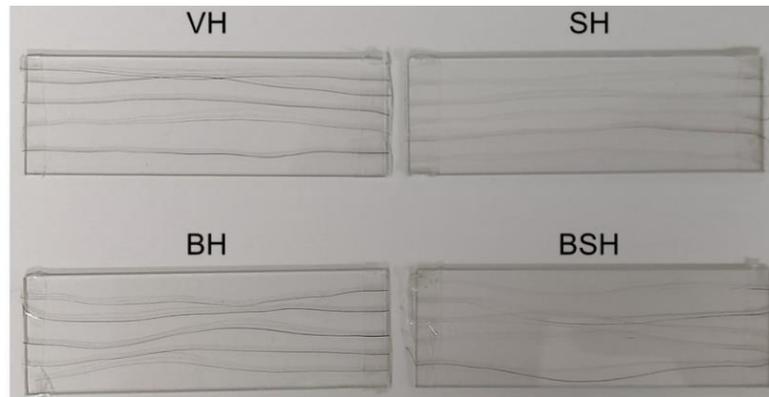


Figura 14: Lâminas com amostras de cabelo: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) para Microscopia Ótica (MO).

A Figura 15 apresenta a colocação das amostras de cabelos virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) sobre as fitas aderentes de cobre. A identificação e arranjo de cada fibra no porta amostra dependeu do formato geométrico de fita, ou seja, o retângulo correspondeu ao (CV ou VH), o trapézio retângulo correspondeu ao (CA ou SH), o trapézio correspondeu ao (CAD ou BSH) e o quadrado correspondeu ao descoloridas (CD ou BH) respectivamente. A finalidade foi investigar as alterações superficiais da cutícula de cada mecha. Nesta imagem (Figura 15) as fibras capilares estavam em 25°C.

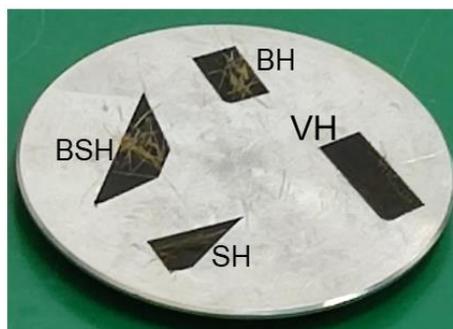


Figura 15: Colocação das amostras de cabelo: VH (virgens), SH (alisadas), BH (descoloridas) e BSH (alisadas/descoloridas) sob para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As coletas de USAXS/SAXS/WAXS, DSC e MO foram realizados nos laboratórios do Grupo de Fluídos Complexos (GFCx) no IFUSP, enquanto o MEV foi efetuado no Laboratório de Microscopia e Microanálise (LMM) no IPEN.

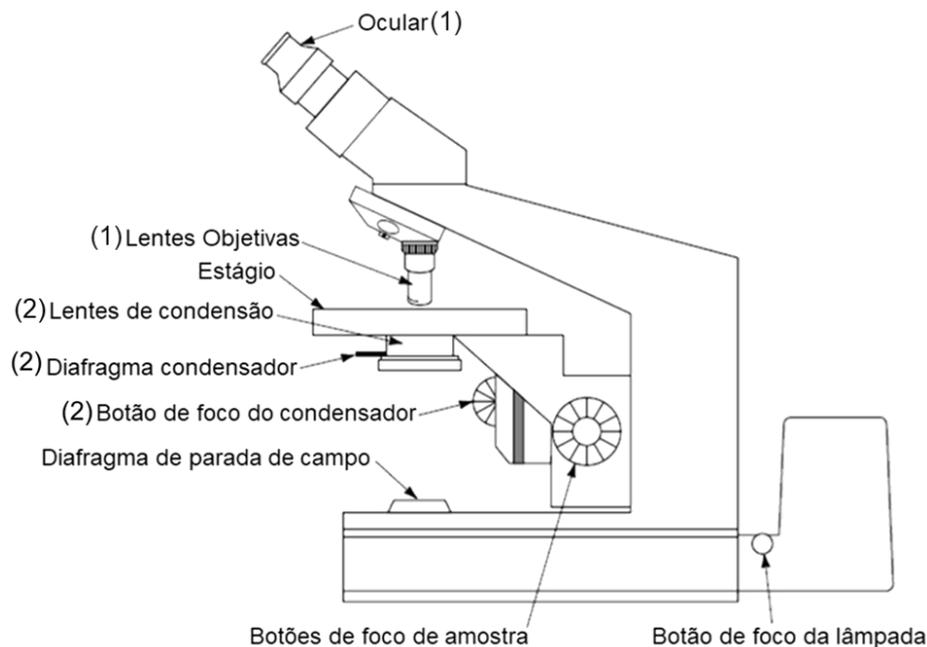
## 4. Métodos Experimentais

### 4.1 Microscopia Ótica (MO)

Um microscópio de luz (Figura 16) é um instrumento óptico que usa luz visível para produzir uma imagem ampliada de um objeto (ou espécime) que é projetada na retina do olho ou em um dispositivo de imagem. Sendo constituída por duas lentes, a lente objetiva e a ocular, as quais produzem uma ampliação final da imagem que se deseja observar (Murphy and Dawson, 2001; Mertz, 2019; Dharmagat Bhattarai and Rawat, 2021).

Os componentes mais importantes do microscópio para a formação da imagem: (1) a lente objetiva, que coleta a luz difratada pela amostra e forma uma imagem real ampliada no plano da imagem intermediária real perto das oculares (Figura 16), e (2) o condensador lente, que focaliza a luz do iluminador em uma pequena área da amostra (Figura 16) (Murphy and Dawson, 2001; Mertz, 2019; Dharmagat Bhattarai and Rawat, 2021).

Além disso, existem outros componentes mostrados na (Figura 16) que requerem atenção cuidadosa incluindo o tubo e as oculares, o coletor da lâmpada e o soquete da lâmpada e seu cabo, filtros, polarizadores, estágio de varredura na e suporte do microscópio com ajuste manual do foco “grosso” e “fino” (Murphy and Dawson, 2001).



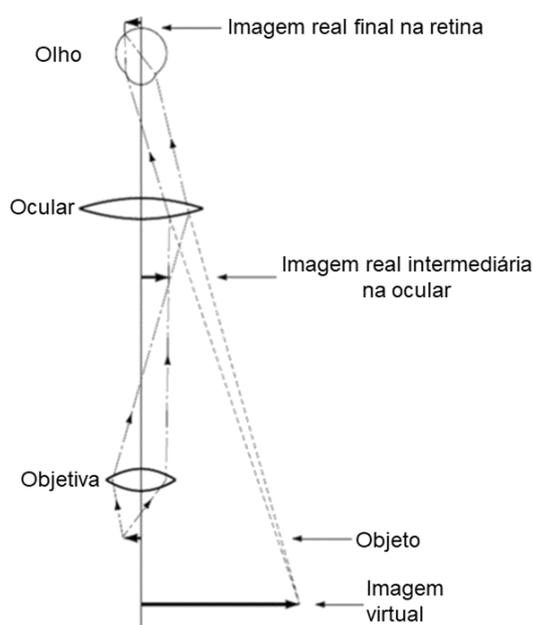
*Figura 16: O microscópio óptico composto. Observe as localizações dos mostradores de foco da amostra, o botão de foco do condensador e o botão do foco da lente coletora no compartimento da lâmpada. Observe também as posições de dois diafragmas de íris variáveis: o diafragma de parada de campo próximo ao iluminador, e o diafragma do condensador na abertura frontal do condensador. Cada um tem um ótimo configuração no microscópio devidamente ajustado. Imagem retirada do (Formanek et al., 2006; Murphy and Dawson, 2001) adaptada.*

As imagens podem ser definidas como regiões onde os raios tornam-se convergentes como resultado da refração por uma lente ou da reflexão por um espelho. Se os raios se cruzarem e se reunirem fisicamente, a imagem é considerada real (Murphy and Dawson, 2001; Mertz, 2019).

Uma imagem real pode ser vista em uma tela ou gravada em um pedaço de filme quando uma tela ou filme é colocado no plano da imagem. Já a imagem virtual ocorre quando os raios divergem, mas suas projeções se encontram atrás do objeto de modo convergente (Murphy and Dawson, 2001; Dharmagat Bhattarai and Rawat, 2021).

O plano ocupado por uma imagem virtual não pode ser observado em uma tela ou gravado em filme. Para ser percebida, uma imagem real deve ser formada na retina do olho. No caso da visualização de uma imagem ao microscópio, uma imagem real é formada na retina, mas é percebida como uma imagem virtual localizada cerca de 25 cm à frente do olho (Murphy and Dawson, 2001; Mertz, 2019).

Em seguida, deve-se discutir como uma imagem é ampliada e percebida pelo olho na Figura 17. Na mesma imagem nota-se as localizações de planos focais importantes em relação à lente objetiva, ocular e olho. A amostra posicionada na superfície do estágio do microscópio (Figura 16) é examinada pela lente objetiva, que produz uma imagem real ampliada do objeto no plano de imagem da ocular. Ao olhar no microscópio, a ocular agindo em conjunto com a córnea e a lente do olho projeta uma segunda imagem real na retina, onde é percebida e interpretada pelo cérebro como uma imagem ampliada (Figura 17) (Murphy and Dawson, 2001).



*Figura 17: Percepção de uma imagem virtual ampliada de uma amostra no microscópio. A lente objetiva forma uma imagem ampliada do objeto (chamada de imagem real intermediária) dentro ou perto da ocular; a imagem intermediária é examinada pela ocular e pelo olho, que juntos formam uma imagem real na retina. Imagem retirada e modificada do (Formanek et al., 2006; Murphy and Dawson, 2001)*

## 4.2 Procedimento de Microscopia Ótica (MO)

As medidas de microscopia ótica foram realizadas no microscópio óptico Leica modelo DM RX (Figura 18A) com câmera digital Guppy F-503C, da marca Allied Vision Technologies, para a aquisição das imagens (Figura 18B). A magnificação utilizada nas lâminas das mechas: (CV ou VH), (CA ou SH), (CAD ou BSH) e (CD ou BH) (Figura 14) foi a lente de 20X (Figura 18C) com abertura numérica (NA) = 0,40.

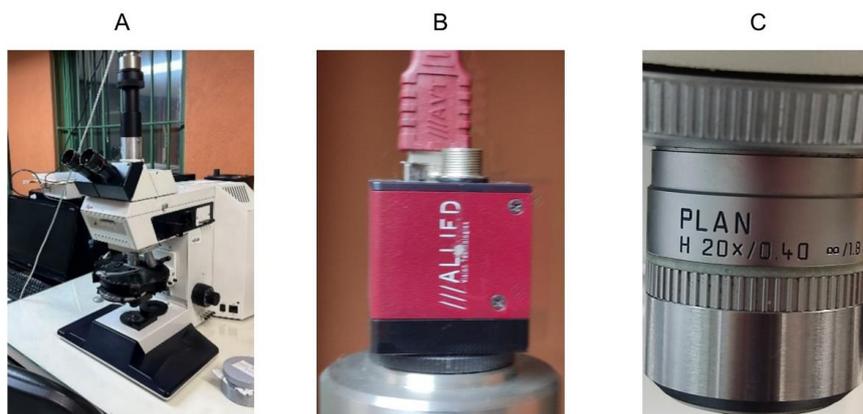


Figura 18: (A) Microscópio óptico Leica modelo DM RX, (B) câmera digital Guppy F-503C, (C) Objetiva acromática de magnificação (20X).

O limite da resolução espacial dessa objetiva foi estabelecido pelo critério de Rayleigh (equação 1) (Murphy and Dawson, 2001).

$$d = \frac{0,61\lambda}{NA} = \frac{0,61 \times 0,546\mu m}{0,40} \cong 0,83\mu m \quad (1)$$

Onde,  $d$  corresponde a mínima distância resolvida e  $\lambda = 546nm$  é o comprimento de onda da luz aproximado da lâmpada do instrumento Leica modelo DM RX, que está contida na linha de emissão da cor verde do espectro da luz visível.

O raio do disco de difração (disco de Airy) (Murphy and Dawson, 2001) projetado no sensor CCD da câmera digital é de aproximadamente  $20 \times 0,7 \times 0,83\mu m = 11,7\mu m$ , em que 20 corresponde a magnificação da objetiva, e 0,7 à magnificação da lente acoplada à câmera.

A câmera digital colorida possui sensor CMOS GRGB matricial com 5 Megapixel ( $2592 \times 1944$  pixel), sendo que cada pixel possui  $2,2 \mu m$  de lado. De acordo com o teorema de amostragem de Nyquist (Murphy and Dawson, 2001), a resolução espacial da óptica do microscópio é preservada se o raio do disco de difração for expresso por no mínimo dois pixels adjacentes no sensor CCD, o que de fato ocorre no arranjo utilizado, pois  $\frac{11,7\mu m}{2,2 \mu m/\text{pixel}} \sim 5,3$  pixel por raio do disco de Airy. Portanto, a resolução óptica do microscópio é preservada.

### 4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura (Figura 19), em termos gerais consiste em um feixe de elétrons inicial, compacto e focalizado, que atravessa um conjunto de lentes eletromagnéticas até alcançar a amostra (I. Goldstein et al., 2018; S Teixeira, 2013). O conjunto todo (canhão de elétrons até as lentes objetivas) permanece em vácuo, em uma pressão  $10^{-5}$  Torr aproximadamente (Figura 19).

A origem do feixe inicia-se na parte superior com o canhão de elétrons (Figura 19), onde ocorre a produção e aceleração dos elétrons, através da emissão termiônica por um filamento de tungstênio (cátodo), o qual é aquecido suficientemente para seus elétrons possam ultrapassar a barreira de potencial do próprio material (I. Goldstein et al., 2018; S Teixeira, 2013).

A diferença de potencial aplicada (DDP) em torno de 30kV aproximadamente, é responsável por impulsionar os elétrons do cátodo em direção ao ânodo. Dessa forma o feixe produzido possui alguns poucos micrômetros de diâmetro, com energia média de 30keV.

No estágio seguinte, o feixe de elétrons diminui seu diâmetro através do conjunto de lentes eletromagnéticas (bobinas) (I. Goldstein et al., 2018; S Teixeira, 2013). Inicialmente as bobinas de alinhamento coordenam a posição e inclinação do feixe no plano x, y no decorrer do sistema de magnificação (Figura 19). Em seguida, as lentes condensadoras diminuem para alguns poucos nanômetros o diâmetro do feixe, satisfazendo os requisitos para se ter uma resolução adequada (I. Goldstein et al., 2018).

Seguindo para a próxima etapa, encontram-se oito bobinas subdivididas em duas classes com quatro bobinas cada, as quais exercem a atribuição de corrigir aberrações como o astigmatismo, que distorce a focalização da imagem (I. Goldstein et al., 2018).

Logo depois, o feixe de elétrons chega às bobinas de varredura e deslocamento fino, que cumprem as tarefas de comandar e gerenciar a posição do feixe no plano x, y da amostra, executando uma varredura completa. E por fim, as lentes objetivas

focalizaram o feixe de forma grossa ou fina sobre a superfície da amostra, dependendo do aumento aplicado (S Teixeira, 2013).

Dessa forma, o feixe produzido possui uma intensidade e conformação estável, para que possa interagir com amostra mediante uma varredura no plano x, y produzindo sinais distintos, como elétrons secundários, retroespalhados, Auger e raios X característicos (I. Goldstein et al., 2018). Observe que, a disposição da amostra está sobre um mecanismo automatizado ou manual, o que possibilita a seleção de um local adequado para a produção de imagens.

A partir disso, as imagens geradas podem ser utilizadas para investigar e analisar as informações a respeito da formulação química da superfície da amostra.

A produção da imagem depende da resolução do microscópio, que é condicionada pela tensão (DDP) aplicada para acelerar os elétrons no canhão, a capacidade das lentes eletromagnéticas em reduzir o diâmetro do feixe e do volume de interação com a amostra. Apesar disso, a resolução de cada instrumento de MEV pode variar de 1 a 25 nm.

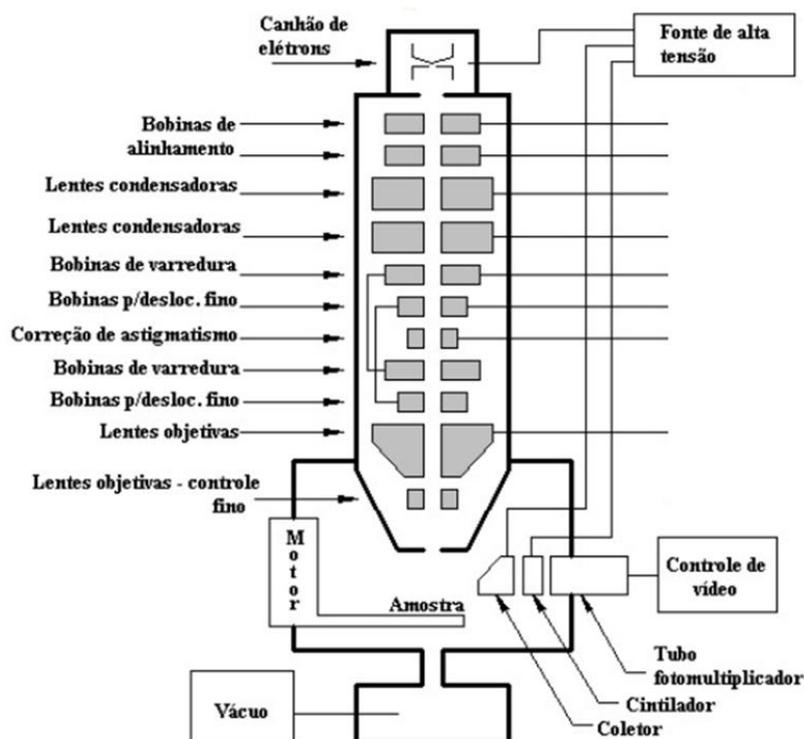


Figura 19: Representação esquemática dos componentes do Microscópio Eletrônico de Varredura. Imagem retirada de (S Teixeira, 2013).

## 4.4 Procedimento Experimental para (MEV)

As aquisições e análises das imagens de fibras capilares foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura, modelo TM3000 (Figura 20), marca Hitachi no Laboratório de Microscopia e Microanálise (IPEN). As amostras foram coladas em suporte específico para MEV utilizando-se fita adesiva de cobre.

As imagens de MEV á 100°C, 200°C e 250°C foram obtidas com o auxílio do recobrimento de carbono, porque a ponta de prova do instrumento *TM 3000* não conseguia contato elétrico com as fibras anteriormente aquecidas.



*Figura 20: Equipamento Hitachi modelo TM 3000. Imagem retirada de (Ara et al., 2013).*

## 4.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) trata-se de uma técnica de análise térmica diferencial (DTA), que mede as variações da energia térmica (J) e temperatura (°C) entre a amostra e referência, através do controle da temperatura. (Popescu and Gummer, 2016).

*“O método de Análise Térmica Diferencial (DTA) consiste na aferição da diferença de temperatura entre a amostra e um material de referência, que pode ser apresentado através dos gráficos [ $W$  (potência) vs  $s$  (tempo)] ou [ $W$  (potência) vs  $^{\circ}C$  (temperatura)], em um sistema atmosférico específico, de acordo com **Internacional Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (ICTAC)**” (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).*

Deve-se ressaltar que a diferença de temperatura  $\Delta T$  entre amostra e referência indica qualitativamente a troca de calor entre ambos, o que gera o sinal detectado pelo sistema DTA e assim obtém-se a medida de DSC (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996; Lima et al., 2016; Popescu and Gummer, 2016).

Os DSC necessitam de um suporte para alocar os sensores de temperatura e posicionar os recipientes com as amostras, neste caso é preciso que haja um contato térmico estável, seguro e constante durante toda medida entre sensores e porta amostras, que garanta a reprodutibilidade do sistema de medição em toda a faixa da temperatura estabelecida (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

O DSC permite aferir o fluxo de calor fornecido para a amostra e referência, enquanto a temperatura entre ambos é mantida constante, enquanto o DTA avalia a temperatura entre amostra e referência, de modo que o fluxo de calor entre ambos é mantido constante.

Dessa forma, ambos os instrumentos permitem medir as trocas de calor sensível (reações) e latente (transições de fase) da amostra, assim como as alterações das temperaturas características destes eventos térmicos, mediante a quantidade de massa disposta para tal experimento; além de medir a energia térmica fornecida ao sistema (amostra e referência).

As aplicações desta modalidade são as mais diversificadas desde a caracterização de materiais, medições de comparação relativas (controle de qualidade, identificação de substâncias ou misturas), investigações de estabilidade, avaliação de diagramas de fase, determinações de pureza, investigações cinéticas, pesquisa de segurança (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996; Istrate et al., 2009).

Após a explanação geral sob os DSCs, focaremos na descrição do equipamento DSC-60 (Shimadzu) pois trata-se do instrumento térmico utilizado nesta

dissertação. Este calorímetro consiste em um DSC de fluxo de calor, cujo sistema de medição é do tipo disco (suporte) e de cadinhos independentes.

*DSC de fluxo de calor – tipo disco.*

No DSC de fluxo de calor com sistema de medição tipo disco (Figura 21A). A amostra e referência são colocadas em cápsulas idênticas, posicionadas sobre o disco termoeletrico e aquecidas por uma única fonte de calor (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

Neste modelo as trocas de calor da amostra e referência com o ambiente são aferidas nos termopares (item 4 da Figura 21A), desse modo obtém-se dados das diferenças de temperatura  $\Delta T$  entre ambos durante cada processo de aquecimento. Já a intensidade da troca de calor é aferida através da taxa de fluxo de calor ( $\Phi_m(T)$ ) (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

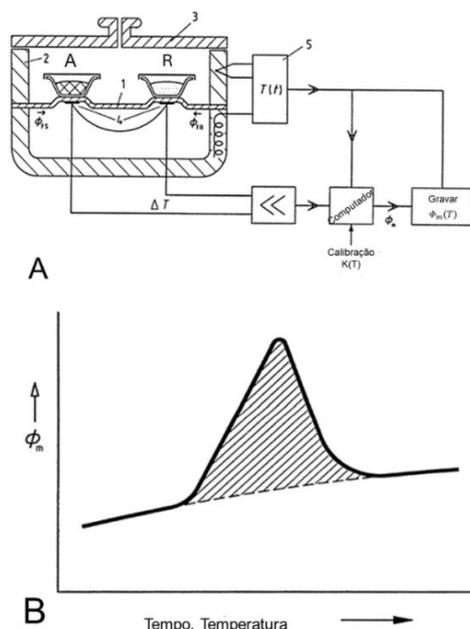


Figura 21: **A)** Fluxo de calor DSC com sistema de medição tipo disco; 1-Disco, 2-Forno, 3-Tampas, 4-Termopares (sensor de temperatura), 5-Programa e controle da temperatura para cadinhos: amostra (A) e referência (R), ( $\Phi_{FS}$ ) taxa de fluxo de calor do forno para o cadinho amostra, ( $\Phi_{FR}$ ) taxa de fluxo de calor do forno para o cadinho de referência (R), ( $\Phi_m(t)$ ) taxa de calor medido, ( $K(T)$ ) fator de calibração. **B)** Taxa de fluxo de calor medida ( $\Phi_m(t)$ ) (curva esquemática). Imagem retirada de (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996) adaptada.

A curva de DSC na Figura 21B apresenta um pico ascendente que caracteriza um evento exotérmico, enquanto picos descendentes representam eventos endotérmicos (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996; Reading and J. Hourston, 2006).

Durante o processo de aquecimento ou resfriamento, a amostra pode sofrer alterações de temperatura devido aos eventos térmicos. Nesse caso, registra-se o fluxo de calor necessário para manter a amostra e referência à mesma temperatura. (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996)

As diferenças de temperatura  $\Delta T$  entre a amostra e o material de referência podem ser devidas aos fenômenos químicos (decomposição, combustão) ou físicos (mudanças de estado (fusão, sublimação e transições cristalinas)), que correspondem às transições de primeira ordem, cujas caracterização dependem da formações de picos nas curvas DTA/DSC (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

As transições de primeira ordem correspondem às áreas delimitadas sob cada pico, significando as variações de entalpia  $\Delta H$  sofrida pela amostra (Clementino Da Silva et al., 2007).

No DSCs-60 (Shimadzu) o caminho da condução de calor é realizado pelo sistema de medição tipo disco.

#### Sistema de medição tipo disco.

A característica deste sistema é a distribuição simétrica do fluxo de calor ( $\Phi_m(T)$ ) produzido pelo forno para as amostras, mediante um disco de boa condutividade térmica. Dessa forma os recipientes (cadinhos) permanecem dispostos neste disco de forma simétrica em relação ao centro (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

Os sensores de temperatura são integrados ao disco ou eventualmente fixados em sua superfície, aderindo mais ou menos à área do respectivo cadinho ou panela, para facilitar a calibração, independentemente da posição da amostra dentro do recipiente (G. W. H. Hahne and Flammersheim, 1996).

A praticidade deste modelo de condução do calor é as altas taxas de aquecimento e a necessidade de pouco volume de amostra.

Mediante as descrições acima, pode-se descrever o equipamento de DSC-60 Shimadzu, visto que se tratou do instrumento de calorimetria utilizado nesta dissertação.

Apesar disso foi preciso rever toda a técnica de calibração e limpeza desta máquina, o qual foi descrito no Apêndice: Procedimento para calibração e limpeza do DSC, com isso foi possível realizar medidas e obter dados concomitantes a literatura.

Dessa forma, conclui-se toda a descrição teórica sob a técnica de Calorimetria Diferencial Exploratória e do equipamento DSC-60 Shimadzu, com esta metodologia experimental resolveu-se investigar as transformações termodinâmicas sofridas por fibras capilares através de um processo de aquecimento.

## 4.6 DSC aplicado ao estudo de mechas de cabelo

Conforme mencionado acima, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) consiste em um método de análise térmica para materiais inorgânicos e orgânicos, como cabelo, por exemplo.

Dessa forma a aplicação do DSC em cabelos tem despertado o interesse dos pesquisadores da área, devido ao aumento acentuado de consumidores que utilizam modeladores térmicos nos cabelos.

Estes procedimentos de secagem e/ou alisamento térmico (“chapinha”) podem causar danos ao cabelo por causa da excessiva exposição ao calor. Deste modo os dados de DSC permitem verificar a eficiência de diversos produtos para “proteção térmica” e “hidratação” dos cabelos.

Na literatura existem diversos estudos investigando o comportamento térmico da fibras capilares por medidas de DSC de cadinho aberto (DSC a seco) (Milczarek et al., 1992), (Belletti et al., 2003), (Monteiro et al., 2005), (Colenci, 2007), (Chandrashekara and Ranganathaiah, 2010), (Spei and Holzem, 1987), (Lima et al., 2016) (Cao et al., 1997).

O DSC de cadinho aberto (DSC a seco) permite avaliar o comportamento térmico da fibra capilar quando submetida a um processo de aquecimento, sem inserção água na preparação do cadinho, cuja finalidade foi reproduzir os efeitos da aplicação de uma prancha modelada em um cabelo. Mediante esta configuração pode-se avaliar os principais eventos endotérmicos da fibra, como a desidratação, desnaturação de  $\alpha$ -queratina ( $\alpha$ -hélice) e pirolise do cabelo.

Dessa forma, a Figura 22 apresenta uma típica curva de DSC de cadinho aberto para fibras capilares virgens (CV ou VH).

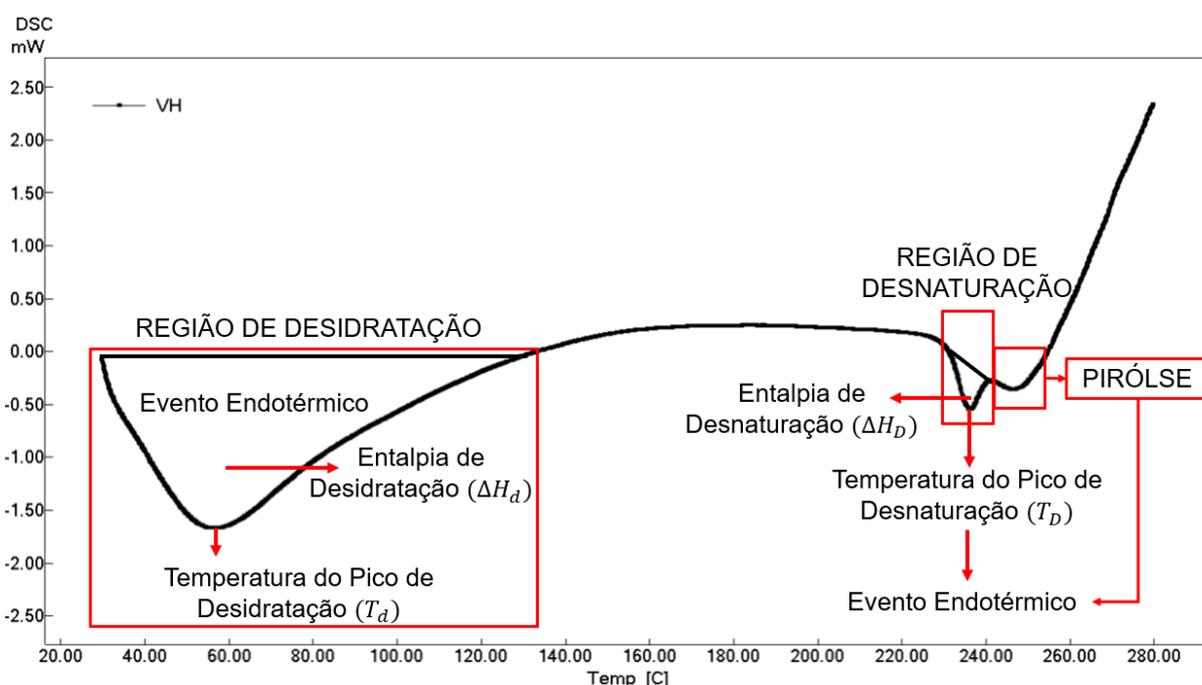


Figura 22: Curva de DSC para cabelo virgem (CV ou VH).

A desnaturação de  $\alpha$ -queratina ( $\alpha$ -hélice) significa os desdobramentos das cadeias de  $\alpha$ -hélice, cuja denominação é a desnaturação térmica das fibras de queratina (Istrate et al., 2013; Popescu and Gummer, 2016). Já a desidratação indica o grau de evaporação da água contida nos locais hidrofílicos das fibras capilares (Istrate et al., 2009; Popescu and Gummer, 2016).

Estes processos térmicos (Figura 22) podem ser mensurados a partir de quatro parâmetros: temperatura de pico de desidratação ( $T_d$ ) e entalpia de desidratação

( $\Delta H_d$ ), temperatura do pico desnaturação ( $T_D$ ) e entalpia da desnaturação da  $\alpha$ -hélice de queratina ( $\Delta H_D$ ), este último evento indica as mudanças que ocorrem na estrutura cristalina da fibra.

Os valores da temperatura de pico de desidratação ( $T_d$ ), entalpia de desidratação ( $\Delta H_d$ ), temperatura do pico desnaturação ( $T_D$ ) e entalpia da desnaturação da  $\alpha$ -hélice de queratina ( $\Delta H_D$ ) foram estimados a partir da aplicação da função DSC peak do software TA-60 cedido pela Shimadzu.

Esses dados avaliam as alterações químicas nos filamentos intermediários (FIs) que estão embutidos em uma matriz amorfa, confinando as proteínas ricas em queratinas, segundo (Istrate et al., 2009). Neste caso a desnaturação térmica desta proteína ocorreria em virtude dos desdobramentos de suas cadeias em forma de hélice na faixa de 220°C a 240°C, causando danos irreversíveis aos cabelos e alterando suas propriedades mecânicas como resistência e elasticidade (Zhou et al., 2011), (Popescu and Gummer, 2016), (Istrate et al., 2013), .

No entanto, esta técnica é limitada a uma análise termodinâmica do cabelo, sendo que existem diversos trabalhos sob a aplicação e interpretação deste método nesta amostra. Neste caso foi necessário combinar a técnica de DSC com demais métodos experimentais como Espalhamento de Raio X a Baixo Ângulo (SAXS), Microscopia Ótica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), visto que a fibra capilar possui uma estrutura hierárquica rígida e ordenada.

## 4.7 Procedimento Experimental para DSC

As medidas foram realizadas em um instrumento DSC-60 (Shimadzu) (Figura 23A) no laboratório de DSC e DLS do Instituto de Física da USP, São Paulo.

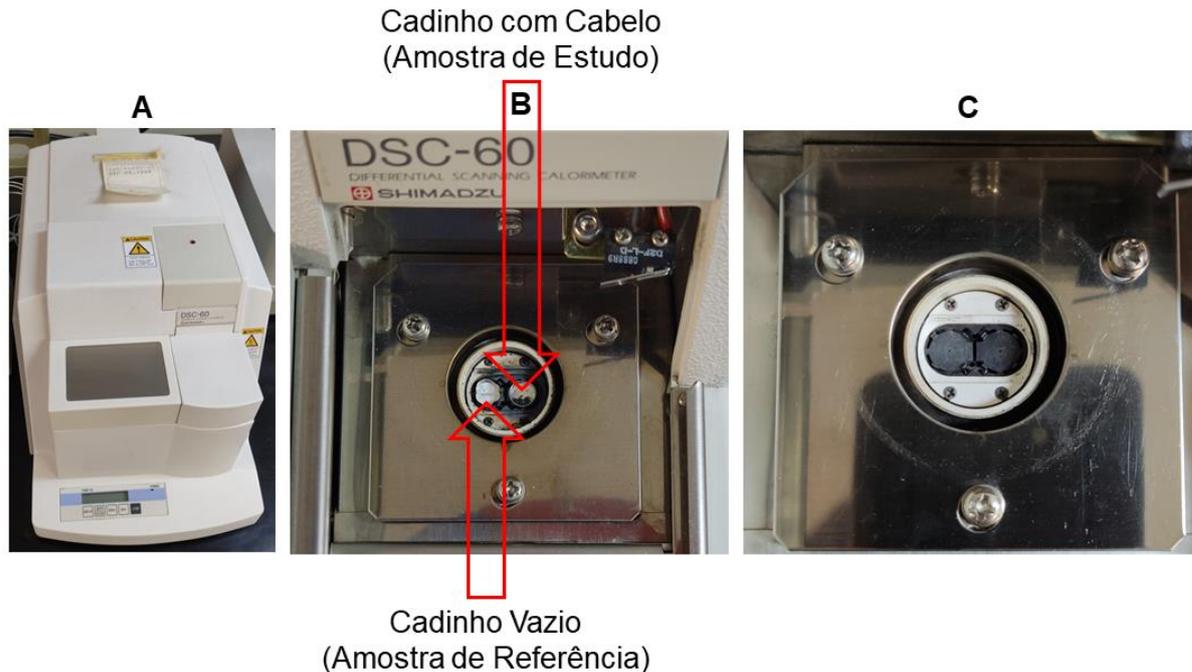


Figura 23: (A) DSC-60 Shimadzu. (B) Local para colocação das amostras (C) Sistema de Aquecimento tipo disco.

As condições de medidas são apresentadas a abaixo, que foram baseados em estudos de trabalhos correlatos , (Daniel, 2011) e (Istrate et al., 2009).

- Cadinhos de Alumínio (Figura 23B) submetidas à pressão ambiente 1 Pa.
- Atmosfera inerte em  $N_2$  (g) com a vazão volumétrica de  $100 \frac{ml}{min}$  .
- Sistema de Aquecimento (Figura 23C), região responsável pelo aquecimento no intervalo de temperatura de 30 a 300°C com taxa de aquecimento 10°C/min.

As mechas de cabelo (Figura 24A) foram cortadas em pequenas subamostras de 2 mm de comprimento aproximadamente, e alocadas em eppendorfs etiquetadas de acordo com o tipo de fibra (Figura 24B).

A preparação dos cadinhos para as medidas começou na colocação da panela e tampa na balança analítica, em seguida tarou-se o conjunto (panela e tampa) dentro da balança (Figura 25), porque desejava-se medir somente a contribuição da massa capilar no sinal produzido pelo DSC, para isso foi necessário desconsiderar a massa do cadinho (panela e tampa) vazio.

Após aferição a massa do cadinho (panela e tampa) vazio, preencheu-se a panela do cadinho com pedaços de cabelos cortados com 2,5 mg de amostra aproximadamente (Figura 26), com auxílio de uma pinça.

Para finalizar o processo de montagem colocamos uma tampa sobreposta ao cadinho, porém não selada. Com isso idealmente não ocorreria troca de materiais particulados grandes, mas apenas permitiria a saída e entrada de gases (Figura 27).

Depois da preparação dos porta amostras (Figura 27), iniciou-se a medida conforme (Figura 23B), em seguida fecha-se este comportamento e inicia-se o experimento (Figura 23A) nas condições de temperatura e pressão citadas acima.

OBS: Após diversos testes, concluímos que a massa de cabelo em 2,5 mg é a quantidade mínima para obtenção de curvas suaves reproduzíveis com dados utilizáveis para subtrair o *background* ou fundo.



Figura 24: **(A)** As mechas utilizadas para o experimento de DSC; (1) corresponde ao cabelo virgem (CV ou VH), (2) relaciona-se ao cabelo alisado (CA ou SH), (3) identifica o cabelo alisado/descolorido (CAD ou BSH) e (4) numera o cabelo descolorido (CD ou BH). **(B)** Os quatro eppendorfs enumerados de 1 a 4 com cabelos VH, SH, BSH e BH respectivamente, cartados e etiquetados.



Figura 25: A balança analítica utilizada para aferir as massas dos conjuntos (cadinho e tampa) e cabelos apenas.

Cadinho com cabelo virgem (VH)



Cadinho com cabelo alisado (SH)



Cadinho com cabelo alisado/descolorido (BSH)



Cadinho com cabelo descolorido (BH)



Figura 26: Disposição dos cabelos nos cadinho.

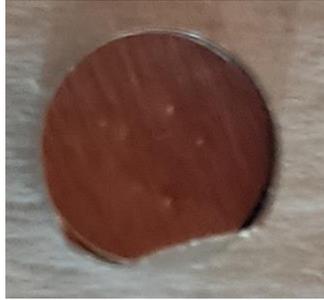


Figura 27: Cadinho com tampa justaposta para realizar medida.

## 4.8 Espalhamento de Raios X à Baixo Ângulo (SAXS)

A abreviatura SAXS é originária de *Small Angle X-ray Scattering* (Espalhamento de Raios X à Baixo Ângulo) trata-se de um método experimental desenvolvido para o estudo da estrutura da matéria (Svergun and W. Taylor, 1987).

O processo de interação da radiação com a matéria medido na técnica de SAXS fundamenta-se no **espalhamento Thomson ou elástico (Figura 28)**, neste caso um elétron “livre” oscila classicamente como um (dipolo elétrico) em resposta ao vetor do campo elétrico da onda eletromagnética incidente, cujo range de energia deste feixe é em torno de 7keV a 20keV. Dessa forma o elétron oscilante emite radiação (fótons) da mesma frequência da onda incidente, **de modo que não haja transferência de energia para o meio (E. Turner, 2007; Attwood, 2009)**.

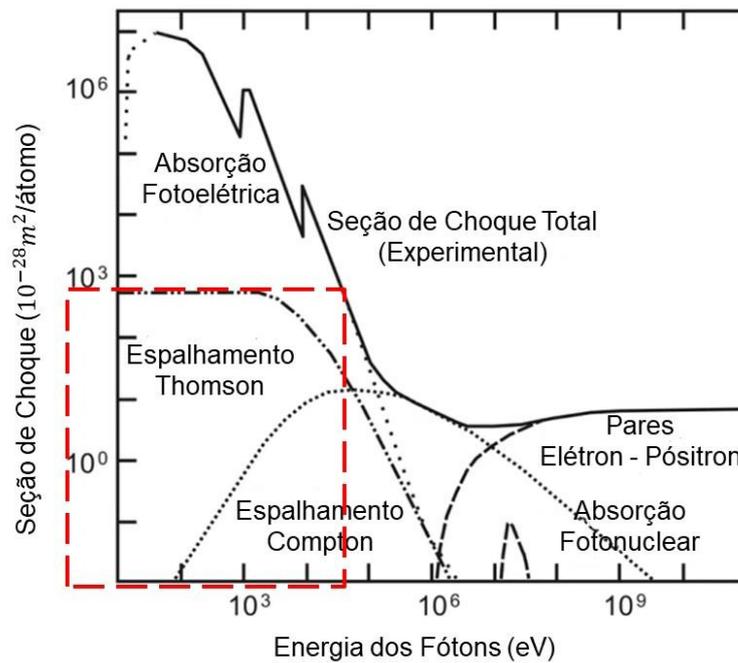


Figura 28: Tipos de interação da radiação com a matéria. Imagem retirada de (Attwood, 2009) adaptada.

No entanto, para compreender o fenômeno medido na técnica de SAXS foi necessário revisar a teoria do processo de espalhamento (Figura 29) e seção de choque, isso será abordado abaixo.

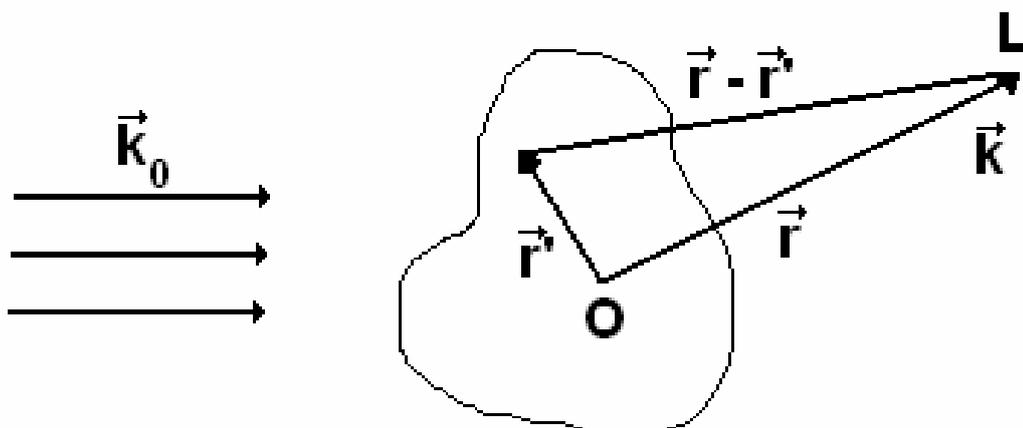


Figura 29: Espalhamento de primeira ordem de uma onda plana por um potencial limitado no espaço. Imagem retirada de (Oliveira, 2005).

Todo o processo de interação da radiação com a matéria começa com uma onda plana  $\psi(\vec{r}) = A_0 \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r})$  onde  $A_0$  corresponde a amplitude e  $\vec{k}_0$  representa o vetor de onda, interagindo com um centro espalhador (partícula espalhadora) caracterizado por um potencial local  $\nu V(\vec{r})$  (Figura 29), e por consequência sofre um espalhamento (Sakurai and Napolitano, 1994; Oliveira, 2005).

O processo de espalhamento é dado pela solução da equação abaixo de Schrödinger (Sakurai and Napolitano, 1994).

$$[\nabla^2 + k_0^2 - \nu V(\vec{r})]\psi(\vec{r}) = 0 \quad (2)$$

Em que  $k_0 = |\vec{k}_0|$  corresponde o número de onda do feixe incidente no espaço tridimensional,  $\nabla^2$  representa o operador laplaciano independente do tempo e  $\nu$  específica a intensidade da interação com o potencial (Sakurai and Napolitano, 1994).

A solução da equação (2) decorre da teoria de perturbação independente do tempo em séries de potências de  $\nu$ , funções de Green e aplicação da primeira aproximação de Born, ou seja, (a amplitude da onda espalhada deve ser muito menor que a da onda incidente, neste caso a aproximação de Born tende a ser válida para potenciais fracos e ondas incidentes de altas energias).

Dessa forma o feixe incidente (onda plana) não é distorcido significativamente pelo meio e a maioria dos fótons atravessa a amostra sem desvio, permitindo apenas um evento de espalhamento, neste caso toda a energia do feixe incidente é transferida para a amostra na primeira interação, enquanto as interações de ordem superior de espalhamento são desprezíveis. Obtendo a seguinte solução (equação 3) (Sakurai and Napolitano, 1994):

$$\psi^{(0)}(\vec{r}) + \psi^{(1)}(\vec{r}) = A_0 \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r}) + \frac{A_0}{4\pi r} \int_V \frac{\exp(i\vec{k} * (\vec{r} - \vec{r}'))}{|\vec{r} - \vec{r}'|} \nu V(\vec{r}') \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r}') d\vec{r}' \quad (3)$$

Onde  $\psi^{(0)}(\vec{r}) = A_0 \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r})$  representa a onda plana e

$$\psi^{(1)}(\vec{r}) = \frac{A_0}{4\pi r} \int_V \frac{\exp(i\vec{k} \cdot (\vec{r} - \vec{r}'))}{|\vec{r} - \vec{r}'|} vV(\vec{r}') \exp(i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}') d\vec{r}' \text{ indica a onda esférica.}$$

Caso o ponto de observação L seja muito grande quando comparado às dimensões do centro espalhador  $|\vec{r} - \vec{r}'|$  (Figura 29), então temos que  $\vec{r} \gg \vec{r}'$  e assim  $|\vec{r} - \vec{r}'| \cong r$  (Oliveira, 2005). Desse modo a onda espalhada chega à seguinte forma assintótica (equação 4).

$$\psi^{(0)}(\vec{r}) + \psi^{(1)}(\vec{r}) = A_0 \exp(i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}) + \frac{A_0}{4\pi} \frac{\exp(i\vec{k}_0 \cdot \vec{r})}{r} \int_V vV(\vec{r}') \exp(i\vec{k}_0 \cdot \vec{r}') d\vec{r}' \quad (4)$$

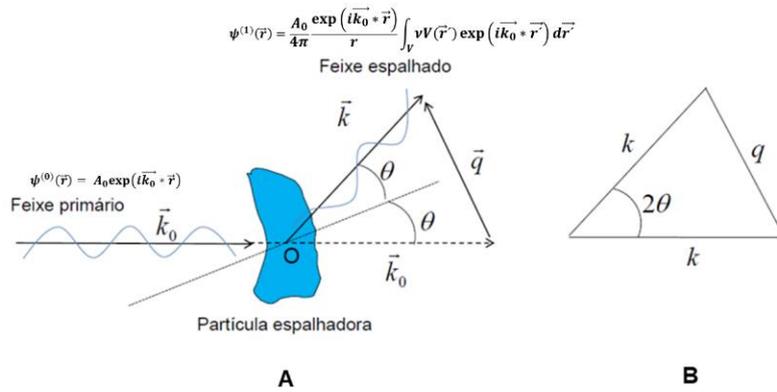


Figura 30: **(A)** Feixe de raios X espalhado por uma partícula fixa no espaço, formando um ângulo em relação ao feixe incidente. **(B)** A partir de considerações geométricas escreva-se o módulo de vetor de transferência de momento no espaço recíproco ( $q$ ) em função do ângulo de espalhamento e do módulo do vetor de onda. Imagem retirada de (Oseliero Filho, 2013) adaptada.

Seja  $\vec{k}_0$  o vetor de onda do feixe incidente e  $\vec{k}$  o vetor de onda do feixe espalhado (Figura 30A). Define  $\mathbf{q}$  (equação 5) como sendo o vetor de transferência de momento no espaço recíproco (Oliveira, 2005; Svergun and W. Taylor, 1987; Lindner and Zemb, 2002).

$$\vec{q} = \vec{k} - \vec{k}_0 \quad (5)$$

De acordo com espalhamento Thompson a onda incidente possui mesma energia que a onda espalhada (Figura 30A), neste caso o espalhamento é elástico (Oseliero Filho, 2013; Oliveira, 2015), então:

$$\vec{k} = \vec{k}_0 = |\vec{k}| = \frac{2\pi}{\lambda} \quad (6)$$

Sendo que  $\lambda$  é o comprimento de onda usado na radiação. Com este fato, podemos escrever o módulo de  $\vec{q}$ ,  $q$ , usando a lei dos cossenos aplicados ao triângulo mostrado na (Figura 30B):

$$q^2 = k^2 + k^2 - 2k^2 \cos(2\theta) \quad (7)$$

Resolvendo, encontra-se a relação entre  $q$  e  $k$ , a saber.

$$q = 2k \sin(\theta) \quad (8)$$

Substituindo (6) em (8), então obtém-se a equação (9) (Lindner and Zemb, 2002; Svergun and W. Taylor, 1987; Guinier et al., 1955).

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta) \quad (9)$$

O segundo termo da equação (3) pode ser definido como a transformada de Fourier de  $f(\vec{q})$ . Caso contrário aplica-se a transformada inversa de Fourier para determinar  $V(\vec{r})$  a partir de  $f(\vec{q})$  (Oliveira, 2005).

$$f(\vec{q}) = \frac{1}{4\pi} \int_V vV(\vec{r}) \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r}) d\vec{r} \quad (10)$$

$$vV(\vec{r}) = \frac{1}{2\pi^2} \int_V f(\vec{q}) \exp(i\vec{q} * \vec{r}) d\vec{q} \quad (11)$$

A equação (10) descreve a forma como a onda é espalhada pela partícula espalhadora, dessa forma  $f(\vec{q})$  relaciona-se com a amplitude do espalhamento elástico pelo campo  $V(\vec{r})$ . Neste caso pode-se reescrever a equação (3) da seguinte maneira (Oliveira, 2005).

$$\psi(\vec{r}) = A_0 \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r}) + \frac{A_0 \exp(i\vec{k}_0 * \vec{r})}{4\pi r} f(\vec{q}) \quad (12)$$

$$\psi(\vec{r}) = \psi^{(0)}(\vec{r}) + \frac{\psi^{(0)}(\vec{r})}{r} f(\vec{q}) \quad (13)$$

A equação (13) demonstra que a onda resultante do espalhamento possui uma contribuição da onda plana ( $\psi^{(0)}(\vec{r})$ ) que se propaga sem apresentar mudança na em sua forma, devido ao potencial  $\nu V(\vec{r})$  da partícula espalhadora somado com mais uma onda esférica ( $\frac{\psi^{(0)}(\vec{r})}{r}$ ) com amplitude  $f(\vec{q})$  que contém a informação sob a forma da partícula, cuja intensidade decai fator  $\left(\frac{1}{r}\right)$  (Oliveira, 2005).

A partir dessas circunstâncias, a probabilidade total de medir a interação de um fóton ( $\gamma$ ) no detector em instante de tempo  $t$  e  $t + dt$  é determinada pela equação (14) (Sakurai and Napolitano, 1994).

$$P(r; t, \text{para } \gamma) = \int_V |f(\vec{q})|^2 d\Omega \int_{-\infty}^{\infty} |\psi(\vec{r})|^2 c dt \quad (14)$$

Em que os limites  $-\infty$  e  $\infty$  foram adotados por causa do tamanho finito da função de onda (Oliveira, 2005). Porém estimar essas probabilidades (equação 14) de maneira analítica é demasiadamente complicado, por isso não convém utilizar esse método.

Todavia se lembramos que o processo de espalhamento consiste em um feixe de fótons incidindo em um alvo (partícula espalhadora). Então é conveniente utilizar uma abordagem diferente através da seção de choque ( $\sigma$ ), por exemplo.

Neste contexto ( $\sigma$ ) analisaria a área de ação entre cada átomo da partícula espalhadora e o feixe. Caso essa região seja atingida, haverá uma interação de modo que as probabilidades totais de interação por átomos alvo (partícula espalhadora) será dada pela razão (equação 15) (Okuno and Yoshimura, 2010):

$$\sigma = \frac{\sigma_t \text{ (seção de choque total por átomo)}}{A \text{ (área total atingida pelo feixe)}} \quad (15)$$

Frequentemente, prefere-se estimar seções de choque diferenciais totais por ângulo sólido (equação 16), pois com uma integração no ângulo sólido determina-se a probabilidade total de interação (Oliveira, 2005).

$$\frac{d\sigma_\Omega}{d\Omega} d\Omega = \frac{\text{número de partículas espalhadas ou emitidas em } d\Omega \text{ por unidade de tempo}}{\text{número de partículas atravessando uma unidade de área por unidade de tempo}} \quad (16)$$

Através da equação 17 pode-se relacionar as intensidades de espalhamento com as seções diferenciais totais em ângulo sólido (equação 16), (Guinier et al., 1955; Svergun and W. Taylor, 1987).

$$I(\vec{q}) = \frac{d\sigma(\vec{q})}{d\Omega} = |f(\vec{q})|^2 \quad (17)$$

Conforme a equação (17), estabelece-se uma função entre a intensidade espalhadora ( $I(\vec{q})$ ) com o modulo quadrático da amplitude de espalhamento  $|f(\vec{q})|^2$ , dessa maneira pode-se também interpretar a seção de choque diferencial de espalhamento por meio da função da intensidade de espalhamento.

Com a (equação 17) definiu-se uma relação entre intensidade de espalhamento e amplitude espalhamento, respectivamente. Ainda assim consegue-se correlacionar a amplitude de espalhamento ( $f(\vec{q})$ ) e o potencial espalhador ( $vV(\vec{r})$ ) mediante uma Transformada de Fourier (equações 10 e 11), sendo que o potencial espalhador  $vV(\vec{r})$  pode ser expresso pela densidade eletrônica  $\rho(\vec{r})$  (Oliveira, 2005).

$$I(\vec{q}) = |f(\vec{q})|^2 = f(\vec{q}) * f^*(\vec{q}) \quad (18)$$

$$= \mathbf{F}(f(\vec{q})) * \mathbf{F}(f(\vec{q}))^* \quad (19)$$

$$= \mathbf{F}(\rho(\vec{r}) * \rho(-\vec{r})) \quad (20)$$

$$= \int_V \exp(i\vec{q} * \vec{r}) d\vec{r} \int_V \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) d\vec{r}' \quad (21)$$

$$= \int_V \int_V \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \exp(i\vec{q} * \vec{r}) d\vec{r} d\vec{r}' \quad (22)$$

$$I(\vec{q}) = \int_V \int_V \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) \exp(i\vec{q} * \vec{r}) d\vec{r} d\vec{r}' \quad (23)$$

A equação 23 decorre da aplicação dos teoremas e propriedades das Transformadas de Fourier ( $\mathbf{F}$ ), como o Teorema de Convolução e a Propriedade de Autocorrelação, a partir da equação 18 (Arfken and Weber, 2007).

Obtendo a função de Patterson (equação 24), também denominado auto convolução da partícula (Oliveira, 2005).

$$P(\vec{r}) = \int_V \rho(\vec{r}') \rho(\vec{r}' + \vec{r}) d\vec{r}' \quad (24)$$

Por meio da promediação da intensidade de espalhamento ( $I(\vec{q})$ ) no espaço virtual (recíproco). Trazendo para espaço real em coordenadas esféricas ( $r, \varphi, \theta$ ), em que ( $d\Omega = \sin(\theta) d\theta d\varphi$ ) chega-se finalmente ao espalhamento a baixos ângulos (SAXS) (Oliveira, 2005).

$$I(q) = \langle I(\vec{q}) \rangle_{\Omega} = \frac{1}{4\pi} \iiint I(\vec{q}) r^2 \sin(\theta) d\theta d\varphi dr = \int_0^{\infty} r^2 dr \frac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} P(\vec{r}) \sin(\theta) d\theta d\varphi \int_0^{4\pi} \exp(i\vec{q} * \vec{r}') d\Omega \quad (25)$$

Nesta igualdade substitui-se o  $I(\vec{q})$  pela expressão  $\int_V P(\vec{r}) \exp(i\vec{q} * \vec{r}') d\vec{r}'$ , conforme equação (25). De acordo com (Guinier et al., 1955), estima-se a média estatística orientacional do integrado  $\langle \exp(i\vec{q} * \vec{r}') \rangle_{\Omega}$  em torno de todas as direções,

chegando na equação (26) (Oliveira, 2005; Guinier et al., 1955; Svergun and W. Taylor, 1987).

$$\langle \exp(i\vec{q} * \vec{r}) \rangle_{\Omega} = \left( \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \right) \quad (26)$$

Desse modo, a intensidade do espalhamento a baixos ângulos ( $I(q)$ ), é rescrita da seguinte forma, equação (27) (Oliveira, 2005).

$$I(q) = 4\pi \int_0^{\infty} \gamma(r) \left( \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \right) r^2 dr \quad (27)$$

Em que,  $\gamma(r)$  trata-se da função de autocorrelação da partícula (autocorrelação da média da distribuição de densidade de espalhamento), equação (28) (Oliveira, 2005).

$$\gamma(r) = \frac{1}{4\pi} \int_0^{4\pi} P(\vec{r}) \text{sen}(\theta) d\theta d\varphi = \langle \rho(\vec{r}) * \rho(-\vec{r}) \rangle_{\Omega} \quad (28)$$

A Transformada de Fourier Inversa da equação 26, encontra-se a função  $\gamma(r)$ , (Oliveira, 2005; Svergun and W. Taylor, 1987; Guinier et al., 1955)

$$\gamma(r) = \frac{1}{4\pi^2} \int_0^{\infty} I(q) \left( \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \right) q^2 dq \quad (29)$$

Todas as equações acima e deduções são de extrema importância para análises em SAXS, para quaisquer tipos de amostras como sólida, líquida, pó, gel e entre outras.

Conforme dito, a intensidade de espalhamento ( $I(q)$ ) foi promediada em todas as orientações da partícula espalhadora, e por causa disso o perfil da intensidade do espalhamento deste constituinte em específico torna-se isotrópico em todo o cone de espalhamento.

No caso em que, a amostra de estudo seja constituída de partículas espalhadoras com alta simetria, como esferas por exemplo, o padrão de intensidade do espalhamento destas esferas será isotrópico em todo o cone de espalhamento (Figura 31).

As Figura 31A e Figura 31B apresentam os perfis de espalhamento de partículas espalhadoras de formato esférico. Note que, os perfis de intensidades desta partícula esférica de acordo com ângulo azimutal  $\phi$  será isotrópico para qualquer orientação, devido à alta simetria da partícula esférica.

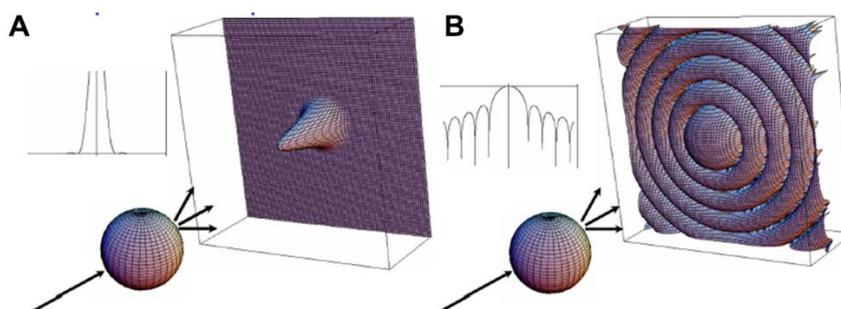


Figura 31: Perfil bidimensional de espalhamento para uma partícula esférica. **A:** Intensidade espalhada em escala linear. **B:** Intensidade espalhada em escala logarítmica. Inserções: Cortes unidimensionais no plano de espalhamento. Imagem retirada de (Oliveira, 2005) modificada.

Dessa forma o gráfico da intensidade de espalhamento da partícula esférica em função da coordenada azimutal ( $\phi$ ) no círculo todo de  $0^\circ$  a  $360^\circ$ , no plano do detector será constante, idealmente. Neste caso a presença da simetria é fundamental, porque facilita a análise da curva de intensidade do espalhamento desta partícula especificamente. Contudo este comportamento da intensidade do espalhamento não será idêntico para partículas do tipo não esféricas.

Já no caso em que, a amostra é constituída de partículas anisotrópicas fixas no espaço Figura 32, o perfil bidimensional do espalhamento poderá ser isotrópico (Figura 32B), mediante uma média orientacional desta partícula randomicamente disposta no espaço (Oliveira, 2005).

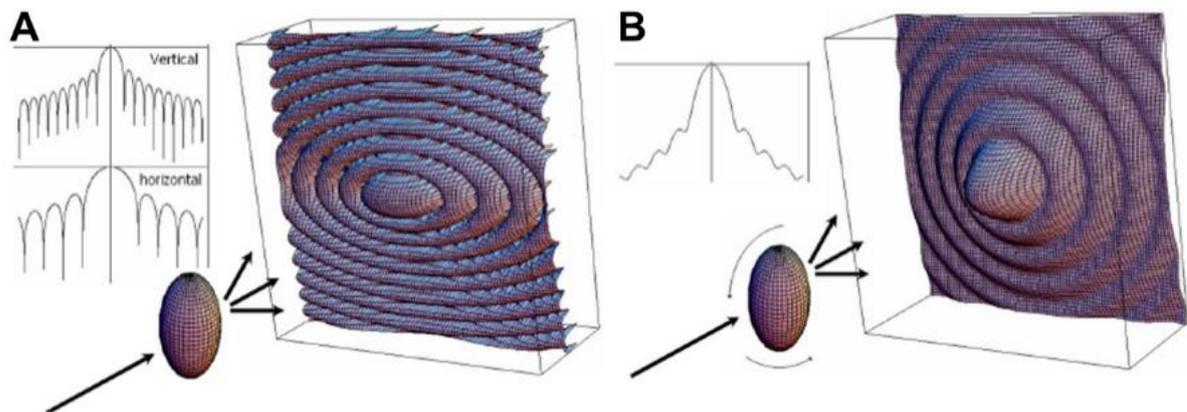


Figura 32: Perfil bidimensional de espalhamento para uma partícula anisotrópica. **A:** Intensidade para a partícula fixa. **B:** Intensidade promediada para todas as orientações da partícula. Inserções: Cortes unidimensionais no plano de espalhamento. A simulação foi feita utilizando o programa Mathematica®. Imagem retirada de (Oliveira, 2005).

A Figura 32A apresenta os padrões de espalhamento de uma partícula anisotrópica fixa no espaço, em que a intensidade de espalhamento é assimétrica em todas as orientações e direções, produzindo perfis de espalhamentos distintos (Oliveira, 2005).

A  $\gamma(r)$  pode ser obtida da curva de intensidade, através disso pode-se inferir as características da estrutura da partícula. Assim a equação 30 pode ser reescrita como:

$$I(q) = 4\pi \int_0^D \gamma(r) \left( \frac{\text{sen}(qr)}{qr} \right) r^2 dr \quad (30)$$

Caso a função de autocorrelação ( $\gamma(r) \equiv 0$ ) então  $r > D$ , em que D corresponderia ao maior tamanho da partícula (Oliveira, 2005).

A função de autocorrelação da partícula  $\gamma(r)$  pode ser reescrita através da função de distribuição de pares de distâncias da partícula  $p(r)$ , equação 31 (Oliveira, 2005).

$$p(r) = r^2 \gamma(r) \quad (31)$$

As equação (30) e (31) analisam a geometria e formatos da partícula, ambas são usualmente utilizadas em Sistemas Monodispersos (Figura 33) (Oliveira, 2005).

Sistemas Monodispersos, em termos gerais trata-se de um arranjo formado por um conjunto de partículas ou moléculas idênticas com formas, tamanhos e densidades “semelhantes”, distribuídas em uma fração de volume, cujas formas podem ser esféricas ou elipsoide prolato (Figura 33).

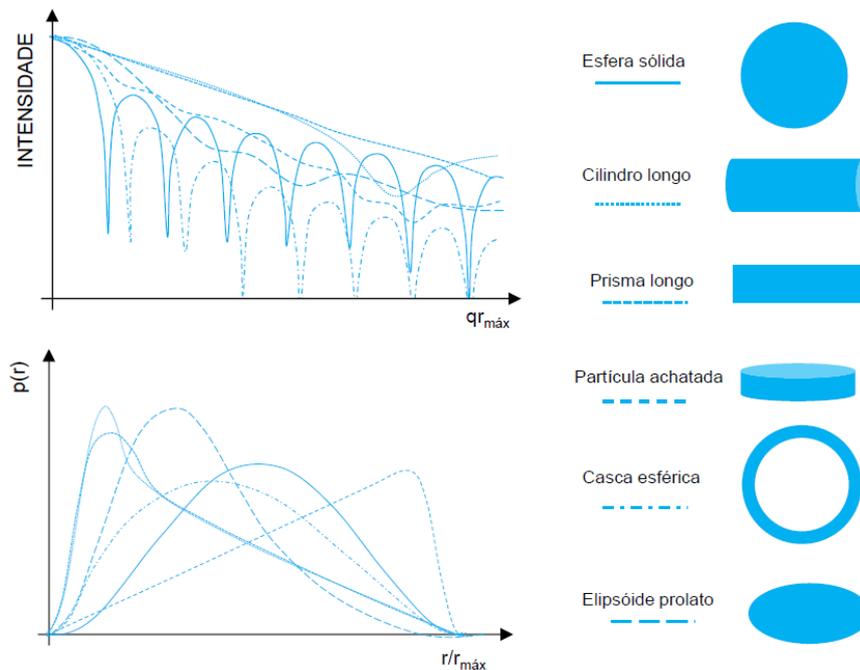


Figura 33: Cada estrutura mostrada à direita (esfera, cilindro, prisma) possui um único perfil de intensidade assim como um único perfil de  $p(r)$ . Conhecendo esses perfis, pode-se em uma análise inicial dar palpites sobre a forma das partículas em um sistema qualquer assim como o tamanho máximo envolvido ( $r_{\text{máx}}$ ), informação está relacionada com a curva  $p(r)$ . Imagem retirada de (Oseliero Filho, 2013).

Até agora, havíamos discutido e revisto todo o processo de espalhamento, seções de choque e a teoria de SAXS para sistemas monodispersos com uma partícula randomicamente orientada. Já para sistemas orientados a intensidade de espalhamento pode ser descrita como na equação 32:

$$I(q) = N \langle A(\vec{q})^2 \rangle \langle S(\vec{q}) \rangle \quad (32)$$

Onde  $\langle A(\vec{q})^2 \rangle = P(q)$  é chamado de fator de forma e  $\langle S(\vec{q}) \rangle$  é chamado de fator de estrutura, sendo que o símbolo  $\langle \rangle$  indica uma média orientacional no espaço.

Para sistemas aleatoriamente orientados esta média orientacional é definida em todo o plano azimutal na coordenada ( $\phi$ ) de 0 a 360° e azimutal de 0° a 180°, cuja intensidade é constante. Já para sistemas orientados, esta média será determinada com base na análise da curva de intensidade de espalhamento pela coordenada azimutal ( $\phi$ ), este estudo indica o grau de orientação da amostra estruturada, como fibras capilares por exemplo, que será detalhado no decorrer do texto.

O fator de forma  $P(q)$  depende unicamente da forma das partículas. No caso de um sistema monodisperso, em que o tamanho e forma da partícula espalhadora é relevante, então o fator de forma das partículas não muda e  $P(q) = I_1(q)$ . Caso o sistema seja polidisperso (partículas com diferentes formas, tamanhos e densidades), o fator de forma incluirá as médias sobre todas as possíveis formas, tamanhas e densidades eletrônicas das partículas.

O fator de estrutura depende das interações entre as partículas e das possíveis estruturas de mais alta ordem que podem ser formadas. Para sistemas com ordem estrutural estes efeitos são visíveis nos dados experimentais e assim  $S(q)$  deve ser levado em conta.

A Figura 34 ilustra situações desde um estado diluído até concentrado de um determinado sistema, levando em conta a contribuição dos fatores de forma e estrutura. Para sistemas diluídos (primeira imagem da esquerda para a direita) nos quais as partículas estão muito distantes umas das outras (como em um gás), apenas o fator de forma (linha azul) é predominante.

Já sistemas mais concentrados (como em um líquido) as partículas estão mais próximas umas das outras e passam a interagir, sendo que o fator de estrutura (linha preta) passa a ser importante (Figura 34). Enquanto os sistemas muito concentrados (como em um sólido) nos quais as partículas interagem fortemente, ambos os fatores de estrutura e o fator de forma devem ser levados em conta a fim de que a intensidade espalhada possa ser descrita completamente. Imagem retirada de (Oliveira, 2005; Oseliero Filho, 2013).

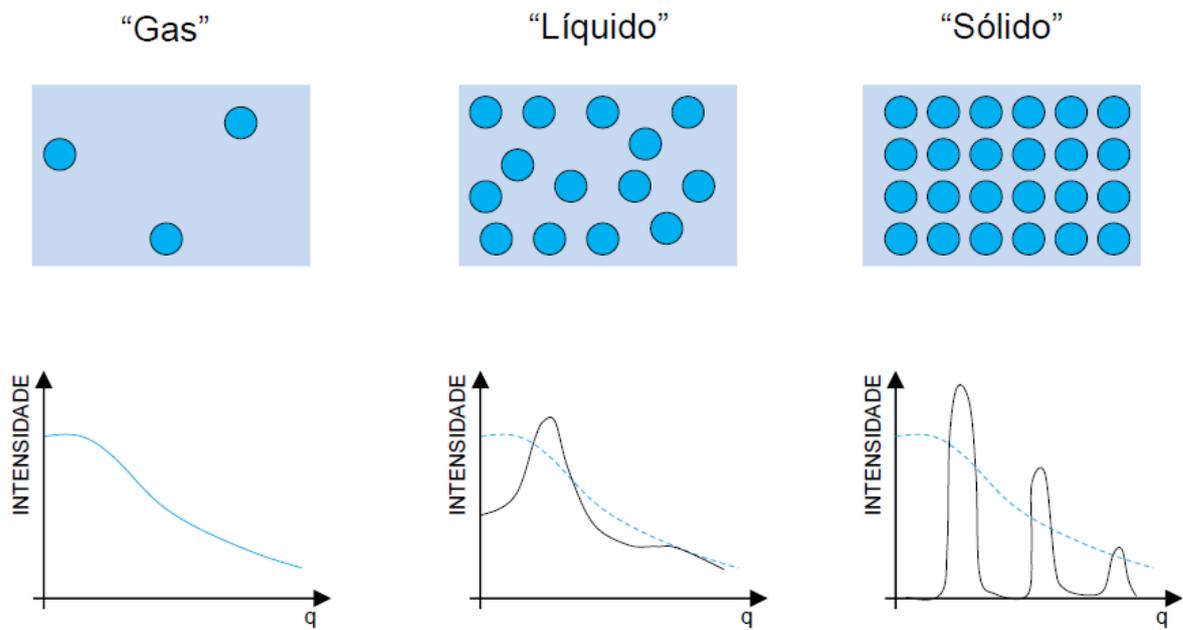


Figura 34: Representação esquemática dos modelos de sistemas gasoso, líquido e sólido, mediante os fatores de forma e estrutura.

Nesta dissertação, o enfoque foi aplicar a técnica de SAXS na análise de fibras capilares como sistema orientado, que será abordado na seção a seguir.

## 4.9 USAXS/SAXS/WAXS aplicado em cabelo

O Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo (SAXS) trata-se de um método experimental que consiste na interação da radiação com a matéria através do processo de espalhamento.

A aplicabilidade desta metodologia permite a visualização e investigação dos constituintes estruturais da matéria em escala nanométrica.

Baseado nisso, aplicou-se a técnica de SAXS para analisar fibras capilares conforme um sistema ordenado. Dessa forma pretende-se examinar toda a estrutura hierárquica ordenada do cabelo desde a disposição espacial e morfológica do complexo de membrana de celular (CMC) e filamentos intermediários (FIs).

Conforme ilustrado na Figura 35 nota-se que o perfil de espalhamento de fibras capilares é anisotrópico, dessa forma a análise deste padrão de espalhamento

bidimensional demanda a partição desta imagem, em quatro setores identificados por Horizontal Direita (H-D), Horizontal Esquerda (H-E), Vertical Topo (V-T) e Vertical Base (V-B), as quais forneceram informações estruturais da amostra mediante quatro curvas unidimensionais.

O procedimento de confecção da Figura 35 será explicado na seção de Resultados e Discussão, junto com a motivação da escolha das curvas 1D (Horizontal Direita (H - D) e Vertical Topo (V - T)) (Figura 36).

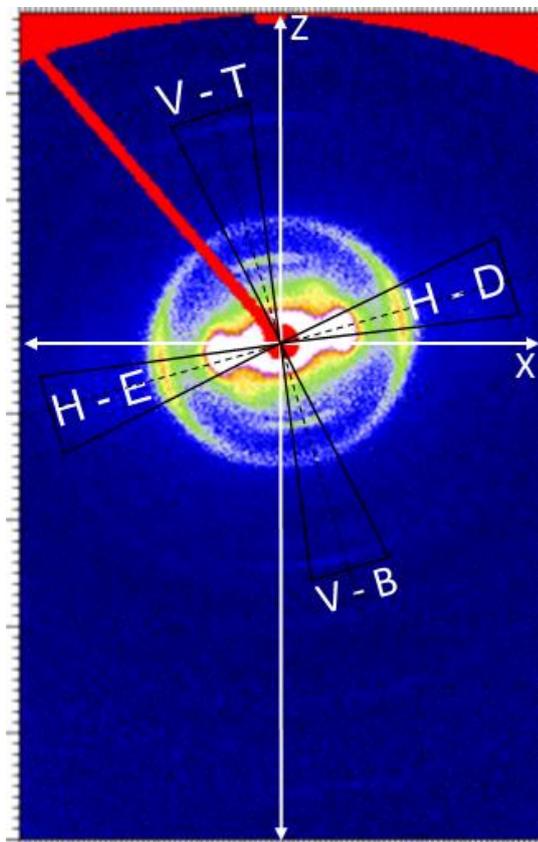


Figura 35: Imagem bidimensional de SAXS para o cabelo virgem a 30°Celsius, orientado em 10° em relação ao eixo X. Note que o sinal de espalhamento gerado pela fibra é mais intenso na direção na longitudinal do que na latitudinal, o que implica em uma análise setorial nas regiões Horizontal: Direita (H-D) e Esquerda (H-E) e Vertical: Topo (V-T) e Base (V-B) da imagem de espalhamento 2D.

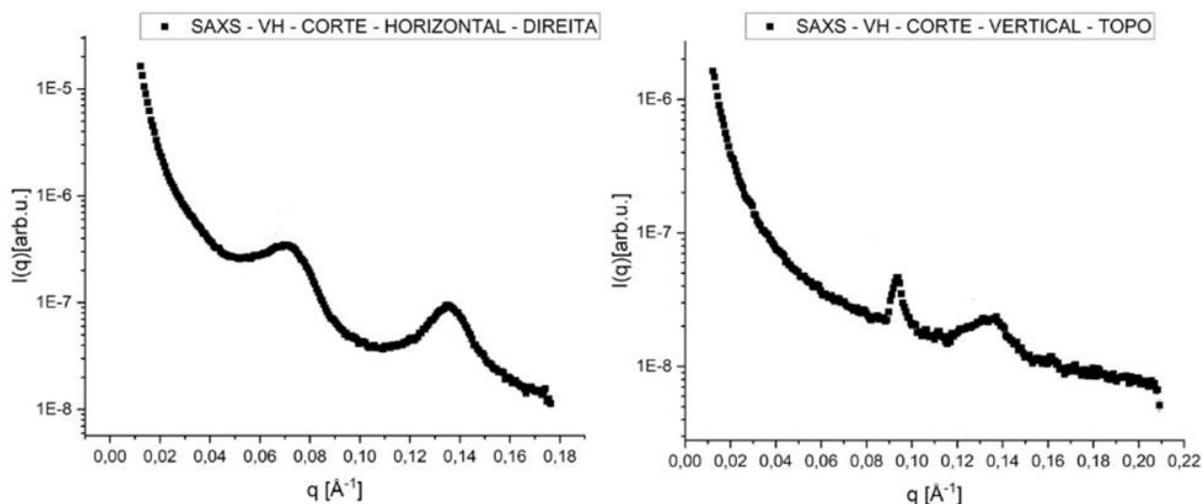


Figura 36: Curvas de intensidade de espalhamento do cabelo virgem a 30° Celsius, à curva da esquerda é referente a curva de SAXS 1D no corte horizontal direita, enquanto a curva da direita é correspondente a curva de SAXS 1D no corte vertical topo.

Nesta dissertação serão apresentadas as curvas de USAXS/SAXS/WAXS para fibras capilares e a correlação entre os picos de difração (distâncias estruturais) e a correspondência com os constituintes do modelo da fibra capilar apenas, em virtude da durabilidade do período de Mestrado.

Contudo em trabalhos posteriores deseja-se aprofundar na identificação dos picos estruturais do cabelo e conseqüente modelagem dos próprios através da obtenção dos fatores de forma ( $P(q)$ ) e estrutura ( $S(\vec{q})$ ) do cabelo.

#### 4.10 Procedimentos Experimentais para USAXS/SAXS/WAXS aplicado em mechas de cabelo

Na Figura 37 temos uma representação esquemática de um experimento de SAXS típico. O feixe é gerado por uma fonte, colimado por um sistema de fendas e incide na mostra. Em geral temos um experimento de transmissão, ou seja, o feixe passa pela amostra e a intensidade espalhada é medida no detector bidimensional.

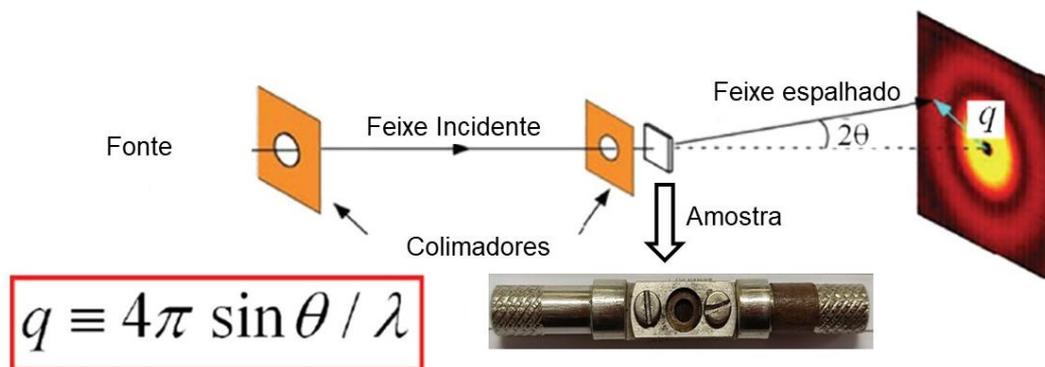


Figura 37: Esquema de uma configuração experimental de SAS. O feixe proveniente de uma fonte é colimado utilizando elementos óticos (fendas, pinholes etc.) e incide na amostra. O feixe transmitido é coletado e pelo perfil de espalhamento é possível obter-se informações pertinentes à amostra. Imagem retirada de (Oliveira, 2005).

Variando a distância entre amostra detector ou a radiação incidente, podemos ter diferentes intervalos experimentais em **q (vetor transferência de momento)** e através disso pode-se analisar as estruturas do modelo capilar correspondente em um determinado range em q. No projeto atual utilizamos diversas configurações experimentais como mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1 - Configurações experimentais utilizadas no XeuSS 2.0 para estudos de fibras capilares.**

Técnicas	D (mm)	Ânodo	$\lambda^*$ (Å)	$[q_{\min}, q_{\max}]$ (Å <sup>-1</sup> )	$d = 2\pi/q$ (Å)	Estruturas do cabelo correspondentes
SAXS	574	Cobre	1,54189	[0.020,0.638]	[314.159,9.848]	CMC e FIs
WAXS	173	Cobre	1,54189	[0.085,1.951]	[73.919,3.220]	α-queratina
WAXS	173	Molibdênio	0,71078	[0.1924,4.220]	[32.656,1.488]	α-queratina e CMC
USAXS	6500	Cromo	2,29107	[0.002,0.03]	[3141.592,209.439]	“Graus de Porosidade”

\*O comprimento de onda ( $\lambda$ ) é monocromático. Visto que o feixe foi produzido na Fontes Microfoco (Genix3D), em seguida passa por uma sistema de focalização e colimação nos Espelhos focalizadores (Fox3D), os quais conseguem filtrar as linhas de emissão  $K_{\beta}$  de cada ânodo ( $C_u$ ,  $Mo$  e  $Cr$ ) e nas fendas Fendas 'scatterless'.

Os dados foram coletados na central multiusuário de espalhamento de raios X a baixos ângulos (EMUSAXS) do instituto de Física da USP (IFUSP). Nesta central

temos dois equipamentos (Xeuss 1 e Xeuss2) e detectores Pilatus 300k e Pilatus 100k para as medidas experimentais (Figura 38). Mais detalhes podem ser encontrados no site da Central Multiusuário do Laboratório de Espalhamento e Difração de Raios X (EMUSAXS).



Figura 38: Imagens do equipamento Xeuss 2.0 localizado no IFUSP.

Para as medidas de SAXS com gradientes de temperatura (Figura 39) foi necessário acoplar ao Xeuss2 um *Hot Stage* (sistema de aquecimento) da marca (MRI<sup>R</sup>) (Figura 39C), que aquece o porta amostra com as fibras capilares dentro da câmara de vácuo (Figura 39B).

Este sistema de aquecimento utiliza o controle de aquecimento (Figura 39A), o “*Hot Stage*” (Figura 39C) e “*Chiller*” (Figura 39D) que serve como um reservatório térmico (“frio”) para resfriar a unidade de controle de aquecimento.

As medidas de raios x com aquecimento foram realizadas nas temperaturas 30°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C, 110°C, 120°C, 130°C, 140°C, 150°C, 175°C, 200°C, 225°C, 230°C, 245°C, 250°C, 260°C, 270°C, 300°C e finalmente retornou-se a 30°C para resfriar o *Hot Stage* (Figura 39C) e o controle de aquecimento (Figura 39A).

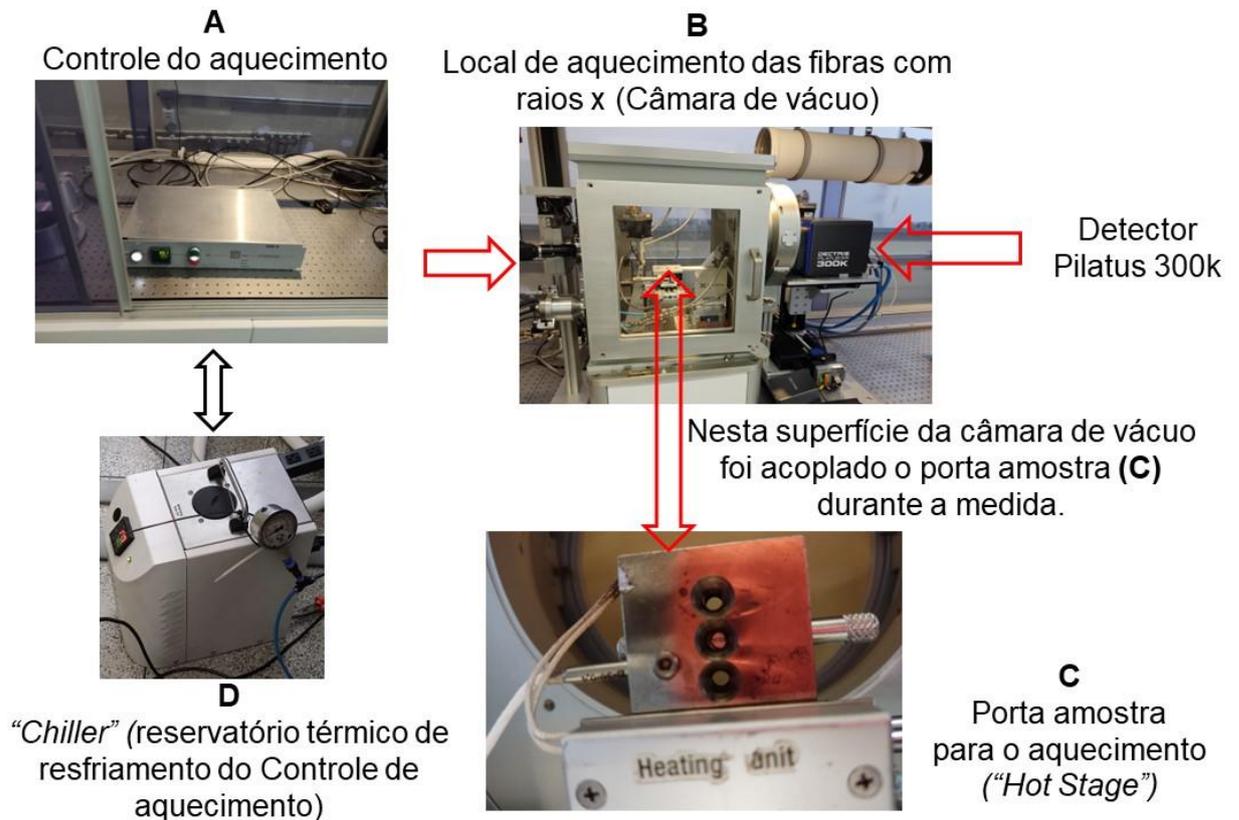


Figura 39: Representação esquemática das medidas de SAXS com gradientes de temperatura.

Os resultados obtidos em SAXS e WAXS das fibras capilares apresentam picos característicos que correspondem as distâncias estruturais internas dos constituintes da fibra, para interpretar tais dados foi necessário utilizar conhecimentos específicos da técnica de Difração de Raio X (Lei de Bragg e Lei Scherrer) apenas, ademais não aprofundarei em aspectos gerais de XRD, pois está fora do escopo desta dissertação.

## 4.11 Difração de Raios X (XRD)

A Difração de Raios X trata-se de uma técnica apropriada para o estudo da estrutura cristalina através da disposição dos átomos, geometria e direções cristalográficas de materiais orgânicos e/ou inorgânicos, identificando assim a célula unitária que compõe sua amostra (Cullity and Stock, 2014). Apresentarei alguns aspectos gerais que servirão de base para esta dissertação e algumas discussões que serão realizadas ao longo do texto.

Este fenômeno ocorre quando uma radiação incide com um ângulo ( $\theta$ ) em uma rede cristalina formada por um conjunto de átomos igualmente espaçados e espaçados ( $d_{hkl}$ ) e localizados em planos cristalinos denominados: A, B e C, os quais espalham o feixe incidente sob o mesmo ângulo ( $\theta$ ), produzindo assim o feixe difratado (Figura 40).

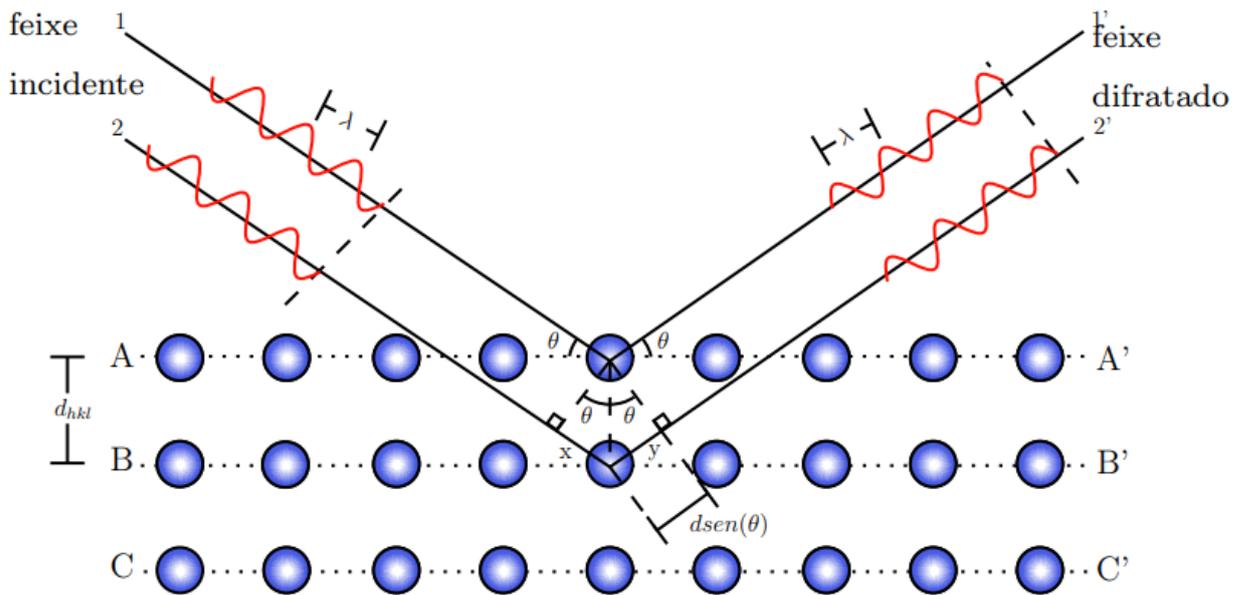


Figura 40: Os raios X incidentes e refletidos formam um ângulo  $\theta$  simétrico à normal do plano cristalino. Imagem retirada de (Cullity and Stock, 2014).

Dessa forma, quando a diferença de caminho entre as frentes de ondas dos feixes espalhados pelos planos A, B, C for um número inteiro de comprimento de onda, neste caso temos a condição de máximo na interferência construtiva:

$$x + y = n\lambda \quad (33)$$

em que,  $x$  representa a caminho percorrido pelo feixe espalhado 1, enquanto  $y$  corresponde ao a caminho percorrido pelo feixe espalhado 2.

$$x = y = d \sin(\theta) \quad (34)$$

A partir das equações (33) e (34) chega-se à condição de interferência construtiva, que satisfaz à condição de Bragg.

$$2d \sin(\theta) = n\lambda, \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (35)$$

A equação 35 é conhecida como a Lei de Bragg, em que  $n$  é a ordem de reflexão (número inteiro),  $\lambda$  comprimento de onda do feixe incidente,  $\theta$  é ângulo de Bragg e  $d$  é a distância entre dois planos atômicos (Cullity and Stock, 2014).

A partir da Lei de Bragg é possível inferir que cada pico de difração é devido a um certo conjunto de planos que satisfaz a equação 35, isso possibilita a identificação de um composto cristalino específico presente na amostra. Sendo que para cada composto cristalino os ângulos para os quais a difração é observada são únicos (Cullity and Stock, 2014).

Contudo deve-se mencionar que caso a diferença de caminho entre as ondas seja número inteiro ou nulo de meio comprimento de onda, isso acarretaria um padrão de interferência destrutiva com mínimos de interferência, significando que as ondas incidentes e difratadas estão fora de fase.

Note que, pode-se reescrever a Lei de Bragg em termos do vetor transferência de momento ( $\mathbf{q}$ ) (equação 9) como:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta)$$

De acordo com um rearranjo da equação 35, adicionado com a igualdade da equação 8 consegue-se chegar então na equações 36 ou 37.

$$\text{sen}(\theta) = \frac{n\lambda}{2d}$$

$$q_{\text{pico}} = \frac{2\pi}{d_{\text{pico}}} \times n \quad (36)$$

Ou

$$d_{pico} = \frac{2\pi}{q_{pico}} \times n \quad (37)$$

A partir da equação (37) pode-se calcular as distâncias estruturais de cada constituinte do modelo da fibra capilar, desde os Filamentos Intermediários, CMC até  $\alpha$ -queratina ( $\alpha$ -hélice).

Para avaliar a CMC (complexo da membrana celular) foi necessário estimar a periodicidade e a largura do pico de difração ( $\delta$ ) em Å, pois estes parâmetros estão relacionados com o número de planos cristalinos (bicamadas lipídicas da CMC) em uma dada direção.

Estes dados (periodicidade e largura do pico de difração ( $\delta$ )) foram estimados a partir dos valores de  $x_c$  e  $w$  (*FWHM - full width at half maximum* ou largura meia altura) respectivamente, mediante a aplicação da função de distribuição Gaussian do software *Origin* versão 2022 (Figura 41), nos picos de difração da CMC correspondentes.

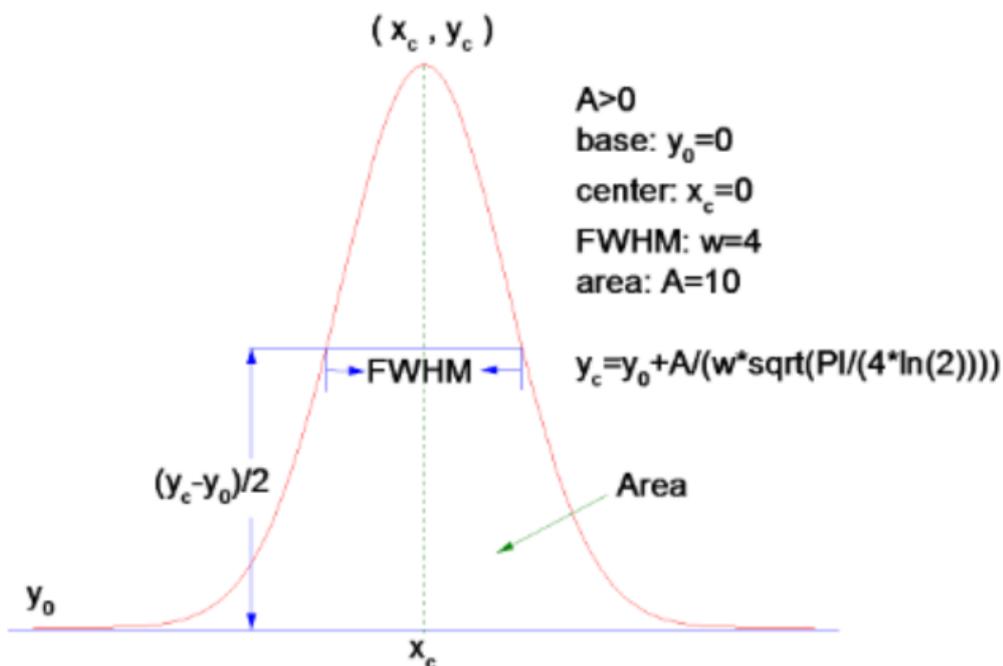


Figura 41: Representação do ajuste da função distribuição Gaussian do Origin versão 2022. Imagem retirada do software de Origin versão 2022.

Sendo que, a largura do pico de difração está relacionado à dimensão do domínio cristalino (D) pela Lei de Scherrer (Sundblom et al., 2009).

$$\delta = \frac{2\pi}{D} \quad (38)$$

Picos de difração em dados experimentais reais podem sofrer efeitos adicionais de alargamento devido à aspectos experimentais como tamanho do feixe, resolução do detetor, policromaticidade do feixe de raios X entre outros aspectos.

No entanto, como os sistemas investigados fornecem picos relativamente largos, estes aspectos não necessitaram ser levados em conta nos cálculos e a equação 38 foi útil para estimativa do tamanho da fase cristalina.

## 5. Resultados e Discussão

## 5.1 Imagem de MO para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH)

A Microscopia Ótica permitiu visualizar as transformações induzidas na superfície externa da fibra, especificamente a superfície cuticular devido a aplicação dos tratamentos químicos e/ou térmicos para cada tipo de mecha VH, SH, BSH e BH de forma preliminar e qualitativa (Figura 18).

Para isso, utilizou-se o microscópio óptico Leica modelo DM RX com câmera digital Guppy F-503C (Figura 18B), da Allied Vision Technologies, para a aquisição das imagens (Figura 18A). Através de uma objetiva acromática de magnificação (20X) e abertura numérica ( $NA$ ) = 0,40 (Figura 18C).

A Figura 42 apresenta imagens obtidas das amostras de cabelo investigadas. Primeiramente, nota-se a diferença entre a superfície cuticular das fibras capilares virgens (naturais) (Figura 42A) das fibras quimicamente tratadas (Figura 42B, Figura 42C, Figura 42D, Figura 42E, Figura 42F e Figura 42G), como por exemplo, as Figura 42C e Figura 42D que apresentam os cabelos alisados, dos quais pode-se observar pontos mais escuros que se assemelham a queimaduras.

Além disso, na Figura 48D observa-se o achatamento (abaulamento) de uma região na fibra capilar alisada.

Ainda na Figura 42 há imagens de amostras de cabelos descolorido (BH) (Figura 42B e Figura 42E) e descolorido e alisado (BSH) (Figura 42F). Sendo que as primeiras (BH), apresentam depressões ou “buracos” por causa da corrosão causada pelo tratamento químico aplicado nesta mecha. Para as imagens do cabelo alisado (SH) (Figura 42C, Figura 42D e Figura 42F) e descolorido (BSH) (Figura 42G) observa-se um tipo de filme na superfície, que mostra a diferença no alinhamento das cutículas quando comparada a imagem do cabelo descolorido (BH).

Na Figura 43A percebe-se uma irregularidade na superfície e na Figura 43B uma bolha (inchaço da fibra). Já Figura 43C apresenta as marcas deixas pelo procedimento de alisamento ácido.

Desta forma, nota-se que os tratamentos químicos e térmicos aplicados nas mechas SH, BH e BSH levaram a uma maior deterioração da superfície cuticular em relação ao VH.

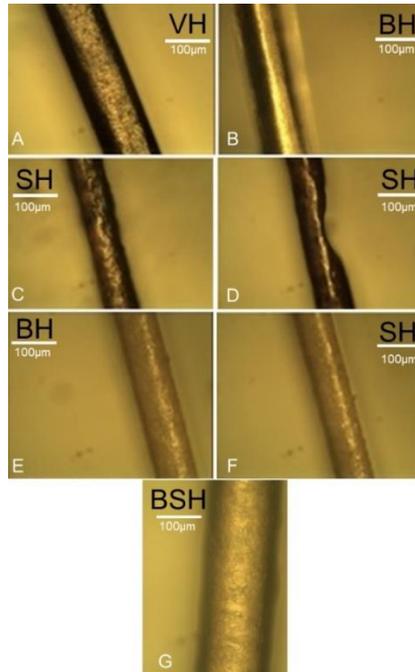


Figura 42: Imagens de microscopia óptica de amostras de fibra capilar: (A) virgem (sem tratamento); (B) e (E) e (F) alisadas; (C) e (D) e (F) alisadas; e (G) descoloridas e alisadas.

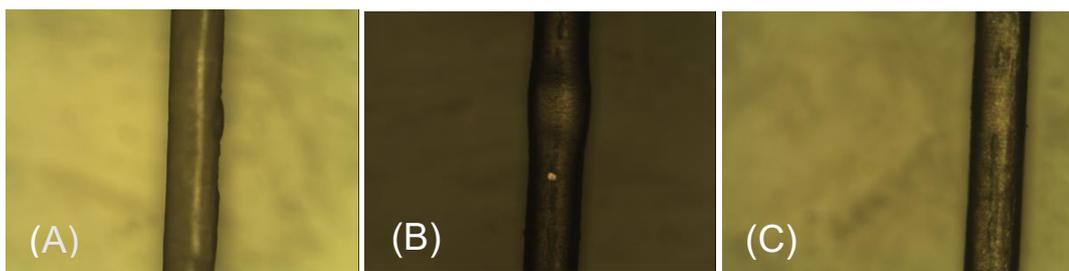


Figura 43: Imagens de microscopia óptica de amostras de fibras capilares alisadas (SH).

5.2 Imagem de MEV para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH)

As imagens de MEV foram obtidas no Laboratório de Microscopia e Microanálise – LMM do IPEN, utilizando o instrumento *Hitachi modelo TM 3000* (Figura 44B) e porta amostra com as fibras (Figura 44A).



O porta amostra (A) foi colocada dentro desta porta.

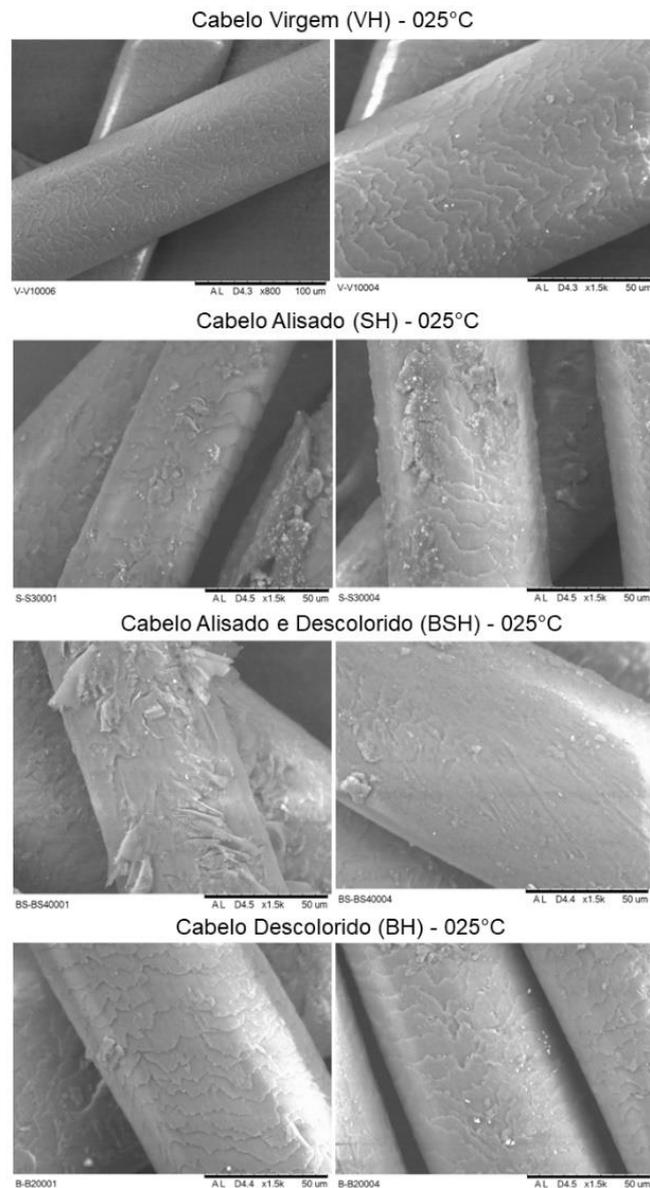
Figura 44: (A) Colocação das amostras de cabelo: VH (virgens), SH (alisadas), BH (descoloridas) e BSH (alisadas/descoloridas) para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). (B) Equipamento Hitachi modelo TM 3000. Imagem retirada de (Ara et al., 2013).

As figuras a seguir apresentam a evolução parcial da degradação das quatro categorias de fibras capilares: cabelo virgem (CV ou VH), cabelo alisado (CA ou SH), cabelo alisado/descolorido (CAD ou BSH) e cabelo descolorido (CD ou BH) em 25°C, 100°C, 200°C e 250°C, de modo preliminar e qualitativo.

O aquecimento das fibras aconteceu no mesmo sistema utilizado para os estudos de espelhamento. Com isso as amostras foram feitas nas mesmas condições experimentais das medidas de SAXS com variações de temperatura.

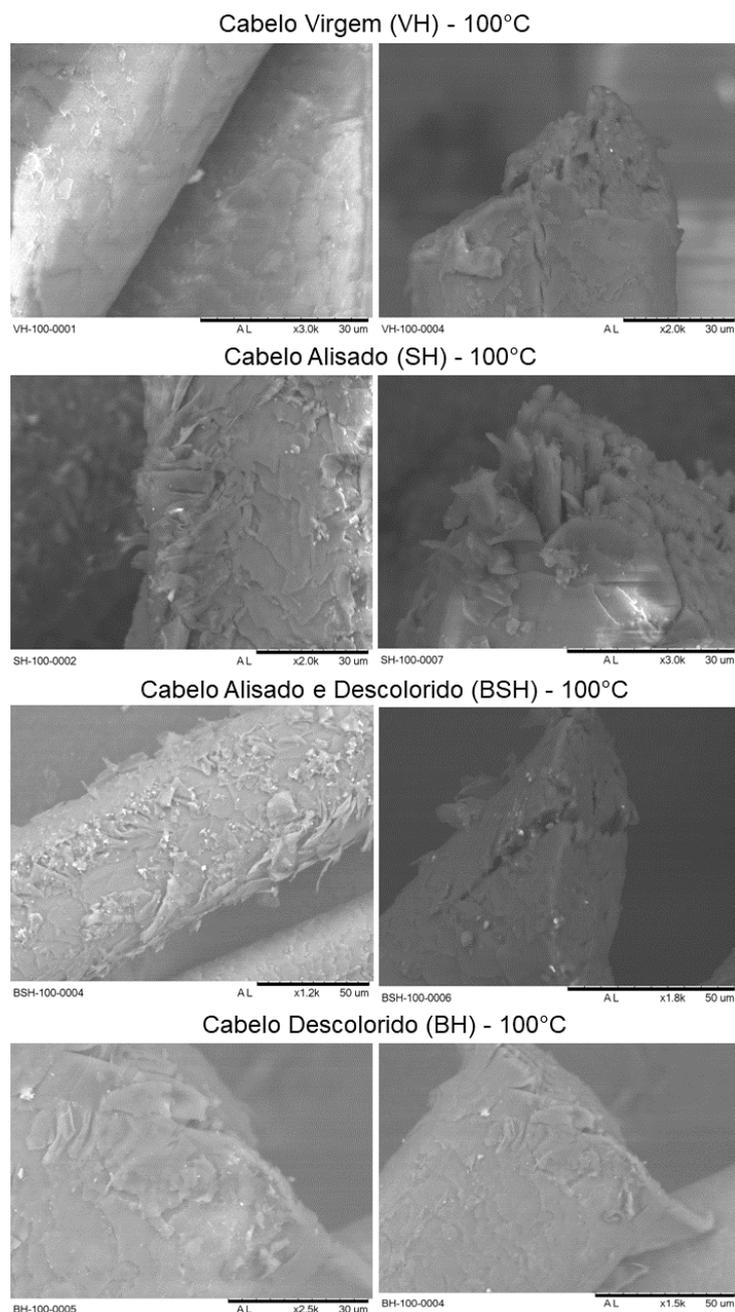
A partir da Figura 45 nota-se que em 25°C, a camada cuticular do VH se manteve uniforme e coesa, pois corresponde a fibra que não foi submetida a nenhum dos procedimentos químico ou térmico.

No SH as células cuticulares sofreram queimaduras em virtude do alisamento térmico, resultando na primeira desuniformidade celular e surgimento de bolhas; já o BSH apresenta descamação inicial da camada externa da fibra e aparecimento de lesões. Finalmente as cutículas do BH demonstram certa similaridade com VH, porém há indícios de bolhas por causa do tratamento químico.



*Figura 45: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 25°C.*

Na Figura 46 percebe-se que a 100°C, a amostra de cabelo alisado (SH) apresentaram degradação cuticular e em processo de desidratação (observada por DSC) (Figura 49). Enquanto, as fibras: descoloridas/alisadas (BSH) e descoloridas (BH) demonstraram um grau maior de descamação da cutícula.

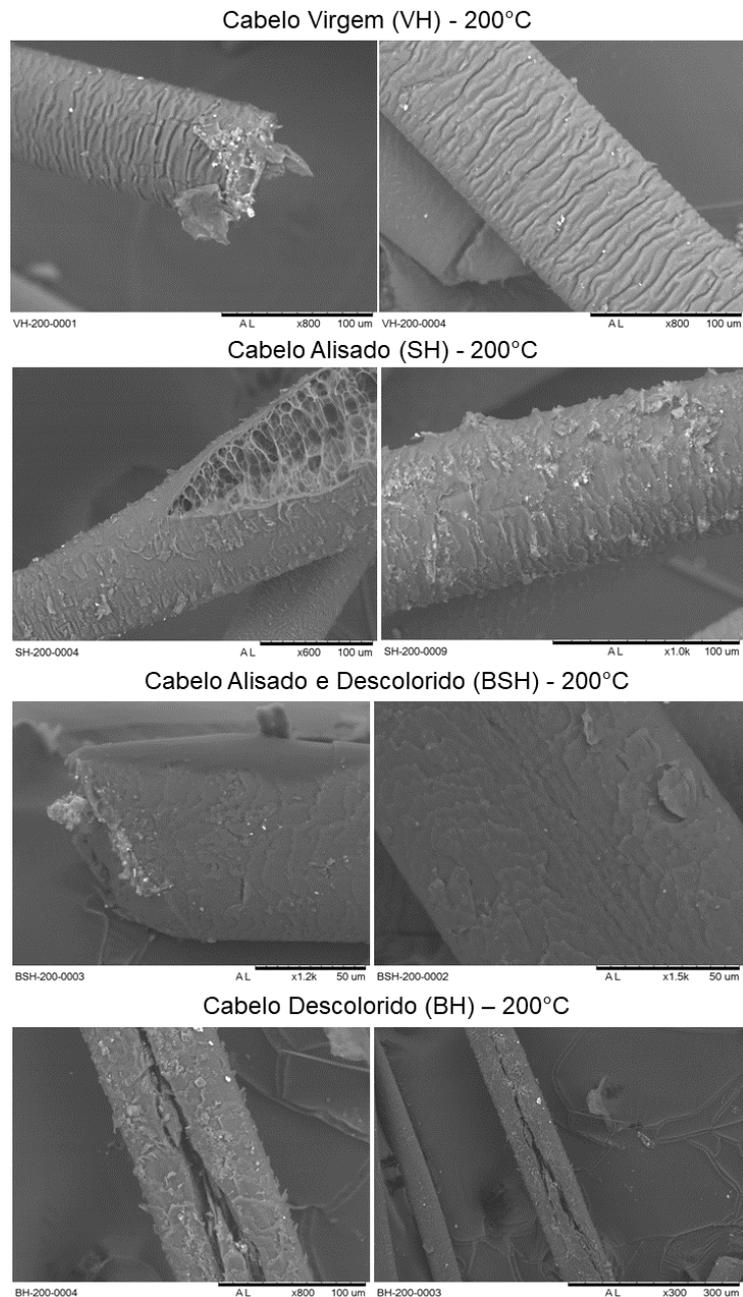


*Figura 46: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 100°C.*

A 200°C todas as quatro mechas: VH, SH, BSH e BH apresentam completa desidratação (observada por DSC) (Figura 49), o que, segundo a literatura afeta o comportamento elástico de cada fibra (Figura 47).

Esta desidratação pode ser observada na superfície das quatro mechas, o que é notada pelo enrugamento das camadas de cutículas. Além disso, há o comprometimento do córtex, provavelmente causado pelo severo cozimento cortical,

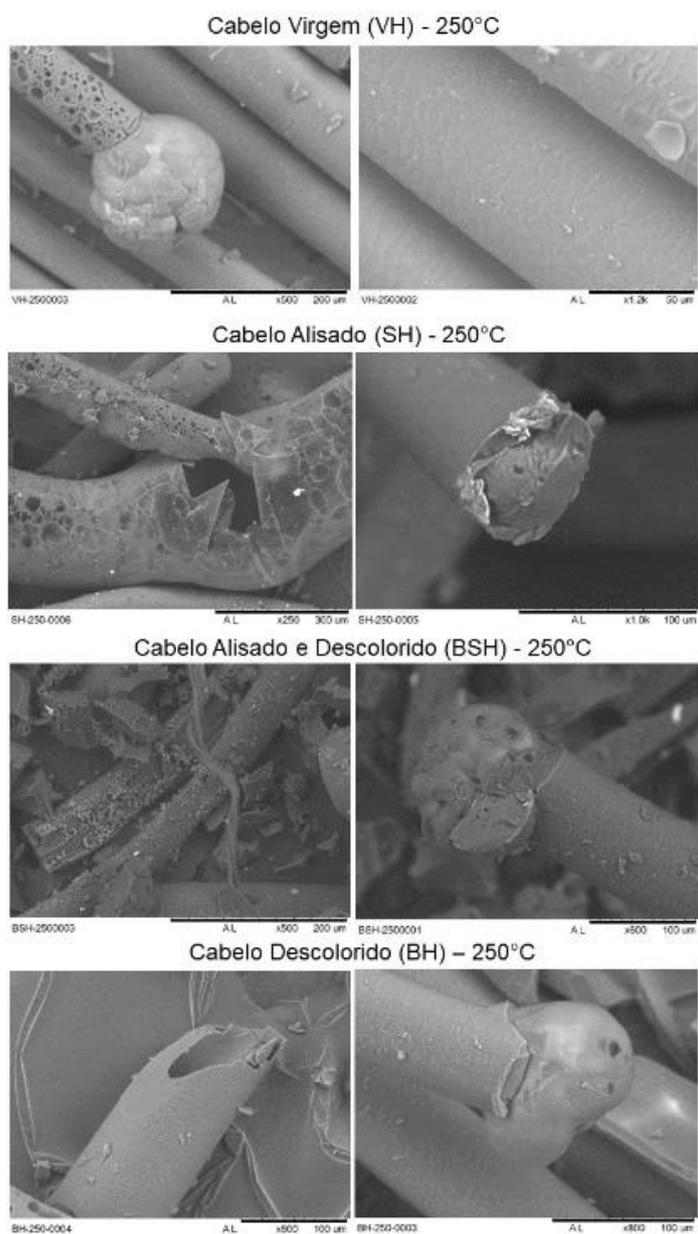
da amostra SH (Figura 47). Dessa forma ocorre a total fratura da estrutura capilar da amostra BH.



*Figura 47: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 200°C.*

Finalmente em 250°C as respectivas fibras manifestam danos superficiais externos e internos drásticos, desde a superfície (cutícula) até o córtex (onde se encontram os filamentos intermediários e as cadeias de  $\alpha$ -queratina) (Figura 48).

De acordo com as imagens, podemos observar também que o córtex é mais susceptível a temperatura que a cutícula. Estes dados corroboram aos encontrados por Istrate et al. (2019), pois o autor demonstrou que o material cristalino cortical se degradou (derreteu) a temperaturas mais baixas que a cutícula.



*Figura 48: Imagens de MEV do VH, SH, BSH e BH à 250°C.*

### 5.3 Dados de DSC para as mechas de cabelos: virgens (VH), alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisadas/descoloridas (BSH)

Os dados de DSC demonstraram alterações nas cadeias de  $\alpha$ -hélice (FIs) das amostras quimicamente transformadas SH, BH e BSH. Esses resultados corroboram com as informações obtidos por SAXS e WAXS com variações de temperatura na seção 5.9 *Dados de USAXS/SAXS/WAXS para as mechas de cabelos virgens (VH), alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisadas/descoloridas (BSH)*, a qual discutirá as alterações estruturais internas dessas fibras durante o processo de aquecimento, como a degradação dos filamentos intermediários (FIs).

Neste contexto, apenas as amostras de cabelos alisados (SH e BSH) foram as fibras que apresentaram alterações significativas nos picos de 89Å (organização lateral cristalina das microfibrilas (Figura 55B) e 67Å (no escalonamento axial entre as moléculas ao longo dos FIs (Figura 55C) em SAXS, assim como nos picos 9,8Å (distância centro a centro entre cada  $\alpha$ -hélice) (Figura 56C) e 5,1Å (distância de repetição para enrolamento de cada monômero da  $\alpha$ -hélice ( $\alpha$ -queratina) (Figura 56D), em relação as fibras virgens (VH) em WAXS.

Visto que, as técnicas de Espalhamento de Raios X fornecem uma perspectiva estrutural e interna da fibra, foi necessário complementar este estudo com uma abordagem termodinâmica para avaliar a transformações do filamentos Intermediários e da  $\alpha$ -hélice ( $\alpha$ -queratina), pois estes constituintes definem a elasticidade e resistência mecânica do cabelo.

Neste caso, então, optou-se por avaliar as alterações das respectivas estruturas, mediante a técnica de DSC a seco (com cadinho aberto).

A Figura 49 apresenta as curvas DSC das amostras de cabelos avaliadas e nos indica os parâmetros termodinâmicos como temperatura de desidratação ( $T_d$ ), entalpia de desidratação ( $\Delta H_d$ ), temperatura de desnaturação ( $T_D$ ) e entalpia de desnaturação ( $\Delta H_D$ ) a fim de verificar a faixa de temperatura dos eventos de desidratação e desnaturação do cabelo.

Embora esse pico não seja relacionado apenas a desnaturação dos FIs, e sim a degradação de outras estruturas (com perda de massa observada por (Lima et al., 2016)) da fibra, essa região nos dá informações importantes e podemos correlacionar aos dados de SAXS.

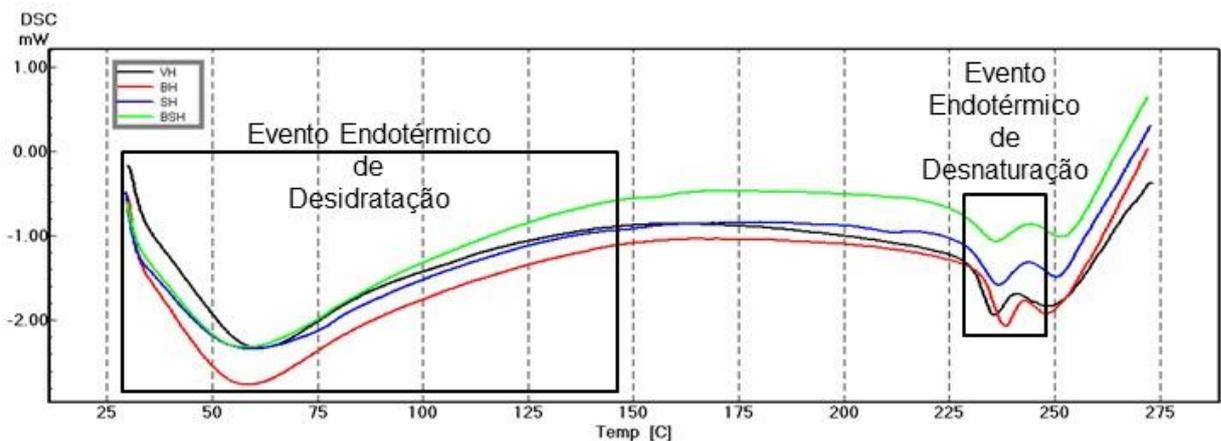


Figura 49: Curva de DSC para as fibras virgens (VH), descoloridas (BH), alisadas (SH) e descolorida/alisada (BSH).

De acordo com a literatura, o primeiro evento endotérmico que aparece em todas as curvas DSC está relacionado ao processo de desidratação da fibra capilar, que ocorre desde a temperatura ambiente ( $\sim 25^{\circ}\text{C}$ ) até ( $\sim 170^{\circ}\text{C}$ ), no decorrer desse evento temos a evaporação da água contida nos locais hidrofílicos das fibras capilares, sendo que a temperatura de pico de desidratação ocorre entre  $40^{\circ}\text{C}$  a  $70^{\circ}\text{C}$  (Baías et al., 2009).

Vale mencionar que é possível medir a perda da massa do cabelo em função da temperatura através da técnica de Termogravimetria (TG), sendo mais um método experimental para corroborar com os dados de DSC e USAXS/SAXS/WAXS, porém isso foi discutido no artigo no (Lima et al., 2023)

**Tabela 2 - Comparativo entre as temperaturas e entalpias de desidratação ( $T_d$ ,  $\Delta H_d$ ) e desnaturação ( $T_D$ ,  $\Delta H_D$ ), para os quatros tipos de mechas.**

Amostras	Temperatura de Desidratação ( $T_d$ )°C	Entalpia de Desidratação ( $\Delta H_d$ ) J/g	Temperatura de Desnaturação ( $T_D$ )°C	Entalpia de desnaturação ( $\Delta H_D$ ) J/g
VH	59 ± 2	-308 ± 10	236,1 ± 0,3	6,3 ± 0,1
SH	62 ± 3	-289 ± 48	237,1 ± 0,4	5,9 ± 0,1
BSH	60 ± 2	-279 ± 2	236,5 ± 0,2	4,8 ± 0,1
BH	61 ± 3	-294 ± 43	239 ± 1	4,5 ± 1,1

A partir da visualização dos dados da Tabela 4 nas colunas Temperatura de Desidratação ( $T_d$ ) e Entalpia de Desidratação ( $\Delta H_d$ ) percebeu-se que há uma convergência entre os dados experimentais e a literatura, de acordo com os trabalhos de (Daniel, 2011; Istrate et al., 2009; Lima et al., 2018; Popescu and Gummer, 2016).

O segundo evento também endotérmico, que aparece na curva DSC está relacionado a desnaturação dos FIs com temperatura de pico em 234°C aproximadamente e está de acordo com a literatura.

Fundamentado com esses dados, investigou-se os motivos pelos quais os parâmetros de desnaturação das amostras de cabelos descoloridos, alisados e alisados/descoloridos (Tabela 4) alteraram-se em relação aos valores da amostra capilar virgem (Popescu and Gummer, 2016).

Segundo a literatura, este aumento nas temperaturas de desnaturação ( $T_D$ ) pode ser motivado pelo do aumento da concentração iônica, que afeta a estabilidade da estrutura da queratina, e conseqüentemente altera a temperatura de desnaturação.

O procedimento de descoloração da fibra capilar é aplicado em meio alcalino (pH em torno de 10) com redução (quebras de ligações) dos aminoácidos cistina, resultando no aumento da concentração do ácido cistéico das amostras BH e BSH.

Isso também pode ser notado pela diferença das entalpias de desnaturação das amostras SH, BH e BSH em relação ao VH, indicando que as três mechas necessitam de uma quantidade de energia menor para romper as próprias estruturas cristalinas

de queratinas e com uma quantidade maior de ligações dissulfeto rompidas, do que o cabelo não tratado (VH) (Figura 65).

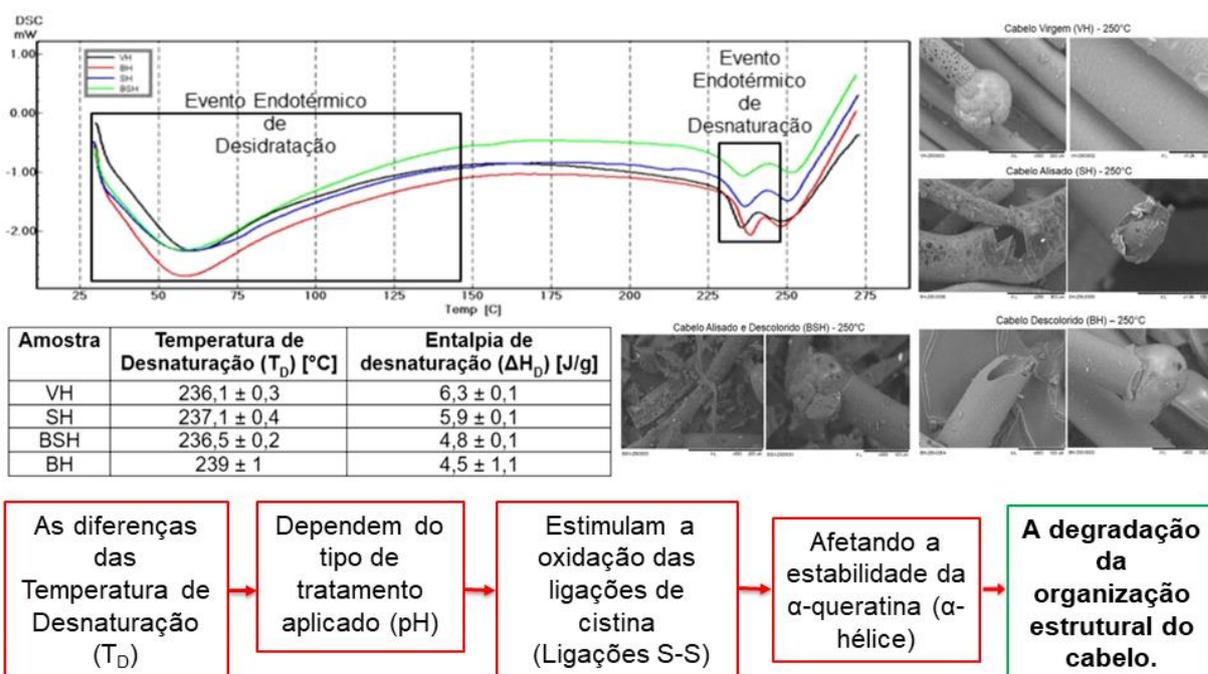


Figura 50: As diferenças das Temperatura de Desnaturação ( $T_D$ ) vista a partir das curvas dados DSC de cadinho aberto, onde VH (preto), BH (vermelho), SH (azul) e BSH (verde) com as ilustrações de MEV em 250°C para os respectivos cabelos.

As curvas de DSC vermelha (cabelo descolorido (BH)) e azul (cabelo descolorido/alisado (BSH)) (Figura 50) mostram o aumento da temperatura de desnaturação em 235°C aproximadamente, por causa do procedimento de descoloração/clareamento.

Dessa forma, pode-se observar que as fibras capilares quimicamente transformadas apresentam uma menor área do pico de desnaturação e diminuição da pirolise (Figura 51), significando perda de  $\alpha$ -hélice e total degradação do cabelo após os procedimentos (Lima et al., 2016).

Note que, os tratamentos químicos potencializam a liberação de água, vide as entalpias de desidratação.

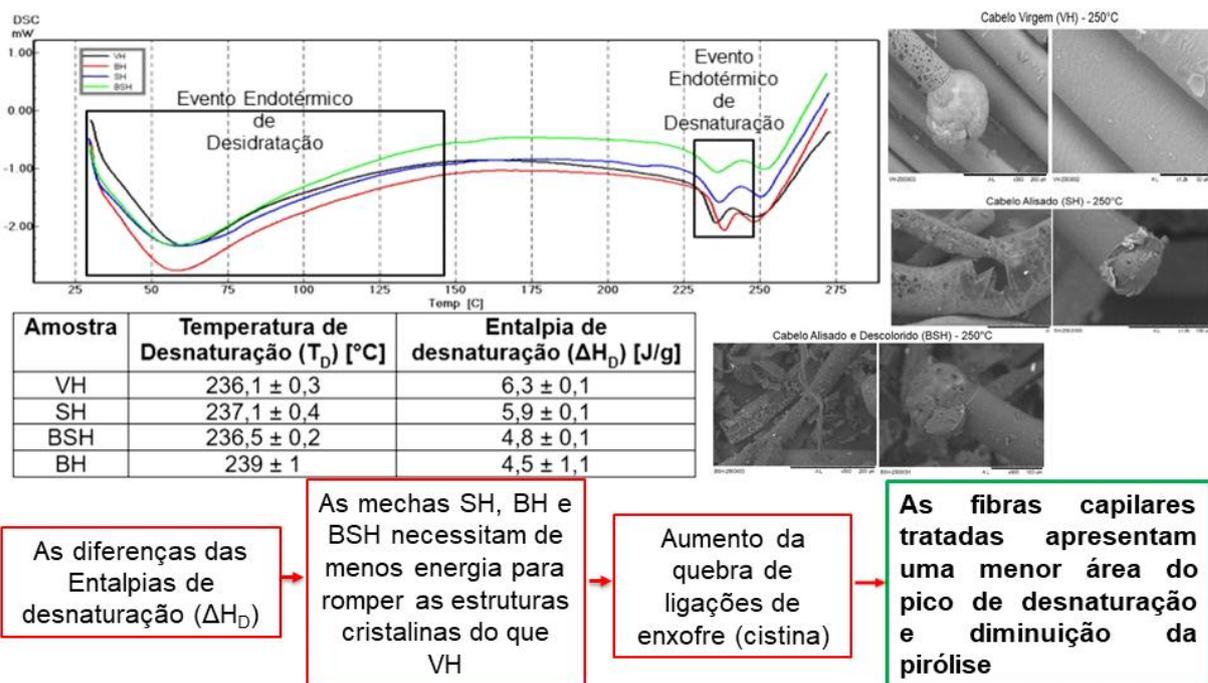


Figura 51: As diferenças das Entalpias de Desnaturação ( $\Delta H_D$ ) vista a partir das curvas dados DSC de cadinho aberto, onde VH (preto), BH (vermelho), SH (azul) e BSH (verde) com as ilustrações de MEV em 250°C para os respectivos cabelos.

Além disso, as curvas DSC mostram um terceiro evento endotérmico em torno de 250°C, que se refere à decomposição térmica do restante da fibra capilar, e que pode estar relacionado com a decomposição dos aminoácidos cistina, que ocorre logo em seguida da Temperatura de Desnaturação ( $T_D$ ).

Para corroborar essas evidências, as imagens de MEV contidas na seção: 5.2 *Imagens de MEV para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisadas/descoloridas (BSH)* demonstram que o interior da fibra capilar, ou seja, o córtex é mais suscetível ao aumento da temperatura mediante a confirmação do derretimento de seu interior, enquanto a área circundante da cutícula aparece mais íntegra, formando microtúbulos a aproximadamente 250°C (Figura 48) (Belletti et al., 2003).

Visto que, as imagens de Microscopias Ótica (MO) e Eletrônica de Varredura (MEV) avaliaram as alterações superficiais (cutícula) e internas (córtex) das fibras capilares virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas e descoloridas (CAD ou BSH) e que a Calorimetria Exploratória Diferencial

(DSC) investigou as transformações termodinâmicas das respectivas amostras, desde a cutícula até o córtex assim como nas imagens de MEV.

Dessa forma resta examinar as alterações da estruturais sofridas pela região cortical e seus constituintes, especificamente dos Filamentos Intermediários (FIs),  $\alpha$ -queratina ( $\alpha$ -hélice) e a CMC (Complexo de Membrana Celular). Através das técnicas de Espalhamento de Raios X à Baixos Ângulos (USAXS/SAXS/WAXS).

Partindo do cabelo virgem (CV ou VH), visto que se trata da amostra padrão até as fibras submetidas a procedimentos cosméticos e térmicos.

Para as medidas de USAXS/SAXS/WAXS, deve-se determinar a orientação de cada fibra, as regiões de integração e a escolha das curvas 1D (Horizontal Direita (H – D) e Vertical Topo (V – T)), conforme mencionado na seção 4.10 USAXS/SAXS/WAXS aplicado em cabelo.

## 5.4 Disposição e orientação das mechas para USAXS/SAXS/WAXS

Na seção 4.8 Espalhamento à Raios X de Baixos Ângulos, os padrões 2D de SAXS de fibras capilares possuem aspectos anisotrópicos (Figura 52), indicando que todas as estruturas internas do cabelo apresentam uma orientação expostas aos raios X.

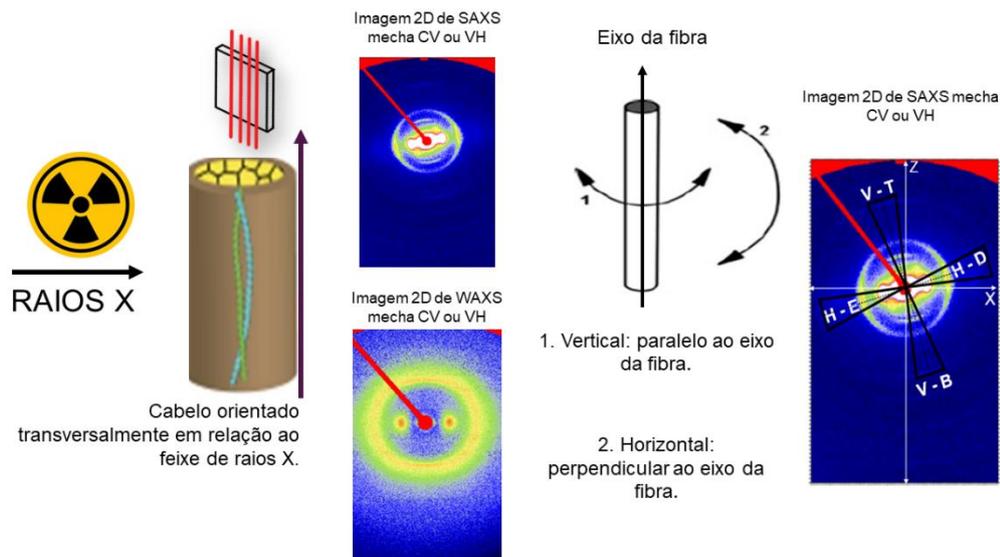


Figura 52: Disposição das mechas durante o USAXS/SAXS/WAXS.

Neste caso, a devida análise dos dados necessita **determinar a orientação interna das fibras** mediante uma integração radial, e então realizar integrações setoriais para obtenção das curvas 1D. A estratégia geral da análise foi descrita abaixo e ilustrada nas Figura 53.

**1º Passo:** Identificou-se picos orientados no padrão 2D, em seguida efetuou-se integrações radiais (círculo completo sobre a superfície do detector) ao redor das regiões identificadas: [Rmin e Rmáx] (**Figura 53A**), para definir o ângulo de orientação das fibras, que será utilizado para efetuar os cortes azimutais (**Figura 53B**). No exemplo abaixo (**Figura 53A**), a região delimitada pelo anel em preto apresentou um orientação em  $190^\circ$  obtido no gráfico radial (**Figura 53C**), isso indica que a orientação da fibra é  $10^\circ$  aproximadamente.

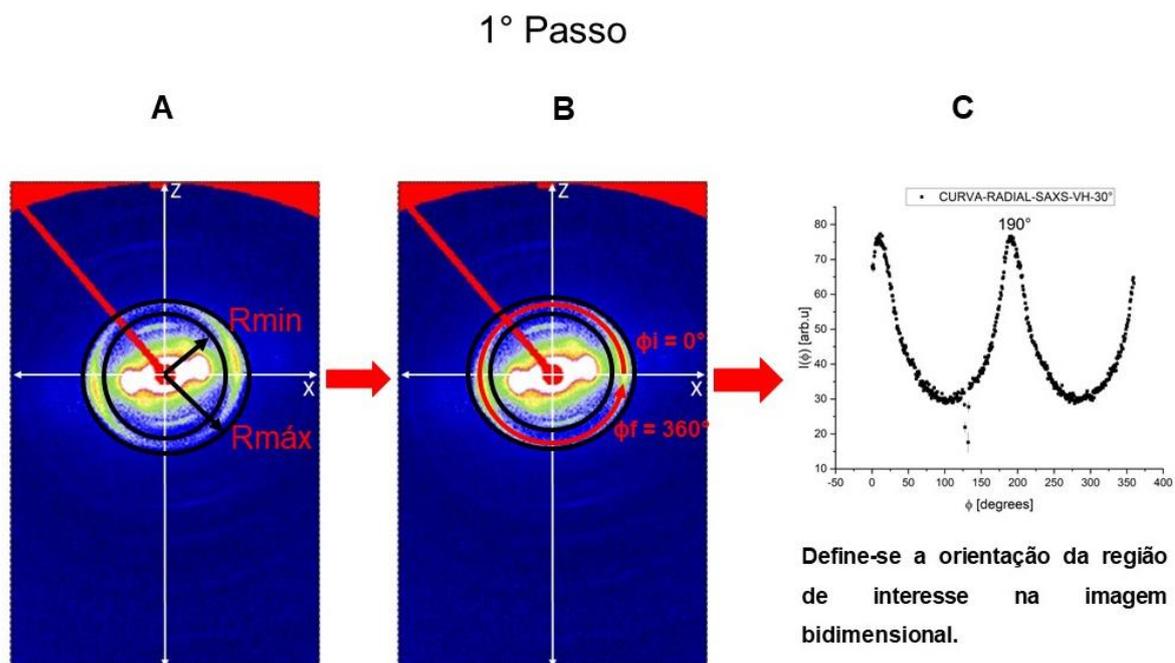


Figura 53: Procedimento para determinar a orientação de cada estrutura da fibra (Integração Radial).

**2° Passo:** Definido o ângulo de corte azimutal (**Figura 54C**), realizou-se as integrações azimutais nas quatro direções setoriais principais: Horizontal Direita e Esquerda (seções angulares iguais  $10^\circ$  e  $190^\circ$ , respectivamente) e Verticais: Topo e Base (seções angulares iguais  $100^\circ$  e  $280^\circ$ , respectivamente) (**Figura 54D**).

Obtendo as curvas de seção angular 1D para cada região denominada: Horizontal Esquerda (H-E), Horizontal Direita (H-D), Vertical Base (V-B) e Vertical Topo (V-T). A partir disso definiu-se estudar as duas curvas unidimensionais Horizontal Direita (H-D) e Vertical Topo (V-T) (**Figura 54E**), dentre as quatro curvas setoriais congruentes.

## 2° Passo

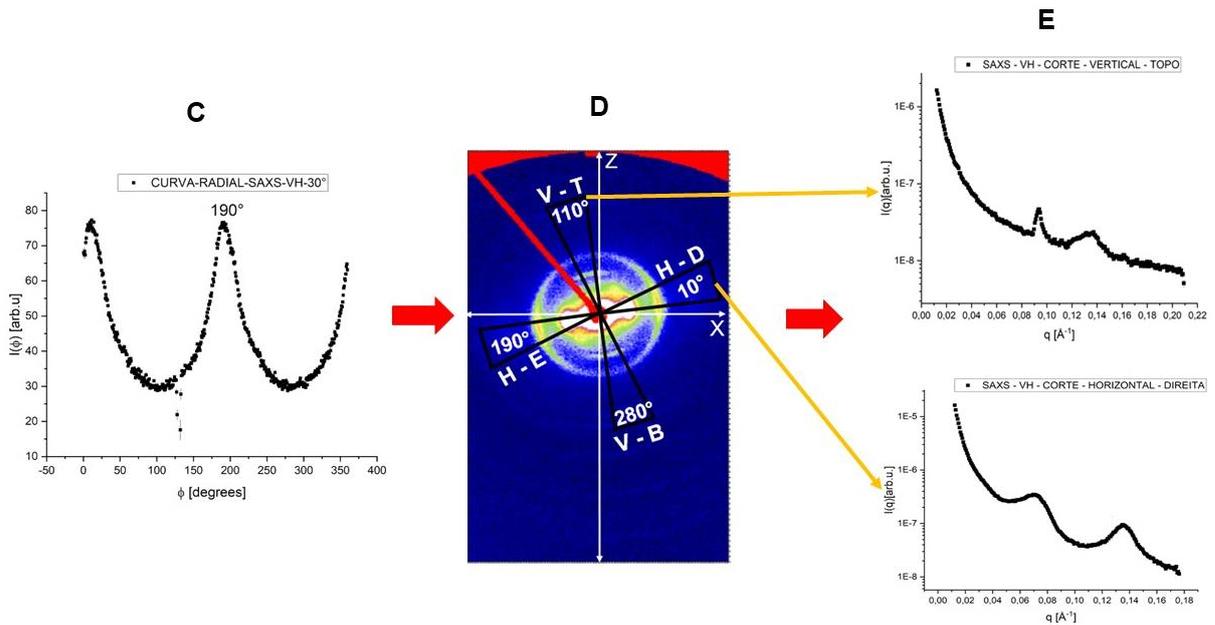


Figura 54: Procedimento para determinar os cortes azimutais 1D (Integração Azimutal).

**3° Passo:** Tratamento de dados, após a integração dos setores angulares foi realizada a subtração do espalhamento parasítico nas amostras. Este espalhamento é obtido pela medida do porta amostra vazia. Com isso temos os dados prontos para a análise.

## 5.5 Dados de SAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH)

Uma imagem bidimensional típica de SAXS do cabelo virgem (VH) a 30°C foi mostrada na Figura 55, com cortes horizontal direita e vertical topo na imagem. Utilizando a lei de Bragg (equação 35), definida na seção de Difração de Raios X:

$$\lambda = 2D_{pico} \sin(\theta)$$

Em conjunto com a definição do módulo de  $q$  (equação 35) estabelecido na seção de Difração de Raios X, temos que:

$$q_{pico} = \frac{2\pi}{d_{pico}} \text{ ou } d_{pico} = \frac{2\pi}{q_{pico}}$$

Neste caso determinando a posição em  $q$  de um dado pico, pode-se obter a distância de repetição da estrutura que se deseja investigar.

O pico de 89Å corresponde a reflexão equatorial (Horizontal Direita (H-D)), sendo um sinal próprio dos filamentos intermediários (FIs) (Figura 55C), a qual correlaciona-se à organização lateral cristalina das microfibrilas (Yang et al., 2014; Lima et al., 2023).

O pico de 67Å corresponde a reflexão meridional (vertical), que equivale às possíveis mudanças no escalonamento axial entre as moléculas ao longo dos FIs (Figura 55B) (Yang et al., 2014; Lima et al., 2023).

Segundo (Busson et al., 1999), (Istrate et al., 2013) e (Yang et al., 2014) estes picos são referentes ao empacotamento denso lateral dos filamentos intermediários ( $\alpha$ -queratina) e também da arquitetura periódica das moléculas ao longo dos filamentos intermediários.

Já o pico de 45Å (Figura 55B e Figura 55C) corresponde a sinalização do complexo de membrana celular (CMC), cuja função é permitir a difusão de sais e água entre os meios: externo e interno do córtex rica em proteínas hidrofílicas sulfuradas, lipídios e água e (Yang et al., 2014; Lima et al., 2016).

Imagem 2D de SAXS - Cu

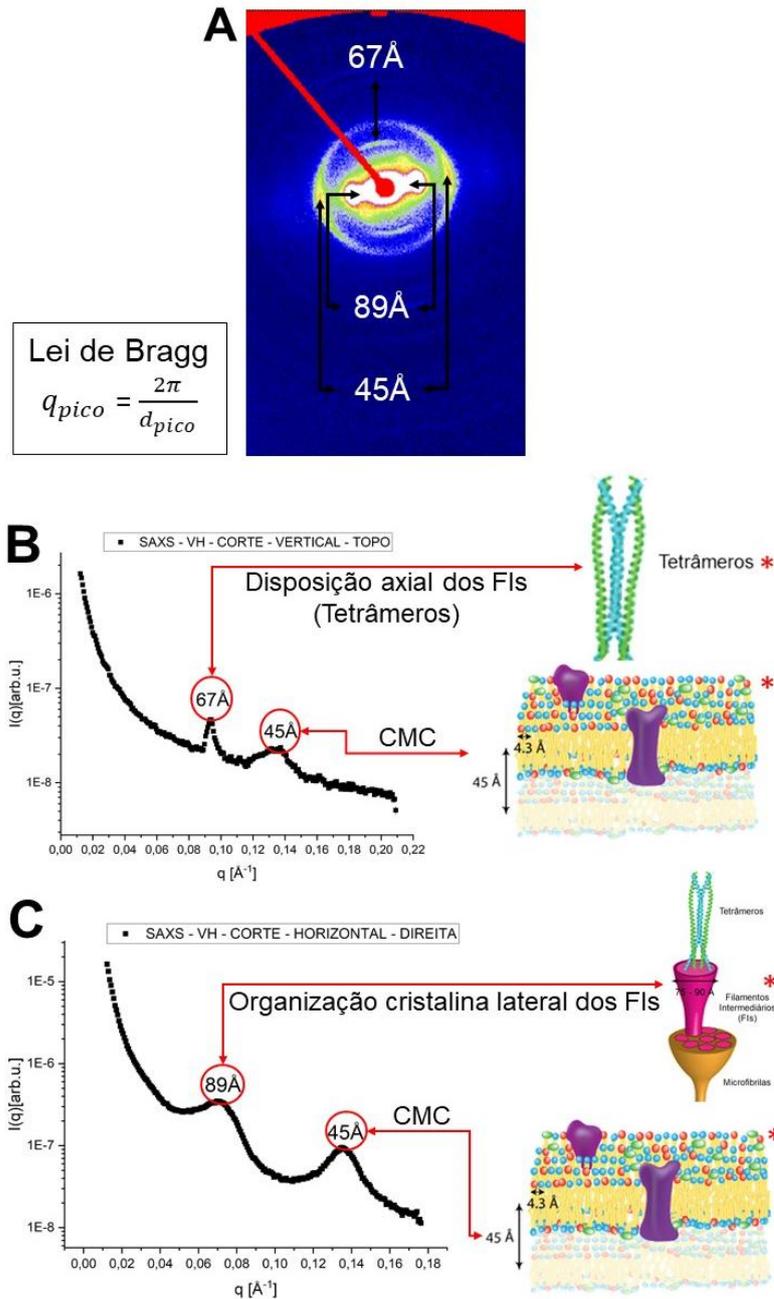


Figura 55: Representação das distâncias de repetição na imagem 2D de SAXS da fibra capilar virgem, com cortes horizontal direita (B) e vertical topo (C), e o (\*) indica a estrutura da fibra capilar correspondente, imagem retirada de (Yang et al., 2014) adaptada.

## 5.6 Dados de WAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH)

A Figura 56A e Figura 56B apresentam imagens bidimensionais típicas de WAXS com as fontes de cobre (Cu) e molibdênio (Mo), respectivamente do cabelo virgem

(VH) a 30°C, com os cortes horizontal direta (Figura 56C) e vertical topo (Figura 56 D).

Assim como foi determinado os picos em SAXS, verificou-se que o pico de 5,1Å (Figura 56C) corresponde a distância de repetição para enrolamento de cada monômero da  $\alpha$ -hélice ( $\alpha$ -queratina) (Yang et al., 2014; Lima et al., 2023)

O pico de 9,8Å (Figura 56D) denominado reflexão equatorial (horizontal) corresponde a distância centro a centro entre cada  $\alpha$ -hélice (Stanic et al., 2015) e (Yang et al., 2014). Já o pico de 4,6Å (Figura 56D) corresponde ao anel lipídico anisotrópico, da CMC na configuração  $\beta$  (Yang et al., 2014).

Finalmente, o pico de 4,3Å (Figura 56C) corresponde ao espaçamento entre duas camadas lipídicas do complexo membrana celular (CMC) (Yang et al., 2014), (Stanic et al., 2015) e (Istrate et al., 2013; Istrate et al., 2009).

Imagem 2D – WAXS-Cu

Imagem 2D – WAXS-Mo

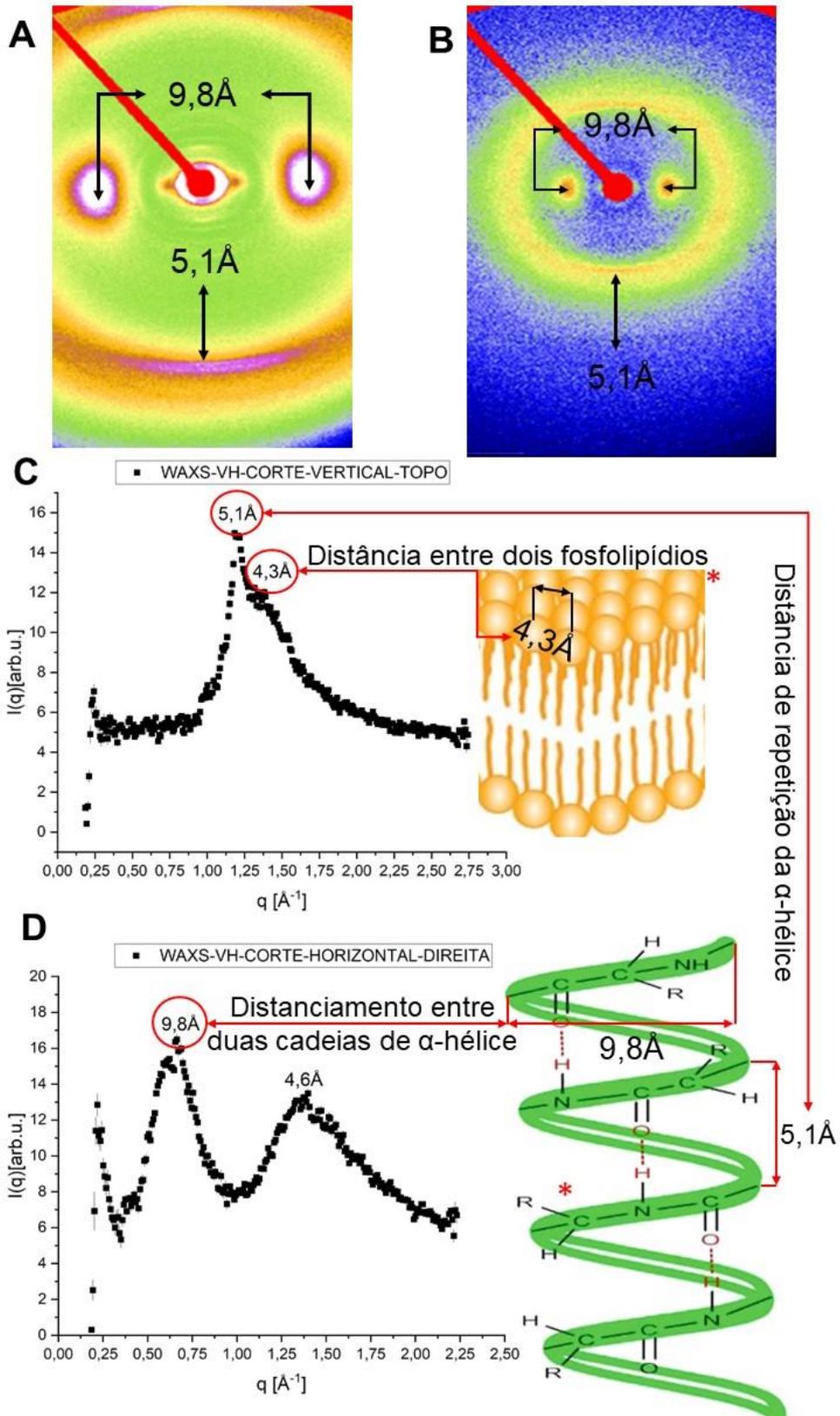


Figura 56: Representação das distâncias de repetição na imagem 2D de WAXS da fibra capilar virgem, com cortes horizontal direita e vertical topo, e o (\*) indica a estrutura da fibra capilar correspondente, Imagem retirada de (Yang et al., 2014; Sharma and Kumar, 2019; Alberts, 2015) adaptada.

## 5.7 Dados de USAXS para mechas de cabelo virgem (CV ou VH) e tratadas

O USAXS consiste no Espalhamento de Raios X a Ultra Baixo Ângulo conforme apresentado na seção 4.10 *Procedimentos Experimentais para USAXS/SAXS/WAXS aplicado em mechas de cabelo*. Nesta configuração obtém-se informações em escala de tamanho submicrométrica da fibra, cuja contribuição provém do espalhamento dos poros nas fibras.

A Figura 57A apresenta as imagens 2D USAXS para os 4 tipos de cabelos investigados. A inspeção visual das imagens já mostra uma variação no espectro observado, indicando alterações estruturais, principalmente para as amostras que sofreram alisamento (SH e BSH).

Em uma publicação recente (Lima et al., 2023) foi realizada a análise e modelagem destes dados de USAXS, fornecendo indicações dos níveis de porosidade de fibras capilares e da alteração promovida pelos tratamentos cosméticos. Como demonstrado naquele trabalho, os tratamentos cosméticos acabam por diminuir a resistência mecânica das fibras uma vez que se tem um aumento do nível de porosidade do meio.

Estes dados de USAXS (Figura 57B) foram complementados por medidas de microtomografia (não mostrada neste trabalho), demonstrando um aumento de 4x na fração de poros da fibra submetida a alisamento e clareamento (BSH) em comparação com a fibra capilar virgem.

A Figura 57B mostra-se dados de USAXS obtidos para os quatro tipos de amostras. Sendo que são apresentados ajustes teóricos usando modelos baseados em estruturas fractais. Estes modelos não serão apresentados nesta dissertação.

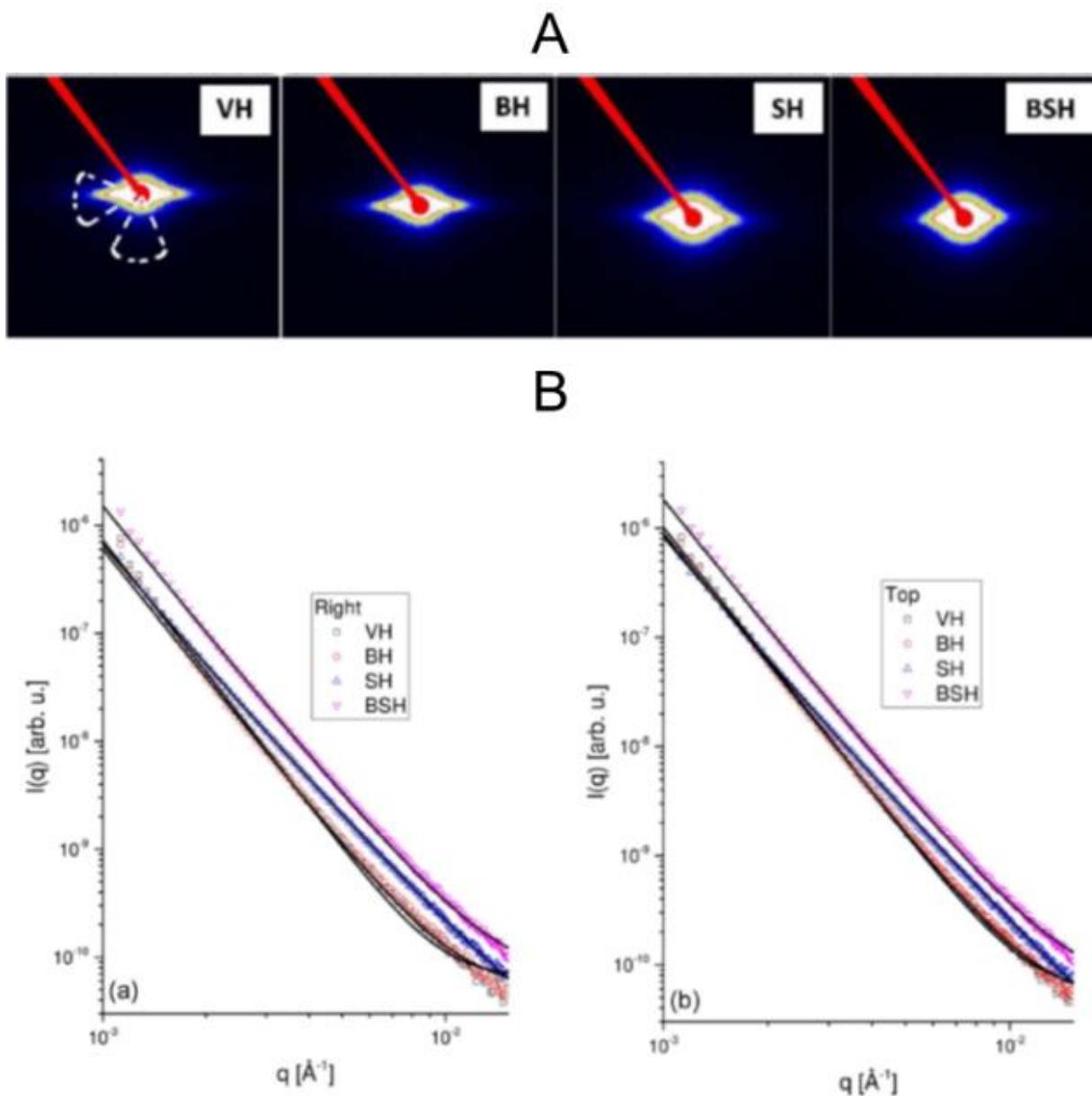


Figura 57: (A) Dados 2D de USAXS da fibra capilar virgem bem como tratadas. Imagem retirada. (B) Cortes verticais e horizontais nas imagens 2D de USAXS para as 4 amostras capilares em escala logarítmica. Imagem retirada de. Sendo os símbolos (dados experimentais) e linhas (modelo teórico).

## 5.8 Combinação dos dados em várias configurações

Como descrito anteriormente, pode-se caracterizar as fibras capilares virgens (VH) a 30°C, através das curvas de espalhamentos (horizontal direita e vertical topo) e com os perfis de espalhamentos: SAXS, WAXS e USAXS. Sendo assim identificou-se na fibra virgem os picos características descritos abaixo (Tabela 3).

**Tabela 3: Caracterização da fibra capilar virgem (VH) a 30°C**

Técnicas de Espalhamentos de Raio X	Fonte de Raio X	Distância amostra detector (mm)	Seção Angular (Corte Angular) (H) – Horizontal (V) – Vertical	Pico de Difração de Raio X (Å)	Estruturas Relacionadas (Espaço Real)
SAXS	Cu	574	H	89 ± 5	Organização lateral cristalina dos FIs.
SAXS	Cu	574	H e V	45 ± 2	(CMC)
SAXS	Cu	574	V	67 ± 2	Disposição axial dos FIs
WAXS	Cu	173	H	9,8 ± 0,2	Distância entre cada centro de $\alpha$ -hélices
WAXS	Cu	173	V	5,1 ± 0,3	Distância de repetição das $\alpha$ -hélices
WAXS	Mo	173	V	4,3 ± 0,2	Distância entre as cabeças fosfolipídios
WAXS	Mo	173	H	4,6 ± 0,2	CMC na conformação $\beta$

A partir da descrição de uma fibra de cabelo virgem a 30°C, pode-se avaliar as alterações anatômicas e topológicas quando submetida a gradientes de temperatura.

A Figura 58 ilustra uma sequência típica de dados de SAXS e WAXS para um processo de aquecimento Figura 58A, enquanto as Figura 58B e Figura 58C

apresentam as curvas de SAXS nos cortes: Horizontal – Direita e Vertical – Topo do cabelo virgem durante o mesmo método.

Neste caso, percebe-se que perfil de espalhamento do anel lipídico da CMC cujo pico está relacionado ao sinal em  $45\text{\AA}$  à  $30^\circ\text{C}$  (Figura 58B) varia conforme o aumento progressivo da temperatura.

Note que as setas em vermelho apontam para as transformações da CMC mediante as imagens 2D de SAXS (Figura 58A) e através do gráfico corte horizontal direita (Figura 58B) o qual apresenta as mudanças nos picos da estrutura lipídica e sua periodicidade interna.

Já os arranjos dos filamentos intermediários (FIs) com pico de  $89\text{\AA}$  à  $30^\circ\text{C}$  em SAXS (Figura 58B) permanecem inalterados até  $250^\circ\text{C}$ , assim como a disposição axial entre as moléculas dos FIs com pico de  $67\text{\AA}$  à  $30^\circ\text{C}$  em SAXS (Figura 58C), as quais diminuem ligeiramente sua intensidade a partir de  $260^\circ\text{C}$  e então desaparecem a partir de  $270^\circ\text{C}$ , assim como os picos na região de WAXS delimitados pelos retângulos em verde (Figura 58B e Figura 58C). Esses dois casos estão relacionados à quebra de ligações de enxofre na estrutura do cabelo, que gera o enfraquecimento.

Em USAXS, verificou-se de modo preliminar a presença de poros no interior das fibras capilares e seus efeitos para a resistência mecânica da fibra, de acordo com o tipo de tratamento: clareamento (básico) ou alisamento (ácido) (Figura 57). Ademais pode-se analisar o mecanismo de retenção de água no interior das fibras através das bicamadas lipídicas.

Após a identificação e caracterização dos sinais de SAXS/WAXS/USAXS presentes nas mechas de fibras capilares virgens em  $30^\circ\text{C}$ ,  $100^\circ\text{C}$ ,  $150^\circ\text{C}$ ,  $250^\circ\text{C}$  e  $270^\circ\text{C}$  (Figura 58B e Figura 58C).

Iniciou-se a investigação e análise de modo análogo para as mechas quimicamente tratadas [alisadas (SH), descoloridas (BH) e alisado/descoloridas (BSH)] quando submetidas ao mesmo mecanismo de aquecimento.

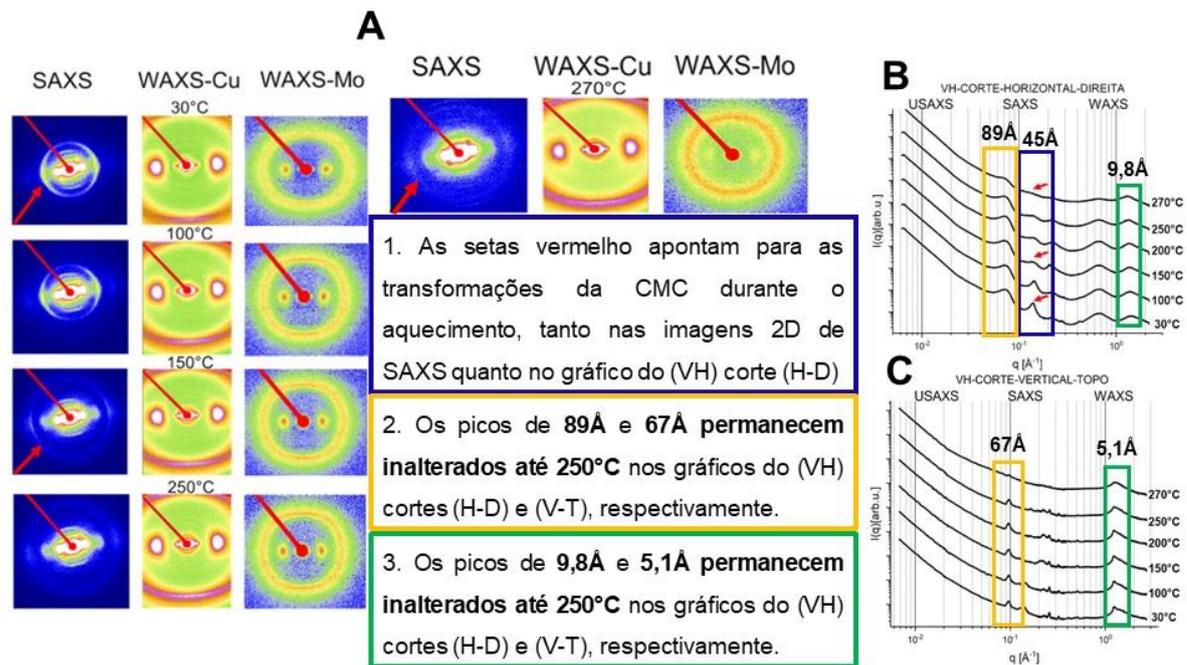


Figura 58: **(A)** Imagens 2D de SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 250°C e 270°C. **(B)** Curvas de USAXS, SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo, corte horizontal direita do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica. e **(C)** Curva de USAXS, SAXS, WAXS – Cu e WAXS – Mo, corte vertical topo do cabelo virgem nas temperaturas: 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica.

## 5.9 Dados de USAXS/SAXS/WAXS para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) submetidas a variações de temperatura

Partindo dos dados obtidos para as amostras de cabelo virgem (Figura 55, Figura 56 e Figura 57), identificou-se as regiões de interesse a serem avaliadas nas mechas de cabelo quimicamente transformadas (SH, BH e BSH).

As Figura 59 e Figura 60 apresentam as curvas de SAXS das mechas: VH, SH, BSH e BH nos cortes horizontal direita e vertical topo submetidos a gradientes de temperatura, respectivamente.

Através das curvas de USAXS/SAXS/WAXS, foi possível observar a diferença nos espalhamentos das amostras, demonstrando que as alterações estruturais e

termodinâmicas diferem entre si, por causa das alterações no pH dos produtos aplicados.

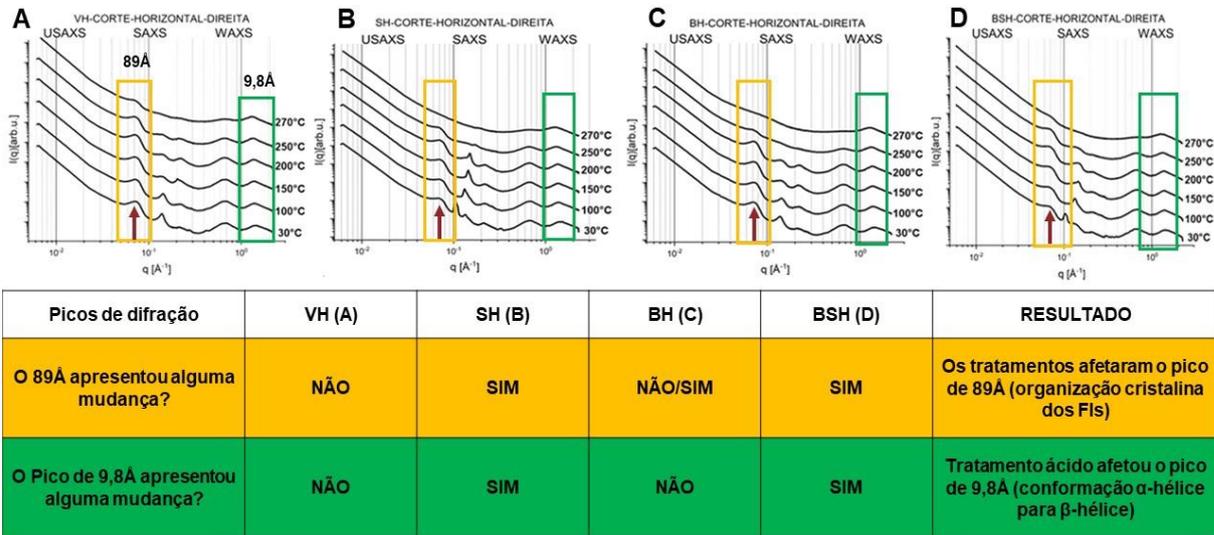


Figura 59: Curvas de SAXS (cortes horizontal direita) para as fibras: virgens (CV ou VH) - A, descoloridas (CD ou BH) - B, alisadas (CA ou SH) - C e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) - D em escala logarítmica.

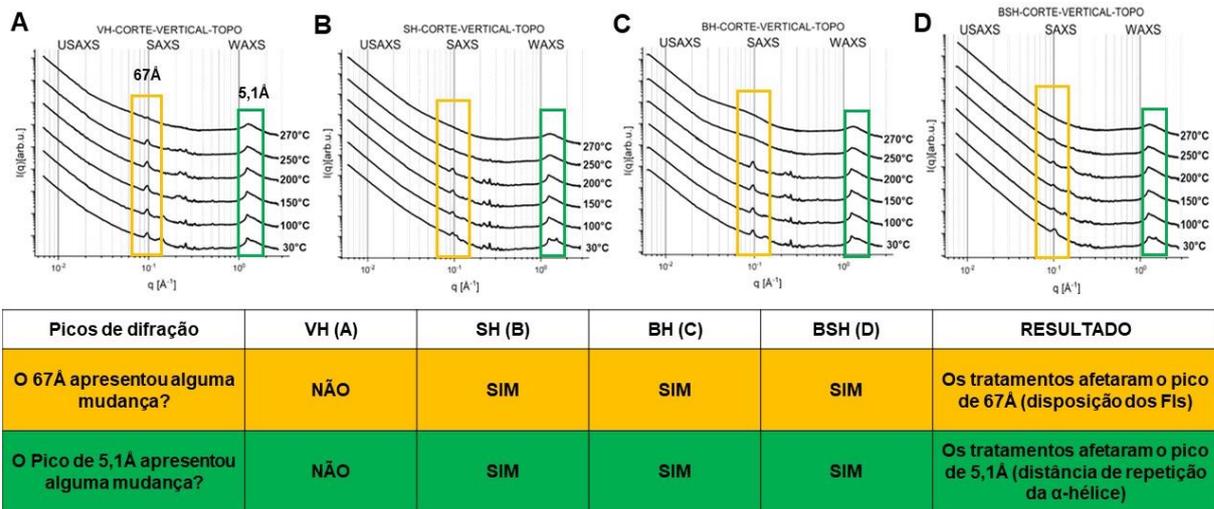


Figura 60: Curvas de SAXS (cortes vertical topo) para as fibras: virgens (CV ou VH) - A, descoloridas (CD ou BH) - B, alisadas (CA ou SH) - C e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH) - D em escala logarítmica.

A partir da análise da Figura 59 na região de SAXS é possível observar o sinal de 89Å para todas as amostras, correspondendo a organização lateral cristalina das

microfibrilas de acordo com (Kreplak et al., 2004) tanto para mechas as virgens (sem tratamento) quanto para as amostras alisadas e aquecidas.

Sendo que para as mechas alisadas (SH e BSH) (Figura 59B e Figura 59D) constatou-se um ligeiro aumento para 90Å, que segundo (Kreplak et al., 2004) corresponde a uma alteração na organização lateral cristalina, enquanto para as mechas descolorida permaneceu com 89Å.

Esses resultados sugerem que o tratamento ácido aplicado as fibras (SH e BSH) alteraram os FIs e, conseqüentemente as distâncias entre próprias microfibrilas (Lima et al., 2023).

Ainda em SAXS, encontra-se o próximo pico de 45Å (Figura 61A), que corresponde a organização lipoproteica do cabelo denominado complexo da membrana celular (CMC).

Em termos biológicos, a CMC constitui-se de regiões polares e apolares, a primeira é hidrofílica enquanto a segunda é hidrofóbica respectivamente, cuja função é difundir água, lipídios (ácidos graxos) e sais do meio externo (cutícula) para interno (córtex), similar a uma biomembrana exceto pela presença de carboidratos apenas.

Através desse comportamento pode-se modelar o complexo da membrana celular (CMC) como uma superposição de várias biomembranas, assim como o mosaico de blocos que compõem um cristal de numerosos planos cristalinos idênticos (Figura 61B).

Na literatura, existem diversos trabalhos que indicam que estes componentes dão origem a uma reflexão em forma de anel em 45Å. Este sinal está relacionado aos lipídeos que compõem o complexo de membrana celular (CMC), para amostra de cabelo descolorido (BH) sabe-se que a descoloração diminui a quantidade de matéria lipídica (Robbins, 1988).

Baseado nisso, a caracterização do sinal em 45Å não é trivial (Figura 61C), porque a distribuição dos lipídios lamelares não é uniforme por todo o córtex, isso pode estar atrelado a orientação da fibra.

Pico de  $45\text{\AA}$  corresponde a distância estrutural interna das várias bicamadas lipídicas sobrepostas do complexo de membrana celular (CMC), de acordo com a orientação da fibra.

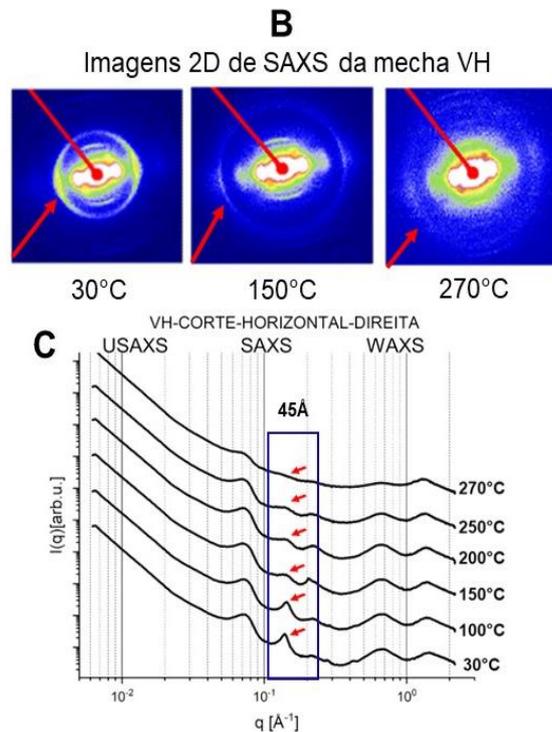
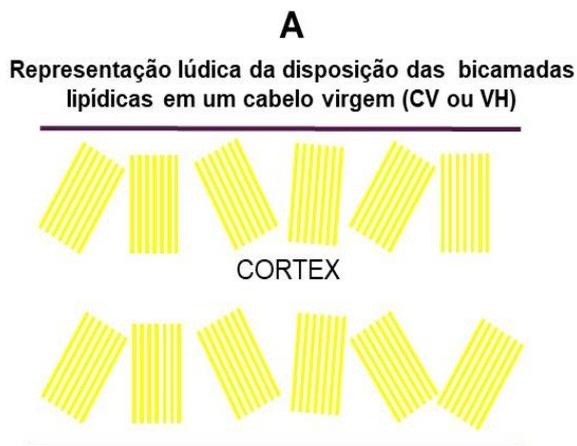
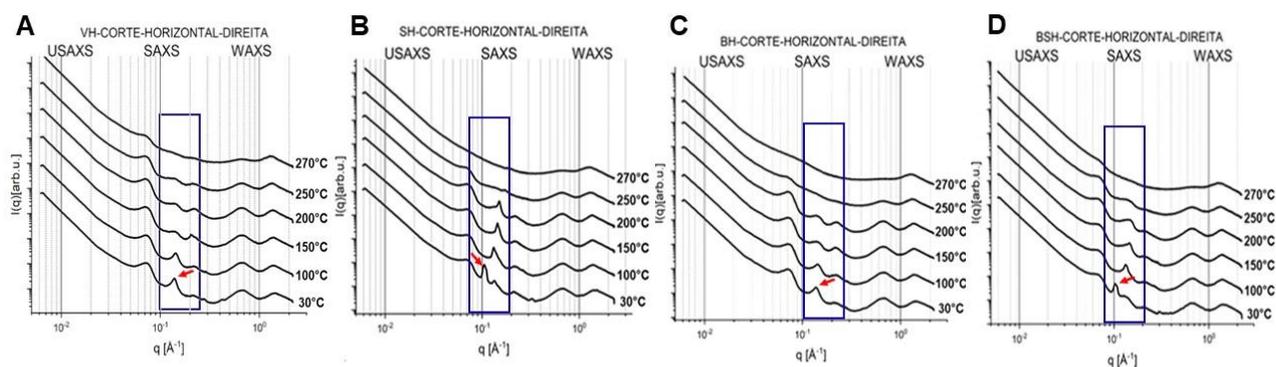


Figura 61: Representação lúdica da CMC. (A) Modelo fictício da disposição das bicamadas lipídicas da CMC. (B) Imagem bidimensionais de SAXS do cabelo virgem (CV ou VH) em  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $150^{\circ}\text{C}$  e  $270^{\circ}\text{C}$ , onde as setas vermelhas apontam para as transformações da CMC durante aquecimento. (C) Curvas de SAXS do corte horizontal direita do cabelo virgem (CV ou VH) em  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $100^{\circ}\text{C}$ ,  $150^{\circ}\text{C}$ ,  $200^{\circ}\text{C}$ ,  $250^{\circ}\text{C}$  e  $270^{\circ}\text{C}$  em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações do pico de  $45\text{\AA}$  da CMC durante aquecimento.

A largura do pico nos dados de difração da Figura 61C está relacionada com o tamanho do domínio cristalino, através da formula de Scherrer, mostrada na equação 38 (Cullity and Stock, 2014).

Através dessa metodologia pode-se estimar os sinais característicos da CMC na fibra virgem (VH), que correspondem a periodicidade lamelar em  $45\text{\AA}$  (direção horizontal e vertical na região de SAXS), e os anéis com espaçamentos de cerca de  $4,3\text{\AA}$  (direção horizontal na região de WAXS na Figura 56).

Então, a maneira encontrada para avaliar as alterações da CMC nas demais mechas: SH, BH e BSH foi contabilizar as variações na periodicidade e da largura dos picos de difração relacionados a CMC indicados pelas setas em vermelho e delimitados pelos retângulos em azul na Figura 62.



A periodicidade e domínio cristalino das mechas SH(B) e BSH (D) mudaram em relação ao VH (A), o que não aconteceu com o BH (C).

Figura 62: Curvas de SAXS corte horizontal direita para as fibras virgem (CV ou VH) - A, alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisada/descoloridas (CAD ou BSH) á 30°C em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações dos picos da CMC de cada mecha durante aquecimento.

Os dados da posição do pico da CMC, largura do pico da CMC, periodicidade e domínio cristalino da Tabela 4 foram estimados conforme exposto na seção 4.11 Difração de Raios X (XRD).

**Tabela 4 – Comparativo entre as variações na periodicidade e domínio cristalino entre as fibras VH, SH, BH e BSH á 30°C**

Amostra	Posição do pico da CMC em ( $\text{\AA}^{-1}$ )	Largura do pico da CMC em ( $\text{\AA}^{-1}$ )	Periodicidade ( $\text{\AA}$ )	Domínio cristalino ( $\text{\AA}$ )	Número de planos
VH	$0,13788 \pm 0,00001$	$0,0187 \pm 0,007$	$45,57 \pm 0,05$	$340 \pm 120$	$7 \pm 3$
SH	$0,10521 \pm 0,00001$	$0,00533 \pm 0,00009$	$59,72 \pm 0,07$	$1200 \pm 20$	$19 \pm 1$
BSH	$0,10280 \pm 0,00004$	$0,0052 \pm 0,0030$	$61,12 \pm 0,21$	$1200 \pm 600$	$20 \pm 10$
BH	$0,13655 \pm 0,00001$	$0,01554 \pm 0,0039$	$46,01 \pm 0,05$	$400 \pm 100$	$9 \pm 2$

Partindo da Figura 62 e Tabela 4 pode-se observar que há uma mudança no arranjo da CMC, para o cabelo virgem (VH) de fato a periodicidade encontra-se em  $45\text{\AA}$  (Figura 62A) aproximadamente e tamanho de domínio cristalino de  $\sim 340\text{\AA}$ , o que corresponde à  $\sim 7$  planos.

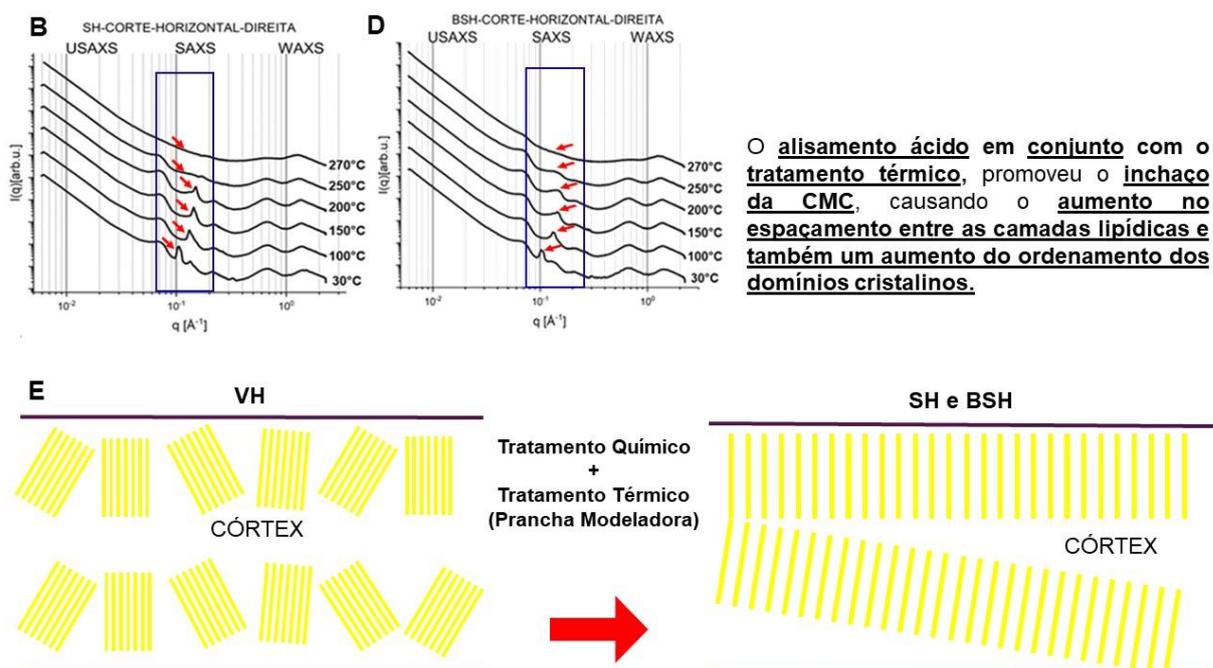
Para as mechas tratadas (CA ou SH), (CD ou BH) e (CAD ou BSH) o pico da CMC localiza-se em torno de  $59,7\text{\AA}$  (Figura 62B),  $61,1\text{\AA}$  (Figura 62C) e  $46\text{\AA}$  (Figura 62D), conforme indicado pelas setas em vermelho respectivamente.

Para o cabelo descolorido (CD ou BH) a periodicidade e tamanho de domínio cristalino ficaram bem próximos ao cabelo virgem, ao passo que para as mechas que sofreram alisamento (SH e BSH) apresentaram um aumento do tamanho do domínio cristalino ( $\sim 1200\text{\AA}$ ) correspondendo à  $\sim 20$  planos.

Note que, a coordenada (abcissa) dos picos da CMC das mechas SH e BSH (Figura 62B e Figura 62D), respectivamente se deslocaram para valores menor em  $q$ , indicando que as estruturas lipídicas das mesmas sofreram algum tipo de transformação no empacotamento lipídico, em vista do VH e BH (Lima et al., 2023), neste caso parece-se que há uma tendência dos planos cristalinos (lipídicos) de orientarem de modo paralelo ao eixo da fibra (Lima et al., 2023).

Esse deslocamento do pico para valores menores das fibras SH (Figura 63B) e BSH (Figura 63D), é ocasionado pelo aumento das distâncias entre as bicamadas lipídicas multilamelares.

Isso pode indicar que a CMC do cabelo virgem (CV ou VH) (Figura 63E) quando submetida aos tratamentos químicos e térmicos transforma-se na CMC dos cabelos alisados (CA ou SH) e alisados/descoloridos (CAD ou BSH) (Figura 63E), este processo consiste no inchamento das bicamadas devido uma maior confinamento de água dentro da fibra capilar, por causa de um aumento no espaçamento entre as camadas lipídicas, indicando que uma quantidade de água considerável consegue ser contida na membrana lipídica do cabelo, alterando assim as distâncias lamelares assim como um incremento no ordenamento dos domínios cristalinos.



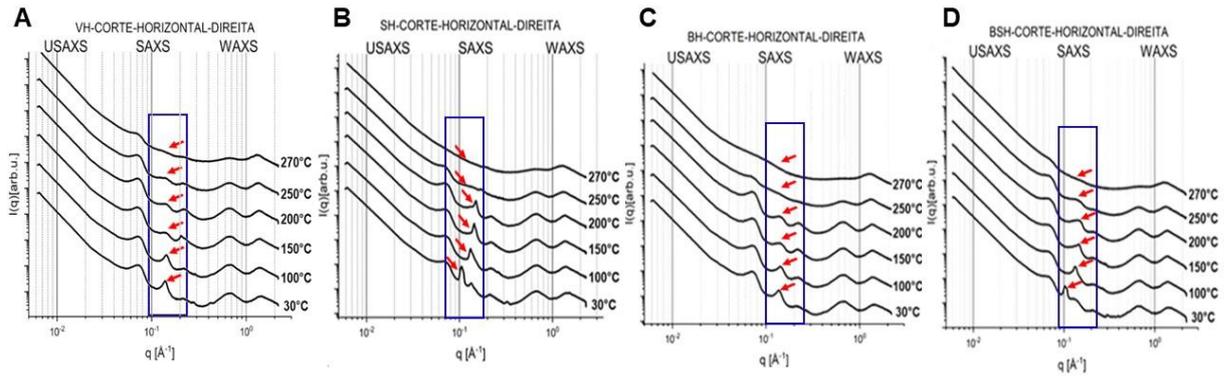
O alisamento ácido em conjunto com o tratamento térmico, promoveu o inchaço da CMC, causando o aumento no espaçamento entre as camadas lipídicas e também um aumento do ordenamento dos domínios cristalinos.

Figura 63: Representação lúdica das transformações das bicamadas lipídicas dos cabelos alisados (CA ou SH) e alisados/descoloridos (CAD ou BSH) em 30°C

Como mencionado acima, o processo de alisamento também promove um aumento do tamanho do domínio cristalino (Tabela 4), provavelmente por um ordenamento maior dos planos da CMC que, inicialmente, encontravam-se desordenados (Figura 63E).

Nas Figura 63B e Figura 63D vemos que para os cabelos alisados, além do pico mais destacado da CMC tem-se um outro, menos pronunciado, exatamente na posição relativa à CMC do cabelo virgem. Isso indica que o processo de alisamento acaba por promover o ordenamento de uma fração das lamelas de CMC, mas uma outra parcela não é afetada pelo procedimento, ficando com a mesma distância interplanar do cabelo virgem.

Como mostrado na Figura 64, com o aumento da temperatura os picos referentes à CMC das mechas SH (Figura 64B) e BSH (Figura 64D) que estavam em posições menores de 'q', se deslocam para a direita e em 100°C a posição dos picos já está próxima à do cabelo virgem (Figura 64A).



Durante o aquecimento a distância interplanar da CMC das mechas SH (59,72Å), BSH (61,12Å) e BH (46,01Å) à 30°C retornam para a configuração do pico de 45Å do VH.

Figura 64: Curvas de SAXS corte horizontal direita para as fibras virgem (CV ou VH) - A, alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisada/descoloridas (CAD ou BSH) à 30°C, 100°C, 150°C, 200°C, 250°C e 270°C em escala logarítmica, onde as setas vermelhas apontam para as transformações dos picos da CMC de cada mecha durante aquecimento.

Para a fibra BH (Figura 64C), percebe-se que o pico da CMC 46Å não variou tanto quanto do VH, porque a ação da descoloração não configura uma transformação abrupta, para que afete a distância entre as bicamadas lipídicas da CMC, porém deve-se comentar que os aquecimentos reordenam as estruturas lipídicas das fibras (BH, SH e BSH) para a configuração do cabelo virgem (VH).

Sendo assim, apenas os cabelos descoloridos/alisados (BSH) e alisados (SH), apresentam uma alteração na posição do pico de CMC para 59,7Å (Figura 64D) e 61,1Å (Figura 64B) respectivamente. Isto indica que a sequência de tratamentos químicos influenciou a concentração lipídica (Lima et al., 2023).

Desta forma, podemos inferir que o alisamento foi o procedimento que promoveu esta alteração como uma maior retenção de água no interior da fibra capilar, isso indica que água permanece confinada na membrana lipídica do cabelo, afetando as distâncias lamelares (Lima et al., 2016).

Portanto, pode-se conjecturar que há uma alteração na organização lipídica no córtex, afetando a interação anfipática das bicamadas lipídicas com a água. Apesar disso, não existe na literatura uma unanimidade a respeito da deposição da formulação cosmética entre as camadas lipídicas, assim como o aumento da periodicidade lamelar ou se esta mudança modifica a interação da fibra com outros produtos cosméticos (Lima et al., 2023).

Já, o pico fino em torno de 67Å dos cortes vertical topo do cabelo virgem (Figura 60A) não apresentou a mesma intensidade, em relação as demais mechas (Figura 60B, Figura 60C e Figura 60D) indicando que também houve uma alteração na arquitetura periódica das moléculas ao longo dos filamentos intermediários.

Neste contexto apenas as mechas submetidas ao alisamento ácido (Figura 60B e Figura 60D) tiveram uma diminuição no tamanho do sinal em 67Å, porque este tratamento deve ter alterado os filamentos intermediários, afetando assim a distância entre cada microfibrilas.

Essa mudança pode ser verificada com os resultados de DSC, indicando de que as mechas SH e BSH sofreram uma maior desnaturação das cadeias cristalinas de FIs, acarretando assim na diminuição do sinal de 67Å conforme visto em SAXS.

Além disso, de um modo geral existem mudanças conformacionais e termodinâmicas da CMC e FIs para as fibras BH, SH e BSH, ademais os tratamentos térmicos causam uma redução nas ligações S-S (Wortmann et al., 2012), promovendo aberturas na matriz, acometendo a estrutura e a permeabilidade à água.

Em WAXS as proteínas de queratina no córtex se organizam em estruturas helicoidais promovendo padrões de reflexão horizontal em 9,8Å que correspondente aos espaçamentos entre os centros de cada  $\alpha$ -hélice e uma reflexão vertical em 5,1Å que se relaciona à torção das hélices que giram em torno uma da outra, dentro de bobinas enroladas.

Estes sinais foram observados para todas as amostras Figura 59(A até D) e Figura 60(A até D). No entanto, observa-se que a intensidade dos picos em 9,8Å e 5,1Å variam entre as mechas, o que evidencia alterações nos FIs devido aos tratamentos cosméticos e térmicos.

Isso foi mais proeminente nos cabelos alisados SH (Figura 59B e Figura 60B) BSH (Figura 59D e Figura 60D), porque nessas mechas houve uma redução na quantidade de proteínas na conformação “enroladas” neste caso a maioria das  $\alpha$ -hélices mudaram de forma para  $\beta$ -pregueada, o que implica uma fragilidade mecânica em relação ao BH e VH.

A Figura 65 apresenta um esquema dos FIs dentro do córtex dos fios de cabelo evidenciando as transformações dessa estrutura. Neste contexto, as alterações dos picos de FIs obtidos por WAXS (Figura 59(B a D) e Figura 60(B a D)) demonstram as

mudanças na estrutura da queratina cristalina do cabelo, porém alguns estudos da literatura comentam que estas alterações só podem ser observadas quando há uma completa desnaturação das cadeias (Figura 65), ou seja, uma transformação inelástica irreversível da fibra tornando-a frágil e quebradiça.

Neste caso foi necessário recorrer aos dados de DSC (Figura 50 e Figura 51) para evidenciar os graus de desnaturação das cadeias de FIs ( $\alpha$ -queratina ou  $\alpha$ -hélice) para amostras de cabelos virgens e tratadas e assim correlacionar com as informações obtidas por USAXS/SAXS/WAXS.

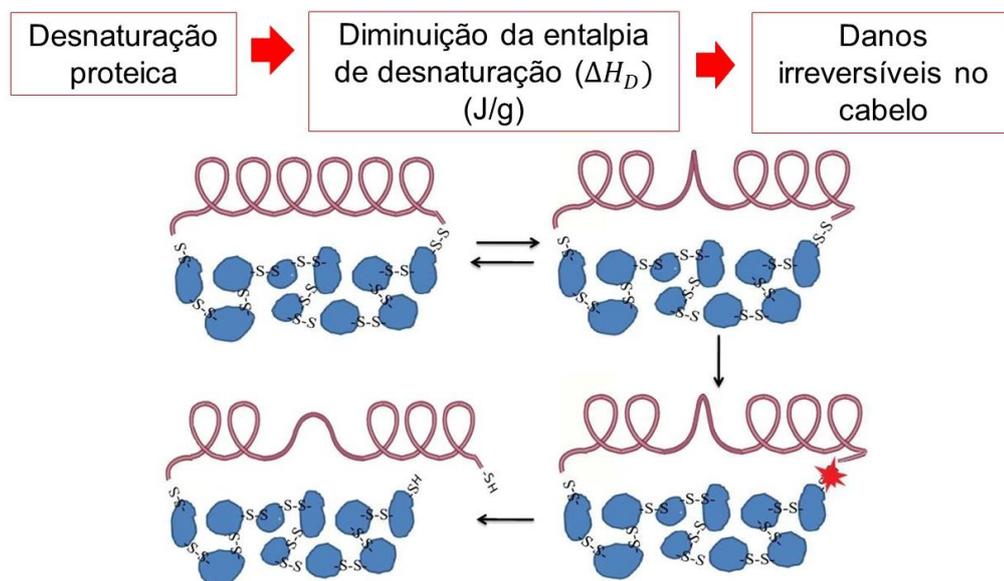


Figura 65: Representa o da via de desnatura o de um resíduo de material helicoidal de filamentos intermediários (Daniel, 2011).

Já em USAXS há indícios que demonstraram diferenças entre as mechas (BH e BSH) que foram submetidas a descolora o/clareamento das demais, pois as primeiras são mais suscetíveis a danos provenientes de tratamentos subsequentes, desde a degrada o da melanina (Robbins, 1988) por causa da presença do peróxido de hidr g nio (que ocorre em um pH próximo a 10), que causa o descolamento das camadas cuticulares, além disso o branqueamento remove o lipídio 18-MEA de modo que potencializa a a o de demais tratamentos, e por fim altera o mecanismo de reten o de água da fibra.

Além disso, nota-se alterações nos picos de 67Å correspondentes aos FIs das amostras de cabelo tratadas, principalmente nas amostras alisadas em meio ácido. Isso pode ser verificado nos cortes verticais topo (V-T) nas Figura 60B, Figura 60C e Figura 60D respectivamente. Estes dados nos permitem concluir que a associação dos tratamentos (descoloração seguida do alisamento) promoveu uma maior alteração, também, na matriz amorfa do córtex.

Nos apêndices: *Curvas de SAXS: VH, SH, BH e BSH – CORTES: HORIZONTAIS DIREITA com TEMPERATURA e VERTICAIS TOPO com TEMPERATURA* apresento todas as curvas de USAXS/SAXS/WAXS com gradientes de temperatura onde pode-se visualizar as mudanças de intensidades e deslocamentos dos picos para os quatro tipos de mechas: VH, SH, BH e BSH para os cortes: horizontais e verticais.

## 6. Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho foi apresentado uma investigação multidisciplinar combinando dados estruturais e termodinâmicas de fibras capilares humanas, nativas e submetidas a tratamentos químicos e térmicos, utilizando diversas técnicas experimentais: SAXS, DSC, MO e MEV.

Para as medidas de SAXS foi preciso definir uma estratégia para obtenção da orientação das fibras, e com isso a definição dos setores angulares de interesse para a integração das imagens bidimensionais. Desta forma foram obtidos os perfis unidimensionais de intensidade para a realização da análise da estrutura interna das fibras capilares, como a variação estrutural do CMC devido à retenção da água, decorrente de um aumento das distâncias interplanares das bicamadas lipídicas, como observado pela comparação das várias mechas investigadas VH, SH, BH e BSH.

As medidas de DSC demandaram procedimentos iniciais de calibração e limpeza do equipamento de modo a garantir a reprodutibilidade dos dados obtidos. Com isso, foram definidos protocolos para caracterizar o sistema de medição e dos cadinhos abertos de Al, para analisar desnaturação dos FIs (queratina-hélice) de cada fibra capilar: VH, SH, BH e BSH no processo de aquecimento de 30 a 300°C.

Através do MO e MEV foi possível descrever de modo qualitativo e visual das alterações e danos que as fibras sofreram no decorrer dos procedimentos químicos e/ou térmicos, quando sujeitas a alisamentos térmicos (gradientes de temperatura).

Pelo uso desse conjunto de métodos experimentais: Espalhamento de Raio X a Baixos Ângulos (USAXS/SAXS/WAXS), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Microscopia Ótica (MO) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (MEV), foi possível avaliar de modo detalhado as alterações na microestrutura em diferentes escalas de comprimento dentro a fibra capilar provocada por diferentes tratamentos cosméticos.

Este projeto contribuiu para a obtenção de resultados inéditos na literatura que permitiram publicação de um artigo científico de grande impacto na literatura, mostrando efeitos dos tratamentos cosméticos nas fibras capilares. A abordagem proposta neste trabalho pode ser utilizada como protocolo para estudos em fibras capilares em diversos outros tipos de estudos e aplicações.

Neste trabalho foram realizadas análises iniciais dos dados de espalhamento, mas é possível realizar análises e modelagens mais avançadas. Esta abordagem será realizada em estudos futuros. Além disso pretende-se utilizar as características estruturais e termodinâmicas de fibras capilares como potenciais indicadores da saúde do indivíduo, através da correlação da análise multifatorial proposta neste artigo com outros indicadores clínicos (Adeola et al., 2018). Esta abordagem também será utilizada como prosseguimento deste trabalho.

## 7. Referências Bibliográficas

- Adeola, H. A., Van Wyk, J. C., Arowolo, A. T., and Khumalo, N., Blumenberg, M. (Ed.): Human Hair as a Testing Substrate in the Era of Precision Medicine: Potential Role of 'Omics-Based Approaches, IntechOpen, 20 pp., 10.5772/intechopen.77215, 2018.
- Alberts, B.: Molecular biology of the cell, Sixth edition., Garland Science, Taylor and Francis Group, New York, NY, 1 volume (various pagings) pp.2015.
- Alessandra, M. G.: Avaliação das Propriedades das Fibras Capilares Tratadas com Alisante Ácido com Diferentes Valores de pH, FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, UNIVERISADE DE SÃO PAULO, <https://doi.org/10.11606/D.9.2019.tde-07052019-154247> 2019.
- Ara, S., Ajima, M., J. Gordon, R., Terada, D., and Heid, M.: Support for Use of Tabletop Microscopes in Science Education, 2013.
- Arfken, G. and Weber, H.: Física Matemática: Métodos Matemáticos para Engenharia e Física, 2007.
- Astbury, W. T., Marwick, T. C., and Bernal, J. D.: X-ray analysis of the structure of the wall of Valonia ventricosa : I, Royal Society1932.
- Atkins, P. and Jones, L.: Princípios de Química: QUESTIONANDO A VIDA MODERNA E O MEIO AMBIENTE, 2014.
- Attwood, D. G., Eric.Howells, Malcolm.Kim, Kwang-Je.Kirz, Janos.Kortright, Jeff.Lindau, Ingolf.Pianetta, Piero.Robinson, Arthur.Thompson, Al.Thompson, Albert.Underwood, James.Vaughan, Doug.Williams, Gwyn.Winick, Herman.: X-RAY DATA BOOKLET, Lawrence Berkeley National Laboratory2009.
- B. REECE, J., A. URRY, L., L. CAIN, M., A. WASSERMAN, S., V. MINORSKY, P., and B. JACKSON, R.: BIOLOGIA de CAMPBELL, 10, artmed2015.
- Baias, M., Demco, D. E., Popescu, C., Fechete, R., Melian, C., Blümich, B., and Möller, M.: Thermal Denaturation of Hydrated Wool Keratin by H-1 Solid-State NMR, Journal of Physical Chemistry B, 113, 2184-2192, 10.1021/jp8094616, 2009.
- Belletti, K. M., Feferman, I. H., Mendes, T. R., Piaciski, A. D., Monteiro, V. F., Carreño, N. L., Valentini, A., Leite, E. R., and Longo, E.: Evaluation of hair fiber hydration by differential scanning calorimetry, gas chromatography, and sensory analysis, J Cosmet Sci, 54, 527-535, 2003.
- Busson, B., Briki, F., and Doucet, J.: Side-chains configurations in coiled coils revealed by the 5.15-Å meridional reflection on hard alpha-keratin X-ray diffraction patterns, J Struct Biol, 125, 1-10, 10.1006/jsbi.1999.4082, 1999.
- Cao, J., Kyohei, J., and John, R. C.: DSC Studies of the Melting Behavior of  $\alpha$ -Form Crystallites in Wool Keratin., 10.1177/004051759706700207, 1997.
- Chandrashekara, M. N. and Ranganathaiah, C.: Chemical and photochemical degradation of human hair A free-volume microprobe study, Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology, 101, 286-294, 10.1016/j.jphotobiol.2010.07.014, 2010.
- CLAUDE, B. and JOHN, W.: THE SCIENCE OF HAIR CARE, 2005.
- Clementino da Silva, E., Valéria Robles Velasco de Paola, M., and Rosário Matos, J.: Análise térmica aplicada à cosmetologia, <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000300004>, 2007.
- Colenci, A. V. P.: Efeito de uma formulação contendo o biopolímero quitosana sobre a fibra capilar caucasiana Interunidades em Bioengenharia, Universidade de São Paulo Campos de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil, 10.11606/D.82.2007.tde-14022008-090538 2007.
- Consden, R., Gordon, A. H., and Martin, A. J. P.: Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper, Biochemical Journal, 38, 224-232, 10.1042/bj0380224, 1944.
- Crewther, W. G., Dowling, L. M., Steinert, P. M., and Parry, D. A. D.: STRUCTURE OF INTERMEDIATE FILAMENTS, International Journal of Biological Macromolecules, 5, 267-274, 10.1016/0141-8130(83)90040-5, 1983.
- Cullity, B. D. and Stock, S. R.: Elements of x-ray diffraction, International of third, Pearson Education Limited, Harlow2014.
- Cássia Comis Wagner, R.: A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor do cabelo, Departamento de Físico-Química, Universidade Estadual de Campinas, <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2006.385323>, 2006.
- Daniel, I.: Heat induced denaturation of fibrous hard  $\alpha$ -keratins and their reaction with various chemical reagents, Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der RWTH Aachen University zur, 158 pp., 2011.

- Dharmagat Bhattarai, A. Z. B., Rohit Sadanand, Kanika Arora, Gurjit Kaur, Satish Sharma and Rawat, A.: Hair microscopy: an easy adjunct to diagnosis of systemic diseases in children, 10.1186/s42649-021-00067-6, 2021.
- E. Plowman, J., P. Harland, D., and Deb-Choudhury, S.: The Hair Fibre: Proteins, Structure and Development 2018.
- E. Turner, J.: Atoms, Radiation, and Radiation Protection Wiley-VCH2007.
- F. Carvalho, H. and Maria Recco-Pimentel, S.: A célula, 2013.
- Formanek, F., De Wilde, Y., Luengo, G. S., and Querleux, B.: Investigation of dyed human hair fibres using apertureless near-field scanning optical microscopy, Journal of Microscopy, 224, 197-202, 10.1111/j.1365-2818.2006.01685.x, 2006.
- Fraser, R. D. B., Macrae, T. P., Sparrow, L. G., and Parry, D. A. D.: DISULFIDE BONDING IN ALPHA-KERATIN, International Journal of Biological Macromolecules, 10, 106-112, 10.1016/0141-8130(88)90017-7, 1988.
- G. W. H. Hahne, w. H. and Flammersheim, H.-J., 1996, S.-V. B. H. (Ed.): Differential Scanning Calorimetry, 10.1007/978-3-662-03302-9, 1996.
- Guinier, A. a. F., Fournet, G. r., Walker, C. B., and Yudowitch, K. L.: Small-Angle Scattering of X-Rays ... Translation by Christopher B. Walker ... Followed by a bibliography by Kenneth L. Yudowitch, pp. xi. 268. John Wiley & Sons: New York; Chapman & Hall: London1955.
- I. Goldstein, J., E. Newbury, D. E., R. Michael, J., W.M. Ritchie, N., Henry J. Scott, J., and C. Joy, D.: Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis, 2018.
- Istrate, D., Popescu, C., and Möller, M.: Non-Isothermal Kinetics of Hard  $\alpha$ -Keratin Thermal Denaturation, Macromolecular Bioscience, 9, 805-812, 10.1002/mabi.200800344, 2009.
- Istrate, D., Popescu, C., Rafik, M. E., and Moller, M.: The effect of pH on the thermal stability of fibrous hard alpha-keratins, Polymer Degradation and Stability, 98, 542-549, 10.1016/j.polymdegradstab.2012.12.001, 2013.
- Johnson, D. J. and Sikorski, J.: MOLECULAR AND FINE STRUCTURE OF ALPHA-KERATIN, Nature, 194, 31-&, 10.1038/194031a0, 1962.
- Johnson, D. J. and Sikorski, J.: MOLECULAR AND FINE STRUCTURE OF ALPHA-KERATIN (4), Nature, 205, 266-&, 10.1038/205266a0, 1965.
- Kreplak, L., Doucet, J., and Briki, F.: Unraveling double stranded alpha-helical coiled coils: An x-ray diffraction study on hard alpha-keratin fibers, Biopolymers, 58, 526-533, 10.1002/1097-0282(20010415)58:5<526::aid-bip1028>3.0.co;2-l, 2001.
- Kreplak, L., Doucet, J., Dumas, P., and Briki, F.: New aspects of the alpha-helix to beta-sheet transition in stretched hard alpha-keratin fibers, Biophysical Journal, 87, 640-647, 10.1529/biophysj.103.036749, 2004.
- Lima, C. R. R. C., Lima, R. J. S., Bandeira, A. C. C., Couto, R. A. A., Velasco, M. V. R., Bordallo, H. N., and Oliveira, C. L. P.: Alterations promoted by acid straightening and/or bleaching in hair microstructures, Journal of Applied Crystallography, 56, 1002-1014, 10.1107/s1600576723005599, 2023.
- Lima, C. R. R. D., de Almeida, M. M., Velasco, M. V. R., and Matos, J. D.: Thermoanalytical characterization study of hair from different ethnicities, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 123, 2321-2328, 10.1007/s10973-015-5070-6, 2016.
- Lima, C. R. R. D., Machado, L. D. B., Velasco, M. V. R., and Matos, J. D.: DSC measurements applied to hair studies, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 132, 1429-1437, 10.1007/s10973-018-7095-0, 2018.
- Lindner, P. and Zemb, T.: Neutrons, X-rays, and light : scattering methods applied to soft condensed matter, 1st, North-Holland delta series, Elsevier, Amsterdam ; Boston, x, 541 pages : illustrations pp.2002.
- Maria Maliska, A.: MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.
- Marzocco, A. and Baptista Torres, B.: Bioquímica básica, 4 edição, 2015.
- Mercer, E. H.: Cells and cell structure, Rev., Hutchinson, London1965.
- MERTZ, J.: Introduction to Optical Microscopy, Second Edition, Cambridge University Press2019.
- Milczarek, P., Zielinski, M., and Garcia, M. L.: THE MECHANISM AND STABILITY OF THERMAL TRANSITIONS IN HAIR KERATIN, Colloid and Polymer Science, 270, 1106-1115, 10.1007/bf00652875, 1992.
- Monteiro, V. F., Maciel, A. P., and Longo, E.: Thermal analysis of caucasian human hair, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 79, 289-293, 10.1007/s10973-005-0051-9, 2005.
- Murphy, D. B. and Dawson, B.: Fundamentals of light microscopy and electronic imaging, Wiley-Liss, New York2001.
- Okuno, E. and Yoshimura, E., Textos, O. d. (Ed.): Física das Radiações, 2010.

- Oliveira, C. L. P.: Estudo estrutural de proteínas em solução: modelagem a partir de dados de espalhamento de raios "x" a baixo ângulo, Departamento de Física da Matéria Condensada, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Física Gleb Wataghin (IFGW), Campinas, SP, Brasil, 2005.
- Oliveira, C. L. P.: MODELAGEM DE DADOS DE ESPALHAMENTO E DIFRAÇÃO A BAIXOS ÂNGULOS Física da Matéria Condensada Universidade de São Paulo, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, SP, Brasil., 10.11606/T.43.2016.tde-04032016-175643 2015.
- Oseliero Filho, P. L.: Estudo estrutural e termodinâmico de sistemas auto-organizados: Micelas em solução, Física da matéria condensada, Universidade de São Paulo, Instituto de Física, 10.11606/D.43.2013.tde-19112014-110746, 2013.
- Pauling, L. and Corey, R. B.: THE STRUCTURE OF HAIR, MUSCLE, AND RELATED PROTEINS, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 37, 261-271, 10.1073/pnas.37.5.261, 1951.
- Pauling, L. and Corey, R. B.: THE CONFIGURATION OF POLYPEPTIDE CHAINS IN PROTEINS, Fortschritte Der Chemie Organischer Naturstoffe, 11, 180-239, 1954.
- Popescu, C. and Gummer, C.: DSC of human hair: a tool for claim support or incorrect data analysis?, International Journal of Cosmetic Science, 38, 433-439, 10.1111/ics.12306, 2016.
- READING, M. and J. HOURSTON, D.: MODULATED-TEMPERATURE DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY Theoretical and Practical Applications in Polymer Characterisation, Springer2006.
- RICHENA, M.: EFEITOS DA IRRADIAÇÃO NA MORFOLOGIA E ESTRUTURA DO CABELO INSTITUTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2015.958956>, 2015.
- Robbins, C. R.: Chemical and physical behavior of human hair, New York1988.
- Portal da Microscopia: <https://fap.if.usp.br/~nandast/sobre.html>, last
- Sakurai, J. J. and Napolitano, J.: MODERN QUANTUM MECHANICS Second, 1994.
- Sharma, S. and Kumar, A.: Keratin as a Protein Biopolymer, 2019.
- Spei, M. and Holzem, R.: THERMOANALYTICAL INVESTIGATIONS OF EXTENDED AND ANNEALED KERATINS, Colloid and Polymer Science, 265, 965-970, 10.1007/bf01412398, 1987.
- Stanic, V., Bettini, J., Montoro, F. E., Stein, A., and Evans-Lutterodt, K.: Local structure of human hair spatially resolved by sub-micron X-ray beam, Scientific Reports, 5, 10.1038/srep17347, 2015.
- Sundblom, A., Oliveira, C. L. P., Palmqvist, A. E. C., and Pedersen, J. S.: Modeling in Situ Small-Angle X-ray Scattering Measurements Following the Formation of Mesostructured Silica, Journal of Physical Chemistry C, 113, 7706-7713, 10.1021/jp809798c, 2009.
- Svergun, D. I. and W. Taylor, G.: Structure Analysis by Small-Angle X-Ray and Neutron Scattering, 1987.
- Velasco, M. V. R., Dias, T. C. D., de Freitas, A. Z., Vieira, N. D., Pinto, C., Kaneko, T. M., and Baby, A. R.: Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 45, 153-162, 10.1590/s1984-82502009000100019, 2009.
- W.Sears, F. and L. Sallinger, E. G.: Termodinâmica, Teoria Cinética e Termodinâmica Estatística, 1979.
- Wortmann, F. J. and Deutz, H.: Thermal analysis of ortho- and para-cortical cells isolated from wool fibers, Journal of Applied Polymer Science, 68, 1991-1995, 1998.
- Wortmann, F. J., Wortmann, G., Marsh, J., and Meinert, K.: Thermal denaturation and structural changes of alpha-helical proteins in keratins, Journal of Structural Biology, 177, 553-560, 10.1016/j.jsb.2011.09.014, 2012.
- Yang, F. C., Zhang, Y., and Rheinstadter, M. C.: The structure of people's hair, Peerj, 2, 10.7717/peerj.619, 2014.
- Yu, Y., Yang, W., Wang, B., and Meyers, M. A.: Structure and mechanical behavior of human hair, Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 73, 152-163, 10.1016/j.msec.2016.12.008, 2017.
- Zhou, Y., Rigoletto, R., Koelmel, D., Zhang, G., Gillece, T. W., Foltis, L., Moore, D. J., Qu, X., and Sun, C.: The effect of various cosmetic pretreatments on protecting hair from thermal damage by hot flat ironing, Journal of Cosmetic Science, 62, 265-282, 2011.

## Apêndices

### a. pH

Breve revisão de química, especificamente pH (“potencial Hidrogeniônico”), porque esses parâmetros determinam as propriedades e conformações das proteínas, queratinas e  $\alpha$ -hélice na descoloração ou alisamento ácido.

O grau de acidez uma solução depende da concentração de íons ( $H_3O^+$ ) dissolvido em alguma solução, que pode ser estimado através da escala logarítmica de pH equação (39), cuja graduação começa em 0 e termina em 14 (Atkins and Jones, 2014).

$$pH = -\log_{10}(H_3O^+) \quad (39)$$

Sendo que, a partir da equação 39 convencionou-se que:

- (I)  $pH < 7$  trata-se de uma solução ácida.
- (II)  $pH = 7$  trata-se da água pura a  $25^\circ C$
- (III)  $pH > 7$  trata-se de uma solução básica ou alcalina.

Portanto, quanto maior concentração do ácido menor o pH, caso contrário menor concentração do ácido maior o pH.



A partir da Figura 67 pode-se observar que os aminoácidos *apolares*, que possuem os grupos R com caráter de hidrocarboneto (hidrofóbicos) não interagem com a água. Logo, preferem permanecer no interior da molécula proteica. Nesta classificação estão a *glicina*, *alanina*, *valina*, *leucina*, *isoleucina*, *metionina*, *prolina*, *fenilalanina* e *triptofano* (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

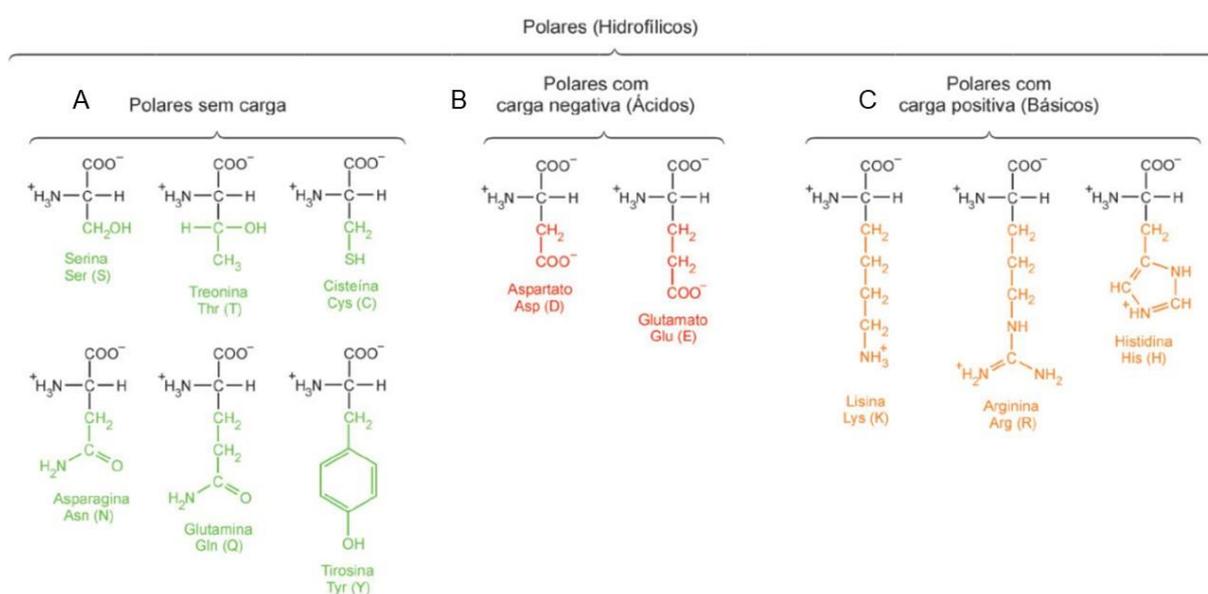


Figura 68: Aminoácidos Polares (Hidrofílicos). Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015) adaptada.

Na Figura 68 encontram-se os aminoácidos polares, que contêm grupos R com perfil hidrofílico capazes de interagir com água. Em virtude da ionização de algum de seus constituintes apresentarem carga elétrica líquida ou residual que conseguem ligar-se as moléculas de água.

Normalmente ficam dispostos na superfície da molécula proteica. De acordo com o tipo de ionização estes aminoácidos podem ser categorizados em três classes mediante grupo R em pH igual a 7 (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

1. Aminoácidos básicos recebem essa denominação por apresentar uma carga elétrica líquida ou residual positiva, neste arranjo encontra-se a *lisina*, *arginina*

e *histidina* (Figura 68C). Em pH neutro, esses grupos estão protonados e com carga positiva (Marzzoco and Baptista Torres, 2015).

2. Aminoácidos ácidos recebem essa denominação por apresentar uma carga elétrica líquida ou residual negativa. Exemplos de aminoácidos ácidos são *aspartato* e *glutamato* (Figura 68B). Em pH neutro, estão desprotonados e com carga negativa (Marzzoco and Baptista Torres, 2015).

3. Aminoácidos polares neutros recebem essa denominação por não apresentar carga líquida ou residual. Exemplos de aminoácidos polares neutros são *serina*, *treonina* e *tirosina* com um grupo hidroxila na cadeia lateral, *asparagina* e *glutamina* com um grupo amida na cadeia lateral e *cisteína*, com um grupo sulfidril na cadeia lateral (Figura 68A). Em pH neutro, o grupo sulfidril da cisteína está predominantemente protonado sem carga (Marzzoco and Baptista Torres, 2015).

Quando um dos aminoácidos citados acima interage com um adjacente temos a formação da ligação peptídica (Figura 69), neste caso o grupo carboxila de um aminoácido liga-se ao grupo amina de outro produzindo assim um dipeptídeo ou até mesmo um polipeptídeo (dezenas a centenas de aminoácidos) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).

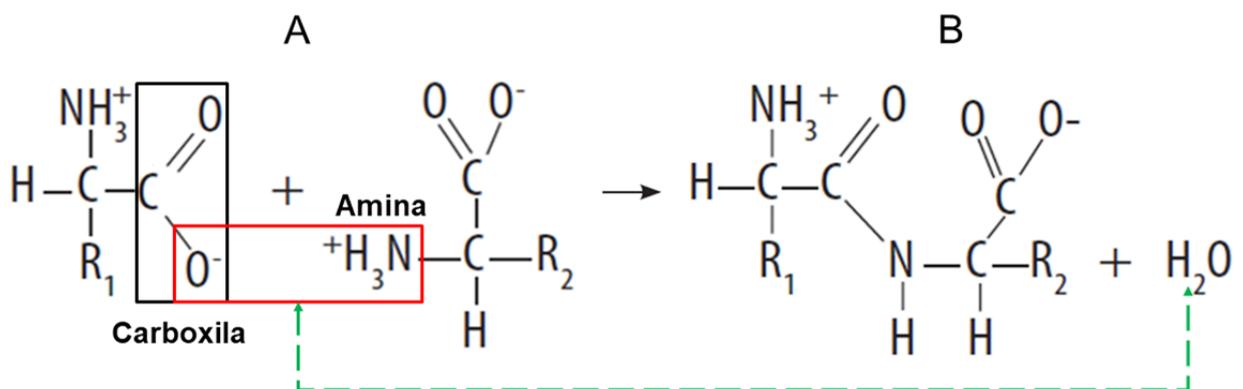


Figura 69: Ligação Peptídica. Imagem retirada de (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

O grupo amida formado pela ligação peptídica (Figura 69) não pode ser protonado, porque as características acidobásicas do novo peptídeo são determinadas pela amina do primeiro aminoácido, em seguida pela carboxila do último aminoácido e dos grupos R dos demais aminoácidos integrados ao peptídeo (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

As proteínas são formadas através da junção de vários peptídeos, que desempenham diversas funções biológicas como produção de hormônios, transporte de hemoglobina, movimentação muscular, estrutural (colágeno) e catalítica principalmente (Marzzoco and Baptista Torres, 2015).

A maioria das proteínas são constituídas por aminoácidos, recebendo o nome de proteínas simples, porém existem proteínas conjugadas que contém outras moléculas em sua constituição como as glicoproteínas (açúcares), lipoproteínas (lipídios) e fosfoproteínas (fosfato) (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

As funções físico-químicas e biológicas exercidas pelas proteínas dependem de seus aminoácidos, por isso é muito importante conhecer a cadeia de aminoácido contidos na síntese proteína, pois os próprios definem a estruturação conformacional do polipeptídeo (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

A primeira estrutura da proteína (Figura 70) corresponde a suas sequências de aminoácidos e ligações peptídicas, sendo representada por um código de letras, ou apenas uma letra para simbolizar a configuração primária das proteínas (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).



O modelo mais conhecido de  $\alpha$ -hélice ( $\alpha$ -queratina) contida em mamífero nos pelos, penas e unhas (Marzzoco and Baptista Torres, 2015; Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

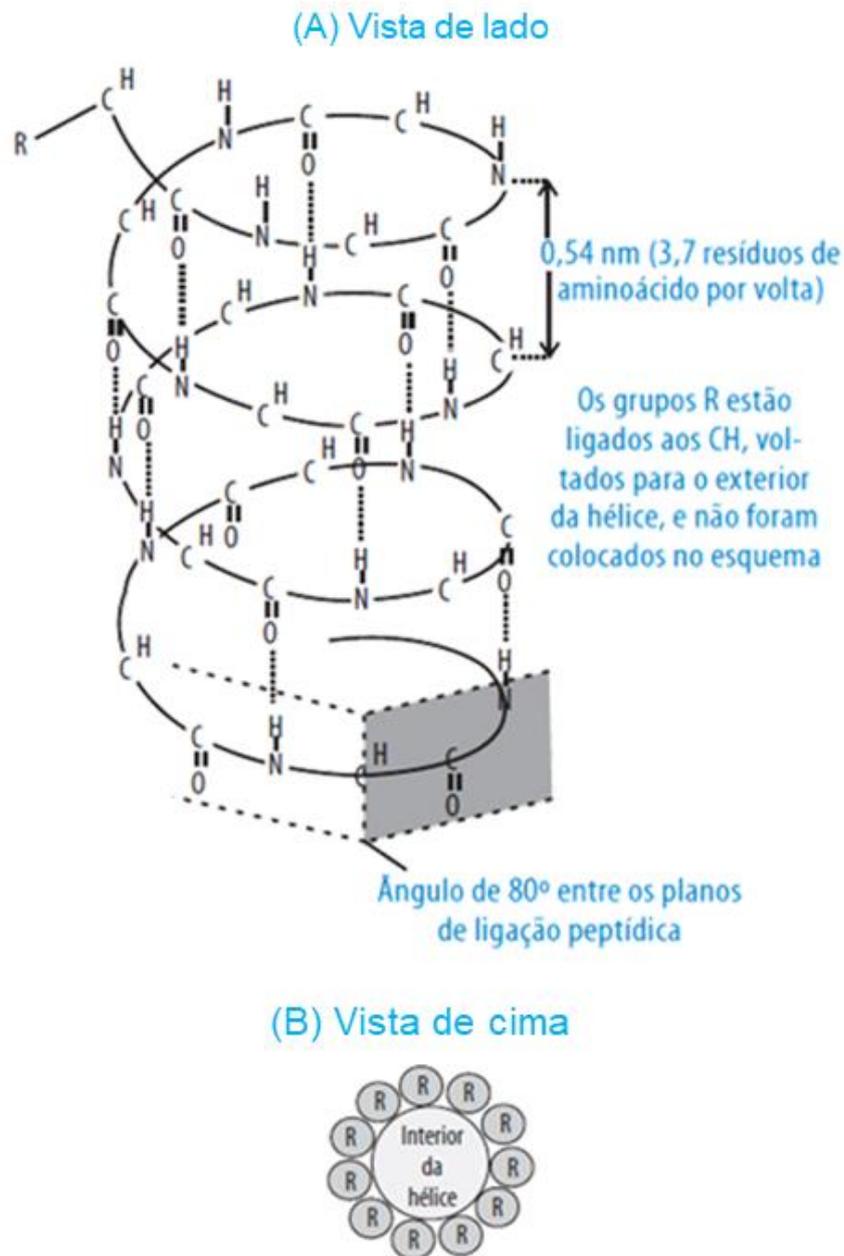


Figura 71: Estrutura secundária da  $\alpha$ -hélice. (A) Vista de lado e (B) Vista de cima. Imagem retirada e de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

Um outro tipo de estrutura secundária, trata-se da estrutura  $\beta$  pregueada ou folhas  $\beta$  (Figura 72A). Nesta conformação, as interações intracadeias podem ser realizadas pelos oxigênios das ligações de hidrogênio e entre os terminais N e C de

ligações peptídicas distintas, nas direções paralela (terminal N para C) ou antiparalela (terminal C para N), sendo que nesta estrutura os grupos R permanecem distantes do plano produzido (Figura 72B).

Apesar disso, é possível que cada uma das configurações  $\beta$  pregueada ou  $\alpha$ -hélice possam coexistir simultaneamente na molécula proteica (Alberts, 2015; B. Reece et al., 2015).

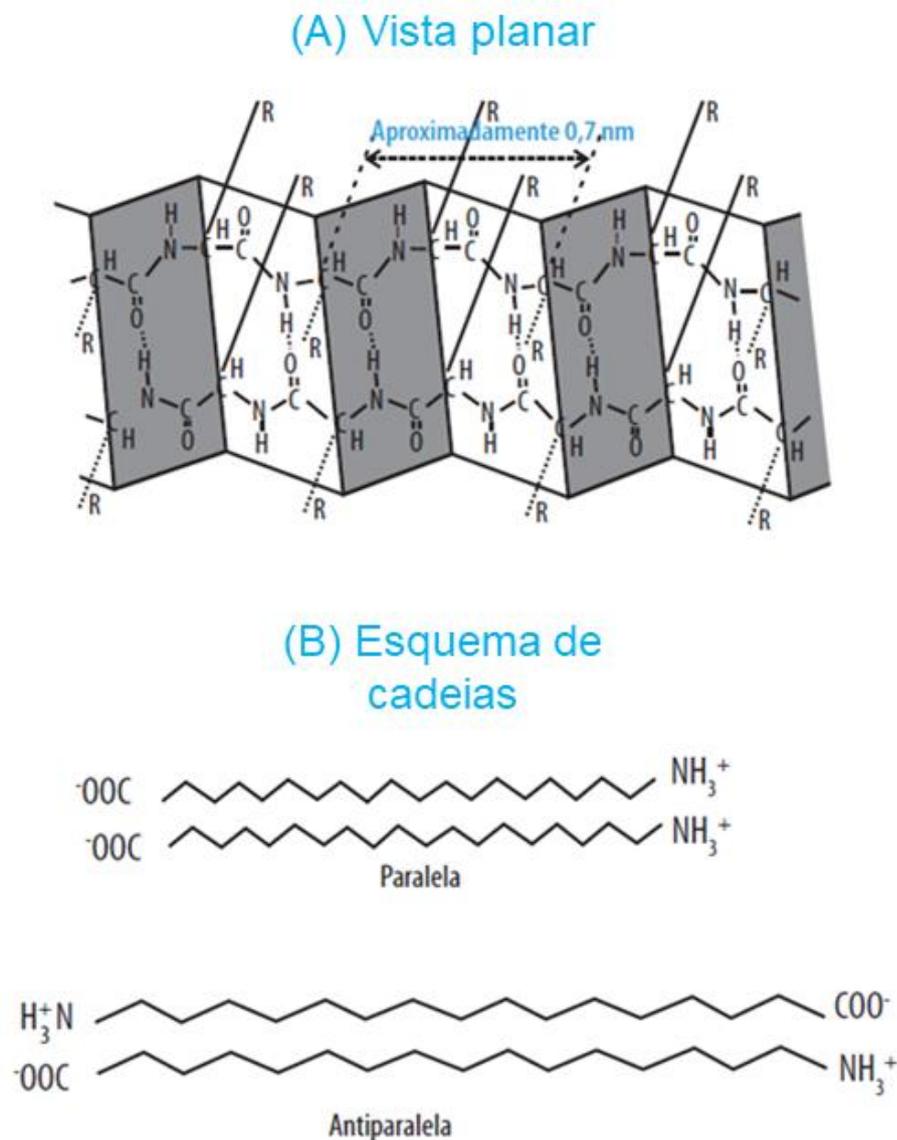


Figura 72: Estrutura secundária da  $\beta$  pregueada. (A) Vista planar e (B) Esquema de cadeias. Imagem retirada e modificada de (Alberts, 2015; F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

Concluída a estrutura secundária, certos grupos R de diferentes aminoácidos posicionam-se em determinadas conformações, proporcionando assim novas formas

de interações entre os próprios. Dessa forma a molécula proteica encontra-se em uma nova organização tridimensional, essa nova fase nomeia-se de estrutura terciária da proteína (Figura 73) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).



Figura 73: Modelo da estrutura terciária de uma proteína. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.

As novas formas de interações entre certos grupos R são:

- a. Interações eletrostáticas: um grupo R carregado eletricamente atrai um outro análogo (Figura 74A) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).
- b. Interações covalentes: entre cisteínas, neste caso o conjunto  $(-S - H)$  oxida-se com outra cisteína de um par semelhante produzindo as pontes dissulfeto  $(-S - S)$ . Esse caso é base para o estudo das proteínas do cabelo (Figura 74B) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).**
- c. Ligações de Hidrogênio: entre um átomo demasiadamente eletronegativo de um grupo R, com outro idêntico unido a um hidrogênio (Figura 74C) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).

d. Interação apolar ou hidrofóbica: promovida pelos grupos R apolares, na parte interna da proteína (Figura 74D) (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

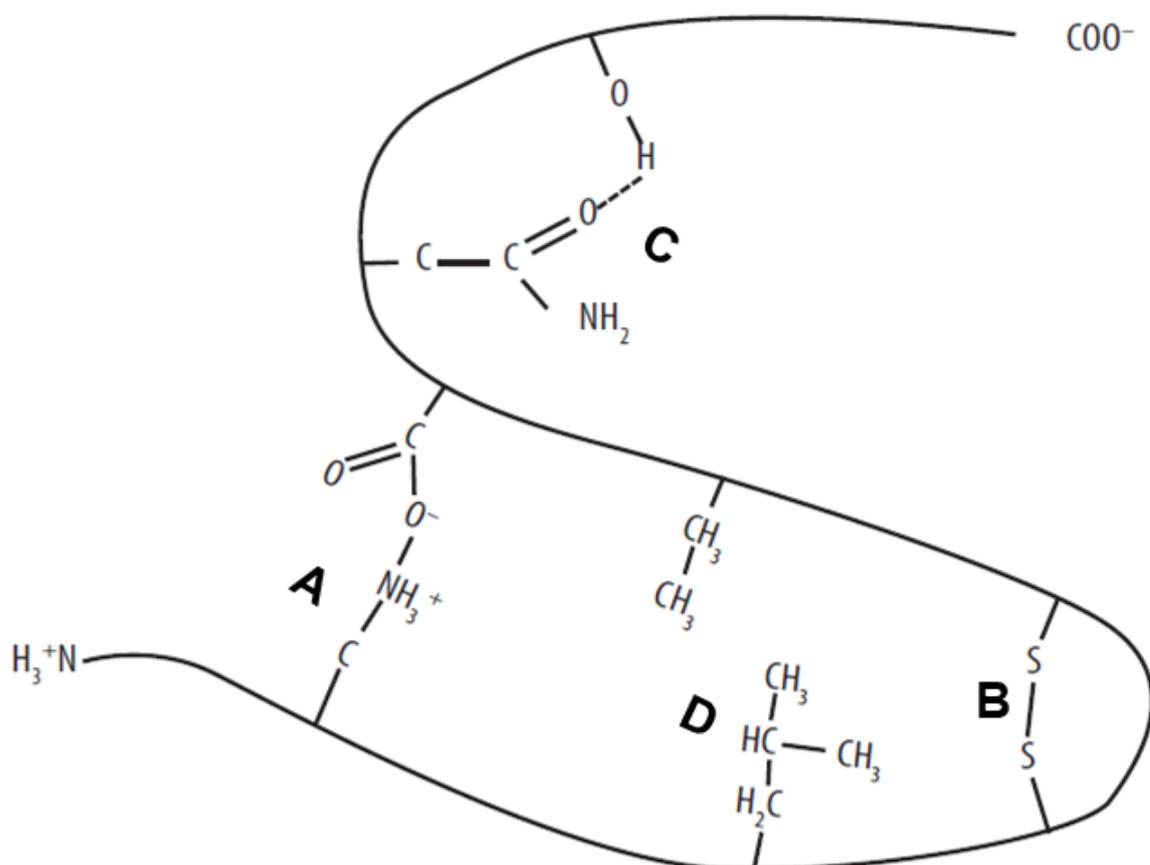


Figura 74: Tipos de ligações entre as cadeias laterais dos aminoácidos para estrutura terciária das proteínas. (A) Interações eletrostáticas, (B) Interações covalentes, (C) Ligações de Hidrogênios e (D) Interação hidrofóbicas. Imagem retirada e modificada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

Segundo o tipo de interação, a configuração terciária da proteína pode permanecer idêntica de acordo com as condições de temperatura e pH do ambiente externo. Isso manifesta-se por exemplo na propriedade catalítica das enzimas (“modelo chave – cadeado”).

Todavia cada ligação pode ser perturbada pelo pH do meio, mediante a protonação ou desprotonação em um ecossistema ácido ou básico, desfazendo as interações eletrostáticas, covalentes, hidrofóbicas ou hidrogenadas entre aminoácidos; logo ocorre a desestruturação terciária da molécula proteica e

consequente inativação (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Marzzoco and Baptista Torres, 2015).

Neste contexto esse fenômeno é dito como desnaturação da proteína (perda da condição natural ou funcional), para cabelos isso acontece quando se soma o procedimento de descoloração/clareamento ou alisamento com o aquecimento em 250°C aproximadamente (Lima et al., 2023).

Estipulado as condições propícias para o desenvolvimento das estruturas terciárias de vários polipeptídios, forma-se um conjunto prostético que recebe a denominação de estrutura quaternária da proteína (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).

## Estrutura quaternária

**Associação de dois ou mais polipeptídeos  
(apenas para algumas proteínas)**

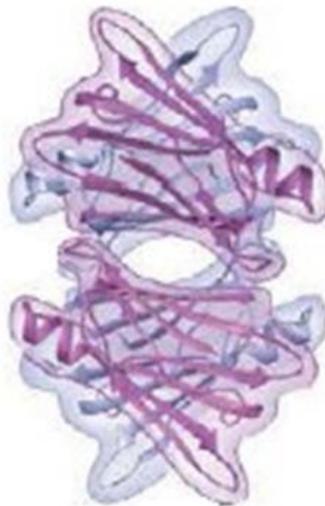


Figura 75: Modelo da estrutura quaternária de uma proteína. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.

## c. Lipídios

Lipídios consistem em moléculas pequenas e leves classificadas em fosfolipídios majoritariamente, esfingolipídios e colesterol minoritariamente contribuindo para a formação da bicamada lipídica (Figura 76).

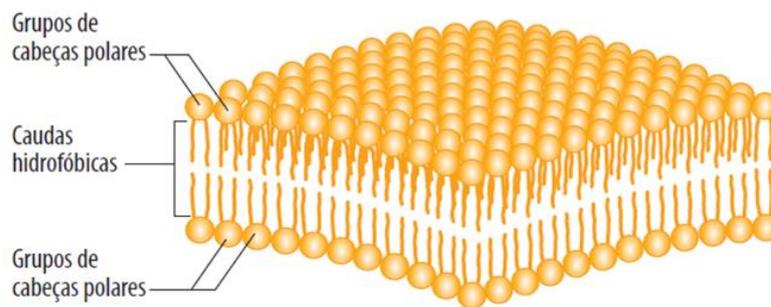


Figura 76: Modelo da bicamada lipídica com a disposição dos lipídios. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

Os fosfolipídios (Figura 77) possuem um cabeça polar (hidrofílica) e duas caudas apolares (hidrofóbicas), devido essas duas características pode se nomear os lipídios como anfipáticas. Esse comportamento permite que as regiões apolares se agreguem em um domínio hidrofóbico ausente de água, enquanto as partes hidrofílicas entrem em contato com água.

Por causa dessa composição, os fosfolipídios são responsáveis pela construção da bicamada lipídica, transporte de moléculas apolares, polares e lipossolúveis entre as membranas.

A cabeça hidrofílica abrange um glicerol, fosfato e radical (R) como a *colina*, *etanolamina*, *inositol* ou *serina*, já as ramificações hidrofóbicas são constituídas por ácidos graxos, com alguma insaturação (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; Alberts, 2015).

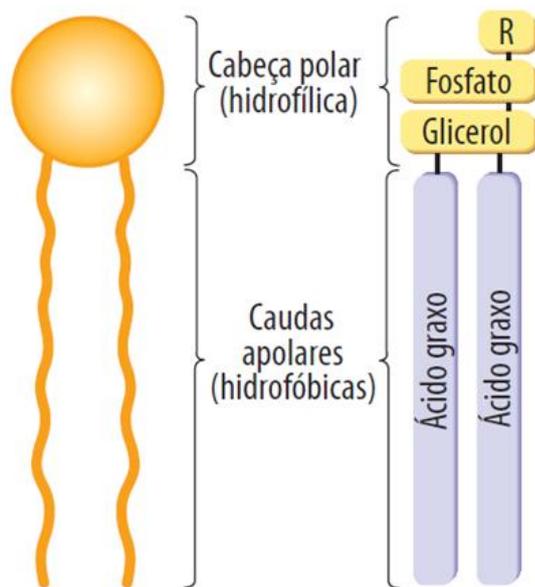


Figura 77: Modelo de fosfolípídios. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

Os ácidos graxos correspondem a união de 14 a 22 átomos de carbono em sequência, que pode ser saturada (apenas ligações simples) ou insaturada (uma ou mais duplas ligações) (Figura 78). Apresentando um comportamento anfipático, com um domínio polar (carboxila) e outro apolar (hidrocarboneto com C e H apenas).

Conforme há uma aumento do tamanho da cadeia (massa molecular) eleva-se as insaturações e o ponto de fusão, que afetam a fluidez de moléculas entre as bicamadas lipídicas. Neste caso as membranas, que possuem mais ácidos graxos insaturados demonstram um formato mais delgadas, do que as membranas saturadas (Alberts, 2015).

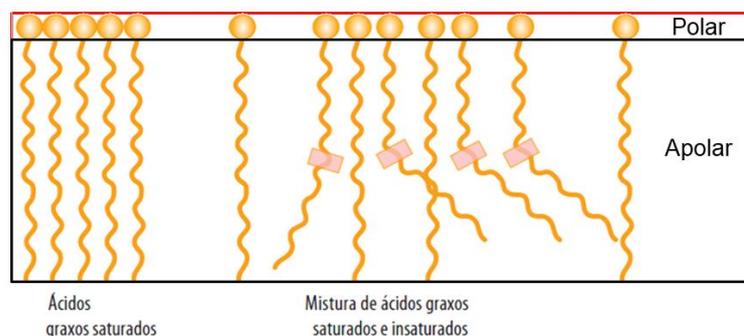


Figura 78: Modelo de ácidos graxos saturados e insaturados. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

Os esfingolípídios (Figura 79) dispõem de uma cabeça polar com uma parte hidrofílica, com uma molécula de álcool e um grupo (R), enquanto o restante apolar contém a parcela hidrofóbica e um ácido graxo sem a presença de glicerol. A partir disso pode se categorizar os esfingolípídios como as *esfingomielinas* (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013; B. Reece et al., 2015; Alberts, 2015).

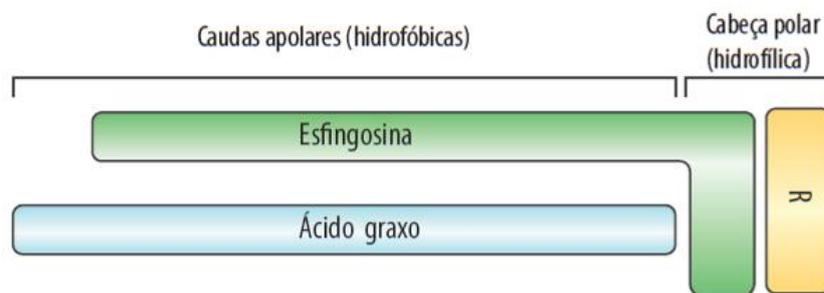


Figura 79: Modelo de um esfingolípido. Imagem retirada de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013) adaptada.

Já os colesteróis (Figura 80A) pertencem ao grupo dos esteroides formado por quatro anéis fundidos descentes do *ciclo pentanoperidrofenantreno*, cuja função é atuar na movimentação da biomembranas ao lado dos fosfolípídios, porém complicando o tráfego de materiais orgânicos pela bicamada (Figura 80B).

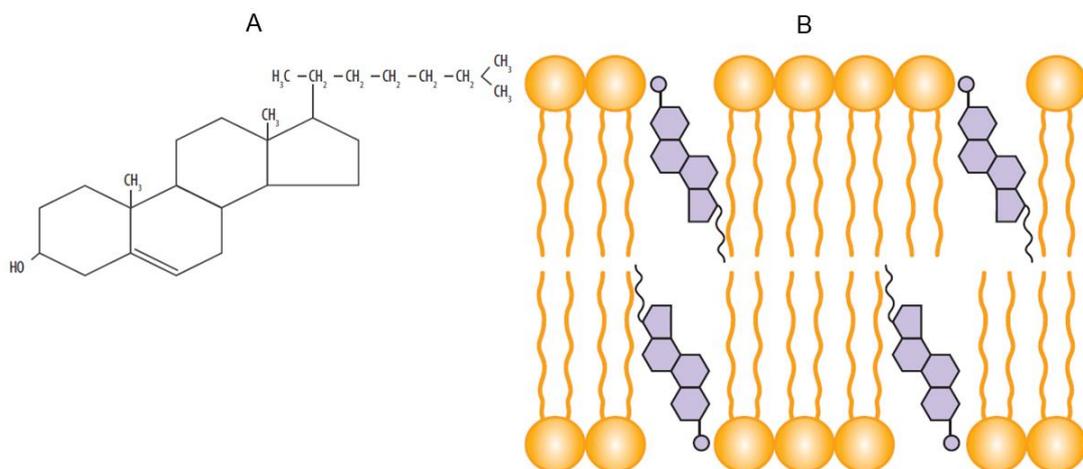
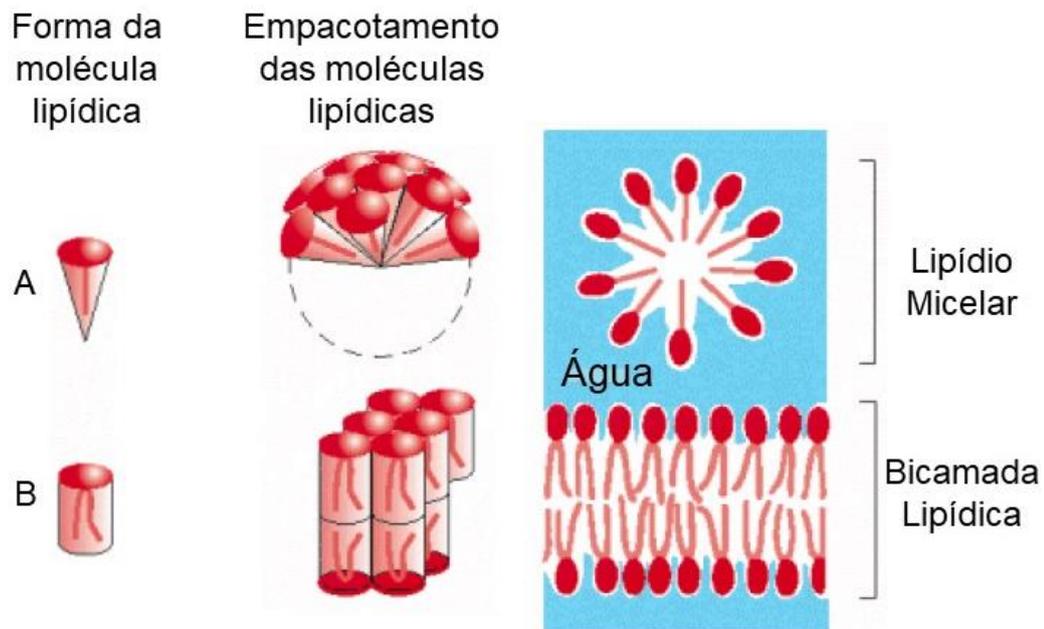


Figura 80: (A) Fórmula química do colesterol e (B) Modelo de inserção do colesterol em uma bicamada lipídica. Imagens retiradas e modificadas de (F. Carvalho and Maria Recco-Pimentel, 2013).

A parte apolar dos lipídios determinam a forma como a região hidrofóbica se arranjam na bicamada e isso lhe permite certas características que possibilita uma melhor fluidez de substâncias apolares, ou seja, o tipo de ligação (simples ou dupla) contida em cada cadeia carbônica atribui para uma topologia diferente (linear ou curva) e isso facilita que a rotação, flexão, transmissão de sinais por difusão lateral e a permutação entre os fosfolipídios de uma camada interna com a externa (Alberts, 2015).

Neste contexto, a organização e conformação celular das bicamadas lipídicas (Figura 81) podem alternar em virtude das interações polares com água.



*Figura 81: Arranjos do empacotamento das moléculas lipídicas em um ambiente aquoso. (A) Moléculas lipídicas em forma cônica produzindo micelas. (B) Moléculas lipídicas em forma cilíndrica produzindo bicamadas lipídicas. Vista em seção transversal das conformações de micela ou bicamada, estas formam podem acontecer de modo espontâneo quando imersas em água. Imagem retirada de (B. Reece et al., 2015) adaptada.*

#### d. Procedimentos de limpeza e calibração do DSC.

Conforme descrito no final da seção 4.5 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), o instrumento de análise térmica (DSC-60 – Shimadzu) estava sem uso desde 2019, em virtude deste período de inatividade o equipamento de calorimetria apresentou problemas de reprodutibilidade e confiabilidade dos dados, para restaurar as configurações originais foi necessário rever os processos de limpeza e calibração, o que exigiu uma aprendizagem sob o uso da máquina e dos procedimentos experimentais.

Dessa forma, apresentarei a curva da linha base do DSC sem a limpeza e calibração (Figura 82). Observe que a curva não se manteve estável pois os detectores estavam com sujeiras incrustadas, que só foram percebidas ao término da medida, por isso foi necessário realizar vários procedimentos de limpeza e calibração.

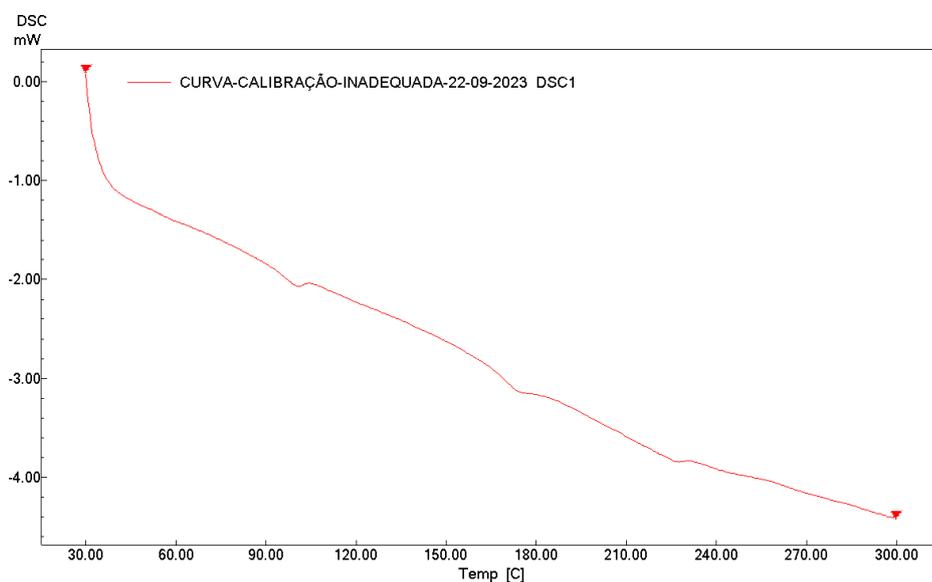


Figura 82: Curva da linha base inadequada sem limpeza e calibração.

Devido a transtornos e percalços, estabeleceu-se um procedimento de limpeza e calibração para ajustar o DSC e assim obter uma curva de linha base correta (Figura 84).

Basicamente, a limpeza dos sensores de temperatura e do caminho de detecção ocorreu através do comando “*Clenning Run*” do software TA-60WS COLLECTION MONITOR, cedido pela Shimadzu.

Primeiro, o usuário estabelece o período no qual a máquina permanecerá em 600°C, e a condição atmosférica para o sistema Ar ou N<sub>2</sub> (g), concluindo o processo de limpeza.

Em seguida, deve-se calibrar os sensores de temperatura e o detector.

A calibração consiste em medir o *background* (fundo) sem cadinho, nas seguintes condições:

1°- Range de aquecimento 30 a 600°C.

2°- Taxa de aquecimento  $10 \frac{^{\circ}\text{C}}{\text{min}}$ .

3°- Fluxo de gás: N<sub>2</sub> (g).

Resultando no seguinte gráfico (mW x °C) (Figura 83):

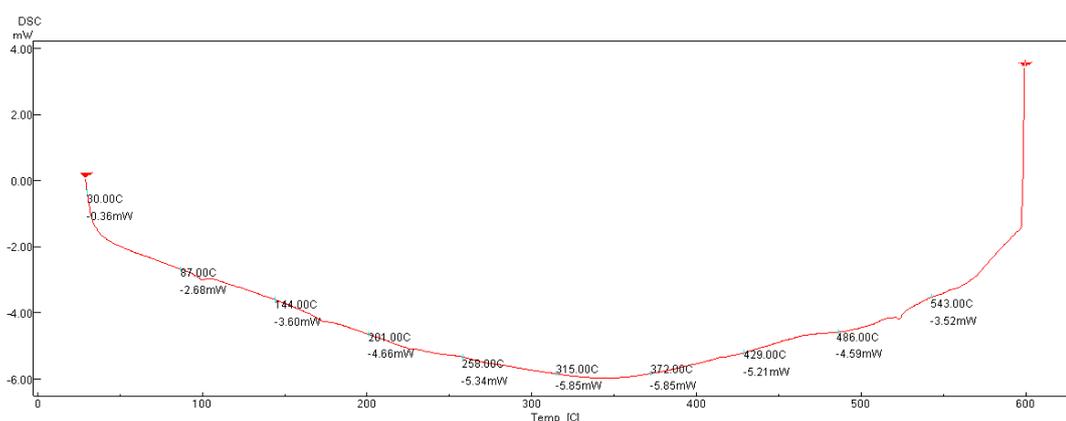


Figura 83: Curva de calibração do DSC-60.

Dessa forma obtém-se a curva de calibração acima, cujo procedimento baseia-se na definição de 10 pares ordenados (temperatura (°C), potência (mW)) equidistantes no intervalo de 30°C a 600°C (Figura 83).

Após, a definição dos dez pares ordenados (temperatura (°C), potência (mW)) da (Figura 83), em seguida abra o software: *TA-60WS – Collection Monitor* fornecido *Shimadzu*, clique no ícone *Detector* na seção *Baseline line adjust* e preencha a tabela com estes dados de (temperatura (°C), potência (mW)) e dessa forma o programa recalculará o coeficiente de calibração da linha base de acordo o fabricante.

Para verificar se a calibração estava adequada, meça o *background* (fundo) novamente após a limpeza. Obtendo a curva abaixo (Figura 84).

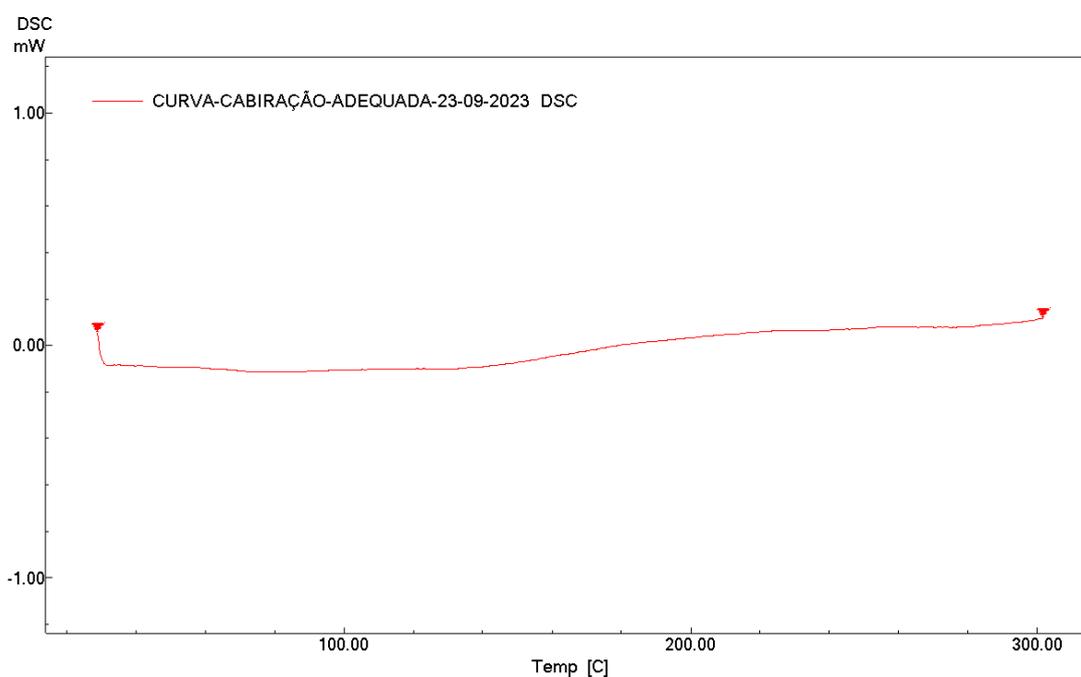


Figura 84: Curva da linha base adequada com limpeza e calibração.

**Importante:** Ao término da série de medidas é obrigatório a verificação do comportamento da linha de base (Figura 84), pois ocorre a deposição de resíduos carbonáceos e sulfúricos nos sensores de temperatura e detecção. Neste caso deve-se avaliar o comportamento da linha de base antes de reiniciar o experimento e caso perceba a mudança na Baseline (linha de base) recomenda-se repetir o processo de limpeza e calibração.

## e. Entalpia (J/g)

O potencial termodinâmico entalpia ( $H$ ) corresponde uma transformada de Legendre da energia interna ( $U$ ), em que o volume ( $V$ ) assume a função da variável independente ao invés da pressão ( $P$ ). Sendo definida pela equação 40 (W.Sears and L. Sallinger, 1979; Oseliero Filho, 2013; Atkins and Jones, 2014):

$$H = U + PV \quad (40)$$

Quando ocorre uma variação infinitesimal da entalpia ( $dH$ ), de um estado de equilíbrio inicial até outro estado final. Obtendo a equação 41 (W.Sears and L. Sallinger, 1979; Oseliero Filho, 2013; Atkins and Jones, 2014)

$$dH = dU + PdV + VdP \quad (41)$$

Contudo,  $dU$  trata-se do potencial termodinâmico que depende dos diferenciais de calor ( $dQ$ ), do volume ( $dV$ ) e números de partículas ( $dN$ ) equação (42) (W.Sears and L. Sallinger, 1979).

$$dU = dQ - PdV + \sum_{i=1}^r \mu_i dN_i \quad (42)$$

Portanto, substituindo a equação (42) em (41) obtém-se a equação (43) (W.Sears and L. Sallinger, 1979).

$$dH = dQ + VdP + \sum_{i=1}^r \mu_i dN_i \quad (43)$$

Desse modo reformula-se a equação (41) chegando na expressão (44) (W.Sears and L. Sallinger, 1979).

$$dH(P, N_1, \dots, N_r) = dQ + VdP + \sum_{i=1}^r \mu_i dN_i \quad (44)$$

Através da equação (44) encontra-se a formulação final da entalpia ( $H$ ) como função do calor ( $Q$ ), pressão ( $P$ ) e número de partículas ( $N_i$ ) (W.Sears and L. Sallinger, 1979).

Para um processo isobárico ( $P = constante$ ), em que ( $dP = 0$ ) e se o sistema não permitir a entrada e saída de matéria, então ( $dN = 0$ ). Desse modo a equação (44) pode ser expressa como a equação (45).

$$dH_{P,N} = dQ_P \quad (45)$$

A equação 45 aplica-se as medidas de DSC de cadinho fechado (molhado), porque nesta configuração o porta amostra encontra-se pressurizado e selado (“crimpado”).

No caso de um processo isobárico ( $P = constante$ ) com mínima entrada e saída de matéria, então a equação (44) pode ser expressa como a equação (46)

$$dH_{P,N} = dQ_P + \sum_{i=1}^r \mu_i dN_i \quad (46)$$

A equação 46 aplica-se as medidas de DSC de cadinho aberto (seco), porque nesta configuração o porta amostra encontra-se em pressão constante.

Nesta dissertação, efetuou-se as medidas de DSC a seco, com o intuito de medir as entalpias de desidratação ( $\Delta H_d$ ) e desnaturação proteica da  $\alpha$ -hélice ( $\Delta H_D$ ) das fibras capilares, em condições isobáricas ( $P = 1atm$ ).

f. Curvas de SAXS – CORTE HORIZONTAL – DIREITA para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH)

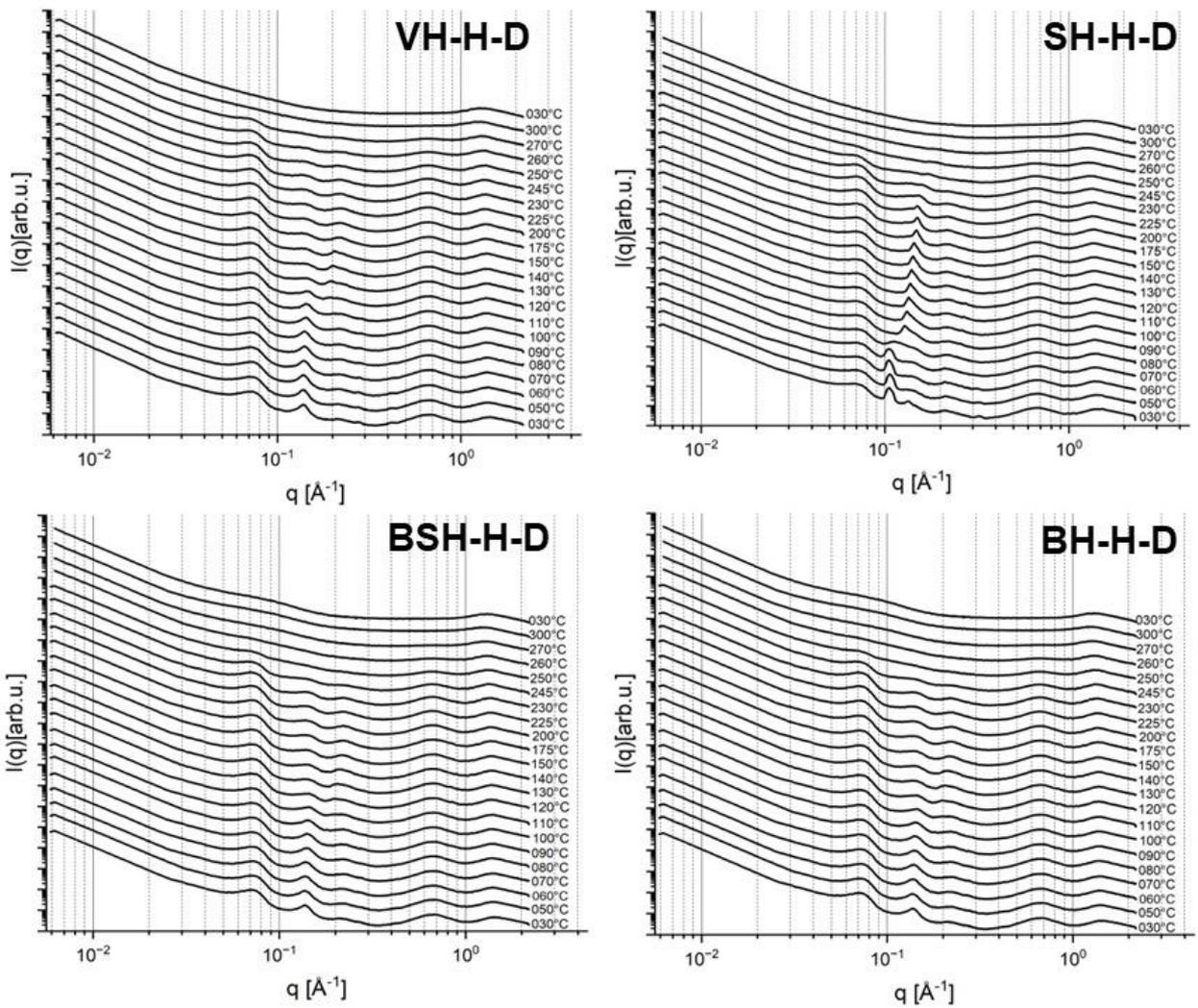


Figura 85: Curvas de SAXS do VH, SH, BH e BSH – cortes horizontais direita com gradientes de temperatura.

g. Curvas de SAXS – CORTE VERTICAL – TOPO para as mechas de cabelos: virgens (CV ou VH), alisadas (CA ou SH), descoloridas (CD ou BH) e alisadas/descoloridas (CAD ou BSH)

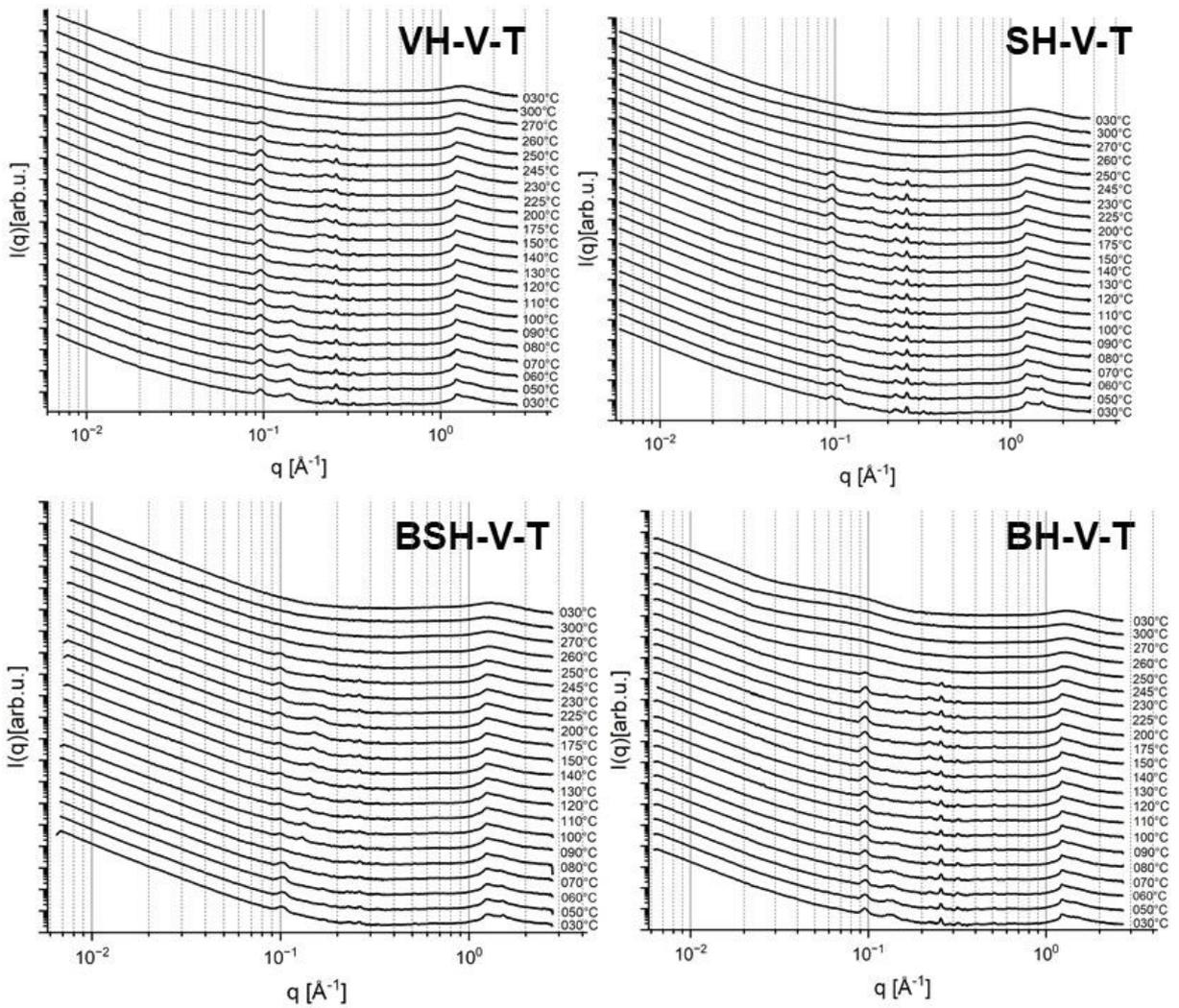


Figura 86: Curvas de SAXS do VH, SH, BH e BSH – cortes verticais topo com gradientes de temperatura.

h. Artigo na Journal Applied Crystallography (JAC)

A capa do artigo aceito para publicação na JAC – AGO/2023.

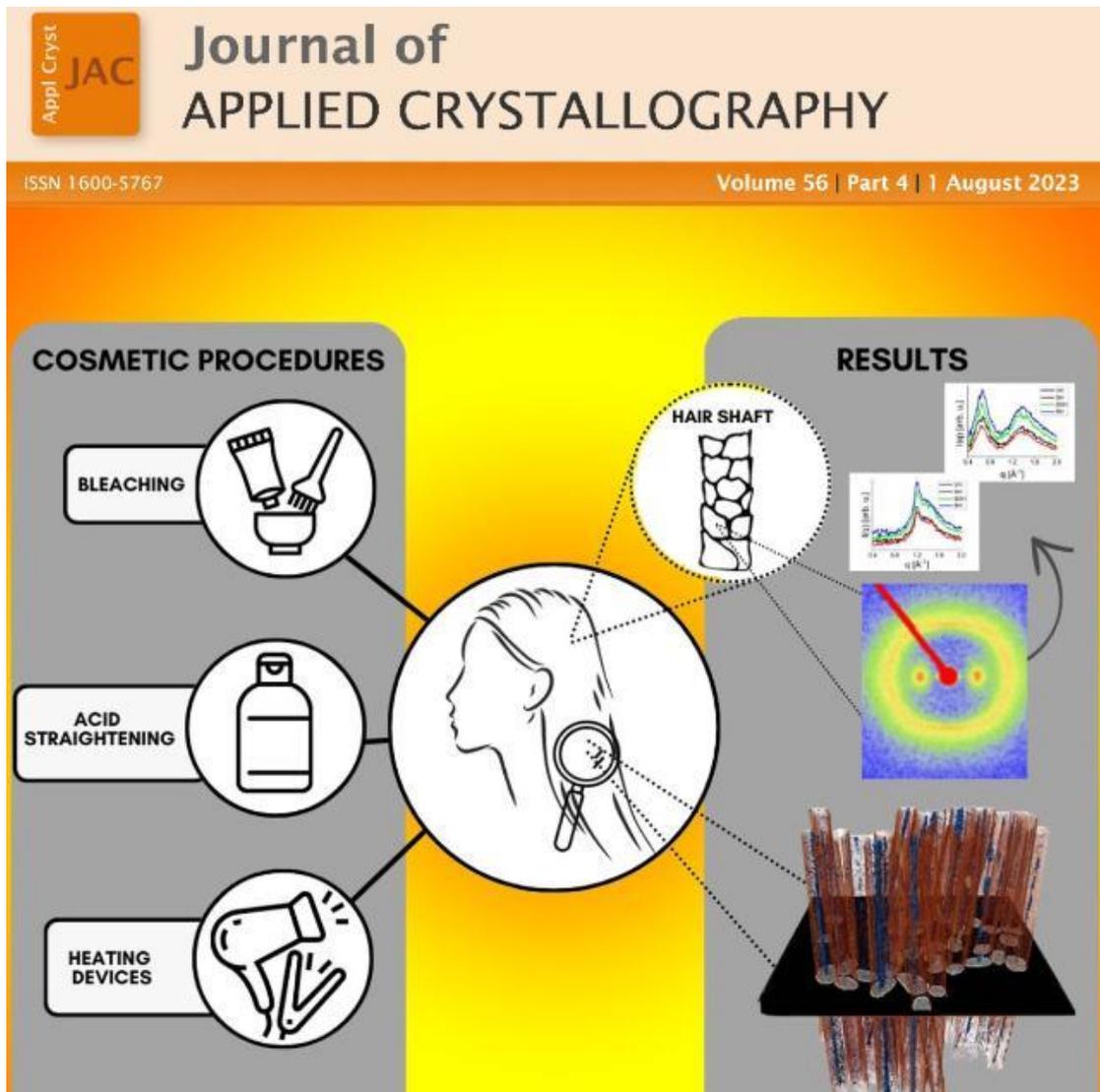


Figura 87: Capa do Artigo aceito na JAC.



## Alterations promoted by acid straightening and/or bleaching in hair microstructures

C. R. R. C. Lima,<sup>a</sup> R. J. S. Lima,<sup>b,c</sup> A. C. C. Bandeira,<sup>a</sup> R. A. A. Couto,<sup>d</sup> M. V. R. Velasco,<sup>e</sup> H. N. Bordallo<sup>c,f,\*</sup> and C. L. P. Oliveira<sup>a,\*</sup><sup>a</sup>Institute of Physics, University of São Paulo, São Paulo 05508-090, SP, Brazil, <sup>b</sup>Academic Unit of Physics, Federal University of Campina Grande, Campina Grande 58429-900, PB, Brazil, <sup>c</sup>Niels Bohr Institute, University of Copenhagen, 2300 Copenhagen, Denmark, <sup>d</sup>Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil, <sup>e</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo 05508-000, SP, Brazil, and <sup>f</sup>European Spallation Source ESS ERIC, PO Box 176, SE-221 00 Lund, Sweden. \*Correspondence e-mail: bordallo@nbi.ku.dk, crisipo@if.usp.brReceived 3 March 2023  
Accepted 24 June 2023

Edited by J. Trehwella, University of Sydney, Australia

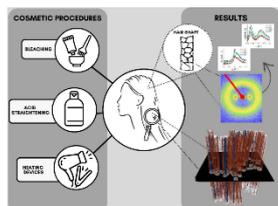
**Keywords:** hair; acid straightening; bleaching; damage; X-ray scattering; microstructure; cosmetic treatments; neutron spectroscopy; biopolymers.**Supporting information:** this article has supporting information at journals.iucr.org/gj

Human hair is a biopolymer constituted mainly of keratin intermediate filaments, lipids, pigments and water. Cosmetic treatments usually interact with the hair at the molecular level, inducing changes in its components and modifying the physicochemical and mechanical properties of the fibers. Here, the effect of acid straightening on the morphology and ultrastructure of Caucasian hair was investigated by a group of complementary experimental methods: wide-, small- and ultra-small-angle X-ray scattering; high-resolution 3D X-ray microscopy; quasi-elastic neutron scattering and inelastic neutron scattering; thermogravimetry–mass spectrometry; and differential scanning calorimetry (DSC). X-ray diffraction patterns showed that acid straightening associated with a flat iron (~180°C) changed the cortex of the fiber, shown by denaturation of the intermediate filaments (measured by DSC). The increase in the spacing of the lipid layers and the observation of the dehydration behavior of the fiber provided indications that water may be confined between these layers, while neutron spectroscopy showed alterations in the vibration mode of the CH<sub>2</sub> groups of the lipids and an increase of the proton (H<sup>+</sup>) mobility in the hair structure. The latter may be associated with the extremely low pH of the formulation (pH ≈ 1). Additionally, this investigation showed that bleached hair (one-time bleached) is more damaged by the action of acid straightening than virgin hair, which was shown by a threefold increase in the percentage of total porosity of the tresses. The obtained results demonstrate that the investigation approach proposed here can provide very important thermodynamic and structural information on induced changes of hair structure, and certainly can be applied for the evaluation of the action mode and efficiency of cosmetic treatments.

## 1. Introduction

Feughelman (1959) proposed a model for human hair in which the  $\alpha$ -helix aggregates in intermediate filaments (IFs), forming a crystalline continuous axially oriented phase, are embedded in an amorphous matrix that comprises the proteins associated with IFs. A hair fiber is mainly composed of three distinct regions: cortex, cuticle and cell-membrane complex (CMC) (Robbins, 2012). A set of IFs form a very complex structure called a microfibril (Parry, 1995), localized in the cortex, promoting strength, resistance and elasticity of hair (Robbins, 2012). A united set of microfibrils form a macrofibril.

The cuticle (external barrier) contains 6–10 overlapping layers. Its function is to protect the cortex from environmental damage, and it promotes the hair brightness. The cuticle layers and cortex structures are held together by the CMC, which is formed by lipids and proteins. The lipids comprise cholesterol,



Published under a CC BY 4.0 licence

cholesterol esters, cholesterol sulfate, free fatty acids, triglycerides, paraffin, squalene and ceramides (internal lipids) (Bouillon & Wilkinson, 2005). Covalently attached to the cuticle surface (external), there is the lipid 18-MEA, which protects the hair against damage from chemical treatments like bleaching (Masukawa *et al.*, 2005; Kon *et al.*, 1998). Changes in these structures modify the penetration of cosmetic products into the hair matrix as well as influencing the water content (Murthy *et al.*, 2019) and the mechanical properties (Robbins, 2012).

The demand for changes in the color and shape of hair has been increasingly frequent in haircare treatments, even with the occurrence of damage to the hair fibers caused by one or several concurrent cosmetic procedures, such as bleaching, straightening and thermal treatments. Chemical and physical damage on the hair fibers caused by using these treatments has already been described (Wolfram *et al.*, 1970; Baias *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2019; Wortmann *et al.*, 2002; Colenci, 2017; Martins Junior, 2015; Kon *et al.*, 1998; dos Santos *et al.*, 2019). Hair bleaching degrades melanin which causes irreversible physicochemical changes, producing cysteic acid residues by oxidation of the cystine amino acids (Wolfram *et al.*, 1970; Robbins, 2012). Structural studies using diffraction techniques applying wide- and small-angle X-rays (Stanić *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2019) and neutrons (Murthy *et al.*, 2019; Kamath *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2020) have been used to investigate treated hair.

Traditional hair-straightening actives, already used worldwide for decades, are presented in alkaline formulations, and their mechanism of action is well known and disclosed in the literature (de Sá Dias *et al.*, 2007). In recent years, some compounds have been used in acid formulations to straighten hair, such as glyoxylic acid and its derivatives, including glyoxylic acid associated with carbocysteine and amino acids. Currently, these products are marketed in some countries, including Brazil, regardless of not being included on the 'List of allowed actives for cosmetic products for straightening or waving the hair', established by ANVISA (2023) via NI No. 220 of 13/04/2023 (RDC, Resolução de Diretoria Colegiada, No. 409 of 27/07/2020), which discriminates the allowed actives: thioglycolic acid and its salts, thioglycolic acid esters, sodium or potassium hydroxide, lithium hydroxide, calcium hydroxide associated with guanidine salt, sulfites and inorganic bisulfites, and pyrogallol and thiolactic acid.

The mechanism of action of these acid actives in hair straightening is still not well understood, and information showing the impact caused in the hair fiber by their use and the consequences of routine treatment by these substances is scarce. In general, the studies published to date suggest that reaction with an active straightener induces conformational rearrangements in the cortex and the cuticle (Taddei *et al.*, 2015; Boga *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2019).

Under a different perspective than those already described in the literature, we investigated the impact of acid straightening using the active *Glyoxyloyl Carbocysteine (and) Glyoxyloyl Keratin Amino Acids (and) Water* in the microstructures of hair fibers. Besides several results, we show the

location of the damage in the hair structure promoted by acid straightening. The interaction of bleaching and this type of straightening is also evaluated.

## 2. Experimental details

### 2.1. Sample preparation

Caucasian untreated dark brown hair, obtained from a commercial source (DeMeo Brothers, New York), was formed into tresses (2 g and 10 cm long), washed ( $37.0 \pm 5.0^\circ\text{C}$ ) with a 10% (w/w) dispersion of sodium ether lauryl sulfate and dried at room temperature for at least 48 h at  $22.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$  under 55% relative humidity. The hair tresses were divided into four groups: virgin/natural hair (VH), bleached hair (BH), straightened hair with formulation at pH 1.0 (SH), and bleached and straightened hair with formulation at pH 1.0 (BSH).

### 2.2. Straightener formulation preparation

The formulation was prepared as an oil-in-water emulsion, with the following composition according to International Nomenclature of Cosmetics Ingredients (INCI) name: *Aqua, Behentrimonium Methosulfate (and) Cetearyl Alcohol, Isopropyl Palmitate, PEG-90M, Polyquaternium-67, Shea Butter Amidopropyl Trimonium Chloride, Glyoxyloyl Carbocysteine and Glyoxyloyl Keratin Amino Acids* (15.0%; AOIA). The pH of the formulation was adjusted to 1.0 with citric acid.

### 2.3. Treatments

**2.3.1. Bleaching.** The selected hair tresses were bleached using a commercial treatment product based on an alkaline solution (pH 10.5) in the oxidant medium of hydrogen peroxide [20% (v/v)] and ammonium persulfate, applied for 30 min and at room temperature.

**2.3.2. Straightening.** The tresses were treated with a ratio of 1.0 g of formulation/1.0 g of hair, according to their group classification, and the treatment was gently applied on the tresses with a brush so that it could be in contact with all the fibers for 20 min. Then, they were brushed, dried with a hairdryer and flattened ten times with a flat iron ( $180^\circ\text{C}$ ).

### 2.4. Methods

**2.4.1. X-ray scattering.** Wide-, small- and ultra-small-angle X-ray scattering (WAXS, SAXS and USAXS, respectively) measurements were performed on an Xeuss 2.0 from Xenocs, with microfocus GeniX3D sources (Cu  $K\alpha$ ,  $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ; Mo  $K\alpha$ ,  $\lambda = 0.71 \text{ \AA}$ ; and Cr  $K\alpha$ ,  $\lambda = 2.26 \text{ \AA}$ ), FOX3D collimation optics and two sets of scatterless slits 2.0. Two-dimensional scattering intensities were collected on a PILATUS 300K detector with parameters according to Table 1. X-ray scattering data were collected in a transmission geometry and the hair fibers were all carefully positioned parallel along the axis of the hair. The apparatus used to mount the hair fibers in the experiment is shown in Fig. S1 of the supporting information. Since there was anisotropic

## research papers

**Table 1**  
Sample–detector distance values ( $D_{SD}$ ) used and their respective ranges for the scattering-vector values ( $q$ ).

$D_{SD}$ (cm)	Source	Vector modulus $q$ ( $\text{\AA}^{-1}$ )	
		$q_{min}$	$q_{max}$
650 (USAXS)	Cr	0.001	0.030
98.2 (SAXS)	Cu	0.0125	0.170
14.3 (WAXS)	Cu	0.085	1.500
14.3 (WAXS)	Mo	0.160	3.000

scattering, due to the alignment of the hair tresses, it was necessary to perform sector analysis on the 2D images. The program package *FIT2D* (Hammersley, 2016) was used to perform azimuthal and radial integrations in order to produce one-dimensional curves of the scattering intensity as a function of the modulus of the momentum transfer,  $q$ , defined as  $q = 4\pi \sin(\theta)/\lambda$ , where  $2\theta$  is the scattering angle. The program package *SUPERSAXS* (Oliveira *et al.*, 2009) was used for standard data-treatment procedures. The Xenocs Xeuss collects the forward beam that passes through the sample and the integration over this peak gives the normalization factor for the collected data. The ‘blank’ scattering for the background subtraction was the empty cell. The ranges of  $q$  for each sample–detector distance are shown in Table 1.

**2.4.2. Temperature-variation SAXS measurements.** Small hair tresses (about 30 fibers) of the groups VH, BH and SH were joined and oriented vertically in a dedicated sample holder containing a device allowing heating of the tresses in a controlled manner. The sample holder was inserted in NANOSTAR equipment from Bruker, which has a microfocus source GeniX3D (Cu  $K\alpha$ ,  $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ), collimation optics FOX3D and two sets of scatterless slits 2.0, all provided by Xenocs. The sample–detector distance was 67 cm and the 2D data were obtained using a Bruker VÅNTEC-2000 detector. This detector is a 2D gaseous wire detector developed by Bruker with a resolution of  $\sim 80 \mu\text{m}$  for each pixel size on a matrix of  $1024 \times 1024$  pixels. Azimuthal and radial integrations on the 2D SAXS images were performed using the program provided in the Bruker system. The program package *SUPERSAXS* was also used for standard data-treatment procedures. In this case, the normalization factor for the experimental data is obtained by the use of a semitransparent beamstopper. The integral of the intensity collected behind the beamstopper provided the normalization factor (Oliveira *et al.*, 2009; Pedersen, 2004). The empty cell was used as a ‘blank’ for the background subtraction. The mounting of the hair tresses on the sample holder is shown in Fig. S2.

**2.4.3. Neutron spectroscopy.** Hydrogen mobility in hair samples was investigated using quasi-elastic neutron scattering (QENS) and inelastic neutron scattering (INS) by means of the elastic fixed window (EFW) method (Lauritsen *et al.*, 2018). Using this methodology, it is possible to assess the evolution of neutrons that are elastically scattered by the sample as a function of temperature. Analysis of the elastic scattering response allows determination of the onset of proton mobility by the points of inflection in the collected data. The mobility of the hydrogen in the hair matrix was

measured between 10 and 300 K with data collected upon heating. The data, collected at the backscattering spectrometer IRIS (Campbell *et al.*, 2000), located at the ISIS facility in the UK, provide an elastic energy resolution of  $17.5 \mu\text{eV}$  at full width at half-maximum (FWHM). The data were collected for an upper experimental observation time of  $\sim 200$  ps and normalized to the response observed at the lowest temperature. Information on molecular vibrations occurring over a broad energy range from 1 to 1000 meV, corresponding to the femtosecond domain, was obtained using the indirect-geometry time-of-flight neutron spectrometer TOSCA (Pinna *et al.*, 2018), also located at ISIS. INS spectra for all samples were recorded at 10 K. During these experiments, the samples were confined in flat-plate aluminium containers sealed with indium wire. The collected data were converted to the incoherent dynamic structure factor,  $S(Q, \omega)$ , using the *Mantid* software (Arnold *et al.*, 2014). The data were normalized to sample mass and subsequently to the intensity of the elastic line.

**2.4.4. Thermogravimetry–mass spectrometry (TG–MS) analysis.** The hair snippets were inserted into an open  $\text{Al}_2\text{O}_3$  crucible containing 9.5–10.0 mg of sample. The TG–MS analysis was performed on an STA 409 PC Luxx (Netzsch) simultaneous TG/DSC instrument and a QMS 403C Aëolos (Netzsch) MSD mass spectrometer. Thermogravimetric curves and mass spectra were collected in duplicate using a heating rate of  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  between 25 and  $1000^\circ\text{C}$  under dynamic air atmosphere ( $50 \text{ ml min}^{-1}$ ).

**2.4.5. Differential scanning calorimetry (DSC).** DSC measurements, performed in triplicate, of hair samples immersed in water were conducted on a power-compensated instrument (DSC 6000, PerkinElmer, USA), using stainless steel large-volume pans, which are pressure resistant up to 25 bar. The temperature range was  $50$ – $180^\circ\text{C}$  with a heating rate of  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  (Wortmann *et al.*, 2002). Hair snippets ( $\sim 5$  mg) were weighed into the DSC pans and 40  $\mu\text{l}$  of water was added. The pans were sealed and stored overnight prior to the DSC measurements.

**2.4.6. High-resolution 3D X-ray microscopy (HRXRM) and data processing.** Hair fibers (VH, BH, SH and BSH) were imaged using a 3D X-ray microscope (ZEISS Xradia Versa XRM-510) with an X-ray source voltage of 50 kV. In order to have the best sample magnification/framing ratio, the sample-to-detector and source–sample distances were 15 and 7 mm, respectively, with the reference position at the sample holder. This improved resolution using the 20X objective, placed just before the CCD camera, was necessary to measure the dimensions, in a total scan time of 3 h 30 min. The detector pixel size was  $0.9 \mu\text{m}$ , which gives an overall spatial resolution of  $\sim 3 \mu\text{m}$ . The exposure times per radiograph were 10 s. Approximately 1000 views were collected for each scan as the sample rotated over  $360^\circ$ , with a detector resolution of  $1024 \times 1024$  pixels and a field of view of  $900 \mu\text{m}$ . Volumetric data were reconstructed from the obtained scan data using the software *Avizo 9* (Thermo Fisher Scientific) and *X Reconstructor* (ZEISS Xradia), with center shift and beam-hardening corrections.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. X-ray scattering

WAXS and SAXS patterns were obtained in this work to evaluate alterations in the organized structure of human hair prior to and after cosmetic treatments. Figs. 1(a) and 1(b) shows the 2D images obtained from WAXS using Mo ( $\lambda = 0.71 \text{ \AA}$ ) and Cu ( $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ) X-ray sources, respectively. Visual differences in the intensities are observed, indicating that the treatments affect the molecular organization within the hair. As seen from the 2D scattering images, there are regions with higher intensity (peaks), which are related to periodic distances inside the structure. For each sample, the integrations indicated in Fig. 1(a), along the equatorial (perpendicular to the fiber axis) and meridional (along the fiber axis)

directions, were performed in order to analyze the specific regions already identified in the literature (Wade *et al.*, 2013; Coderch *et al.*, 2007).

With this procedure, one obtains 1D curves of intensity as a function of  $q$ . These plots are shown in Figs. 2(a) and 2(b) (equatorial and meridional, respectively) with the profiles obtained from the 2D wide-angle scattering region ( $q$  range  $0.01\text{--}2.0 \text{ \AA}^{-1}$ ), for all hair types. Two reflections ( $d$  spacings) are visible in the equatorial and meridional patterns in all types of hair: at  $9.5 \text{ \AA}$  (along the axis of the fiber) and  $5.1 \text{ \AA}$  (the axial repeat spacing). The features of these patterns correspond well to the known  $d$  spacing between adjacent coiled coils (Fraser *et al.*, 1964; Busson *et al.*, 1999; Kreplak *et al.*, 2004) or to the distance of chains from other structures (Kreplak *et al.*, 2004) and the superhelical structure of

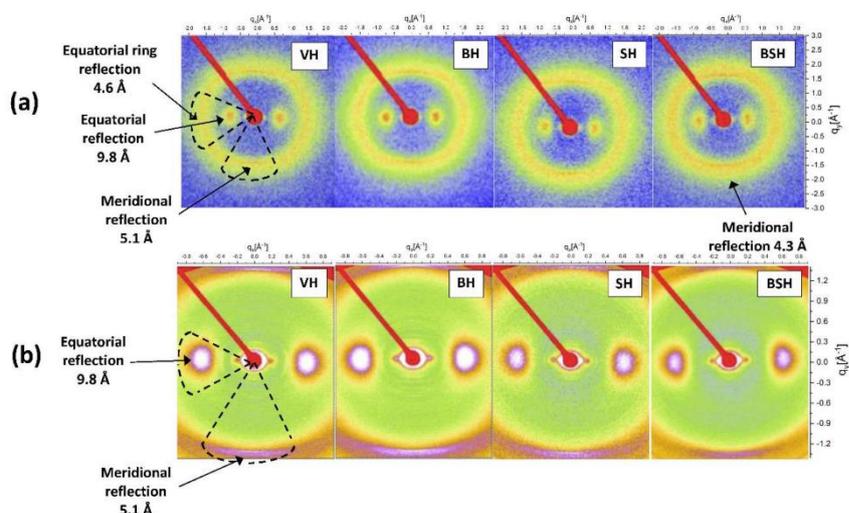


Figure 1  
2D images obtained from WAXS zone planes on VH, BH, SH and BSH. The instrument setup: sample–detector distance = 14.3 cm, detector = (a) Mo ( $\lambda = 0.71 \text{ \AA}$ ) and (b) Cu ( $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ).

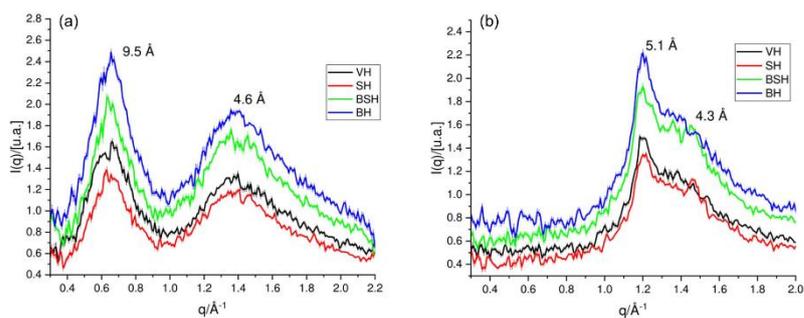


Figure 2  
Integrations of the 2D scattering data in the WAXS zone planes with a sample–detector distance of 14.3 cm and Mo X-ray radiation: (a) equatorial and (b) meridional reflections for VII, BII, SII and BSII.

## research papers

$\alpha$ -helices twisting around each other within coiled coils (regular  $\alpha$ -helical coiled-coil folding), respectively (Crick, 1952; Cohen & Parry, 1994; Lupas & Gruber, 2005). Most importantly, the 5.1 Å meridian arc becomes less evident in straightened treated hair and another arc with a more intense meridional signal at 4.3 Å appears.

Cornwell *et al.* (1994) related the absence of a clear  $\alpha$ -helix reflection at 5.1 Å to clear evidence in favor of the  $\beta$  form. Zhang *et al.* (2015) reported that a reduction in the  $\alpha$ -helical signals at 9.6 and 5 Å (equatorial and meridional directions, respectively) in comparison with the lipid packing (at 4.3 Å) in permanently waved hair samples is indicative of a reduced number of coiled-coil proteins. Fig. 1(a) identified one signal for distances of  $\sim 4.6$  Å due to the ring-like scattering at  $\sim 1.4$  Å<sup>-1</sup> in the equatorial direction, which can be related to distances between  $\beta$  sheets (Yu *et al.*, 2017).

Fig. 3 shows the 2D images obtained from the small-angle scattering region ( $q$  range 0.0125–0.17 Å<sup>-1</sup>), where one can acquire information on the supramolecular arrangements and the interfaces between the structures.

The diffractograms exhibited differences in the anisotropic lipid ring, in the intensity of the signal at 89 Å (equatorial reflection) and in the distribution of the diffuse scattering surrounding the beamstop in both hair tresses treated with straightener. Among these changes, the BH tresses (previously

published data; Lima *et al.*, 2020) showed that oxidative treatment changed only the intensity of the equatorial reflection located at 89 Å. Wade *et al.* (2013) and Cornwell *et al.* (1994) related the diffuse scattering to the presence of amorphous/disordered material of the sample and the interfaces between the supramolecular structures. Alterations were also observed in the meridional reflection, shown by shortening in the signal at 67 Å (Fig. 3; SH and BSH hair samples), which indicates changes in the axial stagger between molecules along the IFs.

Figs. 4(a) and 4(b) show intensity profiles extracted from the SAXS patterns for all the hair samples. The equatorial SAXS zone [Fig. 4(a)] is related to the radial geometry of the filaments and to their lateral packing organization in the matrix.

The strong signal at 89 Å is attributed to the microfibrils' crystalline lateral organization (Briki *et al.*, 1998; Fraser *et al.*, 1964), and this reflection has its shape changed and displaced to smaller  $q$  values in the straightened hair tresses (SH and BSH groups), differently from what was observed in BH (previously published data; Lima *et al.*, 2020). These results suggest that the acid treatment changed the IFs and therefore changes the distance between the microfibrils. This fact could be a result of protein denaturation using a hot flat iron (180°C). Indeed, Istrate *et al.* (2009) demonstrated that the

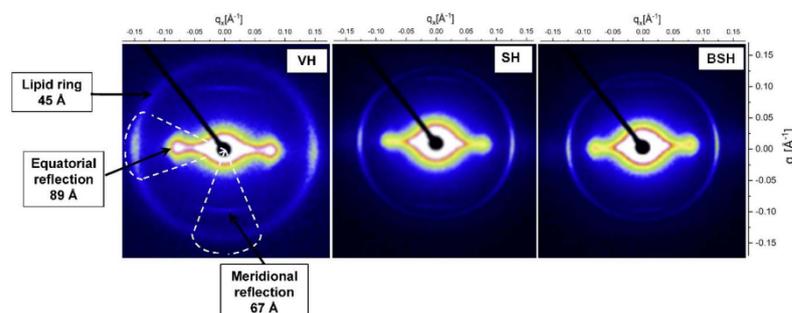


Figure 3  
2D images obtained from SAXS zone planes with a sample–detector distance of 98.2 cm for VH, BH (data already published in 2020), SH and BSH.

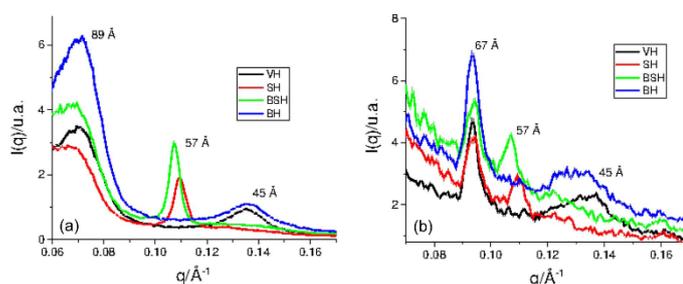


Figure 4  
Integrations of the 2D scattering data in the SAXS zone planes (sample–detector distance = 98.2 cm, Cu source): (a) equatorial and (b) meridional reflections.

Table 2  
Enthalpy ( $\Delta H_D$ ) values of the hair samples obtained from the DSC data.  
 $\Delta H_D$  was obtained by integrating the area under the denaturation peak.

Sample	$\Delta H_D \pm$ standard deviation ( $\text{J g}^{-1}$ )
VH	$17.5 \pm 0.9$
BH <sup>†</sup>	$15.0 \pm 1.0$
SH	$5.2 \pm 0.6$
BSH	$2.3 \pm 0.6$

<sup>†</sup> Data already published in 2020.

increase of temperature promotes the unfolding of helical domains (IFs), involving the transition from a relatively ordered structure to a more flexible, disorganized, open polypeptide chain. The covalent S–S bonds are very important in this process because they control the strength of the interface (IF matrix) and their breakage may lead to changes in denaturation enthalpy ( $\Delta H_D$ ). These interactions are related to the stability of the IF structure and the unfolding transition of the helical material. A study by Baías *et al.* (2009) supports the hypothesis that the thermal denaturation pathway occurs simultaneously with the collapse of the scaffold domains, where the  $\alpha$ -helix regions go from a relatively compact ordered structure to more flexible, disorganized, open polypeptide chains.

These findings are in the same direction as the DSC data, an interesting tool to investigate the melting of hard  $\alpha$ -helix fiber crystallites (Wortmann *et al.*, 2002). DSC curves and a plot for the enthalpy changes are shown in Figs. S7 and S8. Table 2 shows the denaturation enthalpy values ( $\Delta H_D$ ) acquired in triplicate.

The samples of straightened hair (SH and BSH groups) had their  $\Delta H_D$  value decreased by about 70.0 and 88.0%, respectively, when compared with VH tresses. Previously published data showed that a single application of oxidative bleach [20% (v/v); 30 min] can cause a minor decrease in the content of liquid crystalline material hair (Lima *et al.*, 2020). This important decrease in the  $\Delta H_D$  values is related to the loss of crystalline material ( $\alpha$ -keratin IFs), also verified by WAXS/SAXS, promoting the weakening of the fibers and changes in their mechanical properties, like resistance and elasticity (Wortmann *et al.*, 2002; Grosvenor *et al.*, 2018; Monteiro *et al.*, 2005). Goshiyama *et al.* (2020) reported a decrease in the tensile strength of ~55% in hair tresses treated with acid-straightener formulation containing *Glyoxyloyl Carbocysteine (and) Glyoxyloyl Keratin Aminoacids (and) Water* (at pH 1.0 and thermal treatment). These hair samples also had a decrease in tryptophan content and oxidation of the melanin present in the cortex. Boga *et al.* (2014) reported structure alterations promoted by acid straightening containing glyoxylic acid (pH  $\approx$  2, thermal treatment) in yak hair keratin. According to the authors, the treatment showed rearrangements in the secondary structure distribution present in the cortex, with decreasing of the  $\alpha$ -helix and increasing  $\beta$ -sheet content. The lower  $\Delta H_D$  values shown in Table 2 for the treated hair are therefore associated with the decrease of the  $\alpha$ -helix crystallites as mentioned above.

3.1.1. Changes in the lipid arrangements observed in the SAXS patterns. Different types of lipids, present in the hair structure, form organized liquid crystalline structures and can be investigated by SAXS experiments (Bertrand *et al.*, 2003; Coderch *et al.*, 2007; Wade *et al.*, 2013). These regions are usually called CMCs. It is possible to find lipids with a more nonpolar character, such as free fatty acids and cholesterol esters, and also polar ones (Coderch *et al.*, 2007; Wertz *et al.*, 1986) as phytosphingosine, fatty acid, ceramide, cholesterol and cholesterol sulfate (Lee *et al.*, 2005). Some studies indicate that the organized packagings of these lipids give rise to periodicity of 45 Å, shown by a ring-shaped reflection (Yang *et al.*, 2014; Coderch *et al.*, 2007) in the SAXS images (Fig. 4). For lipid bilayers the peak width depends on membrane elasticity and interactions, among a number of other factors (Nagle *et al.*, 1996). Since the hair CMC is composed of different types of lipid, proteins *etc.*, it is not simple to derive the dependency of the peak width and other structural factors. Therefore, in our analysis, the peak-width estimation was used for the following discussions. From the FWHM value of the 45 Å ring (Scherrer equation; Guinier, 1994), it can be deduced that the lipids are stacked within ~500–1000 Å-thick granules. These domains are spread throughout the cortex without any specific orientation versus hair axis (Busson *et al.*, 1999). Bertrand *et al.* (2003) reported the existence of a notable difference between the SAXS patterns of cortical and cuticular lipids, demonstrating that it is unlikely that lipids (if present) on the surface of the hair fiber will contribute significantly to the diffraction signal.

Figs. 4(a) and 4(b) show an important change of the lipid liquid crystalline structures in the straightened hair tresses (SH and BSH groups), which is demonstrated by the shifting of their peaks to smaller  $q$  values in relation to VH, indicating changes in lipid packing. The lipid-ring signal shifted from  $d$  spacing = 45.5 Å (VH) to  $d$  spacing = 56.2 and 57.4 Å, for straightened hair samples SH and BSH, respectively. Interestingly, one can clearly see a higher increase in the intensity of the reflection of the planes in the equatorial [Fig. 4(a)] in relation to the meridional [Fig. 4(b)] directions, indicating tendency of the crystalline planes to be oriented preferentially parallel to the hair-fiber axis (Bertrand *et al.*, 2003).

To investigate the thermal stability of the liquid crystalline lipid structures inside of the cortex, hair tresses (VH, BH and SH groups) were measured in SAXS experiments under controlled heating from 30 to 220°C. Figs. 5(a)–5(f) show the diffractograms of the SH tresses, where one can see the shift of the peak related to the distance between the lipid layers (anisotropic ring) to lower  $q$  values as the temperature increases. This behavior is much less pronounced in the BH tresses, which also show a change in reflection intensity at 45 Å. These changes are attributed in the literature (Coderch *et al.*, 2007; Bertrand *et al.*, 2003; Cornwell *et al.*, 1994) to an increase in bilayer distances in the multi-lamellar lipid structures, which suggests swelling of the hair CMC.

These results involving straightening based on the blend of carbonyl-based compounds have not yet been reported in the literature. The findings in this work indicate a change in the

lipid organization of the hair fiber with a higher retention of the water inside the hair fiber. This indicates that a large amount of water can be retained in the lipid hair membrane, affecting the lamellar distances. A detailed identification of the peak positions and corresponding periodicities is shown in Table S1 and Fig. S9 of the supporting information.

In other words, with increasing temperature, the reflection at 56 Å shifted to higher  $q$  values, decreasing the distance between the lipid layers until it practically overlaps the value of the lipid signal in VH, at  $\sim 45$  Å, around 220°C. According to Coderch *et al.* (2007), in contrast to the structural behavior of lipids in other keratinized tissues, hair lipid lamellae have the ability to retain different amounts of water as a function of lipid concentration. Murthy *et al.* (2019) investigated hydration of the hair fiber using neutron scattering measurements. The authors reported that the lipid spacing increased with hydration of the hair fiber, and it also appears that water is

more present outside the microfibrils, in the voids and at the cortex interfaces. The authors also reported that the heat treatments cause a reduction in the S–S bonds, promoting openings in the matrix, which affects the structure and water permeability.

3.1.2. TG–MS measurements. We used TG–MS to evaluate if the thermal behavior associated with change in the liquid crystalline lipid granules is associated with mass loss. It was possible to identify the gasses released (obtained by MS) with the mass changes during the increase of the temperature (obtained from TG). Figs. 6(a) and 6(b) show the overlap of TG and the first derivative of the TG curve with respect to time (DTG) (respectively) of samples of VH, BH and SH tresses.

The DTG curves [Fig. 6(b)] show that the dehydration profile is different (first mass-loss event) between the samples, and the water content (data in Table 3) is eliminated more

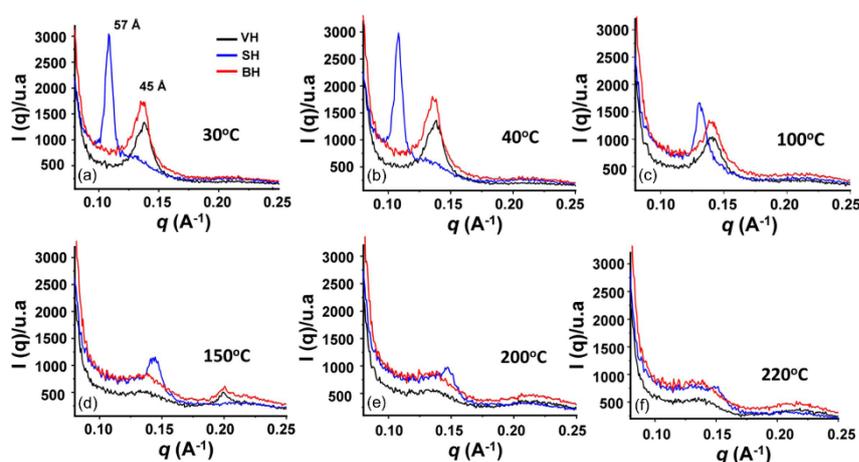


Figure 5 Equatorial integrations of the 2D scattering data in the SAXS zone planes (sample–detector distance = 64 cm) in tresses of hair: VH (in black), BH (in red) and SH (in blue). Measurements were obtained for 1 h at controlled temperatures: (a)  $30.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ , (b)  $40.0 \pm 0.2^\circ\text{C}$ , (c)  $100 \pm 1^\circ\text{C}$ , (d)  $150 \pm 1^\circ\text{C}$ , (e)  $200 \pm 3^\circ\text{C}$  and (f)  $220 \pm 3^\circ\text{C}$ .

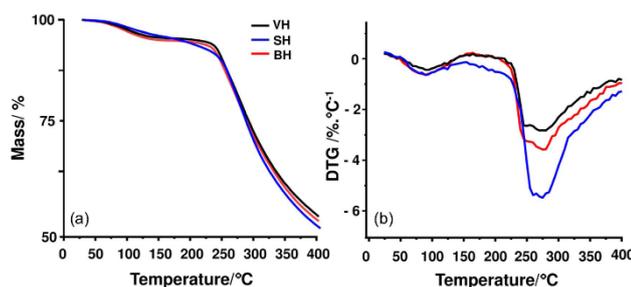


Figure 6 (a) TG and (b) DTG curves obtained in an open  $\text{Al}_2\text{O}_3$  crucible at  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  under dynamic air atmosphere (flow rate of  $50 \text{ ml min}^{-1}$ ) of samples of VH (in black), BH (in red) and SH (in blue).

**Table 3**  
TG and MS results: range temperature ( $\Delta T$ ), mass loss ( $\Delta m$ ) and released gasses of each event of the hair sample.

Sample hair	Technique	Event	$\Delta T$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>†</sup>	$\Delta m$ (%) <sup>†</sup>
VH	TG	Dehydration	30–165	4.7
		Decomposition	203–638	92.4
	MS	Gas	From 203	–
			CO <sub>2</sub> 214–275 H <sub>2</sub> S 222–319	– – –
BH	TG	Dehydration	30–181	5.1
		Decomposition	211–623	91.5
	MS	Gas	From 211	–
			CO <sub>2</sub> 214–304 H <sub>2</sub> S 217–297	– – –
SH	TG	Dehydration	30–173	5.1
		Decomposition	177–668	92.9
	MS	Gas	From 177	–
			CO <sub>2</sub> 221–296 H <sub>2</sub> S 232–319	– – –

<sup>†</sup> Average of duplicate measurements.

slowly in the SH sample. In the second event, its mass loss (keratin decomposition) is different from that shown in VH and BH.

Brebu & Spiridon (2011) have shown that the variation of  $m/z$  mass numbers (mass/charge ratio) with temperature during TG analysis offers valuable information on the volatile compounds formed during thermal degradation of hair samples. In the present work, the MS spectra [Figs. 7(a), 7(b) and 7(c)] showed that, in the range of 25 to  $\sim 125^{\circ}\text{C}$ , only water ( $m/z = 18$ ) was released in the SH sample, which confirms that the decrease in distance between the lipid layers observed in the SAXS *in situ* measurements (Fig. 5) was caused by the loss of water in the hair tresses during heating.

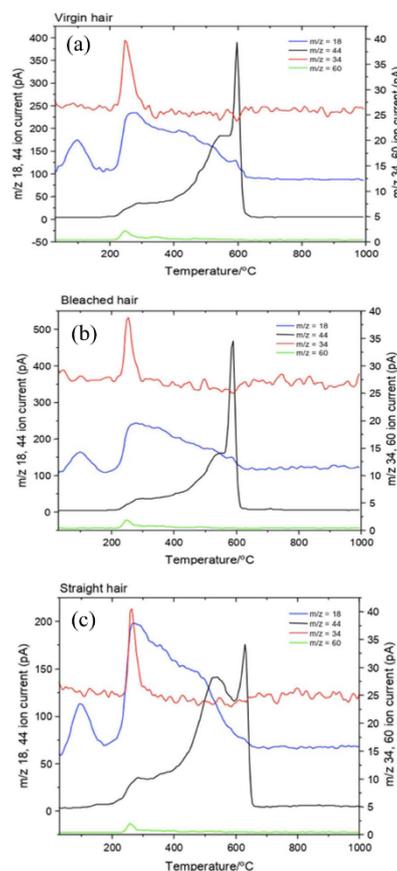
This behavior of the CMC shows that this microstructure has a fundamental role in the retention of water inside the hair shaft. Other gasses were also observed in the mass spectra of these hair samples [Figs. 7(a), 7(b) and 7(c)]: CO<sub>2</sub> ( $m/z = 44$ ), SCO ( $m/z = 60$ ) and H<sub>2</sub>S ( $m/z = 34$ ). Lima *et al.* (2019) also detected the formation of classes of heteroatom-containing compounds (sulfides and thiols) during the heating of hair, originating from the thermal decomposition of amino acids.

However, in our research, the MS spectra of the SH sample showed a release of CO<sub>2</sub> ( $m/z = 44$ ) at  $\sim 177^{\circ}\text{C}$ , about  $26^{\circ}\text{C}$  before the VH sample (Table 3). This behavior is seen in the TG/DTG curves [in detail in Fig. 6(b)] of the SH sample, which show the beginning of thermal decomposition – second mass-loss event – before the VH sample.

To explain the higher ‘confinement’ of the water molecules between the lipid bilayers observed for SH, we can consider the following hypotheses:

(i) the acid straightening associated with the heat from the thermal device forms a film around the fiber [according to Goshiyama *et al.* (2020)], hampering the ‘exit’ of the water, which is verified by TG data;

(ii) the deposition of the acid active (or its by-products) on the surface and/or in the interior of the fiber promotes its



**Figure 7**  
Evolution of gasses during the TG analysis of samples of hair: (a) VH, (b) BH and (c) SH. The gasses involved were H<sub>2</sub>O ( $m/z = 18$ ), CO<sub>2</sub> ( $m/z = 44$ ), SCO ( $m/z = 60$ ) and H<sub>2</sub>S ( $m/z = 34$ ).

rigidity [according to Colenci (2017) and Goshiyama *et al.* (2020)], and the changes in the protein structure inside the fiber consequently cause a change in the ordination (packing) of the fiber’s lipid composition, according to data obtained by WAXS/SAXS measurements.

### 3.2. Neutron scattering

QENS and INS data from hair samples were used in this study to investigate the hydrogen mobility arising from proteins, lipids and water in the chemically changed structure. Figs. 8(a) and 8(b) show the results. Collagen is the main protein constituent of a wide variety of connective tissues in animals. For the INS data, the water bound to collagen was assigned to bands with intensity at  $\sim 50\text{ cm}^{-1}$  and a broad band between 500 and  $800\text{ cm}^{-1}$  (Parker, 2001). The first vibration

## research papers

is assigned to the interhelical water hydrated sample and the second signal to modes from both the tightly bound and interhelical water. Fig. 8(a) shows an alteration in the intensity of the vibrational modes assigned to the hydrogen atoms around  $500\text{--}800\text{ cm}^{-1}$  of the INS spectra of the hair tresses. In this region, a slight difference in the intensity between the types of hair was observed, while differences at  $\sim 50\text{ cm}^{-1}$  were not detected. This is an indication that protein denaturation in the SH and BSH samples did not affect the water in the microfibrils. Kamath *et al.* (2014) demonstrated that the amount of water adsorbed through hydrogen bonding and exchanged with amine and amide nitrogen in the spaces between the IFs (interhelical) appears to be relatively small compared with that in mesoporous regions as multimolecular layers. If one correlates these results with the SAXS data for the straightened hair tresses (SH and BSH), it is possible to conclude that the water molecules appear to be, preferably, between the lipidic bilayers (CMC), located in the outer region of the microfibrils (hair matrix).

Even though it was not possible to observe the peak of amide I at  $1650\text{ cm}^{-1}$ , since this is expected to be weak in INS (Middendorf *et al.*, 1995), other important features were detected in the spectra. For example, there are alterations in the intensity at  $\sim 1330$  and  $1450\text{ cm}^{-1}$  for the treated hair tresses, which were assigned by Festa *et al.* (2019) to lipid components and by Parker (2001) to displacement of the groups  $\text{CH}_2$  wag,  $\text{CH}_2$  twist,  $\text{CH}_2$  bend, CH bend, and  $\text{CH}_3$  symmetric and antisymmetric bend. This observation is also reflected by the changes in EFW results [Fig. 8(a)], represented as mean square displacements (Bordallo *et al.*, 2010), observed for the averaged  $q$  values. The data show the increase in proton mobility with the different treatments, observed by the greater and continuous decay of the curves corresponding to each sample. This means that the structure of VH is more rigid, where hydrogen atoms (from water, protein, lipids) are less mobile.

Table 4  
Porosity data (maximum and minimum values).

Sample	Fiber number	% Pore volume		
		Minimum	Maximum	Average + standard deviation
VH	37	1.65	5.53	$3.26 \pm 1.05$
BH	28	1.53	7.93	$3.43 \pm 1.50$
SH	34	0.70	8.27	$3.51 \pm 1.83$
BSH	34	6.96	20.89	$11.97 \pm 3.62$

Comparing the hair treated tresses, the QENS curve related to BSH remained between the BH QENS curve and the SH QENS curve. This shows that the overlapping treatments promote a rearrangement in the hydrogenated molecules. Taddei *et al.* (2015) detected changes in the average tyrosine environment and its hydrogen-bonding state with increasing glyoxylic acid incorporation, making the tyrosine residues more exposed. These findings may explain the greater proton mobility obtained in this research. In addition, the serine and lysine amino acidic residues appeared to be involved in the reaction with glyoxylic acid resulting in the formation of iminic species. In this sense, the pH of the formulation appears an important factor for subsequent reactions of the hair treatments, even after washing.

The above results indicate that the 'starting point' of the BH tresses (which were exposed to  $\text{pH} \approx 10$ ) and SH tresses (at  $\text{pH} \approx 1$ ) promotes important structural changes when compared with VH ( $\text{pH} \approx 5$ ). These explanations are also supported by the HRXRM and USAXS data, which show a significant difference in the quantified porosity for the sample of BSH, as shown in the next section.

3.2.1. High-resolution 3D X-ray microscopy and computed tomography (HRXRM) and USAXS. We used the ZEISS Xradia Versa XRM-510 microscope to observe and quantify the porosities of hair fibers of groups VH, BH and SH. Table 4 shows these values expressed in percentages. The size distributions were also obtained and are shown in Figs. S3–S6.

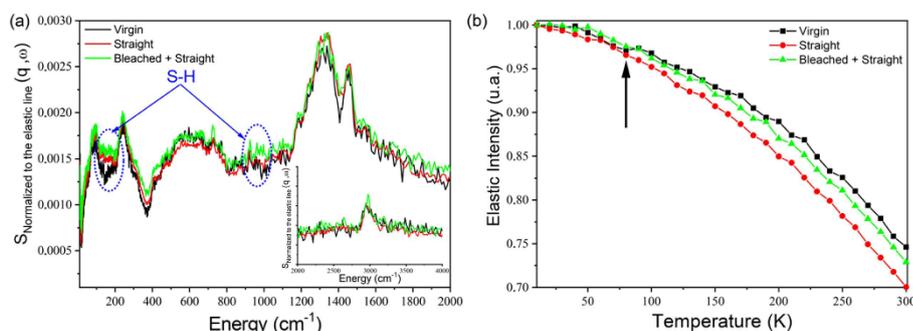


Figure 8

(a) Normalized evolution of immobile protons on the nanosecond timescale obtained from data collected using IRIS at ISIS. The error bars are within the size of the symbols. (b) Normalized vibrational spectra obtained at 10 K using the vibrational spectrometer TOSCA. VH samples are shown in black, SH samples in red and BSH samples in green. In (a) the intensity of the signal is directly proportional to the phonon density. In (b) the anomalous decrease of the elastic intensity, indicated by an arrow and occurring around 80 K, is indicative of the onset of some type of diffusive motion that is faster than the instrumental time resolution (40 ps). Blue dotted circles indicate vibrational modes attributed to S–H torsion ( $\sim 150\text{ cm}^{-1}$ ) and S–H bending ( $\sim 950\text{ cm}^{-1}$ ) in L-cysteine (Bordallo *et al.*, 2010; Pawlukoje *et al.*, 2005).

The obtained values are within the resolution limit of the technique and therefore one can compare the overall results among the samples in the batch but not the exact values themselves. From the percentage values, BSH showed the highest values among the samples. In fact, these increases in porosity corroborate findings in the literature by other analytical techniques, which show that bleaching (oxidative damage) makes the hair fiber more susceptible to damage from subsequent treatments. This is due to, in addition to melanin degradation (Robbins, 2012; Wolfram *et al.*, 1970), bleaching caused by hydrogen peroxide (which occurs at a pH close to 10), causing detachment of cuticular layers and removing the lipid 18-MEA (Masukawa *et al.*, 2005), promoting a greater capacity for absorption of cosmetic actives, and therefore accelerating the kinetics of the action of subsequent treatments (Martins Junior, 2015). In addition, bleaching leads to alteration in the water retention of the hair (Lima *et al.*, 2020) and an increase in cysteic acid residues in the fiber, causing a significant change in the distribution of cross-electrostatic bonds (Wolfram *et al.*, 1970). Wolfram *et al.* (1970) suggest that the swelling of BH is directly related to the overall chemical modification of keratin by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and may represent a convenient means for the assessment of the extent of damage.

Figs. 9(a) and 9(b) show 3D and 2D images (respectively) obtained by X-ray microtomography measurements of the hair fibers. The images in the 2D part represent a section (in the black axial plane) of the fiber arrangements shown in Fig. 9(a).

The porosity is represented by the blue dots. It is possible to observe a significant difference in the increase in porosity between the fibers subjected to bleaching followed by straightening (BSH) and VH.

The USAXS data for each hair sample are shown in Fig. 10. The 2D images show an anisotropic scattering, which indicates the presence of anisotropic features in the hair fibers for the USAXS region.

To attain a quantitative analysis of the scattering, vertical and horizontal cuts were performed on the USAXS data. The 1D curves are shown in Fig. 11. A model for fractal structures composed of spherical subunits was used to describe the data. In this model the scattering intensity is given by

$$I_{\text{mod}}(q) = S_C P_{\text{sphere}}(q) S_{\text{frac}}(q), \quad (1)$$

where  $S_C$  is an overall scale factor and  $P_{\text{sphere}}(q)$  is the intensity form factor of spherical particles with radius  $R$ :

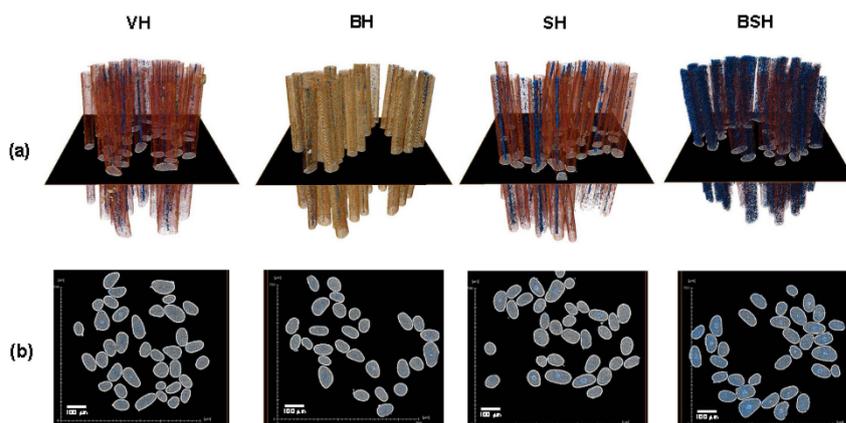


Figure 9  
(a) 3D images showing the cuts used to obtain the porosity values of the hair fibers and (b) 2D images of the same cuts.

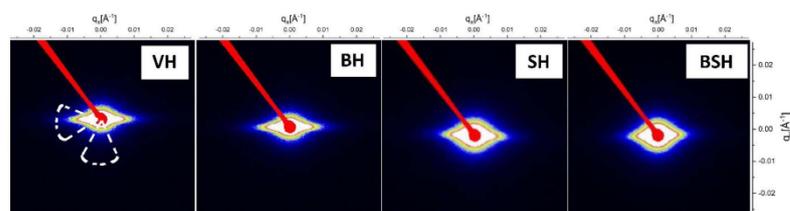


Figure 10  
2D images obtained from USAXS zone planes for the sample hair types. Sample–detector distance = 650 cm.

$$P_{\text{sphere}}(q) = \left\{ \frac{3[\sin(qR) - qR \cos(qR)]}{(qR)^3} \right\}^2. \quad (2)$$

The structure factor of fractal aggregates with fractal dimension  $D$ , overall fractal size  $\xi$  and subunit characteristic radius  $R$  is given by (Teixeira, 1988)

$$S_{\text{frac}}(q) = 1 + \left\{ \frac{1}{(qR)^D} \frac{D\Gamma(D-1)}{[1 + (1/q^2\xi^2)]^{(D-1)/2}} \times \sin[(D-1)\tan^{-1}(q\xi)] \right\}, \quad (3)$$

where  $\Gamma(x)$  is the Gamma function. Another possibility is having surface fractal structures (Anitas, 2020; Bale & Schmidt, 1984). In this model, pores are large (not visible on the experimental  $q$  range), and therefore the contribution comes mainly from the inner surface. In this case, the scattering intensity is given by

$$I_{\text{frac}}^{\text{surf}}(q) \simeq \frac{S_c^{\text{surf}} \Gamma(5 - D_s) \sin[\pi(D_s - 1)/2]}{q^{6 - D_s}}, \quad (4)$$

where  $S_c^{\text{surf}}$  is an overall scale factor and  $D_s$  is the fractal dimension for the surface. Therefore, the main point of the fractal analysis is the fact that for volume fractals one has  $I(q) \simeq q^{-D}$  and for surface fractals one has  $I(q) \simeq q^{-(6-D_s)}$ . As shown in Fig. 9, the hair fibers have pores, which give the main contribution to the USAXS data. Due to resolution limits on the HRXRM technique, it is not possible to see pores smaller than  $\sim 3 \mu\text{m}$ . USAXS, on the other hand, is certainly sensible to pores smaller than this value. Therefore, the fractal contributions detected by USAXS might come from volume fractals for the smaller pores within the matrix and also from the inner surface from the large pores. It is beyond the scope of this article to give a deeper description of the pores, but the

Table 5

Structural parameters obtained from the modeling of USAXS data.

The fractal subunit radius and the subunit radius for the form factor were set to 15 Å.

Cut direction	Sample	$S_c$ ( $10^{-10}$ )	$D^\dagger$	$\xi$ ( $10^3$ Å)
Horizontal	VH	1.3 (8)	3.000 (1)	297 (100)
	BH	2 (1)	3.000 (1)	556 (100)
	SH	1.1 (4)	3.000 (1)	372 (100)
	BSH	3 (1)	3.000 (1)	357 (100)
Vertical	VH	1.0 (6)	3.000 (1)	167 (70)
	BH	1.3 (8)	3.000 (1)	265 (100)
	SH	1.2 (5)	3.000 (1)	321 (100)
	BSH	2 (1)	3.000 (1)	185 (80)

$^\dagger$  The fractal dimension  $D_s = 6 - D$  also has a value close to 3.0.

results obtained from the data analysis give structural insights on the pore distribution in the system.

The results obtained from the modeling analysis are summarized in Table 5. Since the curves are related to USAXS data, the optimization of the small subunit sizes (used in either the form factor or the fractal structure factor) was very unstable. Therefore, a typical value of 15 Å was used, which provided reasonable fits. For either the vertical or the horizontal cuts, we obtained slopes of  $\sim 3.0$ , which could indicate the formation of volume fractal structures ( $D = 3.0$ ) or rough surface fractals ( $D_s = 6 - D = 3.0$ ). For the volume fractal hypothesis, the obtained fractal sizes indicate an interesting behavior for each hair sample. For VH we obtained larger fractal sizes for the horizontal cuts (perpendicular to the hair-fiber alignment). Similar results were observed for BH but with larger sizes, indicating the increase of the overall pore sizes. For SH, on the other hand, the obtained sizes for the vertical or horizontal cuts provide similar sizes for the fractal sizes, with values slightly larger than those obtained for VH.

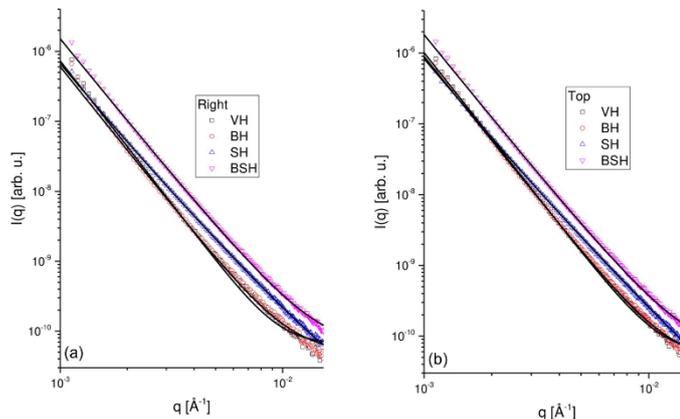


Figure 11 1D (a) vertical and (b) horizontal cuts of USAXS data. Symbols: experimental data. Solid lines: theoretical curves.

Finally, for BSH, the results indicate the formation of larger fractal aggregates in the vertical direction than in the horizontal direction. The analysis of the overall scale factor  $S_C$  is also important since it is related to the overall pore fraction in the system. We obtained the largest values for the BSH sample, indicating that the fraction of the pores is larger in this sample than in the other cases. The pore-size distributions (Figs. S3–S6) also indicate an increase of large pore fractions in the BSH samples. All in all, the USAXS and HRXRM data show a nice correlation and indicate the presence of pores inside of the hair fibers, which varies according to the type of treatment.

#### 4. Conclusions

In this work, we presented a multidisciplinary investigation combining structural, thermodynamic, vibrational, microscopic and thermogravimetric data for the investigation of human hair tresses. It was shown that the hair straightener containing a blend of carbonyl-based compounds modified microstructural components of the fiber. These data corroborated those reported in the literature, evidencing that this type of procedure causes marked changes in the hair fiber cortex. The main changes include (i) denaturation of the IFs (keratin  $\alpha$ -helix); (ii) swelling of the CMC, shown by the distancing of the lipid bilayers; (iii) greater susceptibility to the cortical porosity of the fiber when applying this type of straightener to previously bleached hair; (iv) alteration in the groups ( $\text{CH}_2$ ) of the lipids; and (v) increased proton mobility in the structure.

The presence of pores inside the hair fibers and their variation according to the type of treatment on the fiber were investigated using HRXRM and USAXS. The results indicated the variation of the pore sizes and fraction depending on the treatment of the fiber. The pore fraction is directly related to the fiber mechanical resistance and our investigations provide important results on this point. In addition, it was possible to verify that the lipid bilayers of the cortex have a significant importance in water retention inside the fiber.

All these data associated with those reported in the literature demonstrated that the action mechanism of acid straightener products on hair is complex. The approach proposed in this work is applicable for a detailed evaluation of alterations to microstructure at different length scales inside the hair fiber prompted by different cosmetic treatments. Interestingly, these techniques involve non-destructive testing of samples. The results shown in this article can provide support to companies, researchers and professionals in hair cosmetology for proper understanding of the changes caused by acid actives in hair fibers under heating.

#### Acknowledgements

All authors thank the Science and Technology Facilities Council (STFC) for access to neutron-beam time at the ISIS facility.

#### Funding information

CRRCL and CLPO acknowledge financial support of this work by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Fluidos Complexos (INCT-FCx), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, grant/award No. 2016/24531-3. RAAC acknowledges financial support by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, grant/award No. 2011/50318-1. RJSL acknowledges financial support from the Federal University of Campina Grande (UFCG) for a research visit at the Niels Bohr Institute (NBI). RJSL and HNB also acknowledge the support for neutron and X-ray research given by DanScatt, the Danish Agency for Science, Technology and Innovation.

#### References

- Anitas, E. M. (2020). *Symmetry*, **12**, 65.
- ANVISA (2023). *Orientações sobre Alisantes*. [https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6520444/IN\\_220\\_2023\\_.pdf/ici0ac94-bc1b-4d82-9503-19dclc954508](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6520444/IN_220_2023_.pdf/ici0ac94-bc1b-4d82-9503-19dclc954508).
- Arnold, O., Billeux, J. C., Borreguero, J. M., Buts, A., Campbell, S. I., Chapon, L., Doucet, M., Draper, N., Ferraz Leal, R., Gigg, M. A., Lynch, V. E., Markvardsen, A., Mikkelsen, D. J., Mikkelsen, R. L., Miller, R., Palmen, K., Parker, P., Passos, G., Perring, T. G., Peterson, P. F., Ren, S., Reuter, M. A., Savici, A. T., Taylor, J. W., Taylor, R. J., Tolchenov, R., Zhou, W. & Zikovskiy, J. (2014). *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, **764**, 156–166.
- Baias, M., Demco, D. E., Popescu, C., Fechet, R., Melian, C., Blümich, B. & Möller, M. (2009). *J. Phys. Chem. B*, **113**, 2184–2192.
- Balc, H. D. & Schmidt, P. W. (1984). *Phys. Rev. Lett.* **53**, 596–599.
- Bertrand, L., Doucet, J., Simionovici, A., Tsoucaris, G. & Walter, P. (2003). *Biochim. Biophys. Acta*, **1620**, 218–224.
- Boga, C., Taddei, P., Micheletti, G., Ascari, F., Ballarin, B., Morigi, M. & Galli, S. (2014). *Int. J. Cosmet. Sci.* **36**, 459–470.
- Bordallo, H. N., Boldyreva, E. V., Fischer, J., Koza, M. M., Seydel, T., Minkov, V. S., Drebuschak, V. A. & Kyriakopoulos, A. (2010). *Biophys. Chem.* **148**, 34–41.
- Bouillon, C. & Wilkinson, J. (2005). *The Science of Hair Care*. Boca Raton: CRC Press.
- Brebu, M. & Spiridon, I. (2011). *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **91**, 288–295.
- Briki, F., Busson, B. & Doucet, J. (1998). *Biochim. Biophys. Acta*, **1429**, 57–68.
- Busson, B., Briki, F. & Doucet, J. (1999). *J. Struct. Biol.* **125**, 1–10.
- Campbell, S. I., Telling, M. T. F. & Carlile, C. J. (2000). *Physica B*, **276–278**, 206–207.
- Coderch, L., Méndez, S., Martí, M., Pons, R. & Parra, J. L. (2007). *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **60**, 89–94.
- Cohen, C. & Parry, D. A. D. (1994). *Science*, **263**, 488–489.
- Colenci, A. V. P. (2017). PhD thesis, Federal University of São Carlos, Brazil.
- Cornwell, P. A., Barry, B. W., Stoddart, C. P. & Bouwstra, J. A. (1994). *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 938–950.
- Crick, F. H. C. (1952). *Nature*, **170**, 882–883.
- Festa, G., Andreani, C., Baldoni, M., Cipollari, V., Martinez-Labarga, C., Martini, F., Rickards, O., Rolfo, M. F., Sarti, L., Volante, N., Senesi, R., Stasolla, F. R., Parker, S. F., Vassalo, A. R., Mamede, A. P., Batista de Carvalho, L. A. E. & Marques, M. P. M. (2019). *Sci. Adv.* **5**, eaaw1292.
- Feughelman, M. (1959). *Text. Res. J.* **29**, 223–228.
- Fraser, R. D. B., MacRae, T. P., Miller, A. & Suzuki, E. (1964). *J. Mol. Biol.* **9**, 250–252.

## research papers

- Goshiyama, A. M., Dario, M. F., Lima, C. R. R. C., de Araújo, G. L. B., Baby, A. R. & Velasco, M. V. R. (2020). *J. Cosmet. Dermatol.* **19**, 508–513.
- 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. (2018). *Int. J. Cosmet. Sci.* **40**, 536–548.
- Guinier, A. (1994). *X-ray Diffraction in Crystals, Imperfect Crystals, and Amorphous Bodies*. New York: Dover.
- Hammersley, A. P. (2016). *J. Appl. Cryst.* **49**, 646–652.
- Istrate, D., Popescu, C. & Möller, M. (2009). *Macromol. Biosci.* **9**, 805–812.
- Kamath, Y., Murthy, S. N. & Ramaprasad, R. (2014). *J. Cosmet. Sci.* **65**, 37–48.
- Kon, R., Nakamura, A., Hirabayashi, N. & Takeuchi, K. (1998). *J. Cosmet. Sci.* **49**, 13–22.
- Kreplak, L., Doucet, J., Dumas, P. & Briki, F. (2004). *Biophys. J.* **87**, 640–647.
- Lauritsen, A. K., Pereira, J. E. M., Juranyi, F., Bordallo, H. N., Larsen, L. & Benetti, A. R. (2018). *J. Dent. Res.* **97**, 1017–1022.
- Lee, W. S., Oh, T. H., Chun, S. H., Jeon, S. Y., Lee, E. Y., Lee, S., Park, W. S. & Hwang, S. (2005). *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* **10**, 234–237.
- Lima, C. R. R. C., Couto, R. A. A., Freire, T. B., Goshiyama, A. M., Baby, A. R., Velasco, M. V. R., Constantino, V. R. L. & Matos, J. R. (2019). *J. Cosmet. Dermatol.* **18**, 1885–1892.
- Lima, C. R. R. C., Lima, R. J. S., Machado, L. D. B., Velasco, M. V. R., Lakić, L., Nordentoft, M. S., Machuca-Beier, L., Rudić, S., Telling, M. T. F., Sakai, V. G., Oliveira, C. L. P. & Bordallo, H. N. (2020). *Eur. Phys. J. Spec. Top.* **229**, 2825–2832.
- Lupas, A. N. & Gruber, M. (2005). *Adv. Protein Chem.* **70**, 37–78.
- Martins Junior, C. (2015). Dissertation, Technological Research Institute, Brazil.
- Masukawa, Y., Tsujimura, H. & Imokawa, G. (2005). *J. Chromatogr. B*, **823**, 131–142.
- Middendorf, H. D., Hayward, R. L., Parker, S. F., Bradshaw, J. & Miller, A. (1995). *Biophys. J.* **69**, 660–673.
- Monteiro, V. F., Maciel, A. P. & Longo, E. (2005). *J. Therm. Anal. Calorim.* **79**, 289–293.
- Murthy, N. S., Wang, W. J. & Kamath, Y. (2019). *J. Struct. Biol.* **206**, 295–304.
- Nagle, J. F. R. T., Zhang, S., Tristram-Nagle, S., Sun, W., Petrache, H. I. & Suter, R. M. (1996). *Biophys. J.* **70**, 1419–1431.
- Oliveira, C. L. P., Vorup-Jensen, T., Andersen, C. B. F., Andersen, G. R. & Pedersen, J. S. (2009). *Applications of Synchrotron Light to Scattering and Diffraction in Materials and Life Sciences*, pp. 231–244. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Parker, S. F. (2001). *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Chichester: Wiley.
- Parry, D. A. D. (1995). *Proteins*, **22**, 267–272.
- Pawlukojć, A., Leciejewicz, J., Ramirez-Cuesta, A. J. & Nowicka-Scheibe, J. (2005). *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **61**, 2474–2481.
- Pedersen, J. S. (2004). *J. Appl. Cryst.* **37**, 369–380.
- Pinna, R. S., Rudić, S., Parker, S. F., Armstrong, J., Zanetti, M., Škoro, G., Waller, S. P., Zacek, D., Smith, C. A., Capstick, M. J., McPhail, D. J., Pooley, D. E., Howells, G. D., Gorini, G. & Fernandez-Alonso, F. (2018). *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A*, **896**, 68–74.
- Robbins, C. (2012). *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*. Heidelberg: Springer.
- Sá Dias, T. C. de, Baby, A. R., Kaneko, T. M. & Robles Velasco, M. V. (2007). *J. Cosmet. Derm.* **6**, 2–5.
- Santos, J. D. dos, Edwards, H. G. M. & de Oliveira, L. F. C. (2019). *Heliyon*, **5**, e01582.
- Song, S. H., Lim, J. H., Son, S. K., Choi, J., Kang, N. G. & Lee, S. M. (2019). *Sci. Rep.* **9**, 9834.
- Stanić, V., Bettini, J., Montoro, F. E., Stein, A. & Evans-Lutterodt, K. (2015). *Sci. Rep.* **5**, 17347.
- Taddci, P., Boga, C., Micheletti, G. & Ballarin, B. (2015). *J. Raman Spectrosc.* **46**, 100–108.
- Teixeira, J. (1988). *J. Appl. Cryst.* **21**, 781–785.
- Wade, M., Tucker, I., Cunningham, P., Skinner, R., Bell, F., Lyons, T., Patten, K., Gonzalez, L. & Wess, T. (2013). *Int. J. Cosmet. Sci.* **35**, 430–441.
- Wertz, P. W., Abraham, W., Landmann, L. & Downing, D. T. (1986). *J. Investig. Dermatol.* **87**, 582–584.
- Wolfram, L. J., Hall, K. & Hui, I. (1970). *J. Soc. Cosmet. Chem.* **21**, 875–900.
- Wortmann, F. J., Springob, C. & Sendelbach, G. (2002). *J. Cosmet. Sci.* **53**, 219–228.
- Yang, F. C., Zhang, Y. & Rheinstädter, M. C. (2014). *PeerJ*, **2**, e619.
- Yu, Ya., Yang, W., Wang, B. & Meyers, M. A. (2017). *Mater. Sci. Eng. C*, **73**, 152–163.
- Zhang, Y. C., Alsop, R. J., Soomro, A., Yang, F. C. & Rheinstädter, M. C. (2015). *PeerJ*, **3**, e1296.