



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

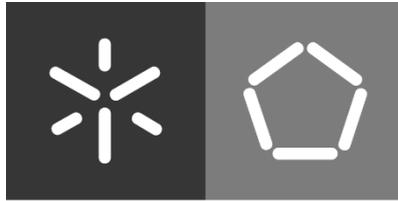
**Modulação da fibra do cabelo através da formação de
poliésteres**

Vânia Catarina da Rocha Quesado

**Modulação da fibra do cabelo
através da formação de poliésteres**

UMinho|2021 Vânia Quesado

dezembro de 2021



Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Vânia Catarina da Rocha Quesado

**Modulação da fibra do cabelo através
da formação de poliésteres**

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Engenharia Biológica

Trabalho efetuado sob a orientação do

Professor Artur Cavaco-Paulo

Doutora Madalena Martins

dezembro de 2021

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

AGRADECIMENTOS

Agora que esta etapa da minha formação está a chegar ao fim, é altura de expressar o meu agradecimento a todos aqueles que contribuíram para o sucesso desta jornada.

Ao Professor Artur Cavaco-Paulo e à Dra. Madalena Martins pela oportunidade de realizar o meu estágio curricular na Solfarcos, e pela motivação, incentivo, dedicação e transmissão de conhecimentos durante todo este processo. Por todos os comentários e sugestões construtivas que me ajudaram no desafio deste estágio e no aprimoramento da redação da minha dissertação.

Aos meus colegas de laboratório, pela ajuda e por nunca recusarem tirar as minhas dúvidas, pela assistência e pelo excelente ambiente de trabalho que me proporcionaram.

Sou também grata à Dra. Eugénia Nogueira, Dra. Ana Loureiro e Dra. Joana Sousa por estarem sempre disponíveis durante o meu estágio.

Aos meus amigos pela motivação e companheirismo de sempre e durante esta jornada.

E por último, mas não menos importante, um agradecimento especial aos meus pais e à minha irmã que sempre me incentivaram e apoiaram as minhas decisões durante o meu percurso académico, e sem os quais tudo isto não seria possível.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

RESUMO

Modulação da fibra do cabelo através da formação de poliésteres

Os processos vulgarmente usados para a alteração da forma do cabelo, envolvem o uso de componentes agressivos para com a fibra capilar, o consumidor e o meio ambiente. O objetivo desta dissertação visou desenvolver formulações alternativas à base de componentes menos agressivos que permitam a alteração da forma do cabelo. Estas formulações foram aplicadas em mechas de cabelo de origem asiática usando diferentes metodologias de aplicação em dois tipos de processos de esterificação *in situ* (a reação ocorre diretamente na fibra do cabelo): reação por condensação e por reação enzimática. Foi testada a aplicação de vários rácios molares de ácido (ácido cítrico e oxálico) e álcool (glicerol) para a formação do grupo éster, a altas temperaturas e a baixas temperaturas na presença da lipase. As mechas de cabelo foram avaliadas em termos de eficiência de encaracolamento após aplicação e após três lavagens com champô. As formulações compostas por ácido cítrico 1:1 glicerol, e por ácido oxálico 1:2 glicerol aplicadas a 170° C durante 2 min, exibiram os melhores resultados após três lavagens, cerca de 20 % e 31 %, respetivamente. No que diz respeito à aplicação das formulações na presença da lipase a baixas temperaturas, a lavagem pós tratamento, para inativação da enzima, com SDS 1% ou sulfato de amónio 0,5 mM demonstrou ser a mais eficaz para o efeito. A aplicação das formulações ácido cítrico 1:3 glicerol e ácido oxálico 1:2 glicerol obtiveram os melhores resultados após três lavagens, 17,5 % e 13 %, respetivamente.

A caracterização físico-química das amostras de cabelo tratadas exibiu evidências da formação da ligação éster. Pelos espetros ESI-MS das formulações verificou-se a formação do dímero esperado e a análise FTIR-ATR evidenciou uma nova banda nas amostras tratadas, que diz respeito à formação da ligação éster. As imagens obtidas com MEV revelaram que a integridade estrutural da fibra capilar foi mantida após os tratamentos, resultados que corroboram os resultados obtidos pela percentagem de perda de massa nos ensaios de resistência ao desgaste. As amostras tratadas apresentaram perda de massa significativamente similar ao cabelo virgem, o que demonstrou que os tratamentos não danificaram a superfície da fibra, não alterando a taxa de degradação da fibra do cabelo. Relativamente à análise térmica da fibra capilar, as amostras tratadas de uma forma geral mantiveram a estabilidade térmica idêntica à do cabelo original sem tratamento.

Estas formulações mostraram ser uma alternativa promissora, porém muito embrionária, aos produtos cosméticos, com um ligeiro efeito de encaracolamento. Este estudo estabelece uma boa base para o desenvolvimento de futuras formulações e estudo de sinergias com outros ingredientes para o cuidado e alteração da forma do cabelo.

Palavras-Chave: Cosméticos, Éster, Forma do cabelo, Lipase, Misturas eutéticas.

ABSTRACT

Modulation of hair fiber by polyester network formation

The processes commonly used to change the shape of hair, involve the use of aggressive components towards the hair fiber, the consumer and the environment. The aim of this dissertation was to develop alternative formulations based on less aggressive components that change the shape of the hair. These formulations were applied to Asian hair using different application methodologies in two types of in situ esterification processes: condensation reaction and enzymatic reaction. The application of various molar ratios of acid (citric and oxalic acid) and alcohol (glycerol) for the formation of the ester group, at high temperatures and at low temperatures in the presence of lipase, was tested. The locks of hair were evaluated in terms of curling efficiency after application and after three shampoo washes. Formulations composed of citric acid 1:1 glycerol, and oxalic acid 1:2 glycerol applied at 170 °C for 2 min, exhibited the best results after three washes, about 20 % and 31 %, respectively. With regard to the application of the formulations in the presence of lipase at low temperatures, washing after treatment, for enzyme inactivation, with 1% SDS or 0.5 mM ammonium sulphate, whichever is the most effective for the purpose. The application of the formulations citric acid 1: 3 glycerol and oxalic acid 1: 2 glycerol obtained the best results after three washes, 17.5 % and 13 %, respectively.

The physicochemical characterization of the treated hair samples showed evidence of ester bond formation. The formation of the expected dimer was verified by the ESI-MS spectra of the formulations and the ATR-FTIR analysis showed a new band in the treated samples, which concerns the formation of the ester bond. The images obtained with SEM revealed that the structural integrity of the hair fiber was maintained after the treatments, results that corroborate the results obtained by the percentage of mass loss in the wear resistance tests. The treated samples showed significantly similar mass loss to virgin hair, which demonstrated that the treatments did not damage the fiber surface, not altering the rate of degradation of the hair fiber. Regarding the thermal analysis of the hair fiber, the treated samples generally maintained the same thermal stability as the original untreated hair.

These formulations proved to be a promising but very embryonic alternative to cosmetic products, with a slight curling effect. This study lays a good foundation for the development of future formulations and the study of synergies with other ingredients for hair care and shape change.

Keywords: Cosmetics, Ester bond, Hair Shape, Lipase, Eutectic mixtures.

ÍNDICE

MOTIVAÇÃO	xvi
I.INTRODUÇÃO TEÓRICA	1
1. CABELO	1
1.1 Anatomia do cabelo.....	1
1.1.1 Estrutura do cabelo (cutícula, córtex e medula).....	3
1.1.2 Ciclo de crescimento do cabelo	7
1.1.3 Composição química da fibra do cabelo	8
1.1.4. Interações químicas na fibra do cabelo.....	12
1.1.5. Classificação da forma da fibra capilar e diferenças estruturais.....	13
1.1.6. Propriedades da fibra do cabelo	15
2. IMPACTO DOS TRATAMENTOS COSMÉTICOS NO CABELO	17
2.1. Tratamentos de modulação da forma do cabelo.....	17
2.2 Métodos comuns de ondulação do cabelo	18
2.3 Reações adversas aos componentes utilizados e necessidade de optar por métodos mais benignos.....	19
3. MISTURAS- SOLVENTES EUTÉTICOS	20
3.1 Definição e propriedades.....	20
3.2 Composição da uma mistura eutética	20
4. SÍNTESE DE POLIÉSTERES ATRAVÉS DE REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO POR CONDENSAÇÃO E POR REAÇÃO ENZIMÁTICA	22
4.1 Ésteres	22
4.1.1 Reações de esterificação por condensação	23
4.1.2 Formação de poliéster de citrato de glicerol.....	24
4.2 Reações de esterificação/ hidrólise catalisadas por enzimas	25

4.2.1 Reações catalisadas pela enzima lipase.....	25
4.3 Principais aplicações dos ésteres.....	28
II. MATERIAIS E MÉTODOS	30
6. MATERIAIS.....	30
7. MÉTODOS.....	30
7.1 Desenvolvimento das formulações.....	31
7.2 Aplicação das formulações no cabelo	31
7.3 Caracterização das formulações (ESI-MS)	35
7.4 Atividade da lipase utilizando diferentes compostos	35
7.5 Microscopia eletrônica de varrimento (MEV).....	35
7.6 Teste de desgaste mecânico.....	36
7.7 Espectroscopia FTIR-ATR (Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada)	37
7.8 Calorimetria de varredura diferencial (DSC)	38
7.9 Análise estatística.....	38
III. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
8. RESULTADOS DA APLICAÇÃO DAS FORMULAÇÕES NO CABELO ATRAVÉS DE REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO POR CONDENSAÇÃO	39
8.1 Aplicação das formulações à base de misturas eutéticas a altas temperaturas	39
8.1.1 Preparação das formulações à base de misturas eutéticas.....	39
8.1.2 Eficiência de encaracolamento após tratamento e lavagens (qualitativa e quantitativa)	40
8.1.3 Caracterização físico-química das amostras de cabelo tratadas (MEV, teste de fadiga, FTIR-ATR, ESI-MS).....	49
8.1.4 Propriedades térmicas das amostras de cabelo tratadas (DSC)	56

9. RESULTADOS DA APLICAÇÃO DAS FORMULAÇÕES NO CABELO ATRAVÉS DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS.....	58
9.1 Aplicação das formulações através de reações de esterificação catalisadas pela lipase	58
9.1.1 Preparação das formulações sem água	58
9.1.2 Atividade da enzima lipase usando diferentes compostos.....	61
9.1.3 Eficiência de encaracolamento após tratamento e lavagens (qualitativa e quantitativa)	61
9.1.4 Caracterização físico-química das amostras de cabelo tratadas (Teste de fadiga, FTIR-ATR).....	73
9.1.5 Propriedades térmicas das amostras de cabelo tratadas (DSC)	75
IV. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	77
BIBLIOGRAFIA.....	80
ANEXOS	85
Anexo A.....	85
Anexo B	88
Anexo C	89
Anexo D	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esquema da constituição do couro cabeludo (adaptado de Robbins, C. R., 2011 [4]).	3
Figura 2- Secção transversal esquemática de uma fibra capilar (adaptado de Cruz, C., et al., 2016 [7]).	4
Figura 3- Imagem ilustra cutícula de cabelo humano. Imagem à esquerda: zona perto da raiz, bordas suaves; imagem à direita: zona perto da ponta da fibra, bordas quebradas (adaptado de Robbins C., et al., 2010 [5]).	5
Figura 4- Corte da secção transversal de um cabelo fino caucasiano. As células achatadas cuticulares (Cu) envolvem as células corticais (Co), que contêm muitos grânulos de pigmentos escuros (adaptado de Mello, M., 2010 [2]).	7
Figura 5- Formação da cistina devido à ligação dissulfídica entre as duas cisteínas (adaptado de Cruz, C. et al., 2016 [7]).	13
Figura 6- Divisão de cabelos por tipo de encaracolamento (adaptado de De La Mettrie, et al., 2007 [16]).	14
Figura 7 -Reação resumida da queratina capilar com tratamento na presença de agentes redutores e oxidantes (adaptado de de Cruz, C. et al., 2016 [7]).	17
Figura 8- Estruturas químicas de diferentes compostos que podem formar misturas eutéticas.	21
Figura 9- Esterificação do ácido cítrico e glicerol (adaptado de Tisserat, B., 2011 [37]).	24
Figura 10- Reação de hidrólise catalisada pela lipase (adaptado de Lasón, E., et al.,2010 [44]).	26
Figura 11- Principais exemplos de reações catalisadas por lipases (adaptado de Aouf, C., et al., 2014 [46]).	27
Figura 12- Esquema de aplicação do 1º método (M1).	32
Figura 13- Esquema de aplicação do 2º método (M2).	32
Figura 14- Esquema de aplicação do Método M3.	34

Figura 15- Representação da metodologia de avaliação da resistência ao desgaste mecânico (adaptado de Ribeiro, A. et al., 2021 [57]).	36
Figura 16- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após uma lavagem com solução de champô.	41
Figura 17- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido cítrico: glicerol, após três lavagens consecutivas com solução de champô.	42
Figura 18- Resultados visuais das amostras de cabelo, mostrando os melhores resultados obtidos com a formulação ácido cítrico: glicerol.	43
Figura 19- Estruturas propostas para a formação do polímero de citrato de glicerol, usando diferentes razões molares entre o ácido cítrico e o glicerol.	44
Figura 20- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol, após tratamento e após uma lavagem com solução de champô.	45
Figura 21- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol, após três lavagens consecutivas com solução de champô.	46
Figura 22- Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido oxálico: glicerol.	47
Figura 23- Estruturas propostas para a formação do polímero de oxalato de glicerol, usando diferentes razões molares entre o ácido oxálico e glicerol.	48
Figura 24- Efeito do tratamento com as formulações a 170 °C na resistência ao desgaste da fibra do cabelo. Informações de agrupamento usando o método de Tukey e 95% de confiança, o que significa que médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes. ..	50
Figura 25- Imagens MEV do cabelo tratado e não tratado (ampliação 1000 X): 1- cabelo virgem asiático (controlo); 2- cabelo tratado com ácido cítrico 1:1 glicerol/2 min-170 °C; 3- cabelo tratado com ácido oxálico 1:2 glicerol /2 min-170 °C; 4- cabelo tratado com ácido oxálico 1:1 glicerol /2 min-170 °C.	51

Figura 26- Espectro FTIR-ATR da fibra do cabelo, tratada e não tratada com diferentes formulações eutéticas.....	52
Figura 27- Espectro de massa da formulação eutética ácido cítrico 2:1 glicerol.....	53
Figura 28- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 1:2 glicerol.....	54
Figura 29- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 1:1 glicerol.....	54
Figura 30- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 2:1 glicerol.....	55
Figura 31- Curvas DSC de amostras de cabelo virgem e tratado com as formulações. Cada curva é representativa de três réplicas para cada condição.....	56
Figura 32- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após lavagem com solução de champô.	62
Figura 33- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.....	63
Figura 34 - Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido cítrico: glicerol + lipase	65
Figura 35- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após lavagem com solução de champô.	66
Figura 36- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol+ lipase, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.	66
Figura 37- Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido oxálico: glicerol + lipase	68
Figura 38- Comparação da eficiência de encaracolamento de ensaios realizados com a formulação a diferente pH, após tratamento e após lavagem com solução de champô.....	69
Figura 39- Comparação da eficiência de encaracolamento de ensaios realizados com a formulação a diferente pH, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.	70

Figura 40- Comparação dos resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase a pH ácido e básico.	71
Figura 41- Comparação dos resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol + lipase a pH ácido e básico.	71
Figura 42- Efeito do tratamento com as formulações na resistência mecânica da fibra do cabelo. Informações de agrupamento usando o método de Tukey e 95% de confiança, o que significa que médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.	74
Figura 43- Espectro FTIR-ATR da fibra do cabelo, tratada e não tratada com diferentes formulações.	74
Figura 44- Curvas DSC do cabelo virgem e das amostras de cabelo tratadas. Cada curva é representativa de três replicas para cada condição.	75
Figura 45- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 1 (ácido cítrico: glicerol).	85
Figura 46- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 2 (ácido cítrico: glicerol).	85
Figura 47- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 3 (ácido cítrico: glicerol).	86
Figura 48- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 5 (ácido cítrico: glicerol).	86
Figura 49- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 6 (ácido cítrico: glicerol).	87
Figura 50- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 4 e Protocolo 7 (ácido cítrico: glicerol).	87
Figura 51- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 1 (ácido oxálico: glicerol).	88
Figura 52- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 3 (ácido oxálico: glicerol).	88
Figura 53- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase.	89
Figura 54- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase.	89
Figura 55- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol + lipase.	90

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Agentes químicos típicos para ondulação do cabelo (adaptado de Cruz, C. et al., 2016 [7])	18
Tabela 2- Propriedades Físicas de alguns ésteres	23
Tabela 3- Principais ésteres utilizados como monómeros na indústria (adaptado de Costa et al., 2003 [56] e Skoronski, 2010 [32])	29
Tabela 4- Protocolos testados para aplicação da formulação composta por ácido cítrico e glicerol	33
Tabela 5- Protocolos testados para aplicação da formulação composta por ácido oxálico e glicerol	33
Tabela 6- Aparência e características das formulações eutéticas ácido cítrico: glicerol com diferentes razões molares, a 25°C	39
Tabela 7- Aparência e características das formulações eutéticas ácido oxálico: glicerol com diferentes razões molares, a 25°C.....	40
Tabela 8- Valores de entalpia e temperatura dos picos endotérmicos, das amostras de cabelo virgem e das amostras tratadas. Cada valor é representativo de 3 réplicas.	57
Tabela 9- Aparência das formulações ácido cítrico: glicerol na presença da lipase com diferentes tempos de aquecimento, a 25°C.....	59
Tabela 10- Aparência das formulações ácido oxálico: glicerol + lipase com diferentes tempos de aquecimento, a 25°C	60
Tabela 11- Atividade relativa (%) da lipase na presença de diferentes compostos	61
Tabela 12- Valores de entalpia e temperatura dos picos endotérmicos, das amostras de cabelo virgem e das amostras tratadas. Cada valor é representativo de 3 réplicas	76

LISTA DE ABREVIACÕES, ACRONIMOS E SIMBOLOS

DES	<i>Deep Eutetic Solvents</i> (Solventes Eutéticos Profundos)
HBD	<i>Hydrogen Bond Donor</i> (Doador de Ligação De Hidrogénio)
HBA	<i>Hydrogen Bond Acceptor</i> (Aceitador de Ligação De Hidrogénio)
CMC	Complexo de membrana celular
KAP	<i>Keratin Associate Proteins</i> (Proteínas associadas à queratina)
SDS	Dodecil sulfato de sdrio
FTIR-ATR	Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada
DSC	Calorimetria de varredura diferencial
MEV	Microscopia eletrnica de varrimento
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por electrospray

MOTIVAÇÃO

O cabelo é uma característica pessoal muito importante, com um destaque incontestável na sociedade, sendo uma das poucas características que pode de facto ser alterada em relação ao comprimento, cor ou forma. A cosmética capilar tem sido foco de um desenvolvimento contínuo de pesquisa científica a nível das propriedades e características do cabelo, no entanto os métodos e componentes usualmente utilizados para a modificação da forma do cabelo não são totalmente seguros para a saúde do consumidor e do profissional, nem inofensivos ao meio ambiente. Usualmente, este tipo de procedimento para modulação da forma da fibra do cabelo é à base de produtos químicos fortes e agressivos para a fibra e para o consumidor, como por exemplo o hidróxido de sódio, ácido tioglicólico, peróxido de hidrogénio, entre outros. O uso prolongado e repetitivo destes tratamentos na fibra do cabelo tem como consequência cabelos mais frágeis e ressequidos, assim como a redução da sua resistência mecânica.

Tem vindo a aumentar uma preocupação a nível social e científica para o desenvolvimento de produtos benignos para a saúde do utilizador e para fibra do cabelo. Assim, este estudo pretende testar o efeito de agentes menos agressivos para o cabelo e mais seguros, e desenvolver estratégias para a modificação das suas propriedades. O mesmo pode ser uma alavanca para futuros trabalhos que darão continuidade na otimização dos resultados, sendo de referir a sua importância no mercado da área cosmética.

I.INTRODUÇÃO TEÓRICA

1. CABELO

O cabelo exerce um papel importante na auto-percepção dos seres humanos. É uma das características físicas que pode ser alterada consoante a vontade e o estilo da pessoa; o seu comprimento, cor e forma podem ser modificados para criar um estilo totalmente diferente. Embora o cabelo não tenha nenhuma função vital, a sua importância imensurável pode ser verificada pela elevada procura de tratamentos, predominantemente a alteração da forma do cabelo é das mais solicitadas por parte das mulheres em todo mundo [1].

Os fios de cabelo estão num ciclo de renovação e desprendimento constante. Em contraste com os órgãos vitais, como o coração, fígado ou rins, em que a renovação celular é limitada, o crescimento do cabelo ocorre a uma taxa de 0,35 mm/dia. O cabelo é o único tecido estrutural que é totalmente renovável, sem cicatrizes, enquanto o folículo continua a ser uma unidade em funcionamento. Por este motivo, o cabelo pode ser submetido a procedimentos que não poderiam ser suportados por qualquer outro órgão do corpo. Esta constante renovação também significa que qualquer alteração na forma do cabelo, cor ou textura são temporárias, visto que atinge tão somente os fins que se localizam para fora do folículo [2].

1.1 Anatomia do cabelo

O fio de cabelo tem uma estrutura cilíndrica, altamente organizada, formada por células inertes, a maioria delas queratinizadas e distribuídas seguindo um desenho muito preciso e pré-definido. O cabelo forma uma estrutura muito rígida a nível molecular, que é capaz de oferecer ao segmento flexibilidade e resistência mecânica. O cabelo é considerado uma matéria morta e só está vivo quando é inserido no couro cabeludo (folículo piloso). Quando o fio emerge, ele torna-se matéria morta embora pareça que está a crescer, uma vez que a fibra aumenta o seu comprimento a uma velocidade de cerca de 1,0 cm/mês [3].

O cabelo humano tem cerca de 65-95 % do seu peso em proteínas, mais 32 % de água, pigmentos lipídicos e outros componentes. Quimicamente, cerca de 80 % do cabelo humano é formado pela proteína queratina com alto teor de enxofre - proveniente do aminoácido cistina - que

é característica para distingui-lo de outras proteínas. Queratina é uma proteína, formada por diferentes estruturas, que dá ao cabelo força, flexibilidade, durabilidade e funcionalidade. Os fios de cabelo apresentam diferenças estruturais notáveis, de acordo com a etnia e dentro do mesmo grupo, sendo que essas propriedades estão relacionadas com as características das fibras e com atributos cosméticos. Entre os primeiros temos: resistência, elasticidade, diâmetro, curvatura, cor e forma da seção transversal. Dentro das propriedades cosméticas podem ser referidos: brilho, penteado, volume, maleabilidade e retenção do penteado [3,7].

O cabelo cresce a partir de folículos, os quais estão incorporados no epitélio, abrangendo uma área da derme, conhecida como papilas dérmicas, esta que é ricamente suprida por vasos sanguíneos e nervos sensoriais. A área de divisão celular ativa é formada em torno da papila e é conhecida como bulbo, onde a divisão celular ocorre a cada 23-72 horas. Cada folículo é um órgão em miniatura que contém componentes glandulares e musculares. O músculo eretor do pelo localiza-se no meio da parede do folículo e termina na junção entre a epiderme e a derme (Figura 1). Cada fio de cabelo consiste em três áreas concêntricas:

- › a cutícula, que é o revestimento externo do fio capilar;
- › o córtex, que representa a maior parte do cabelo e é responsável pela sustentação do fio capilar;
- › a medula, que é a área central do cabelo e nem sempre está presente [3,6,7].

Em algumas áreas do corpo, glândulas sebáceas (glândulas de gordura) e glândulas sudoríparas apócrinas (glândula de suor) anexam-se ao folículo na região do infundíbulo. O ponto onde o músculo eretor do pelo se localiza é a região onde as novas matrizes de células são formadas e o ciclo de crescimento do cabelo é iniciado, sendo o tempo médio de três semanas para um fio de cabelo recém-formado surgir na superfície do couro cabeludo [3].

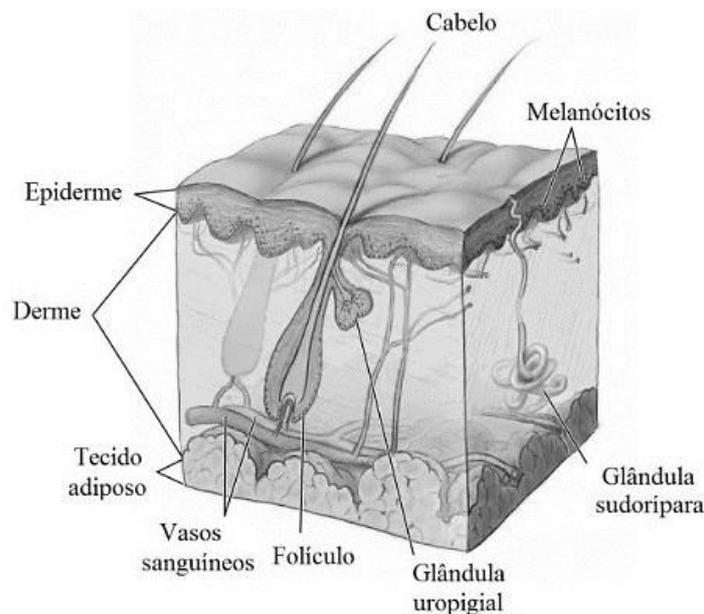


Figura 1- Esquema da constituição do couro cabeludo (adaptado de Robbins, C. R., 2011 [4]).

As glândulas sebáceas exercem um papel importante na manutenção do eixo do cabelo crescido porque produzem o sebo. A pele é a única que, na medida em que produz o sebo como seu próprio agente de condicionamento, pode reparar danos causados por tensoativos e solventes. O cabelo recebe sebo do couro cabeludo, no entanto produtos externos de cuidado capilar devem ser aplicados uma vez que atuam sobre o fio do cabelo danificado, onde não há nenhum processo de reparação natural. Os principais componentes do sebo são: glicerídeos 43 %, ácidos gordos livres 16 %, ceras esterificadas 25 %, esqualeno 12 %, colesterol 4 % e vestígios de hidrocarbonetos saturados [2,4].

1.1.1 Estrutura do cabelo (cutícula, córtex e medula)

O cabelo protege o couro cabeludo de queimaduras solares e abrasão mecânica, e fornece termorregulação. A fibra capilar, com cerca de 50–100 μm de diâmetro, tem funções protetoras e cosméticas. O couro cabeludo, sobrancelhas e pestanas do cabelo humano são fibras capilares terminais longas, grossas e pigmentadas. No entanto, o corpo é coberto por pelos de 2 cm a 4 cm de comprimento, com menos de 40 μm de diâmetro e, frequentemente, não pigmentados, chamados “vellus” [5].

Como já foi mencionado em cima, o cabelo é composto por três constituintes morfológicos principais: cutícula, córtex e medula, que se encontram representadas na Figura 2. A cutícula forma uma bainha espessa pela sobreposição de células ligadas formando camadas que podem contribuir para 10 % do peso da fibra capilar. Ela envolve o córtex, que constitui a parte mais volumosa e o centro da fibra capilar, nele estão localizadas as proteínas fibrosas características do cabelo, por exemplo, α -queratina. A terceira zona, a medula, é encontrada no centro do fio, ela é descontínua e às vezes encontra-se ausente, por isso não tem uma grande importância funcional [2,7].

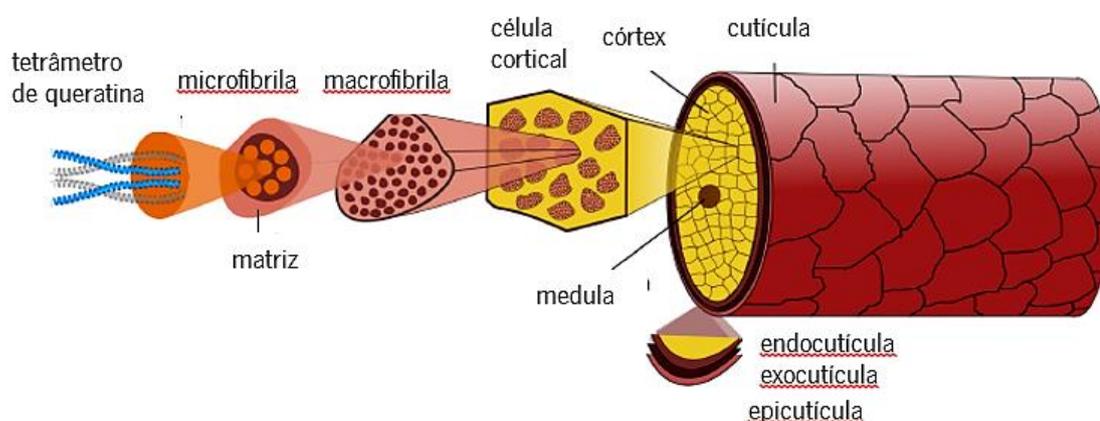


Figura 2- Secção transversal esquemática de uma fibra capilar (adaptado de Cruz, C., et al., 2016 [7]).

De seguida, uma descrição detalhada de cada uma das camadas que constituem o fio do cabelo.

Cutícula

A cutícula é essencial na manutenção de muitas propriedades físicas do cabelo, cobrindo o fio do couro cabeludo até à ponta como camada sobreposta. Esta camada externa do cabelo possui propriedades específicas de superfície agindo como uma barreira protetora contra fatores externos [2].

A cutícula consiste em células planas sobrepostas (escamas) que circundam a região central do núcleo da fibra. Estas células da cutícula apontam para a extremidade distal (extremidade da ponta) da fibra capilar, como telhas (Figura 3). Cada escama, é formada por 6 a

10 camadas de células sobrepostas, com espessura de aproximadamente 0,2 a 0,5 μm , com cerca de 6-7 μm de superfície axial exposta e 45 μm de comprimento. A forma e orientação das células da cutícula são responsáveis pelo efeito diferencial de fricção no cabelo [2,5,8].

A cutícula do cabelo humano virgem contém bordas de escamas lisas e contínuas próximas do couro cabeludo. Lesões da cutícula são evidenciadas por bordas de escamas quebradas, como mostra a Figura 3, e geralmente podem ser observadas a alguns centímetros do couro cabeludo. Esses danos advêm dos efeitos de ações normais de limpeza, como pentear, escovar e lavar, ou por tratamentos cosméticos mais agressivos e repetitivos [2,4,5].

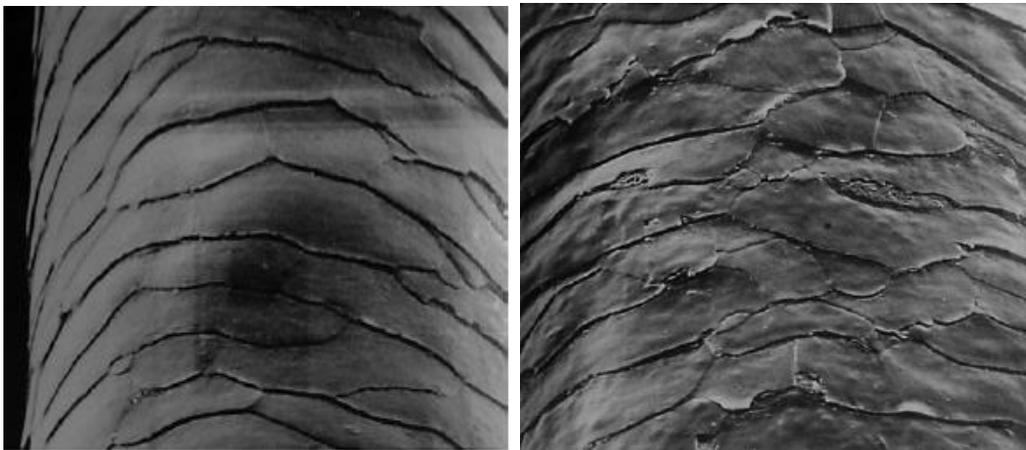


Figura 3- Imagem ilustra cutícula de cabelo humano. Imagem à esquerda: zona perto da raiz, bordas suaves; imagem à direita: zona perto da ponta da fibra, bordas quebradas (adaptado de Robbins C., et al., 2010 [5]).

As subcamadas constituintes da cutícula são:

› **Camada A:** estrutura resistente contendo cistina (> 30 %). As ligações cruzadas das proteínas, nesta camada, não só conferem resistência física, mas também as tornam relativamente resistentes ao ataque químico. Essas propriedades protegem a fibra contra os ataques mecânicos e químicos.

› **Exocutícula:** também conhecida como Camada B, corresponde a 55 % da área da cutícula, é rica em cistina (cerca de 15 %), e é fisicamente rígida (mas menos intensamente que a Camada A).

› **Endocutícula:** com baixo grau de cistina (cerca de 3 %), é muito mais macia e é composta essencialmente por organelos celulares remanescentes, sendo que esta camada incha mais em água do que as camadas mais ricas em cistina. Quando a cutícula está

molhada, as suas camadas rígidas tornam-se acolchoadas com camadas consecutivas macias. Esse processo explica que o coeficiente de atrito é maior nos cabelos húmidos do que nos secos. Quando a endocutícula está dilatada, ela tem uma estrutura mais quebradiça, o que explica tanto a quebra quanto a escamação dos fios se forem penteados ainda húmidos.

› **Complexo de membrana celular (CMC):** cimento intercelular que mantém as células da cutícula juntas, principalmente compostas por proteínas não queratinosas com baixo teor de cistina (2 %).

› **Epicutícula:** é a camada mais externa das células da cutícula e considerada a parte mais importante da mesma. A ligação lipídica (18-MEA) à matriz da proteína dá à cutícula uma superfície hidrofóbica substantiva, proporcionando lubrificação ao cabelo e consequentemente constituindo a primeira linha de defesa contra agressões ambientais.

Portanto, estas diferentes partes são constituídas de material proteico tão mais ricos em enxofre quanto mais externamente se localizam. Do ponto de vista bioquímico, a cutícula é muito estável e resiste a forças físicas e químicas. Quando ocorre a degradação da cutícula o cabelo perde uma camada protetora ficando muito frágil e exposto a danos futuros [3,4,5,8].

Cortex

Envolvido pela cutícula, o córtex representa cerca de 80 % do cabelo e constitui o coração da fibra capilar, sendo que é ele que oferece as propriedades fundamentais dos fios (solidez, elasticidade, permeabilidade). É formado por células constituídas de material proteico com um nível elevado de organização, que são sobrepostas umas sobre as outras e orientadas no sentido da haste do fio do cabelo [4,5,6].

A célula cortical é fusiforme com uma largura de 2 a 5 μm e comprimento de aproximadamente 100 μm , e é constituída de fibras conhecidas como macrofibrilas. Cada macrofibrila é uma unidade cilíndrica sólida de 0,1 a 0,4 μm de diâmetro e de comprimento variável. Entre as macrofibrilas, existe uma quantidade variável de uma matriz intermacrofibrilar e grânulos de melanina; esta matriz é análoga, em estrutura, à camada endocuticular da cutícula e contém os restos de organelas citoplasmáticas. No córtex do cabelo dos seres humanos são geralmente distribuídos dois tipos de células: paracortical e ortocortical, por toda a sua espessura (Figura 4). A distribuição maior de uma ou de outra célula depende da origem racial do cabelo. Por exemplo, em cabelos caucasianos encontra-se principalmente células paracorticais e cabelos de origem africana são divididos em duas zonas: ortocortical e paracortical [4,5,8].

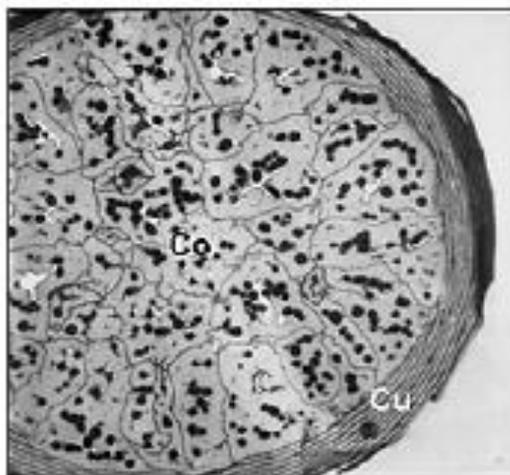


Figura 4 Corte da secção transversal de um cabelo fino caucasiano. As células achatadas cuticulares (Cu) envolvem as células corticais (Co), que contêm muitos grânulos de pigmentos escuros (adaptado de Mello, M., 2010 [2]).

A cor natural do cabelo é promovida pela melanina presente no córtex, sendo que ela deriva de melanócitos presentes no bulbo capilar. Um ou dois tipos de melanina (eumelanina e feomelanina) podem estar presentes no cabelo de um indivíduo. Os pigmentos granulosos (ou eumelaninas), que variam do preto ao vermelho escuro, conferem ao cabelo as cores escuras e os pigmentos difusos (ou feomelaninas), que variam do vermelho brilhante ao amarelo pálido, conferem cores claras ao cabelo. É o grau de concentração dos pigmentos que explica a variedade das cores naturais do cabelo [2].

Medula

As fibras capilares finas são compostas apenas pela cutícula e pelo córtex. Com o aumento do diâmetro da fibra capilar, uma terceira região, a medula, pode ser encontrada no núcleo da fibra capilar. A medula é uma fina camada cilíndrica localizada no centro do fio de cabelo que possui um elevado teor de lípidos e é pobre em cistina. Células da medula são vacúolos ocos esféricos, que são fracamente embalados ao longo da fibra, sendo unidos por uma estrutura do tipo CMC (complexo de membrana celular). Essas células constituem apenas uma pequena percentagem da massa das fibras de queratina e contribuem de forma insignificante para as propriedades mecânicas das fibras capilares [4,5].

1.1.2 Ciclo de crescimento do cabelo

O crescimento do cabelo é cíclico e determinado geneticamente, permanecendo no folículo por um curto período sem crescimento e, eventualmente seguido de queda. As diferentes fases do ciclo de crescimento capilar são:

- › **Fase anágena:** É a fase do desenvolvimento e do crescimento do cabelo, sendo que a papila do folículo está em íntimo contato com os vasos sanguíneos, onde substâncias presentes nos fluidos circulantes são absorvidas pelo cabelo. Esta fase dura cerca de 1000 dias.
- › **Fase catágena:** a produção de célula fica mais lenta e, o folículo retrai-se deixando na superfície inferior um saco com células potenciais da papila dérmica. Esta fase transitória dura apenas algumas semanas, onde o cabelo para de crescer. No indivíduo que não apresente alopecia ou outra patologia, 1 % dos fios de cabelo está nesta fase.
- › **Fase telógena:** o folículo piloso retrai-se completamente e a sua base aproxima-se da superfície da pele, levando em torno de 100 dias. Se este fio de cabelo não cair, depois de um determinado período, há um outro que nasce e sai do mesmo folículo [2].

1.1.3 Composição química da fibra do cabelo

As fibras de cabelo humano são compostas por diferentes componentes morfológicos e diferentes espécies químicas que agem em conjunto, formando um sistema integrado. O principal componente é a proteína, mais especificamente a queratina, correspondendo a 65 % –95 % do peso do cabelo, e os outros constituintes são água, lípidos, pigmentos e elementos inorgânicos [9].

Proteínas

A maior parte do cabelo é constituído por proteínas de queratina, que são compostos naturais complexos com estrutura morfológica heterogênea, pertencentes à família das proteínas de estruturas fibrosas. São formadas por aminoácidos em forma de iões com cargas positivas e negativas, que podem formar, através de ligações amidas entre o grupo ácido de um aminoácido e o grupo amina de outro, grandes estruturas poliméricas [2]. Durante a formação do cabelo, a queratina existente dentro das células torna-se mais cristalina à medida que as células diferenciam, dando origem à fibra capilar. Estas células queratinizadas compreendem uma estrutura extremamente organizada de material destinado a fornecer resistência significativa a inúmeros ataques ambientais, como atrito, tensão, flexão, agressão

química e radiação UV. O seu peso molecular varia entre 40 kDa e 70 kDa, e como a queratina é o principal conteúdo da fibra capilar e o seu ponto isoelétrico é ácido, na maioria das condições de pH a superfície do cabelo carrega uma carga negativa [7].

A solidez e insolubilidade da queratina atribuem-se à grande quantidade do aminoácido cistina. Este contém dois grupos amina e dois grupos carboxilo, sendo que se pode ligar a cadeias polipeptídicas paralelas através dos átomos de enxofre. A queratina mantém a sua estrutura, modelada e fixa, utilizando ligações químicas adicionais, que se dispõem de três modos:

- > A formação de pontes de hidrogénio entre cadeias polipeptídicas paralelas, estas que são consideradas fracas, quebrando-se com a simples ação da água, porém são numerosas e significativas para a estabilização da estrutura da proteína.
- > A formação de ligações salinas (interações de *Coulomb*) entre as ligações paralelas de ácidos e bases. Estas acontecem porque algumas cadeias de polipeptídeos possuem grupos ácidos e outros básicos, então há a formação de sais (ligações iónicas), que são consideradas de força média. Estas são relativamente estáveis em ambientes aquosos, mas são facilmente quebrados por ácidos e álcalis.
- > A formação de ligações pelos átomos de enxofre ou dissulfídicas, ligações estas consideradas fortes [2,8].

Com isto, as mais importantes para a estabilidade da estrutura da queratina, são as ligações dissulfídicas de cistina, que produzem uma estrutura resistente com boas propriedades mecânicas, térmicas e químicas. A alta incidência dessas ligações cruzadas, que exibem reatividade seletiva, é a chave para a maioria das modificações químicas do cabelo. A suscetibilidade dessas ligações, tanto para redução como para oxidação, permite a modificação da queratina e a identificação dos seus componentes [8].

A estrutura da queratina vai-se adaptando numa forma helicoidal. Cada volta da hélice está fixa em relação a outra através de ligações de hidrogénio, formando a parte elementar que se liga à outra parte de uma forma retorcida pelos átomos de enxofre (ligações dissulfídicas) e por ligações iónicas (salinas). Se as ligações dissulfídicas se rompem, o cabelo debilita-se, mas não partirá se forem mantidas íntegras as ligações salinas. Da mesma forma ocorre com as ligações salinas, se forem mantidas as de enxofre [2].

A queratina amorfa do córtex e da cutícula é, em geral, muito rica em enxofre (cistina). Em compensação, a queratina cristalina, que forma as protofibrilas, é pobre em enxofre. As cadeias de queratina orientam-se paralelamente ao eixo longitudinal na haste do fio de cabelo [2].

Todos os tipos de queratina têm um alto teor de resíduos de ácido aspártico e glutâmico, responsável pelo caráter relativamente ácido dessas proteínas. Vários fatores podem induzir mudanças no conteúdo de aminoácidos do cabelo, como gênero, variação genética, desgaste, dieta, tratamentos cosméticos, bem como os métodos analíticos e de extração utilizados. Por exemplo, em geral, o cabelo masculino contém mais cistina do que o feminino e a ponta do couro cabeludo contém, devido ao intemperismo, significativamente menos cistina e cisteína do que a extremidade da raiz [7].

Existem proteínas associadas à queratina (KAPs- *Keratin Associate Proteins*) que têm sido menos caracterizadas do que as queratinas, pois não incluem organização no cabelo, mas são responsáveis por manter a estrutura da fibra capilar sólida, ou seja, são responsáveis pela coesão interna. Elas incluem proteínas com alto teor de enxofre, que contêm em média 20 % resíduos de cistina e têm peso molecular muito alto (50 - 75 kDa); proteínas com quantidade de enxofre ultra-alto, com maior teor de cistina (30 - 40 %) e menor peso molecular (15 - 50 kDa); proteínas tirosina com alto teor de glicina, contendo grandes quantidades desses dois aminoácidos e um baixo peso molecular (10 kDa) [7].

Água

A água é um fator essencial para a estabilização da estrutura das proteínas, portanto o seu conteúdo desempenha um papel crítico na determinação das propriedades físicas e cosméticas do cabelo humano [7]. As ligações com a molécula de água e a absorção da mesma afetam todas as propriedades físicas do cabelo e reflete-se numa alteração na arquitetura do cabelo, sendo que a capacidade de absorção de água nos cabelos de origem africana é menor quando comparada com os cabelos de origem asiática ou caucasiana [2].

O cabelo é higroscópico, capaz de absorver grandes quantidades de água e o teor de humidade numa fibra de queratina depende da humidade relativa do ar e das condições de secura da fibra. Um cabelo virgem pode absorver mais de 30% do seu próprio peso de água, mas pode chegar a 45 % quando está danificado. É de notar que este processo de absorção é muito rápido,

75 % da quantidade máxima possível de água é absorvida em 4 minutos. A absorção de água também está relacionada à quantidade de lípidos no cabelo, bem como ao nível de pH [5,9].

O inchamento do cabelo é anisotrópico, uma vez que o comprimento do cabelo pode aumentar em 2 % e o seu diâmetro em 15 % a 20 % por meio da absorção de água [4,7]. Isso ocorre porque presume-se que a água é adsorvida à matriz hidrofílica das células corticais, na fronteira com as microfibrilas. Portanto, a água é capaz de distorcer levemente a estrutura das microfibrilas: elas opõem-se ao intumescimento longitudinal da matriz e, portanto, o volume da fibra capilar é aumentado pelo intumescimento diamétrico. Existem numerosos locais de ligação de água na queratina, incluindo ligações peptídicas e cadeias laterais ácidas e básicas. Embora a água permeie o cabelo prontamente, há alguma seletividade de ligação dentro da estrutura molecular do córtex do cabelo [10,11].

A água é uma molécula altamente polar, que interage com as ligações de hidrogénio e outros grupos polares nas cadeias α -queratina. Dois tipos de água estão associados à proteína α -queratina: água absorvida ou “ligada” e água adsorvida ou “livre”. Em baixas humidades, abaixo de 25 %, as moléculas de água estão principalmente ligadas a cadeias laterais hidrofílicas (guanidina, amina, carboxilo, fenólica, etc.) e ligações através de ligações de hidrogénio e interações electrostáticas. Com o aumento da humidade, mais água é absorvida, a água entra como “água em solução”, resultando numa diminuição da energia de ligação da água já associada à proteína [5,9].

Lípidos

No cabelo, os lípidos estão distribuídos pela fibra capilar, e o seu teor médio é na ordem de 4 % do peso da fibra. Eles são divididos em dois grandes grupos: lípidos externos (exógenos) ou internos, sendo que os últimos podem ser livres ou fazer parte da estrutura do complexo da membrana celular (CMC) [4]. Os lípidos internos estão localizados nos espaços intercelulares, principalmente na cutícula e, mais raramente, na medula. A maioria dos lípidos são colesterol, ésteres de colesterol, sulfato de colesterol, ácidos gordos livres, triglicerídeos, parafinas, esqualeno e ceramidas. Um dos principais componentes dos lípidos exógenos são os 18-MEA, que estão covalentemente ligados à camada mais externa da cutícula, atuando como um lubrificante e diminuindo desta forma o atrito entre as fibras capilares. A sua ausência influencia a percepção sensorial do cabelo, como cabelo seco ou dificuldade em pentear [2,12]. O conteúdo de lípidos

pode variar dependendo de vários fatores, como etnia, sexo e idade, e os cabelos africanos têm um nível mais elevado de lipídios que os caucasianos [11].

Pigmentos

Os pigmentos capilares, que dão cor ao cabelo, estão principalmente concentrados no córtex como melaninas. A melanina é produzida por um grupo de células especializadas chamadas melanócitos. Essas células existem perto do bulbo capilar e estão presentes na forma de grânulos discretos, chamados de grânulos de pigmento. Feomelanina e eumelanina são os dois tipos de pigmentos básicos e a proporção entre eles determina a cor do cabelo [9].

Elementos inorgânicos

O cabelo também contém uma quantidade variável de elementos inorgânicos, geralmente inferior a 1 %. Os mais frequentes são os elementos alcalinos (K e Na), metais alcalinos terrosos (Mg, Ca e Sr), outros metais (Ca, Zn, Fe, Mn, Hg, Cd, Pb, As e Se) e metalóides (Si e P) [9].

1.1.4. Interações químicas na fibra do cabelo

A estrutura macromolecular das queratinas é caracterizada pela presença de uma ampla gama de grupos funcionais, tais como amina, amida, grupo carboxílico, carboxiamida, hidroxilo, sulfidrilo, entre outros [13].

A estabilidade da estrutura macromolecular das queratinas deriva de uma variedade de interações entre e dentro das cadeias de proteínas, mantendo-as juntas. Essas interações variam de ligações covalentes, como ligações dissulfídicas e ligações cruzadas de peptídeos, para interações mais fracas, como ligações de hidrogênio, interações eletroestáticas, forças de *Van der Waals* e interações hidrofóbicas. Essas interações dependem da presença de grupos reativos na fibra, mas também da sua disponibilidade devido à morfologia da fibra e estrutura molecular [5,6,10,15].

As ligações de hidrogênio, embora fracas e facilmente quebradas pela água, são as ligações mais frequentes no cabelo e a ligação de hidrogênio intercadeia ao longo da cadeia polipeptídica é essencial para a estabilidade da estrutura da α -queratina. As interações hidrofóbicas ocorrem entre grupos não polares ao longo da queratina [1,7,15].

As ligações dissulfídicas são essenciais para a estabilidade da queratina. Duas cisteínas adjacentes estão ligadas em conjunto, gerando cistina, formando uma ponte entre duas cadeias ou duas porções da mesma cadeia (Figura 5). A suscetibilidade dessas ligações à redução e oxidação são a base da maioria das modificações químicas do cabelo e consequente alteração das suas propriedades físico-químicas. Algumas dessas mudanças são o objetivo dos procedimentos cosméticos, como a ondulação ou alisamento dos cabelos. Outros processos cosméticos, como coloração oxidativa do cabelo, clareamento e desgaste do cabelo, envolvem mudanças nas ligações dissulfídicas como um efeito colateral indesejado. Em ambos os casos, intencionalmente ou não, durante os procedimentos que envolvem química *redox*, as propriedades físico-químicas do cabelo são afetadas [7,15].

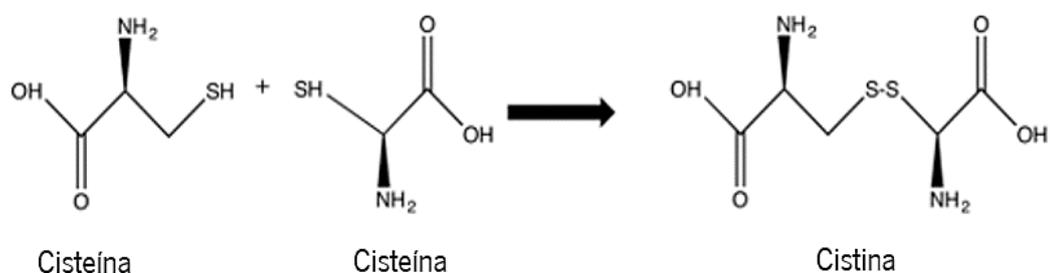


Figura 5- Formação da cistina devido à ligação dissulfídica entre as duas cisteínas (adaptado de Cruz, C. et al., 2016 [7]).

1.1.5. Classificação da forma da fibra capilar e diferenças estruturais

Os cabelos podem ser classificados genericamente como lisos, ondulados e crespos, e quanto à sua etnia em asiáticos, caucasianos e africanos. O cabelo asiático é um cabelo liso, o cabelo africano é um cabelo crespo e o cabelo caucasiano é um intermediário entre os dois apresentando cerca de 45 % cabelo liso, 40 % cabelo ondulado e 15 % cabelo crespo. Desta forma, existem variações nas propriedades dos três tipos, sendo que em termos de composição química, diâmetro da fibra, absorção de água e propriedades mecânicas verifica-se que as propriedades associadas diferem de acordo com a sua origem étnica [14].

Outros estudos analisaram o cabelo de várias populações mundiais de maneira a classificar mais rigorosamente a geometria do cabelo [16,17]. De La Mettrie et al. [16] dividiram os tipos de cabelo humano em oito classes, com base nos seguintes parâmetros: diâmetro da

curva do cabelo, índice de ondulação e número de ondas do cabelo. A Figura 6, apresenta os tipos I, III, V e VII.

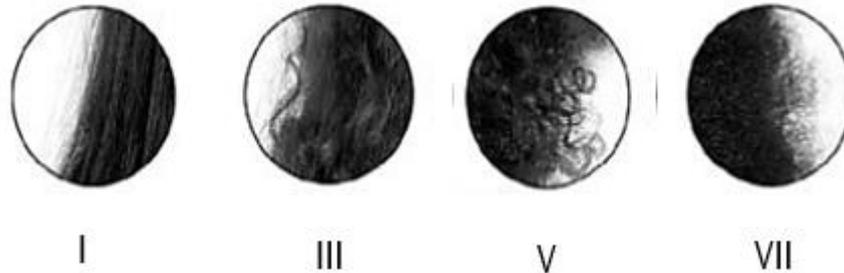


Figura 6- Divisão de cabelos por tipo de encaracolamento (adaptado de De La Mettrie, et al., 2007 [16]).

Cada indivíduo é único em relação à taxa de produção, tamanho e forma do cabelo, mas existem propriedades da fibra capilar que diferem de maneira típica de acordo com a origem étnica.

O grau de curvatura encontrado num fio de cabelo é diretamente relacionado com a origem étnica, que determina a sua aparência estética. Em secção transversal, cabelos de origem africana tendem para uma forma mais elíptica, com o folículo piloso mostrando uma forma espiral também. Os cabelos de origem asiática têm um formato redondo e apresentam maior diâmetro. A assimetria desta secção transversal contribui para a irregularidade apresentada pelo cabelo de origem africana. O cabelo que é ondulado ou levemente torcido tem um corte transversal na forma entre um círculo e uma elipse achatada [2].

A cutícula do cabelo geralmente tem 6 a 10 escamas de espessura no cabelo asiático, um pouco menos em caucasianos e menos ainda em cabelos africanos. A densidade de folículos do cabelo africano também é, em média, ligeiramente menor (90.000) do que no cabelo típico de caucasianos (120.000) [7].

Quanto às propriedades mecânicas, são melhores para cabelos asiáticos, sendo que o africano tem a menor resistência à tração e é mais quebradiço do que o caucasiano [20]. Numa humidade relativa semelhante, o cabelo africano exibe menor absorção de água do que as fibras de cabelo caucasianos e asiáticos, refletindo-se isso no inchaço do diâmetro do cabelo [19, 20].

Cabelo liso possui mais brilho do que o cabelo crespo devido à sua superfície lisa que permite reflexão máxima da luz e facilidade de circulação do sebo no couro cabeludo até ao eixo do cabelo. O eixo de um cabelo africano é irregularmente torcido, então ainda que a cutícula se encontre intacta e que a produção de lípidos seja alta, a sua superfície rugosa dificulta o transporte do sebo do couro cabeludo para o fio [2].

Apesar de todas as diferenças nas propriedades físicas do cabelo, ao analisar a sua composição proteica, é notório que a composição em aminoácidos dos componentes da proteína é bastante uniforme nos grupos étnicos de cabelo [8, 21, 22].

Fatores como variação genética, desgaste, dieta ou tratamentos cosméticos afetam a constituição do cabelo, em qualquer dos grupos étnicos de cabelo [7].

1.1.6. Propriedades da fibra do cabelo

- ➔ **Resistência à rutura** - Geralmente, o peso necessário para produzir uma rutura natural do fio de cabelo é de 50-100 g, sendo que uma cabeça média tem cerca de 120 mil fios de cabelo. A resistência à quebra é função do diâmetro do fio, da condição do córtex e é afetada negativamente pelos tratamentos químicos. O cabelo é surpreendentemente forte, com grande resistência mecânica, e a queratina do córtex é responsável por essa propriedade e as suas longas cadeias são comprimidas para formar uma estrutura regular que, além de forte, é flexível.
- ➔ **Elasticidade** - A fibra capilar tem uma característica elástica, podendo sofrer alongamento moderado húmido ou seco. O alongamento é um atributo do cabelo sob a ação de uma força distal (comprimento) e o fio retorna ao estado original, quando essa força para de agir. Quando seco, o fio de cabelo pode esticar 20-30 % de seu comprimento; e, em contacto com a água, pode chegar até 50 %. Em contacto com amoníaco, torna-se mais elástico. Tratamentos químicos e físicos, exposição ao sol e uso de secadores elétricos e prancha afetam esta propriedade.
- ➔ **Hidrofilicidade** - O cabelo absorve água tanto na forma líquida quanto na forma de vapor, sendo que a queratina pode absorver até 40 % do seu próprio peso em água. A hidratação é favorecida pelo aumento da temperatura, pela mudança do pH e por todos os solventes polares que quebram as ligações de hidrogénio. A

queratina tem uma afinidade especial pela água. Essa absorção depende da taxa de humidade relativa do ar e interfere muito em todas as propriedades dos fios, como: capacidade de alongamento, diâmetro e viscosidade interna das fibras.

→ **Porosidade** - Quando o cabelo é poroso, tratamentos químicos como pintura e alisamento ocorrem mais rapidamente, sendo que altas temperaturas aceleram a penetração da água e processos químicos como alisamentos e ondulações afetam a porosidade.

→ **Brilho** - Do ponto de vista físico, o brilho está relacionado à forma como o cabelo reflete e difunde o feixe de luz incidente. Assim, qualquer fator que altere a reflexão da luz teria influência no brilho. Por se tratar de uma propriedade superficial, a cutícula é a principal responsável por ela e danos na cutícula, bem como partículas de poeira e secreções no couro cabeludo acumuladas sobre os fios, reduzem o brilho.

→ **Fricção** - Diz respeito à força que resiste ao movimento quando um corpo desliza sobre outro. A superfície da cutícula tem alto coeficiente de fricção devido à sua forma e depende da geometria da cutícula e do estado físico-químico do cabelo. A fricção contínua de um fio sobre outro danifica a cutícula. Da raiz às extremidades o coeficiente de fricção difere nos fios de cabelo seco e húmido, e é suficiente pentear para danificar o cabelo.

Vários fatores influenciam a fricção, como a humidade relativa e alisamentos e ondulações permanentes.

→ **Eletricidade estática** - Quando um pente desliza sobre o cabelo, a carga elétrica da superfície é gerada tanto por fricção quanto por alta resistência elétrica dos fios, o que dificulta o manuseio. A dispersão de eletricidade estática é uma função da condutividade das fibras ou resistência elétrica.

→ **Ponto isoelétrico** - A superfície do cabelo apresenta cargas elétricas positivas e negativas, enquanto a cutícula tem um ponto eletricamente neutro (igual à quantidade de cargas positivas e negativas) sob pH 3,8 (ponto isoelétrico). Quando o cabelo é deixado em contato com produtos cujo pH é superior a 3,8 ele torna-se mais negativo, pois o grupo NH_3^+ perde a sua carga. Porém, em valores de pH abaixo de 3,8 o cabelo torna-se mais positivo, os grupos carboxilo são protonados e neutralizados, e ocorre a predominância do grupo NH_3^+ [3,5,8].

2. IMPACTO DOS TRATAMENTOS COSMÉTICOS NO CABELO

2.1. Tratamentos de modulação da forma do cabelo

Ondulação e alisamento químicos são importantes tratamentos capilares que requerem o envolvimento de quase todos os aspetos da estrutura do cabelo para serem realizados. O objetivo de ambos os processos é dar ao cabelo uma configuração duradoura e diferente da que o cabelo exibe na sua forma nativa. Cada cabelo tem uma geometria resultante dos processos de queratinização e extrusão folicular, transformando uma mistura viscosa de proteínas numa fibra forte e rígida [8].

O alisamento ou ondulação temporários requerem técnicas físico-químicas, como secador e placa térmica, durando apenas até à lavagem seguinte, sendo que o cabelo tem de ser molhado para que se quebrem as ligações de hidrogénio da queratina (a nova forma é sensível à humidade), permitindo uma abertura temporária da sua estrutura original. Já alisamentos ou ondulações permanentes do cabelo requerem mudanças internas no mesmo, mais precisamente nas ligações dissulfídicas. Essas técnicas de modulação envolvem a manipulação das interações físico-químicas que estabilizam a estrutura de queratina, através do amolecimento da queratina, moldando-se à forma pretendida e proporcionando uma nova geometria. Isso ocorre através da quebra das ligações dissulfídicas entre os filamentos de queratina e o seu rearranjo na forma desejada, afetando a integridade estrutural e o conteúdo de cistina do cabelo (Figura 7). O processo como um todo consiste numa redução com a utilização de agentes redutores, que rompem as ligações dissulfídicas, seguida de uma oxidação que as reorganiza, fornecendo uma nova forma ao cabelo [2,7,8].

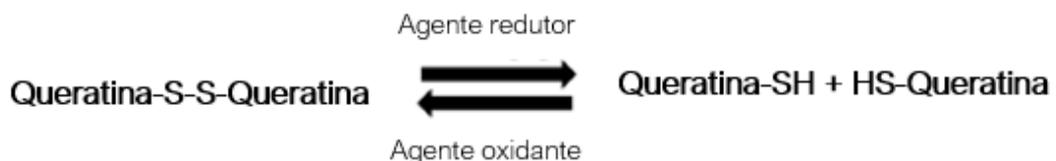


Figura 7 -Reação resumida da queratina capilar com tratamento na presença de agentes redutores e oxidantes (adaptado de de Cruz, C. et al., 2016 [7]).

O uso repetido deste tipo de tratamento conduz, de facto, a cabelos mais secos e enfraquecidos, a uma redução de resistência mecânica do cabelo e à remoção dos lípidos presentes na cutícula. Por sua vez, esta eliminação dos lípidos induz uma diminuição do brilho e

um aumento da hidrofiliidade do cabelo, o que o torna mais suscetível à eletricidade estática e encrespamento [7,8].

2.2 Métodos comuns de ondulação do cabelo

A maioria dos procedimentos de ondulação do cabelo utilizam um agente redutor, de forma a quebrar as ligações dissulfídicas, e a posterior utilização de um agente oxidante para criar novas ligações dissulfídicas em posições definidas mecanicamente (por exemplo, com um enrolador) para fixar a ondulação do cabelo. A Tabela 1 apresenta exemplos típicos desse tipo de agentes, que são comumente utilizados [7].

O princípio químico envolvido é semelhante em todas as soluções de permanentes. O cabelo é lavado e de seguida colocado no modelador de acordo com o tipo e grau de ondulação desejado. Após isso, a solução permanente, geralmente constituída de sais de amónio de agentes redutores (por exemplo ácido tioglicólico), é aplicada no cabelo [23]. Esta solução passa pela cutícula do cabelo no córtex, e cliva algumas das ligações dissulfídicas, sendo que esta redução é baseada num processo de equilíbrio, isto é, apenas algumas ligações são clivadas e então a reação para. Uma vez que as ligações são quebradas, há um rearranjo molecular, e novas ligações são criadas de acordo com a nova forma do cabelo. Após isto, o cabelo é enxaguado, e as ligações são solidificadas por reoxidação, fazendo uso de uma solução neutralizante (que contém um agente oxidante, como o peróxido de hidrogénio). Esta solução, contém um agente oxidante (muitas vezes, peróxido de hidrogénio), e normalmente inclui também um tampão para a reação [7, 23].

Tabela 1- Agentes químicos típicos para ondulação do cabelo (adaptado de Cruz, C. et al., 2016 [7])

Agentes		Função	Exemplos
Agentes redutores	Sulfitos	Quebra das ligações dissulfídicas	Hidrogenossulfito de sódio, cisteína, gliceril monotioglicolato
	Alcalinos		Ácido tioglicólico* e seus sais (sais de amónia, sais de sódio)
Agentes oxidantes		Formação de novas ligações dissulfídicas	Peróxido de hidrogénio, bromato de potássio, bromato de sódio ou perborato de potássio

* Considerado alcalino devido ao pH final dos produtos.

2.3 Reações adversas aos componentes utilizados e necessidade de optar por métodos mais benignos

Um efeito colateral da ondulação permanente do cabelo é o dano que confere à fibra capilar. Os procedimentos químicos afetam a estrutura da fibra capilar, enfraquecendo-a, pois, o rearranjo das ligações dissulfídicas podem causar distorção e danos estruturais da fibra capilar, principalmente na parte distal da fibra do cabelo. Este tipo de processo deixam os cabelos com menor resistência à tração, e mais secos, pois induzem a remoção da camada monomolecular de ácidos gordos covalentemente ligados à cutícula, incluindo 18-MEA. A eliminação desse lípido diminui o brilho do cabelo e torna-o mais hidrofílico, mais suscetível a eletricidade estática e *frizz* induzido pela humidade, uma vez que essa camada hidrofóbica reduz a penetração de água na fibra capilar [7,15,24].

Agentes redutores comuns são os tióis, como ácido tioglicólico, ácido tioláctico, hidróxido de sódio, lítio, de potássio ou de guanina, cisteína, tioglicerol, glicerol monotioglicolato, beta-mercaptoelmina. Agentes neutralizantes utilizados são o peróxido de hidrogénio, bromatos, tetraionatos (tetrato de potássio), entre outros [2,7].

O ácido tioglicólico é considerado seguro, no entanto existem relatos de dermatite alérgica e irritações na pele. O hidróxido de sódio pode danificar os cabelos, produzir queimaduras no couro cabeludo e até mesmo cegueira caso atinja os olhos. É um produto restrito ao uso profissional, produzindo um alisamento químico permanente e de eficiência máxima. Normalmente, os alisadores alcalinos, devido ao seu alto pH, podem tornar o cabelo suscetível à fricção e reduzem sua resistência e força. O uso indevido de formol e glutaraldeído pode causar danos aos usuários e aos profissionais que o manipulam, sendo que os danos mais comuns são: irritação, coceira, queimadura, inchaço, descamação e vermelhidão do couro cabeludo, queda do cabelo, ardência e lacrimejamento dos olhos, falta de ar, dor de cabeça, ardência e coceira no nariz, devido ao contacto direto com a pele ou com vapor. Várias exposições podem causar também boca amarga, dores de barriga, enjoos, vômitos, desmaios, feridas na boca, narinas e olhos, e cancro nas vias aéreas superiores (nariz, faringe, laringe, traqueia e brônquios) [1,2,24].

Portanto, o uso incorreto ou excessivo de produtos de alisamento e ondulação de cabelo podem levar a uma série de problemas, incluindo queda e enfraquecimento do cabelo, descoloração, irritação do couro cabeludo, coceira, queimaduras de pele, dano ao couro cabeludo, falta de crescimento e queda de cabelo, além de reações alérgicas a determinados produtos

químicos [7]. Assim, é fundamental que comece a haver um interesse no desenvolvimento de novos métodos para modificar cabelo, direcionando a investigação por outras vias que não as já conhecidas, e que são de facto prejudiciais ao cabelo, à saúde do utilizador e à do profissional.

3. MISTURAS- SOLVENTES EUTÉTICOS

3.1 Definição e propriedades

Os solventes eutéticos profundos (*Deep Eutectic Solvents* - DES) são misturas de dois ou mais constituintes que normalmente não interagem para formar um novo composto químico, mas que, a certas proporções, inibem o processo de cristalização um do outro, resultando num sistema com um ponto de fusão inferior quando comparado aos seus componentes individuais [25]. Um dos constituintes trata-se de um doador de ligação de hidrogénio (*Hydrogen Bond Donor* - HBD), ou seja, amidas, aminas, álcoois e ácidos carboxílicos, e o outro de um aceitador de ligação de hidrogénio (*Hydrogen Bond Acceptor* - HBA), como um sal de amónio quaternário. Após aquecimento, formam misturas à base de ligações de hidrogénio exibindo um ponto eutético [25,26]. A rede de ligações de hidrogénio é essencial para formação eutética e influencia fortemente a estrutura local e a dinâmica dentro da mistura [27].

Em contraste com os convencionais solventes, estas misturas não são voláteis o que significa que eles têm uma pressão de vapor muito baixa e, portanto, são dificilmente inflamáveis. A sua toxicidade é baixa, possuem alta biodegradabilidade, não são reativos com água, são termicamente estáveis, renováveis e possuem um preço mais baixo em comparação com os líquidos iónicos, por exemplo [28, 29].

O carácter verde e versátil dos solventes eutéticos profundos (DES) permite que eles se tornem ferramentas significativas no desenvolvimento de tecnologias verdes e sustentáveis. Para este propósito, o seu uso em aplicações poliméricas tem vindo a crescer para novas áreas de desenvolvimento [30].

3.2 Composição da uma mistura eutética

Os produtos naturais são uma fonte abundante e ideal de componentes de DESs devido à sua enorme diversidade química, biodegradabilidade, sustentabilidade e perfil de toxicidade farmacologicamente aceitável. Diferentes tipos de compostos (ácidos orgânicos, açúcares, poliálcoois, aminas e aminoácidos) têm sido utilizados para a preparação dos DES (Figura 8),

com métodos de preparação bastante acessíveis, uma vez que envolvem apenas agitação à temperatura ambiente e/ou aquecimento a 100 °C, sendo que esta temperatura, utilizada para a síntese, e a temperatura de fusão (T_m) dependem muito de sua composição [30].

O glicerol (1,2,3-propanotriol) é um líquido viscoso, inodoro e incolor, com um sabor adocicado que pode derivar de fontes renováveis e fósseis. O glicerol anidro puro tem densidade de 1,261 g/mL, um ponto de fusão de 18,2 °C e um ponto de ebulição de 290 °C, onde se decompõe. Possui três grupos hidroxila (-OH), que o tornam solúvel em água e lhe conferem higroscopicidade. As moléculas de glicerol podem se associar umas às outras com uma extensa rede de ligações de hidrogénio, conferindo-lhe usualmente um ponto de ebulição alto e alguma viscosidade. O glicerol é um dos principais constituintes dos triacilgliceróis (triglicerídeos) que ocorrem nos tecidos vivos e as principais fontes de glicerol são atividades pertencentes à transformação de gorduras animais e óleos vegetais. Dentre eles, a indústria do biodiesel tem papel de destaque, já que o glicerol bruto é gerado em grandes quantidades como subproduto da produção de biodiesel. Desde a sua introdução como constituinte do DES, o interesse no glicerol enquanto dador de ligações de hidrogénio tem sido cada vez maior [25].

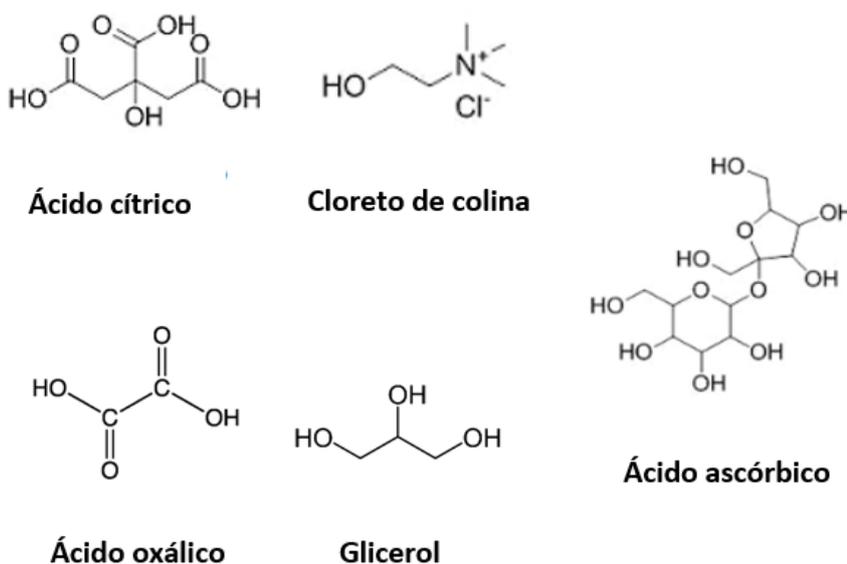


Figura 8 - Estruturas químicas de diferentes compostos que podem formar misturas eutéticas.

4. SÍNTESE DE POLIÉSTERES ATRAVÉS DE REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO POR CONDENSAÇÃO E POR REAÇÃO ENZIMÁTICA

Hoje em dia, os poliésteres são uma das classes de polímeros mais importantes, sendo amplamente utilizados em várias áreas. A família dos poliésteres compreende todos os polímeros com grupos funcionais éster na cadeia principal. A química das unidades estruturais que conectam os grupos éster pode ser variada dentro de uma gama bastante ampla, tornando os poliésteres um grupo diverso e com diferentes tipos de aplicações [31].

4.1 Ésteres

Os ésteres são importantes compostos orgânicos, obtidos por síntese química (esterificação, transesterificação ou interesterificação) ou extraídos de alguns produtos naturais, utilizando-se um solvente e um meio adequado [32].

Ésteres são compostos orgânicos obtidos essencialmente pela reação entre um ácido carboxílico e um álcool catalisado por um ácido forte [33]. Os ésteres que são derivados de ácidos e álcoois inferiores são líquidos incolores de odor agradável e apresentam baixa massa molar, sendo miscíveis em água. Já os ésteres derivados de álcoois superiores com alta massa molar são insolúveis em água. Os ésteres possuem ponto de ebulição menor do que os dos ácidos e álcoois de peso molecular semelhante uma vez que, apesar de serem compostos polares, não têm um hidrogênio ligado ao oxigênio, então as suas moléculas não podem formar ligações de hidrogênio fortes umas com as outras. Assim, podem ser comparados com os pontos de ebulição dos aldeídos e cetonas [33].

Devido às interações intermoleculares de *Van der Waals* ou dipolo-dipolo, os ésteres são solúveis em muitos solventes orgânicos apolares e pouco polares como hidrocarbonetos, haletos de alquila e éteres. São também solúveis em álcoois e os que possuem até três carbonos na sua estrutura, são praticamente solúveis em água [32].

Na Tabela 2, estão apresentadas as propriedades físicas de alguns ésteres, como o ponto de fusão e ebulição em condições normais de pressão, e a solubilidade em água.

Tabela 2- Propriedades Físicas de alguns ésteres

Éster	Ponto de Fusão (°C)	Ponto de Ebulição (°C)	Solubilidade em água (g/100mL a 20 °C)
Formato de Metilo	-99	31,5	Muito solúvel
Formato de Etilo	-79	54	Solúvel
Acetato de Metilo	-99	57	24,4
Acetato de Etilo	-82	77	7,39 (25 °C)
Benzoato de Metilo	-12	199	0,15
Benzoato de Etilo	-35	213	0,08

4.1.1 Reações de esterificação por condensação

Uma reação de esterificação comercialmente importante é a polimerização por condensação (policondensação), na qual ocorre uma reação entre um ácido dicarboxílico, que contém dois grupos de ácido carboxílico -COOH, e um álcool diídrico (diol), que contém dois grupos de álcool -OH, com formação de um subproduto, a água. Esta reação produz um éster que contém um grupo carboxilo livre (não reagido) numa das extremidades e um grupo álcool livre na outra extremidade [35].

A policondensação de monómeros bifuncionais inclui a esterificação de diácidos e dióis, diácidos cloretos e dióis, ou a reação de troca de éster de diésteres e dióis. É possível obter uma grande variedade de poliésteres alterando a combinação dos dois monómeros [31,33]. Esterificação é termodinamicamente uma reação reversível, portanto todos os poliésteres são potencialmente degradáveis na presença de água que causa clivagem nas ligações éster da cadeia principal [31].

A reação de formação de éster é caracterizada por um equilíbrio e a remoção contínua do subproduto é necessária para conduzir a reação em direção a uma conversão mais alta. Para facilitar ainda mais a alta conversão, são necessários tempos de reação longos e altas temperaturas [31,36].

O glicerol é um álcool de açúcar não tóxico, comestível e biodegradável tornando-o uma plataforma química ideal, e o ácido cítrico é o ácido orgânico mais importante obtido por fermentação. Vários investigadores polimerizaram ácidos orgânicos (por exemplo, ácido cítrico, ácido adípico) e álcoois (por exemplo, sorbitol, glicerol) para obter poliésteres biodegradáveis

através de vários métodos de aquecimento. Polímeros de citrato de glicerol são preparados pela condensação de um álcool (isto é, glicerol) e um ácido polifuncional (isto é, ácido cítrico) por meio de aquecimento e geralmente na presença de um catalisador. O ácido cítrico é um ácido carboxílico orgânico contendo três grupos carboxilo que reagem com grupos hidroxilo de glicerol para produzir um poliéster ramificado de citrato de glicerol [37].

4.1.2 Formação de poliéster de citrato de glicerol

A formação do polímero de poliéster de citrato de glicerol sólido é conseguida por uma reação de glicerol e ácido cítrico na presença de calor (150-200 °C) para libertar água como vapor, gerando assim um polímero resultante, como representado na Figura 9. Polímeros derivados de glicerol e ácido cítrico são relativamente benignos e biodegradáveis [37].

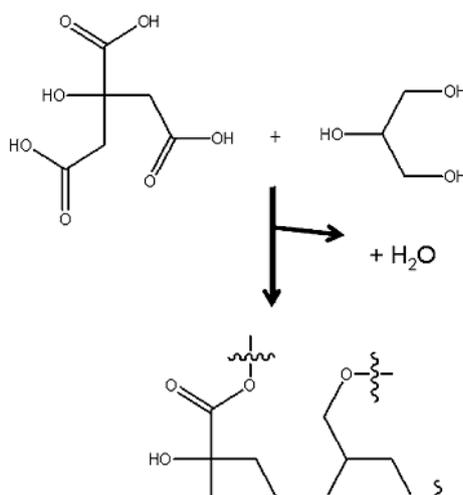


Figura 9- Esterificação do ácido cítrico e glicerol (adaptado de Tisserat, B., 2011 [37]).

Halpern, J. M. et al. [38] demonstraram que a reação entre o ácido cítrico e o glicerol pode ocorrer sem um catalisador e que o único subproduto previsto da reação é a água, que é removida durante a reação com o calor. Vários graus de reticulação foram observados mudando várias condições de reação: tempo, temperatura e razões molares de ácido e glicerol. A integração de gentamicina no polímero fundido, na qual os seus grupos amina são capazes de reagir com os grupos éster para formar ligações amida, permitiu a incorporação e a libertação de um agente terapêutico. O produto final é um polímero biodegradável reticulado por éster [38].

Tisserat, B., et al. [37] procuraram obter poliésteres sólidos de glicerol e ácido cítrico através de vários métodos de aquecimento sem adição de qualquer catalisador. Examinaram a

resposta de várias proporções de misturas de ácido cítrico e glicerol usando aquecimento em placa, autoclavagem, aquecimento por convecção, forno e micro-ondas, e esses poliésteres poderiam então ser usados e avaliados em várias aplicações de polímeros. Concluíram que o aquecimento por micro-ondas tem várias vantagens sobre os tipos convencionais de aquecimento, entre os quais: taxas de reação acelerada, condições de reação mais suaves, rendimentos químicos mais elevados, menor consumo de energia, seletividade de reação diferente e aquecimento uniforme. Este método de produção permite produzir o poliéster sem um catalisador e/ou síntese complexa [37].

4.2 Reações de esterificação/ hidrólise catalisadas por enzimas

Enzimas são catalisadores dos sistemas biológicos (também conhecidas por biocatalisadores) que aceleram as reações bioquímicas em organismos vivos, podendo ser extraídas de células e então usadas para catalisar uma ampla gama de processos comercialmente importantes. Elas são necessárias apenas em concentrações muito baixas e aceleram reações sem serem consumidas durante a mesma. Podem reagir de forma seletiva e eficiente num amplo espectro de substratos com química variável sob condições suaves [40,41].

4.2.1 Reações catalisadas pela enzima lipase

As lipases (triacilglicerol acil-hidrolase, EC.3.1.1.3) são enzimas ubíquas de significância fisiológica e potencial industrial consideráveis e são definidas como hidrolases de éster de glicerol que catalisam a hidrólise e a síntese de ésteres formados a partir do glicerol e dos ácidos gordos de cadeia longa. Portanto, o seu papel fisiológico é a conversão catalítica de triglicerídeos em di- ou monoglicerídeos, ácidos gordos e glicerol, como representado na Figura 10. Algumas das lipases, são capazes de hidrolisar tanto ésteres primários quanto secundários, enquanto outras não são capazes de hidrolisar ligações éster em posições secundárias (como fazem a maioria das lipases microbianas) [42]. Um terceiro grupo de lipases exibe seletividade de ácidos gordos, e tem a capacidade de clivar ligações éster de determinados ácidos gordos [38].

Os triglicéridos são a forma mais comum de gordura encontrada na natureza, sendo constituídos por um resíduo de glicerol ligado a três ácidos gordos. O glicerol que é uma pequena molécula de álcool liga-se, no máximo, a três moléculas de ácidos gordos porque é constituída por uma estrutura de três carbonos. Cada molécula de ácido gordo está ligada ao glicerol por uma ligação éster (R-COOR). Assim, a lipase cliva (isto é, quebra) as ligações ésteres que unem os

ácidos gordos ao glicerol, separando-os. Assim, os triglicerídeos são o substrato desta enzima e o glicerol e os ácidos gordos livres são o seu produto [44].

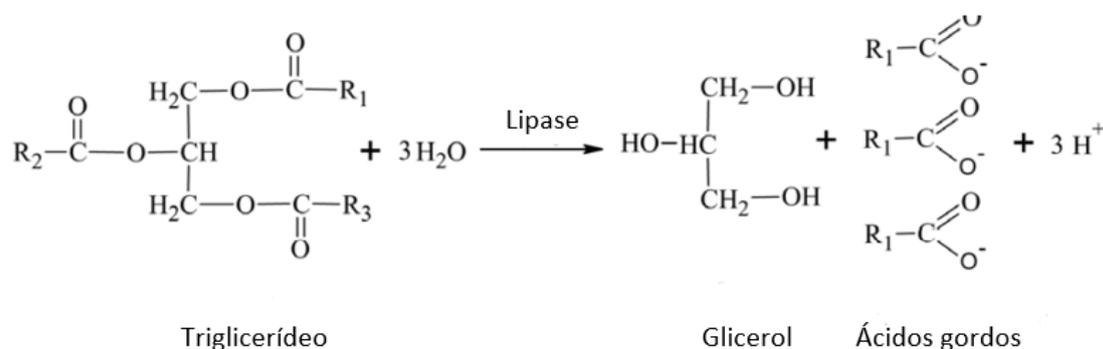


Figura 10- Reação de hidrólise catalisada pela lipase (adaptado de Lasón, E., et al.,2010 [44]).

Estas enzimas são amplamente utilizadas em reações de bioconversão (Figura 11) como a interesterificação e esterificação, e também catalisam reações de alcoólise, acidólise e aminólise e hidrólise [45].

Em qualquer caso, o curso seguido por esta enzima depende fortemente do conteúdo aquoso do meio de reação, ou seja, a quantidade de água presente determina a direção da reação catalisada pela lipase. Pequenas quantidades de água no meio, ou a ausência da mesma, elimina a potencial reação de hidrólise, ocorrendo então as reações de esterificação e transesterificação. Um excesso de água, favorece a hidrólise [47,48]. Assim, na presença de vestígios de água, elas invertem a reação que leva à esterificação e formação de glicerídeos dos ácidos gordos e gliceróis [47,49]. Esta versatilidade torna as lipases aplicáveis numa variada gama de processos, como a produção de óleos e gorduras, detergentes, processamento de alimentos, síntese de produtos químicos e farmacêuticos, fabrico de papel e produção de produtos farmacêuticos e cosméticos [42,49, 51].

As lipases comercialmente úteis são enzimas altamente estáveis, que permanecem ativas mesmo sob condições desfavoráveis, e são geralmente obtidas a partir de microrganismos que produzem uma grande variedade de lipases extracelulares. O pH ótimo desta enzima é entre 7 e 9, e a temperatura ótima é cerca de 40 °C.

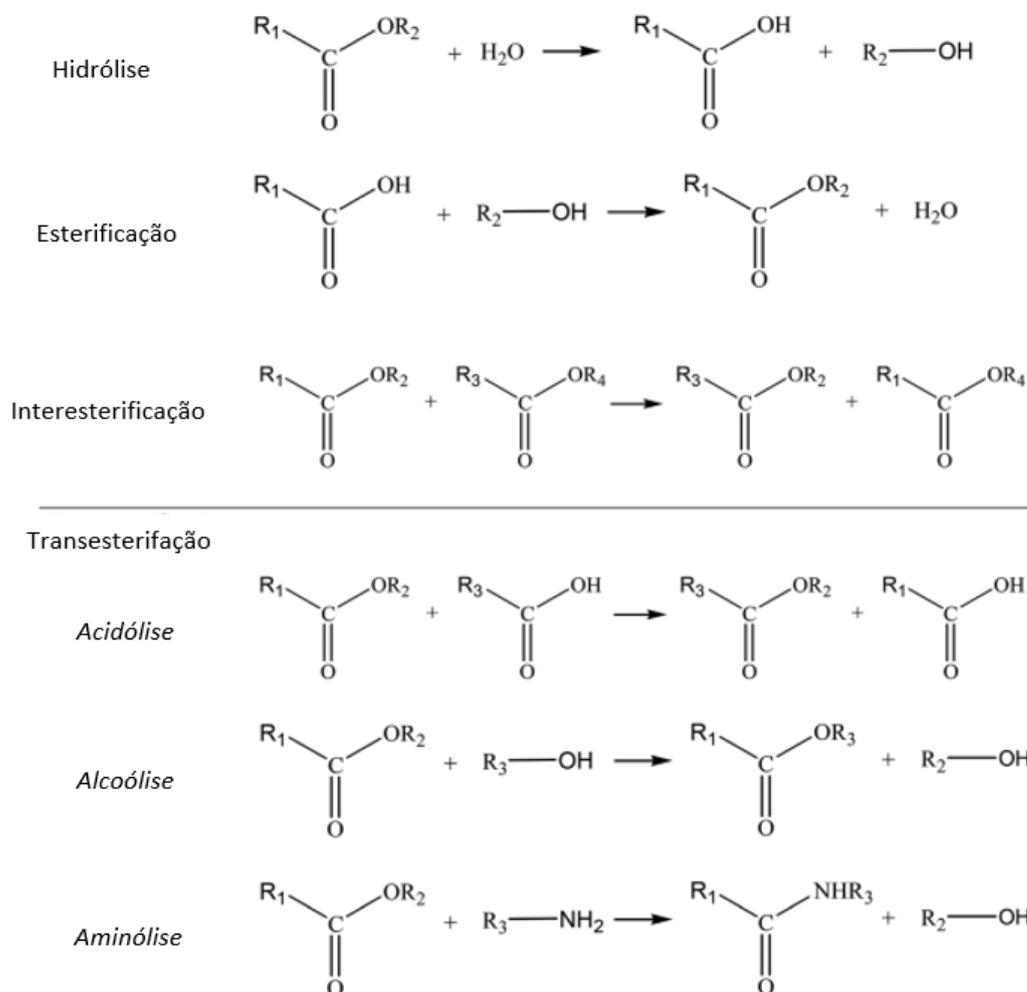


Figura 11- Principais exemplos de reações catalisadas por lipases (adaptado de Aouf, C., et al., 2014 [46]).

Muitas lipases são ativas em solventes orgânicos onde catalisam uma série de reações úteis, onde se inclui a esterificação [42,47]. As reações de síntese de ésteres fazem uso da lei de ação da massa para conduzir o equilíbrio na direção da síntese, removendo a água gerada durante a reação. As reações de troca de éster ocorrem em baixa atividade de água [47,52]. A esterificação pelas lipases tem-se mostrado uma alternativa atraente para as vias químicas (onde são utilizados ácidos minerais para catalisar a esterificação), uma vez que têm sido desenvolvidas para realizar as transformações sem as condições extremas de temperatura e pressão essenciais para os tradicionais processos industriais. Têm atraído também interesse de pesquisa devido ao aumento do uso de ésteres orgânicos na biotecnologia e na indústria

química [51]. Entre os fatores importantes que influenciam o rendimento do éster estão as concentrações de enzima e substratos, a sua razão molar, o valor de pH e temperatura da reação, as taxas de mistura e o teor de água [47,50].

4.3 Principais aplicações dos ésteres

As aplicações comerciais dos ésteres são bastante difundidas, sendo que diversos processos de obtenção industrial desses compostos, encontram-se bem sedimentados no setor produtivo. Por terem odores agradáveis, os ésteres são usados como aromatizantes e essências artificiais em doces, bolachas, e outros alimentos industrializados, assim como na produção de fármacos e perfumes [53]. Os ésteres possuem geralmente um odor agradável semelhante ao de frutas [54], sendo que esta é característica primordial para que sejam aplicados como aroma artificial de produtos, onde são denominados de “flavorizantes” [53]. Por exemplo, o acetato de isopentila possui odor semelhante ao de banana, o valerato de isopentila tem o odor característico da maçã e o propionato de isobutila assemelha-se ao rum [32].

Outra grande área de aplicação dos ésteres é na indústria dos combustíveis. Tem vindo a crescer a pesquisa por fontes de combustíveis menos agressivas para o meio ambiente e, nesse contexto, a importância dos ésteres é estendida à produção de biocombustíveis com o aproveitamento e o uso de novas fontes renováveis e o desenvolvimento de novas formas de produção [55]. O biodiesel, bicomcombustível muito conhecido, pode ser definido como mono-álquil éster de ácidos gordos que provem de fontes renováveis (óleos vegetais e gorduras animais) obtido através da transesterificação, onde ocorre a transformação de triglicérides em moléculas de ésteres de ácidos gordos [54].

Na indústria dos polímeros, os ésteres são usados como monómeros, uma vez que muitos plásticos e resinas produzidas são poliésteres [56]. A Tabela 3 apresenta alguns ésteres utilizados como monómeros e os principais polímeros produzidos a partir desses.

Tabela 3- Principais ésteres utilizados como monómeros na indústria (adaptado de Costa et al., 2003 [56] e Skoronski, 2010 [32])

MONÓMERO	Polímero	Usos
Etil Tereftalato	Polietileno tereftalato (PET)	Fabrico de fibras para indústria têxtil e filmes para produção de garrafas plásticas tipo PET
Metil Metacrilato	Polimetilmetacrilato	Fabrico de fibras acrílicas para lentes de contacto e filmes transparentes para janelas
Acetato de Vinila	Poliacetato de Vinila	Fabrico de película para vidros à prova de choques em veículos

Outras possíveis aplicações dos ésteres, são na produção de produtos de limpeza formando surfactantes (sabão e detergente) por reação de saponificação. São também utilizados como “parabenos”, ou seja, conservantes de alimentos e medicamentos, resistindo ao crescimento de microrganismos como bolores e leveduras, e são frequentemente empregues como solventes em reações orgânicas porque formam um meio reacional moderadamente polar e aprótico.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

6. MATERIAIS

Mechas naturais de cabelo humano virgem asiático foram gentilmente oferecidas por um cabeleireiro asiático (China). Antes dos testes, as amostras de cabelo foram previamente submetidas a um procedimento de lavagem com um shampoo comercial. Os compostos glicerol (pureza >99 %, $C_3H_8O_3$), ácido cítrico anidro (pureza >99 %, $C_6H_8O_7$), ácido oxálico anidro (pureza >99 %, $C_2H_2O_4$), ácido láctico anidro (pureza >99 %, $(CH_3O)_2CO$), dodecil sulfato de sódio ($CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$), ureia (NH_2CONH_2) e sulfato de amônio (pureza >99 %, $CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$) foram fornecidos por *Sigma Aldrich*. A enzima lipase de *Aspergillus oryzae* (solução $\geq 100\ 000$ U/g) foi fornecida pela *Merck*. Antes do uso, a lipase nativa foi ultrafiltrada para a remoção de quaisquer aditivos presentes. A ultrafiltração foi realizada usando discos de ultrafiltração (Ultracel 10 kDa) compostos de celulose regenerada (47 mm, *Millipore*) com água ultrapura (*Milli-Q*).

7. MÉTODOS

Foram desenvolvidas e testadas diversas formulações tendo como base duas metodologias à base de misturas eutéticas usando elevadas temperaturas e por reações enzimáticas usando baixas temperaturas, ambas testando diferentes componentes e diferentes métodos de aplicação nas mechas do cabelo. Estas formulações foram aplicadas no cabelo com o objetivo de modificar a sua forma original, usando compostos menos agressivos, comparativamente aos atuais métodos utilizados para o efeito. A modulação do cabelo, ocorre pela reação de polimerização *in situ*, ou seja, diretamente na fibra capilar, por condensação entre um poliácido (ácido cítrico, ácido oxálico) e um poliálcool (glicerol) a temperaturas elevadas e por reações enzimáticas (usando a lipase) a baixas temperaturas formando grupos ésteres, os quais podem reagir com os grupos funcionais da fibra de queratina do cabelo.

7.1 Desenvolvimento das formulações

Com o objetivo de reduzir os problemas associados à utilização de compostos químicos agressivos para modificar a forma do cabelo, foram desenvolvidas misturas eutéticas à base de compostos benignos, para posterior aplicação no cabelo. A preparação dos DES foi feita pela mistura do ácido cítrico ou ácido oxálico, com o doador de ligações de hidrogénio, o glicerol, em diferentes razões molares (1:2, 1:1, 2:1). A mistura de compostos foi agitada a 50 - 60 °C até a formação de um líquido incolor, e mantido líquido após cerca de 24 h em temperatura ambiente. Foram também desenvolvidas formulações com os mesmos compostos (apenas com aquecimento para ligar os componentes), com adição da enzima lipase que funciona como catalisador da reação de polimerização que ocorre quando a mistura é aplicada no cabelo, fazendo-se variar o pH e o tempo de pré-aquecimento da mistura.

7.2 Aplicação das formulações no cabelo

Nos ensaios realizados a altas temperaturas, o método de aplicação foi testado envolvendo algumas variáveis. Fez-se variar o tempo e temperatura de aplicação do equipamento (*babyliss* ou prancha) usado para dar forma ao cabelo, de forma a otimizar o método de encaracolamento permanente. Este método é simples e rápido, de forma a mimetizar o eventual processo num salão de cabeleireiro. Previamente, todas as amostras de cabelo foram lavadas com champô. As amostras de cabelo foram tratadas com as formulações à base de misturas eutéticas usando diferentes protocolos, realizando sempre os respetivos controlos.

O 1º método, M1 (Figura 12) testado, consistiu na aplicação homogénea da formulação na amostra de cabelo, seguida de encaracolamento com o auxílio da *babyliss* para lhe conferir uma nova forma. Após 24h, a mecha de cabelo foi lavada com champô e secou à temperatura ambiente.

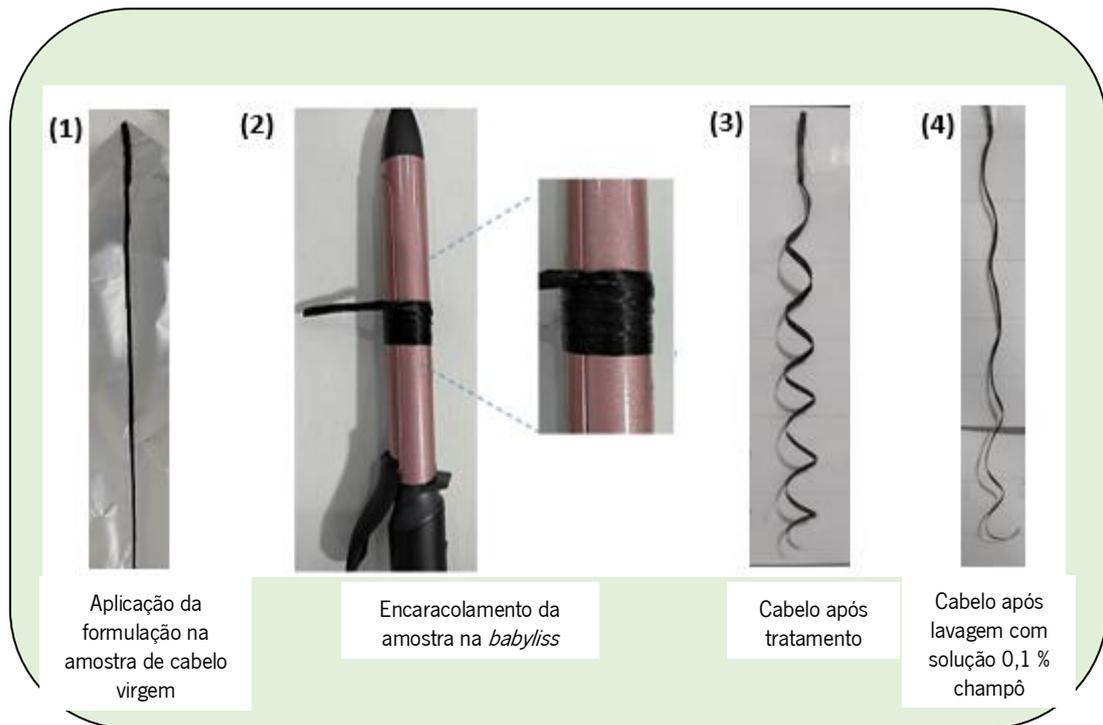


Figura 12- Esquema de aplicação do 1º método (M1).

O 2º método, M2 (Figura 13) é idêntico ao 1º, mudando apenas a etapa de encaracolamento. Neste caso, o cabelo foi enrolado numa vareta, e seco com prancha térmica, para lhe dar a forma pretendida.



Figura 13- Esquema de aplicação do 2º método (M2).

Foram realizados vários protocolos testando diferentes parâmetros, como o valor de pH das soluções, tempo e a temperatura do processo de encaracolamento, de forma a investigar os efeitos de cada condição. As Tabela 4 e 5 apresentam todos os protocolos realizados nas mechas de cabelo asiático usando a formulação da mistura ácido cítrico: glicerol e ácido oxálico: glicerol, respetivamente.

Tabela 4- Protocolos testados para aplicação da formulação composta por ácido cítrico e glicerol

MÉTODO	Protocolo	pH	Temperatura / °C	Tempo / min
M1	P1	3	170	1
	P2	3	145	2
	P3	3	117	3
	P4	1,5	170	1
	P7	1,5	170	2
M2	P5	1,5	170	2
	P6	1,5	170	4*

* foi encaracolado 1 minuto de cada vez, com intervalos de 30 segundos.

Tabela 5- Protocolos testados para aplicação da formulação composta por ácido oxálico e glicerol

MÉTODO	Protocolo	pH	Temperatura / °C	Tempo / min
M1	P1	1	170	1
	P2	1	170	2
	P3	1	145	3

Nos ensaios com lipase, foi realizado outro método. Todas as amostras de cabelo foram previamente lavadas com champô, e uma delas levou tratamento sem lipase (controlo), enquanto as restantes foram sujeitas a tratamento com as formulações com a lipase incluída na formulação. O método M3 (Figura 14) aplicado nesta etapa consistiu na aplicação homogênea da formulação com lipase na amostra de cabelo, seguida de enrolamento na vareta.

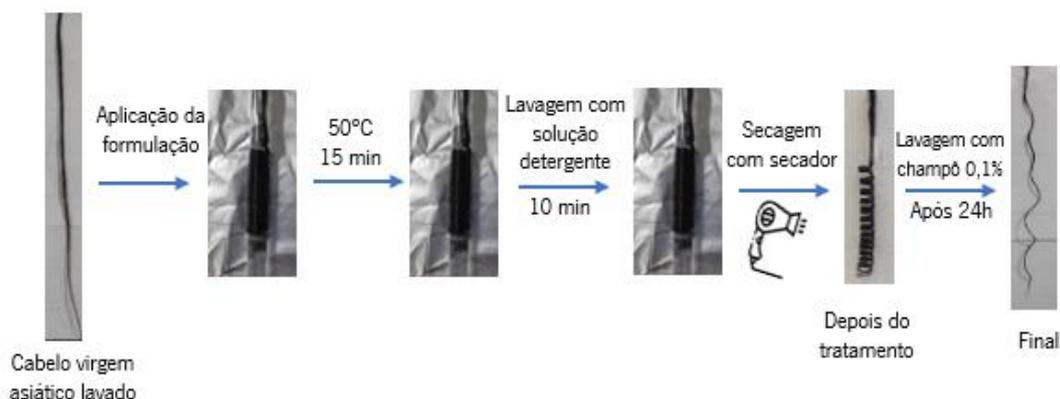


Figura 14- Esquema de aplicação do Método M3.

Cada amostra foi levada a aquecimento durante 15 minutos a 50 °C (enrolada em papel prata), seguida de lavagem com uma solução de detergente durante 5/10 minutos para inativação da enzima. Após esta lavagem, e ainda na vareta, a amostra foi seca com secador. Após 24 horas, a mecha de cabelo foi lavada com champô e seca à temperatura ambiente.

Fizeram-se testes com diferentes tempos de pré-aquecimento da mistura com a lipase, com diferentes soluções para inativação da enzima pós tratamento, e com diferentes tempos de contacto entre a amostra e essa mesma solução.

Para avaliar a eficiência do processo desenvolvido, foram medidos os comprimentos do cabelo antes e após tratamento, e no que diz respeito à percentagem de eficiência de encaracolamento, foi usada a Equação 1:

$$\text{Eficiência de encaracolamento (\%)} = \frac{C_i - C_f}{C_f} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

onde C_i é o comprimento do cabelo antes do tratamento e C_f é o comprimento do cabelo após o tratamento.

7.3 Caracterização das formulações (ESI-MS)

Para avaliar efetivamente a estrutura do produto formado após a reação da mistura eutética entre o ácido e o álcool, usando elevadas temperaturas, foi realizada uma análise por espectrometria de massa. A ionização por eletrospray foi realizada num detetor de massa *Thermo Finnigan LxQ* (com analisador *Linear Ion Trap*). A análise foi feita usando um detetor de massa suscetível de análise em modo de varredura completa, MS/MS com ionização positiva. A faixa do espectro de massa estava entre 50 e 2000 m/z e foi usada uma tensão capilar de 29 V.

7.4 Atividade da lipase utilizando diferentes compostos

As lipases são definidas como hidrólases de éster de glicerol que catalisam a hidrólise de triglicerídeos em ácidos gordos livres e glicerol. As lipases podem catalisar as reações reversas em meios com pouca/nenhuma água.

A atividade da lipase foi medida a 37 °C, num volume final de 4 mL, contendo o substrato p-nitrofenil octanoato 6 mM, a enzima (1 mg), uma solução tampão (K₂HPO₄ 50 mM, pH 7,8) e a formulação com a solução. A reação foi iniciada pela adição da enzima e interrompida com a adição de acetona. A hidrólise do substrato foi monitorizada pela formação de p-nitrofenol a absorvância de 400 nm. As medições foram conduzidas num leitor *Multi-Mode Synergy Mx da BioTek* (EUA) em placas de 96 poços. Uma unidade de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima que catalisa a produção de 1 µmol p-nitrofenol do substrato inicial por minuto.

Para interromper a reação de esterificação e impedir que a hidrólise da lipase aconteça, foi necessário testar vários compostos com habilidade de terminar a atividade da enzima. Para o efeito, foi testada a utilização de uma solução para desnaturar a enzima. Foram testados três tipos de compostos: dodecil sulfato de sódio (SDS), sulfato de amónio e ureia, em diferentes concentrações.

7.5 Microscopia eletrónica de varrimento (MEV)

A microscopia eletrónica de varrimento (MEV) permite a obtenção de imagens com elevadas ampliações em resoluções de poucos nanómetros, permitindo determinar a espessura da fibra do cabelo e identificar defeitos visíveis na superfície da fibra. As amostras de cabelo foram analisadas morfológicamente através de um microscópio eletrónico de varredura de mesa

(*Phenom ProX*, Holanda), com o software *ProSuite*. Este equipamento, com uma ampliação de 1000X permitiu observar a estrutura superficial da queratina da fibra capilar. Para a realização deste ensaio, cortaram-se 3 fios de cabelo com comprimento reduzido, que foram posicionados paralelamente em pinos de alumínio cobertos com fita adesiva de carbono condutora (*PELCO Tabs™*), e recobertos com spray de ouro. Este recobrimento é necessário uma vez que a fibra do cabelo é um material não condutor. A incidência de um feixe de elétrons, com energias entre 2 e 50 keV, resulta na emissão destes e permite a obtenção de uma imagem superficial da fibra.

7.6 Teste de desgaste mecânico

Este teste foi realizado com o intuito de avaliar o efeito do tratamento aplicado no cabelo, nas propriedades mecânicas da fibra capilar. Estas, foram avaliadas através da resistência ao desgaste mecânico, que se dá pela percentagem de resistência à perda de massa (redução ou aumento da perda de massa do cabelo). O processo ocorre como representado na Figura 15, e é baseado nas forças de fricção entre os cabelos. Primeiramente, 10 mg de fragmentos de cabelo com 0,5 cm de comprimento são colocados em agitação (vortex) a 2500 rpm juntamente com 5 bolas de aço endurecido a 700 μ L de água, num tubo *ependorf* de 2 mL. Após 16 h de agitação, as amostras são devidamente filtradas fazendo uso de filtros de membrana de polycarbonato com poros de tamanho 5 μ L. Por fim, as amostras são colocadas na estufa a 40 °C por 24 h [57].

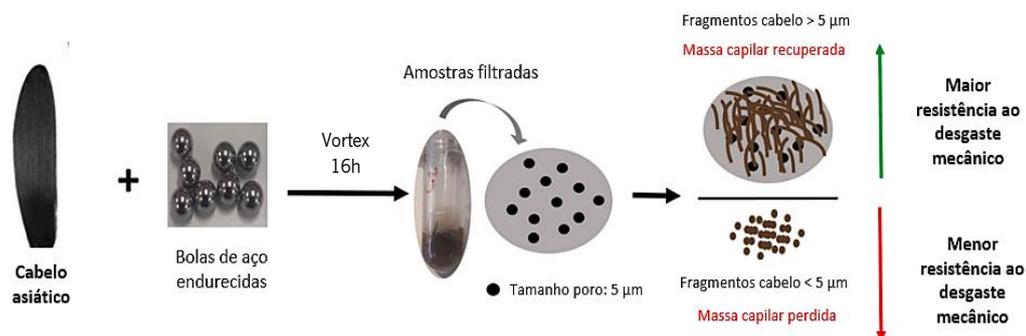


Figura 15- Representação da metodologia de avaliação da resistência ao desgaste mecânico (adaptado de Ribeiro, A. et al., 2021 [57]).

Assim, a quantidade de perda de massa de cabelo foi determinada pela Equação (2):

$$\text{Perda de massa capilar (\%)} = \frac{H_i - H_f}{H_i} \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

onde H_i corresponde à quantidade inicial de cabelo e H_f à quantidade final de cabelo presente no filtro de membrana de policarbonato.

A resistência ao desgaste expressa em percentagem, foi calculada de acordo com a Equação (3):

$$\text{Resistência ao desgaste (\%)} = 100\% - \text{Perda de massa capilar (\%)} \quad \text{Equação (3)}$$

7.7 Espectroscopia FTIR-ATR (Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier em modo de reflexão total atenuada)

Espectroscopia FTIR-ATR é uma técnica extremamente favorável para análise de cabelo uma vez que é um método rápido, de preparação simples, e essencialmente não destrutivo para a amostra [58]. Esta é uma técnica baseada na determinação da absorção infravermelha devido à ressonância de energia com movimentos vibracionais de ligações químicas. Fornece informações químicas específicas a nível molecular associado à natureza e composição do cabelo humano e é muito sensível à presença de grupos funcionais químicos nas amostras [59].

Todas as amostras de cabelo foram analisadas usando um espectrómetro FTIR *Alpha II* (Bruker, Alemanha), com um acessório *ATR platinum T Diamond 1 Reflt*. A faixa espectral usada foi de 4000-400 cm^{-1} (comprimento de onda), resolução 4 cm^{-1} e 24 *scans*. O acessório ATR utiliza um único diamante de reflexão de rebatimento. Antes de qualquer medição de amostra, e entre as amostras, o anexo ATR, o cristal e a plataforma de amostra foram limpos com etanol e em seguida enxugados, antes do espectro ser recolhido. Para recolher os espectros, as amostras de cabelo foram simplesmente colocadas sobre o cristal e comprimidas usando o acessório ATR. A radiação entra pela borda do cristal e é totalmente refletida internamente nas faces do cristal. A amostra que está em o contato com a superfície do cristal absorve parte da radiação e a restante radiação atenuada passa para o detetor. Esta técnica de reflexão múltipla aumenta a sensibilidade analítica [58,59].

7.8 Calorimetria de varredura diferencial (DSC)

A calorimetria de varredura diferencial (DSC) tem sido cada vez mais usada para substanciar alegações de produtos de reparo capilar, uma vez que a diminuição das temperaturas de pico pode indicar mudanças estruturais e danos químicos no cabelo [60]. Assim, as propriedades térmicas de cabelos tratados com diferentes formulações eutéticas foram investigadas usando esta técnica. Para esta análise, 8 mg de cada amostra de cabelo foi conduzida num instrumento DSC (DSC 6000, *Perkin Elmer*) com uma taxa de aquecimento constante (5 °C/min) sob atmosfera inerte de azoto, desde a temperatura ambiente 25 °C até 250 °C.

7.9 Análise estatística

As comparações estatísticas foram realizadas usando uma análise de variância unilateral (ANOVA) com o método post-hoc de *Tukey*, de modo a identificar diferenças significativas entre os resultados. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estaticamente significativo.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

8. RESULTADOS DA APLICAÇÃO DAS FORMULAÇÕES NO CABELO ATRAVÉS DE REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO POR CONDENSAÇÃO

8.1 Aplicação das formulações à base de misturas eutéticas a altas temperaturas

Nesta etapa, foram testadas diferentes condições para aplicação de formulações à base de misturas eutéticas compostas por ácido cítrico com glicerol, e ácido oxálico com glicerol, no cabelo. A forma do cabelo é mantida após lavagens, pela interação dos ésteres formados através da reação de esterificação por condensação, com os grupos químicos da queratina.

8.1.1 Preparação das formulações à base de misturas eutéticas

Desenvolveram-se formulações à base de misturas eutéticas (DES) em vários raios molares de ácido e álcool. As formulações eram compostas por ácido cítrico e glicerol (Tabela 6), assim como entre ácido oxálico e glicerol (Tabela 7). Os DES foram considerados estáveis, sendo caracterizados por um líquido viscoso e translúcido com o passar do tempo.

Tabela 6- Aparência e características das formulações eutéticas ácido cítrico: glicerol com diferentes razões molares, a 25°C

Rácio Molar	Temperatura aquecimento	Aparência	pH	Observações	
				Após aquecimento	Após 24 h
1:2	50 °C		~1,5	Gel fluido, translúcido	Gel fluido, translúcido
1:1	50 °C		~1,5	Gel fluido, translúcido	Gel fluido, translúcido
2:1	60 °C		~1,5	Gel fluido, translúcido	Gel fluido, translúcido

Tabela 7 - Aparência e características das formulações eutéticas ácido oxálico: glicerol com diferentes razões molares, a 25°C

Rácio Molar	Temperatura aquecimento	Aparência	pH	Observações	
				Após aquecimento	Após 24h
1:2	50 °C		~1	Gel muito fluido, translúcido	Gel muito fluido, translúcido
1:1	50 °C		~1	Gel muito fluido, translúcido	Gel muito fluido, translúcido
2:1	50 °C		~1	Gel muito fluido, translúcido	Gel fluido, esbranquiçado*

8.1.2 Eficiência de encaracolamento após tratamento e lavagens (qualitativa e quantitativa)

A eficiência de encaracolamento obtida com a aplicação da formulação ácido cítrico e glicerol e após primeira lavagem, alterando as variáveis pH, tempo e temperatura, encontra-se apresentada na Figura 16. Em todos os protocolos, os controlos (ondulados apenas com água) possuem praticamente 0 % de encaracolamento após a lavagem, voltando à sua forma original: lisos. Denota-se um decréscimo bastante significativo na eficiência de encaracolamento após a lavagem, relativamente à mesma após tratamento, também em todos os protocolos. Pela comparação do Protocolo 1 com o Protocolo 4, que diferem apenas no *pH*, verificam-se melhores resultados em termos de ondulação, quando a mistura possui *pH* extremamente ácido. Por observação do gráfico, verifica-se de forma clara que os melhores resultados em termos de ondulação do cabelo, advêm da realização do Protocolo 4 e 7, ou seja, da aplicação da temperatura mais alta testada (170°C). O protocolo 7 é o mais eficaz, apresentando uma eficiência

de cerca de 25 % de encaracolamento, após lavagem. Assim, é possível concluir que temperatura e tempos mais elevados induzem a uma reação de esterificação mais eficaz, permitindo uma maior formação dos ésteres que reagem com a queratina, mantendo a forma do cabelo modificada.

Para testar a resistência às lavagens, realizaram-se no total três lavagens de cada amostra de cabelo, após aplicação da formulação ácido cítrico; glicerol, de maneira a entender a

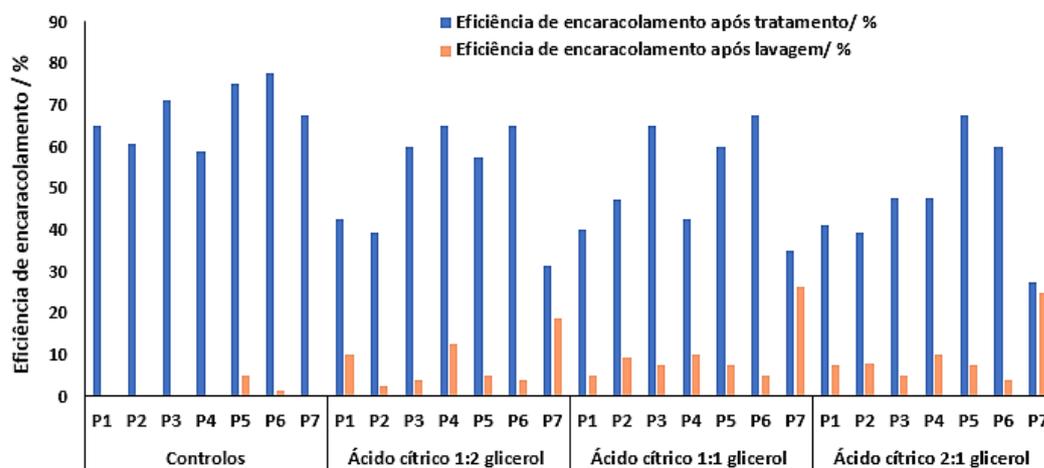


Figura 16- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após uma lavagem com solução de champô.

durabilidade da ondulação com as lavagens. Assim, os resultados em termos de eficiência de encaracolamento após as 3 lavagens, são apresentados na Figura 17.

É possível observar que após terceira lavagem a amostra de cabelo reduz a eficiência de encaracolamento, especialmente quando submetido à proporção 2:1 (ácido cítrico: glicerol) no Protocolo 7, com a qual que reduziu significativamente na última lavagem. Com a aplicação deste protocolo, a amostra ficou com um aspeto firme e não suave ao toque, por isso penteou-se a mecha até que a camada que ela tinha se desfizesse, o que resultou na perda de ondulação drástica. Assim, esta proporção não é viável para ser aplicada a temperaturas e tempos tão elevados, porque deixa uma camada na mecha do cabelo, que é desagradável ao toque. Após as lavagens, os protocolos que tiveram melhor desempenho continuaram a ser os Protocolos 4 e 7, ou seja, tempos e temperaturas maiores de aplicação da formulação favorecem a geração da ondulação pela interação dos ésteres com a queratina. A aplicação da mistura ácido cítrico 1:1 glicerol na amostra de cabelo, encaracolado a 170 °C durante 2 min, teve a maior eficiência de

encaracolamento de todos os testes realizados, sendo que após a terceira lavagem apresentou uma eficiência de encaracolamento de 35 %.

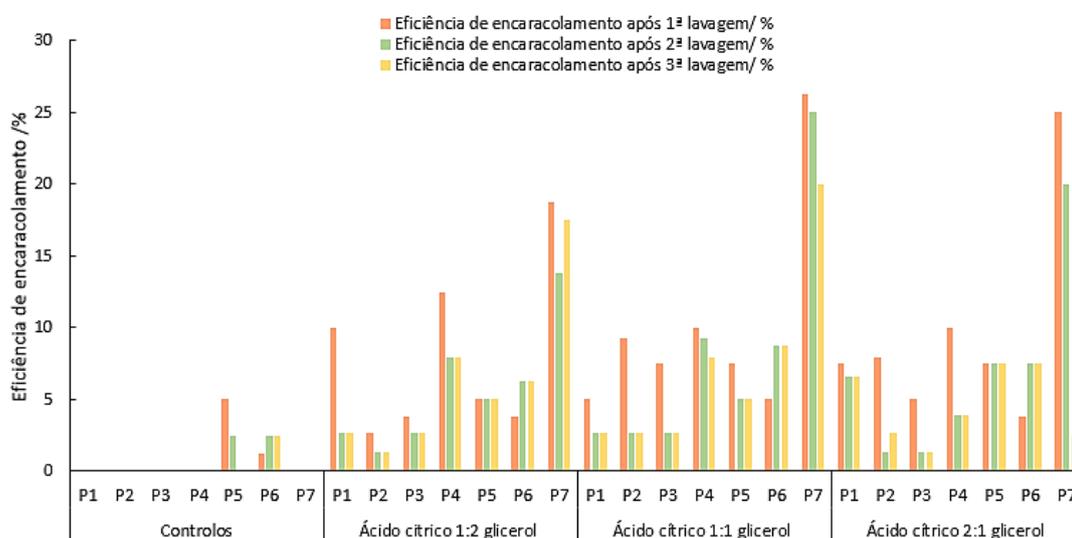


Figura 17- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido cítrico: glicerol, após três lavagens consecutivas com solução de champô.

Após o tratamento, as amostras de cabelo foram submetidas também a uma avaliação qualitativa, relativamente ao aspeto final do cabelo (Figura 18). São apresentados os controlos e os melhores resultados obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após as 3 lavagens realizadas. Após a 1ª lavagem, o controlo voltou à sua forma original (liso), enquanto as amostras tratadas obtiveram resultados bastante satisfatórios com a aplicação das razões molares 1:2 e 1:1, a 170 °C durante 2 min (Protocolo 7). A aplicação de calor durante 2 min resulta na obtenção da melhor eficiência de encaracolamento dos ensaios realizados, como também se traduz num resultado esteticamente bonito ao cabelo. Relativamente aos outros ensaios testados, mencionados anteriormente, os resultados não foram tão satisfatórios (Anexo A). Sendo de salientar que a temperatura e tempo foram fatores essenciais para a melhor performance da solução eutética quando aplicada na fibra do cabelo.

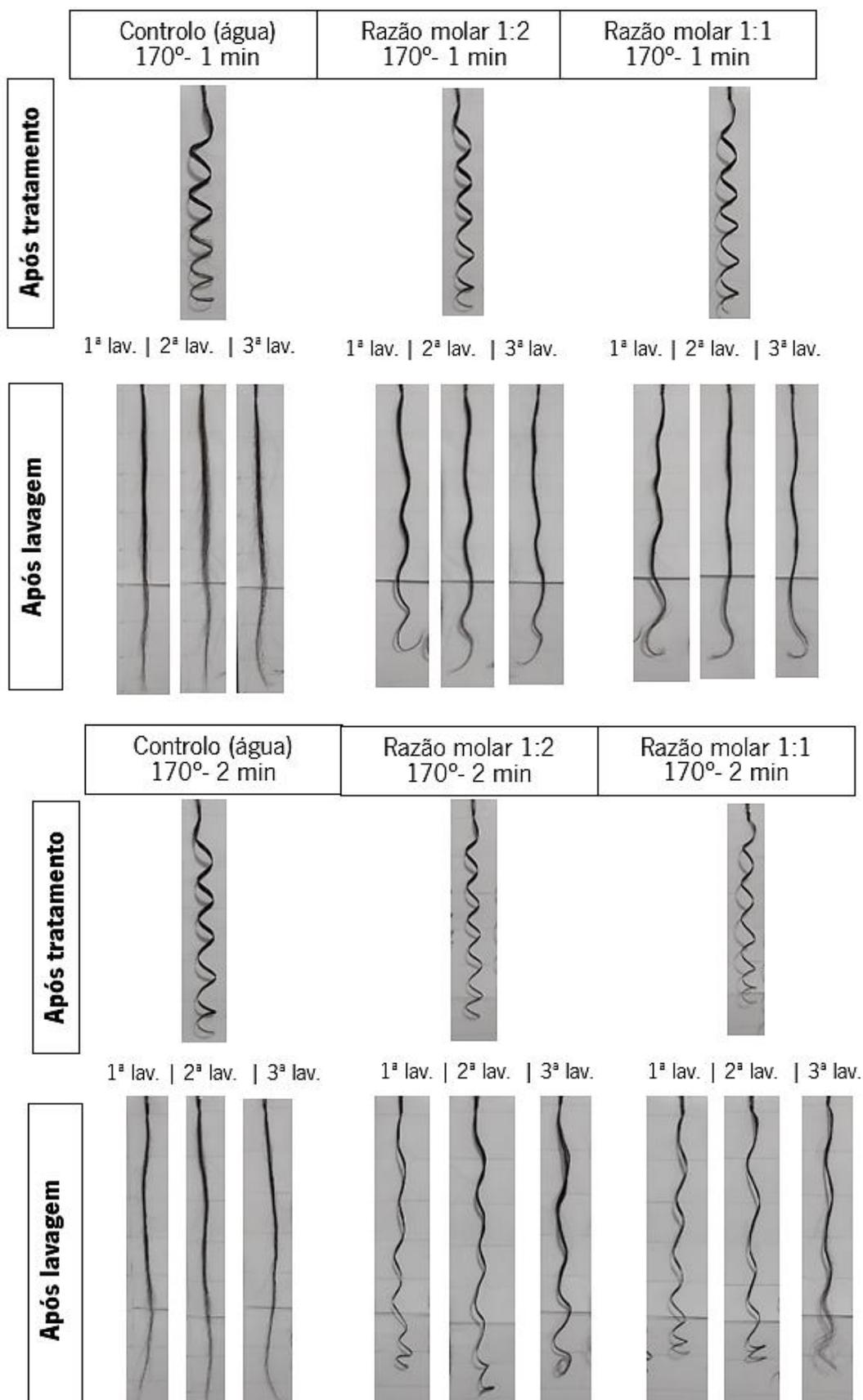


Figura 18- Resultados visuais das amostras de cabelo, mostrando os melhores resultados obtidos com a formulação ácido cítrico: glicerol.

As estruturas propostas para a formação do polímero de citrato de glicerol usando diferentes razões molares entre o ácido cítrico e o glicerol, estão representadas a seguir, na Figura 19:

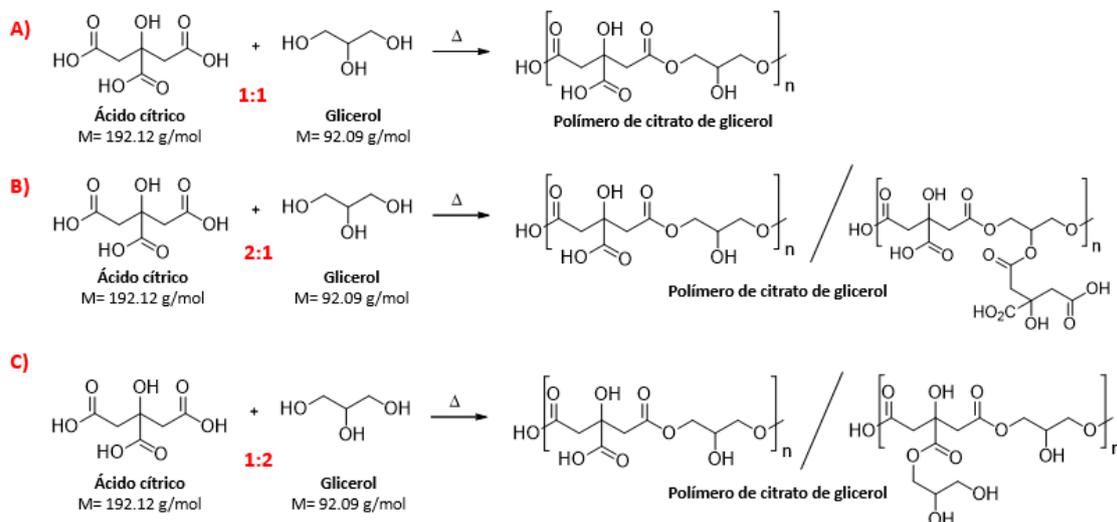


Figura 19- Estruturas propostas para a formação do polímero de citrato de glicerol, usando diferentes razões molares entre o ácido cítrico e o glicerol.

Relativamente à aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol, foram testados os protocolos usados anteriormente na formulação com ácido cítrico/glicerol, de entre os quais que apresentaram maiores tempos e temperaturas de aplicação, conduzindo a um aumento da eficiência de encaracolamento. Assim, a Figura 20 mostra as eficiências de encaracolamento obtidas, após aplicação do método, e após a primeira lavagem com solução de champô comercial. Tal como sucedeu com as formulações à base de ácido cítrico, nos três protocolos testados nesta etapa, os controlos voltam à sua forma original (lisos) imediatamente após a primeira lavagem, apresentando uma eficiência de 0% no que diz respeito ao encaracolamento. Há uma diferença nítida, conforme a proporção aplicada de ácido oxálico: glicerol, sendo que na razão 2:1 os resultados são menos satisfatórios que nas outras duas razões.

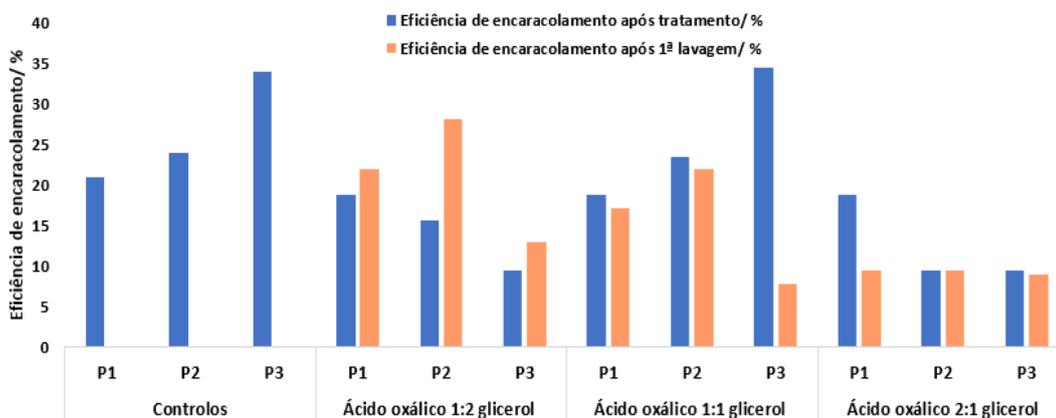


Figura 20- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol, após tratamento e após uma lavagem com solução de champô.

Por observação do gráfico, verifica-se que os melhores resultados em termos de ondulação do cabelo, advêm da realização do Protocolo 2 com a formulação ácido oxálico 1:2 glicerol (28 %), e ácido oxálico 1:1 glicerol (22 %), e da realização do Protocolo 1 com a formulação ácido oxálico 1:2 glicerol (22 %). O Protocolo 3 é o menos satisfatório, por isso comprova-se mais uma vez que a reação de esterificação é favorecida por temperaturas mais elevadas e tempos de aplicação mais longos, permitindo a manutenção da forma dada ao cabelo pelo *babyliss*. Assim, de acordo com as diferentes condições testadas nesta fase, é possível constatar que a reação deve ser conduzida aplicando a formulação a 170 °C durante 2 min, para dessa forma se obter uma maior ondulação no cabelo.

A Figura 21, mostra a eficiência de encaracolamento de cada amostra, após 3 lavagens: Observando a Figura 21, verifica-se que não há uma diferença significativa entre a 1ª e 3ª lavagem, sendo um resultado visivelmente satisfatório indicando que o cabelo mantém a sua nova forma ondulada após 3 lavagens. A aplicação da formulação na razão 1:2 seguindo o Protocolo 2 destaca-se favoravelmente em relação às restantes, originando uma eficiência de 31 % de encaracolamento.

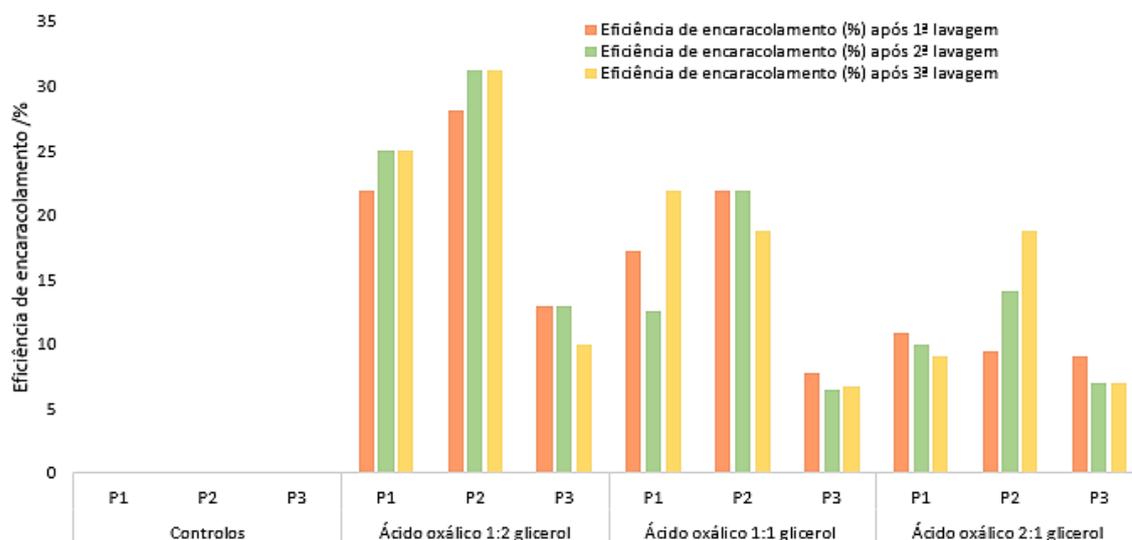


Figura 21- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol, após três lavagens consecutivas com solução de champô.

A mesma razão molar foi também aplicada de acordo com o Protocolo 1, a partir do qual se obteve 25 % de eficiência. Com a obtenção destes resultados deduziu-se que a razão molar 1:2 entre o ácido carboxílico e o álcool, neste caso ácido oxálico e glicerol, é a ideal a ser aplicada para o efeito pretendido, que após 2 min obtém cabelo ondulado com resistência até à terceira lavagem.

Na Figura 22, são apresentadas as imagens visuais relativamente aos tratamentos com a mistura ácido oxálico e glicerol. Os controlos e os melhores resultados obtidos após tratamento e após as 3 lavagens realizadas são identificados. O resultado mais satisfatório, foi a amostra resultante da aplicação da formulação ácido oxálico 1:1 glicerol durante 2 min a 170 °C (Protocolo 2). A amostra de cabelo deste ensaio obteve uma ondulação bonita em termos visuais, e o cabelo ficou bastante suave ao toque. A aplicação da formulação ácido oxálico 2:1 glicerol com o mesmo protocolo, também resultou numa mecha esteticamente bonita e ondulada. Há exceção destes casos, e essencialmente as que foram tratadas com o Protocolo 1, originaram ondas mais marcadas e com vincos, comparativamente às tratadas com ácido cítrico, o que esteticamente não é tão favorável. Os resultados referentes às restantes amostras de cabelo tratadas apresentam eficiências de encaracolamento baixas após as lavagens, sendo apresentados no Anexo B.

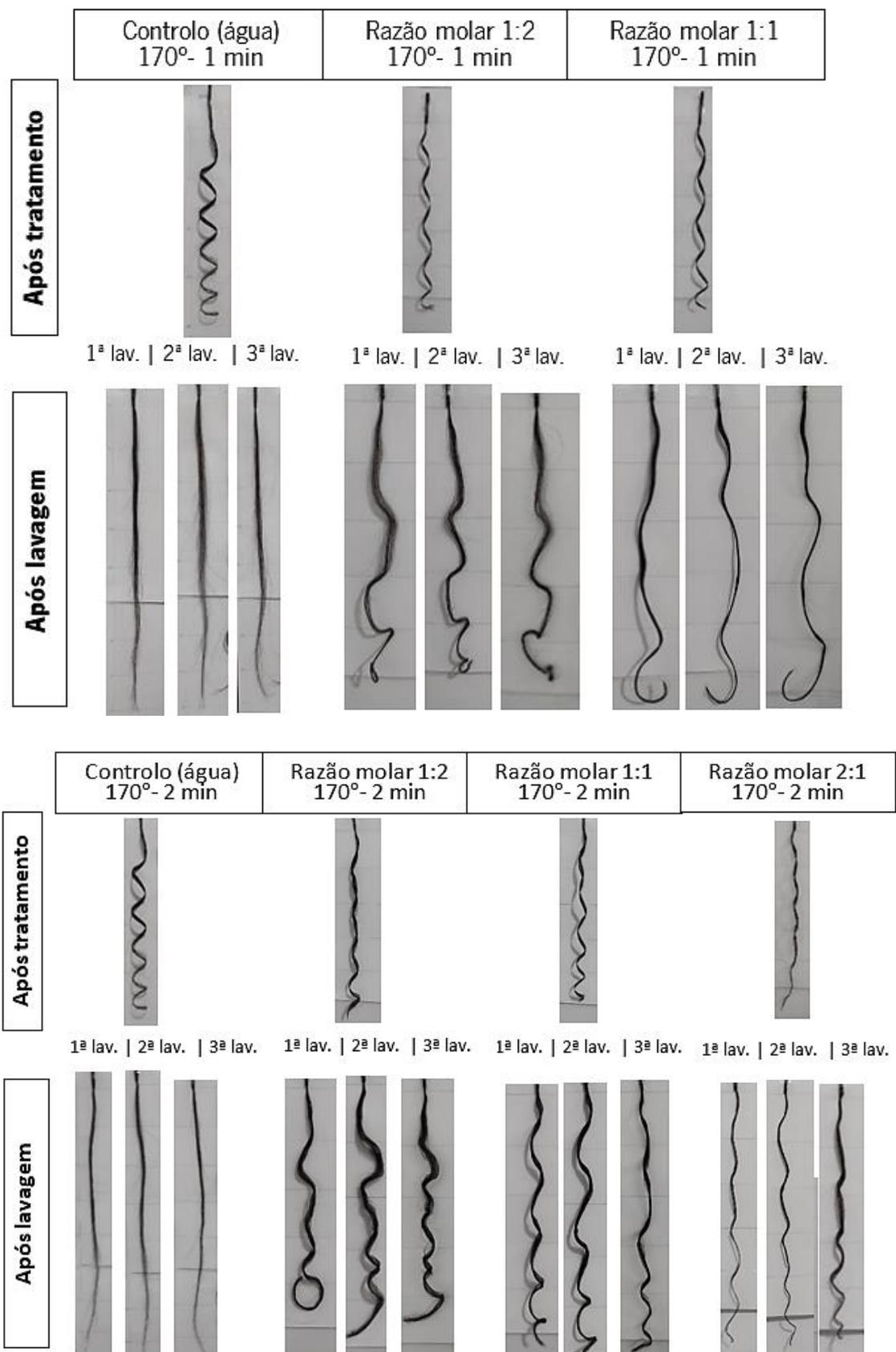


Figura 22- Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido oxálico: glicerol.

As estruturas propostas para a formação do polímero de oxalato de glicerol usando as diferentes razões molares de ácido oxálico e glicerol, encontram-se representadas na Figura 23:

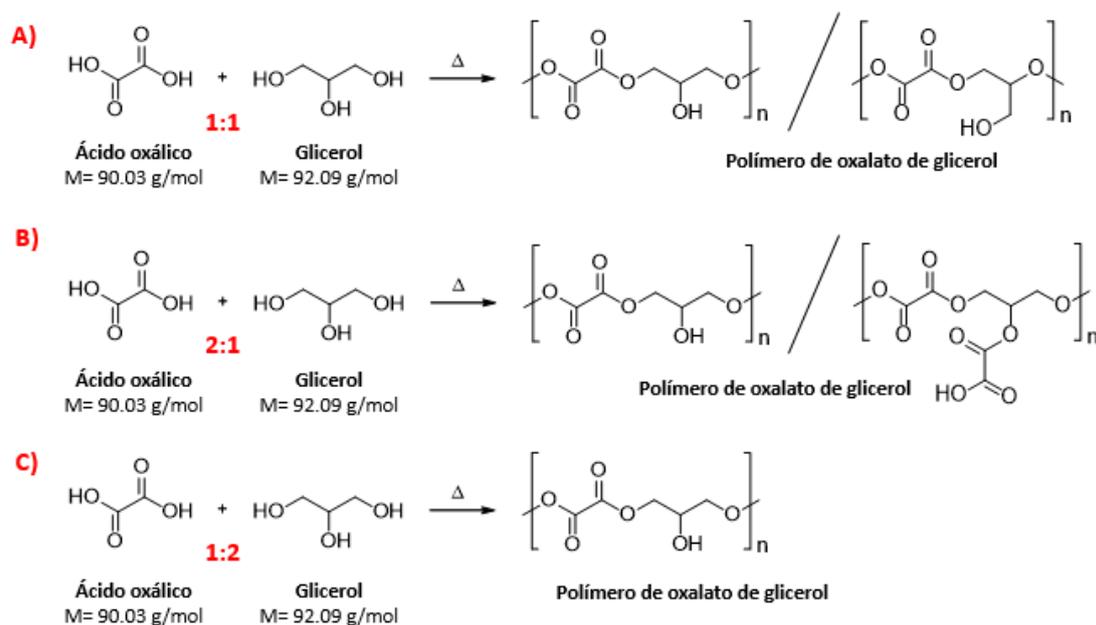


Figura 23- Estruturas propostas para a formação do polímero de oxalato de glicerol, usando diferentes razões molares entre o ácido oxálico e glicerol.

Analisando no geral os resultados da aplicação destas formulações, pode-se concluir que a reação de esterificação que ocorre na superfície da fibra do cabelo é fortemente favorecida pela aplicação da formulação a altas temperaturas e tempos de incubação de 1 a 2 minutos. Obtiveram-se diferentes resultados a nível de eficiência de encaracolamento, com diferentes rácios molares entre o ácido cítrico ou oxálico com o glicerol, usando protocolos de aplicação em que se variou o tempo de reação da formulação em contacto com a fibra do cabelo. O Protocolo 7 nas formulações compostas por ácido cítrico, e o Protocolo 2 nas que continham ácido oxálico, foram os que se revelaram mais eficientes. Em ambos os protocolos, a formulação foi aplicada na amostra de cabelo, sendo depois encaracolada e submetida a uma temperatura de 170 °C durante 2 min. No caso dos testes com ácido cítrico, o rácio molar ácido cítrico 2:1 glicerol revelou-se sem viabilidade a ser utilizado na prática, uma vez que a aplicação desta formulação forma uma camada sólida na superfície do cabelo, resistente às lavagens, deixando-o com um aspeto e toque áspero. Este filme formado na superfície do cabelo, eventualmente aumentaria a resistência mecânica, uma vez que confere essa proteção aos danos físicos, no entanto não é viável de ser mantida no cabelo. Relativamente às outras formulações com ácido cítrico, a que resultou mais coerentemente, em

diferentes protocolos, foi o rácio molar ácido cítrico 1:1 glicerol, obtendo-se a maior eficiência de encaracolamento com o Protocolo 7. Após uma lavagem, manteve-se com uma eficiência de 26 %, e após três lavagens manteve uma eficiência quantitativa de 20 %.

No caso das formulações compostas por ácido oxálico, o melhor resultado adveio da aplicação do rácio molar ácido oxálico 1:2 glicerol. Com a aplicação desta formulação na superfície do cabelo, obteve-se 31 % de encaracolamento no final das três lavagens. Este resultado revelou-se mais favorável do que o melhor resultado obtido com o ácido cítrico. Em termos de aspeto final do cabelo, a aplicação das formulações com ácido oxálico deixou um aspeto ligeiramente mais natural ao cabelo, possuindo um ligeiro *frizz* no final do tratamento, relativamente à aplicação da mistura eutética com ácido cítrico.

No final destes ensaios, onde foram aplicadas as formulações, considera-se que ocorre eventualmente a formação de poliéster na fibra do cabelo, sendo que os ensaios de caracterização físico-química ajudarão a corroborar estes resultados. Os ésteres podem reagir com os grupos funcionais da fibra da queratina do cabelo, e eventualmente ajudam a alterar a forma original do cabelo após três lavagens consecutivas. Esta aplicação é muito preliminar e necessita de otimização de vários fatores inerentes ao processo de formulação e aplicação, revelando-se, no entanto, um ponto de partida importante para trabalhos futuros. Além disso, trata-se de um processo com efeitos secundários reduzidos que não são prejudiciais à saúde e ambiente, ao contrário dos compostos que normalmente são utilizados em alguns processos de permanentes realizados em salão de cabeleireiro.

8.1.3 Caracterização físico-química das amostras de cabelo tratadas (MEV, teste de fadiga, FTIR-ATR, ESI-MS)

As amostras tratadas, que obtiveram uma maior eficiência de encaracolamento, assim como uma amostra não tratada (cabelo virgem) foram caracterizadas física e quimicamente. Para tal, realizaram-se testes de fadiga, análise da fibra do cabelo por microscopia eletrónica de varredura, FTIR-ATR e ESI-MS, de modo a avaliar o efeito que a aplicação das formulações tiveram na fibra do cabelo e se seria um processo viável a ser utilizado na prática.

Relativamente à resistência mecânica, mais concretamente ao desgaste, foram realizados testes de fadiga para cada amostra testada (com 2 réplicas para cada amostra). As esferas de aço endurecido, quando entram em contacto (pela agitação) com os fragmentos de cabelo

comprometem a integridade das fibras capilares, por isso este procedimento ajuda a compreender a resistência ao desgaste de cada amostra tratada, por comparação com o cabelo virgem (sem nenhum tipo de tratamento) e com o cabelo branqueado (grande perda de resistência mecânica) [57].

Na Figura 24, estão representados os resultados da resistência ao desgaste para as amostras tratadas com as formulações eutéticas a 170 °C, e os respectivos controles:

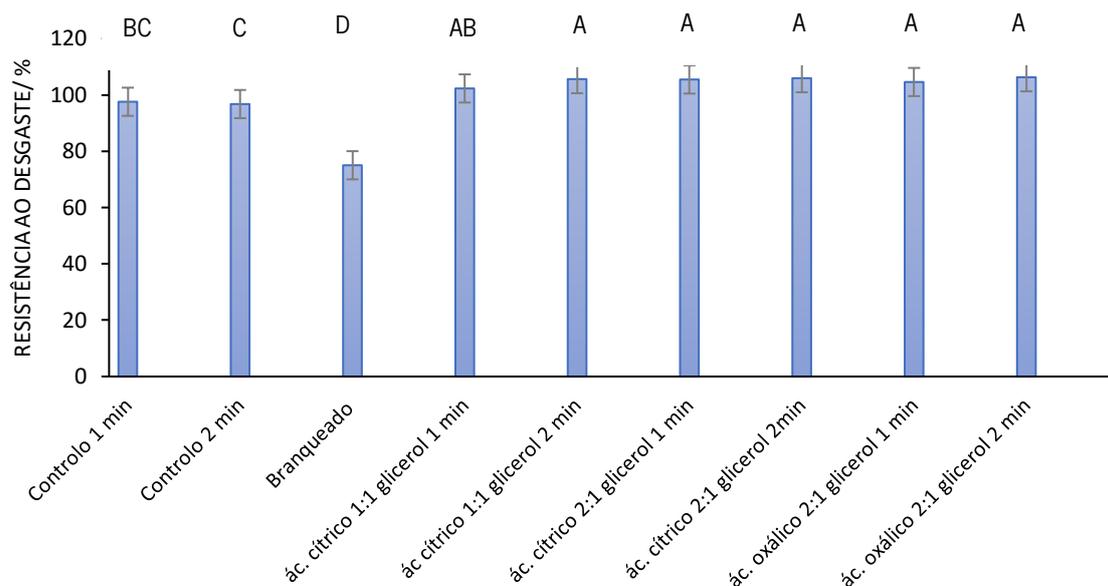


Figura 24 Efeito do tratamento com as formulações a 170 °C na resistência ao desgaste da fibra do cabelo. Informações de agrupamento usando o método de Tukey e 95% de confiança, o que significa que médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.

As propriedades mecânicas do cabelo são indicadores primários da integridade do cabelo. Por comparação com os controles (amostras não tratadas), estatisticamente todas as amostras obtiveram melhor resistência à fadiga, sendo que todas compartilham a letra A. Apenas a amostra tratada com ácido cítrico 1:1 glicerol / 1 min, compartilha também a letra B com o controle correspondente. Estes resultados indicam que o filme que se formou na superfície da fibra do cabelo, resistente às 3 lavagens consecutivas, promoveu resistência ao desgaste, apresentando por isso menor perda de massa durante o teste de fadiga. Assim, as amostras tratadas têm uma menor taxa de degradação, resultando em menores danos na camada superficial da cutícula, quando comparadas com a amostra de cabelo virgem.

A análise MEV permite também analisar o estado superficial das amostras de cabelo, sendo que as cutículas capilares são as estruturas mais expostas aos danos físicos e químicos. A camada de cutícula do cabelo está diretamente relacionada à aparência saudável do cabelo. O

cabelo saudável está intacto e sem danos nas camadas da cutícula, refletindo a integridade da fibra e uma aparência brilhante e macia, enquanto o cabelo danificado consiste em mechas ásperas, secas e sem brilho [61].

As amostras tratadas com as formulações, que resultaram em melhores resultados em termos de eficiência de encaracolamento, foram analisadas por MEV com ampliação 1000X. Os resultados microscópicos resultantes, são apresentados na Figura 25:

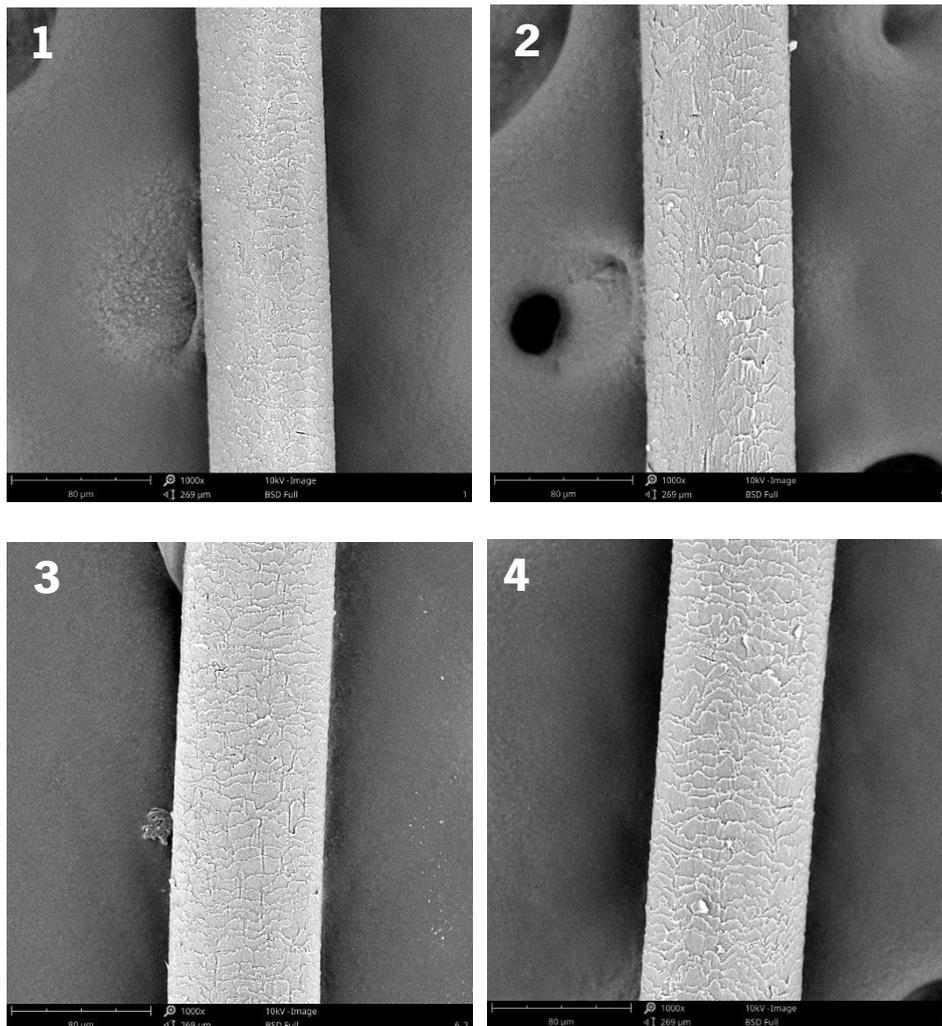


Figura 25- Imagens MEV do cabelo tratado e não tratado (ampliação 1000 X): 1- cabelo virgem asiático (controle); 2- cabelo tratado com ácido cítrico 1:1 glicerol/2 min-170 °C; 3- cabelo tratado com ácido oxálico 1:2 glicerol /2 min-170 °C; 4- cabelo tratado com ácido oxálico 1:1 glicerol /2 min-170 °C.

Por observação das imagens microscópicas, as amostras tratadas exibem poucos danos na cutícula, relativamente ao cabelo virgem, sendo que a aplicação da formulação de ácido cítrico: glicerol degradou ligeiramente mais a cutícula do que o tratamento com as formulações de ácido

oxálico, uma vez que apresenta maiores irregularidades. A integridade da fibra do cabelo é ilustrada nas imagens da Figura 25, exibindo uma camada exterior ordenada e sem levantamento nem danos nas cutículas, corroborando com os bons resultados que as amostras apresentam também no teste de resistência ao desgaste. Assim, a aplicação das formulações aqui propostas, compostas por ácido oxálico em mistura com o glicerol não alteram significativamente o aspeto da camada exterior da fibra do cabelo, a cutícula.

A análise FTIR-ATR da fibra do cabelo, tratada e não tratada, permite a observação de alterações na estrutura química da superfície da fibra capilar, sendo que na Figura 26 estão compilados os espectros das diferentes amostras, consideradas as mais promissoras a nível de resultado de alteração de forma.

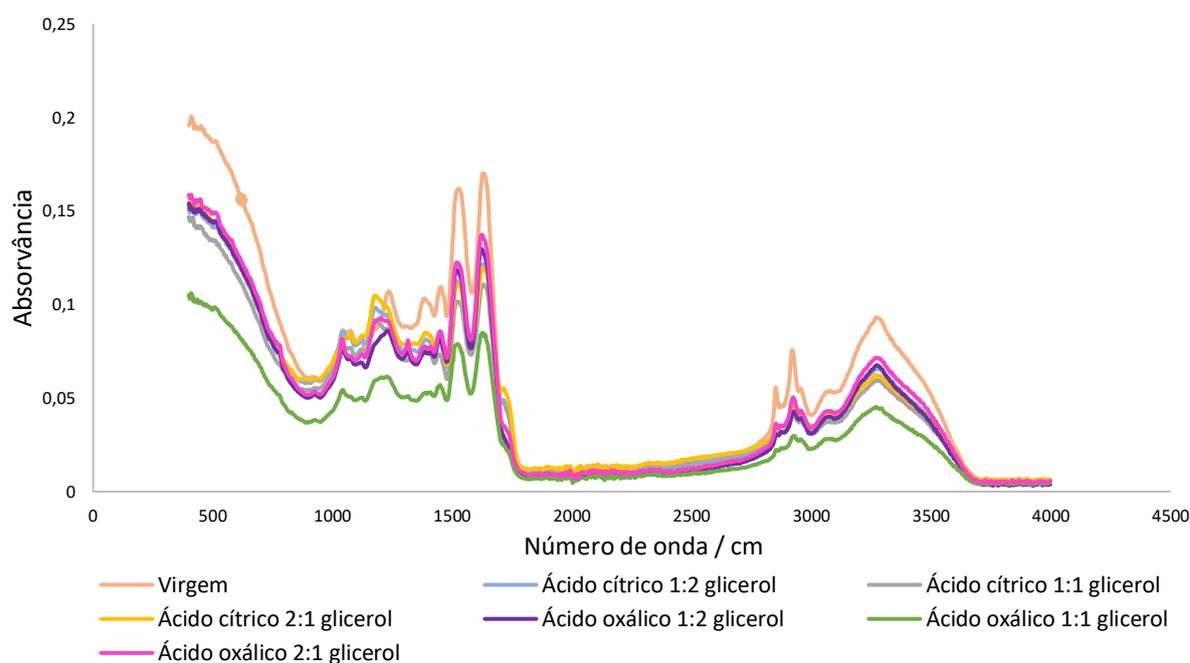


Figura 26- Espectro FTIR-ATR da fibra do cabelo, tratada e não tratada com diferentes formulações eutéticas.

Por observação do espectro, todas as amostras apresentam os típicos picos da Amida I, II e III. O pico da Amida I, situa-se em torno de 1640 cm^{-1} e corresponde à vibração do alongamento C=O e uma pequena contribuição da vibração N-H. O pico da Amida II, situa-se no comprimento de onda de 1525 cm^{-1} e consiste em dois componentes, o alongamento C-N e as vibrações de oscilação N-H. A vibração de torção N-H mais a vibração de alongamento C-N e a contribuição da vibração de flexão O=C-N correspondem à Amida III, que se situa a 1230 cm^{-1} [59]. O aparecimento de um “ombro” por volta de 1700 cm^{-1} no espectro, demonstra que foram criadas ligações éster durante o processo de tratamento. O espectro observado evidencia uma banda larga

por volta do comprimento de onda 3250 cm^{-1} , que é atribuído à vibração do alongamento do grupo O-H juntamente com a vibração do alongamento do grupo N-H [59]. A formação do éster nas amostras tratadas foi acompanhada por uma diminuição da intensidade na banda de absorção de OH, relativamente ao cabelo virgem. Uma possível explicação para isto ocorrer, é que a formação do éster é acompanhada pela formação de água na reação em que um grupo hidroxilo do glicerol está a reagir com um próton do ácido cítrico ou oxálico formando água [62].

De forma a corroborar os resultados entre si, e identificar a estrutura do produto formado após a reação de esterificação (2 minutos durante $170\text{ }^{\circ}\text{C}$), mimetizou-se a reação submetendo as formulações ao tempo e temperatura que a fibra foi submetida durante os tratamentos, e analisaram-se as formulações por espectrometria de massa com ionização por *electrospray*. Os resultados dos espetros das formulações testadas, são representativos do processo, e são apresentados nas Figuras 27, 28, 29 e 30. O espetro resultante da formulação ácido cítrico 2:1 glicerol (Figura 27) demonstra que houve a formação predominante de um dímero a 50 %, pelo aparecimento de um pico de 284 m/z , formação de um dímero de massa molecular de $266,21\text{ g/mol}$ tendo em conta que se formou também um ião amónio no decorrer da ionização.

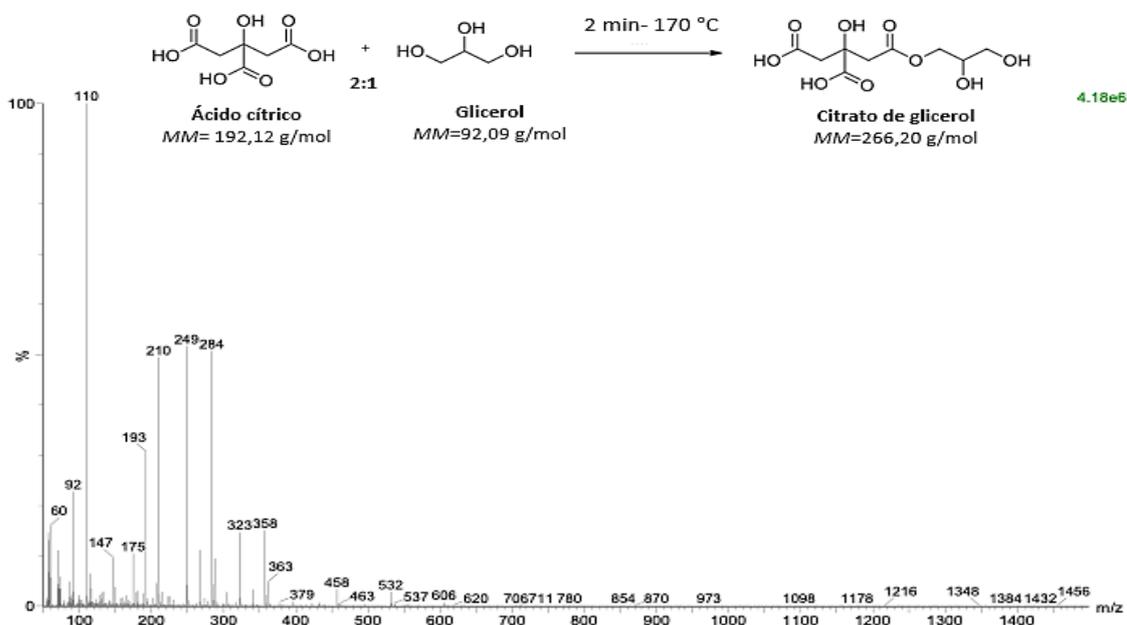


Figura 27- Espetro de massa da formulação eutética ácido cítrico 2:1 glicerol.

O espetro resultante da formulação ácido oxálico 1:2 glicerol (Figura 28) demonstra que houve a formação de um dímero a 100%, pelo aparecimento de um pico de $163,35\text{ m/z}$, formação de um dímero de massa molecular de $164,11\text{ g/mol}$.

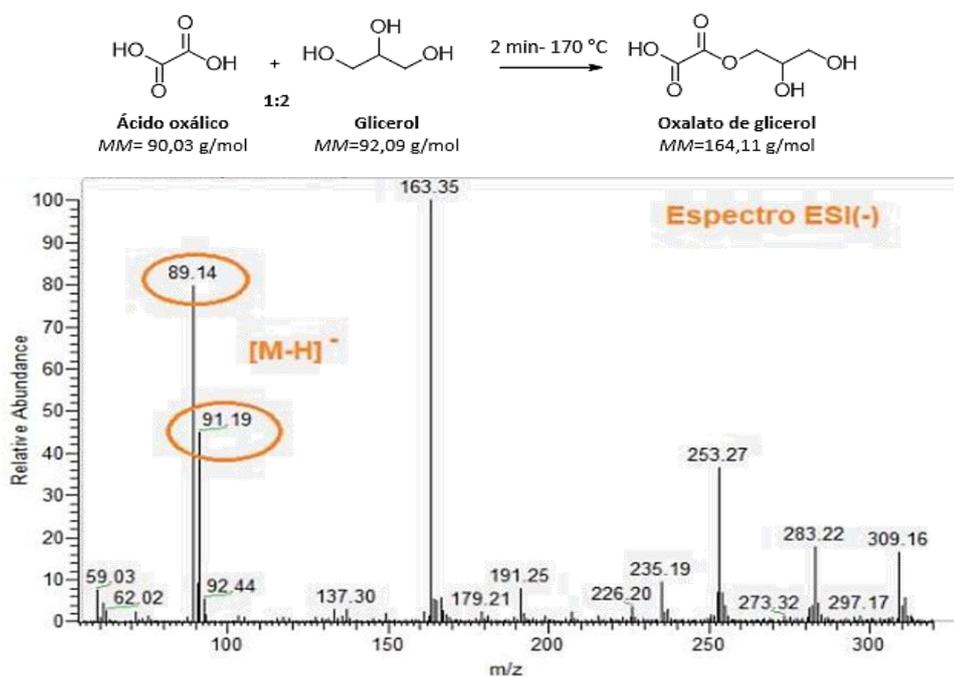


Figura 28- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 1:2 glicerol.

O espectro resultante da formulação ácido oxálico 1:1 glicerol (Figura 29) demonstra que houve a formação de um dímero a 90%, pelo aparecimento de um pico de 182 m/z, formação de um dímero de massa molecular de 164,11 g/mol tendo em conta que se formou um íon amônio no processo de ionização da amostra.

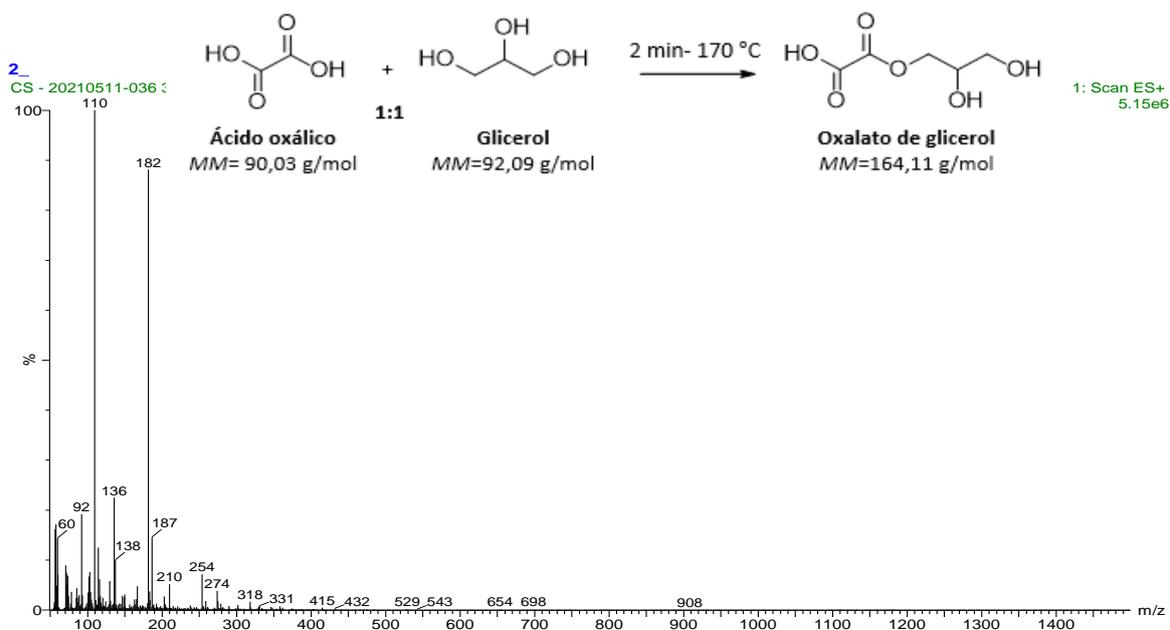


Figura 29- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 1:1 glicerol.

O espectro resultante da formulação ácido oxálico 2:1 glicerol (Figura 30) também demonstra que houve a formação de um dímero a 100%, pelo aparecimento de um pico de 182 m/z (massa molecular do dímero 164,11 g/mol com formação de íon amónio durante ionização).

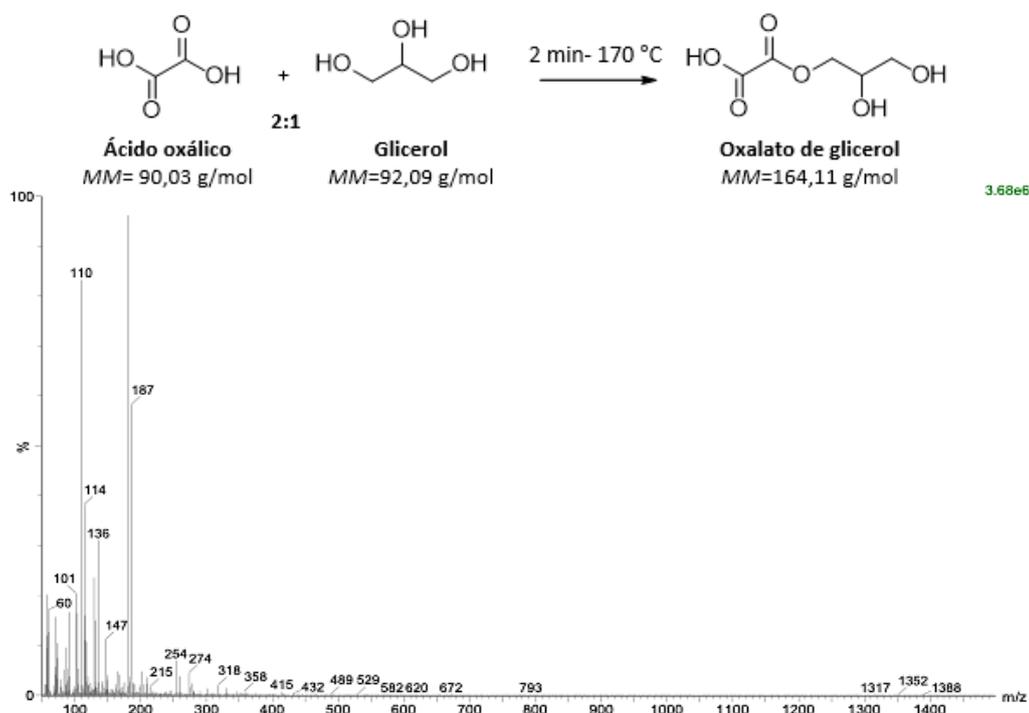


Figura 30- Espectro de massa da formulação eutética ácido oxálico 2:1 glicerol.

Assim, comprova-se que se formou um dímero na fibra do cabelo nas condições de aplicação referidas havendo, portanto, a formação de um grupo éster. Não se verificou a formação de polímero, o que significa que a reação de esterificação não teve tempo suficiente para ocorrer completamente. Na formulação composta com ácido oxálico: glicerol é mais predominante a formação de dímero, do que a composta por ácido cítrico: glicerol, uma vez que esta só exibe 50 % de formação dímero. Estes resultados corroboram com a eficiência de encaracolamento das amostras de cabelo tratadas, pois os referidos ensaios são os que perdem grande parte da forma quando são lavados. Ainda assim, esta reação foi suficiente uma vez que o cabelo mantém parte da forma que foi conferida durante o tratamento.

8.1.4 Propriedades térmicas das amostras de cabelo tratadas (DSC)

Dados de DSC do cabelo, têm sido usados para estudar a estabilidade térmica e as fases morfológicas do cabelo [63], e são cada vez mais usados para fundamentar alegações de produtos de reparo capilar, uma vez que uma diminuição das temperaturas máximas pode indicar mudanças e danos estruturais [60].

O comportamento das amostras que obtiveram melhores resultados com a aplicação das formulações a 170 °C durante 2 min, foi analisado por DSC, e está representado pelas curvas da Figura 31:

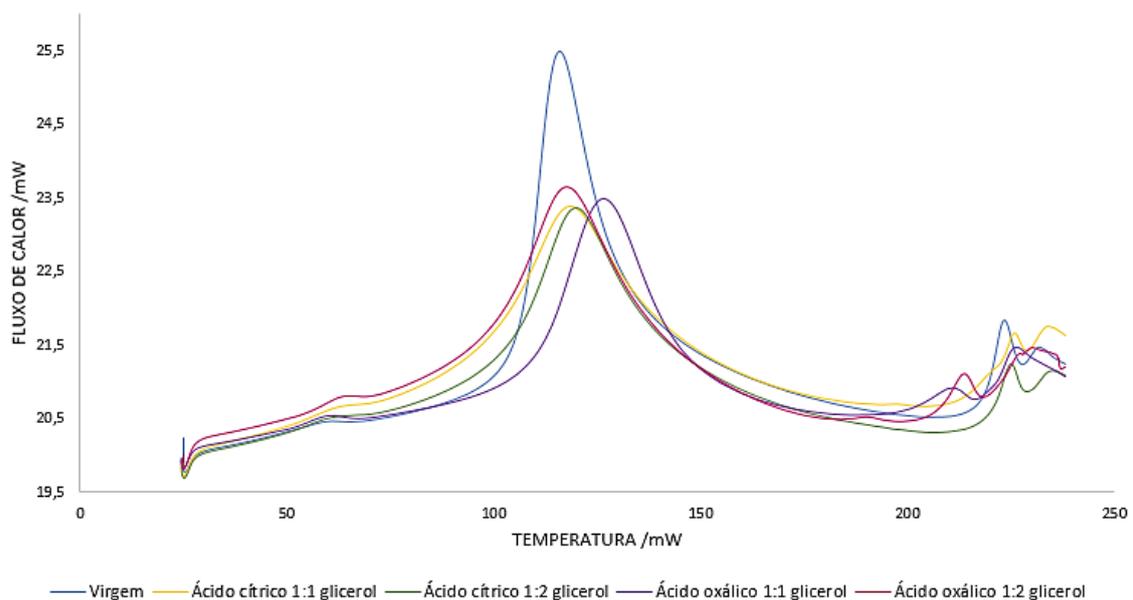


Figura 31- Curvas DSC de amostras de cabelo virgem e tratado com as formulações. Cada curva é representativa de três réplicas para cada condição.

Todas as curvas DSC indicam um pico endotérmico em torno dos 100°C - 120°C, que é referente à desorganização das células corticais da fibra do cabelo [63]. Denota-se que este pico é mais elevado no cabelo virgem do que nos cabelos tratados, o que poderá traduzir-se numa maior perda de hidratação neste caso, comparativamente às amostras que foram tratadas. A camada que se forma no cabelo, que advém da reação de esterificação, pode eventualmente reduzir a perda de água do cabelo. O pico que surge em torno dos 220°C, é referente à decomposição da queratina [60,64], sendo que é visível pouca diferença neste pico das amostras tratadas em relação ao cabelo virgem. O cabelo virgem apresenta um pico em torno dos 220°C,

as amostras tratadas com o ácido oxálico apresentam um pico ligeiramente abaixo, em torno dos 215°C, e as tratadas com ácido cítrico um pico ligeiramente mais elevado em torno dos 225°C. Estes valores da temperatura de decomposição da queratina não são significativos, o que leva a concluir que este tipo de tratamento não torna o cabelo mais suscetível à degradação [60,63].

Na Tabela 8, são apresentados os valores de entalpia dos picos de cada amostra tratada a altas temperaturas e, analisando os resultados, verificam-se menores entalpias de desnaturação da queratina (2º pico) nas amostras que sofreram tratamento, relativamente à amostra controlo. Assim, conclui-se que as formulações não conferem proteção aos cabelos contra os danos térmicos, uma vez que esta diminuição da entalpia implica que menos energia é necessária para induzir a degradação das fibras de queratina.

Tabela 8- Valores de entalpia e temperatura dos picos endotérmicos, das amostras de cabelo virgem e das amostras tratadas. Cada valor é representativo de 3 réplicas.

Amostra	1º pico endotérmico		2º pico endotérmico	
	Entalpia / J g ⁻¹	Temperatura / °C	Entalpia / J g ⁻¹	Temperatura / °C
Virgem	168,0901	115,98	5,1463	223,23
Ác. cítrico 1:1 glicerol	158,9095	118,53	2,5372	225,72
Ác. cítrico 1:2 glicerol	164,3858	119,77	3,6262	224,91
Ác. oxálico 1:1 glicerol	121,3407	126,69	3,4345	210,41
Ác. oxálico 1:2 glicerol	161,4611	117,60	3,5656	213,57

9. RESULTADOS DA APLICAÇÃO DAS FORMULAÇÕES NO CABELO ATRAVÉS DE REAÇÕES ENZIMÁTICAS

9.1 Aplicação das formulações através de reações de esterificação catalisadas pela lipase

A enzima lipase catalisa a síntese de ésteres, por isso foi utilizada no processo de reação entre um ácido carboxílico e um álcool de forma a catalisar a reação de esterificação e consequentemente conduzir a um possível aumento da eficiência de encaracolamento das amostras tratadas. Neste caso, a temperatura utilizada foi mais baixa relativamente aos testes de esterificação por condensação anteriormente apresentados, indo de acordo com a temperatura ótima da enzima em questão (50 °C). Esterificação é termodinamicamente uma reação reversível, sendo que na presença de água ocorre a reação inversa (hidrólise) causando a clivagem nas ligações éster da cadeia principal e formando-se novamente o ácido carboxílico e o álcool. Sendo que a própria reação de esterificação forma éster e água era essencial prevenir que a hidrólise ocorresse. Assim, foram testadas várias soluções de compostos que atuam na inibição da atividade da lipase (desnaturação) após a reação ocorrer. Foi essencial que o desenvolvimento destas formulações fosse sem a presença de água (formulações *waterless*) para, dessa forma, maximizar a estabilidade da formulação e preservar a atuação da enzima no processo.

9.1.1 Preparação das formulações sem água

Nesta etapa as misturas entre o ácido e o álcool, neste caso foi testado ácido cítrico e glicerol, foram realizados à temperatura ambiente, e posteriormente foi adicionada a lipase. Após adição de 10 mg de lipase por cada 1 g de formulação ácido cítrico: glicerol (previamente testada a melhor concentração da enzima, resultados não apresentados), as misturas foram sujeitas a uma temperatura de 50 °C, com diferentes tempos de incubação com o intuito de analisar a atividade da enzima assim como verificar se a formação do éster ocorria. A Tabela 9 resume a aparência visual das soluções ácido cítrico: glicerol na presença da lipase, e os seus respetivos controlos sem lipase:

Tabela 9- Aparência das formulações ácido cítrico: glicerol na presença da lipase com diferentes tempos de aquecimento, a 25°C

Conteúdo da mistura	Temperatura	Tempo	Aparência	Observações	
				Após aquecimento	Após 24h
Controlo: ácido cítrico 1:3 glicerol	50 °C	1:45h		Gel viscoso, translúcido	Gel viscoso, translúcido
F1: Ácido cítrico 1:3 glicerol + lipase	50 °C	1:45h		Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado	Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado
F2: Ácido cítrico 1:3 glicerol + lipase	50 °C	2:45h		Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado	Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado
F3: Ácido cítrico 1:3 glicerol + lipase	50 °C	30min		Gel viscoso, amarelado	Gel viscoso, amarelado

Do mesmo modo foram realizadas várias formulações com diferentes rácios entre o ácido dicarboxílico oxálico e o glicerol na presença da lipase. De forma a maximizar a reação, as soluções foram aquecidas a 50 °C, durante 10 e 30 minutos. A Tabela 10 resume a aparência e características das formulações na presença da lipase, e os seus respetivos controlos sem lipase.

Tabela 10- Aparência das formulações ácido oxálico: glicerol + lipase com diferentes tempos de aquecimento, a 25°C

Conteúdo da mistura	Temperatura	Tempo	Aparência	Observações	
				Após aquecimento	Após 24h
Controlo 1: ácido oxálico 1:1 glicerol	50 °C	30 min		Gel viscoso, translúcido	Gel viscoso, translúcido
Ácido oxálico 1:1 glicerol + lipase	50 °C	30 min		Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado	Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado
Controlo 2: Ácido oxálico 1:2 glicerol	50 °C	30 min		Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado	Gel viscoso com camada de espuma, esbranquiçado
Ácido oxálico 1:2 glicerol + lipase	50 °C	30 min		Gel viscoso, amarelado	Gel viscoso, amarelado
Controlo 3: ácido oxálico 1:1 glicerol	50 °C	10 min		Gel fluido, esbranquiçado	Gel fluido, esbranquiçado
Ácido oxálico 1:1 glicerol + lipase	50 °C	10 min		Gel fluido, esbranquiçado	Gel fluido, esbranquiçado
Controlo 4: Ácido oxálico 1:2 glicerol	50 °C	10 min		Gel fluido, translúcido	Gel fluido, translúcido
Ácido cítrico 1:2 glicerol + lipase	50 °C	10 min		Gel fluido, translúcido	Gel fluido, translúcido

9.1.2 Atividade da enzima lipase usando diferentes compostos

Testaram-se vários componentes de forma a desnaturar a enzima após o tratamento de reação, para desta forma não ocorrer hidrólise nos processos de lavagens a que o cabelo é submetido posteriormente.

Foi determinada a atividade da lipase na formulação, na ausência e na presença de três diferentes soluções: ureia (8 M), SDS (0,1 % e 1 %) e sulfato de amónio (0,5 mM). O valor inicial da atividade da enzima foi de 174,5933 U/mg. Na Tabela 11 é apresentada a composição das soluções dos compostos e a atividade relativa da enzima de acordo com o protocolo descrito nos Meterias e Métodos.

Tabela 11- Atividade relativa (%) da lipase na presença de diferentes compostos

Composto	Concentração	Atividade relativa /%
Nenhum	-	100%
Nenhum, apenas incorporada na mistura eutética ácido cítrico 1:3 glicerol	-	21%
SDS	0,1%	10%
SDS	1%	3%
Sulfato de amónio	0,5mM	0%
Ureia	8M	8%

Os compostos que se revelaram mais eficientes na inativação da enzima foram o SDS 1 % e sulfato de amónio 0,5 mM, verificando-se no final uma atividade relativa de 3 % e 0 %, respetivamente. A presença destes compostos inativa quase na totalidade a atividade da lipase. Esta etapa mostrou-se um passo crucial neste estudo sendo que será transposto nas mechas de cabelo pós tratamento. Estes compostos irão ser incorporados numa lavagem que se realizará após a reação da formulação nas mechas de cabelo.

9.1.3 Eficiência de encaracolamento após tratamento e lavagens (qualitativa e quantitativa)

A eficiência de encaracolamento foi calculada após tratamento (Figura 32) e após uma, duas e três lavagens consecutivas (Figura 33), com a aplicação da formulação ácido cítrico 1:3 glicerol na presença da lipase como catalisador da reação. Só se utilizou um rácio molar neste caso, uma vez que a formulação seria muito viscosa para a incorporação da lipase, caso se

utilizassem concentrações mais elevadas de ácido cítrico. Nestes ensaios fez-se variar o tempo de aquecimento das soluções (pré-tratamento), e o tempo e composição da solução usada após o tratamento, referida como o pós-tratamento para desnaturação da enzima (Figuras 32 e 33). No final, foram efetuadas as habituais lavagens com a solução de champô.

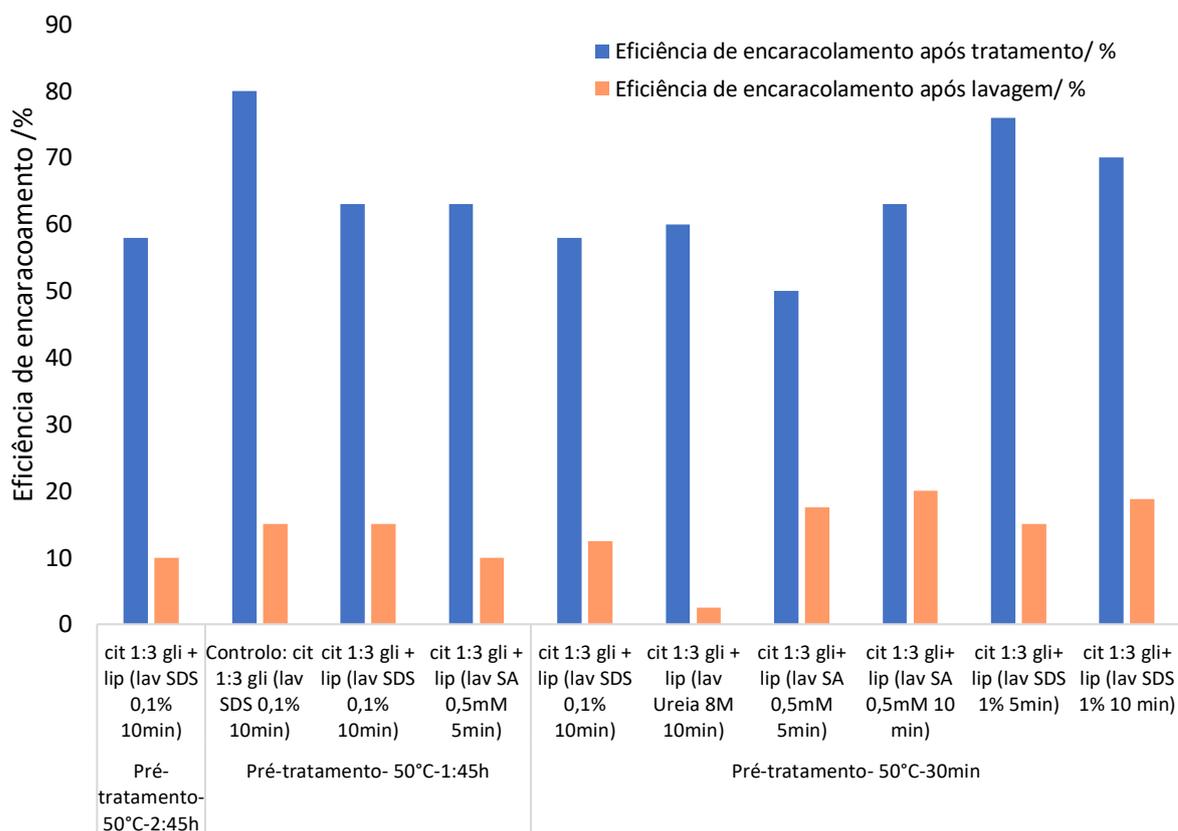


Figura 32- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após lavagem com solução de champô.

Através da análise quantitativa (Figura 32 e 33) e qualitativa (Figura 34) é possível verificar que os melhores obtidos são referentes às amostras de cabelo que foram tratadas com a formulação contendo o ácido cítrico: glicerol e lipase, a qual tendo sido sujeita a um pré-tratamento de 30 minutos à temperatura de 50 °C. Este pré-tratamento revelou-se essencial para a obtenção de melhores eficiências de encaracolamento. Um maior tempo neste passo, poderia resultar num início de reação da enzima, ainda no aquecimento da formulação, e não é isso que se pretende. Este pré-tratamento revelou-se essencial para a obtenção de melhores eficiências de encaracolamento. Um maior tempo neste passo, poderia resultar num início de reação da enzima, ainda no aquecimento da formulação, e não é isso que se pretende.

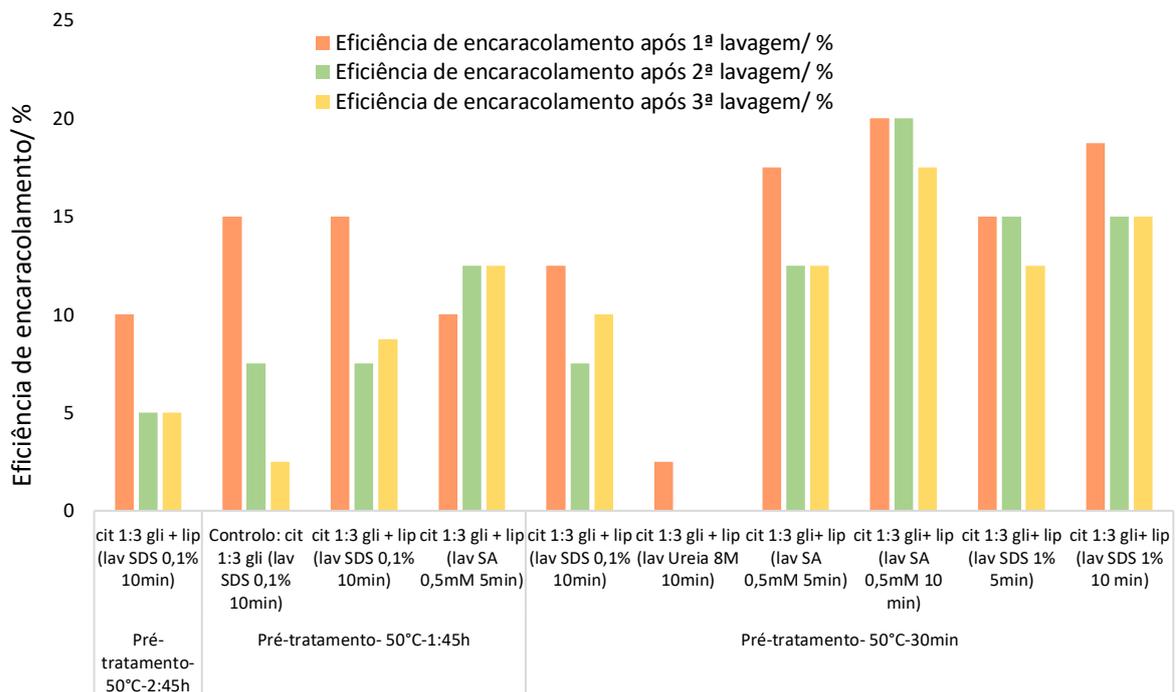


Figura 33- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.

Após este pré-tratamento da formulação, esta foi aplicada à mecha de cabelo atuando durante 15 minutos a 50 °C, seguindo-se a lavagem com as soluções, para desnaturar a enzima antes das lavagens comuns de champô. Relativamente a este fator, as amostras que foram submetidas a lavagens com as soluções de SDS 1% (5 min) e sulfato de sódio 0,5 mM (10min) mostraram-se melhores no que diz respeito à manutenção da forma do cabelo, uma vez que terminaram com uma eficiência de encaracolamento, após as 3 lavagens, na ordem de 12 % a 17,5 %. A amostra onde foi utilizada a solução de ureia, perdeu a sua forma após 2 lavagens, terminando o teste com 0 % de encaracolamento. Estes resultados nas mechas de cabelo corroboram com os resultados obtidos no cálculo da atividade da lipase medida previamente na presença de diferentes compostos (SDS, sulfato de amónio, ureia). Sendo que foram também estas duas soluções que se mostraram mais efetivas na inativação da enzima. Portanto, a utilização destas soluções é essencial no processo.

A Figura 34, apresenta em termos visuais, os controlos (sem lipase) e os melhores resultados obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase, após tratamento

e após as 3 lavagens realizadas. Visualmente, há diferenças entre os controlos (formulação sem lipase) e as amostras que foram tratadas na presença da lipase na formulação, o que significa que de facto a enzima catalisou a reação de esterificação durante os 15 minutos do tratamento. Também é notório que após as 3 lavagens, resistiram mais ondas quando a amostra esteve em contacto com a solução de detergente SDS 1%. As ondas da amostra com a lavagem com sulfato de amónio 0,5 mM são também mais largas, comparativamente à outra solução. No entanto, estes resultados são satisfatórios, onde se verifica a manutenção de parte da ondulação, mesmo após 3 lavagens. Os outros resultados, que não foram tão razoáveis, são apresentados no Anexo C.

A eficiência quantitativa de encaracolamento após tratamento e após uma lavagem, resultante da aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol na presença da lipase como catalisador, encontra-se apresentada graficamente na Figura 35. A eficiência de encaracolamento até três lavagens, com a aplicação desta formulação, é apresentada na Figura 36. Nestes ensaios, alteraram-se as variáveis tempo de pré-aquecimento da mistura, e tempo e constituição da lavagem após o tratamento.

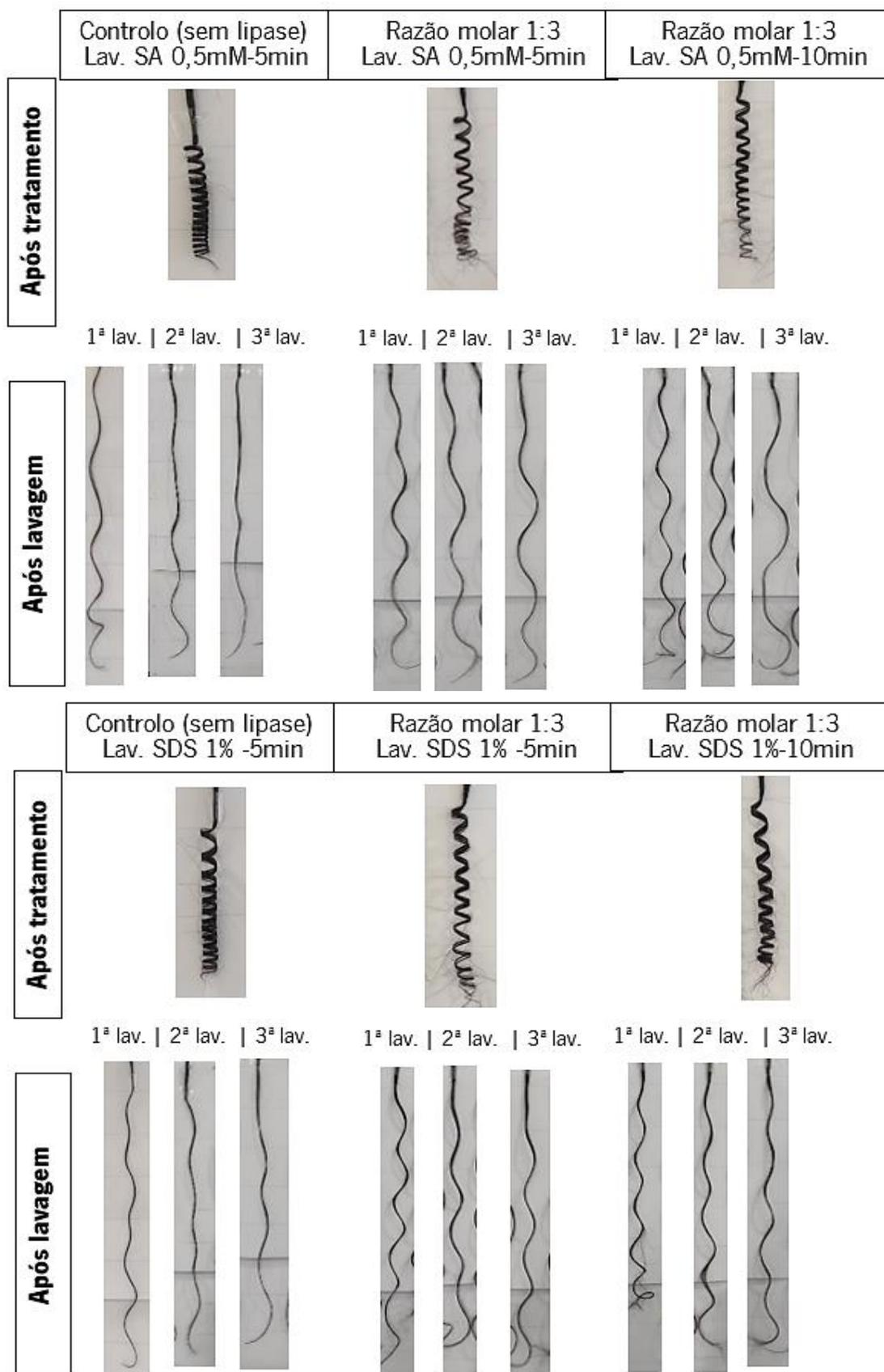


Figura 34 - Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido cítrico: glicerol + lipase (SA- Sulfato de amónio).

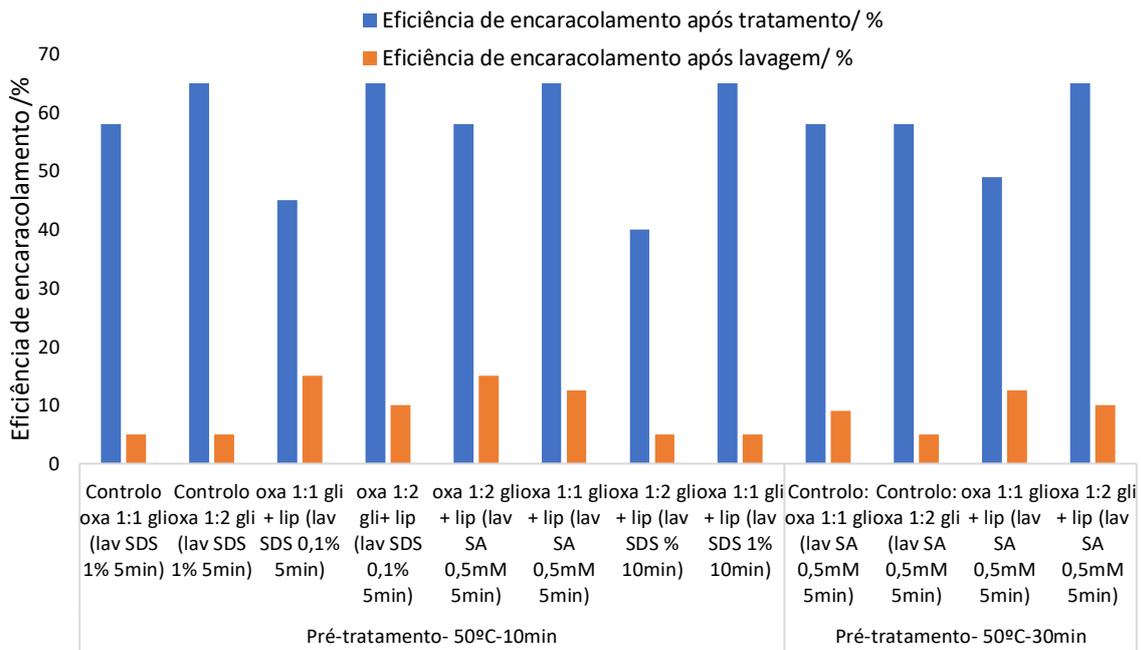


Figura 35- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura ácido cítrico: glicerol, após tratamento e após lavagem com solução de champô.

Por observação das Figuras 35 e 36, denota-se desde logo uma diferença em todas as amostras que foram tratadas com misturas contendo lipase, relativamente ao controlo (sem

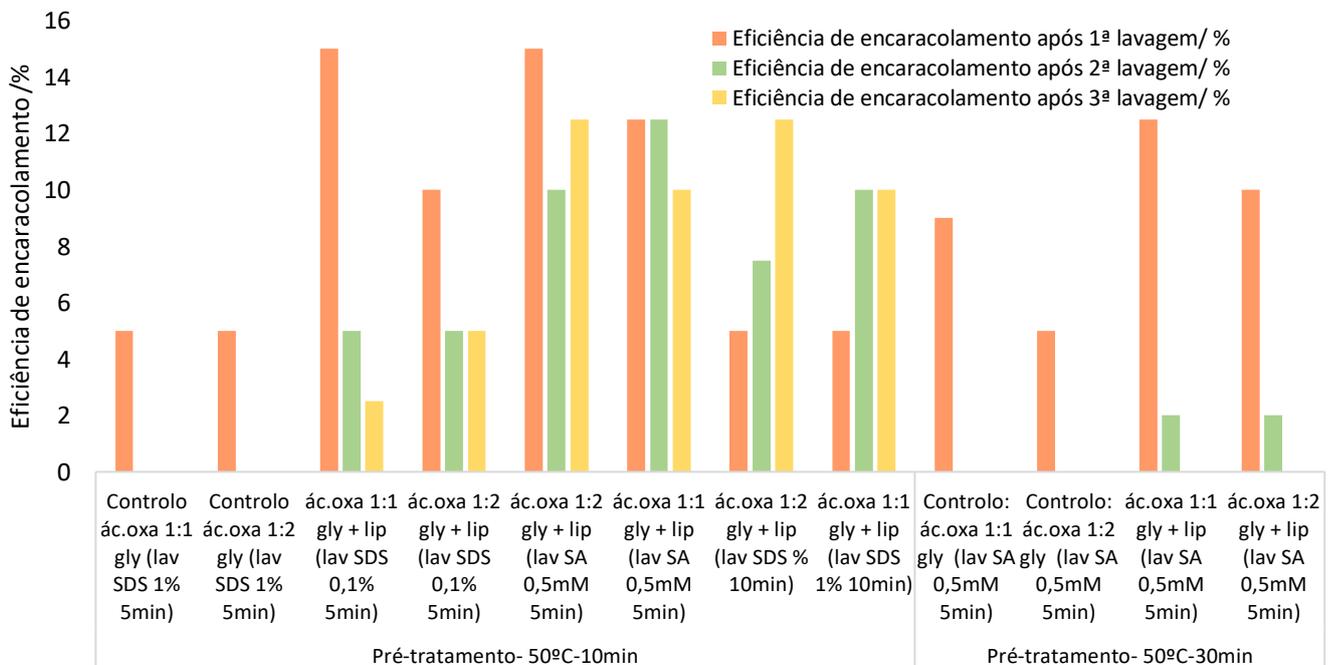


Figura 36- Comparação da eficiência de encaracolamento de todos os protocolos realizados com a mistura eutética ácido oxálico: glicerol+ lipase, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.

lipase). Todos os controlos têm uma eficiência de encaracolamento de 0% após a 2ª lavagem, contrariamente aos restantes ensaios que mantêm ondulação. Relativamente ao tempo de pré-tratamento, é possível verificar que 30 minutos se tornou um tempo excessivo, resultando em eficiências baixas de encaracolamento após duas lavagens. Durante este tempo em que a mistura permaneceu em aquecimento, a lipase pode ter catalisado a reação de esterificação, iniciando-se esta ainda nesta etapa. Assim, a reação não teve capacidade de ocorrer diretamente no cabelo, como o esperado, de maneira a manter a forma pela formação do éster. O ideal é manter a mistura a 50°C durante 10 minutos como pré-tratamento. Relativamente ao uso de diferentes componentes inibidores, ambas as razões molares da mistura com lipase testadas, mostraram-se eficazes na inativação da enzima com o uso de solução de lavagem SDS 1 % durante 10 minutos, e com a solução de sulfato de amónio 0,5mM durante 5 minutos. A gama de eficiência de encaracolamento, após três lavagens é de 10 % a 12,5 % nestes ensaios. Assim, verifica-se que de facto estas soluções são as mais eficazes na inativação da enzima, tal como aconteceu nos ensaios com as formulações compostas por ácido cítrico e glicerol, e como se comprovou com a medição da atividade. O seu uso neste processo possibilita resultados mais satisfatórios de manutenção do formato do cabelo após o tratamento.

A Figura 37 apresenta imagens visuais, os controlos (sem lipase) e os melhores resultados obtidos com a aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol + lipase, após tratamento e após as 3 lavagens realizadas. Neste caso, não é tão evidente a diferença da lipase na formulação, nos resultados após lavagem. Mesmo assim, é visível que após a 3ª lavagem, os controlos retiveram menos ondulação comparativamente às restantes. A ondulação mais harmoniosa ocorreu nas amostras que foram lavadas com a solução de sulfato de amónio 0,5 mM, dando origem a um cabelo ondulado esteticamente bonito. Os outros resultados obtidos com esta formulação na presença da lipase, que não se verificaram tão satisfatórios, podem ser consultados no Anexo D.

De forma a testar também o efeito do pH das formulações com lipase, e atingir um pH mais favorável para a enzima atuar, utilizaram-se os sais de sódio do ácido cítrico (citrato de sódio) e do ácido oxálico (oxalato de sódio) de forma que a formulação final tivesse um valor próximo do pH ótimo da lipase. Assim as formulações finais possuíam um pH igual a 8.

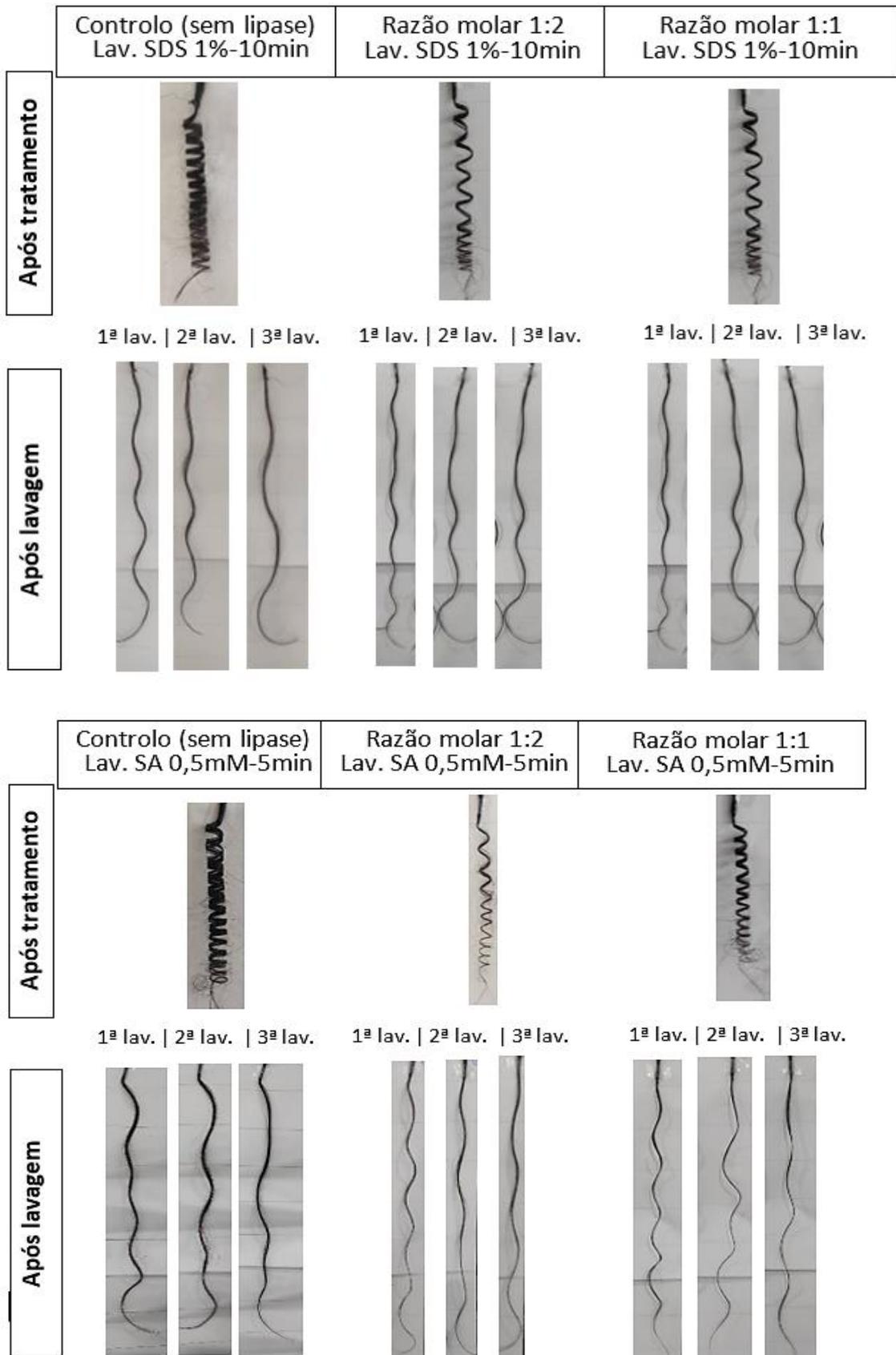


Figura 37- Resultados visuais dos melhores resultados com a formulação ácido oxálico: glicerol + lipase (SA- Sulfato de amónio).

A Figura 38 mostra a compilação de resultados da eficiência de encaracolamento do cabelo com a aplicação das diferentes formulações (diferente pH) e seus respectivos controlos sem lipase, após tratamento e após lavagem. A Figura 39 apresenta a eficiência de encaracolamento após as três lavagens consecutivas. De referir que todos os ensaios foram realizados nas mesmas

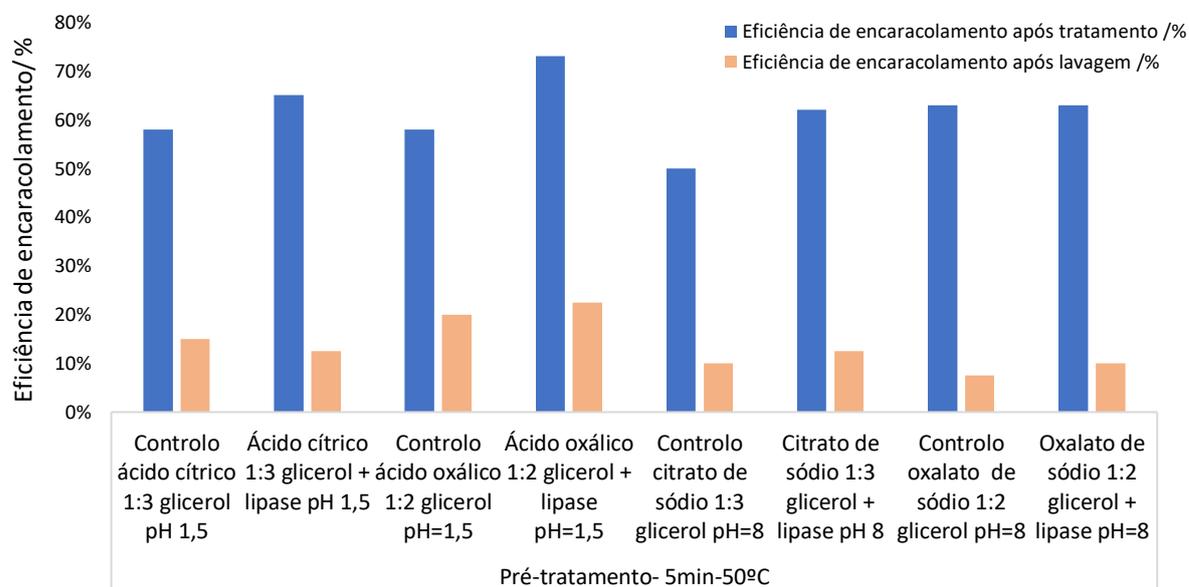


Figura 38- Comparação da eficiência de encaracolamento de ensaios realizados com a formulação a diferente pH, após tratamento e após lavagem com solução de champô.

condições, inclusive as formulações tinham todas o mesmo tempo de pré-tratamento (5 minutos a 50 °C) e a etapa da lavagem com a solução para inativação da enzima foi realizada durante 10 minutos com a solução SDS 1 %. É visível, através do gráfico, que um acerto das diferentes formulações até pH=8 não confere melhorias significativas nos resultados, relativamente às formulações a pH ácido. O citrato de sódio 1:3 glicerol é o único que mantém igual eficiência de encaracolamento após a 3ª lavagem, comparativamente ao ácido oxálico 1:3 glicerol a pH igual a 1,5. As restantes formulações a pH igual a 8, diminuem a eficiência de encaracolamento quando comparadas às que possuem pH ácido. Uma possível explicação para estes resultados, pode ter sido o facto de as formulações com pH acertado terem sido liofilizadas com o intuito de reduzir ao máximo a presença de água no sistema antes de ser adicionada a lipase (ao contrário das que foram aplicadas a pH ácido), resultando em formulações muito pouco fluidas. No entanto, este passo implica que a formulação seja significativamente mais viscosa o que pode ter dificultado

movilidade da enzima, ficando mais aprisionada, e reduzindo desta forma o seu poder de atuar no meio envolvente.

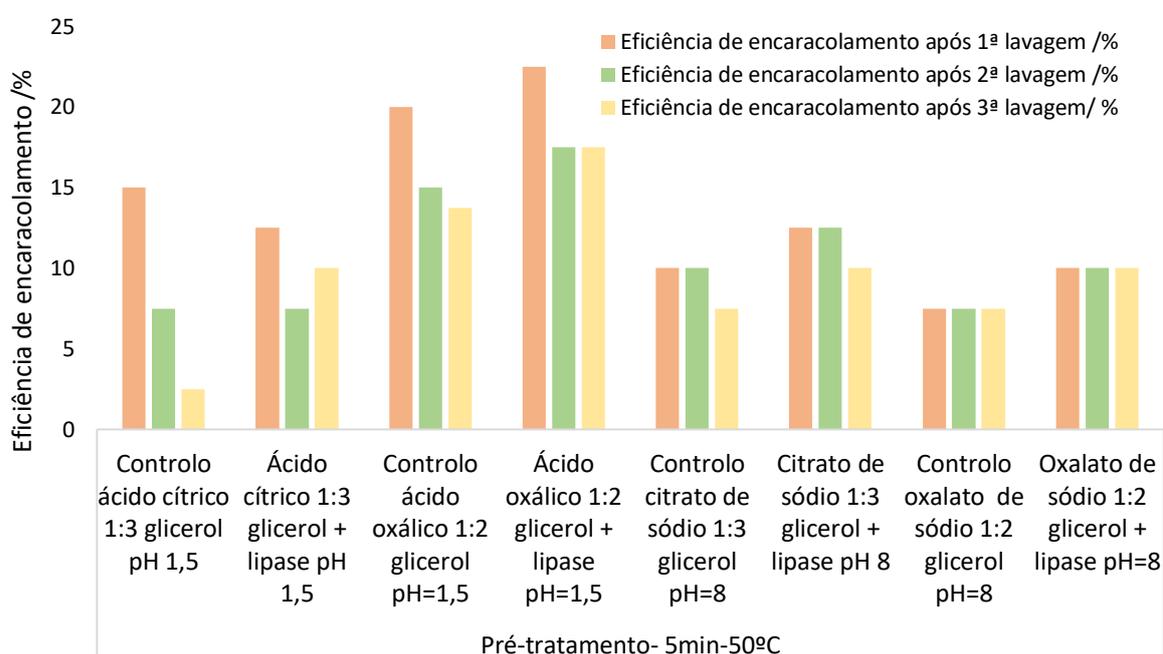


Figura 39- Comparação da eficiência de encaracolamento de ensaios realizados com a formulação a diferente pH, após uma, duas e três lavagens com solução de champô.

Os resultados visuais destes resultados comparativos, são apresentados nas Figuras 40 e 41. A Figura 40 mostra a comparação entre as formulações ácido cítrico 1:3 glicerol, com pH ácido e básico (1,5 e 8), e os seus respetivos controlos sem lipase. Visualmente, os resultados corroboram com os resultados da eficiência de ondulação. As amostras sem lipase, no caso do ácido cítrico e citrato de sódio possuem uma ondulação menos definida em comparação com os que têm lipase e a formulação a pH igual a 1,5 é esteticamente melhor e com mais ondulação do que a formulação a pH igual a 8.

A Figura 38 expõe a comparação entre as formulações ácido oxálico 1:2 glicerol, com pH ácido e básico (1,5 e 8), e os seus respetivos controlos sem lipase. Do mesmo modo, as amostras tratadas sem lipase (controlos) perdem mais facilmente parte da sua ondulação após a 3ª lavagem, e as que foram tratadas com lipase mantêm. Neste caso do ácido oxálico, não são visíveis diferenças significativas entre as amostras tratadas com e sem acerto de pH, o que leva a crer que não há vantagem em modificar o pH das formulações.

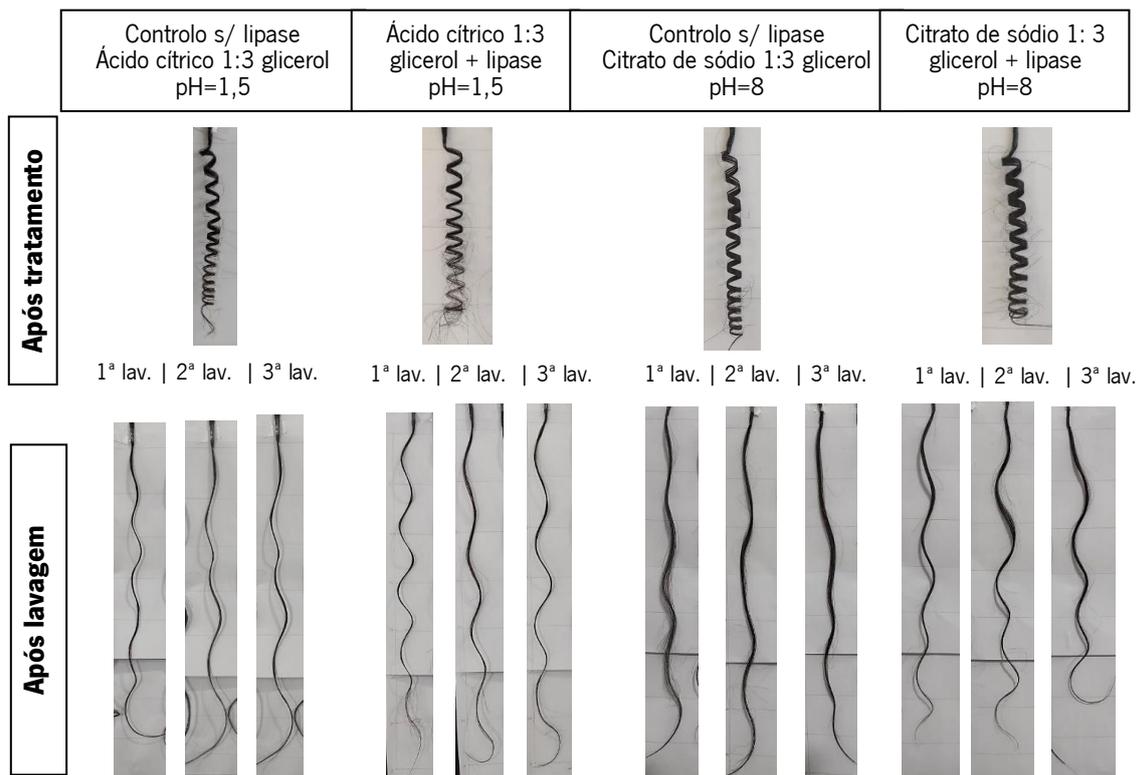


Figura 40- Comparação dos resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase a pH ácido e básico.

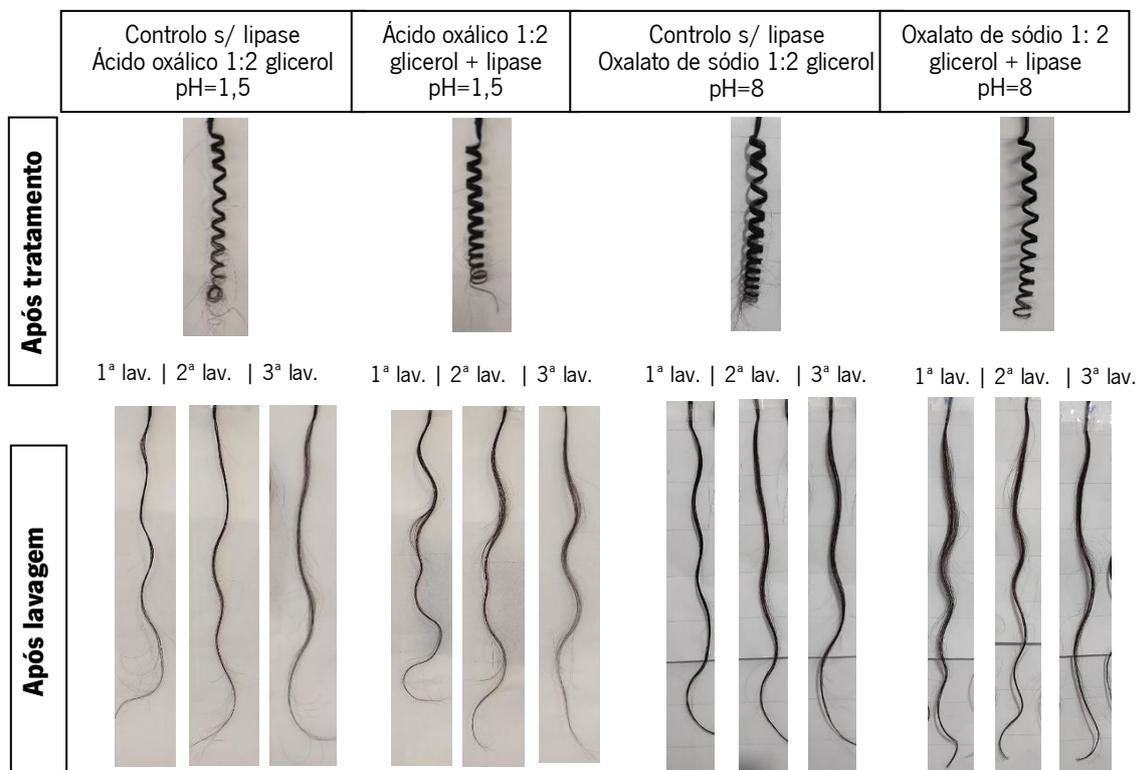


Figura 41- Comparação dos resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol + lipase a pH ácido e básico.

De um modo em geral, os ensaios experimentais onde foram aplicadas a baixas temperaturas as formulações na presença da lipase, é possível constatar que se otimizou o pH e temperatura ótima da enzima num sistema em que a presença de água foi altamente reduzida, mas que, no entanto, os resultados obtidos não foram os esperados. Isto é, no caso da formulação composta por ácido cítrico e glicerol, o ideal é que o tempo de pré-tratamento (tempo em que a formulação fica em aquecimento, a 50 °C) seja de 30 min. Já na formulação composta por ácido oxálico e glicerol, a mistura deve ter um pré-tratamento de até 10 min. Este tempo é utilizado apenas para dissolver os dois compostos com a lipase, de forma que, quando ela é aplicada no cabelo, seja uma formulação homogénea. Tempos maiores nesta etapa, induzem a atividade da lipase que catalisa a reação de esterificação, facto que não se pretende que aconteça nesta etapa, mas sim que aconteça diretamente no cabelo durante os 15 min a 50 °C que a formulação está em contacto com o mesmo.

Relativamente à inativação da lipase após o processo de encaracolamento, as soluções de SDS 1% e de sulfato de amónio 0,5 mM mostraram ser as mais eficazes para o efeito, tanto na medição da atividade da lipase (previamente realizada aos ensaios no cabelo), como na eficiência de encaracolamento final das amostras, que haviam sido mantidas em contacto com essas soluções. Não há uma diferença significativa nos resultados, no que diz respeito ao tempo de atuação destas soluções, no entanto, para assegurar que há impedimento da atividade da enzima, a amostra de cabelo deve ser mantida em contacto com a solução, durante 10 min.

Os resultados mais favoráveis com este método, foram a formulação de ácido cítrico 1:3 glicerol com pré-tratamento de 30 min a 50 °C, com inativação da enzima pela solução de sulfato de amónio 0,5 mM durante 10 min; a formulação ácido oxálico 1:2 glicerol com pré-tratamento de 10 min a 50 °C, com inativação da enzima pela solução de SDS 1 % durante 10 min; a formulação ácida oxálico 1:2 glicerol com pré-tratamento de 10 min a 50 °C, com inativação da enzima pela solução de sulfato de amónio 0,5 mM durante 5 min. Obtiveram-se eficiências de encaracolamento, após três lavagens, de 17,5 % para a primeira e 13 % para as duas últimas.

Não se verificou, de facto, que uma alteração do pH das formulações, favoreça a atividade da lipase, induzindo a reação de esterificação no cabelo. Uma explicação para não ter ocorrido uma melhoria deste fator, pode ter sido o facto de a formulação ser demasiado viscosa. Este aumento de viscosidade deve-se ao citrato e oxalato de sódio que são adicionados ao glicerol, que são componentes que dão origem a uma solução mais viscosa do que a solução formada com

ácido cítrico e ácido oxálico. A elevada viscosidade dificultou a mobilidade da enzima, impedindo-a de atuar, portanto, se por um lado se tentou adaptar o pH da formulação para ser mais favorável à enzima, de forma a maximizar a eficiência do protocolo, prejudicou-se a sua mobilidade pelo aumento da viscosidade.

Este era um objetivo ambicioso, desenvolver um processo rápido e a baixas temperaturas, de forma a haver a possibilidade de ser utilizado na prática. Comparativamente aos ensaios realizados a altas temperaturas, este processo mostrou-se menos eficaz, sendo que o efeito da ondulação é perdido mais facilmente nas lavagens consecutivas.

9.1.4 Caracterização físico-química das amostras de cabelo tratadas (Teste de fadiga, FTIR-ATR)

Algumas amostras tratadas, exemplificativas do tratamento, assim como uma amostra não tratada (cabelo virgem) foram caracterizadas física e quimicamente. Para tal, realizaram-se testes de fadiga e FTIR-ATR, de modo a avaliar o efeito que a aplicação das formulações tiveram na fibra do cabelo e se seria um processo viável a ser utilizado na prática.

Relativamente à resistência ao desgaste, indicador primário da integridade do cabelo, foram realizadas duas réplicas para cada amostra testada. A comparação das amostras tratadas, com o cabelo virgem (sem tratamento) e com o cabelo branqueado (elevada perda de resistência mecânica) permite entender se houve perda da resistência ao desgaste quando o processo em questão foi aplicado.

Na Figura 42, estão representados estes resultados para as amostras tratadas com as formulações, para o cabelo virgem e para o cabelo branqueado. Estatisticamente, todas as amostras tratadas partilham a letra A com o controlo, o que significa que a resistência ao desgaste não foi afetada significativamente com este tratamento dado ao cabelo. O controlo do citrato de sódio: glicerol e o citrato de sódio: glicerol + lipase partilham a letra A, e o controlo do oxalato de sódio: glicerol e o oxalato de sódio: glicerol + lipase partilham também a letra B, por isso são significativamente idênticos. Nenhuma amostra que foi submetida a tratamento possui a letra D. Assim, pode-se concluir que a adição da lipase ao tratamento, não implica um aumento da taxa de degradação, que poderia resultar em danos na camada superficial da cutícula.

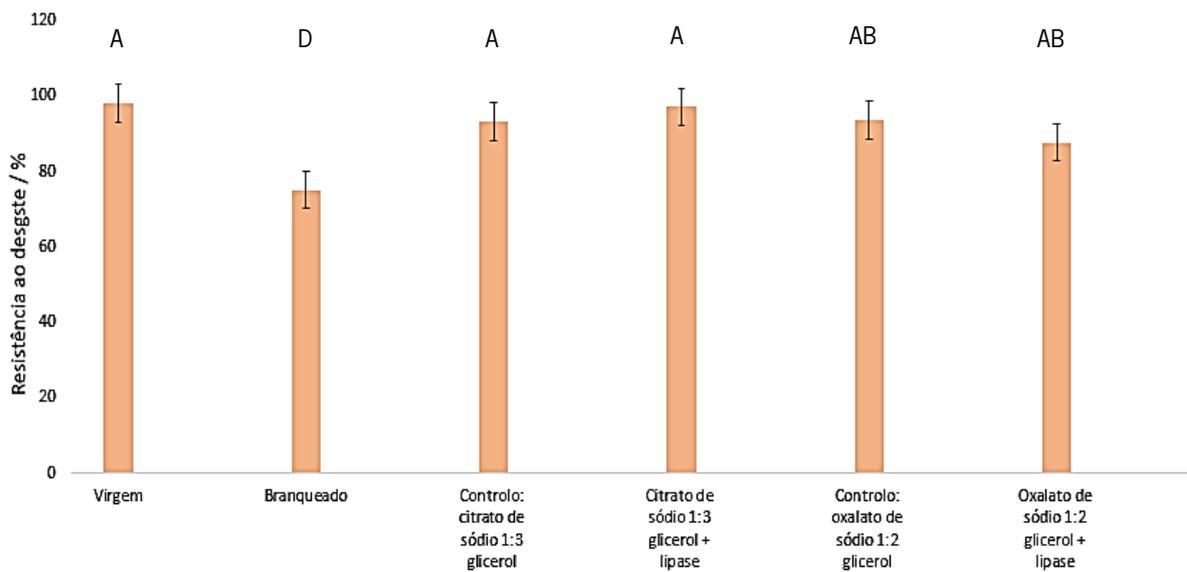


Figura 42- Efeito do tratamento com as formulações na resistência mecânica da fibra do cabelo. Informações de agrupamento usando o método de *Tukey* e 95% de confiança, o que significa que médias que não compartilham uma letra são significativamente diferentes.

A análise FTIR- ATR permite a observação de danos alterações na estrutura química da superfície da fibra capilar, sendo que na Figura 43 estão compilados os espectros de diferentes amostras tratadas.

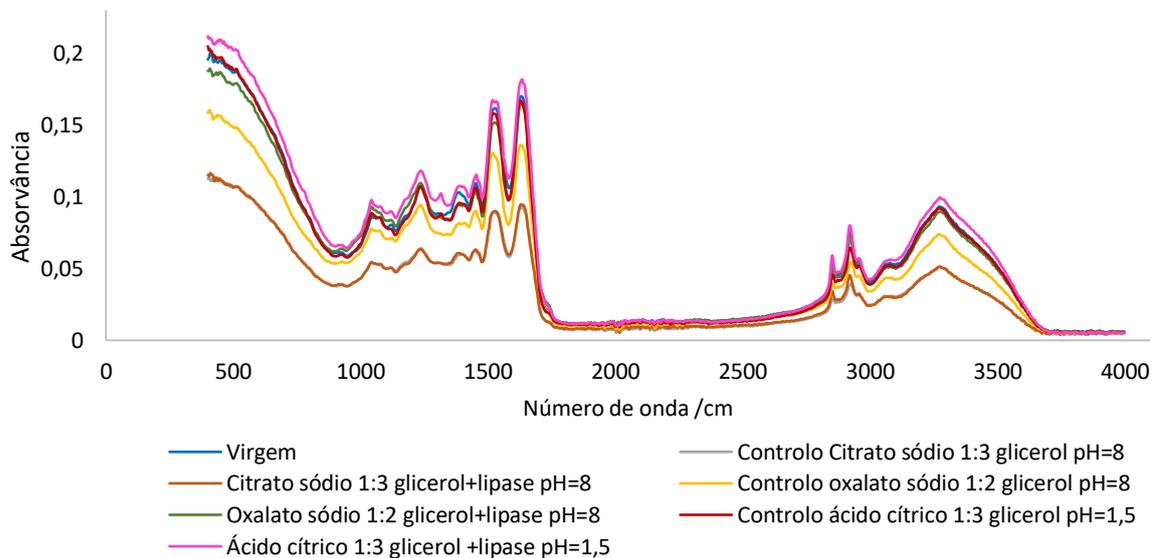


Figura 43- Espectro FTIR-ATR da fibra do cabelo, tratada e não tratada com diferentes formulações.

Por observação do espectro, todas as amostras apresentam os típicos picos da Amida I, II e III. O pico da Amida I, situa-se em torno de 1640 cm^{-1} , o pico da Amida II situa-se em torno de 1525 cm^{-1} , e o pico da Amida III está em torno de 1230 cm^{-1} . Estes três picos correspondem à vibração do alongamento C=O e uma pequena contribuição da vibração N-H (Amida I), ao alongamento C-N e as vibrações de oscilação N-H (Amida II), e à vibração de torção N-H mais a vibração de alongamento C-N e a contribuição da vibração de flexão O=C-N (Amida III) [59]. O aparecimento de um “ombro” muito ténue por volta de 1700 cm^{-1} no espectro, demonstra uma quantidade baixa de ligações éster criadas durante o processo de tratamento. Este ombro é menos evidente que no tratamento a altas temperaturas (170 °C), o que significa que a reação de esterificação por catálise enzimática (50 °C) não é tão eficiente como a reação de esterificação por condensação. O espectro observado evidencia uma banda larga por volta de 3250 cm^{-1} , que é atribuído à vibração do alongamento do grupo O-H juntamente com a vibração do alongamento do grupo N-H [59].

9.1.5 Propriedades térmicas das amostras de cabelo tratadas (DSC)

O comportamento das amostras tratadas nesta etapa analisadas por DSC, representado pelas curvas da Figura 44, permite estudar a estabilidade térmica do cabelo.

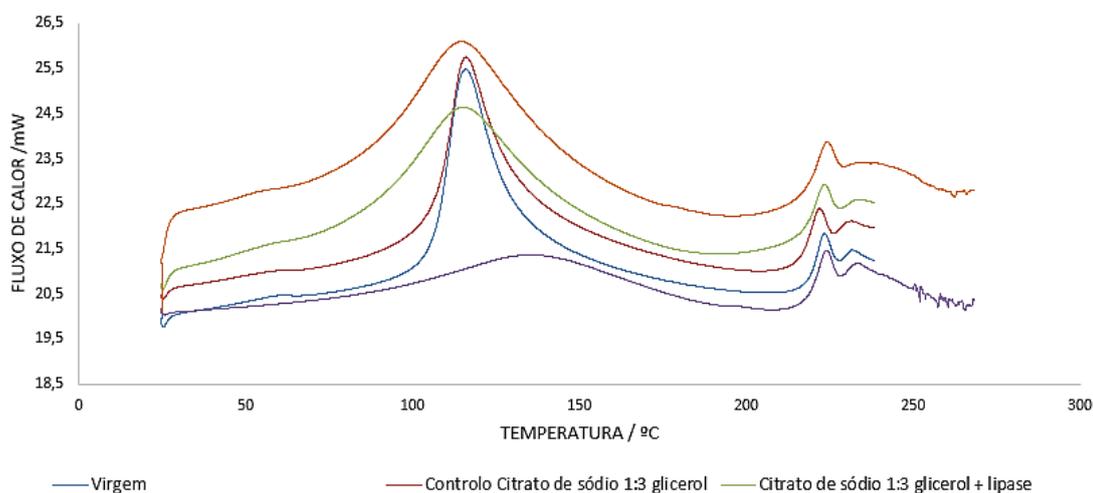


Figura 44- Curvas DSC do cabelo virgem e das amostras de cabelo tratadas. Cada curva é representativa de três replicas para cada condição.

Todas as curvas DSC indicam um pico endotérmico em torno dos 100 °C a 120 °C , que diz respeito à evaporação da água que compõe a amostra de cabelo [63]. O pico da amostra

tratada com o controlo oxalato de sódio 1:2 glicerol, não é tão acentuado como os restantes. Não há evidência concreta que possa estar relacionado com maior perda de hidratação, no entanto a aplicação desta formulação pode eventualmente interferir nesse fator. O pico que surge em torno dos 220°C, é referente à decomposição da queratina e desordem da α -hélice [60,64], sendo que é visível pouca diferença neste pico das amostras tratadas em relação ao cabelo virgem. Tanto o cabelo virgem, como as amostras tratadas apresentam um pico em torno dos 220°C. As curvas são muito idênticas, sendo que estes valores da temperatura de decomposição levam a concluir que este tipo de tratamento não torna o cabelo mais suscetível à degradação, comparativamente ao cabelo sem qualquer tratamento [60,63].

Na Tabela 12, são apresentados os valores de entalpia dos picos de cada amostra tratada a altas temperaturas e, analisando os resultados, verificam-se entalpias de desnaturação da queratina muito idênticas nas amostras que sofreram tratamento, relativamente à amostra controlo. Assim, conclui-se que as formulações não conferem proteção aos cabelos contra os danos térmicos, no entanto também não prejudicam uma vez que os valores da entalpia se encontram todos dentro da mesma gama. Isto significa que é necessária a mesma gama de energia para induzir a degradação das fibras de queratina.

Tabela 12- Valores de entalpia e temperatura dos picos endotérmicos, das amostras de cabelo virgem e das amostras tratadas. Cada valor é representativo de 3 réplicas

Amostra	1º pico endotérmico		2º pico endotérmico	
	Entalpia / J g ⁻¹	Temperatura / °C	Entalpia / J g ⁻¹	Temperatura / °C
Virgem	168,0901	115,98	5,7463	223,23
Controlo Citrato de sódio 1:3 glicerol	121,5638	115,99	5,7212	221,8
Citrato de sódio 1:3 glicerol + lipase	189,2585	115,35	5,7043	223,22
Controlo oxalato de sódio 1:2 glicerol	110,6124	135,9	4,3299	223,82
Oxalato de sódio 1:2 glicerol + lipase	222,0887	115	6,2659	224,04

IV. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

O principal objetivo da presente dissertação era desenvolver novas formulações para modificar a forma do cabelo, através de reações de esterificação *in situ*, ou seja, diretamente na fibra do cabelo. Assim, foram desenvolvidas metodologias para aplicação de formulações compostas por um triácido e um diácido (ácido cítrico e ácido oxálico) e um álcool (glicerol) na superfície da fibra capilar. Estes compostos são baratos, e têm efeitos secundários reduzidos, tanto no consumidor como no meio ambiente. No geral, ocorreu uma modificação da forma do cabelo, após tratamento demonstrando resistência até à terceira lavagem. A alteração da forma do cabelo verificou-se quantitativa e qualitativamente através da medição e análise de variações em termos de comprimento e formato das ondas, relativamente ao estado inicial.

Numa primeira fase, foram aplicadas formulações a elevadas temperaturas, testando-se diferentes protocolos e diferentes rácios molares de ácido e álcool. As formulações eutéticas eram constituídas por ácido cítrico e glicerol em diferentes rácios molares (1:2, 1:1, 2:1), assim como por ácido oxálico e glicerol nos mesmos rácios molares. Verificou-se que a reação de esterificação que ocorre no cabelo é fortemente favorecida pela aplicação da formulação a altas temperaturas durante 2 min, salientando que os melhores resultados foram obtidos pela aplicação da formulação a 170 °C. Relativamente às formulações com ácido cítrico, a que resultou melhor foi o rácio molar ácido cítrico 1:1 glicerol, obtendo-se a eficiência de encaracolamento de 20 % após três lavagens consecutivas. No caso das formulações eutéticas compostas por ácido oxálico, o melhor resultado adveio da aplicação do rácio molar ácido oxálico 1:2 glicerol, obtendo-se 31% de encaracolamento no final das três lavagens. Assim, pode-se concluir que os ésteres formados na superfície do cabelo reagiram de alguma forma com os grupos funcionais da queratina, permitindo alguma manutenção da forma encaracolada do cabelo. Esta formação dos ésteres durante o tratamento foi posteriormente verificada também pela análise FTIR-ATR às amostras tratadas, onde se verificou também conformidade entre os picos típicos da queratina, e por ESI-MS pelo aparecimento de dímeros nos espetros das formulações. A integridade estrutural da fibra do cabelo foi mantida, como se comprovou por MEV e pelo teste da fadiga. O filme que se formou na superfície da fibra do cabelo tratado conferiu maior resistência ao desgaste, comparativamente à amostra de cabelo virgem, por isso a aplicação das formulações não compromete as propriedades mecânicas da fibra do cabelo. Através das imagens morfológicas obtidas por MEV verificou-se que não ocorreram danos na cutícula e a fibra manteve uma camada exterior ordenada, após aplicação

do tratamento. No que diz respeito às propriedades térmicas do cabelo tratado, comprovou-se através das curvas obtidas com DSC, que não foram alteradas significativamente quando comparadas com a fibra de cabelo sem qualquer tipo de tratamento (virgem).

Numa segunda fase, testou-se um processo a temperatura baixas, onde foram aplicadas formulações na presença da enzima lipase como catalisador da reação: reação de esterificação por reação enzimática. As formulações continham os mesmos componentes, mas foram submetidas a menos tempo de aquecimento como pré-tratamento. Este, deve ser o menor possível e o suficiente para que ocorra a dissolução dos componentes (30 minutos na formulação ácido cítrico: glicerol, e 10 minutos no ácido oxálico: glicerol), de forma que a lipase não contribua para o início da reação nesta etapa. Após a aplicação do protocolo, utilizaram-se soluções para inativar a enzima e impedir a hidrólise, onde as mais eficazes se mostraram ser a solução SDS 1 %, e a solução sulfato de amónio 0,5 mM. Os melhores resultados com este método, foram a formulação de ácido cítrico 1:3 glicerol, com inativação da enzima pela solução de sulfato de amónio 0,5 mM durante 10 min; a formulação ácido oxálico 1:2 glicerol, com inativação da enzima pela solução de SDS 1% durante 10 min; a formulação ácido oxálico 1:2 glicerol, com inativação da enzima pela solução de sulfato de amónio 0,5 mM durante 5 min. Obtiveram-se eficiências de encaracolamento, após três lavagens, de 17,5 % para a primeira e 13% para as duas últimas. Não se verificou que uma alteração do pH das formulações, favorece a atividade da lipase. Eventualmente, a elevada viscosidade dificultou a mobilidade da enzima, impedindo-a de atuar, portanto, se por um lado se tentou adaptar o pH da formulação para ser mais favorável à enzima, de forma a maximizar a eficiência do protocolo, prejudicou-se a sua mobilidade pelo aumento da viscosidade. Comparativamente aos ensaios realizados a altas temperaturas, a metodologia na presença da lipase e a baixas temperaturas mostrou-se menos eficaz, sendo que a ondulação é perdida mais facilmente conforme as lavagens. No que diz respeito à caracterização físico-química, verificou-se que a resistência ao desgaste não foi comprometida significativamente com o processo, através do teste de fadiga realizado às amostras. Pela análise FTIR-ATR, comprovou-se que a formação das ligações éster foi quantitativamente menor do que nos ensaios realizados a altas temperaturas (170 °C), corroborando com os resultados em termos de eficiência de encaracolamento. Através da análise das curvas de DSC, concluiu-se que as formulações não conferem proteção aos cabelos contra os danos térmicos, no entanto também não prejudicam, sendo que não tornam o cabelo mais suscetível à degradação térmica.

O desenvolvimento de formulações nesta área é altamente desejado pelas pessoas em geral, como também pelos profissionais, uma vez que os cosméticos utilizados atualmente para modelação permanente do cabelo, apresentam ainda alguns efeitos indesejados. A combinação com solventes eutéticos, e por outro lado o uso de reações enzimáticas torna estas formulações mais atraentes para os consumidores, no sentido de requererem pouco tempo de aplicação e usando formulações com componentes com reduzidos efeitos secundários, tanto para a saúde do utilizador e profissional, como para o meio ambiente. Infelizmente, a eficiência de ondulação não é tão favorável quanto a que se obtém com os métodos e compostos químicos que são utilizadas na área da cosmética atualmente. No entanto, pode-se afirmar que têm potencial para serem otimizadas e para alcançar o objetivo da modificação da forma do cabelo, sendo uma alternativa promissora aos produtos cosméticos. Este estudo estabelece uma boa base para o desenvolvimento de futuras formulações e estudo de sinergias com outros ingredientes para o cuidado e alteração da forma do cabelo.

Para considerações futuras, seria importante submeter as formulações a testes de estabilidade, de forma a garantir as suas características ao longo do tempo, para serem utilizadas para os fins cosméticos a que se propõem. Também há a possibilidade de, nos ensaios a altas temperaturas, aumentar o tempo de tratamento e diminuir a temperatura, de forma que a reação tenha mais tempo para ocorrer. Poder-se-ia, também, testar a aplicação de formulações deste género, com outro tipo de ácidos (aspártico, láctico), juntamente com o glicerol ou etilenoglicol, por exemplo, e verificar o efeito na modulação do cabelo.

Em suma, as metodologias desenvolvidas constituem um avanço importante na cosmética do cabelo, uma vez que este estudo constitui novidade nesta área, e mostraram-se também, de alguma forma, eficazes, obtendo-se formação de uma ligeira ondulação. Esta investigação é um bom ponto de partida na abordagem de formulações cosméticas “verdes” e saudáveis para modificar a forma do cabelo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Miranda-Vilela, A. L., Botelho, A. J., & Muehlmann, L. A. (2013). An overview of chemical straightening of human hair: technical aspects, potential risks to hair fibre and health and legal issues. *International Journal of Cosmetic Science*, 36, pp. 2–11. doi:10.1111/ics.12093.
- [2] Mello, M. (2010). A evolução dos tratamentos para ondulações e alisamentos permanentes. Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- [3] Velasco, M. V. R., Dias, T. C. S., Freitas, A. Z., Vieira Júnior, N. D., Pinto, C. A. S. O., Kaneko, T. M., Baby, A. R. (2009) Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. *Brazilian Pharmaceutical Sciences*, 45, pp. 153-152. doi:10.1590/s1984-82502009000100019.
- [4] Sinclair, R. D. (2007). Healthy Hair: What Is it? *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 12, pp. 2–5. doi:10.1038/sj.jidsymp.5650046.
- [5] Robbins, C. R. (2012) Chemical and Physical Behavior of Human Hair. *Chemical Composition of Different Hair Types*, 1ªed; Springer: Verlag Berlin Heidelberg, pp. 105-176. doi:10.1007/978-3-642-25611-0.
- [6] Araújo, L. (2015) Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo óleos vegetais para a proteção e reparação capilar. Dissertação de mestrado. Título de mestre em ciências. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- [7] Cruz, C., Costa, C., Gomes, A., Matamá, T., & Cavaco-Paulo, A. (2016). Human Hair and the Impact of Cosmetic Procedures: A Review on Cleansing and Shape-Modulating Cosmetics. *Cosmetics*, 3, 26. doi:10.3390/cosmetics3030026.
- [8] Wolfram, L. J. (2003). Human hair: A unique physicochemical composite. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, pp. S106–S114. doi:10.1067/mjd.2003.276.
- [9] Zhang, D. (2013) Physical, Morphological and Chemical Structure & Property Relationships for α -Keratins in Bleached Human Hair. Dissertação de Doutorado. University of Manchester, Manchester.
- [10] Bouillon, C, Wilkinson, J. (2005). The Science of Hair Care. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 257, pp. 2095. doi:10.1001/jama.1987.03390150111.
- [11] Dawber, R. (1996). Hair: Its structure and response to cosmetic preparations. *Clinics in Dermatology*, 14, pp. 105–112. doi:10.1016/0738-081x(95)00117-x.
- [12] Tanamachi, H., Tokunaga, S., Tanji, N., Oguri, M., & Inoue, S. (2010). Abstracts: 18-MEA and hair appearance. *International Journal of Cosmetic Science*, 32, pp. 396–396. doi:10.1111/j.1468-2494.2010.00609_6.x.
- [13] Plowman, J. E. (2007). The proteomics of keratin proteins. *Journal of Chromatography B*, 849, pp. 181–189. doi:10.1016/j.jchromb.2006.07.055.

- [14] Lee, Y., Kim, Y.-D., Pi, L., Lee, S. Y., Hong, H., & Lee, W.-S. (2013). Comparison of hair shaft damage after chemical treatment in Asian, White European, and African hair. *International Journal of Dermatology*, 53, pp. 1103–1110. doi:10.1111/ijd.12247.
- [15] Cruz, C. F., Martins, M., Egipto, J., Osório, H., Ribeiro, A., & Cavaco-Paulo, A. (2017). Changing the shape of hair with keratin peptides. *RSC Advances*, 7, pp. 51581–51592. doi:10.1039/c7ra10461h.
- [16] Mettrie, R. de la., Saint-Léger, D., Loussouarn, G., Garcel, A.-L., Porter, C., & Langaney, A. (2007). Shape Variability and Classification of Human Hair: A Worldwide Approach. *Human Biology*, 79, pp. 265–281. doi:10.1353/hub.2007.0045.
- [17] Nissimov, J. N., & Das Chaudhuri, A. B. (2014). Hair curvature: a natural dialectic and review. *Biological Reviews*, 89, 723–766. doi:10.1111/brv.12081
- [18] Loussouarn, G., Garcel, A.-L., Lozano, I., Collaudin, C., Porter, C., Panhard, S., de La Mettrie, R. (2007). Worldwide diversity of hair curliness: a new method of assessment. *International Journal of Dermatology*, 46, pp. 2–6. doi:10.1111/j.1365-4632.2007.03453.x.
- [19] Franbourg, A., Hallegot, P., Baltenneck, F., Toutaina, C., & Leroy, F. (2003). Current research on ethnic hair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, pp. S115–S119. doi:10.1067/mjd.2003.277.
- [20] Seshadri, I. P., & Bhushan, B. (2008). Effect of ethnicity and treatments on in situ tensile response and morphological changes of human hair characterized by atomic force microscopy. *Acta Materialia*, 56, pp. 3585–3597. doi:10.1016/j.actamat.2008.03.039.
- [21] Franbourg, A., Hallegot, P., Baltenneck, F., Toutaina, C., & Leroy, F. (2003). Current research on ethnic hair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, pp. S115–S119. doi:10.1067/mjd.2003.277.
- [22] Saint Olive Baque, C., Zhou, J., Gu, W., Collaudin, C., Kravtchenko, S., Kempf, J. Y., & Saint-Léger, D. (2011). Relationships between hair growth rate and morphological parameters of human straight hair: a same law above ethnical origins? *International Journal of Cosmetic Science*, 34, pp. 111–116. doi:10.1111/j.1468-2494.2011.00687.x.
- [23] Bolduc, C., & Shapiro, J. (2001). Hair care products: waving, straightening, conditioning, and coloring. *Clinics in Dermatology*, 19, pp. 431–436. doi:10.1016/s0738-081x(01)00201-2.
- [24] Delfini, F. (2011) Ativos alisantes em cosméticos. Farmácia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.
- [25] Makris, D. P., & Lelas, S. (2020). Glycerol and Glycerol-Based Deep Eutectic Mixtures as Emerging Green Solvents for Polyphenol Extraction: The Evidence So Far. *Molecules*, 25, pp. 5842. doi:10.3390/molecules25245842.
- [26] Zhang, Q., De Oliveira Vigier, K., Royer, S., & Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: syntheses, properties and applications. *Chemical Society Reviews*, 41, pp. 7108. doi:10.1039/c2cs35178a.

- [27] Faraone, A., Wagle, D. V., Baker, G. A., Novak, E. C., Ohl, M., Reuter, D., Mamontov, E. (2018). Glycerol Hydrogen-Bonding Network Dominates Structure and Collective Dynamics in a Deep Eutectic Solvent. *The Journal of Physical Chemistry B*, 122, pp. 1261–1267. doi:10.1021/acs.jpcc.7b11224.
- [28] Ghaedi, H., Ayoub, M., Sufian, S., Shariff, A. M., & Lal, B. (2017). The study on temperature dependence of viscosity and surface tension of several Phosphonium-based deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 241, pp. 500–510. doi:10.1016/j.molliq.2017.06.024.
- [29] Shafie, M. H., Yusof, R., & Gan, C.-Y. (2019). Synthesis of citric acid monohydrate-choline chloride based deep eutectic solvents (DES) and characterization of their physicochemical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 111081. doi:10.1016/j.molliq.2019.111081.
- [30] Roda, A., Matias, A. A., Paiva, A., & Duarte, A. R. C. (2019). Polymer Science and Engineering Using Deep Eutectic Solvents. *Polymers*, 11, pp. 912. doi:10.3390/polym11050912.
- [31] Edlund, U., & Albertsson, A.-C. (2003). Polyesters based on diacid monomers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, pp. 585–609. doi:10.1016/s0169-409x(03)00036-x.
- [32] Skoronski, E., Bonetti, T. M., João, J. J., & Fúrigo Júnior, A. (2010). Estudo cinético da obtenção de ésteres utilizando enzima lipozyme TL IM como catalisador. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30, pp. 897–902. doi:10.1590/s0101-20612010000400010.
- [33] Solomons, G., Fryhle, C. (2002) Química Orgânica. Vol. 2, Rio de Janeiro: LTC.
- [34] Edlund, U., & Albertsson, A.-C. (2003). Polyesters based on diacid monomers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, pp. 585–609. doi:10.1016/s0169-409x(03)00036-x.
- [35] Robert, J & Caserio, M (1977) Basic Principles of Organic Chemistry, 2^aed. W. A. Benjamin, Inc. , Menlo Park, CA. ISBN 0-8053-8329-8.
- [36] Katoh, T., Ogawa, Y., Ohta, Y., & Yokozawa, T. (2021). Synthesis of polyester by means of polycondensation of diol ester and dicarboxylic acid ester through ester–ester exchange reaction. *Journal of Polymer Science*, 59, pp. 787–797. doi:10.1002/pol.20210032.
- [37] Tisserat, B., Selling, G. W., Boyars, J. A., & Stuff, A. (2011). Instrumental Physical Analysis of Microwaved Glycerol Citrate Foams. *Journal of Polymers and the Environment*, 20, pp. 291–298. doi:10.1007/s10924-011-0376-3.
- [38] Halpern, J. M., Urbanski, R., Weinstock, A. K., Iwig, D. F., Mathers, R. T., & von Recum, H. A. (2013). A biodegradable thermoset polymer made by esterification of citric acid and glycerol. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 102(5), pp. 1467–1477. doi:10.1002/jbm.a.34821.
- [39] Tisserat, B., O'kuru, R. H., Hwang, H., Mohamed, A. A., & Holser, R. (2012). Glycerol citrate polyesters produced through heating without catalysis. *Journal of Applied Polymer Science*, 125(5), pp. 3429–3437. doi:10.1002/app.36669
- [40] Chau, Y., & Zhong, J. (2011). Enzyme-Sensitive Biomaterials for Drug Delivery. *Comprehensive Biotechnology*, 605–624. doi:10.1016/b978-0-08-088504-9.00158-6.

- [41] Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays In Biochemistry*, 59(0), pp. 1–41. doi:10.1042/bse0590001
- [42] Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), pp. 627–662. doi:10.1016/s0734-9750(01)00086-6.
- [43] Hari Krishna, S., & Karanth, N. G. (2002). Response Surface Modeling of Lipase-Catalyzed Isoamyl Propionate Synthesis. *Journal of Food Science*, 67(1), pp. 32–36. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb11354.x.
- [44] Lason, E., Ogonowski, J. (2010). Lipase – characterization, applications and methods of immobilization. Institute of Organic Chemistry and Technology, Cracow University of Technology, Cracow. *CHEMIK*, 64(2).
- [45] Pandey, A., Benjamin, S., Soccol, C., Nigam, P., Kriger, N., (1999). REVIEW The realm of microbial lipases in biotechnology. *Biotechnol. Appl. Bioche*, 29, pp. 119-131.
- [46] Aouf, C., Durand, E., Lecomte, J., Espinoza, E., et al. (2014) The use of lipases as biocatalysts for the epoxidation of fatty acids and phenolic compounds. *Green Chemistry*, Royal Society of Chemistry, 16 (4), pp.1740-1754.
- [47] Stergiou, P.-Y., Foukis, A., Filippou, M., Koukouritaki, M., Parapouli, M., Theodorou, L. G., ... Papamichael, E. M. (2013). Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. *Biotechnology Advances*, 31(8), pp. 1846–1859. doi:10.1016/j.biotechadv.2013.08.
- [48] Gandhi, N. N., Patil, N. S., Sawant, S. B., Joshi, J. B., Wangikar, P. P., & Mukesh, D. (2000). Lipase-Catalyzed Esterification. *Catalysis Reviews*, 42(4), pp. 439–480. doi:10.1081/cr-100101953.
- [49] Macrae, A. R. (1983). Lipase-catalyzed interesterification of oils and fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(2), 291–294. doi:10.1007/bf02543502.
- [50] Rajendran, A., Palanisamy, A., & Thangavelu, V. (2009). Lipase catalyzed ester synthesis for food processing industries. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(1), pp. 207–219. doi:10.1590/s1516-89132009000100026.
- [51] Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2009). Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 27(6), pp. 782–798. doi:10.1016/j.biotechadv.2009.06.
- [52] Angajala, G., Pavan, P., & Subashini, R. (2016). Lipases: An overview of its current challenges and perspectives in the revolution of biocatalysis. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 257–270. doi:10.1016/j.bcab.2016.07.001.
- [53] FELTRE, R. (2004) Química: química orgânica, 6ªed. Moderna, São Paulo, pp. 92-105.
- [54] Ferrari, R. A.; Oliveira V. S.; Scarbio A. (2005) Biodiesel de Soja – Taxa de Conversão em Ésteres Etilicos, Caracterização Físico-Química e Consumo em Gerador de Energia. *Química Nova*. vol. 28, nº 1.

- [55] Antunes, B. M. H. S.; (2009). Estudo Teórico e Experimental da Esterificação do Ácido Acético com Etanol. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade de Aveiro, Aveiro.
- [56] COSTA, T. S., et al. (2004). Confirmando a Esterilização de Fisher por Meio de Aromas. *Química Nova na Escola*, nº 19.
- [57] Ribeiro, A., Martins, M., Tinoco, A., & Cavaco-Paulo, A. (2021). Hair resistance to mechanical wear. *Wear*, pp. 470-471, 203612. doi:10.1016/j.wear.2021.203612
- [58] Boll, M. S. (2017). Differentiation of Hair Using ATR FT-IR Spectroscopy: A Statistical Classification of Dyed and Non-dyed Hairs. *Chemistry*. 9.
- [59] Pienpinijtham, P., Thammacharoen, C., Naranitad, S., & Ekgasit, S. (2018). Analysis of cosmetic residues on a single human hair by ATR FT-IR microspectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 197, pp. 230–236. doi:10.1016/j.saa.2018.01.084.
- [60] Popescu, C., & Gummer, C. (2016). DSC of human hair: a tool for claim support or incorrect data analysis? *International Journal of Cosmetic Science*, 38(5), pp. 433–439. doi:10.1111/ics.12306.
- [61] Leite, M. G. A., & Maia Campos, P. M. B. G. (2017). Mechanical characterization of curly hair: Influence of the use of nonconventional hair straightening treatments. *Skin Research and Technology*, 23(4), pp. 539–544. doi:10.1111/srt.12368.
- [62] Mariano-Torres, J. A., López-Marure, A., García-Hernández, M., Basurto-Islas, G., & Domínguez-Sánchez, M. Á. (2018). Synthesis and Characterization of Glycerol Citrate Polymer and Yttrium Oxide Nanoparticles as a Potential Antibacterial Material. *MATERIALS TRANSACTIONS*. doi:10.2320/matertrans.m2018248.
- [63] Dankers, L. M. (2007). Physical analysis of human hair. Tese de Mestrado de Ciência em Química, University of Missouri-Rolla.
- [64] Idris, A., Vijayaraghavan, R., Rana, U. A., Patti, A. F., & MacFarlane, D. R. (2014). Dissolution and regeneration of wool keratin in ionic liquids. *Green Chem.*, 16(5), 2857–2864. <https://doi.org/10.1039/C4GC00213J>.

ANEXOS

Anexo A

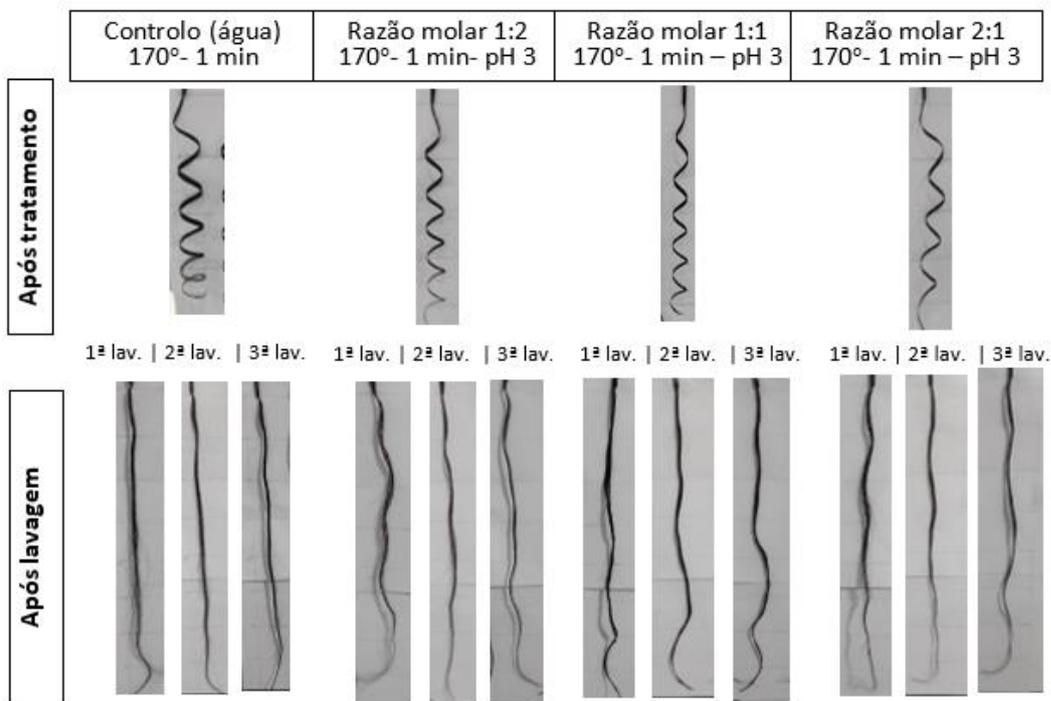


Figura 45- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 1 (ácido cítrico: glicerol).

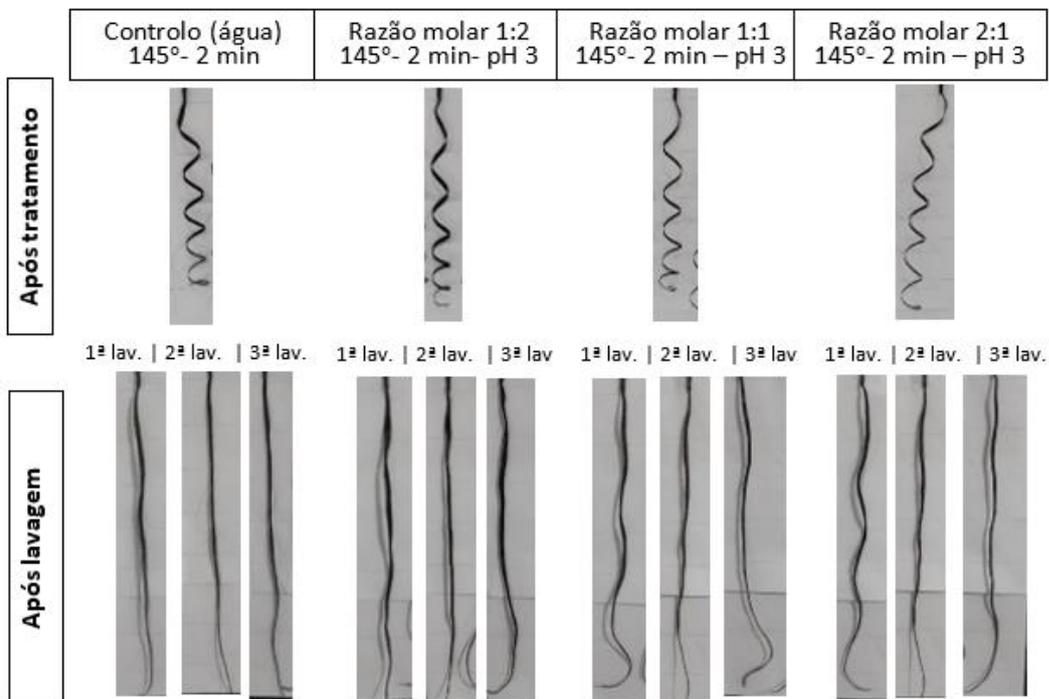


Figura 46- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 2 (ácido cítrico: glicerol).

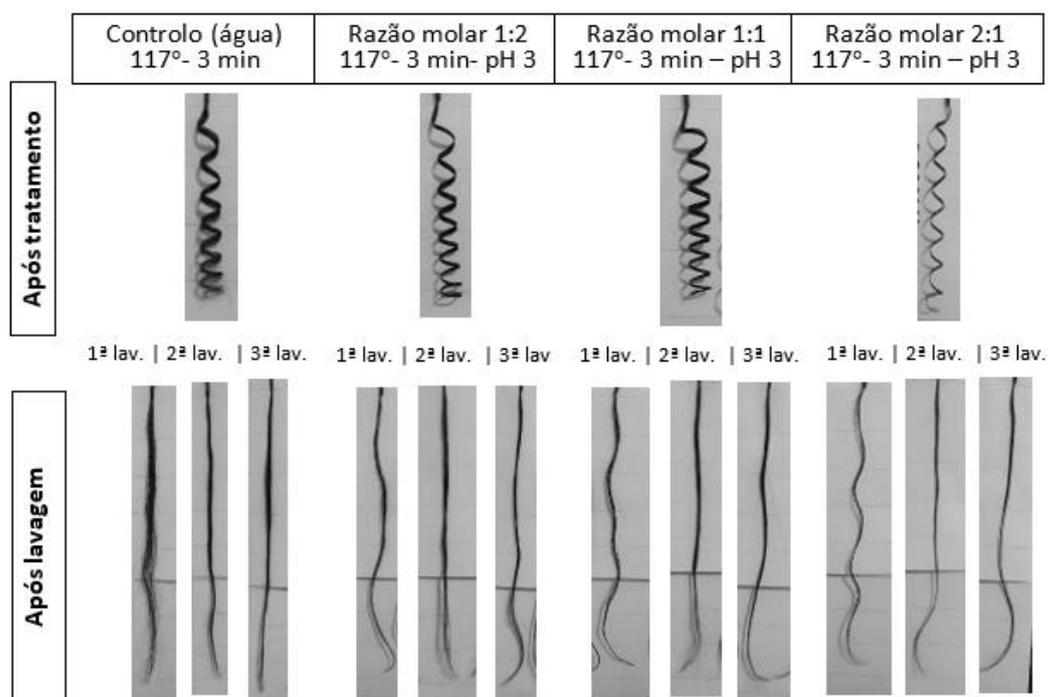


Figura 47- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 3 (ácido cítrico: glicerol).

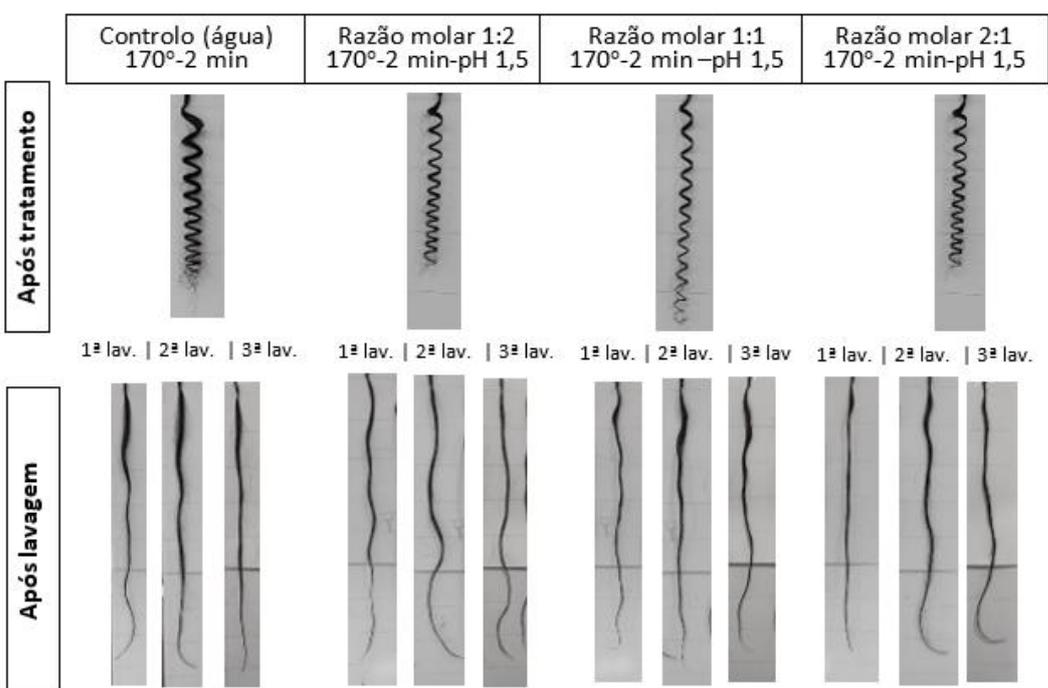


Figura 48- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 5 (ácido cítrico: glicerol).

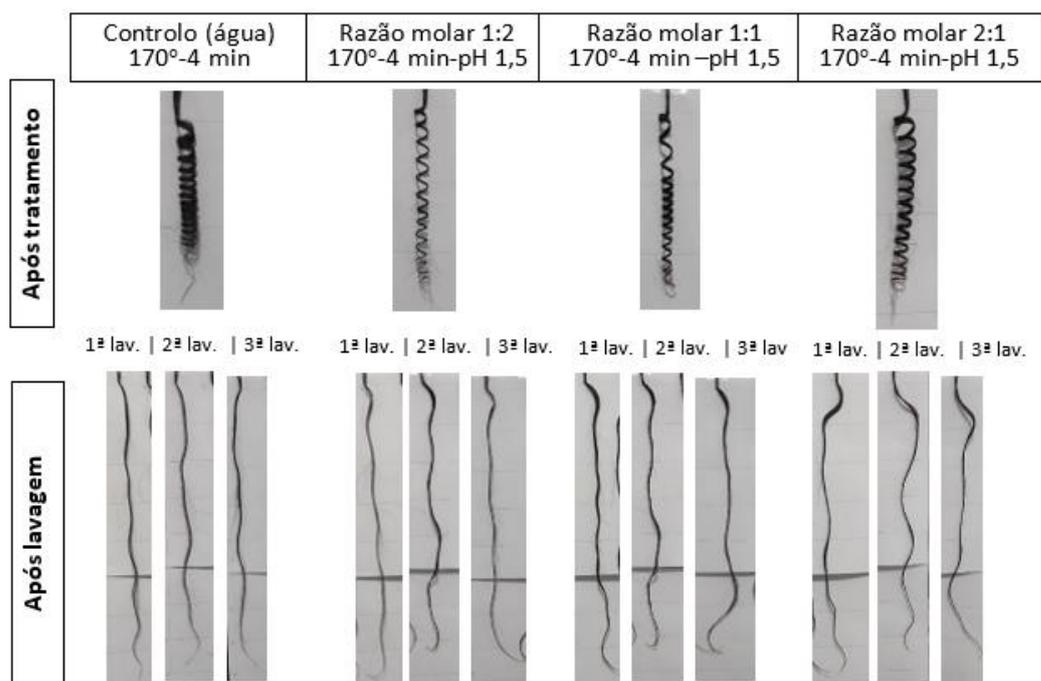


Figura 49- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 6 (ácido cítrico: glicerol).

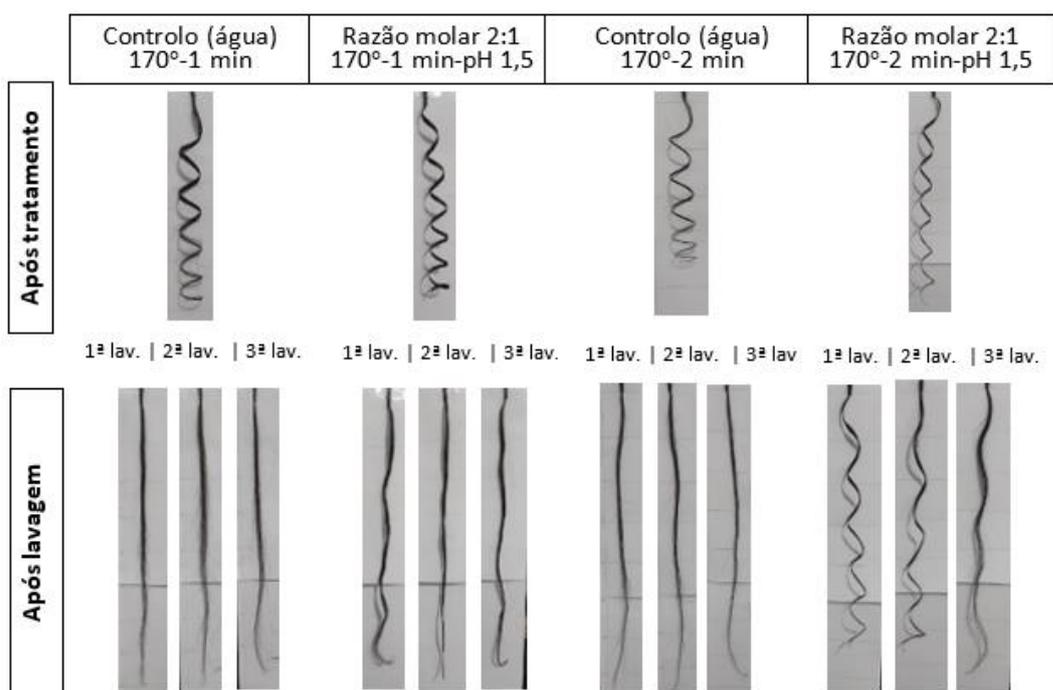


Figura 50- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 4 e Protocolo 7 (ácido cítrico: glicerol).

Anexo B

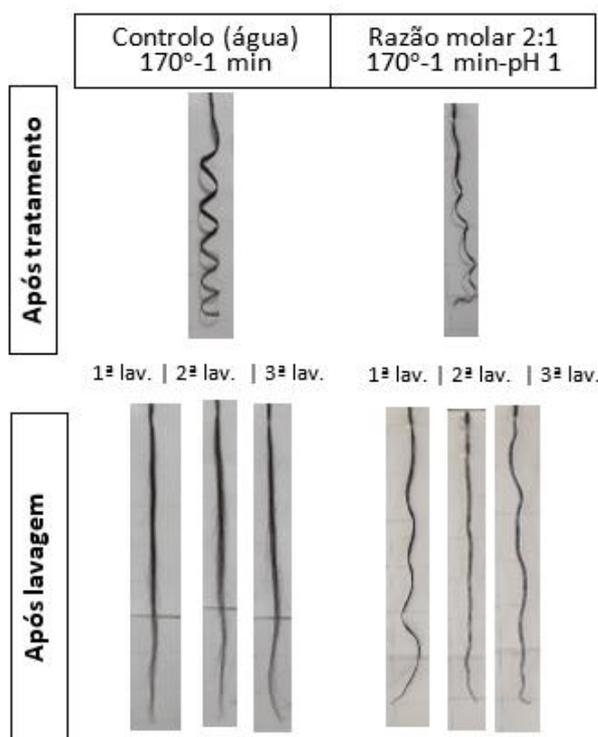


Figura 51- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 1 (ácido oxálico: glicerol).

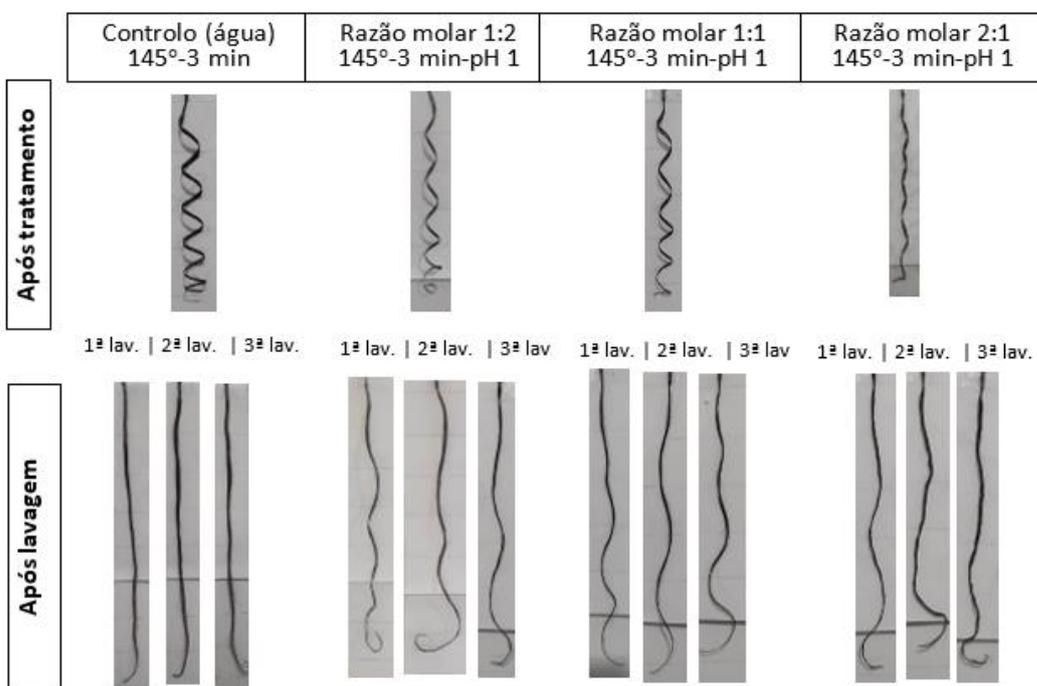


Figura 52- Resultados visuais obtidos com a aplicação do Protocolo 3 (ácido oxálico: glicerol).

Anexo C

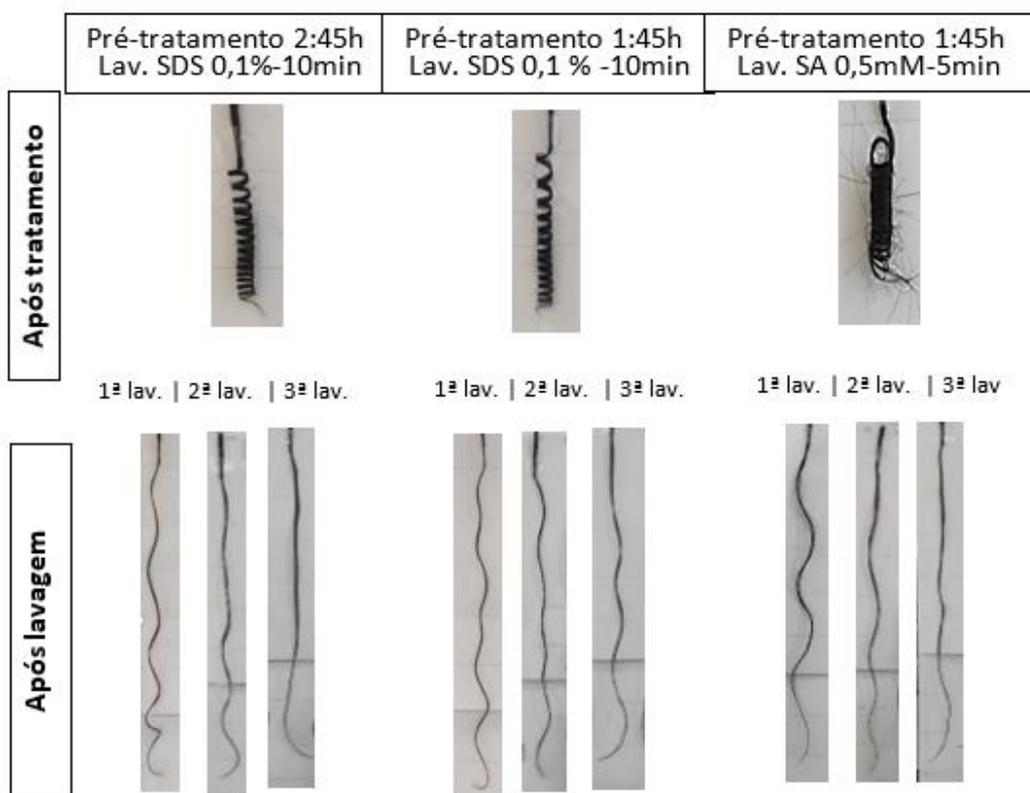


Figura 53- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase.

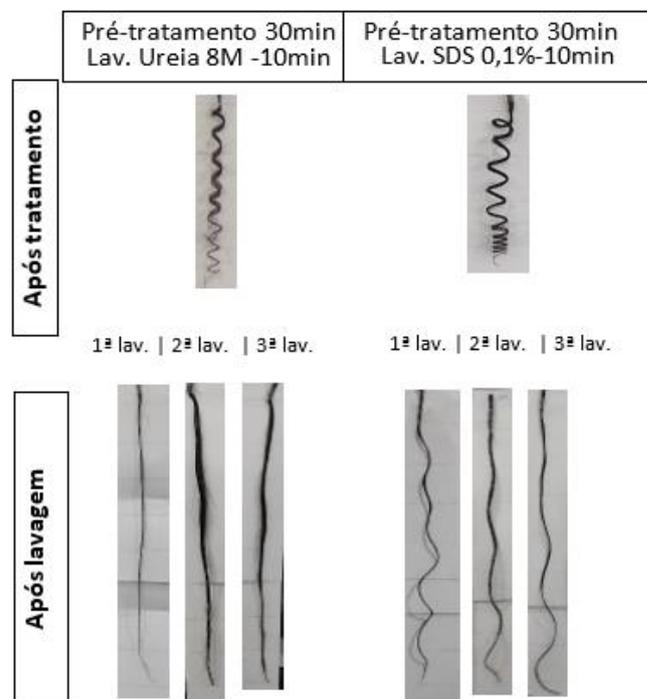


Figura 54- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido cítrico: glicerol + lipase.

Anexo D

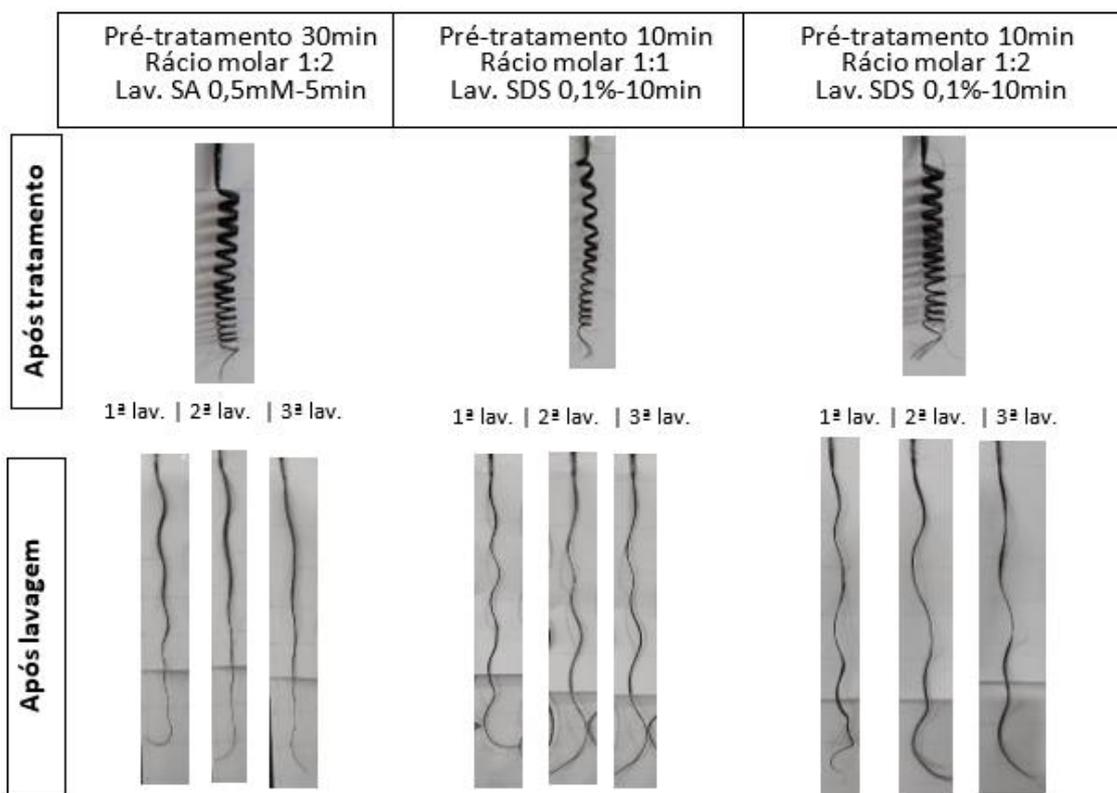


Figura 55- Resultados visuais obtidos com a aplicação da formulação ácido oxálico: glicerol + lipase.