AVALIAÇÃO DE UMA ROTINA DE DESCOLORAÇÃO POR MAPEAMENTO DE DANOS E MICROSCOPIA MEV - UMA CORRELAÇÃO ENTRE MÉTODOS.

Autores: **Angela Cristina Vargas Calle*[1]**, Nathana Cindy Ramos[1], Alzira Dini[1], Viviane Albarici[1], Mayara Miranda Ferreira[1], Adriano Pinheiro[1].

[1] Grupo Kosmoscience, Ciência e Tecnologia Cosmética Ltda, Valinhos, SP, Brasil.
*Autor correspondente: angela@kosmoscience.com Rua Itália 274, 13270-180, Valinhos/SP, Brasil

RESUMO

Danos capilares referem-se ao enfraquecimento e deterioração da estrutura capilar, levando a problemas como quebra, pontas duplas e aspereza da superfície. Esses danos podem afetar várias partes do cabelo e são causados por fatores como má nutrição, tratamentos químicos, cuidados excessivos e estresse ambiental. Entre eles, a descoloração é um dos processos mais agressivos, pois destrói a melanina e, no processo, cliva as ligações dissulfeto que são componentes essenciais da estrutura capilar. Portanto, entender os locais exatos onde ocorrem os danos é importante para o desenvolvimento de produtos cosméticos que visam reparar o cabelo.

Para entender e quantificar melhor a deterioração causada na fibra capilar, neste estudo foi empregado um corante catiônico fluorescente como marcador de danos, permitindo uma avaliação precisa dos danos induzidos pelo processo de descoloração desde raiz dos fios até as pontas. A técnica, conhecida como Mapeamento de Danos, utiliza um software para sobrepor resultados de intensidade de fluorescência em imagens de cabelo, produzindo uma representação visual codificada por cores dos níveis de danos. Como esse método foi desenvolvido recentemente pelos autores, uma metodologia adicional bem conhecida, microscopia eletrônica de varredura (MEV), foi usada para examinar os danos superficiais causados por duas fórmulas diferentes de pó descolorante.

O nível de dano causado pelos tratamentos descoloridos foi comparado estatisticamente entre eles e em comparação, com um grupo de cabelos não descoloridos do mesmo lote. A correlação entre o mapeamento de fluorescência e os resultados do SEM foi significativa, demonstrando a confiabilidade dessas metodologias na avaliação de danos capilares. Essa abordagem combinada fornece uma maneira abrangente de avaliar os efeitos da descoloração em diferentes pontos ao longo do comprimento do cabelo e apoia o desenvolvimento de produtos cosméticos que visam prevenir ou reduzir os danos capilares seletivamente, nos locais onde é necessário.

Palavras-chave: Mapa de Danos; Descoloração; MEV.

INTRODUÇÃO

A descoloração é um dos tratamentos químicos mais realizados pelos consumidores nos cabelos (Marsh, 2012); a mesma pode ser usada como parte da rotina de coloração do cabelo ou sozinha para remover a melanina do cabelo deixando os cabelos mais claros (Di Foggia et. al, 2021). As descolorações comerciais usualmente utilizam sais de persulfatos e peroxido de hidrogênio em pH próximo de 10, para remover os pigmentos naturais do cabelo (melaninas) e neste processo acabam causando quebra nos enlaces dissulfeto da cistina e em alguns casos quebra de peptídeos do cabelo; o que resulta em mudanças físicas permanentes e deterioramento da resistência mecânica das fibras capilares (Marsh, 2012; Di Foggia et. al, 2021).

Mesmo sendo a descoloração uns dos tratamentos químicos mais agressivos nos cabelos, esta continua a ser altamente usada, o que tem levantado uma demanda das autoridades sanitárias e um crescente interesse dos fabricantes de produtos cosméticos, em desenvolver descolorações que tenham uma alta eficácia, mas com diminuição dos danos causados na fibra (Oliveira et. al, 2014).

Neste sentido, a avaliação dos efeitos das descolorações sobre a fibra capilar se apresenta como parte importante do desenvolvimento de produto e várias técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos para medir os danos causados às fibras capilares. Uma das mais antigas é a medida da integridade do córtex, pela avaliação das curvas de tensão/deformação dos fios, pois o comportamento das mesmas depende do número de enlaces químicos no córtex capilar (Wickett, 2012). Estudos neste sentido, tem mostrado que a tensão necessária para atingir a quebra dos fios, diminui com a quantidade de tratamentos de descoloração aplicados, enquanto que a deformação alcançada pelos fios aumenta (Wolfram et. al, 1970).

Mais recentemente, com o surgimento de técnicas de microscopia avançadas como MEV ou AFM, foi possível a observação das características morfológicas dos fios de cabelo, e a partir das imagens obtidas, o cálculo de diversos parâmetros como, a distância entre as cutículas, a profundidade das cutículas, a rugosidade superficial e inclusive a composição química na superfície dos fios (Dahiya et. al, 2013; Alsafy et. al, 2024; Breakspear et. al, 2021; Gurden et. al, 2004).

Recentemente o nosso laboratório desenvolveu uma metodologia que permite mapear os danos do cabelo em diferentes pontos da raiz até a ponta, facilitando a visualização dos danos; esta metodologia utiliza um marcador fluorescente catiônico que se adere na fibra, preferencialmente nos locais onde o cabelo está mais danificado, permitindo então quantificar a intensidade dos danos à partir de espectroscopia de fluorescência; estes dados, são então superpostos nas imagens obtidas dos cabelos com um software, para facilitar a visualização (Vargas et. al, 2023). Neste contexto, este trabalho busca correlacionar à técnica desenvolvida com a técnica de avaliação de danos por MEV, a qual é uma metodologia já consolidada.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é avaliar os danos causados aos cabelos por diferentes tratamentos de descoloração comerciais, por meio do método de mapa de danos e da microscopia eletrônica de varredura associada à análise de imagens, de forma que seja possível entender a correlação entre as metodologias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dois estudos independentes foram realizados para medir o grau do dano do cabelo causado por descolorações cosméticas; para ambos, foram utilizados cabelos caucasianos naturais lisos os quais foram divididos em 2 grupos, um grupo foi separado para o estudo de mapa de danos e outro grupo foi utilizado para a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV), ambos grupos foram divididos em 3 subgrupos dependendo do tratamento aplicado.

Um subgrupo foi mantido natural e nos outros dois foram aplicadas descolorações comerciais diferentes. Para a descoloração foram utilizados 7g da mistura de pó descolorante e oxidante (peroxido de hidrogênio) na proporção 1:1.5, para cada 1g de cabelo. A mistura foi distribuída da raiz até as pontas, nas mechas de cabelo posicionadas sobre papel alumínio com um pincel por ambos os lados dos cabelos. Após a aplicação, as mechas foram mantidas a 37°C durante 25 min; passado este tempo, as mechas de cabelo foram enxaguadas com água corrente até a água sair transparente. Para finalizar o processo, as mechas foram lavadas com uma solução de 10% de lauril éster sulfato de sódio em água na quantidade de 0,2ml para cada 1g de cabelo, massageadas por 60 segundos e finalmente enxaguadas por 30 segundos removendo o excesso de água com os dedos. O grupo que foi mantido natural foi lavado com o mesmo processo de forma que fosse removido qualquer resíduo de produto.

Para o estudo de mapa de danos, foi utilizado o equipamento FluoroMax 4® - Horiba, Modelo TCSPC para coletar as medidas de intensidade de fluorescência dos cabelos basal, isto é, após os tratamentos, e após submersão dos cabelos numa solução de rodamina B (16mg/L) durante 2min e enxague de 30s. As mechas foram deixadas secar 24h em ambiente com temperatura e umidades controladas em 55±5%RH e 22±2°C antes de levar a análise no equipamento. A medida foi realizada em 5 segmentos diferentes do cabelo da raiz até as pontas, e os valores obtidos foram então correlacionados com uma escala de cores usada para colorir imagens das mechas de cabelo obtidas após os tratamentos.

Dos cabelos do grupo que foram para microscopia eletrônica de varredura, foram selecionadas fibras de cabelos de cada subgrupo de forma aleatória e as mesmas foram para a avaliação no MEV. Foram obtidas 5 imagens para cada grupo. As imagens foram tratadas usando o programa ImageJ (Rasband, 2012), selecionando as áreas de cutículas levantadas correspondente às áreas mais claras. Depois a imagem foi binarizada para poder quantificar a área de cutículas levantadas em pixels.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism 8.0. Os resultados dos tratamentos foram comparados usando o método one-way ANOVA com post test de Tukey. Tratamentos com um p-value > 0.05 foram considerados iguais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cabelos que foram para as avaliações, foram tratados seguindo o desenho apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Desenho experimental para os estudos de MEV e de Mapa de Danos

Tratamento	**Nome do grupo**
Cabelo Natural + SLES 10%	CTRL
Cabelo Natural + Pó descolorante 1 + oxidante 1	T01
Cabelo Natural + Pó descolorante 2 + Oxidante 2	T02

Os valores de danos superficiais dos cabelos que foram para microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram plotados (Figura 1) para facilitar a visualização dos mesmos.

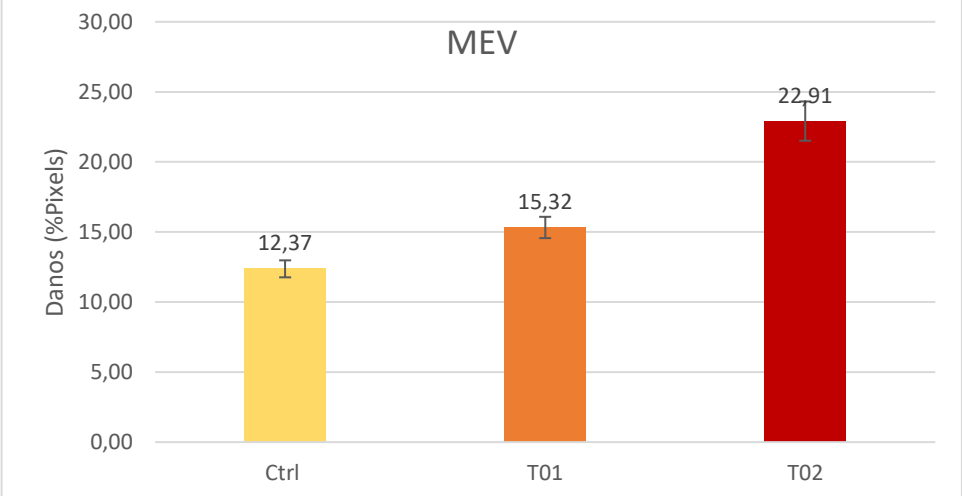


Figura 1- Resultados dos danos superficiais avaliados por analise de imagens em micrografia obtidas por MEV. Valores médios ± desvio padrão. Cores diferentes representam diferenças estatísticas entre os grupos.

O mesmo procedimento foi realizado com os valores médios obtidos pelo mapa de danos e os resultados podem ser observados na Figura 2.

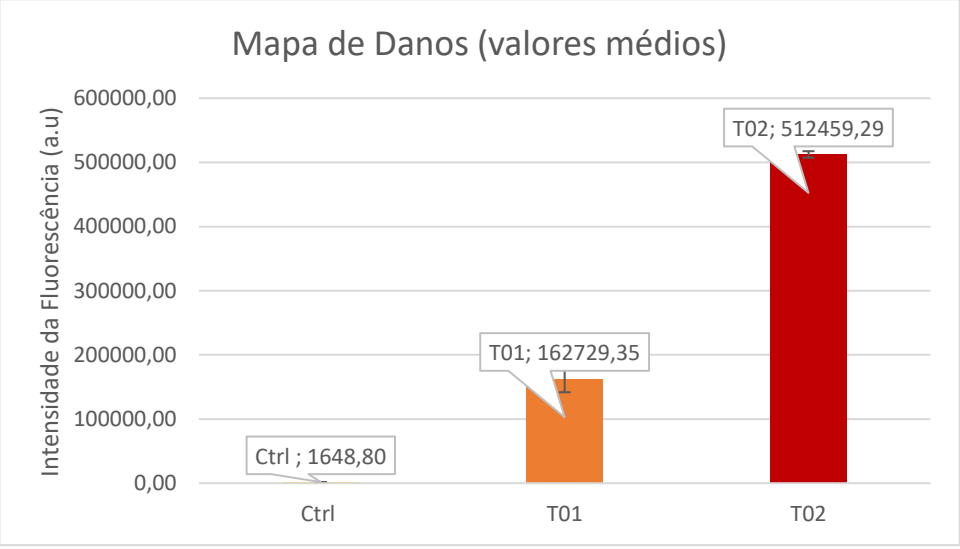


Figura 2- Valores médios de danos obtidos pelo método Mapa de danos para os diferentes tratamentos. Cores diferentes representam diferenças estatísticas entre os grupos.

Foi feito então um gráfico entre as duas medidas para cada tratamento, com o intuito de correlacionar as medidas (Figura 3).

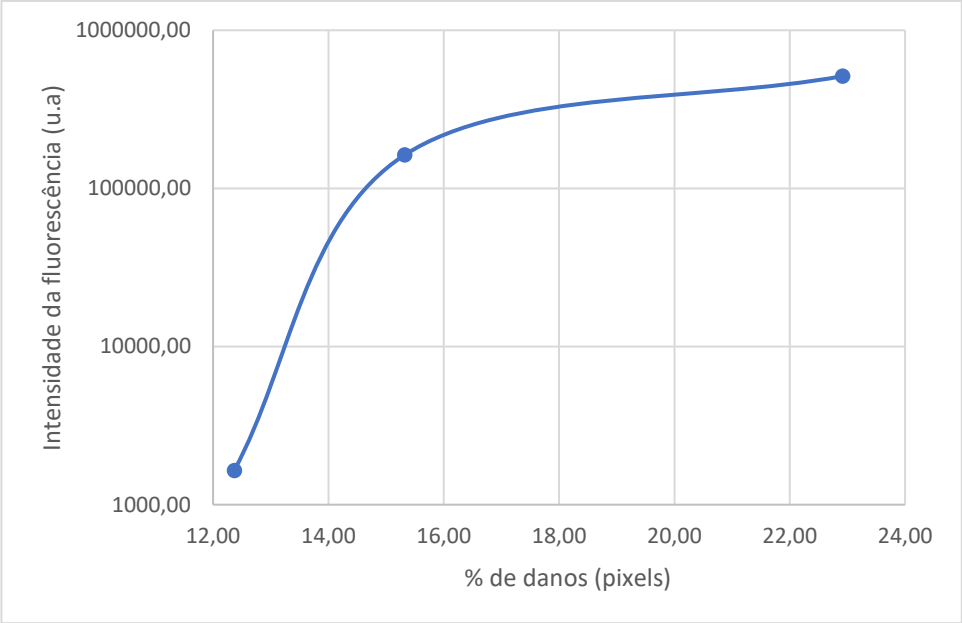


Figura 3- Gráfico da correlação entre a medida de danos por microscopia eletrônica de varredura e os danos obtidos por mapa de danos para um grupo controle (sem descolorir) e dois grupos tratamentos de descoloração.

O gráfico entre os resultados das avaliações mostra que existe uma correlação logarítmica entre as técnicas. Isto mostra que para danos menos agressivos a metodologia de microscopia eletrônica de varredura tem maior diferenciação, já para agressões maiores, a técnica de mapa de danos consegue diferenciar mais entre produtos.

CONCLUSÃO

A avaliação dos danos nos cabelos é importante para poder desenvolver produtos que agridam o cabelo o mínimo possível ou então que reparem os danos causados por tratamentos químicos cosméticos, agressões mecânicas ou agressões causadas por agentes externos como a exposição ao sol, a poluição ambiental, entre outro. Diversas técnicas tem sido desenvolvidas para avaliar estes danos, e entender as mesmas profundamente é importante para poder selecionar a metodologia mais adequada na hora de criar o roteiro de avaliação para os produtos cosméticos. Com esse intuito, neste trabalho, cabelos tratados com duas diferentes descolorações comerciais foram avaliados por duas técnicas diferentes, as quais tem o objetivo de verificar a quantidade de danos nos cabelos, mas medindo diferentes características das fibras capilares. A primeira técnica é a avaliação do levantamento das cutículas, através de análise de imagens em microscopias obtidas por MEV. Já a outra técnica utiliza um marcador fluorescente catiônico que se adere preferencialmente aos locais mais danificados do cabelo, e a fluorescência do mesmo é medida por espectroscopia de fluorescência.

Ambos os métodos apresentaram resultados similares para os produtos testados, aumentando a confiabilidade nos dados. Além disso, quando correlacionados os estudos, foi percebido que existe uma correlação logarítmica entre ambas técnicas, o que sugere que a pesar de que ambas técnicas conseguem diferenciar produtos, a microscopia eletrônica de varredura possui uma maior diferenciação quando os danos são menos agressivos e o mapa de danos se torna mais adequado quando os danos são muito agressivos.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi inteiramente realizado nas instalações da Kosmoscience.

REFERÊNCIAS

Marsh, J. M. (2012) Hair Coloring. *Practical Modern Hair Science*. (4), 117- 156.

Di Foggia, M., Boga, C., Micheletti, G., Nocentini, B., Taddei, P. (2021) Structural investigation on damaged hair keratin treated with α,β-unsaturated Michael acceptors used as repairing agents. *International Journal of Biological Macromolecules*. (167), 620-632.

Di Foggia, M., Boga, C., Micheletti, G., Nocentini, B., Taddei, P. (2021) Vibrational Raman and IR data on brown hair subjected to bleaching. *Data in Brief.* (38), 107439.

Oliveira, R. A. G., Zanoni, T. B., Bessegato, G. G., Oliveira, D. P., Umbuzeiro, G. A, Zanoni, M. V. B. A. (2014) Química E Toxicidade Dos Corantes De Cabelo. *Quim. Nova.* 37(6), 1037-1046.

Wickett, R. R. (2012) Mechanical Properties of Hair. *Practical Modern Hair Science*. (7), 223-250.

Wolfram, L. J., Hall, K., HUI, I. (1970) The Mechanism of Hair Bleaching. *J. Soc. Cosmet. Chem*. (21), 875-900.

Dahiya M. S., Yadav S. K. (2013) Scanning Electron Microscopic Characterization and Elemental Analysis of Hair: A Tool in Identification of Felidae Animals. *Journal of Forensic Research*, 4 (1), 1000178.

Alsafy, M. A. M., El-Gendy, S. A. A., Derbalah, A., Rashwan, A. M., Haddad, S. S. (2024). Scanning electron microscopy and morphometric analysis of the hair in dromedaries with SEM-EDX in relation to age. *BMC Zoology*, (9) 17.

Breakspear, S., Noecker, B., Popescu, C. (2021). AFM for Hair Surface Characterisation. *Surface Science and Adhesion in Cosmetics*, (7), 215–244.

Gurden, S. P., Monteiro, V. F., Longo, E., Ferreira, M. M. C. (2004). Blackwell Publishing, Ltd. Quantitative analysis and classification of AFM images of human hair. *Journal of Microscopy*, 215(1), 13–23.

Vargas, A. C. C., Dini, A., Ramos, N., Hercolino, C., Viana, J., Gonçalves, V., Perassinoto, N., Pinheiro, A. S. A. (2023). Novel methodology for evaluation of human hair damage via Fluorescence spectrophotometry associated with Fourier-transform infrared spectroscopy. *Paper presented as a Poster at 33rd IFSCC congress, Barcelona*.

Rasband, W. S. (2012). ImageJ*, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland*, USA, imagej.net/ij/, 1997—2012.