

AVALIAÇÃO DA TERMODEGRADAÇÃO DAS FIBRAS CAPILARES POR MEIO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE REFLEXÃO DIFUSA E ANÁLISE DE MEV

Manuela Sutton Mello¹, Livia Maria Marcati¹, Adriano S. Pinheiro², Willian Souza Andrade², Douglas Terci², Diogo Terci², Valéria M. Longo¹, Elson Longo³, José A. Varela³

¹Universidade Federal de São Carlos – Departamento de Química, Engenharia de Materiais e Engenharia Química - São Carlos SP, Brasil

²Kosmoscience Ciência & Tecnologia Cosmética Ltda., Valinhos SP, Brasil

³Universidade Estadual Paulista - Instituto de Química - Araraquara - SP – Brasil

1. Resumo

O uso de tratamentos térmicos é uma atitude rotineira no cotidiano das consumidoras. O entendimento do efeito e danos causados por esses tratamentos, ao longo do tempo, sobre as fibras capilares é fundamental para o desenvolvimento de produtos cosméticos que atuem de forma inteligente e efetiva.

A literatura fornece uma soma limitada de pesquisas focadas nas transformações químicas e fisicoquímicas irreversíveis que ocorrem nas fibras devido a tratamentos térmicos. Esta área foi investigada, no contexto, que induziu efeitos termicamente reversíveis como a secagem das fibras por meio de secadores, ou umidificação por meio de soluções aquosas a elevadas temperaturas (<96°C).

Nesse trabalho, procurou-se desenvolver uma metodologia segura para avaliar os danos térmicos sofridos por fibras capilares caucasianas quando expostas à temperatura de aproximadamente 80°C e escovação por diversos tempos. Os danos foram acompanhados por meio de medidas espectroscopia de reflexão difusa do aminoácido triptofano e seus produtos de degradação. A fim de se observar as mudanças morfológicas superficiais ocorridas durante os diversos tempos de exposição ao calor foram realizados estudos de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Desta forma pode-se observar a degradação interna e externa das fibras capilares.

Os resultados indicaram que diferentemente dos dados observado na degradação do Trp, no qual houve uma estabilização da decomposição do mesmo a partir de 120 minutos, na superfície da fibra capilar houve uma degradação contínua. Deve-se ressaltar que a superfície da fibra sofreu degradação mecânica também, devido ao processo de escovação e, desse modo, nos processos diários de escovação e aquecimento com secador principalmente a estrutura cuticular da fibra é prejudicada. Assim, produtos cosméticos de proteção a danos térmicos com secadores devem se concentrar principalmente na proteção da estrutura superficial da fibra capilar.

2. Introdução

A indústria de higiene pessoal, cosmética e perfumaria busca estimular o consumidor a adquirir seus produtos por meio de estratégias de marketing cada vez mais eficazes. Estas estratégias buscam, pelo uso de palavras, imagens e conceitos, provocar a mente do consumidor criando uma necessidade psicológica em experimentar o produto. Entretanto, há uma necessidade de fundamentar cientificamente os apelos inferidos aos produtos, tanto para justificá-los perante a um consumidor cada vez mais exigente, quanto para garantir o sucesso e a prosperidade da marca que deve cumprir a promessa do seu marketing.

Neste contexto, busca-se aplicar de forma prática e efetiva, técnicas de estudos científicos até então destinadas a propósitos fundamentalmente acadêmicos em problemas reais dos consumidores e da indústria cosmética.

O uso de tratamentos térmicos é uma atitude rotineira no cotidiano das consumidoras. O entendimento do efeito e danos causados por esses tratamentos, ao longo do tempo, sobre as fibras capilares é fundamental para o desenvolvimento de produtos cosméticos que atuem de forma inteligente e efetiva.

As fibras capilares são formadas basicamente por três estruturas. A cutícula que é a estrutura externa da fibra responsável pelo brilho, maciez e proteção desta, e é uma região quimicamente resistente que envolve o córtex. Cada célula de cutícula tem aproximadamente 0,5 a 1,0 µm de espessura e 45 µm de comprimento. As fibras capilares possuem geralmente de 5 a 10 camadas dessas células (1,2). A cutícula pode sofrer agressões externas que podem ser causadas tanto por ação mecânica e quanto por transformações químicas.

O córtex, maior porção da fibra capilar, consiste de células alongadas orientadas paralelamente ao eixo axial da fibra. Essas células contêm microfibrilas formadas de uma α-hélice de queratina e

embebida em uma matriz amorfa rica em cistina. Essas diferentes proteínas que compõem a fibra possuem diferentes composições de aminoácidos, sendo um deles o triptofano (3-5).

Os efeitos da degradação da fibra capilar por tratamentos químicos, como permanentes, descoloração e relaxamento recebem uma significativa atenção na literatura (6). As mudanças físicas produzidas como resultado de tratamentos diários como escovação e lavagem, também são amplamente discutidas (7). Somando-se a isto, a fotodegradação das fibras capilares tem aumentado o interesse dos cientistas e tem recebido considerável atenção (8,9).

No entanto, a literatura fornece uma soma limitada de pesquisas focadas nas transformações químicas e fisicoquímicas irreversíveis que ocorrem nas fibras devido a tratamentos térmicos. Esta área foi investigada, no contexto, que induziu efeitos termicamente reversíveis como a secagem das fibras por meio de secadores (10,11), ou umidificação por meio de soluções aquosas a elevadas temperaturas (<96°C) (12).

A decomposição da queratina que acontece a temperaturas maiores que 200°C já foi relatada por meio do uso do Differential Scanning Calorimetry (DSC) (10,13), análises termomecânicas e termogravimétricas (13).

Os principais elementos encontrados nas fibras que podem sofrer degradação térmica em contato com ar quente incluem a cutícula e camadas externas como a epcutícula (que envolve a cutícula), a qual é construída de aminoácidos com ligações covalentes e o córtex rico em enxofre. O material intercelular, que encontra-se no córtex e é responsável pela rigidez mecânica das fibras (sabe-se que são as células do complexo membranoso que melhoram a adesão entre as células corticais e a fase cristalina) também sofre degradação térmica.

R. McMullen e J. Jachowicz estudaram os efeitos de tratamentos térmicos em diversos tipos de fibras capilares em temperaturas entre 130°C e 164°C por meio da técnica de espectroscopia de fluorescência. Os autores concluíram que em todos os tipos de fibras o tratamento térmico resultou na decomposição do triptofano e conseqüente formação da quinurenina por meio do seu intermediário n-formil quinurenina.

De acordo com o mecanismo de fotólise proposto por Tolgyesi os aminoácidos tirosina, felaína e triptofano absorvem a radiação UV resultando na formação de radicais livres (14).

Por outro lado, os materiais luminescentes liberam energia em forma de fótons, quando provocados por uma fonte de energia externa. Essa propriedade óptica, denominada de fotoluminescência, pode ser estudada por meio dos espectros de excitação e emissão de fótons. Um fóton é absorvido em altíssima velocidade, o processo requer de 10^{-14} a 10^{-15} s (15).

Depois da absorção fotônica, um elétron pode retornar ao seu estado fundamental, por uma combinação de várias etapas mecânicas. Essas etapas podem ser de desativação radioativa (fluorescência e fosforescência) envolvendo emissão de um fóton de radiação ou processo de desativação não radioativo (15). A Figura 1 ilustra algumas transições eletrônicas com a superposição das transições vibracionais.

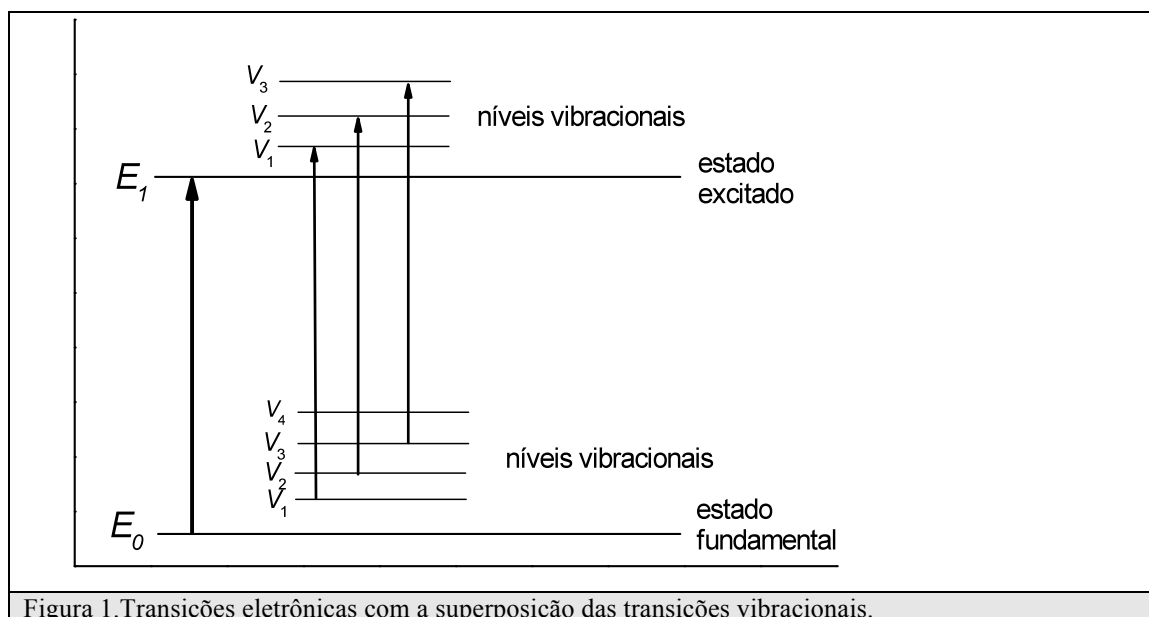


Figura 1. Transições eletrônicas com a superposição das transições vibracionais.

Este é um processo em nível molecular intrínseco de um determinado composto, sendo uma assinatura de sua presença em função de sua concentração. Dessa forma, torna-se altamente relevante estudar a fluorescência de aminoácidos aromáticos que compõem as fibras capilares como felaína, tirosina, triptofano e os seus resíduos, incorporados em uma cadeia peptídica (16). Nesses aminoácidos, foi observado um decaimento mono exponencial fluorescente (17). A conversão do grupo α -carboxílico no correspondente grupo amino ou sua protonação resulta em um complexo decaimento fluorescente.

Algumas explicações sobre esse comportamento foram estabelecidas por Gauduchon *et al.* (18) em um modelo de rotômero. Cowgill (19,20) Tournon *et al.* (21) e Feitelson (22) sugeriram que a ocorrência de luminescência dos aminoácidos de cadeia aromática acontece devido a uma transferência de cargas entre o grupo cromóforo aromático excitado (grupo pentol), agindo como um doador e as unidades eletrofilicas do grupo carbonílico do grupo amina, agindo como um receptor.

3. Objetivo

Nesse trabalho, procurou-se desenvolver uma metodologia segura para avaliar os danos térmicos sofridos por fibras capilares caucasianas quando expostas à temperatura de aproximadamente 80°C por diversos tempos. Os danos foram acompanhados por meio de medidas espectroscopia de reflexão difusa do aminoácido triptofano e seus produtos de degradação. A fim de se observar as mudanças morfológicas superficiais ocorridas durante os diversos tempos de exposição ao calor foram realizados estudos de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Desta forma pode-se observar a degradação interna e externa das fibras capilares.

4. Materiais e Métodos

4.1. Preparação das mechas

Foram preparadas dezoito mechas de cabelo caucasiano liso, levemente ondulado medindo 30 cm de comprimento fornecido pela DeMeoBrothers INC, pesando 5 gramas cada.

Todas as mechas foram submetidas a um processo padronizado de pré-limpeza utilizando uma solução 10% de Lauril Éter Sulfato de Sódio por um minuto seguido de enxágüe em água corrente. As mechas foram secas em um ambiente padronizado a 55 % de umidade relativa e 22°C e deixadas 24 horas em repouso antes dos ensaios.

4.2. Procedimento dos ciclos térmicos (escova)

4.2.1. Equipamentos utilizados

- Máquina automática de pentear de três compartimentos, equipada com escovas e secadores NKS® de 1200 W, Figura 02.
- Cronômetro Digital.



Figura 02: Máquina automática de pentear de três compartimentos, equipada com escovas e secadores NKS® de 1200 W

4.3. Ciclos Térmicos

4.3.1. Ciclo de escovação

As mechas foram previamente umedecidas e, em triplicata, foram colocadas ainda molhadas na máquina de pentear automática equipada com escovas, e mantidas por 30, 60, 120, 240, 360 minutos (T30, T60, T120, T240 e T360) e controle a uma velocidade de 16 RPM e com os secadores a aproximadamente 80 °C. Decorridos os respectivos minutos, desligou-se a escovação, mantendo as mechas sob ação apenas do secador por 30 segundos adicionais.

4.4. Avaliação de triptofano por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar.

A linha de excitação, para medida do triptofano, utilizada foi de 294 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do triptofano ~340 nm.

As mechas foram posicionadas em uma porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição térmica.

4.5. Avaliação do n-formil quinurenina por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar.

A linha de excitação utilizada foi de 320 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do quinurenina ~ 420 nm.

As mechas foram posicionadas em uma porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição térmica.

4.6. Avaliação da quinurenina por Espectroscopia de Fluorescência

Foi utilizado o espectrofotômetro de excitação e emissão Fluorolog - Jobin Yvan Horibe, modelo número FL3-12 com monocromador e lâmpada de xenônio, a qual possui todo o espectro da luz solar.

A linha de excitação utilizada foi de 350 nm, a qual demonstrou ser a de maior intensidade na linha de emissão do quinurenina ~ 430 nm.

As mechas foram posicionadas em uma porta-amostra sob o ângulo de 45° em relação à célula fotomultiplicadora. Foram realizadas 3 análises de espectroscopia de emissão para cada grupo composto por 03 mechas ($n_{\text{total}} = 9$, $n_{\text{independente}} = 3$).

Foram realizadas medidas basais e medidas após a exposição térmica.

4.7. Avaliação morfológica da superfície por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As fibras capilares controle, T30, T60, T120, T240 e T360 foram caracterizados por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Zeiss, modelo DSM 940-A. Nesta técnica, analisou-se a superfície das fibras, utilizando-se elétrons retroespalhados, para obtenção das imagens.

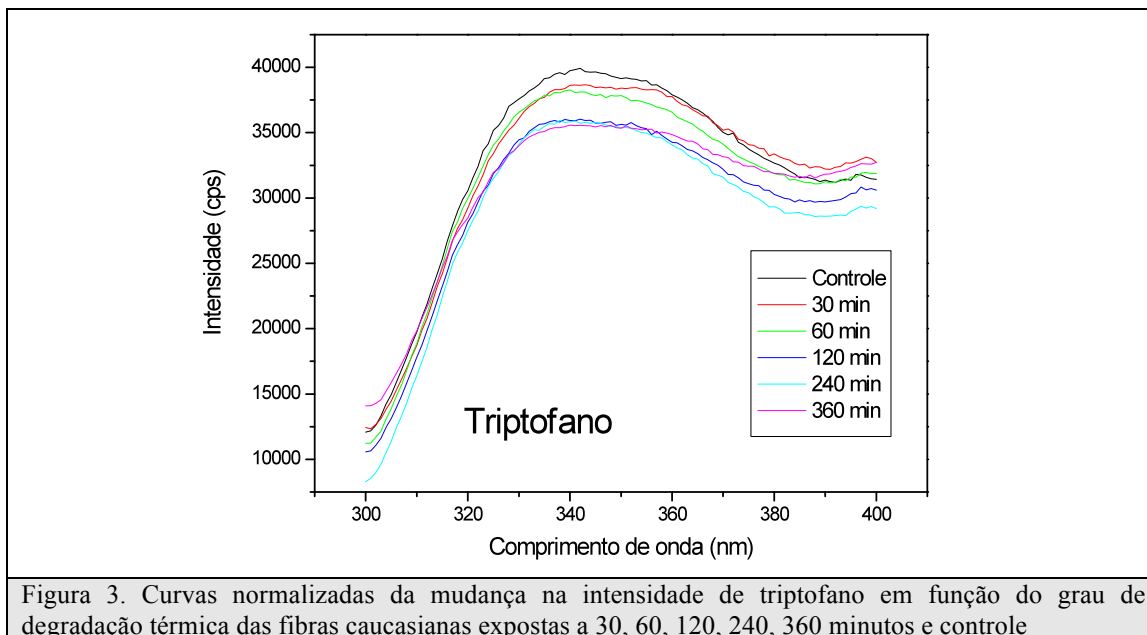
5. Resultados e Discussão

A Figura 2 apresenta os espectros normalizados de emissão do aminoácido triptofano (Trp) para fibras capilares caucasianas expostas a um tratamento térmico por 30, 60, 120, 240 e 360 minutos (T30, T60, T120, T240 e T360) e o controle. Cada espectro corresponde a três mechas com leituras em triplicata (9 leituras).

Vários testes foram realizados em um range de 300 a 400 nm para encontrar-se o comprimento de onda de excitação do triptofano que gera maior emissão. Encontrou-se que o comprimento de excitação para fibras capilares caucasianas foi de 294 nm e que a maior emissão está em aproximadamente 340 nm. O controle da umidade foi rigoroso, pois a emissão de fotoluminescência do Trp é muito sensível a variações de umidade. Somers et al.(21) estudaram as mudanças conformacionais da molécula de Trp, quando hidratadas pela água. A cinética de degradação de Trp também é modificada em função do teor de umidade, pois os processos fotolíticos geralmente são acelerados com o aumento de umidade. Assim, todas as medidas foram realizadas com controle de umidade de aproximadamente 55 ± 5 %.

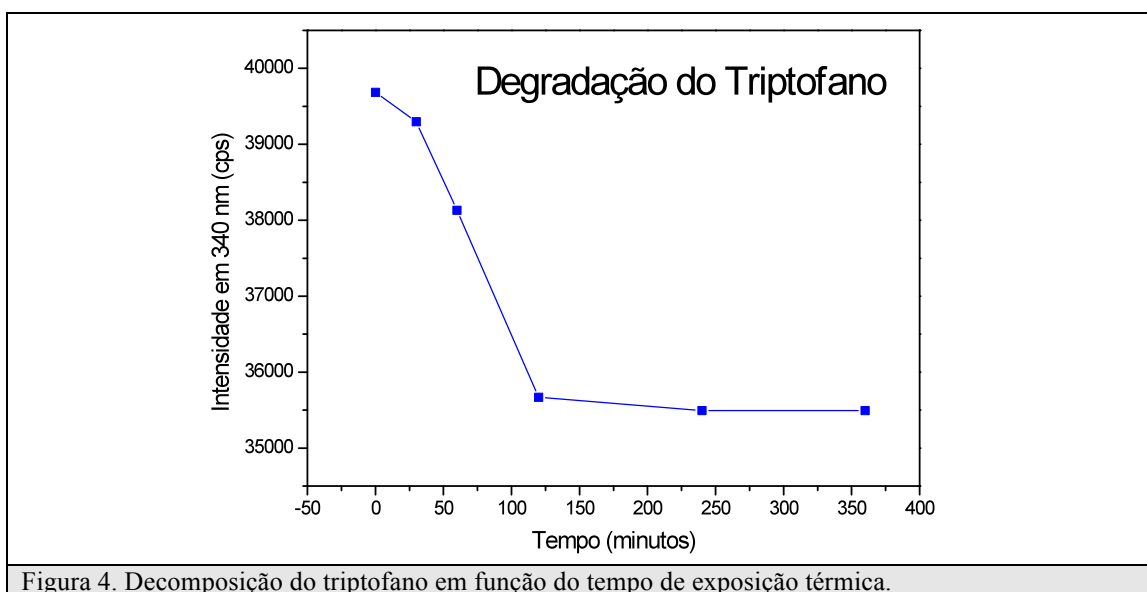
Observa-se na Figura 3 que a partir de 30 minutos de exposição ao calor há uma leve diminuição da intensidade de emissão de Trp. Nos tempos de exposição seguintes essa diminuição é maior, indicando uma maior degradação. Um ponto importante a ser ressaltado é que o aminoácido Trp é constituinte minoritário dos aminoácidos encontrados no córtex capilar. No entanto, sua degradação é notada a partir de 30 minutos de exposição ao calor. Para saber-se de maneira mais conclusiva se a degradação térmica do Trp é representativa da degradação térmica dos outros constituintes da fibra como um todo, principalmente da matriz cristalina (macrofibrilas), outras técnicas de avaliação se fazem necessárias.

A cinética de degradação do Trp, determinada pelas medidas de fluorescência, é complexa, e pode ser afetada por diversos fatores. Por exemplo, a não uniformidade da exposição das fibras em função de sua espessura, irá causar maiores danos em sua superfície do que em seu interior. Assim, devido a esse gradiente, a superfície da fibra degradará mais rapidamente que o seu interior. A cinética de degradação também será influenciada pela modificação da polaridade do ambiente devido ao aparecimento dos resíduos de Trp após a decomposição (27). Além disso, o feixe de fótons emitidos não é colimado, assim, parte da energia não é detectada pela fotomultiplicadora. Devido a essas complicações, uma análise cinética termodinâmica rigorosa e quantitativa não pode ser realizada. No entanto, essa técnica experimental é suficientemente precisa para fins comparativos ou qualitativos (vide Figura 2). Nessa Figura observa-se claramente que o Trp degrada-se mais com o aumento do tempo de exposição ao calor. No entanto, esta degradação não é tão acentuada (cerca de 11,05%). Para se ter um panorama mais completo do caminho dessa degradação, temperaturas mais elevadas de exposição deveriam ser avaliadas. Assim, estudos futuros complementares se fazem necessários até temperaturas por volta de 160°C, as quais são alcançadas, por exemplo, com o uso de piastras.



Na Figura 4 observa-se a redução de intensidade do Trp é bastante acentuada até o tempo T120. A partir daí a curva se estabiliza e mesmo com um tempo bem maior de exposição (T360), não há mais aumento da degradação térmica desse aminoácido quando exposto a temperatura de aproximadamente 80°C. Assim, ocorre uma saturação do sistema em tempos maiores que 120 minutos.

Seguindo o caminho de degradação do Trp quando exposto à radiação solar, investigou-se se com o calor (tratamento térmico), observariam-se os mesmos produtos de degradação, o n-formil quinurenina e a quinurenina.



O comprimento de onda de excitação que provoca maior intensidade de emissão do n-formil quinurenina foi de 320 nm e o pico de maior emissão, aproximadamente 420 nm. A Figura 5 ilustra a formação do n-formil quinurenina em função do tempo de exposição ao calor. Observa-se nesta figura que formação deste produto de degradação, não são significativas (menores que 5,7 %) e assim não se pode afirmar que são formadas nessa temperatura de tratamento térmico.

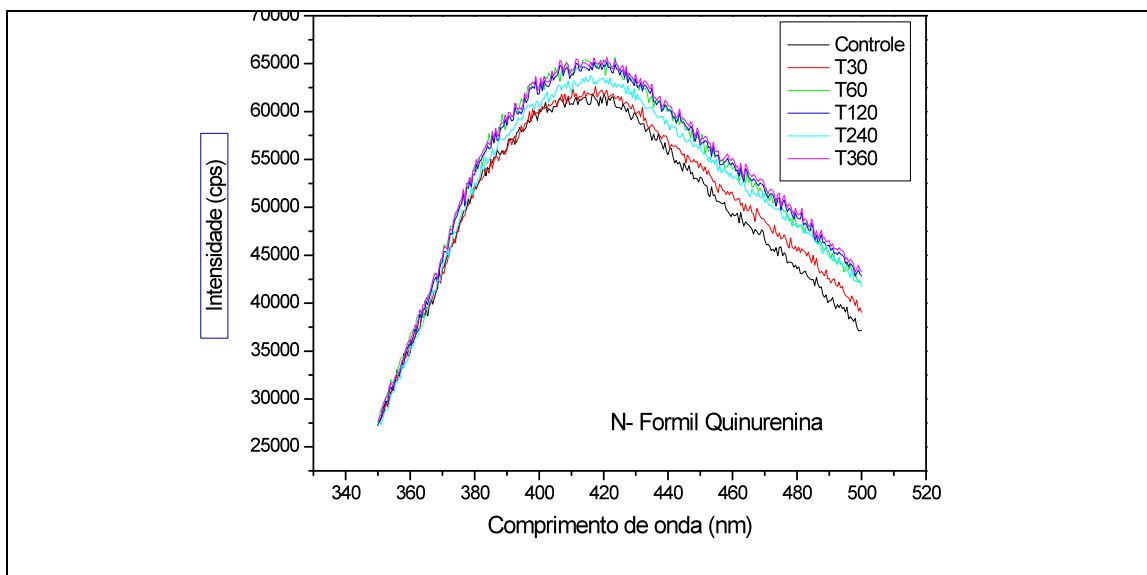


Figura 5. Formação da n-formil quinurenina em função do tempo de exposição térmica. Energia de excitação de 320 nm e emissão ~420 nm (curvas normalizadas).

Na sequência dos resíduos formados pela degradação do Trp está a quinurenina. A mesma, foi excitada à 350 nm e obteve maior emissão em aproximadamente 430 nm. A Figura 6 ilustra o comportamento da quinurenina no comprimento de onda de maior emissão ~ 430 nm em função do tempo de exposição térmica.

Pela análise da Figura 6 observa-se que não houve uma significativa formação de quinurenina, pois os valores encontram-se dentro de um range de 6,3%, que devido às variáveis experimentais discutidas anteriormente, não é uma mudança significativa de intensidade.

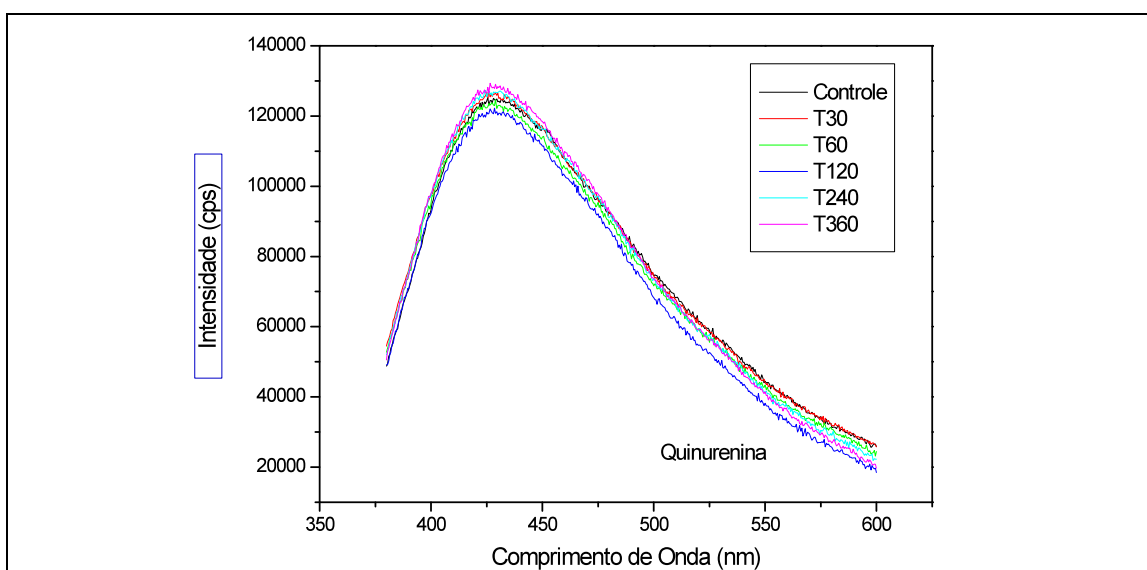


Figura 6. Formação da quinurenina em função do tempo de exposição térmica. Energia de excitação de 350 nm e emissão ~430 nm (curvas normalizadas).

As reações que envolvem a formação de radicais livres são amplamente discutidas na literatura. Uma das características básicas desse tipo de reação são as reações em cadeia. Nelas os radicais livres formados, são produtos instáveis e atacam quimicamente os reagentes e assim, ocorre um crescimento exponencial desses radicais. Nos mecanismos de fotodegradação esse comportamento é observado, mas a termodegradação do Trp não seguiu o mesmo caminho de reação. Observa-se uma pequena degradação do Trp até 120 minutos de exposição ao calor. No entanto, essa degradação não é seguida da formação de

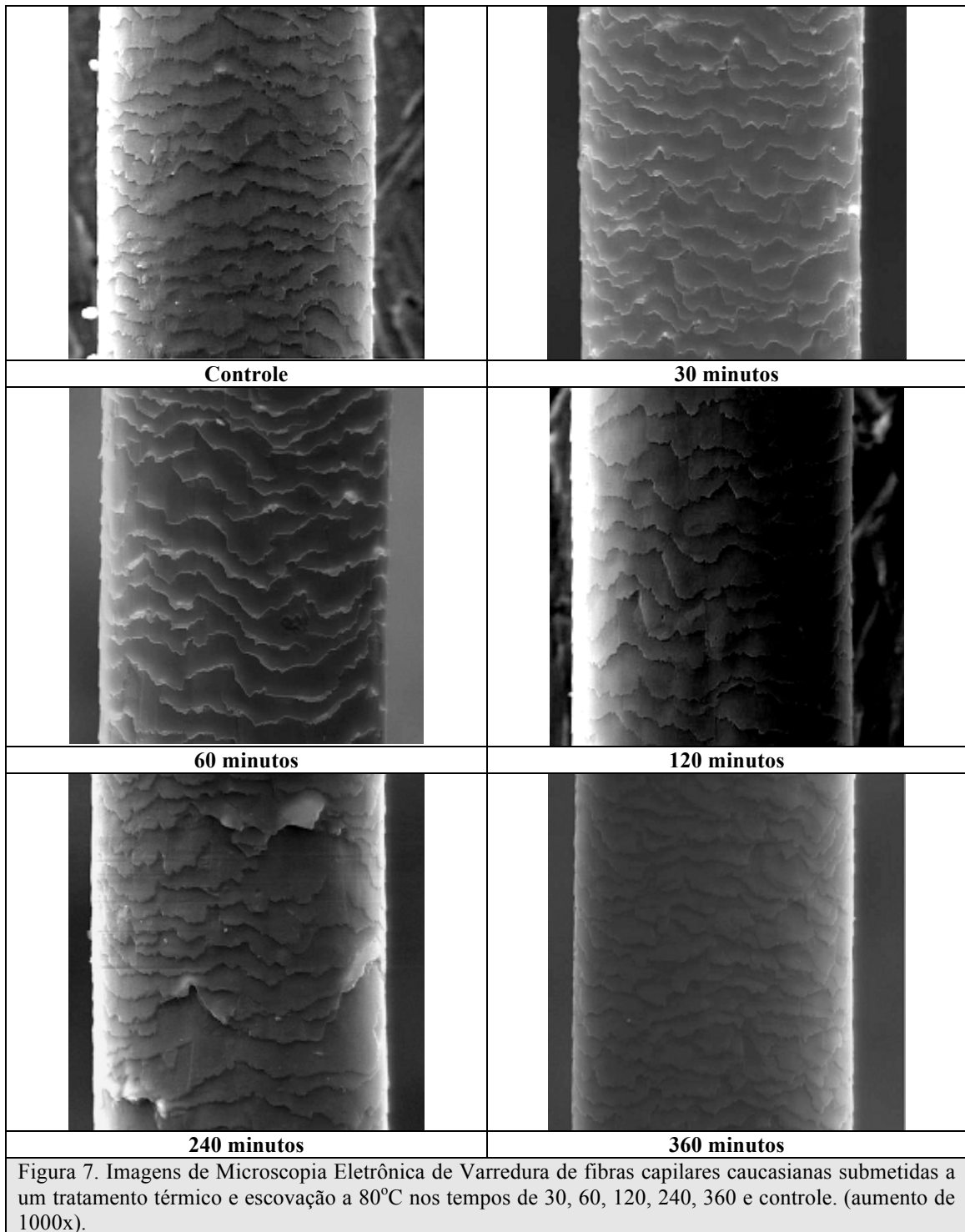
radicais e assim não se retroalimenta. Desse modo, após 120 minutos de exposição há uma saturação do sistema. Pode-se prever pelas discussões acima que provavelmente a energia de ativação para a formação de radicais livres não é alcançada para temperaturas em torno de 80°C.

Muitas variáveis desse complexo processo devem ser avaliadas. Medidas em função da temperatura de exposição ao calor também se fazem necessárias (até aproximadamente 160°C) para se investigar o comportamento dos radicais e dos produtos de reação. Outras investigações onde se acompanhasse a degradação da α queratina (componente majoritário das fibras) também seriam interessantes, para inferir-se que medidas do aminoácido Trp é uma forma segura de avaliação dos danos causados nas fibras como um todo.

Para a análise dos danos morfológicos ocorridos na superfície da fibra capilar realizaram-se imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A Figura 7 ilustra esses resultados. Observa-se uma mudança na superfície da fibra já a partir de 30 minutos de exposição ao calor, as cutículas já não se apresentam tão nítidas como na amostra controle. Na seqüência de tempos de exposição a degradação continua, demonstrada pela nítida lixiviação da estrutura cuticular. No tempo de 240 minutos essa degradação é muito intensa indicando uma não uniformidade das cutículas, lixiviação e descolamento. Após 360 minutos de exposição térmica observa-se que a cutícula está mais fina, ou seja, as primeiras camadas de cutícula que envolvem a fibra foram retiradas e a estrutura do córtex já é visível.

Diferente do observado na degradação do Trp, no qual houve uma estabilização da decomposição deste a partir de 120 minutos, na superfície da fibra capilar houve uma degradação contínua. Deve-se ressaltar que a superfície da fibra sofreu degradação mecânica também, devido ao processo de escovação. Assim, os efeitos dessa ação mecânica é maior na superfície do que no córtex. O efeito do aquecimento também é maior na superfície, pois está em contato direto com o calor. Com o aumento do tempo de exposição ao calor esse gradiente de temperatura entre a superfície e o córtex tende a diminuir.

Desse modo, nos processos diários de escovação e aquecimento com secador principalmente a estrutura cuticular da fibra é prejudicada. Assim, os produtos cosméticos produzidos para esse fim devem se concentrar em proteger principalmente a superfície da fibra contra a ação mecânica e ao calor, como exemplo um filme polimérico ou protéicos ou silanos recobrimo a fibra.



5. Conclusão

A técnica de espectroscopia de fluorescência é suficientemente precisa para fins comparativos ou qualitativos. Verificou-se que a partir de 30 minutos de exposição ao calor há uma leve diminuição da intensidade de emissão de Trp. Nos tempos de exposição seguintes essa diminuição é maior, indicando uma maior degradação que se estabiliza a partir de 120 minutos, ocorrendo assim uma saturação do sistema em tempos maiores a 80°C.

Observa-se que a formação do n-formil quinurenina e da quinurenina não são significativa, visto que seus valores encontram-se em torno de 5,7 e 6,3%, respectivamente, e assim não se pode afirmar que os produtos de degradação do triptofano são formados nesta temperatura de tratamento térmico. Uma das características básicas de reação de formação de radicais livres, são as reações em cadeia. Nelas os radicais livres formados, são produtos instáveis e atacam quimicamente os reagentes e assim, ocorre um crescimento exponencial destes radicais. Nos mecanismos de fotodegradação este comportamento é observado, mas a termodegradação do Trp não seguiu o mesmo caminho de reação. Assim, pode-se prever que provavelmente a energia de ativação para a formação de radicais livres não é alcançada para temperaturas em torno de 80°C.

Na análise dos danos morfológicos ocorridos na superfície da fibra capilar por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), observou-se uma mudança na superfície da fibra já a partir de 30 minutos de exposição ao calor. Na seqüência de tempos de exposição ao calor a degradação continua, demonstrada pela nítida lixiviação da estrutura cuticular.

Diferentemente do observado na degradação do Trp, no qual houve uma estabilização da decomposição do mesmo a partir de 120 minutos, na superfície da fibra capilar houve uma degradação contínua. Deve-se ressaltar que a superfície da fibra sofreu degradação mecânica também, devido ao processo de escovação, desse modo, nos processos diários de escovação e aquecimento com secador principalmente a estrutura cuticular da fibra é prejudicada.

Para se ter um panorama mais completo do caminho dessa degradação e do comportamento dos radicais e de seus produtos, temperaturas mais elevadas de exposição deveriam ser avaliadas. Assim, estudos futuros complementares se fazem necessários até temperaturas por volta de 160°C, as quais são alcançadas, por exemplo, com o uso de piastras.

7. Referências Bibliográficas

1. RUNDALL, K. M. Proc. Leeds Philos. Soc. v. 4, p. 13, 1941.
2. WOLFRAM, L. J.; LINDEMANN, M. J. Soc. Cosmet. Chem., v. 22, p. 839, 1971.
3. JACHOWICZ, J. Hair damage and attempts to its repair. J. Soc. Cosmet. Chem., p. 286, 1984.
4. ROBINS, C. Chemical and Physical Behaviour of Human Hair. Springer-Verlag, New York, 1988.
5. ZVIAK C. e DAWBER, P. R., Hair Structure and Function, in The Science of Hair Care, Zviak, Ed. Marcel Dekker, New York, p. 1-44, 1989.
6. ROBBINS, C., Chemical and Physical Behavior of Hair, 3 ed., Springer-Verlag, New York, p. 120-152, 1994.
7. GARCIA, M. L.; EPPS, J. A.; YARE, R. S., Normal cuticle-wear patterns in humans hair, J. Soc. Cosmet. Chem., v. 29, p.155, 1976.
8. HOTING, E.; ZIMMERMANN, M., Photochemical alterations in human hair. Part III: Investigations of internal lipids, J. Soc. Cosm. Chem., v. 47, p. 201, 1996.
9. PANDE, C.; J. JACHOWICZ, Hair photodamage-Measurement and prevention, J. Soc. Cosm. Chem., v. 44, p. 109, 1993.
10. MILCZAREK, P.; ZIELINSKI, M.; GARCIA, M., The mechanism and stability of thermal transitions in hair keratin, Colloid Polym. Sci., p. 207,1106, 1992.
11. CRAWFORD, R.; ROBBINS, C.; CHESNEY, K., A hysteresis in heat dried hair, J. Soc. Cosm. Chem., v. 32, p. 27, 1981.
12. REBENFELD, L.; WEIGMENN, H.; DANSIZER, C., Temperature dependence of the mechanical properties of human hair in relation to structure, J. Soc. Cosmet. Chem., v. 17, p. 525, 1966.
13. HUMPHRIES, W.; MILLER, D.; WILDNAUER, R., The Thermomechanical analysis of natural and a chemically modified human hair, J. Soc. Cosm. Chem., v. 23, p. 359, 1972.
14. TOLGYESI, E., Weathering of hair. Cosmet. Toiletr., v. 98, p. 29-33, 1983.
15. SKOOG, D. A.; LEARY, J. J., Principles of instrumental analysis, 4. ed. Orlando, Sanders Colleg Publishing, 1992.

16. GUZOW, K.; GANZKOWICZ, R.; RZESKA, A.; MROZEK, J.; SZABELSKI, M.; KAROLCZAK, J.; LIWO, A.; WICZK, W., Photophysical properties of tyrosine and its sample derivatives studied by time-resolved fluorescence spectroscopy, global analysis and theoretical calculations. *J. Phys. Chem. B*, v. 108, p. 3879-3889, 2004.
17. SOMER, K. R. F.; CEULEMANS, A., Absorption and fluorescence of 3-methylindole: A theoretical study, including H₂O interactions. *J. Phys. Chem. A*, v. 108, p. 7577-7583, 2004.
18. GAUDUCHON, P.; WHAL, P., *Biophys. Chem.*, v. 8, p. 87-104, 1978.
19. COWGILL, R. W., *Biochim. Biophys. Acta.*, v. 133, p. 6-18, 1967.
20. COWGILL, R. W., *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 100, p. 36-44, 1963.
21. TOURNON, J. E.; KUNTZ, E.; BAYOUMI, M. A., *Photochem. Photobiol.*, v. 16, p. 425-433, 1972.
22. FEITELSON, J., *J. Phys. Chem.*, v. 68, p. 391-397, 1964.
23. LAKOWICZ, J., *Principle of fluorescence spectroscopy*. Plenum Press, New York, 1983.