

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

FACOLTÀ DI CHIMICA INDUSTRIALE
Corso di Laurea Magistrale in Chimica Industriale
Classe LM-71- Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**INDAGINE SUL MECCANISMO DI STIRATURA
SEMIPERMANENTE DEL CAPELLO PER LA
RICERCA DI ALTERNATIVE ALL'USO DI
ALDEIDE FORMICA**

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

Presentata da:
Federico Ascari

Relatore:
Prof.ssa **Carla Boga**

Co-relatori:
Dott. **Gabriele Micheletti**
Prof.ssa **Barbara Ballarin**
Dott. **Marco Morigi**

Sessione II

Anno Accademico 2011-2012

*A mio papà,
Dottore in Chimica Industriale
presso l'Università di Bologna nel 1975
venuto a mancare poco prima della fine di questa tesi.*



INDICE

1. INTRODUZIONE.....	1
1.1 CENNI STORICI.....	1
1.2 STRUTTURA DEL CAPELLO	2
1.2.1 Cuticola.....	2
1.2.2 Corticale	3
1.2.3 Midollo.....	4
1.3 STRUTTURA MOLECOLARE DEL CAPELLO	4
1.5 PROPRIETÀ FISICHE	8
1.5.1 Resistenza all'azione di stiramento	8
1.5.2 Resistenza al carico	10
1.5.3 Elasticità	10
1.5.4 Deformazione temporanea.....	10
1.5.5 Permeabilità e rigonfiamento	11
1.6 METODI CLASSICI DI DEFORMAZIONE PERMANENTE DEL CAPELLO	12
1.7 STIRATURA DEL CAPELLO.....	15
1.8 BREVETTI SUI SOSTITUTI DELLA FORMALDEIDE	16
2. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	19
2.1 REAZIONI FRA AMMINOACIDI E ALDEIDI	19
2.1.1. Cisteina e derivati.....	20
2.1.2. Lisina e derivati	23
2.2 ANALISI ATR-FT-IR E RAMAN SU MODELLI E SU FIBRE (PELI DI YAK).....	32
2.2.1 Analisi su molecole modello	32
2.2.2. Analisi su fibra.....	34
2.3 ANALISI SEM SU FIBRE	52
2.3.1 Comparazione fra pelo di yak e capello umano riccio.....	53
2.3.2 Analisi SEM su peli di yak sottoposti a diversi trattamenti.....	53
2.3.3 Analisi SEM su capello riccio umano sottoposto a diversi trattamenti.....	56
3. CONSIDERAZIONI FINALI.....	61
4 PARTE SPERIMENTALE	65
4.1 NOTE GENERALI.....	65
4.2 CARATTERIZZAZIONE PRODOTTI.....	67
4.2.1 Reazione tra N-acetil-L-cisteina e formaldeide.....	67
4.2.2 Reazione tra L-cisteina cloridrato e formaldeide	69
4.2.3 Reazione fra L-cistina e formaldeide	70
4.2.4 Reazione tra N-acetil-L-cisteina e acido gliossilico.....	70

4.2.5 <i>Reazione tra N-α-acetil-L-lisina e aldeidi aromatiche a temperatura ambiente</i>	72
4.2.6 <i>Reazione tra N-α-acetil-L-lisina e aldeidi aromatiche a 50 °C</i>	72
4.2.7 <i>Reazioni fra N-α-acetil-L-lisina e acido gliossilico</i>	76
4.3 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI PER LE ANALISI DI SPETTROSCOPIA RAMAN, ATR-FT-IR ED ANALISI DI MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE (SEM)	78
BIBLIOGRAFIA	I

1. INTRODUZIONE

1.1 CENNI STORICI^[1]

I primi tentativi di modifica della struttura dei capelli in modo semipermanente risalgono al tempo di Luigi XIV quando, per rendere ricce le parrucche, alcune ciocche venivano arrotolate su cilindri di terracotta, immerse in acqua bollente per 3 ore e quindi asciugate all'interno di forni. Tale metodo veniva chiamato "Hell's own curls" che si può tradurre come "riccioli del diavolo". Il primo vero trattamento con agenti chimici su capelli umani risale però al 1906 e consisteva nell'arrotolare singole ciocche, imbibite nel borace, su bigodini di ferro asciugandole poi a temperatura attorno ai 150 °C utilizzando particolari riscaldatori. Questo trattamento, che dava origine ad un ondulamento del capello in grado di resistere all'acqua e alle condizioni atmosferiche, risentiva tuttavia di non pochi effetti collaterali.

A tal proposito Hillier descrive tale procedimento con frasi umoristiche del tipo:

"Ci vuole un giorno intero per fare la permanente.. Le donne si raccontano a vicenda le rispettive ustioni... Gli scaldatori sono così pesanti che in una volta si possono fare solo pochi riccioli... è stato necessario colpirli con un martello per farli allentare... Il parrucchiere può usare uno schiaccianoci... Talvolta i capelli vengono via insieme al tampone..."^[2]

Nonostante questo processo fosse complicato e talvolta doloroso, esso diede inizio ad un nuovo mondo di ricerca che nei decenni successivi vide molti parrucchieri impegnati nella scoperta di nuove metodologie per la modifica permanente della morfologia del capello e nel perfezionamento dei processi chimici preposti a questo scopo.

Dal punto di vista del riscaldamento si è passati da un metodo diretto a uno indiretto attraverso l'uso di bigodini preriscaldati mentre per quanto riguarda le soluzioni alcaline utilizzate inizialmente, la loro efficacia fu migliorata attraverso l'aggiunta di agenti riducenti, come ad esempio solfiti.

Un'altra svolta nel campo della modifica permanente del capello è avvenuta col primo brevetto concesso nel 1940, il quale prevedeva l'uso di mercaptani nella permanente a freddo. Questo sviluppò un nuovo interesse dal punto di vista economico che spostò la ricerca dalle botteghe dei parrucchieri a laboratori specializzati che studiarono così più approfonditamente il processo.

Il concetto quindi sviluppatosi col tempo è che il capello originariamente è soggetto ad una deformazione elastica, pertanto esso deve essere reso plastico in modo che la deformazione sia in grado di persistere nel tempo.

1.2 STRUTTURA DEL CAPELLO ^[3]

Il fusto del capello é costituito da cellule cheratinizzate estremamente organizzate con un preciso orientamento in modo tale da impedire azioni di deterioramento quali l'azione dei raggi ultravioletti, operazioni di piega, tiraggio e frizione.

Seguendo una struttura cilindrica concentrica il fusto del capello è diviso in tre strati: quello più esterno si chiama cuticola, segue lo strato corticale ed infine il midollo.

1.2.1 Cuticola

La cuticola, come detto, è lo strato più esterno del capello. Essa ha una struttura pluristratificata formata da cellule sovrapposte l'una sull'altra; in media vi sono sette strati sulla radice del capello che diminuiscono man mano che si raggiunge la punta, un singolo strato ha generalmente cellule di dimensioni di 45 µm di lunghezza e uno spessore compreso tra i 0,5 µm e i 1,0 µm.

La cuticola di un capello riccio è molto diversa da quella di uno liscio. Mentre le squame di un capello riccio tendono ad essere molto aperte permettendo il penetrare dell'umidità, dell'acqua o di altre sostanze, quelle del capello liscio sono chiuse quasi ermeticamente lasciando come uniche vie di ingresso al capello la radice o la punta se tagliata.

Sia nel capello liscio che in quello riccio sono comunque distinguibili cinque subunità lamellari intracellulari: nelle estremità vi è la membrana cellulare (con epicuticola) seguono lo "strato A", l'esocuticola e l'endocuticola.

Lo "strato A", che è quello più esterno adiacente alla membrana cellulare, è uno strato amorfo in cui si trovano principalmente cistina e proteine altamente solforate.

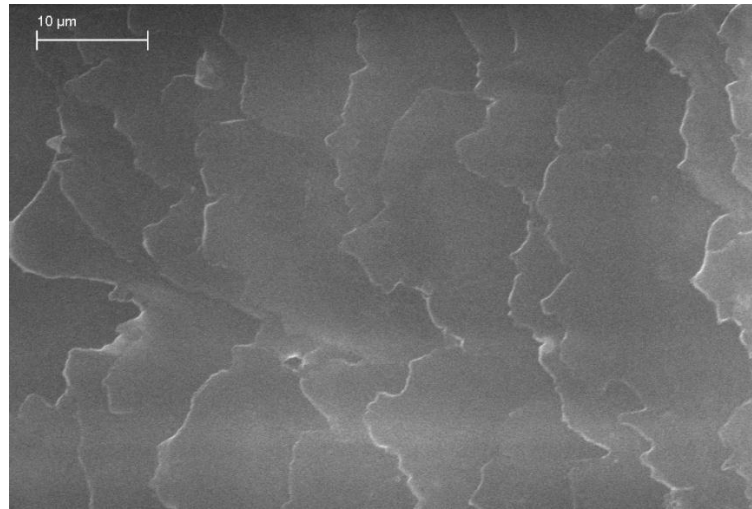


Fig. 1.1 Fusto del capello (Micrografia elettronica a scansione con ingrandimento 5000X)

Questo strato ha un'importanza rilevante in quanto funge da protettore del capello, sia per quanto riguarda le azioni fisiche che chimiche, senza il quale il capello si distruggerebbe.

L'esocuticola, che consiste nello strato centrale, è composta da proteine ad alto contenuto di zolfo simili a quelle dello "strato A".

Infine vi è l'endocuticola, la cui superficie di contatto con l'esocuticola è ondulata, che contiene residui di organuli cellulari.

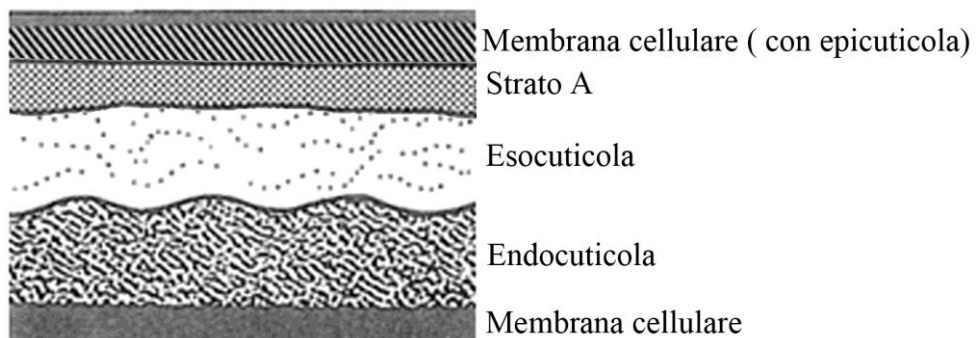


Fig. 1.2 substrati della cuticola

1.2.2 Corticale

La corticale è la parte centrale del fusto e ad essa sono da attribuirsi le proprietà meccaniche del capello. Essa è costituita da circa un 40% di proteine ricche di zolfo, e da un 60% di proteine tipo α -elica a basso contenuto di zolfo.

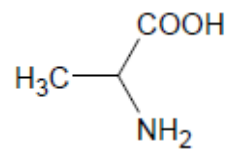
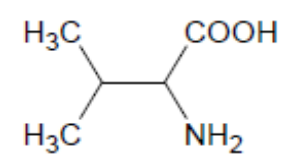
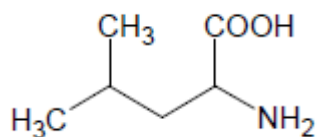
La dimensione della corteccia del pelo varia in base al numero di cellule del bulbo che possono dare mitosi e alla loro velocità di divisione cellulare.

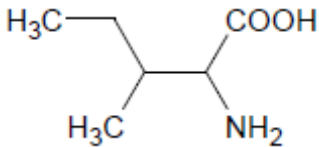
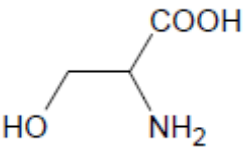
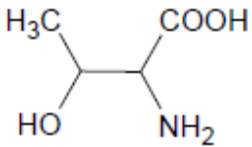
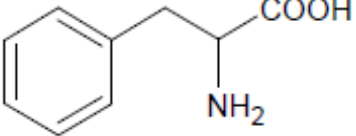
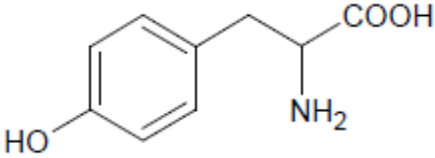
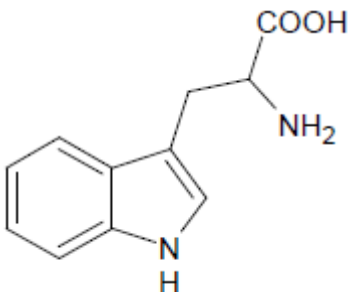
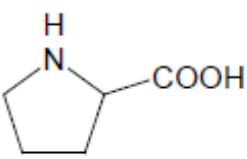
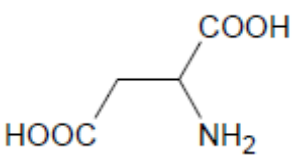
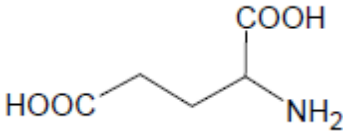
1.2.3 Midollo

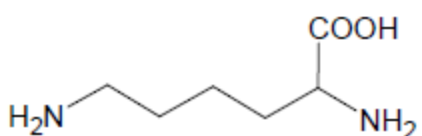
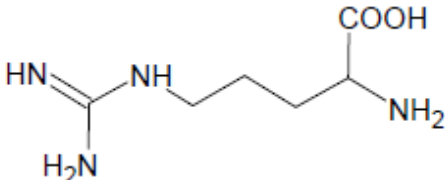
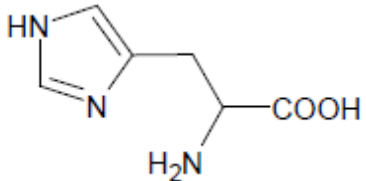
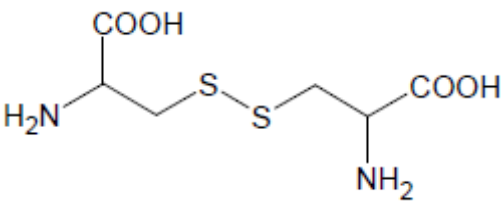
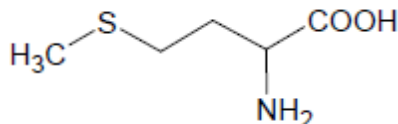
Ampiamente presente nel pelo animale, nel capello umano il midollo è spesso intermittente lungo il fusto fino ad essere totalmente assente in alcuni punti. Ciò fa supporre che nel capello umano il midollo abbia totalmente perso la sua funzione originale di termoregolazione.

1.3 STRUTTURA MOLECOLARE DEL CAPELLO ^[4]

Attraverso l'analisi elementare è stato definito che il capello è mediamente composto da 45,2% di carbonio, 6,6% di idrogeno, 27,9% di ossigeno, 15,1% di azoto e 5,2% di zolfo. Inoltre vi è la presenza di uno 0,2-0,9% di altri elementi che ne configurano la pigmentazione e vi è anche un certo numero di tracce di metalli che attraverso ponti salini o complessi di coordinazione con le catene laterali di pigmento o proteine sono inglobati nel capello. I metalli più frequenti sono Ca, Cd, Cr, Cu, Hg, Zn, Pb, Fe, As e Si. Il capello è formato principalmente dalla cheratina, una proteina fibrosa, la quale non è altro che una sostanza ad alto peso molecolare formata da catene polipeptidiche prodotte dalla condensazione di amminoacidi (identificabili dopo idrolisi della cheratina) presenti in percentuale relativa come descritto in tabella 1.1.

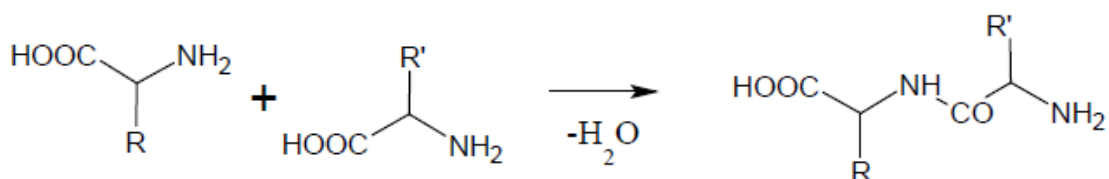
	Composti Aciclici	
Alanina		2,8-3,5%
Valina		5-5,8%
Leucina		6,4-6,9%

Isoleucina		2,3-3,5%
Serina		9,6-10,8%
Treonina		6,5-7,5%
Composti ciclici aromatici		
Fenilalanina		2,2-2,8%
Tirosina		2,1-2,7%
Composti eterociclici		
Triptofano		0,8-1,2%
Prolina		7-7,8%
Diacidi monoamminici		
Acido aspartico		5,6-6,5%
Acido glutammico		14,3-15,5%

Diammine monoacidi che		
Lisina		2,6-3,1%
Arginina		8,8-9,6%
Istidina		0,8-1,1%
Composti contenenti Zolfo		
Cistina		14,0-16,5%
Metionina		0,5-0,9%

Tab. 1.1 Amminoacidi presenti nella cheratina

La reazione imputata è la seguente:



Schema 1.1 Reazione di formazione del legame peptidico

Le catene polipeptidiche cheratiniche sono orientate parallelamente all'asse longitudinale del fusto del capello.

L'ipotesi più accreditata è che nel capello stirato le catene polipeptidiche si srotolino e si dispongano assumendo una struttura di tipo β -cheratina.

Questo tipo di stiratura è di tipo reversibile in quanto una volta interrotta la tensione, le catene tendono a tornare nello stato di equilibrio, cioè nella forma di α -cheratina (con diametro dell'alfa elica di 9,8 Å).

I tipi di legami principalmente presenti nell' α -elica, che determinano la sua stabilità sono: legami S-S cistinici incrociati intercatena, interazioni elettrostatiche tra residui amminoacidici laterali, legami ad idrogeno e interazioni idrofobiche. La modifica della morfologia della struttura del capello in modo permanente o semipermanente passa quindi dalla rottura con successivo riarrangiamento di questi tipi di legame. Da qui sorge il limite fondamentale nelle tecniche di stiratura permanente poiché la rottura dei legami covalenti può portare ad una destabilizzazione della catena che in seguito ad uno stress provoca la rottura del capello.

I legami più forti sono quelli cistinici covalenti, caratteristici della struttura cheratinica; essi hanno una frequenza di circa 1 ogni 4 giri di elica e sono considerati anche il punto debole della struttura in quanto più suscettibili all'attacco chimico da parte di agenti ossidanti e riducenti.

Le interazioni elettrostatiche o legami salini, presenti 1 volta ogni 2 giri d'elica, si formano tra gruppi laterali di amminoacidi di natura acida o basica.

La forza di questi legami elettrostatici è massima al punto isoelettrico. Pertanto in un mezzo altamente dielettrico come l'acqua, questa forza andrà a diminuire fino a sopprimersi totalmente in mezzi acidi e alcalini, a causa della protonazione dei gruppi carbossilato e della deprotonazione dei gruppi ammoniacali.

I legami ad idrogeno si formano principalmente fra gli atomi di ossigeno carbossilici di una catena e gli atomi di idrogeno di idrogeno tra i gruppi NH peptidici di un'altra catena. Un fenomeno da attribuirsi a questo tipo di legame è il rigonfiamento dei capelli in soluzioni acide o alcaline.

Infine vi sono le interazioni idrofobiche causate dalle catene apolari, le quali in presenza di acqua tendono a formare aggregati privi di acqua. Gli amminoacidi che danno questo tipo di interazione sono quelli privi di gruppi funzionali nelle catene laterali quali: alanina, valina, isoleucina e leucina. Questi legami idrofobici sono particolarmente numerosi e nonostante l'energia di una singola interazione sia piuttosto debole, si pensa contribuiscano alla coesione per la loro notevole presenza.

Ne consegue che la cheratina è una proteina complessa con una struttura altamente organizzata, un alto contenuto di zolfo, differenti tipi di legami e biochimicamente strutturata in modo da resistere ad azioni di deterioramento quali tiraggio, piegamento, frizionatura e l'azione dei raggi ultravioletti.

La presenza di diversi amminoacidi fa sì che non esista solamente un tipo di cheratina, ma ve ne siano diversi tipi in base alla loro distribuzione. Per questo motivo si avranno comportamenti chimici che variano a seconda del tipo di cheratina.

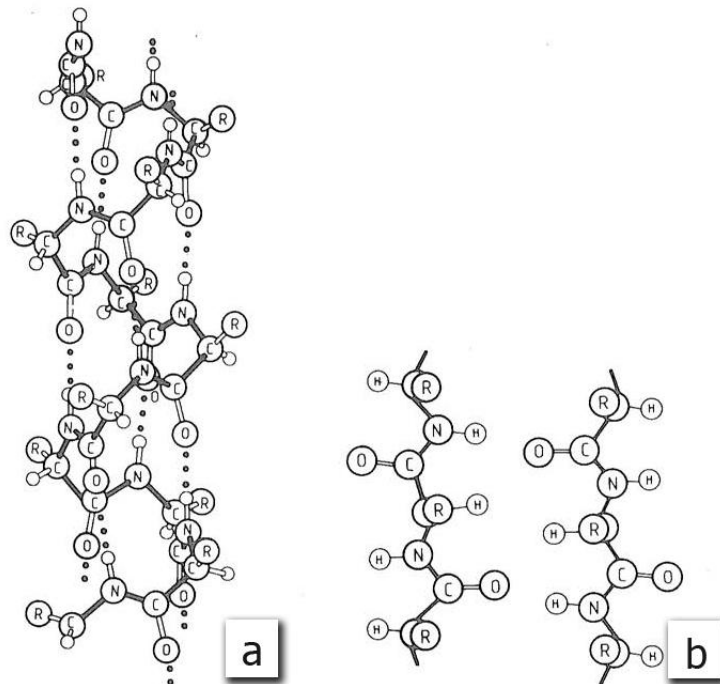


Fig. 1.3 (a) struttura della α -cheratina; (b) struttura della β -cheratina
[C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, Masson, 1987, pag. 17]

1.5 PROPRIETÀ FISICHE ^[5]

La maggior parte delle proprietà fisiche del capello dipendono dal diametro e dalla forma della fibra, che nella specie umana varia passando da una forma più ellittica, tipica degli afroamericani, a una più rotonda degli orientali. Piccole modifiche a livello chimico possono provocare variazioni nelle capacità di tensione del capello.

1.5.1 Resistenza all'azione di stiramento

Il rapporto tra carico e allungamento di un capello è descrivibile attraverso un diagramma nel quale si possono individuare principalmente tre zone (figura 1.4):

1. Zona di Hookean (A): in tale zona, applicando un 2% dello stiramento, l'allungamento è proporzionale al carico, e si ha un comportamento meccanico simile a quello viscoelastico lineare.
2. Yield region (B): nella quale lo stiramento varia tra il 2% e il 25-30% e l'allungamento aumenta notevolmente con un carico modesto.
3. Post Yield (C): dove con stiramento maggiore del 30% l'andamento carico/estensione ritorna proporzionale; è principalmente in questa zona che è la possibile rottura della fibra.

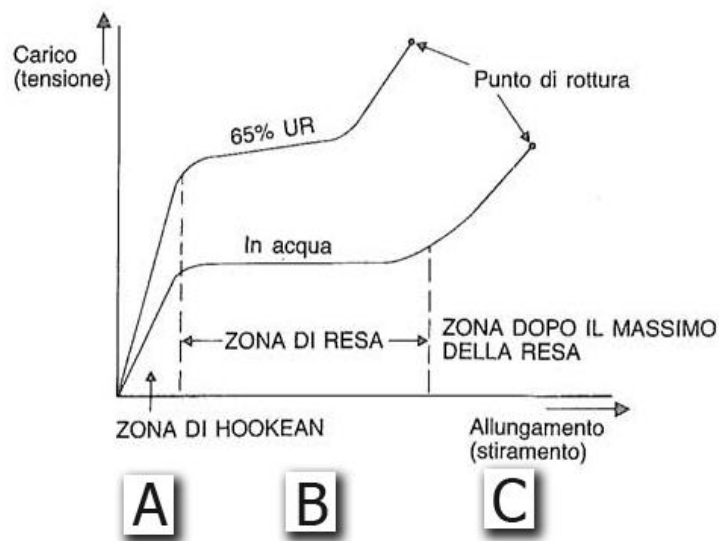


Fig. 1.4 Curve carico-allungamento del capello in acqua e al 65% di umidità relativa

[C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, Masson, 1987, pag. 31]

Il capello presenta quindi un comportamento inizialmente simile a quello di un solido cristallino (corrispondente alla zona A), successivamente simile a un solido amorfo o un liquido (corrispondente alla zona B) per poi comportarsi come un solido (corrispondente alla zona C).

Questo fenomeno è stato meglio studiato con l'avvento dei raggi X, attraverso i quali è stato possibile verificare effettivamente il passaggio dall' α -cheratina (zona A) alla β -cheratina (zona C).

Fattore importante per poter determinare la pendenza delle curve è il contenuto di cistina nel capello.

Per quanto riguarda la zona B l'inizio è determinato dalla coesione dell' α -cheratina. Lavorando con agenti in grado di abbassare la coesione, è possibile diminuire il valore di carico per il passaggio dall' α -cheratina alla β -cheratina. Un esempio di questo

comportamento è che il valore di carico della fibra bagnata è la metà di quello della fibra asciutta, fatto dovuto all'allentamento dei legami idrogeno e dei legami elettrostatici.

Nelle tecniche di acconciatura, attraverso l'utilizzo di formulati riducenti e ossidanti, c'è la variazione delle curve nelle quali vi è un aumento della possibilità di stiramento nelle zone A e B con una diminuzione del valore di carico per la transizione da A a B.

1.5.2 Resistenza al carico

Il capello è considerato una fibra molto resistente. Infatti ci vogliono all'incirca 50-100 g di carico per rompere un singolo capello naturale sano e fino a 12 tonnellate per spezzare una intera capigliatura (stimata contenere circa 120.000 capelli).

La rottura di un capello si verifica con un carico di circa 12×10^7 Pa, superiore a quello del punto di rottura dell'alluminio.

Questi valori naturalmente dipendono dall'etnia, dall'età (l'apice è a circa 20 anni), e al diametro della fibra; infatti essa non è omogenea e la parte midollare (proporzionale al diametro) è meno resistente allo stiramento. Ciò fa sì che il capello si comporti come una fibra rinforzata. Perciò un capello afroamericano risulta particolarmente fragile a causa della struttura schiacciata nella zona di torsione; al contrario, un capello asiatico risulta essere molto più forte indipendentemente dal diametro.

1.5.3 Elasticità

Il capello, sia bagnato che asciutto, se viene steso fino ad una soglia del 30% circa (finché un terzo dell' α -cheratina è stata srotolata e diventata β -cheratina) mantiene un comportamento elastico. Oltre questa soglia si raggiunge la zona Post Yield (figura 1.4) e ciò si traduce in un aumento della rigidità e in una deformazione irreversibile.

Generalmente però con i normali trattamenti effettuati dai parrucchieri non si supera mai il 25%.

1.5.4 Deformazione temporanea

Sperimentalmente è stato dimostrato che stirando dei capelli asciutti in un range compreso tra il 2% e il 25%, ponendoli poi in acqua per 20 minuti e asciugandoli mantenendoli sotto tensione, la loro lunghezza assumerà un valore intermedio tra quello

originario e quello di massimo allungamento ma, anche se molto lentamente, tornerà alla sua lunghezza originaria.

Il capello di conseguenza subisce una deformazione temporanea, infatti se lo stesso campione venisse messo nuovamente in acqua riprenderebbe la lunghezza originaria.

Questo tipo di deformazione viene spiegato dal fatto che una stiratura maggiore del 2% porta ad una trasformazione dell' α -cheratina in β -cheratina, questa è accompagnata da uno scivolamento delle catene polipeptidiche una rispetto all'altra facilitato dalla presenza di acqua, che provoca una rapida rottura dei legami deboli (legami ad idrogeno e ponti salini).

Nel passaggio finale, l'asciugatura sotto tensione, vengono formati nuovi legami ad idrogeno e ponti salini determinando così una parziale resistenza al ritorno alla struttura originaria. Diversamente, il capello tende a riassumere immediatamente la struttura originaria se viene nuovamente posto in acqua e asciugato senza imporre tensione.

1.5.5 Permeabilità e Rigonfiamento

Il capello di norma non è altamente idroscopico, tuttavia se viene mantenuto a contatto con acqua per un tempo sufficiente, la cheratina del capello è in grado di assorbirla fino a valori compresi tra il 35% e il 40% del suo peso. Quest'acqua assorbita si lega in parte alla cheratina attraverso legami ad idrogeno, in parte rimane nella sua forma libera. Il capello di conseguenza subisce un rigonfiamento anisotropo aumentando il proprio diametro fino al 20% pur mantenendo pressoché invariata la lunghezza.

Il pH incide fortemente sulle dimensioni del rigonfiamento, che risulta maggiore in presenza di sostanze alcaline.

Oltre all'acqua anche diversi composti polari riescono a provocare questo fenomeno di rigonfiamento. Ad esempio l'urea, la tiourea, l'acetamide, il bromuro di litio e la formamide, che sono tutti composti che portano alla formazione di legami ad idrogeno.

Tale comportamento di assorbimento e rigonfiamento risulta particolarmente importante per numerosi trattamenti in quanto rappresenta la via di ingresso più facile per far reagire la struttura del capello con molecole organiche.

Per quanto riguarda le dimensioni si può immaginare che la cheratina abbia un comportamento assimilabile a quello di una spugna con pori di 5Å di diametro che, se in presenza di acqua raggiungono i 40Å di diametro, attraverso l'utilizzo di soluzioni fortemente polari si raggiungono dimensioni anche maggiori.

Tuttavia i legami reticolari del capello sono in grado di opporsi all'introduzione di acqua oltre un certo limite e alla penetrazione di molecole con grandezza maggiore rispetto al diametro dei pori. Proprio per questo motivo in molti trattamenti vengono utilizzate sostanze quali l'urea, capace di rompere i legami ad idrogeno, o sostanze basiche, in grado di spezzare i legami disolfurici. In particolare con l'utilizzo di quest'ultime sostanze si può raggiungere un rigonfiamento pari al 300% delle dimensioni originarie.

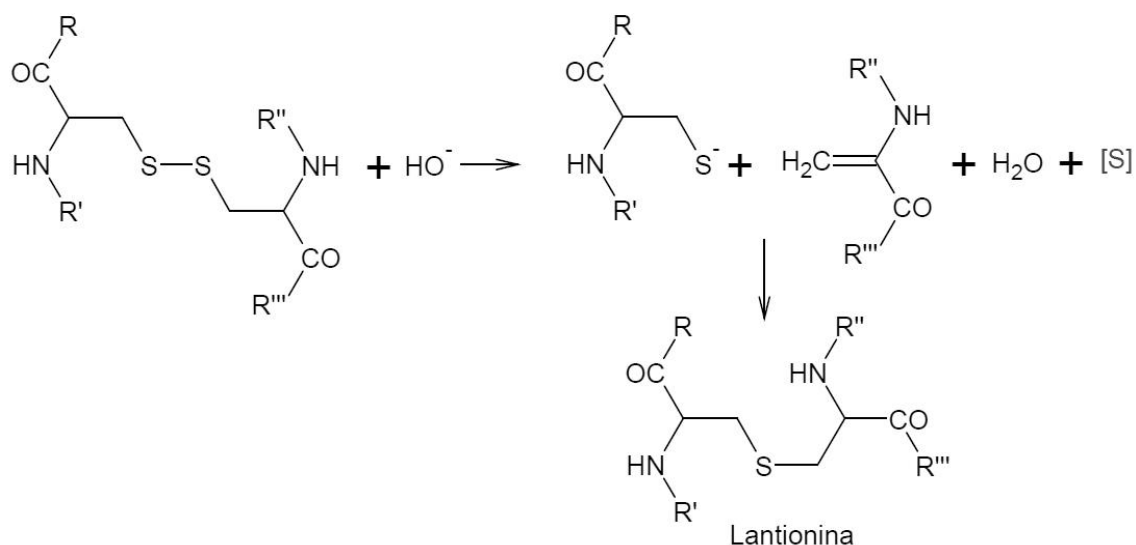
1.6 METODI CLASSICI DI DEFORMAZIONE PERMANENTE DEL CAPELLO ^[6]

Come detto precedentemente il capello è una fibra elastica: quando viene deformato, se non si interviene sulla struttura, esso tende a riprendere la forma iniziale. La deformazione permanente del capello si è avvalsa quindi, fin dai primi anni del secolo scorso, dell'uso di prodotti chimici combinato o meno con il calore.

In Europa i trattamenti desiderati sono stati fino a qualche decennio fa soprattutto di tipo arriccicante, denominati permanente.

Storicamente, la deformazione permanente del capello si è avvalsa dell'azione del calore, di prodotti alcalini e di agenti riducenti. Sia nel trattamento con prodotti alcalini che in quello con agenti riducenti si agisce sul legame covalente S-S della cistina. La deformazione ottenuta con il trattamento con basi prevede la rottura dei legami S-S e la formazione di un legame tioetereo fra due residui di cisteina: la molecola che ne deriva è detta lantionina.

Due sono le principali spiegazioni meccanicistiche del fenomeno: la prima prevede un primo attacco nucleofilo della base con conseguente rottura del ponte disolfuro e la successiva formazione del legame tioetereo con perdita di zolfo; la seconda (schema 1.2) invoca un primo attacco della base che strapperebbe un protone dal carbonio in posizione alfa di un amminoacido cisteina (costituente della cistina) con rottura del ponte disolfuro e formazione di un doppio legame C=CH₂ (rimane un residuo deidroalaninico). Dall'altro residuo si staccerebbe un atomo di zolfo e il tiolato ottenuto attaccherebbe con addizione 1,4 di tipo Michael il sistema alfa-beta insaturo deidroalaninico dando luogo al legame tioetereo.



Schema 1.2 Possibile meccanismo di formazione della lantionina.

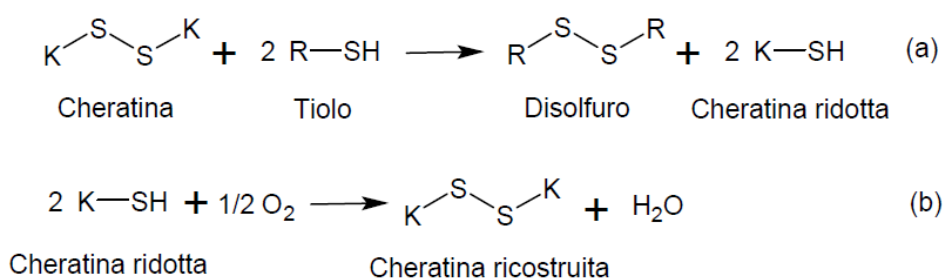
Il trattamento a caldo con agenti riducenti era invece basato sull'uso di solfiti in ambiente alcalino, qui l'azione del calore permetteva di spostare l'equilibrio fra il solfito e la cisteina verso la rottura del ponte disolfuro; questo processo è scomparso a causa del danneggiamento che causava al capello.

Attualmente la deformazione permanente del capello viene effettuata a freddo, le tecniche utilizzate sono comunemente due.

La prima è costituita da una fase preliminare in cui si rompono i ponti disolfurei mediante l'impiego di un agente riducente, seguita, solitamente dopo il risciacquo dei capelli, dall'arrotolamento attorno a dei bigodini e dall'azione di un agente ossidante (detto anche fissatore), il quale permette la ricostruzione dei legami disolfurei. Nella fase preliminare si ha anche la rottura dei legami ionici o ad idrogeno, ma questo porta solo ad una deformazione temporanea del capello (messa in piega).

Solamente la rottura e la ricostruzione del legame disolfureo fra due residui di cisteina dopo l'assunzione della deformazione desiderata porta alla deformazione permanente.

Gli agenti riducenti più utilizzati sono i tioli, solfiti o bisolfiti, di solito impiegati in mezzo acquoso in concentrazione compresa fra 0.5 e 1 molare. Fra i tioli sicuramente i più utilizzati sono l'acido tioglicolico, usato soprattutto a pH basici, la cisteammina, il monoglicolato di glicerolo, l'acido tiolattico e la cisteina. Queste sostanze presentano alcuni inconvenienti: essendo sostanze solforate hanno un odore sgradevole, a pH alcalini danno luogo a una degradazione del capello, possono provocare l'alterazione dei coloranti artificiali e spesso sono poco stabili in soluzione acquosa.



Schema 1.3 (a) Azione riducente della lozione ondulante, (b) Azione ossidante del fissatore (o neutralizzante) sulla cheratina (K).

La fissazione può essere buona anche mediante l'utilizzo di formaldeide che conduce alla formazione di nuovi legami tioacetali $\text{K-S-CH}_2\text{-S-K}$ però a causa della tossicità della formaldeide questo metodo non è più utilizzabile. Sono state provate anche altre aldeidi come il gliossale e la glutaraldeide tuttavia è stata notata una variazione nella colorazione del capello.

La seconda tecnica consiste nell'effettuare una reazione di lantionizzazione mostrata nello schema 1.2. È importante sottolineare che, mentre nel caso di agenti riducenti occorre poi utilizzare un agente fissante, nella lantionizzazione non occorre alcuna fissazione, dato che la formazione del legame tioetereo fra due residui cisteinici è irreversibile. In questo caso le composizioni usate contengono un idrossido, solitamente idrossido di sodio, ma anche di guanidino o di litio. Tali basi sono impiegate in emulsioni acqua/olio ad una concentrazione compresa fra 0.4 e 0.6 M e vengono lasciate agire a temperatura ambiente per 10-15 minuti in modo da permettere la rottura del legame S-S. Entrambe le tecniche sono utilizzate sia per arricciare i capelli che per raddrizzarli.

Come già riportato precedentemente, dopo la rottura dei ponti disolfuro si procede con il dare la forma desiderata al capello arricciandolo oppure stirandolo meccanicamente attraverso una piastra calda. Nel caso in cui si usino agenti riducenti occorre fissare la deformazione mediante l'uso di agenti ossidanti, mentre nella lantionizzazione questa seconda fase non è più necessaria.

La lantionizzazione sembra quindi avere maggiori vantaggi rispetto all'uso di tioli e solfiti evitando il cattivo odore e data l'assenza dello stadio della ossidazione rende il processo più veloce. Tuttavia, la causticità degli idrossidi può provocare irritazioni al cuoio capelluto fino a provocare l'infrangimento del capello dovuto molto probabilmente alla rottura (specialmente in caso di trattamento prolungato) del legame peptidico da parte di questi agenti basici. Pertanto l'uso di questi agenti deve essere strettamente

controllato e non è adatto alla permanente ma è riservato a trattamenti veloci come la stiratura dei capelli.

1.7 STIRATURA DEL CAPELLO

Come descritto precedentemente, le tecniche in uso per la modifica permanente potrebbero essere utilizzate per la stiratura come per l'arricciatura, tuttavia la lisciatura dei capelli presenta dei grossi limiti in particolare nel momento in cui si vanno a rompere i ponti disolfuro; in quel momento il capello è particolarmente fragile e mentre nell'arricciatura, sia a caldo che a freddo, viene delicatamente avvolto attorno ad un bigodino, per la lisciatura vi è la necessità di appesantire il capello perché questo mantenga la forma dritta durante il trattamento oppure di passarlo con un pettine o con una piastra calda provocando in ogni caso la rottura dello stesso.

Questo grosso limite ha portato alla ricerca di formulazioni capaci di permettere lo stiraggio mediante piastra riscaldata senza che avvenga la rottura del capello, questo però a discapito della durata dell'effetto del trattamento. Si è infatti passati da uno stiraggio permanente (o contropermanente) ad uno stiraggio semipermanente, la cui durata viene stimata dai 4 ai 6 mesi a seconda del tipo di capello.

Ciò porta a pensare che con questo tipo di trattamento non si vada più ad agire sui ponti disolfurei ma che vi siano in gioco altri tipi di legami sufficientemente forti anche se a loro volta reversibili nel tempo.

Uno dei metodi più efficaci utilizzati per molto tempo per la stiratura semi-permanente del capello faceva uso di formulazioni contenenti notevoli quantità di aldeide formica. Questo trattamento è comunemente noto nel settore dell'acconciatura come 'stiratura brasiliana'. Questa è una pratica diffusa da molto tempo in Brasile per ottenere la lisciatura dei capelli crespi, specialmente di quelli di tipo 'afro', caratteristici di quella popolazione.

Il trattamento consiste nel trattare i capelli con preparati contenenti formaldeide in diverse concentrazioni, spesso molto superiori (fino all'8÷9 % in peso) a quella sufficiente per ottenere nella maggior parte dei casi la lisciatura, che è circa l'1.8÷1.9 % in peso.

Dopo l'applicazione del prodotto le ciocche vengono asciugate e poi passate su una piastra per lisciatura a temperature variabili, ma che solitamente si aggirano attorno ai 230 °C. Questo comporta inevitabilmente l'emissione nell'ambiente di notevoli quantità

di aldeide formica, un'agente cancerogeno che nell'immediato causa severe intossicazioni sia ai parrucchieri che ai clienti.

Questo ha portato ad un crescente interesse in campo cosmetico ad ottenere altri prodotti liscianti per capelli crespi, che siano efficaci, sicuri per il consumatore (sia esso il parrucchiere o il "cliente"), rispettosi dell'ambiente e degli obblighi posti dalla normativa UE ^[7], che vieta l'uso della formaldeide in concentrazione superiore allo 0.2 % in campo cosmetico.

La principale difficoltà nel trovare sostanze capaci di mantenere l'effetto del trattamento per più mesi, risiede nel fatto che, data la complessità dello studio sulla reattività della cheratina e al fatto che gli utenti interessati sono le aziende, l'interesse principale è quello di ottenere un prodotto che funzioni più che di conoscere il motivo per il quale funziona o il meccanismo sottostante. Tuttavia, quindi, la ricerca è basata per lo più nel testare in maniera "random" una serie di formulati e, non appena se ne trova uno valido, nel brevettarlo.

Ciò ha fatto sì che negli anni siano stati trovati alcuni prodotti in grado di sostituire la formaldeide, ma per ora nessuno è in grado di giustificarne le capacità. Di conseguenza, il lavoro svolto è stato un lavoro pionieristico, nel quale prima di ricercare nuove molecole utili allo scopo prefissatosi, si è tentato di meglio comprendere le capacità di interazione di alcune molecole, la cui efficacia come agenti stiranti è dimostrata, con la cheratina del capello.

1.8 BREVETTI SUI SOSTITUTI DELLA FORMALDEIDE

Recentemente in commercio sono comparsi alcuni prodotti per la lisciatura semipermanente dei capelli, corredati dai relativi brevetti, che non contengono formaldeide libera.

Alcuni di questi sono denominati dalle aziende che li commercializzano come 'Keratin complex' o 'Keratin straightening system' senza specificare quale sia o quale sia stato il trattamento a cui è stato sottoposto tale tipo di cheratina.

Fra i pochi brevetti che parlano di questo trattamento per i capelli ce ne è uno, che ha come mandatario l'azienda cosmetica "L'Oreal", del 2007, dal titolo "Method for straightening keratinous fibers using heating means and an acid derivative" ^[8] dove viene rivendicato il processo di applicazione su fibre cheratiniche di una composizione

contenente almeno un derivato di un α -idrossi acido e/o un chetoacido a un valore di percentuale inferiore o pari a 9.

Nel 2009 è stato depositato un altro brevetto ^[9] relativo a metodi e formulazioni per il trattamento del capello. In questo caso si parla di una formulazione che ripara i capelli danneggiati e che può essere usata anche per il trattamento di lisciatura temporanea del capello, in alternativa al trattamento ‘brasiliano’ e all’uso di tioglicolati.

È interessante notare che qui viene utilizzata cheratina idrolizzata, ossia resa solubile, trattata con aldeidi o dialdeidi, compresa la formaldeide ad una concentrazione superiore allo 0.1%. Nel brevetto viene indicato che i gruppi tiolici liberi della cheratina idrolizzata reagiscono con composti aldeidici.

Il prodotto ottenuto sarebbe un derivato della cheratina che conterrebbe anche gruppi aldeidici reattivi in grado di reagire col capello, previa riduzione dei ponti disolfuro dello stesso da parte di altri ingredienti presenti nella formulazione. In particolare si ipotizza che gruppi RSO_3^- presenti nella cheratina idrolizzata reagiscano con i ponti disolfuro cistinici presenti nei capelli e che i gruppi tiolici così formati reagiscano con quelli aldeidici presenti nella cheratina idrolizzata consentendo così la riparazione e la stiratura della capigliatura.

Oltre a quelli suddetti, sono stati depositati altri brevetti relativi a composizioni in grado di stirare i capelli, come ad esempio: FR 1 323 640 in cui la composizione contiene vaselina, resine vegetali, rodinolo, ionone e cumarina e FR2 845 903 a base di bisulfilchetone.

Più recentemente è stata depositata una domanda di brevetto ^[10] mondiale di un processo per lo stiramento semipermanente dei capelli ricci, crespi e ondulati a base di composti della famiglia degli α -chetoacidi con particolare riferimento all’acido gliossilico.

In questo brevetto viene chiarito che come trattamento semipermanente si intende un trattamento che mantenga la sua efficacia per più di cinque lavaggi.

Più precisamente il processo prevede l’applicazione, sui capelli pretrattati con un apposito shampoo, di una soluzione contenente un agente appartenente alla famiglia degli α -chetoacidi. Questa soluzione deve rimanere a contatto con i capelli per un periodo che varia tra i 15 ed i 120 minuti, dopo di che il capello va sciacquato e stirato con una piastra ad una temperatura di 200 ± 50 °C.

Tra gli α -chetoacidi, l’acido gliossilico, in percentuale compresa tra il 5 e il 25% in peso, è risultato quello in grado di raggiungere meglio lo scopo. Inoltre è stato riscontrato mediante prove pratiche su capelli che il pH dello shampoo con cui viene effettuato il

pretrattamento, che in questo caso varia dal 7.5 al 9.5, non è rilevante, diversamente da quanto affermato precedentemente in altri brevetti utilizzando altri agenti.

Infine in tale brevetto si enfatizza che il risultato ottenuto è quello di un capello lucente, dritto e soffice al tatto con una sensibile diminuzione di volume.

A gennaio 2012 è stata presentata una nuova domanda sempre dallo stesso inventore in cui si apportano delle leggere modifiche sul tempo di contatto, sulla composizione relativa della lozione lisciante e sulla temperatura della piastra.^[11]

2. RISULTATI E DISCUSSIONE

Dall'analisi dei brevetti relativi alla stiratura dei capelli con metodi alternativi a quello classico della contropermanente, di cui si è parlato nell'introduzione, emerge l'importanza della presenza di almeno un gruppo carbonilico nei composti usati nel trattamento lisciante semipermanente. Fra questi particolarmente efficaci sono aldeidi a basso peso molecolare, come la formaldeide e l'acido gliossilico.

Queste considerazioni sono state la base di partenza per lo studio intrapreso in questo lavoro di tesi.

Nella prima parte si è indagato su alcune reazioni, applicate a semplici sistemi presi come modello, che potrebbero verificarsi fra gruppi nucleofili appartenenti ad alcuni amminoacidi presenti nei capelli ed alcune aldeidi, fra cui l'acido gliossilico. Alcuni dei composti ottenuti sono stati utilizzati come composti di riferimento per le successive analisi in solido su fibra.

Nella seconda parte sono state eseguite analisi mediante spettroscopia ATR-FT-IR e Raman su fibre di mantello di yak sottoposte a trattamento lisciante. Queste fibre sono molto utilizzate negli studi in campo cosmetico per la loro somiglianza con il capello umano. Esse, assieme a capelli umani offerti da volontari, sono state analizzate anche tramite microscopia elettronica a scansione (S.E.M.).

Per semplicità i risultati e la relativa discussione saranno suddivisi in sottosezioni.

2.1 REAZIONI FRA AMMINOACIDI E ALDEIDI

In generale, in una catena polipeptidica vi sono gruppi appartenenti alla catena laterale dei vari amminoacidi coinvolti nel legame peptidico che possono comportarsi come nucleofili allo zolfo, all'azoto e all'ossigeno. A livello metabolico questi gruppi giocano spesso un ruolo chiave per lo svolgimento dell'attività enzimatica.

Fra gli amminoacidi presenti nella cheratina aventi catene laterali con gruppi che potrebbero comportarsi da nucleofili nei confronti del carbonile aldeidico sono stati principalmente presi in considerazione in questa tesi la L-cisteina e la L-lisina.

2.1.1. Cisteina e derivati

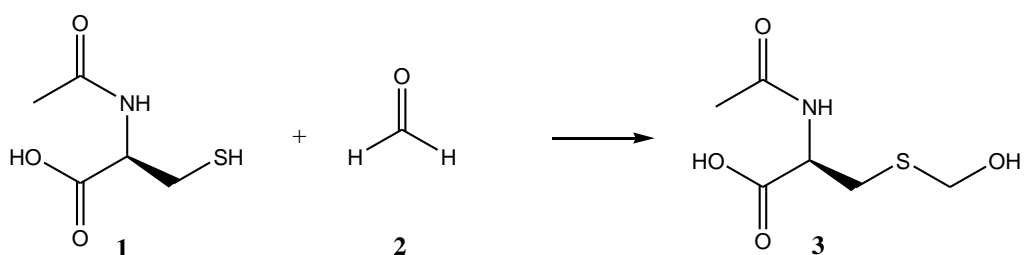
Il gruppo tiolico dei residui cisteinici è il più reattivo fra i nucleofili presenti sulle catene laterali degli amminoacidi e per reazione con aldeidi può dar luogo a semitioacetali che, se non evolvono verso altri prodotti come ad esempio ditioacetali, possono subire idrolisi rigenerando i prodotti di partenza.

Nel capello però non sono presenti gruppi tiolici liberi in quanto i residui cisteinici sono legati fra loro attraverso ponti disolfuro. Proprio sulla rottura e la ricostruzione di questo legame covalente, dopo aver conferito al capello la forma desiderata, si basano le classiche tecniche della permanente e della contropermanente.

Il carattere semipermanente della lisciatura conferita al capello da agenti quali formaldeide e acido gliossilico (i capelli tornano alla loro conformazione originale dopo periodi di tempo di qualche mese o dopo un certo numero di shampoo) ed il fatto che i capelli non risultano particolarmente infragiliti dopo il trattamento farebbero propendere per un'interazione che non coinvolga il ponte disolfuro che, per essere scisso, richiede l'uso di agenti riducenti o quello di soluzioni fortemente basiche (in quest'ultimo caso, dopo 10-15 minuti a temperatura ambiente, si verifica l'antionizzazione). Inoltre, se si rompesse eteroliticamente il legame S-S, come accade ad esempio nella lantionizzazione, i gruppi tiolato in presenza di composti aldeidici potrebbero dare addotti semitioacetali e i ponti disolfuro non si potrebbero riformare almeno fino al verificarsi della reazione opposta causando, almeno per un certo periodo, un notevole infragilimento del capello dovuto alla perdita dei legami intercatena attraverso questi ponti. Questo effetto potrebbe essere minimizzato nell'ipotesi di formazione di legami tioeterei (lantionine) o di ditioacetali intra- o inter-catena ma l'elevata stabilità di questi composti ^[12] è in contrasto con il carattere reversibile del trattamento sul capello. Tuttavia, il fatto che alcuni brevetti prevedano un pre-trattamento dei capelli, spesso con soluzioni basiche anche se per pochi minuti, prima dell'applicazione della soluzione contenente il composto necessario per ottenere (dopo 'piastratura') la stiratura semipermanente, unito a dati di letteratura che riportano che lo stress termico, specialmente a temperature superiori a 200 °C, su fibre di lana e seta, può dar luogo alla rottura del ponte disolfuro ^[13,14], ha indotto ad indagare sulla possibilità di un'eventuale scissione di questo legame nelle varie fasi del processo di stiratura.

Poiché l'eventuale scissione del legame S-S produrrebbe residui tiolici che per reazione con il carbonile aldeidico potrebbero dar luogo ad addotti di tipo semitioacetale, si è

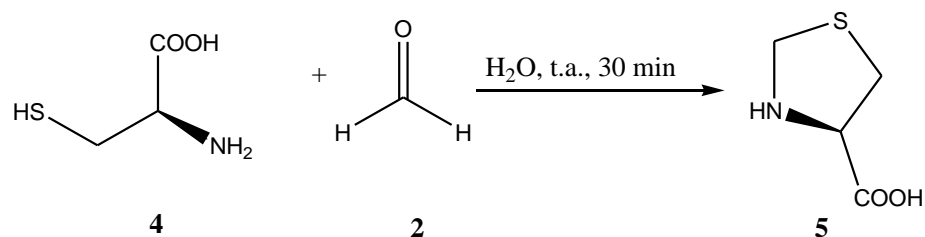
pensato di sintetizzare innanzitutto i prodotti derivanti dalla reazione di *N*-acetil-L-cisteina con formaldeide e con acido gliossilico in modo da caratterizzarli e poterli meglio individuare in caso di loro formazione. La prima reazione è stata effettuata usando quantità equimolari di *N*-acetil-L-cisteina (**1**) e aldeide formica (**2**) in soluzione acquosa per circa 1 ora a temperatura ambiente. Dopo rimozione del solvente, lo spettro ^1H NMR in acqua deuterata della miscela di reazione ha mostrato presenza di segnali compatibili con quelli dell'addotto lineare **3** derivante dall'attacco dell'atomo di zolfo del residuo tiolico sul carbonio carbonilico dell'aldeide (schema 2.1.1). Il corrispondente spettro ^{13}C NMR ha mostrato segnali in accordo con quelli già riportati per **3**.^[15]



Schema 2.1.1

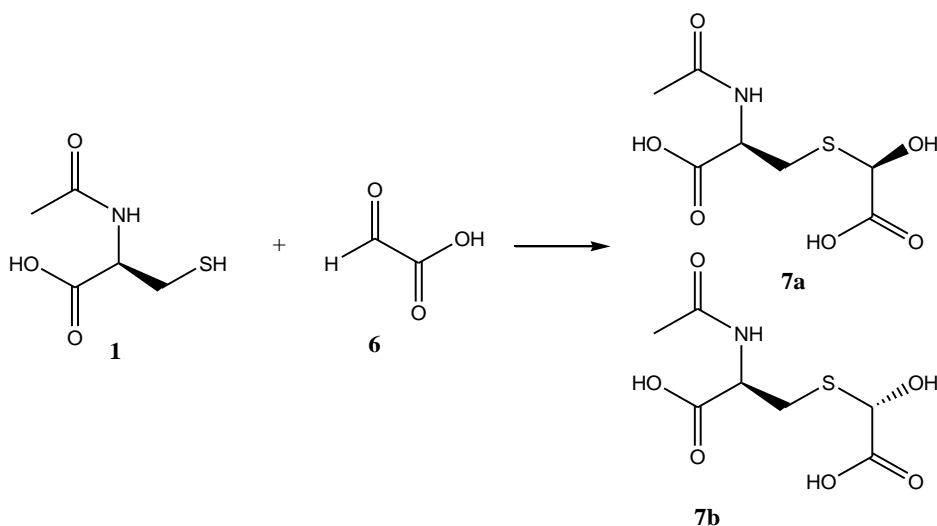
La scelta di utilizzare il derivato ammidico **1** è stata dettata dai seguenti due motivi:

- la protezione dell'azoto amminico "mima" maggiormente la situazione presente nella fibra ove tale azoto è impegnato nel legame peptidico;
- il gruppo acetile rende l'atomo di azoto meno nucleofilo e ci si attende di ottenere principalmente il prodotto semitioacetale **3**. Infatti, è noto che la reazione in acqua fra L-cisteina (**4**) e aldeide formica dà luogo alla tiazolidina **5** attraverso un'amminoalchilazione intramolecolare (schema 2.1.2).^[16] Per verificare se in questa reazione si possano formare quantità, seppur minime, del corrispondente tioacetale, ed anche per ottenere il composto **5**, utile come riferimento, si è deciso di effettuare anche la reazione fra L-cisteina e formaldeide. La reazione è stata provata sia a temperatura ambiente che a 100 °C: l'unico prodotto osservato è stato **5**, anche utilizzando il cloridrato della L-cisteina, sia in quantità equimolare che in rapporto doppio rispetto alla formaldeide.



Schema 2.1.2

La reazione è stata effettuata anche fra *N*-acetil-L-cisteina e acido gliossilico (6) ed anche in questo caso la reazione, condotta in H₂O, ha dato completamente il prodotto di addizione all'aldeide. Essendo però presenti due centri chirali nel prodotto finale, si è ottenuta una miscela equimolare dei due diastereoisomeri **7a** (*R,R*) e **7b** (*R,S*) (schema 2.1.3). Gli addotti **7a** e **7b** sono stati caratterizzati mediante analisi ¹H, ¹³C NMR e massa ESI (electron spray ionization).



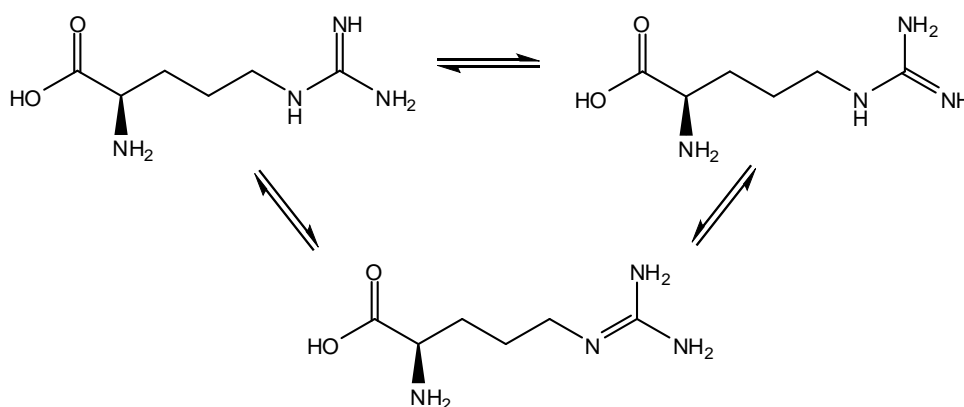
Schema 2.1.3

Una volta individuati e caratterizzati gli addotti, utili come composti di riferimento, si è cercato di verificare se il ponte disolfuro resista a temperature prossime a quelle di piastratura del capello.

A questo scopo, come substrato modello, è stata impiegata la cistina (8, figura 2.1.1) che è stata posta a reagire con quantità equimolari di aldeide formica in acqua a diversi pH sia a temperatura ambiente che a 100 °C. Le reazioni effettuate a valori di pH minori di 10 hanno avuto l'inconveniente della scarsissima solubilità della cistina mentre la reazione effettuata a pH ~ 10 a 100 °C per 30 minuti ha mostrato uno spettro NMR complesso con segnali simili a quelli dell'addotto **5** e della L-cisteina, il che potrebbe indicare che a pH basico ad alta temperatura è possibile una rottura del legame S-S.

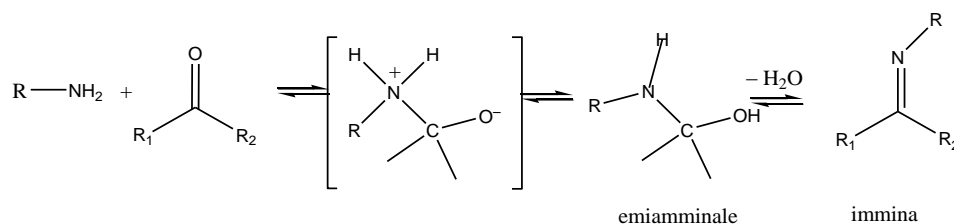
Nel capello gli amminoacidi che contengono gruppi amminici nel residuo non impegnato nel legame peptidico sono la L-lisina, la L-arginina e la L-istidina, presenti mediamente in percentuali rispettivamente del 3%, 9% e 1% ^[4].

Tenendo conto della scarsa presenza di istidina e del fatto che l'arginina presenta in catena laterale siti nucleofili che potrebbero non essere ben localizzati a causa di vari equilibri tautomerici (schema 2.1.4), con eventuale formazione di diversi prodotti, si è scelto di utilizzare la L-lisina. Essa possiede un residuo ε-amminico primario che dà la tipica reazione di addizione con il gruppo carbonilico aldeidico o chetonico.



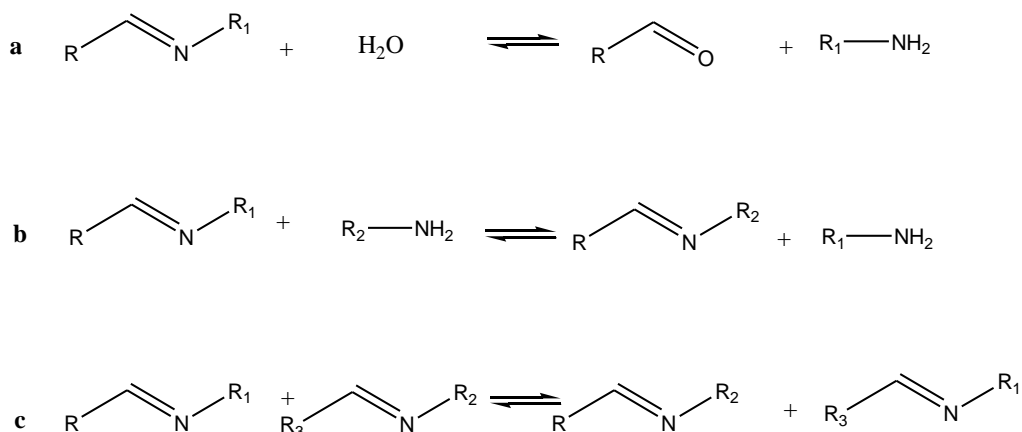
Schema 2.1.4

In generale, la reazione fra una ammina primaria e un composto carbonilico decorre attraverso la formazione di un emiamminale (un amminoalcol geminale) che, a causa della sua bassa stabilità, è stato osservato e caratterizzato solo in pochi casi^[17,18] in quanto evolve verso il prodotto di condensazione aldimminico o chetimminico (schema 2.1.5).



Schema 2.1.5

A seconda delle condizioni sperimentali l'immina può dar luogo ad altre reazioni, come il ritorno ai prodotti di partenza oppure reazioni di scambio e di metatesi (rispettivamente percorso a, b, e c nello schema 2.1.6.^[19]



Schema 2.1.6 Reazioni delle immine: a) ritorno ai prodotti di partenza, b) scambio, c) metatesi.

Fra queste la prima reazione è la più nota: infatti a causa della sua reversibilità, quasi sempre la formazione dell'immina, implicando perdita di acqua, viene portata a completezza allontanando l'acqua per distillazione azeotropica (ad esempio attraverso l'uso di un apparato di Dean Stark) oppure operando in presenza di agenti disidratanti (ad esempio usando solfato di magnesio anidro o setacci molecolari).

Occorre comunque considerare che l'equilibrio fra un'immina e i suoi precursori può dipendere anche da molti altri fattori quali i gruppi legati al carbonile o all'ammina, il solvente, la concentrazione, il pH e la temperatura. Ad esempio le immine primarie derivanti dalla reazione fra composto carbonilico e ammoniaca sono poco stabili, mentre quelle secondarie sono più stabili e possono essere isolate. Quando poi almeno uno dei due substrati possiede un gruppo arilico, il doppio legame imminico è stabilizzato per delocalizzazione elettronica.

La reazione fra residui ϵ -amminici di lisina e aldeidi con formazione di basi di Schiff e le sue caratteristiche di reversibilità costituisce uno dei capisaldi in biochimica in quanto permette di spiegare il meccanismo di azione degli enzimi che hanno come coenzima il piridossal-5'fosfato. Esso interviene in numerosi processi biologici come ad esempio le reazioni di decarbossilazione e deamminazione che giocano un ruolo chiave nel metabolismo degli amminoacidi.

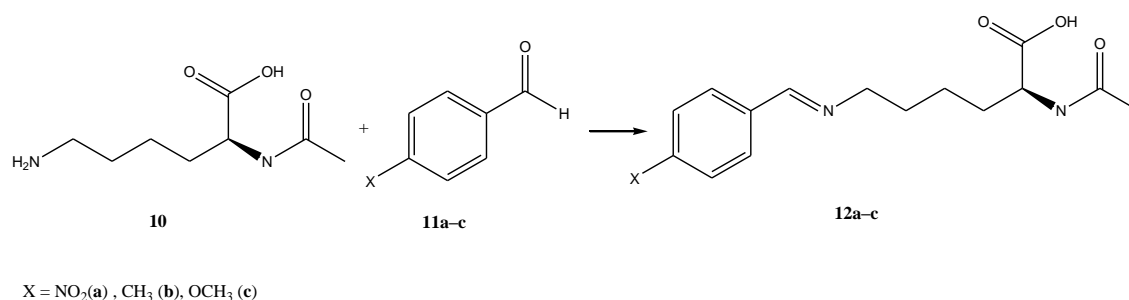
Il coenzima si trova legato covalentemente all'enzima mediante legame imminico con uno specifico residuo di lisina e l'enzima espleta la sua funzione attraverso reazioni di transamminazione che prevedono equilibri aldimmina-chetimmina.

L'interesse in campo biochimico per la reazione fra residui amminici primari e gruppi aldeidici continua a rimanere desto e recentemente sono apparsi numerosi articoli riguardanti la reazione detta 'glycation', una reazione non enzimatica fra zuccheri riducenti e gruppi amminici primari che sta anche alla base della reazione di Maillard, responsabile dell'imbrunimento dei cibi durante la cottura e in alcuni casi dell'odore che la accompagna e tuttora oggetto di numerose indagini volte a chiarirne il complesso meccanismo.

In molti di questi studi l'immina che si forma nella reazione, a causa della sua reversibilità, non viene isolata ma ridotta ad ammina con sodio cianoboroidruro (amminazione riduttiva) evidenziando il prodotto in queste matrici complesse per lo più attraverso analisi di spettrometria di massa.

Tenendo conto del fatto che le immine più stabili sono solitamente quelle in cui uno dei due reagenti è aromatico, abbiamo condotto uno studio preliminare sulla reazione fra N_α -acetil-L-lisina (**10**) e una serie di aldeidi aromatiche aventi in posizione para sostituenti a diverso effetto induttivo e mesomero, come mostrato nello schema 2.1.7.

La scelta di utilizzare L-lisina contenente il gruppo amminico in α al carbossile protetto come acetile non è dovuta unicamente al fatto che questo permette di "mimare" la situazione dell'amminoacido nelle fibre, ove l'ammino gruppo in α è impegnato nel legame peptidico, ma è stata fatta anche per evitare reazioni fra questo gruppo amminico ed il reagente elettrofilo che complicherebbero lo studio dando un'ulteriore immina ^[20].



Schema 2.1.7

Le reazioni sono state condotte in DMSO-d_6 sia a temperatura ambiente che a 50°C e monitorate tramite analisi $^1\text{H NMR}$ a intervalli di tempo definiti in modo da poter comparare i risultati, che sono riportati nella tabella 2.1.1. Anche se sono state utilizzate quantità equimolari dei due reagenti la reazione in pratica è avvenuta in difetto di ammina in quanto la N_α -acetil-L-lisina è risultata quasi insolubile in DMSO-d_6 , come

indicato dal fatto che lo spettro ^1H NMR a 400 MHz di una quantità di N_α -acetil-L-lisina uguale a quella utilizzata per le reazioni descritte nello schema 2.1.7 posta in DMSO- d_6 sia a temperatura ambiente che a 50 °C non ha rilevato i segnali della stessa. L'aver riscontrato presenza di immina anche in quantità rilevanti fa supporre che la quantità di reagente nucleofilo solubile, se pur minima, sia sufficiente a permettere alla reazione di procedere.

I prodotti di reazione sono stati caratterizzati tramite spettroscopia ^1H e ^{13}C NMR in DMSO- d_6 ed i dati ottenuti sono in accordo con quelli di una struttura imminica. Peculiare, anche se non è raro trovare situazioni simili nel caso delle ammidi, lo sdoppiamento del segnale, nello spettro ^1H NMR dei prodotti **12a–c**, del protone sull'atomo di azoto ammidico, peraltro molto stretto, dovuto all'accoppiamento con il protone sul carbonio in posizione alfa dell'amminoacido e indice sia di una sua scarsa mobilità che di un elevato momento elettrico di quadrupolo del nucleo ^{14}N .

Da una ricerca bibliografica è risultato che i prodotti di reazione fra le aldeidi **11a–c** e N_α -acetil-L-lisina non sono noti. Questo ci ha suggerito di provare la reazione anche in altri solventi facilmente rimuovibili quali cloroformio e 1,4-diossano.

La reazione fra **10** e **11a** è stata provata, in presenza di solfato di magnesio anidro, sia in cloroformio a riflusso che in diossano a 60 °C, ma solo nel secondo caso sono state ottenute tracce di prodotto imminico, verosimilmente a causa della scarsissima solubilità del derivato lisinico in tali solventi. Questo ci ha suggerito di effettuare la reazione in una miscela 1/1 (v/v) di acqua/diossano: dopo 24 ore a 60 °C i solventi sono stati rimossi a pressione ridotta e il residuo, sciolto in DMSO- d_6 ed analizzato all'NMR ha mostrato conversione del 91% ad immina **12a**.

Reazione	X	Temperatura	Tempo (h)	Conversione %
1	NO ₂	Ambiente	22	26
2	NO ₂	Ambiente	46	40
3	NO ₂	50 °C	4	85
4	NO ₂	50 °C	22	98
5	CH ₃	Ambiente	22	10
6	CH ₃	Ambiente	46	16
7	CH ₃	50 °C	4	19
8	CH ₃	50 °C	22	30
9	OCH ₃	Ambiente	22	5
10	OCH ₃	Ambiente	46	13
11	OCH ₃	50 °C	4	16
12	OCH ₃	50 °C	22	25

Tabella 2.1.1 Reazione fra *N*_α-acetil-*L*-lisina e aldeidi aromatiche in DMSO-*d*₆

Come si può osservare dai dati in tabella 2.1.1 la reazione di condensazione avviene spontaneamente e la conversione, a parità di tempo, aumenta notevolmente se condotta a 50 °C piuttosto che a temperatura ambiente (~ 25 °C). Ad esempio, dopo 22 ore la reazione con *p*-nitrobenzaldeide ha dato conversione ad immina del 26% mentre a parità di tempo a 50 °C la conversione è stata pressoché completa.

Anche nel caso della *p*-metilbenzaldeide e della *p*-metossibenzenzaldeide si nota un notevole incremento della conversione in seguito all'innalzamento della temperatura del sistema ma le conversioni risultano molto minori rispetto a quelle raggiunte con la *p*-nitrobenzaldeide.

Confrontando i dati in tabella 2.1.1, si nota come l'andamento della conversione a parità di temperatura e tempo sia correlabile con il grado di elettrofilicità dell'atomo di carbonio carbonilico. Ciò riflette l'effetto del sostituente sull'anello aromatico in accordo con i relativi parametri di Hammett ($\sigma_p = 0.78, -0.17, -0.27$, rispettivamente per NO₂, CH₃, e OCH₃,^[21] ed è anche in linea con quanto già osservato^[22], anche se in diverse condizioni sperimentali, nelle reazioni fra anilina ed aldeidi benzoiche sostituite in anello.

Questi dati indicano come sia la temperatura che l'elettrofilicità del carbonile possano giocare un ruolo importante nell'andamento della reazione e potrebbero dare un'indicazione, anche se il sistema è diverso, del motivo per cui la stiratura

semipermanente del capello richiede un'elevata temperatura di lavoro che molto verosimilmente ha anche la funzione di favorire reazioni di condensazione (anche coinvolgenti altri amminoacidi) e l'uso di molecole che, oltre a possedere piccole dimensioni per favorirne la veicolazione all'interno della fibra, abbiano un gruppo aldeidico molto elettrofilico, come accade per la aldeide formica e per l'acido gliossilico che possiede un gruppo carbossilico in posizione alfa al carbonile aldeidico.

Dopo le prove con aldeidi aromatiche siamo passati ad esaminare il comportamento di alcune aldeidi alifatiche e dell'acido gliossilico con N_{α} -acetil-L-lisina.

Contrariamente alle immine derivanti dalla reazione di un'ammina primaria con aldeidi aromatiche, le immine provenienti da aldeidi alifatiche sono spesso instabili e possono decomporsi e/o polimerizzare^[23].

Il fatto che comunque esistano esempi di immine di questo tipo relativamente stabili come ad esempio quella derivante dalla condensazione fra esanale e α -fenilettilammina^[24] ha suggerito di provare la reazione fra esanale e N_{α} -acetil-L-lisina in DMSO- d_6 , ma i numerosi segnali presenti nello spettro ^1H NMR del grezzo di reazione hanno evidenziato una situazione molto complessa.

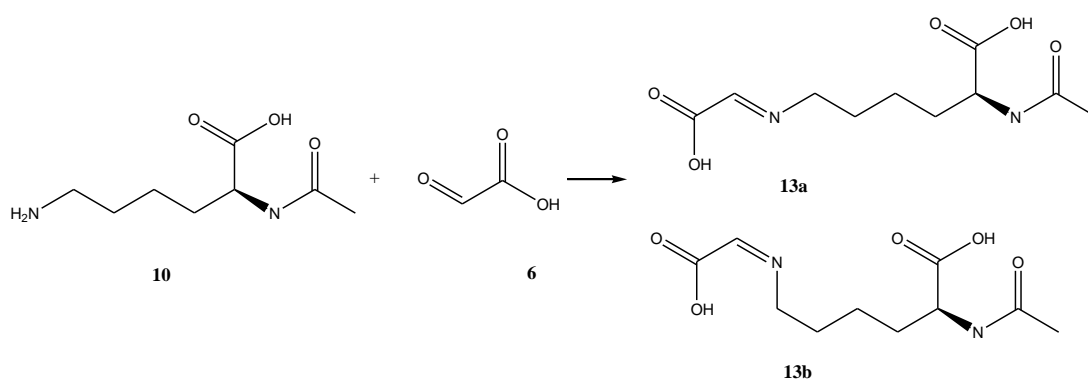
A questo punto si è deciso di utilizzare come elettrofilo l'acido gliossilico. Da un'indagine bibliografica è emerso che la reazione fra acido gliossilico idrato e ammoniaca è stata riportata 135 anni fa da Perkin^[25] e che la struttura del prodotto di reazione è stata oggetto di una lunga polemica fra Perkin e Debus^[26] in quanto quest'ultimo, che aveva per primo determinato la formula dell'acido gliossilico nel 1856^[27], sosteneva che il prodotto non fosse altro che gliossilato d'ammonio, mentre il primo sosteneva di aver ottenuto l'idrossiglicina.

Più di un secolo dopo la reazione è stata indagata mediante spettrometria NMR sia in soluzione che allo stato solido. In questo studio si è dato ragione a Perkin ed è stata presa in considerazione anche la reazione di acido gliossilico con metilammina, etilammina e *terz*-butilammina.

Mentre la reazione con metilammina dà luogo a oligomeri, quella con etilammina e *terz*-butilammina ha dato segnali NMR relativi all'immina solo a pH superiore a 8 nel primo caso e a 10 nel secondo, cioè a valori di pH superiori al pKa del rispettivo sale d'ammonio.^[28]

Dato che in questo articolo è riportato che la reazione fra acido gliossilico ed ammine avviene in acqua, è stata effettuata una reazione fra quantità equimolari di acido gliossilico ed N_{α} -acetil-L-lisina in acqua, dove entrambi i reagenti sono solubili (schema

2.1.8). La miscela è stata tenuta sotto agitazione magnetica a 60 °C per 2 ore poi portata a 100 °C fino a rimozione completa del solvente. L'analisi ^1H NMR del residuo ottenuto è stata fatta in DMSO-d_6 e lo spettro ottenuto ha mostrato assenza del segnale relativo al carbonile aldeidico dell'acido gliossilico (il cui segnale nel solvente utilizzato risuona a $\delta = 9.18$ ppm) e presenza di due singoletti a $\delta = 8.02$ e $\delta = 7.91$ ppm in rapporto relativo $\sim 54/46$ che potrebbero essere dovuti alla presenza dei due isomeri geometrici **13a** e **13b**. Anche il corrispondente spettro ^{13}C NMR mostra segnali in accordo con la presenza di due strutture imminiche. Questi prodotti sono stati anche utilizzati come composti di riferimento per l'analisi Raman.



Schema 2.1.8

E' opportuno sottolineare che studi spettroscopici ^1H NMR e ^{13}C NMR hanno mostrato che in acqua l'acido gliossilico è presente principalmente in forma di aldeide idrata che può essere accompagnata da una forma dimera lineare (figura 2.1.2)^[29] in quantità dipendente dalla concentrazione.

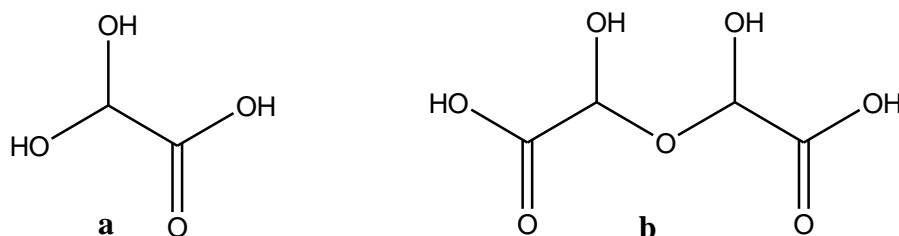


Figura 2.1.2 (a) principale forma in cui si trova l'acido gliossilico in acqua; (b) dimero lineare dell'acido gliossilico.

Lo spettro ^1H NMR in D_2O di una soluzione di acido gliossilico alla concentrazione usata per effettuare la reazione con il derivato lisinico ha mostrato esclusiva presenza del segnale a 5.18 ppm, relativo alla forma idrata.

Un'ulteriore prova è stata effettuata in tubo per spettroscopia NMR in D₂O monitorando la reazione nel tempo e al variare della temperatura.

A temperatura ambiente lo spettro ¹H NMR in D₂O della miscela di reazione ha mostrato esclusiva presenza dei reagenti, dopo 2 ore a 60 °C risultavano solo tracce di prodotti mentre dopo 6 ore il rapporto fra i prodotti e il reagente lisinico (valutato integrando i segnali del gruppo metilenico legato all'azoto) era circa di 4:96.

La soluzione è stata portata quindi a 90 °C per 3 ore. Il relativo spettro ¹H NMR ha mostrato un aumento della conversione al 12% con un rapporto fra i picchi dei due prodotti isomerici di circa 65/35.

Questi dati sono in accordo con quanto osservato in letteratura nelle reazioni di glicazione fra acido gliossilico e acetillisina o residui lisinici nell'albumina del siero umano che indicano a temperatura ambiente una reattività trascurabile.^[30, 31]

Il fatto che la reazione avvenga quantitativamente, come prevedibile, quando viene rimossa l'acqua, spiega il motivo per cui la stiratura del capello dia buoni risultati solo se avviene a temperature elevate (la temperatura della piastra deve essere infatti attorno ai 230 °C) le quali permettono di disidratare, durante il passaggio attraverso la piastra, gli strati più interni della fibra favorendo la condensazione.

Un'altra prova effettuata è stata quella di porre **10** in soluzione acquosa alcalina (pH = 8.7) e aggiungere successivamente una quantità equimolare di **6**, cercando di mimare il pre-trattamento basico che viene effettuato sulla fibra prima dell'aggiunta del composto aldeidico. Anche in questo caso dopo l'evaporazione del solvente a 100 °C, gli spettri NMR hanno mostrato una completa conversione nei prodotti imminici.

Infine, in letteratura è riportato che l'acido gliossilico in ambiente basico, per riscaldamento, può disproporzionare ad acido ossalico ed acido glicolico^[32], mentre a pressioni comprese fra 0.4 e 8 Torr e a temperature da 470 a 710 °K è riportato decomporre dando, in proporzioni diverse a seconda della temperatura, ad aldeide formica, anidride carbonica, ossido di carbonio e idrogeno oltre a non ben definiti prodotti di polimerizzazione.^[33] Questo ha suggerito di eseguire una prova preliminare di reazione fra **6** e **10** disciolti in acqua a una temperatura di circa 250 °C per qualche minuto per valutare se in queste condizioni l'eventuale aldeide formica formatasi per decomposizione del gliossilico potesse essere rivelata attraverso l'identificazione del suo prodotto di reazione con il derivato lisinico.

L'analisi ¹H e ¹³C NMR in DMSO-d₆ del residuo ottenuto ha però fornito spettri con i segnali corrispondenti a quelli delle immine ottenute nelle reazioni eseguite a 100 °C con

acido gliossilico. Questo dato, da riconfermare, porterebbe a pensare ad una trascurabile formazione di aldeide formica nei trattamenti di lisciatura dei capelli con formulazioni a base di acido gliossilico.

2.2 ANALISI ATR-FT-IR E RAMAN SU MODELLI E SU FIBRE (PELI DI YAK)

Per avere informazioni sulle modificazioni che intervengono nella fibra del capello in seguito a stiratura e avere indicazioni sulla formazione di legami imminici e/o semiacetali fra acido gliossilico e residui amminoacidici del capello sono state progettate ed effettuate alcune misure mediante spettroscopia ATR-FT-IR e Raman.

Le misure sono state condotte inizialmente sul prodotto di reazione fra *N*- α -acetil-L-lisina e acido gliossilico, quindi direttamente su una fibra, costituita da pelo di yak.

2.2.1 Analisi su molecole modello

Per valutare le caratteristiche dell'immina formatasi in seguito a reazione fra *N*- α -acetil-L-lisina e acido gliossilico, gli spettri Raman del prodotto ottenuto dopo evaporazione del solvente sono stati analizzati nel range dove cade la vibrazione di stiramento dei doppi legami C=N.

La figura 2.2.1 mostra pertanto gli spettri dell'*N*- α -acetil-L-lisina (controllo) e quelli del prodotto di reazione con acido gliossilico, in presenza e in assenza di KOH.

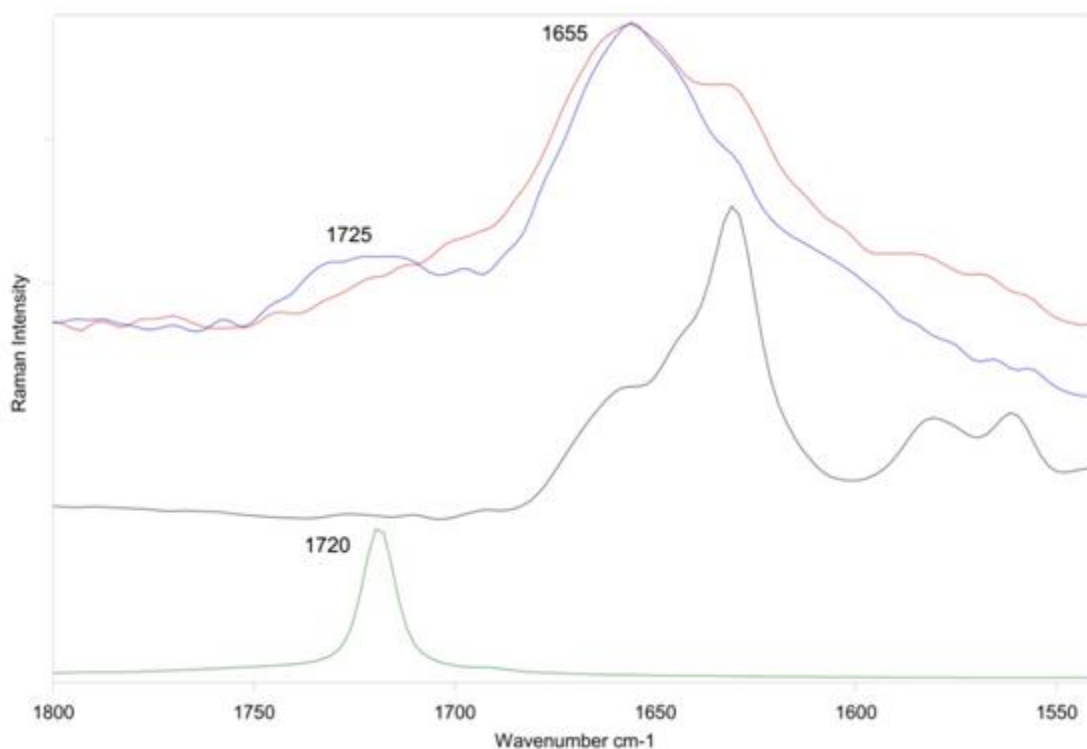


Figura 2.2.1 Spettri Raman dell'*N*- α -acetil-*L*-lisina prima (controllo, nero) e dopo reazione con acido gliosilico, in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso). Lo spettro dell'acido gliosilico è riportato come riferimento (verde).

Nei campioni derivanti dalla reazione di condensazione si osserva una banda larga e intensa a circa 1655 cm⁻¹.

La presenza di questa banda è compatibile con la presenza dell'immina, in accordo con i dati NMR e con dati di letteratura che riportano che i legami C=N hanno vibrazioni di stiramento nel range 1690-1645 cm⁻¹.^[34]

La larga banda a circa 1725 cm⁻¹ è assegnabile invece alla vibrazione di stiramento del legame C=O del gruppo COOH dell'acido gliosilico, ed è interessante osservare che questa banda appare spostata e allargata rispetto all'acido gliosilico puro (1720 cm⁻¹) come a indicare una variazione del pattern di legami a idrogeno.

I dati IR confermano i dati Raman; la figura 2.2.2 riporta gli spettri ATR-FT-IR dell'*N*- α -acetil-*L*-lisina prima (controllo) e dopo reazione con acido gliosilico, in presenza e in assenza di KOH.

Anche in questo caso nei campioni derivanti dalle reazioni fra il derivato lisinico e l'acido gliosilico, si osserva una banda larga e intensa compatibile con la formazione di un'immina. La banda dovuta allo stiramento C=O del gruppo COOH dell'acido

gliossilico ha un profilo non esattamente sovrapponibile a quello dell'acido puro, come già osservato negli spettri Raman descritti precedentemente.

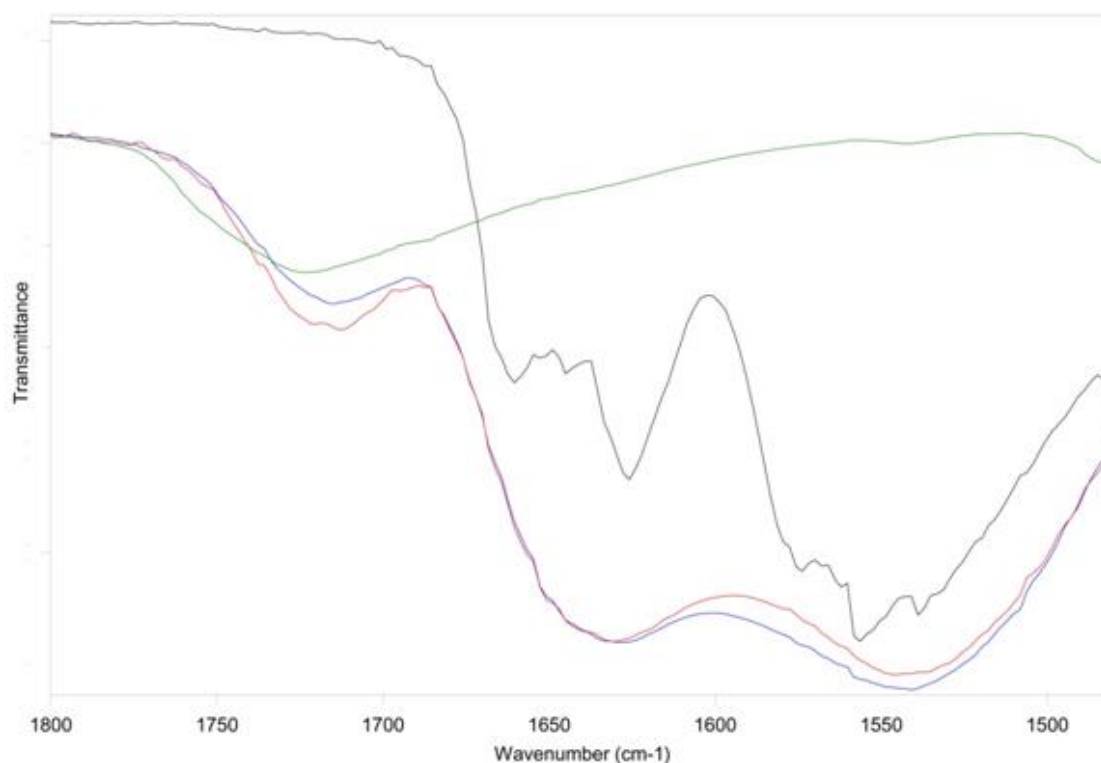


Figura 2.2.2 Spettri IR dell'*N*- α -acetil-*L*-lisina prima (controllo, nero) e dopo trattamento con acido gliossilico, in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso). Lo spettro dell'acido gliossilico è riportato come riferimento (verde).

2.2.2. Analisi su fibra

Come fibra modello è stato utilizzato pelo di yak chiaro e liscio. In particolare sono stati preparati ed analizzati i seguenti campioni:

- Ciocche di pelo di yak non trattato (controllo) che appare di aspetto liscio e chiaro.
- Ciocche di pelo di yak stirate con piastra ('piastrate') a 230 °C per 6 volte.
- Ciocche di pelo di yak immerse in soluzione acquosa di KOH a pH ~ 9 per 5 minuti poi risciacquate con acqua, asciugate con phon e 'piastrate' a 230 °C per 6 volte.
- Ciocche di pelo di yak immerse per 30 minuti in una soluzione acquosa di acido gliossilico al 6% (w/v), asciugate con phon e 'piastrate' a 230 °C per 6 volte.
- Ciocche di pelo di yak immerse in soluzione acquosa di KOH a pH ~ 9 per 5 minuti, risciacquate con acqua, asciugate con phon, immerse in una soluzione

acquosa di acido glicosilico al 6% (w/v) per 30 minuti quindi asciugate nuovamente con phon e ‘piastrate’ a 230 °C per 6 volte.

La figura 2.2.3 mostra lo spettro Raman di pelo di yak non trattato (controllo).

La posizione delle bande Amide I a 1654 cm^{-1} e Amide III a 1280 cm^{-1} è tipica della struttura α -elica, ovvero della conformazione prevalentemente presente nelle cellule corticali più interne ^[35, 36], mentre la componente Amide III a circa 1250 cm^{-1} è invece attribuibile alla conformazione disordinata.

In effetti, a proposito della lana, in letteratura ^[37] è stato riportato che vi è un accordo eccellente tra lo spettro Raman delle fibre e quello ottenuto dalle cellule corticali. D’altro canto, lo spettro Raman in figura 2.2.3 è in accordo con quello registrato nella regione corticale dei capelli bianchi ^[38] e con i risultati di Fraser et al. ^[39]: questi ultimi autori hanno infatti riportato che le microfibrille della corteccia sono costituite da strutture ad α -elica.

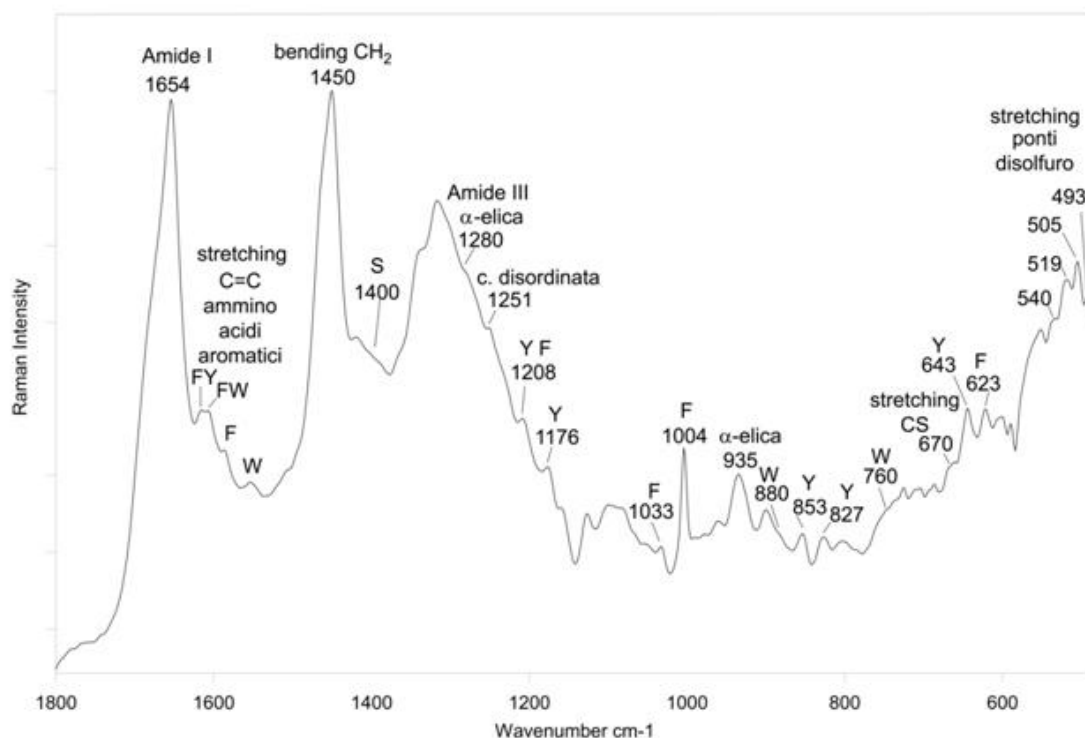


Figura 2.2.3 Spettro Raman del pelo di yak non trattato. F = fenilalanina, S = serina, Y = tirosina, W = triptofano.

Il *curve fitting* della regione Amide I (figura 2.2.4) conferma che la conformazione prevalente è α -elica. Le percentuali di struttura secondaria ottenute sono riportate in figura 2.2.5; come si può vedere, la struttura α -elica pesa per il 44%. A questa

conformazione va assegnata anche la banda prominente a 935 cm^{-1} (stretching C-C dello scheletro ^[35, 40]).

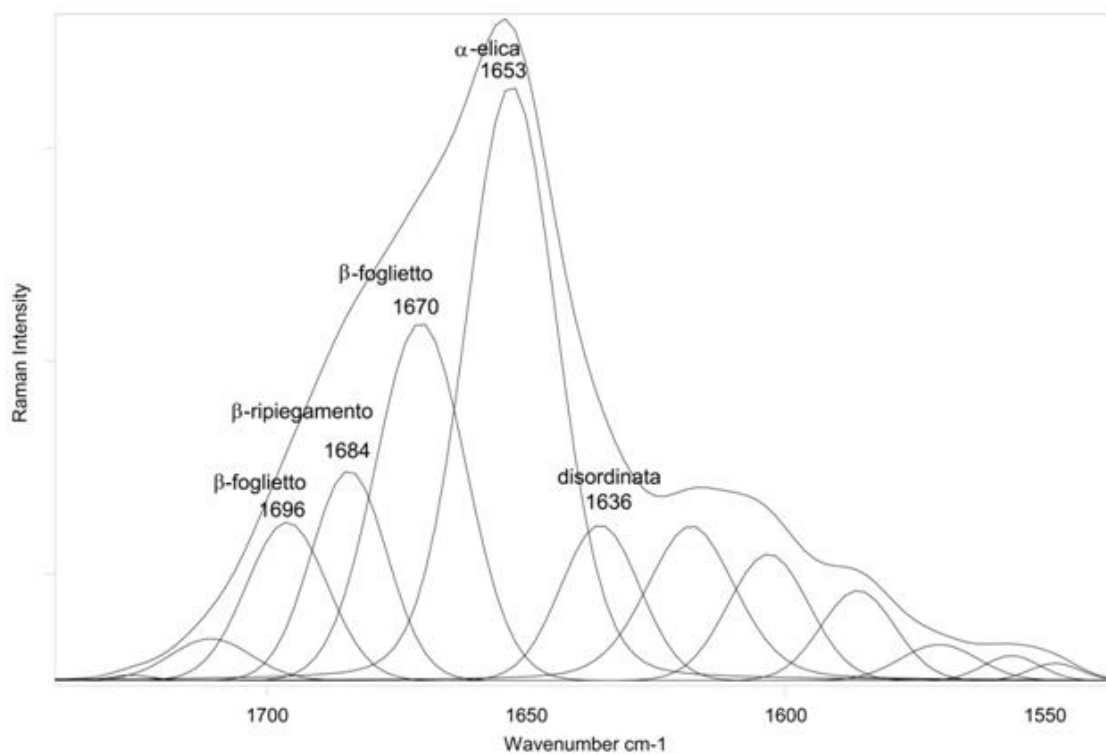


Figura 2.2.4 Curve fitting della regione Raman Amide I del pelo di yak non trattato (controllo).

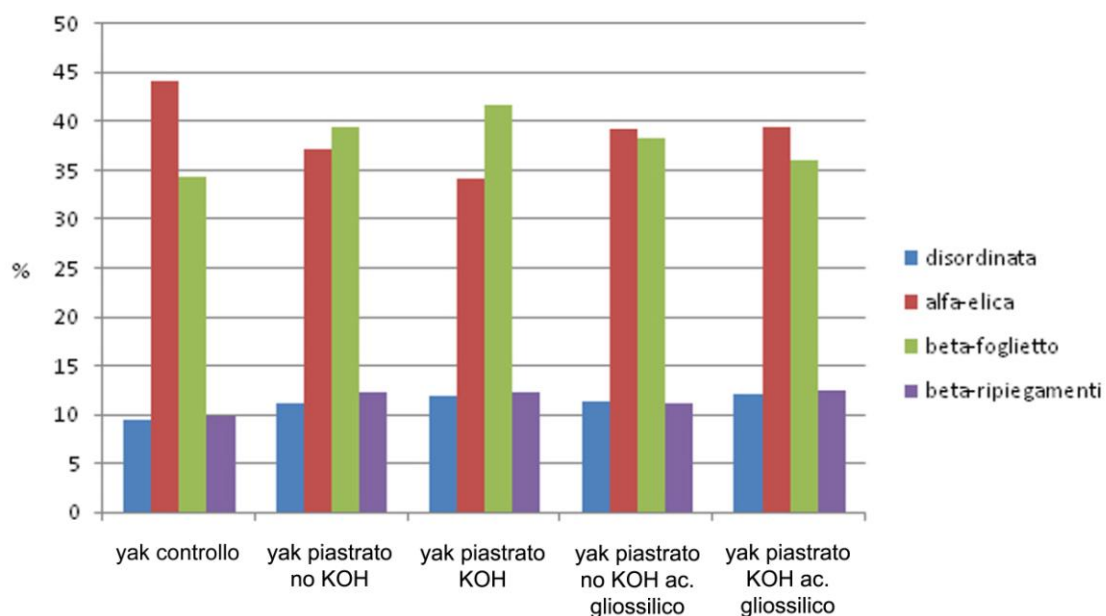


Figura 2.2.5 Distribuzione delle varie strutture secondarie nei campioni di pelo di yak analizzati (come ottenuta dal curve fitting). Per il commento dei dati ottenuti, v. il testo.

Alcune bande Raman possono essere attribuite ad amminoacidi specifici, come indicato nella figura 2.2.3.

Il doppietto Raman della tirosina costituito dalle bande a circa 850 e 830 cm^{-1} è stato ampiamente utilizzato per descrivere il legame a idrogeno del gruppo fenossile dei residui di tirosina nelle proteine globulari ^[35, 41]. Come mostrato in tabella 2.2.1, il rapporto di intensità Raman I_{850}/I_{830} raggiunge il suo valore minimo di 0.3 quando le tirosine sono sepolte nella struttura della proteina e il gruppo fenolico OH agisce come donatore forte di un legame a idrogeno nei confronti di un accettore elettronegativo come l'ossigeno carbossilico ^[41]. Quando le tirosine sono esposte sulla superficie della proteina, il gruppo OH agisce sia da donatore che da accettore di legami a idrogeno di forza moderata e il rapporto di intensità Raman I_{850}/I_{830} è approssimativamente 1.25 ^[41]. Se l'ossigeno del fenossile è accettore di un legame a idrogeno forte da parte di un gruppo elettropositivo, come per esempio il gruppo NH_3^+ , e non si comporta significativamente da donatore di legami a idrogeno, il rapporto I_{850}/I_{830} raggiunge un valore massimo presunto di 2.5 ^[41].

Studi più recenti sui capsidi dei virus filamentosi ^[42] e sulla fibroina della seta nella forma Silk I ^[43] hanno permesso di raffinare questa correlazione e hanno dimostrato che il rapporto di intensità I_{850}/I_{830} può anche superare il valore massimo presunto di 2.5. In questo caso, i residui di tirosina sperimentano un ambiente fortemente idrofobico.

Nello spettro del pelo di yak non trattato (figura 2.2.1), il rapporto di intensità I_{850}/I_{830} è 1.27, indicando che il gruppo fenolico OH agisce sia da donatore che da accettore di legami a idrogeno di forza moderata ^[41]. Questo valore può essere spiegato in relazione alla composizione della fibra.

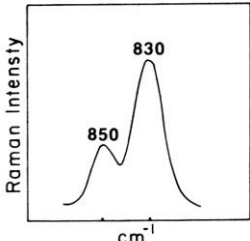
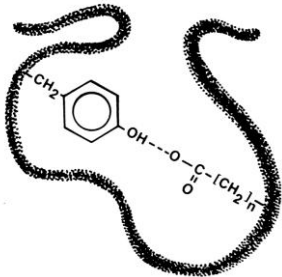
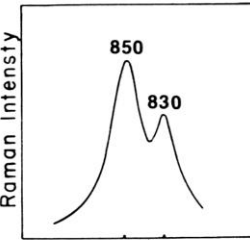
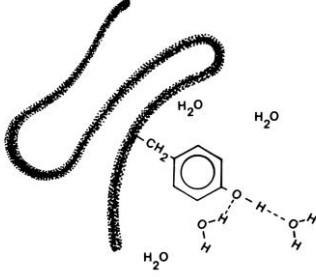
I_{850}/I_{830}	<i>Legami a idrogeno in cui è impegnato il residuo di tirosina</i>
0.30	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;">  </div> </div> <p data-bbox="976 349 1332 658">Il gruppo fenolico OH agisce come donatore forte di un legame a idrogeno; tirosine "sepolte" nella struttura della proteina (proteine <u>GLOBULARI</u>)</p>
1.25	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;">  </div> </div> <p data-bbox="976 730 1332 1039">il gruppo OH agisce sia da donatore che da accettore di legami a idrogeno di forza moderata; tirosine "esposte" (proteine <u>GLOBULARI</u>)</p>
> 2.5	<p data-bbox="568 1077 1198 1218">no legami a idrogeno; tirosine in ambiente idrofobico; (<u>CAPSIDI di VIRUS FILAMENTOSI e SILK I</u>)</p>

Tabella 2.2.1

La banda a 505 cm^{-1} (figura 2.2.1) è attribuibile al modo di stiramento dei ponti disolfuro ($\nu\text{S-S}$) in conformazione *gauche-gauche-gauche*.^[35] (tabella 2.2.2). La posizione di questa banda indica che nel pelo di yak il sistema $\text{C}_\alpha\text{-C}_\beta\text{-S-S-C}_\beta\text{-C}_\alpha$ assume la conformazione a energia potenziale più bassa, ossia la *gauche-gauche-gauche*. Altre componenti più deboli a circa 493 , 519 e 535 cm^{-1} possono essere assegnate alle conformazioni *tesa*, *gauche-gauche-trans* e *trans-gauche-trans*, rispettivamente ^[35].

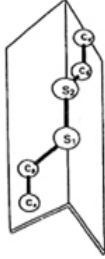
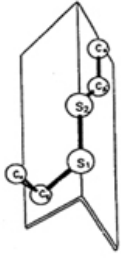
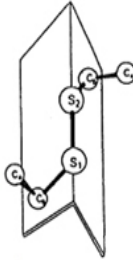
Posizione della banda Raman ν_{S-S} (cm^{-1})	Conformazione del sistema $C_{\alpha}-C_{\beta}-S-S-C_{\beta}-C_{\alpha}$
540	 <p data-bbox="979 618 1230 651"><i>trans-gauche-trans</i></p>
520	 <p data-bbox="967 981 1238 1014"><i>gauche-gauche-trans</i></p>
505	 <p data-bbox="956 1346 1252 1379"><i>gauche-gauche-gauche</i></p>
493	Tesa

Tabella 2.2.2.

In seguito a piastratura del pelo di yak tal quale avvengono già dei cambiamenti conformazionali significativi, come si può osservare dagli spettri Raman riportati in figura 2.2.6.

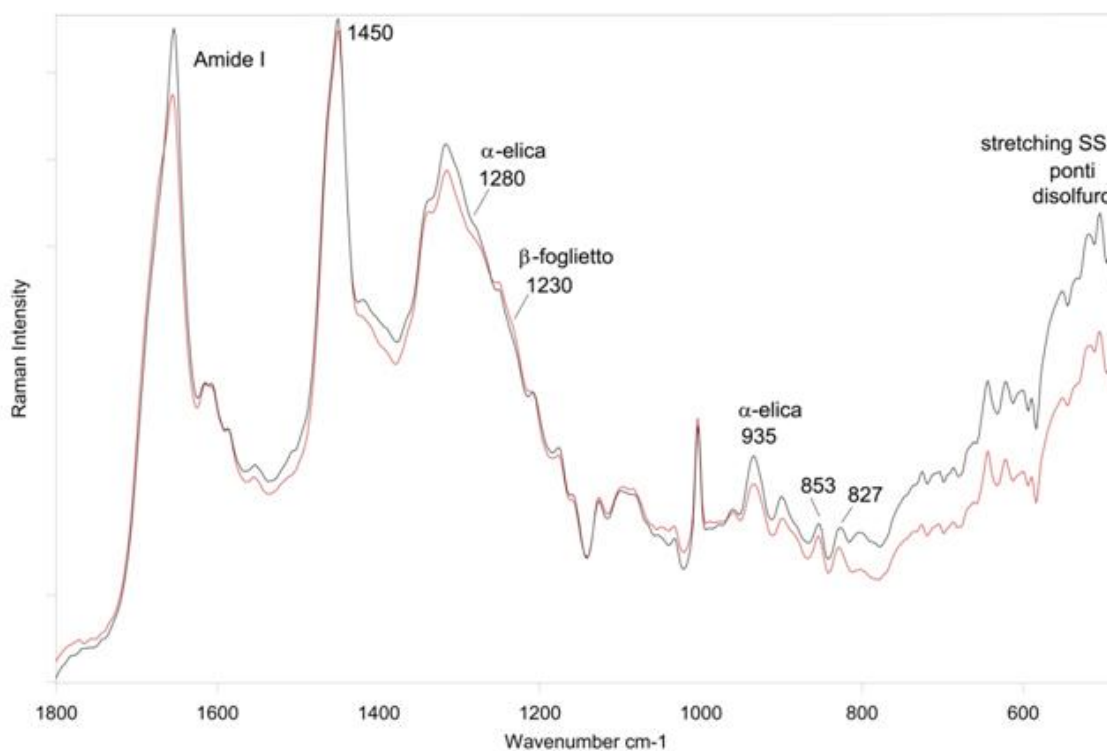


Figura 2.2.6 Spettri Raman registrati sul pelo di yak prima (controllo, nero) e dopo piastratura in assenza di KOH (rosso); gli spettri sono stati normalizzati sulla banda a 1450 cm⁻¹, dovuta al bending dei gruppi CH₂.

Il profilo della banda Amide I risulta significativamente modificato; il massimo della banda si sposta leggermente a più alti numeri d'onda e la spalla a più alti numeri d'onda diventa più prominente (figura 2.2.7A). Questo andamento fa pensare a un calo di struttura ad α -elica e un corrispondente aumento della struttura a β -foglietto.

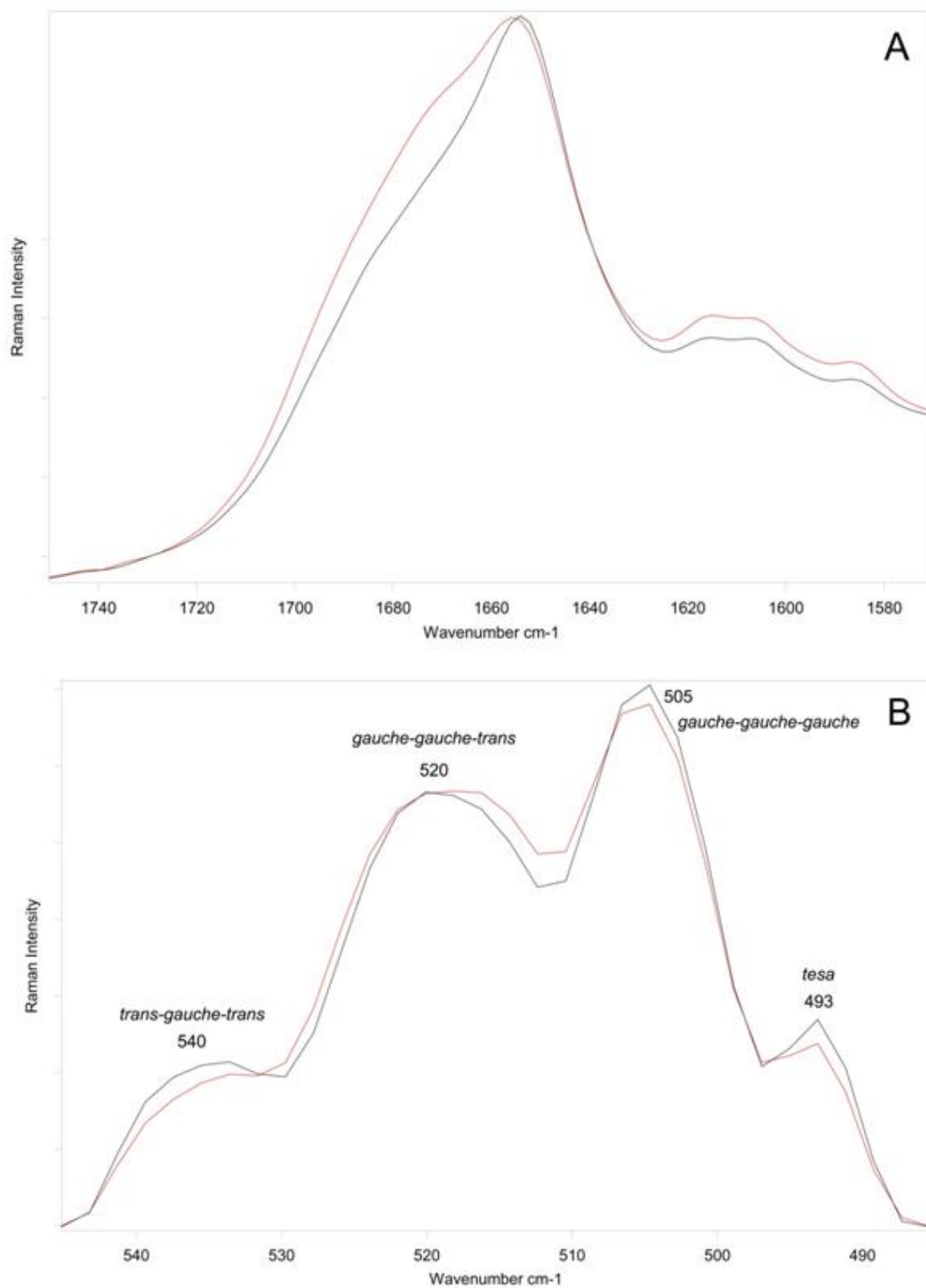


Figura 2.2.7 Spettri Raman nelle regioni Amide I (A) e dei ponti disolfuro (B) del pelo di yak prima (controllo, nero) e dopo piastratura in assenza di KOH (rosso).

Il contemporaneo indebolimento delle bande dell' α -elica sopra menzionate a 1280 e 935 cm^{-1} e il corrispondente aumento della spalla a circa 1230 cm^{-1} nella regione Amide III (posizione tipica del β -foglietto) avvalorano questa interpretazione. Il valore del rapporto

A_{935}/A_{1450} tra le aree delle bande Raman a 935 e 1450 cm^{-1} (scelta come standard di riferimento in accordo ad altri studi) [38, 44] può essere utilizzato come marker del contenuto di α -elica.

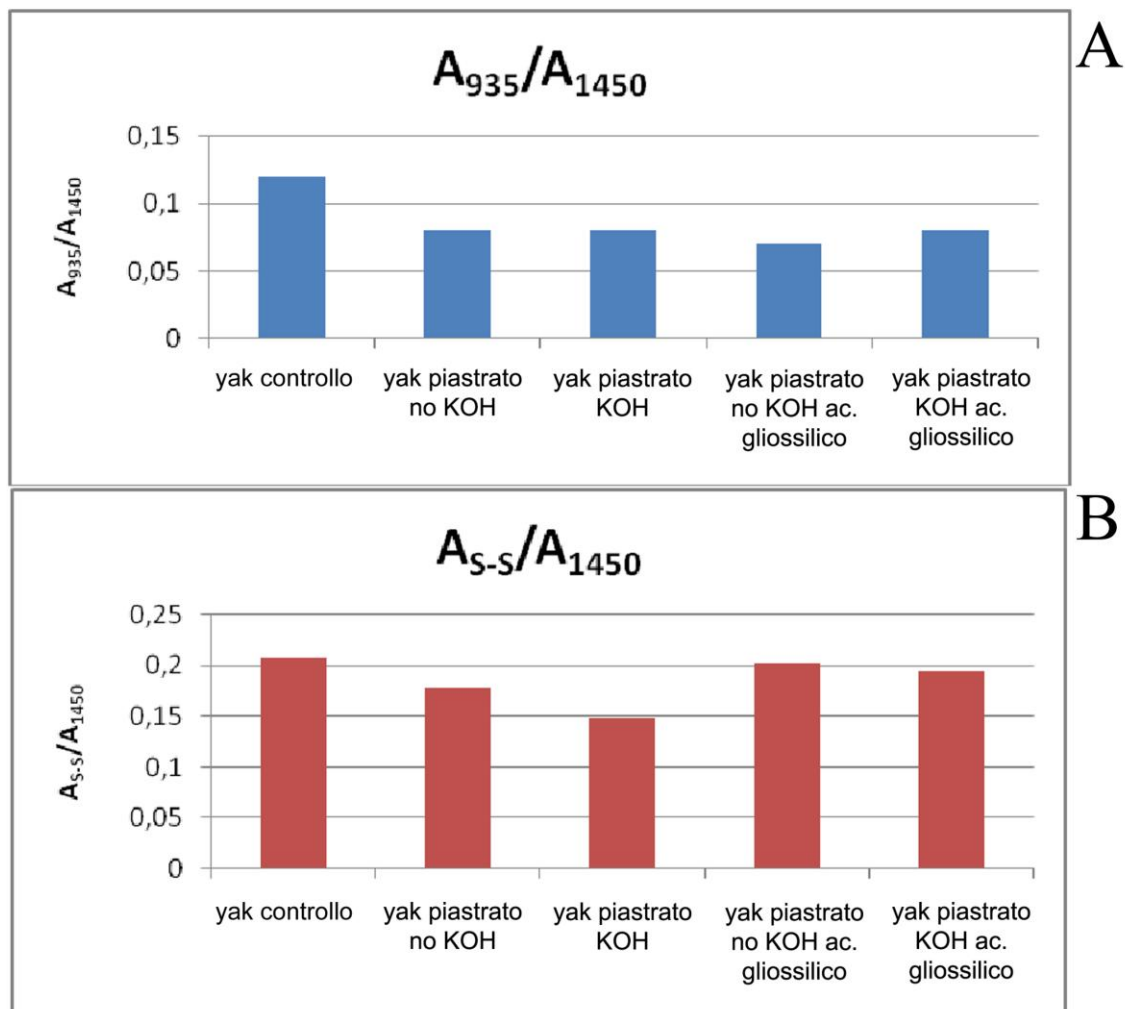


Figura 2.2.8 Valori dei rapporti A_{935}/A_{1450} (A) e A_{S-S}/A_{1450} (B) calcolati dagli spettri Raman dei campioni analizzati.

Come si vede nella figura 2.2.8A, il rapporto A_{935}/A_{1450} (e quindi il contenuto di α -elica) cala per effetto della piastratura. Un'ulteriore conferma di ciò proviene dal curve fitting della regione Amide I.

I risultati riportati in figura 2.2.5 indicano che l' α -elica cala dal 44% al 37% mentre il β -foglietto aumenta dal 34% al 40%.

La piastratura modifica anche il profilo del range spettrale dove cadono le vibrazioni di stiramento dei ponti disolfuro e quindi anche la distribuzione delle conformazioni del sistema $C_{\alpha}C_{\beta}$ -S-S- $C_{\beta}C_{\alpha}$ (figura 2.2.7B): la conformazione *gauche-gauche-trans* (banda a

circa 520 cm^{-1}) sembra aumentare a spese delle altre. In accordo ad altri studi [38, 45, 46], per valutare la possibile rottura dei ponti disolfuro in seguito al trattamento, è stato utilizzato il rapporto A_{S-S}/A_{1450} tra le aree del range spettrale compreso tra 485 e 545 cm^{-1} (dove cadono gli stretching S-S) e della banda a 1450 cm^{-1} . Come si può vedere in figura 2.2.8B, il rapporto A_{S-S}/A_{1450} cala in seguito a piastratura, il che indicherebbe una certa degradazione dei legami S-S, sebbene non si sia osservata la banda caratteristica dello stretching SH a circa 2575 cm^{-1} (figura 2.2.9).

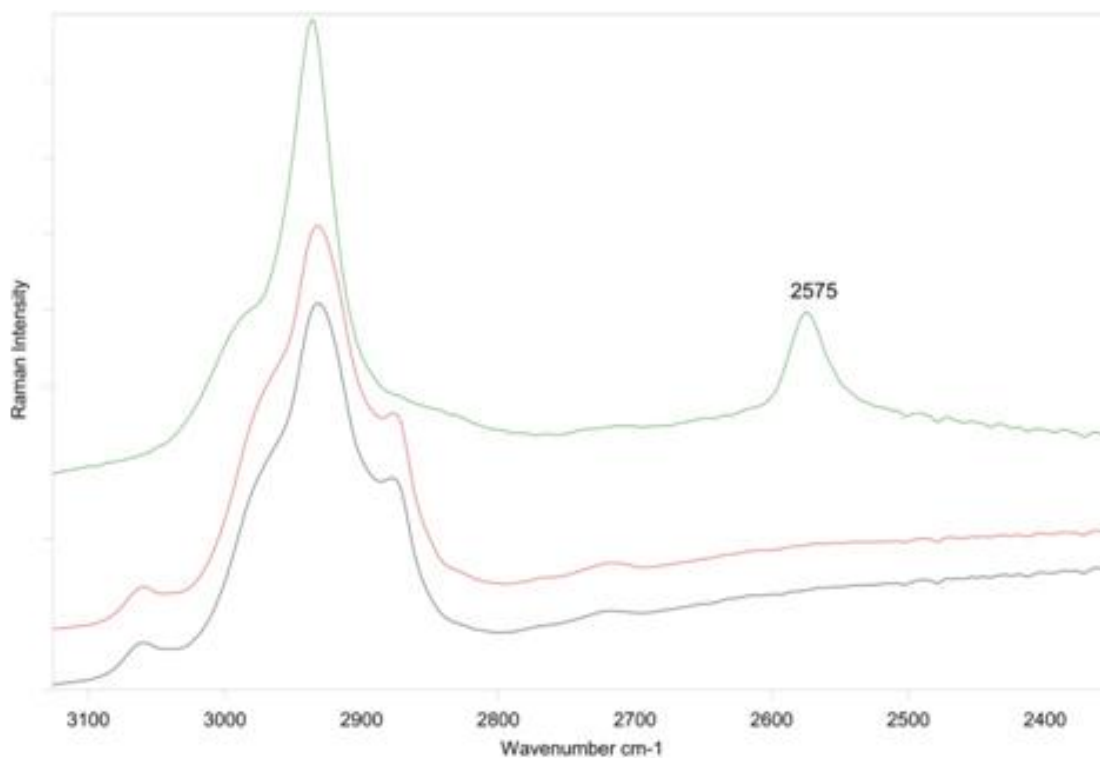


Figura 2.2.9. Spettri Raman nel range degli stretching SH del pelo di yak prima (controllo, nero) e dopo piastratura in assenza di KOH (rosso). Lo spettro della cisteina (verde) è riportato per confronto.

Il grado di esposizione della tirosina non viene alterato significativamente in seguito a piastratura, infatti, il rapporto di intensità Raman I_{850}/I_{830} resta circa lo stesso ($I_{850}/I_{830} = 1.30$, figura 2.2.6).

Per valutare l'effetto della presenza della base sulla conformazione del pelo di yak, in figura 2.2.10 sono riportati gli spettri Raman registrati sul pelo di yak prima (controllo) e dopo piastratura in assenza e in presenza di KOH.

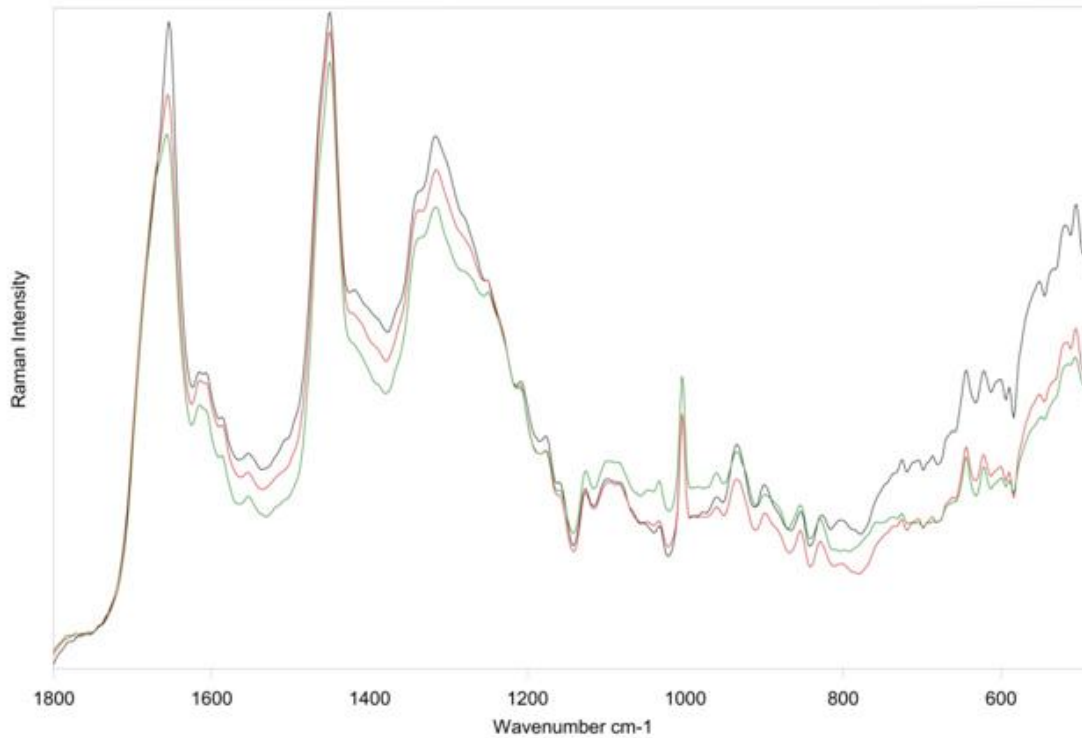


Figura 2.2.10 Spettri Raman registrati sul pelo di yak prima (controllo, nero) e dopo piastratura in assenza (rosso) e in presenza (verde) di KOH; gli spettri sono stati normalizzati sulla banda a 1450, dovuta al bending dei gruppi CH₂.

Come si può vedere, la piastratura in presenza di KOH modifica ulteriormente la conformazione della fibra; anche se leggermente, la banda Amide I si sposta a numeri d'onda ancora più alti e la spalla a più alti numeri d'onda diventa ancora più prominente (figura 2.2.11A).

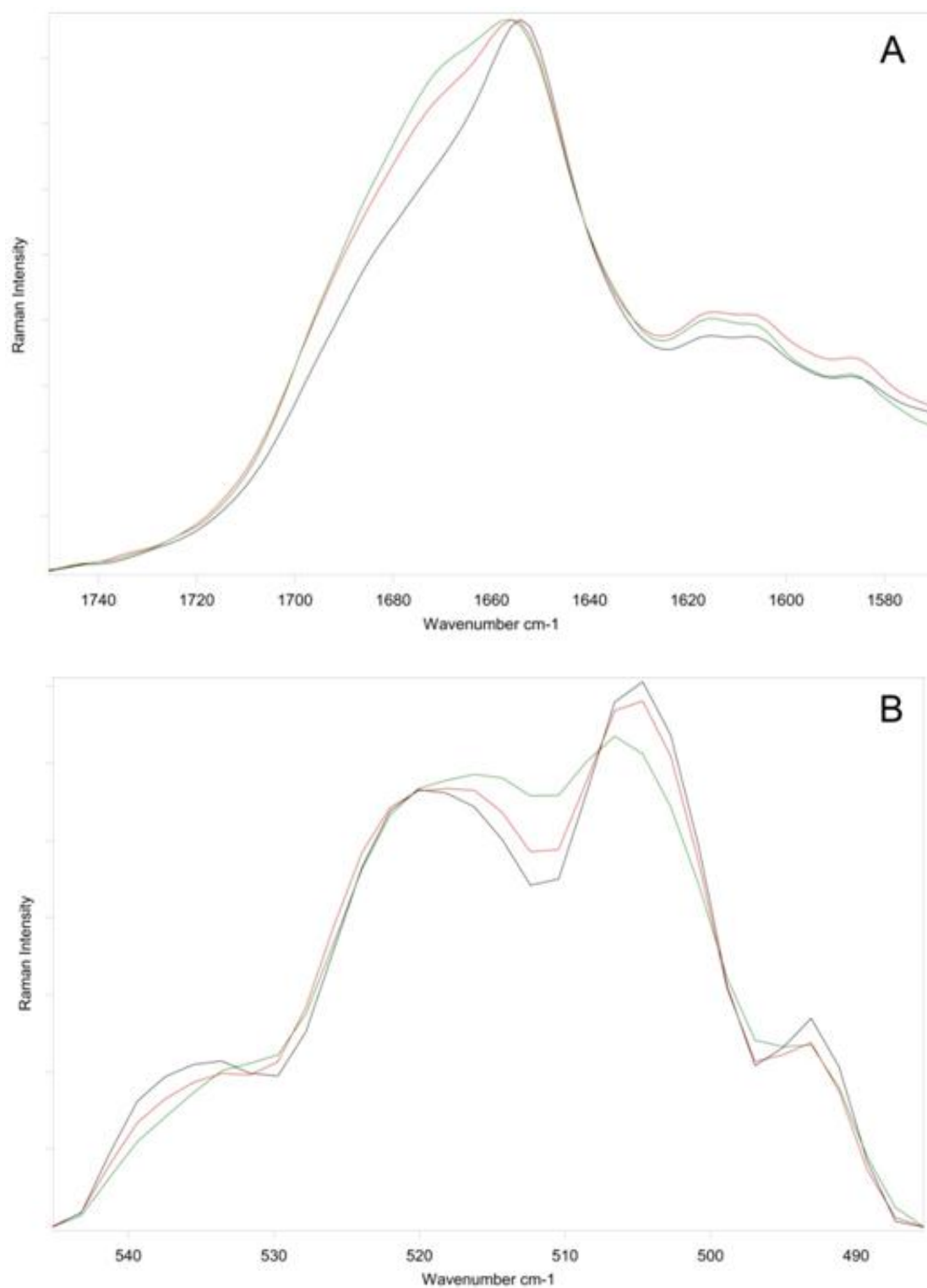


Figura 2.2.11 Spettri Raman nelle regioni Amide I (A) e dei ponti disolfuro (B) registrati sul pelo di yak prima (controllo, nero) e dopo piastratura in assenza (rosso) e in presenza (verde) di KOH.

Questo andamento, come già osservato, fa pensare a un ulteriore calo di struttura ad α -elica e un corrispondente aumento della struttura a β -foglietto. I dati ottenuti dal curve fitting della regione Amide I (figura 2.2.5) confermano questa interpretazione.

Anche il profilo spettrale nel range dei ponti disolfuro si modifica ulteriormente (figura 2.2.11B); il rapporto A_{S-S}/A_{1450} cala ulteriormente in seguito a piastratura in presenza di KOH, come mostrato in figura 2.2.8B (ma continua a non essere visibile la banda dello stretching del gruppo SH).

Questo potrebbe essere indice di una reazione di apertura del ponte S-S da parte dello ione ossidrile e conseguente reazione di lantionizzazione ^[6]. Il trattamento basico è stato utilizzato nella permanente ma non ha trovato molto consenso a causa del fatto che i capelli risultavano piuttosto danneggiati ^[8]. In generale è descritto che la reazione di lantionizzazione si verifica dopo trattamento basico protratto per 10-15 minuti a temperatura ambiente. Anche se nei casi presi in esame in questo lavoro di tesi il trattamento con soluzione acquosa basica è durato circa 5 minuti e poi si è proceduto al lavaggio con acqua, non si può escludere il verificarsi, anche se in misura limitata, di questa reazione che, dopo trattamento termico di piastratura potrebbe avvenire in misura molto più pronunciata. Questo potrebbe essere in accordo sia con i dati di figura 2.2.8 che con quanto riportato nel paragrafo successivo a proposito delle immagini SEM che mostrano un capello con la parte cuticolare piuttosto alterata dopo trattamento basico seguito da piastratura.

Il grado di esposizione della tirosina non viene alterato significativamente; infatti, il rapporto di intensità Raman I_{850}/I_{830} resta circa lo stesso ($I_{850}/I_{830} = 1.29$, figura 10).

La figura 12 mostra gli spettri Raman del pelo di yak non trattato (controllo) e dopo trattamento con acido gliossilico e piastratura in presenza e in assenza di pre-trattamento con KOH in soluzione acquosa.

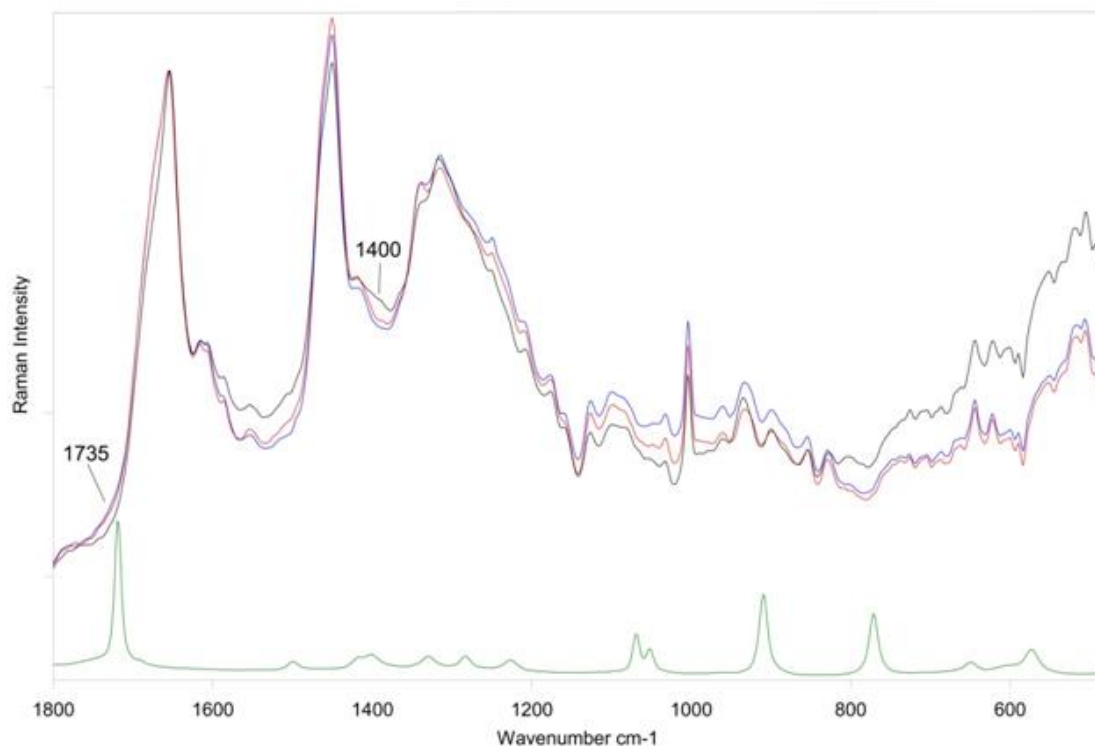


Figura 2.2.12 Spettri Raman del pelo di yak non trattato (controllo, nero) e dopo trattamento con acido gliossilico e piastratura in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso). Lo spettro dell'acido gliossilico è riportato per confronto (verde).

Gli spettri dei campioni trattati con acido gliossilico non sembrano tra loro molto differenti, suggerendo il pre-trattamento basico non influenza in maniera significativa la modifica conformazionale del pelo di yak. In entrambi i casi, il rapporto di intensità I_{850}/I_{830} cala ($I_{850}/I_{830} = 1.17$ senza KOH e $I_{850}/I_{830} = 1.23$ in presenza di KOH) rispetto al pelo di yak non trattato ($I_{850}/I_{830} = 1.30$), indicando per i residui di tirosina un cambiamento verso un grado di minor esposizione (tabella 2.2.1).

Gli spettri dei campioni trattati mostrano entrambi una spalla larga a circa 1735 cm^{-1} , assegnabile alla presenza del carbossile dell'acido gliossilico.

Inoltre, in entrambi si osserva un calo di intensità della componente a circa 1400 cm^{-1} , assegnabile al modo di bending del gruppo OH della serina; questo comportamento è analogo a quello osservato in IR (v. sotto).

Per valutare le variazioni conformazionali indotte dalla presenza di acido gliossilico, la figura 2.2.13 mostra gli spettri Raman di tutti i campioni analizzati finora nelle regioni spettrali dell'Amide I e dei ponti disolfuro.

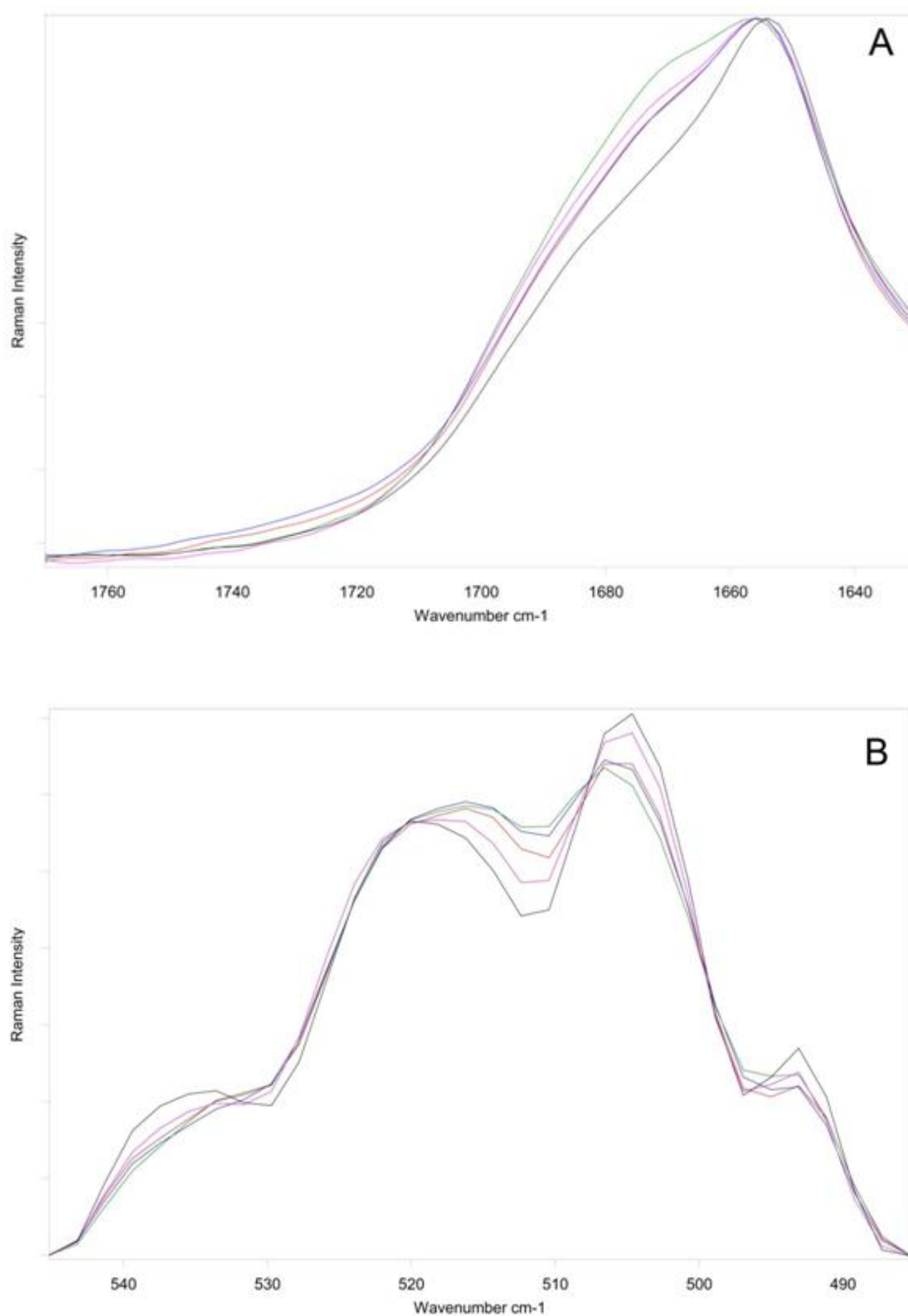


Figura 2.2.13 Spettri Raman, nelle regioni spettrali dell'Amide I (A) e dei ponti disolfuro (B), del pelo di yak non trattato (controllo, nero), dopo piastratura in assenza (rosa) e in presenza di KOH (verde), dopo trattamento con acido gliossilico e piastratura in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso).

Per quanto riguarda il range Amide I (figura 2.2.13A), le variazioni maggiori si hanno in seguito a semplice piastratura; tuttavia, anche il trattamento con acido gliossilico provoca variazioni in questa regione spettrale.

I dati del curve fitting mostrati in figura 2.2.5 indicano che il trattamento con acido gliossilico, sia in assenza che in presenza di KOH, provocherebbe un aumento di conformazione ad α -elica, ossia un aumento relativo dell'area della componente a circa 1655 cm^{-1} . Poiché il rapporto A_{935}/A_{1450} non mostra un analogo aumento in questi campioni (figura 2.2.8A), come ci si aspetterebbe nel caso di un aumento effettivo di α -elica, è più ragionevole assegnare l'aumento dell'area della componente a circa 1655 cm^{-1} alla formazione di composti imminici. Infatti, come riportato nella sezione sulla spettroscopia Raman dei composti modello, lo stretching dei legami C=N cade proprio in questo range. L'andamento dell'Amide III farebbe pensare a un aumento della conformazione disordinata (banda a 1250 cm^{-1}) e a β -foglietto (componente a circa 1230 cm^{-1}).

Per quanto riguarda la regione dei ponti disolfuro, il trattamento con acido gliossilico determina una variazione non particolarmente pronunciata del profilo spettrale (figura 2.2.11B); i dati riportati nella figura 2.2.8B farebbero pensare che il trattamento con acido gliossilico non modifichi la situazione iniziale a livello dei ponti disolfuro dal momento che il rapporto A_{S-S}/A_{1450} torna al valore che aveva nel pelo yak di controllo.

Il fatto che il pre-trattamento basico in questo caso non dia luogo ad una diminuzione dei ponti disolfuro, come osservato invece nel caso di trattamento della fibra con sola soluzione basica, soprattutto dopo il trattamento termico, porta a supporre che il trattamento con acido gliossilico possa neutralizzare l'eventuale base penetrata nella fibra minimizzando la sua azione sul legame S-S. Questo è in accordo anche con le analisi SEM che mostrano come il trattamento della fibra con soluzione basica dia luogo ad un'apertura delle squame della cuticola che poi tendono a richiudersi dopo trattamento con acido gliossilico (vedasi paragrafo successivo).

La figura 2.2.14 riporta gli spettri ATR-IR del pelo di yak prima (controllo) e dopo piastratura in assenza e in presenza di KOH.

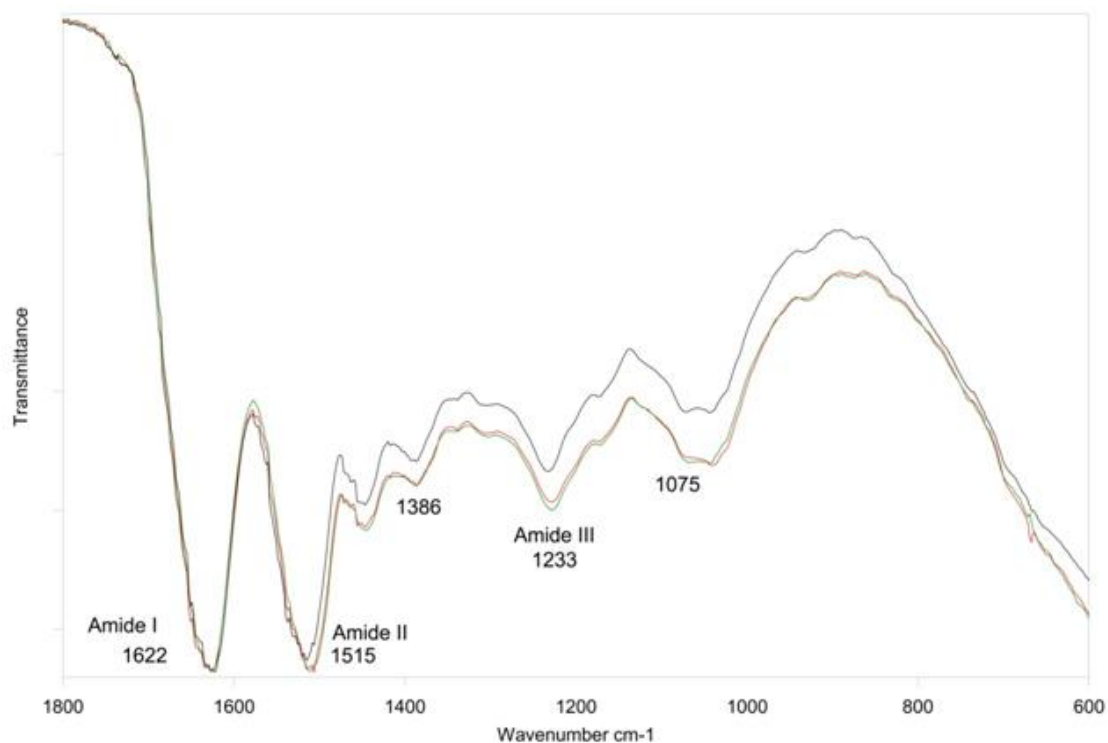


Figura 2.2.14 Spettri ATR-IR del pelo di yak non trattato (controllo, nero), dopo piastratura in assenza (rosa) e in presenza di KOH (verde).

Per quanto riguarda il campione non trattato, la posizione delle bande Amide I, Amide II e Amide III (rispettivamente a 1622, 1515 and 1233 cm^{-1}) suggerisce che la struttura prevalente è del tipo β -foglietto/disordinata^[36]. Un risultato analogo è stato osservato per le fibre di lana^[37, 46]: le cellule della cuticola che costituiscono lo strato più esterno della fibra (ossia quello analizzabile mediante la tecnica ATR) sono costituite da cheratina in conformazione disordinata e a β -foglietto, mentre le più interne cellule corticali sono costituite da cheratina in conformazione ad α -elica. Come riportato in letteratura^[38], quest'ultima conformazione è assente nella cuticola dei capelli.

Alcune bande in figura 2.2.14 sono attribuibili al relativamente alto contenuto di serina nelle cellule della cuticola: le bande a 1386 e 1075 cm^{-1} possono essere assegnate ai modi di bending del gruppo OH^[48] e di stiramento del legame CO^[49].

In seguito a piastratura (sia in presenza che in assenza di KOH) si osservano solo piccole variazioni, che coinvolgono principalmente la banda Amide II. In ogni caso, le variazioni sono significativamente meno pronunciate che negli spettri Raman, facendo supporre che i trattamenti utilizzati modifichino il massivo della fibra (cioè la regione corticale), più che la cuticola.

La figura 2.2.15 mostra gli spettri ATR-IR dei campioni trattati con acido gliossilico dopo piastratura in presenza e in assenza di pretrattamento con soluzione di KOH. Come osservato in Raman, gli spettri relativi ai campioni con e senza trattamento con KOH non sono significativamente differenti.

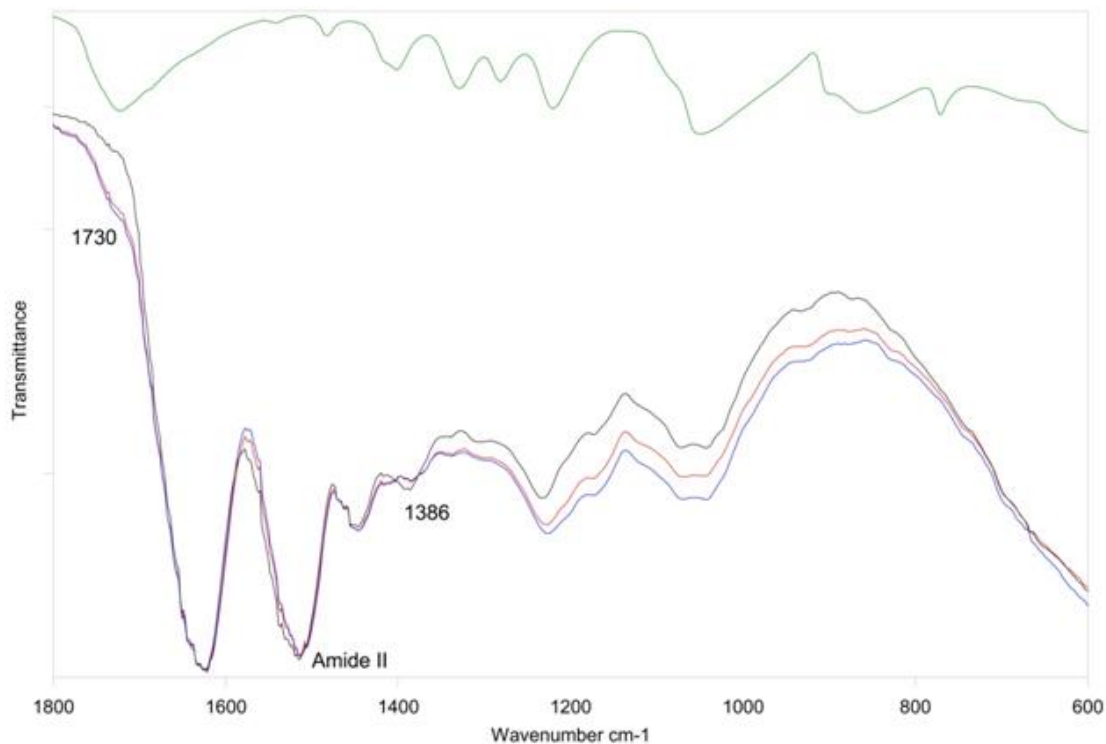


Figura 2.2.15 Spettri ATR/IR del pelo di yak non trattato (controllo, nero) e dopo trattamento con acido gliossilico e piastratura in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso). Lo spettro dell'acido gliossilico è riportato per confronto (verde).

Negli spettri dei campioni trattati si osserva un allargamento a circa 1730 cm^{-1} dovuto allo stiramento C=O del gruppo carbossilico dell'acido gliossilico. Inoltre, si può osservare che la già citata banda a 1386 cm^{-1} , attribuibile al bending del gruppo OH della serina, è significativamente indebolita in seguito al trattamento con acido gliossilico, suggerendo il possibile coinvolgimento di questo amminoacido.

Per valutare le variazioni conformazionali indotte dalla presenza di acido gliossilico, la figura 2.2.16 mostra gli spettri ATR-IR di tutti i campioni analizzati finora, nelle regioni spettrali dell'Amide I e dell'Amide II.

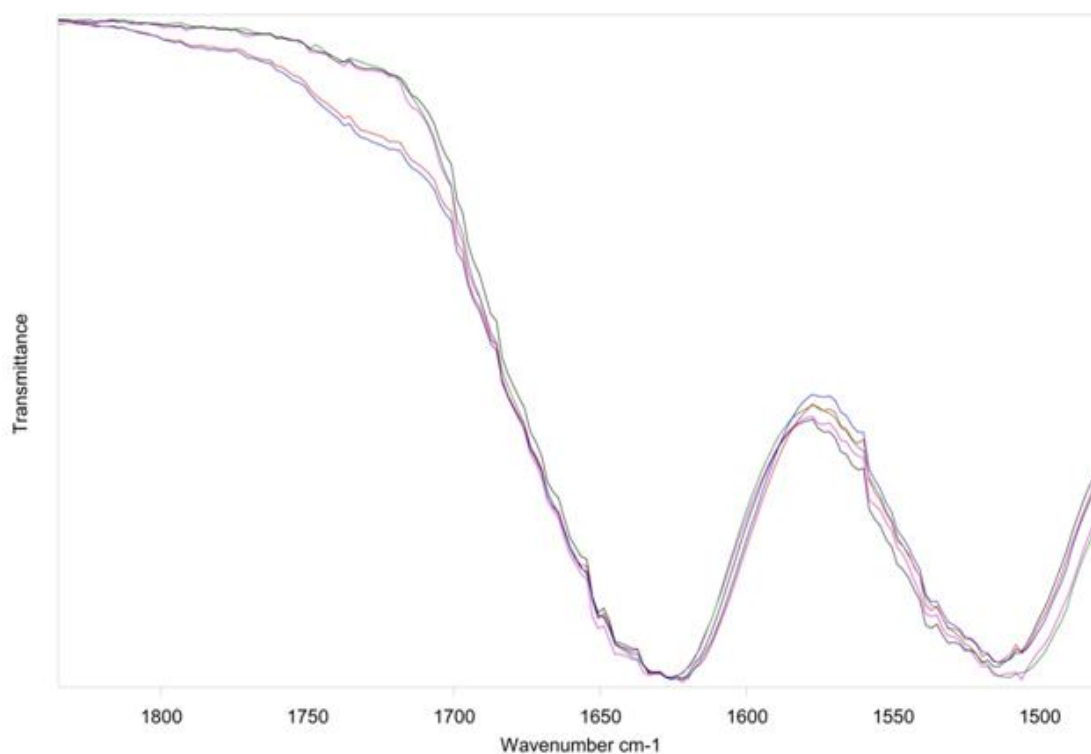


Figura 2.2.16 Spettri ATR/IR del pelo di yak non trattato (controllo, nero), dopo piastratura in assenza (rosa) e in presenza di KOH (verde), dopo trattamento con acido gliossilico e piastratura in presenza (blu) e in assenza di KOH (rosso).

Come si può osservare, le modificazioni conformazionali nei primi 2 μm di spessore, ossia quelli analizzabili mediante la tecnica ATR e ascrivibili al trattamento con acido gliossilico, sono davvero marginali.

2.3 ANALISI SEM SU FIBRE

Le analisi al microscopio elettronico a scansione sono state effettuate sia su peli di yak che su capelli ricci umani al fine di valutare variazioni morfologiche della fibra a seconda del trattamento a cui è stata sottoposta.

Sono stati analizzati tal quali campioni di fibre sia longitudinalmente che in sezione trasversale, tramite microscopio elettronico in scansione (SEM), utilizzando la modalità VP (pressione variabile) la quale consente di poter osservare campioni non conduttivi senza dover ricorrere alla loro metallizzazione (generalmente un film di oro depositato via *sputtering*), preservandoli così da eventuali artefatti introdotti dal processo stesso.

2.3.1 Comparazione fra pelo di yak e capello umano riccio

I peli di yak utilizzati sono naturalmente lisci ed hanno subito un trattamento sbiancante prima della commercializzazione. Tale substrato è stato impiegato per le indagini Raman, al posto del capello umano, in quanto è chiaro e disponibile in abbondanza; per avere una maggior caratterizzazione è stato analizzato al SEM. La figura 2.3.1 mostra, in confronto, le immagini SEM di un capello umano riccio (a) di un un pelo di yak (b).

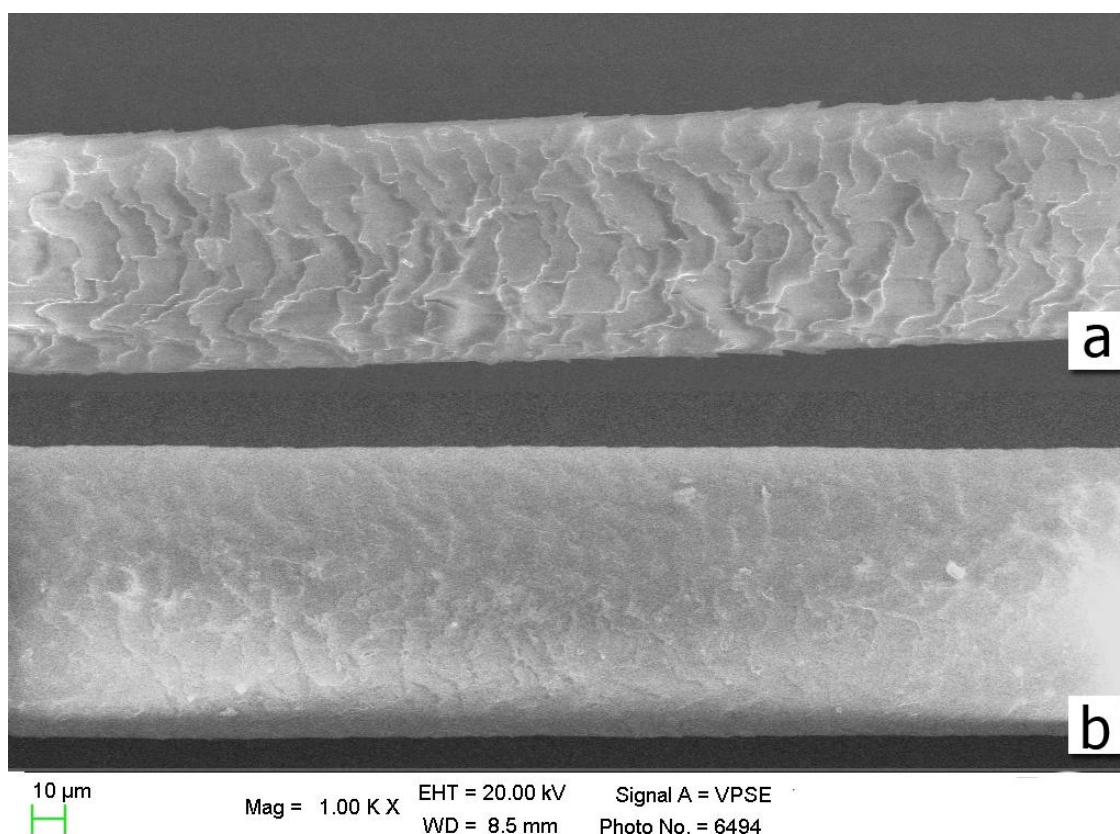


Figura 2.3.1 Confronto fra immagini SEM di un capello umano riccio (a) e un pelo del mantello di yak (b).

Dalla comparazione delle immagini risulta evidente come la fibra di yak risulti molto più liscia e presenti squame meno aperte (più embricate) rispetto al capello umano riccio.

2.3.2 Analisi SEM su peli di yak sottoposti a diversi trattamenti

Dato che peli di yak sono stati utilizzati per le analisi spettrometriche descritte nel paragrafo precedente, si è scelto di effettuare analisi al SEM su queste fibre analizzando campioni sottoposti a diversi trattamenti, alcuni dei quali uguali a quelli eseguiti per i

campioni investigati per mezzo di spettrometria Raman e ATR-FT-IR. In particolare il trattamento dei campioni A, C, ed E per le analisi SEM è analogo a quello effettuato sui campioni a), c), ed e) per le analisi Raman e ATR-FT-IR.

I campioni analizzati, ognuno dei quali, ottenuto con un diverso pelo appartenente a una ciocca dello stesso lotto commerciale, sono indicati di seguito:

- Campione A: pelo di yak naturale, usato come campione di riferimento. L'analisi SEM è stata effettuata in due punti diversi dello stesso pelo che ha dato le immagini **a** ed **a'**.
- Campione B: pelo di yak immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97 quindi risciacquato con acqua e asciugato con phon. L'analisi SEM, effettuata in due punti diversi dello stesso pelo, ha dato le immagini **b** ed **b'**.
- Campione C: pelo di yak immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi sottoposto a trattamento stirante con piastra termica a 230 °C per 6 volte. La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **c**.
- Campione D: pelo di yak immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi immerso in soluzione acquosa di acido gliossilico 6% per 30 min. La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **d**.
- Campione E: pelo di yak immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi immerso in soluzione acquosa di acido gliossilico 6% per 30 minuti. Asciugato con phon ed infine sottoposto a trattamento stirante con piastra termica a 230 °C per 6 volte. La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **e**.

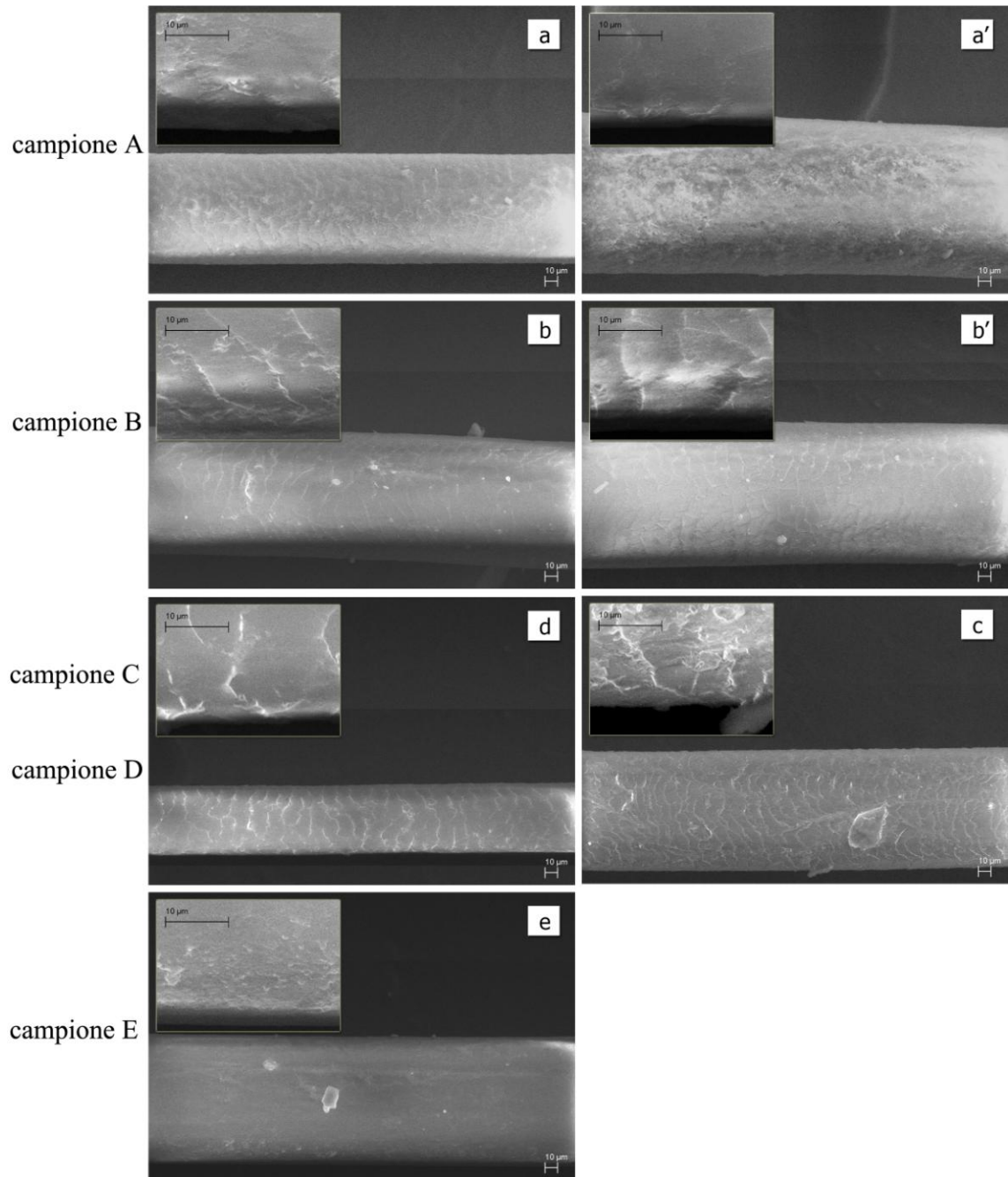


Figura 2.3.2 Immagini SEM di peli del mantello di yak sottoposti a diversi trattamenti.

Dal confronto fra le immagini a ed a', corrispondenti a punti diversi dello stesso pelo è evidente come il campione non sia omogeneo in tutta la sua lunghezza, come plausibile in una fibra animale che cresce e che è stata sottoposta a diversi agenti per un periodo più o meno lungo a seconda della lunghezza della fibra. In entrambi i casi si può tuttavia notare come le squame siano ben aderenti una rispetto all'altra

Come si può notare, il trattamento con soluzione basica produce in tutti i casi (B, C, D) un rigonfiamento con apertura delle squame della cuticola.

Confrontando l'immagine del campione trattato con soluzione basica prima (**b'**) e dopo piastratura a 230 °C (**c**) si può notare come l'apertura delle squame persista anche dopo lo stiramento e rivelando irregolarità che potrebbero essere imputate ad un possibile danneggiamento della cuticola.

Inoltre, dal confronto dell'immagine **b** con **d** si osserva una struttura esterna della fibra che denota una minor apertura delle squame in **d** rispetto a **b** che potrebbe essere dovuta al trattamento con soluzione acquosa di acido gliossilico dopo il trattamento basico (che aveva prodotto apertura delle squame) che potrebbe aver ripristinato parzialmente la situazione iniziale del capello senza evidenziare a livello della cuticola un danneggiamento della stessa come invece succede nel caso **c**.

Infine, la piastratura dopo l'applicazione dell'acido gliossilico come descritto per il campione D da luogo ad una situazione di ulteriore chiusura delle squame rispetto al caso **d** come atteso in considerazione del fatto che maggiormente liscio è il capello^[49] maggiore è la chiusura delle squame che rende il capello pressoché impermeabile ostacolando l'accesso di molecole di acqua o altre piccole molecole all'interno del capello stesso.

2.3.3 Analisi SEM su capello riccio umano sottoposto a diversi trattamenti

Agli stessi trattamenti eseguiti sul pelo di yak sono anche stati sottoposti alcuni capelli umani.

Nella figura seguente sono state riportate a confronto due immagini SEM ottenute da un capello riccio (a sinistra) e da un capello ondulato (a destra) forniti da volontari. Analogamente a quanto osservato per il pelo di yak si può notare come la cuticola del capello umano riccio presenti le squame molto più sollevate rispetto a quella del capello ondulato.

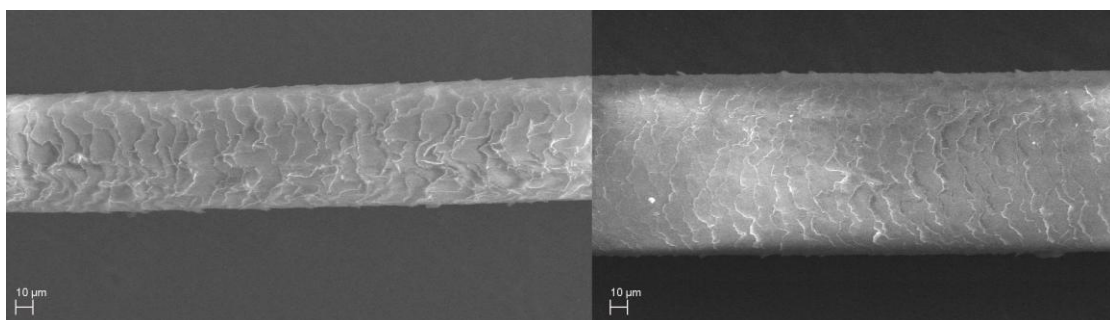


Figura 2.3.3 Confronto fra immagini SEM di un capello umano riccio con uno ondulato.

I campioni analizzati al SEM sono stati i seguenti:

- Campione A: capello umano riccio, usato come campione di riferimento. L'analisi SEM, effettuata in due punti diversi dello stesso capello, ha dato le immagini **a** ed **a'**.
- Campione B: capello immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97 quindi risciacquato con acqua e asciugato con phon. L'analisi SEM, effettuata in due punti diversi dello stesso capello, ha dato le immagini **b** ed **b'**.
- Campione C: capello immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi sottoposto a trattamento stirante con piastra termica a 230 °C per 5 volte. La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **c**.
- Campione D: capello immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua asciugato con phon poi immerso in soluzione acquosa di acido gliossilico 6% per 30 min. La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **d**.
- Campione E: capello immerso per 5 minuti in soluzione acquosa basica (KOH) a pH = 8.97, risciacquato con acqua asciugato con phon poi immerso in soluzione acquosa di acido gliossilico 6% per 30 minuti. Asciugato con phon poi sottoposto a trattamento stirante con piastra termica a 230 °C (5 volte). La relativa analisi SEM ha dato l'immagine **e**.

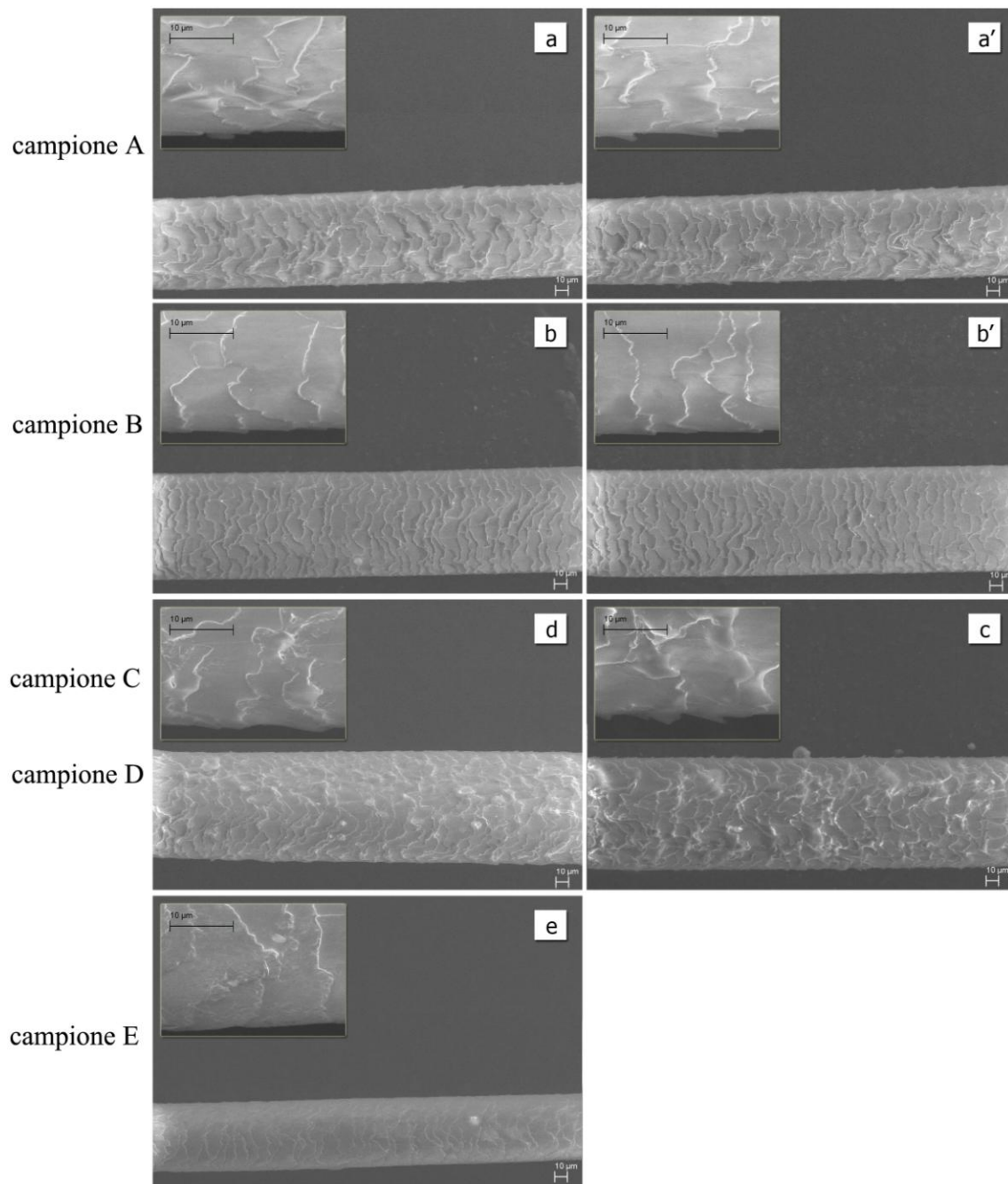


Figura 2.3.4 Immagini SEM di capelli umani ricci sottoposti a diversi trattamenti.

Come si può osservare le considerazioni fatte per le immagini SEM dei campioni di pelo di yak dopo i diversi trattamenti, discussi nel paragrafo precedente, ben si accordano con quanto ottenuto sul capello riccio umano. Anche in tal caso il solo trattamento basico produce un rigonfiamento con innalzamento delle squame [si confrontino **a** (o **a'**) con **b** (o **b'**)] che permane dopo trattamento termico (cfr. **b'** con **c**) in seguito al quale la superficie del capello appare molto più irregolare. Il trattamento con acido gliossilico dà luogo, dopo piastratura, ad un capello liscio con squame molto più chiuse.

I risultati simili ottenuti per pelo di yak e capello umano avvalorano la scelta di aver utilizzato come modello per l'analisi Raman la fibra di yak e sono in accordo con quanto riportato in letteratura relativamente all'impiego di queste fibre come modelli per lo studio di trattamenti (uso di coloranti, di surfattanti, ecc.) sui capelli umani.

Si sono analizzate al SEM anche sezioni trasversali ottenute adagiando i capelli in una formella cilindrica secondo la procedura descritta nella parte sperimentale. Purtroppo la qualità dei campioni ottenuti con questa tecnica è risultata non adatta a ottenere immagini di buona qualità. In figura 2.3.5 sono riportate le immagini ottenute tagliando i capelli con un paio di forbici, da qui la presenza di “slabbrature” della superficie.

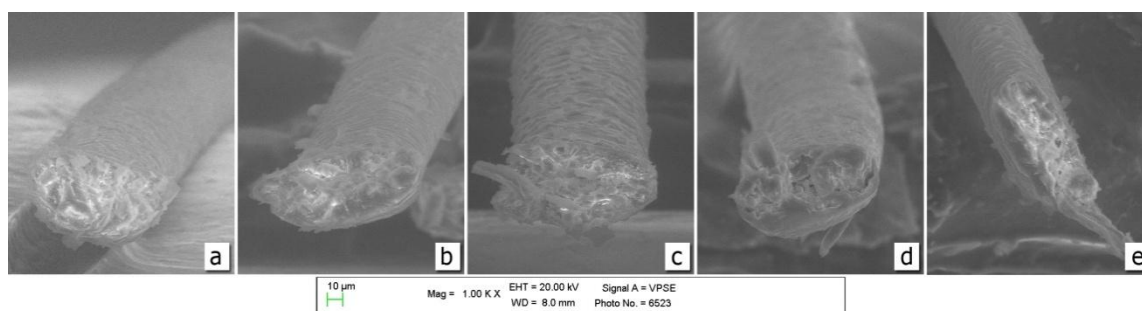


Figura 2.3.5 Immagini SEM di sezione dei campioni di figura 2.3.4 relative a :
a. Capello riccio naturale, b. Capello riccio con pretrattamento (5 min) con soluzione basica, risciacquato e asciugato, c. Capello riccio trattato come in b poi stirato a 230 °C, d. Capello riccio trattato come in b poi lasciato in soluzione acquosa di acido gliossilico 6% per 30 min e asciugato; e. Capello riccio trattato come in d poi stirato a 230 °C.

Anche queste immagini mettono in evidenza delle variazioni nello strato cuticolare del capello, come descritto in precedenza per le analisi effettuate longitudinalmente.

3. CONSIDERAZIONI FINALI

La scarsità di informazioni sulle reazioni che intervengono nel processo di stiratura semipermanente dei capelli e la necessità di trovare prodotti alternativi all'uso della formaldeide ha portato a intraprendere questo lavoro di tesi. Esso si è svolto seguendo due linee principali: l'indagine sui possibili meccanismi di reazione che intervengono fra composti aventi gruppi aldeidici, quali formaldeide o acido glicosilico (particolarmente efficaci nel processo di stiratura), e alcuni amminoacidi presenti nei capelli da un lato, e uno studio sulle modificazioni che intervengono nella fibra attraverso spettroscopia Raman e ATR-FT-IR e microscopia elettronica a scansione (SEM).

Partendo dall'ipotesi più plausibile di una addizione nucleofila, ad opera di gruppi presenti su alcuni residui amminoacidici della catena polipeptidica, sul carbonile aldeidico di formaldeide e acido glicosilico, sono stati presi in considerazione tre gruppi funzionali presenti sugli amminoacidi che possono dar luogo ad addizione reversibile al carbonio carbonilico: il gruppo tiolico che comportandosi come nucleofilo allo zolfo potrebbe dare formazione di semitioacetali, il gruppo ossidrilico di amminoacidi come serina e treonina che potrebbe dare semiacetali, ed il gruppo amminico di amminoacidi basici che agendo da nucleofilo all'azoto potrebbe generare immine. Riguardo a reazioni con residui cisteinici, la loro assenza nella cheratina implicherebbe il passaggio attraverso la rottura del legame disolfuro fra residui cisteinici nella fibra. Dalle prove qui effettuate sembra improbabile che nelle condizioni usate per la stiratura dei capelli con formaldeide e con acido glicosilico ciò possa verificarsi. Questo è supportato anche dall'indagine Raman che nel caso di trattamento di peli di yak con acido glicosilico ha rivelato solo cambiamenti conformazionali coinvolgenti legami S-S ed una trascurabile diminuzione degli stessi.

L'indagine è proseguita utilizzando come amminoacido basico modello *N*- α -acetil-L-lisina, dove il gruppo amminico in posizione alfa al carbossile è protetto per cercare sia di mimare la situazione nel polipeptide che di evitare reazioni fra questo gruppo e il carbonile. Alcune prove sono state condotte facendo reagire questo substrato con una serie di aldeidi aromatiche in diverse condizioni sperimentali.

Dall'analisi dei risultati è emersa sia l'importanza dell'elettrofilicità del carbonio carbonilico che quella della temperatura nel favorire la reazione.

La reazione con *N*- α -acetil-L-lisina è stata effettuata anche con acido glicosilico in acqua che ha dato, dopo rimozione del solvente a 100 °C, conversione completa a prodotto

imminico. La relativa facilità riscontrata nella formazione dell'addotto imminico suggerisce la possibilità di una facile formazione di tale legame anche nella fibra, non solo con residui di lisina ma molto probabilmente anche con quelli di altri amminoacidi come ad esempio l'arginina.

Anche l'analisi Raman ha confermato un aumento di intensità della banda Amide I dopo trattamento di pelo di yak con acido gliossilico. In considerazione del fatto che in concomitanza non vi è stato un aumento della percentuale di conformazione alfa del polipeptide, l'aumento riscontrato dopo il trattamento lisciante è molto probabilmente dovuto alla formazione di legami imminici nella fibra.

Riguardo alle catene laterali di amminoacidi come serina e treonina che potrebbero comportarsi come nucleofili all'ossigeno l'indagine su modelli è stata demandata a studi successivi ma già fin d'ora l'indagine Raman ha evidenziato una diminuzione della banda dell'ossidrilica della serina suggerendo un possibile coinvolgimento di questo amminoacido nella reazione con acido gliossilico.

Infine le indagini Raman su peli di yak trattati in diversi modi indicano che il trattamento stirante con acido gliossilico aumenta la percentuale di cheratina in conformazione a foglietto beta, provoca solo scarse modifiche conformazionali a livello di ponti disolfuro, implica possibile formazione di legami imminici e coinvolgimento di residui serinici. L'analisi dei corrispondenti spettri ATR-FT-IR in solido non mostra variazioni di rilievo: ciò indica che il trattamento con acido gliossilico dà luogo a modifiche all'interno del capello e non all'esterno sulla cuticola.

Questa osservazione potrebbe spiegare il motivo per cui gli operatori del settore hanno constatato che quando il capello viene trattato con soluzioni di acido gliossilico a concentrazione molto più elevata di quella 'canonica', utilizzata in questo studio (circa 6% di acido gliossilico in acqua peso/volume) si verificano variazioni anche rilevanti del tono di colore del capello. Dato che i dati Raman e ATR-FT-IR indicano che l'azione dell'agente lisciante avviene all'interno del capello, non si può escludere che ad alte concentrazioni l'acido gliossilico, penetrando nel capello, non interagisca con il pigmento melaninico modificando così anche il tono del colore della fibra.

Infine, l'indagine SEM effettuata sia su campioni di fibra di yak che su capelli umani ricci ha evidenziato come il pre-trattamento basico sul capello favorisca l'apertura delle squame e quindi la penetrazione dell'agente lisciante, e anche come alla fine del trattamento stirante la fibra riassuma una struttura cuticolare più liscia con squame molto

ordinate e chiuse, caratteristica tipica di un capello liscio e molto meno pronunciata in un capello riccio.

In conclusione, anche se il meccanismo di interazione fra i componenti delle formulazioni usate per il trattamento di stiratura e la fibra potrebbe essere molto più complesso di quello che prevede la formazione di immine o semiacetali (ad esempio si potrebbe avere anche la formazione di legami incrociati coinvolgenti più catene polipeptidiche o altre reazioni) la reversibilità del trattamento (semipermanente) con prodotti aventi funzionalità aldeidiche fa propendere per reazioni del genere studiato, suggerendo che la ricerca di nuovi agenti liscianti tenga conto di quanto qui riscontrato.

4 PARTE SPERIMENTALE

4.1 NOTE GENERALI

Gli spettri ^1H e ^{13}C NMR sono stati registrati mediante spettrometri Varian Inova 300 rispettivamente a 300 e 75.56 MHz e Varian Mercury 400 a 400 e 100.56 MHz in D_2O o $\text{DMSO-}d_6$. I chemical shifts sono misurati in δ (ppm) e i valori di J sono dati in Hz. La linea di riferimento presa per le analisi ^1H NMR è quella relativa al solvente (D_2O 4.65 ppm e $\text{DMSO-}d_6$ 2.50 ppm) mentre per le analisi ^{13}C NMR come riferimento per le analisi in D_2O si è usato come standard esterno l'acido 3-(trimetilsilil)propionico mentre per la analisi in $\text{DMSO-}d_6$ si è presa la riga centrale del segnale relativo al solvente (39.50 ppm).

Gli spettri ESI-MS sono stati registrati con un apparecchio WATERS 2Q 4000.

I valori di pH sono stati determinati mediante uno strumento AMEL Mod.2335 con elettrodo combinato Hamilton 3M HCl.

I solventi e i reagenti utilizzati, dove non altrimenti specificato, sono prodotti commerciali (Aldrich o Fluka).

Per la stiratura dei capelli è stata usata una piastra BHS AF6000 titanio.

Gli spettri Raman sono stati registrati con uno spettrometro Raman a trasformata di Fourier Bruker MultiRam munito di rivelatore al germanio e di eccitatrice a 1064 nm (laser Nd^{3+} -YAG). Gli spettri sono stati registrati usando una configurazione di backscattering (180°). Il diametro del raggio laser focalizzato è di circa 100 μm . Per registrare gli spettri, è stata utilizzata una potenza laser sul campione di circa 60 mW e una risoluzione spettrale di 4 cm^{-1} .

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro a trasformata di Fourier Nicolet 5700 munito di un accessorio ATR Smart Orbit con cristallo in diamante e un rivelatore DTGS; la risoluzione spettrale è di 4 cm^{-1} .

Nel caso di analisi su fibra, sia gli spettri Raman che quelli IR sono stati registrati mantenendo costante l'orientazione delle fibre gli spettri vibrazionali sono infatti sensibili all'orientazione delle stesse). Gli spettri riportati sono la media di due spettri registrati in due punti diversi dello stesso campione. Sempre riguardo all'analisi su fibra, per valutare la distribuzione delle varie conformazioni di struttura secondaria, la regione spettrale dell'Amide I è stata analizzata mediante una procedura di curve fitting.

È stata corretta la linea di base degli spettri e di essi è stata calcolata la derivata quarta (utilizzando una funzione di smoothing a 9 punti), in accordo al metodo Savitsky-Golay. Le frequenze delle bande nello spettro derivata-IV sono state utilizzate come parametri iniziali per la procedura di curve fitting. Quest'ultima è stata eseguita usando il software OPUS/IR (versione 2.0) utilizzando l'algoritmo Levenberg-Marquardt. I profili delle bande Raman sono stati descritti come combinazioni lineari di funzioni Lorenziane e Gaussiane.

Il contenuto delle conformazioni β -foglietto, β -ripiegamento, α -elica e disordinata è stato determinato considerando l'area delle bande a circa 1700 e 1670 cm^{-1} , 1685 cm^{-1} , 1655 cm^{-1} e 1640 cm^{-1} , rispettivamente^[35, 36], in accordo ad altri studi^[51, 52]. Come riportato in letteratura, la banda a circa 1685 cm^{-1} può risentire anche del contributo della vibrazione di stretching del gruppo C=O dell'acido aspartico e glutammico^[53].

Come riportato da Kuzuhara in vari suoi studi^[45, 46], ai fini dello studio spettroscopico Raman, le fibre bianche sono sicuramente da preferire per il fatto che non contengono melanine; queste ultime sono responsabili di un'elevata fluorescenza e quindi di un peggioramento degli spettri Raman.

Per quanto riguarda gli esperimenti condotti al SEM, sono stati analizzati campioni di peli di yak e di capelli umani sia longitudinalmente che in sezione trasversale. I campioni sono stati osservati tal quali tramite microscopio elettronico in scansione (SEM) modello Zeiss EVO 50 VP, utilizzando la modalità VP (pressione variabile) la quale consente di poter osservare campioni non conduttivi senza dover ricorrere alla loro metallizzazione tramite sputter di oro, preservandoli così da eventuali artefatti introdotti dal processo stesso. Le condizioni operative per tutti i campioni sono state le seguenti:

- Tensione di accelerazione: 20 kV
- Segnale rivelato: SE (elettroni secondari, specifico per la morfologia)
- Valore della pressione in camera: 100 Pa.

Per quanto riguarda l'osservazione delle sezioni trasversali sono state utilizzate le usuali tecniche di preparativa materialografica.

In una formella cilindrica diametro 30 mm è stato colato preventivamente un letto di resina acrilica (Heraeus Kulzer - Technovit 4004), a consolidamento ottenuto (30 minuti circa) sono stati adagiati longitudinalmente i vari campioni in analisi tenuti in posizione per mezzo di nastro biadesivo, dopodiché è stata colata ulteriormente la resina acrilica fino al ricoprimento della formella stessa.

Ottenuto il consolidamento della seconda colata, tramite troncatrice di precisione il provino cilindrico in resina è stato tagliato assialmente al fine di evidenziare la sezione trasversale delle fibre.

Successivamente la superficie della formella in resina è stata spianata con corte abrasive nella sequenza: P400, P800, P1200, P2000 e lucidata con panni di cotone e spray diamantato di granulometria 3 μm ed 1 μm . Il campione così ottenuto è stato osservato al SEM.

4.2 CARATTERIZZAZIONE PRODOTTI

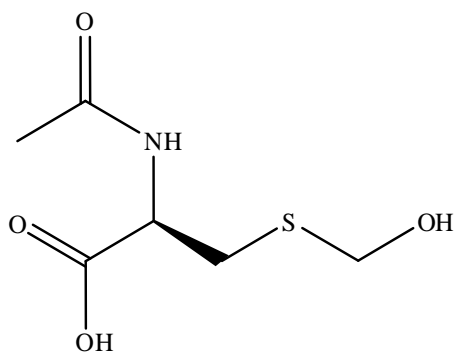
4.2.1 Reazione tra N-acetil-L-cisteina e formaldeide

In un pallone da 10 mL si sciolgono 45 mg ($2.75 \cdot 10^{-4}$ mol) di N-acetil-L-cisteina e 0.022 mL ($2.75 \cdot 10^{-4}$ mol) di formaldeide (soluzione acquosa al 36.5%) in 1 mL di acqua, il pH della soluzione ottenuta è circa 3.

Dopo 1 ora sotto agitazione magnetica si concentra la soluzione a pressione ridotta mediante evaporatore rotante, mantenendo il bagno a circa 35 °C.

Il prodotto ottenuto è stato analizzato tramite spettroscopia NMR usando come solvente D₂O ed i dati ottenuti sono in accordo con quelli riportati in letteratura ^[7, 15] per l'*N*-acetil-*S*-(idrossimetil)-*L*-cisteina.

***N*-acetil-*S*-(idrossimetil)-*L*-cisteina (3)**



¹H-NMR (D₂O, 300 MHz)

δ, ppm = 4.59 (d, *J*= 4.22 Hz, 2H), 4.52–4.44 (m, 1H), 3.08–2.88 (m, 2H), 1.88 (s, 3H).

¹³C-NMR (CDCl₃, 75.56 MHz)

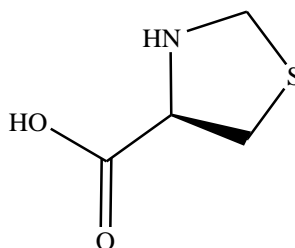
δ, ppm = 174.1, 173.8, 65.2, 52.6, 31.8, 21.6.

4.2.2 Reazione tra L-cisteina cloridrato e formaldeide (2)

In un pallone da 10 mL si sciolgono 26.8 mg ($1.53 \cdot 10^{-4}$ mol) di cisteina cloridrato monoidrata e 0.012 mL ($1.53 \cdot 10^{-4}$ mol) di formaldeide [soluzione acquosa al 36.5%, $d = 1.085$ g/mL] in 1 mL di acqua. Si lascia reagire, a temperatura ambiente e sotto agitazione magnetica, per 1 ora, dopo di che si elimina il solvente sotto vuoto mediante evaporatore rotante. Si ottiene un solido bianco.

Il prodotto è stato ottenuto con resa quantitativa ed è stato caratterizzato mediante spettroscopia ^1H NMR, ^{13}C NMR e ESI-MS. I dati ^{13}C NMR sono in accordo con i dati riportati in letteratura ^[15] per l'acido (4S)-1,3-tiazolidin-4-carbossilico.

Acido (4S)-1,3-tiazolidin-4-carbossilico (5)



Aspetto: solido bianco;

^1H -NMR (D_2O , 400 MHz)

δ , ppm = 4.61 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 10.49$ Hz, 1H, sistema AB), 4.27 (d, $J = 10.49$ Hz, 1H, sistema AB), 3.41–3.25 (m, 2H).

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 75.56 MHz)

δ , ppm = 170.2, 62.6, 48.4, 32.2.

ESI⁺-MS (m/z): 134 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 156 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

4.2.3 Reazione fra L-cistina (8) e formaldeide (2)

In un pallone da 10 mL si sciolgono 41 mg ($1.72 \cdot 10^{-4}$ mol) di L-cistina (8) e 0.013 mL ($1.72 \cdot 10^{-4}$ mol) di formaldeide (soluzione acquosa al 36.5%) in 1 mL di acqua. Il pH della soluzione ottenuta è circa 6. Dato che la cistina risulta praticamente insolubile, si aggiungono circa una soluzione di KOH al 5% in acqua fino a raggiungere pH~10. Dopo circa 20 minuti sotto agitazione magnetica il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. L'analisi ^1H NMR del residuo ha mostrato presenza di sola cistina di partenza. La reazione è stata provata in diverse altre condizioni sperimentali riportate in tabella 4.1.

Reagenti	Moli (Rapporto molare)	Temperatura	Tempo (min)	pH
Formaldeide/L-cistina	$1,72 \cdot 10^{-4} \div 1,72 \cdot 10^{-4}$ (1÷1)	Amb	30	2
Formaldeide/L-cistina	$2,36 \cdot 10^{-4} \div 2,36 \cdot 10^{-4}$ (1÷1)	Amb	30	~10
Formaldeide/L-cistina	$2,40 \cdot 10^{-4} \div 2,40 \cdot 10^{-4}$ (1÷1)	100 °C	30	~10

Tabella 4.1

Le reazioni effettuate a valori di pH minori di 10 hanno avuto l'inconveniente della scarsissima solubilità della cistina mentre la reazione effettuata a pH ~10 a 100 °C per 30 minuti ha mostrato uno spettro NMR complesso con segnali simili a quelli dell'addotto 5 e della cisteina.

Nel caso della reazione fra 8 e 6 in quantità equimolari a temperatura ambiente lo spettro ^1H NMR in D_2O del grezzo ottenuto è risultato contenere soprattutto prodotti di partenza oltre a due singoletti (in tracce) a $\delta \sim 8.0$ e 8.1 ppm, ascrivibili alla probabile formazione di derivati imminici fra l'ammino gruppo in alfa al carbonile della cistina e il carbonile aldeidico di 6. In futuro ulteriori indagini saranno effettuate su questa reazione.

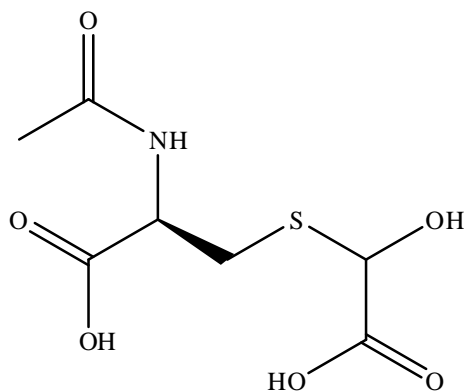
4.2.4 Reazione tra N-acetil-L-cisteina e acido gliossilico

In un pallone da 10 mL si sciolgono 45 mg ($2.75 \cdot 10^{-4}$ mol) di N-acetil-L-cisteina e 20 mg ($2.75 \cdot 10^{-4}$ mol) di acido gliossilico in 1 mL di acqua, il pH della soluzione ottenuta è circa 2.

Dopo 30 minuti si concentra la soluzione sotto vuoto mediante evaporatore rotante, mantenendo il bagno a circa 35 °C.

Il prodotto ottenuto è stato analizzato tramite spettroscopia NMR usando come solvente D₂O.

***N*-acetil-*S*-[carbossi(idrossi)metil]-*L*-cisteina (miscela di 7a e 7b)**



¹H-NMR (D₂O, 400 MHz) (due diastereoisomeri)

δ, ppm = 5.23 (s, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.51–4.37 (m, 1H), 3.09–2.73 (m, 2H), 1.83 (s, 3H).

¹³C-NMR (D₂O, 100.56 MHz) (due diastereoisomeri)

δ, ppm = 174.2 (C), 174.1 (C), 173.4 (C, 2 segnali sovrapp.), 173.1 (C), 172.9 (C), 73.1 (CH), 72.9 (CH), 52.6 (CH), 52.4 (CH), 30.6 (CH₂), 29.9 (CH₂), 21.61 (CH₃), 21.58 (CH₃).

ESI⁺-MS m/z: 238 (M⁺ H), 260 (M⁺ Na), 276 (M⁺ K).

4.2.5 Reazione tra *N*- α -acetil-L-lisina e aldeidi aromatiche a temperatura ambiente

In un tubo per spettroscopia NMR si sciolgono 10 mg di *N*- α -acetil-L-lisina ($5.31 \cdot 10^{-5}$ mol) e una quantità equimolare di aldeide (**11a–c**), in 0.75 mL di DMSO-*d*₆. La *N*- α -acetil-L-lisina si scioglie molto lentamente.

Le reazioni vengono monitorate mediante spettroscopia ¹H NMR a 22 e 46 ore.

4.2.6 Reazione tra *N*- α -acetil-L-lisina e aldeidi aromatiche a 50 °C

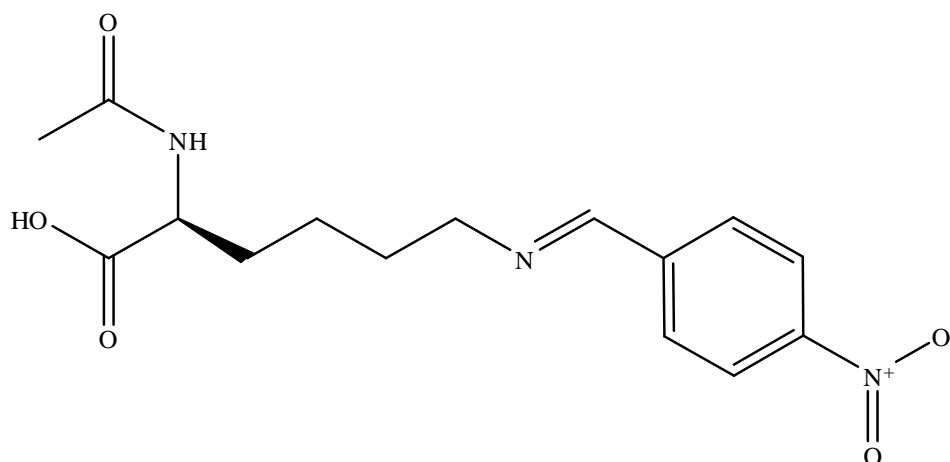
In un tubo per spettroscopia NMR si sciolgono 10 mg di *N*-acetil lisina ($5.31 \cdot 10^{-5}$ mol) e una quantità equimolare di aldeide (**11a–c**), in 0.75 mL di DMSO-*d*₆. Il tubo viene tenuto in bagno termostato a 50 °C. La *N*- α -acetil-L-lisina si scioglie lentamente.

Le reazioni vengono monitorate mediante spettroscopia ¹H NMR a 4 e 22 ore.

I risultati ottenuti in entrambe le condizioni sperimentali sono riportati nella tabella seguente.

Reazione	X	Temperatura	Tempo (h)	Conversione %
1	NO ₂	Ambiente	22	26
2	NO ₂	Ambiente	46	40
3	NO ₂	50 °C	4	85
4	NO ₂	50 °C	22	98
5	CH ₃	Ambiente	22	10
6	CH ₃	Ambiente	46	16
7	CH ₃	50 °C	4	19
8	CH ₃	50 °C	22	30
9	OCH ₃	Ambiente	22	5
10	OCH ₃	Ambiente	46	13
11	OCH ₃	50 °C	4	16
12	OCH ₃	50 °C	22	25

Tabella 4.2 Reazioni fra *N*- α -acetil-L-lisina e aldeidi aromatiche in DMSO-*d*₆.

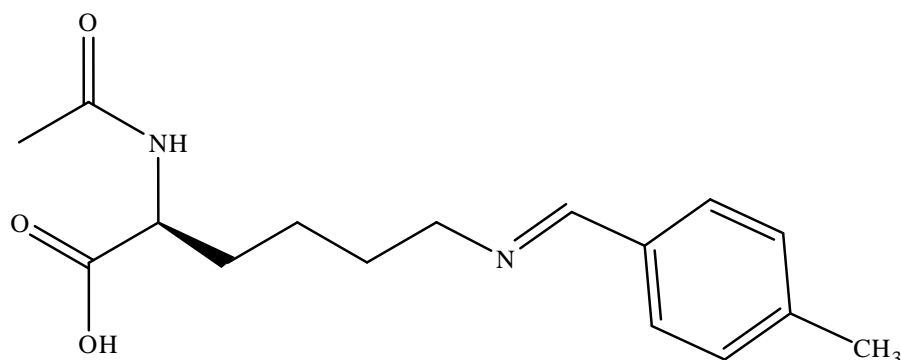
N^2 -acetil- N^6 -(4-nitrobenziliden)-L-lisina (12a) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz)

δ , ppm = 8.49 (s, 1H), 8.25 (d, J = 9.40 Hz, 2H), 8.04 (d, J = 7.05 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 9.40 Hz, 2H), 4.20–4.11 (m, 1H), 3.62 (t, J = 6.40 Hz, 2H), 1.82 (s, 3H), 1.78–1.55 (m, 4H), 1.43–1.30 (m, 2H);

 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100.572 MHz)

δ , ppm = 173.8 (C), 169.2 (C), 159.2 (CH), 148.5 (C), 141.7 (C), 128.8 (CH), 123.9 (CH), 60.4 (CH₂), 51.8 (CH), 30.9 (CH₂), 29.9 (CH₂), 23.2 (CH₂), 22.3 (CH₃);

N²-acetil-N⁶-(4-metilbeziliden)-L-lisina (12b)

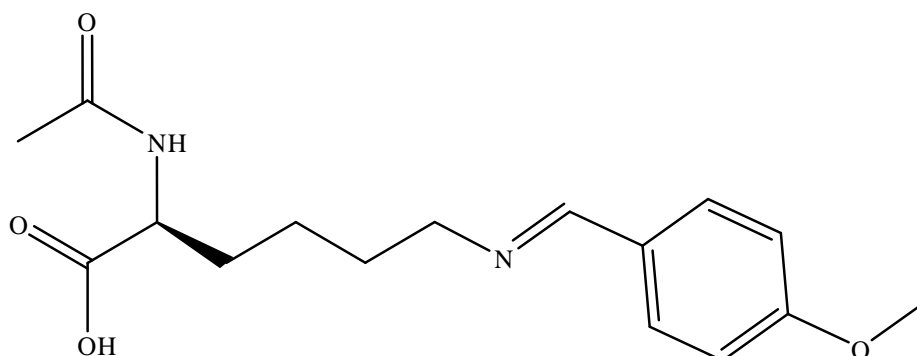


¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz)

δ, ppm = 8.27 (s, 1H), 8.08 (d, *J* = 7.66 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.72 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 7.72 Hz, 2H), 4.20–4.10 (m, 1H), 3.52 (t, *J* = 6.52 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 1.78–1.50 (m, 4H), 1.41–1.28 (m, 2H);

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100.572 MHz)

δ, ppm = 173.8 (C), 169.2 (C), 160.4 (CH), 140.2 (C), 133.6 (C), 129.2 (CH), 127.8 (CH), 60.3 (CH₂), 51.8 (CH), 30.9 (CH₂), 30.1 (CH₂), 23.3 (CH₂), 22.3 (CH₃), 21.0 (CH₃);

N^2 -ACETIL- N^6 -(4-METOSSIBENZILIDEN)-L-LISINA (12c) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz)

δ , ppm = 8.23 (s, 1H), 8.07 (d, J = 7.73 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.67 Hz, 2H), 6.98 (d, J = 8.67 Hz, 2H), 4.19–4.09 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.49 (t, J = 6.96 Hz, 2H), 1.82 (s, 3H), 1.77–1.51 (m, 4H), 1.40–1.29 (m, 2H);

 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100.572 MHz)

δ , ppm = 173.8 (C), 169.2 (C), 161.1 (CH), 159.8 (C), 129.4 (CH), 129.0 (C), 114.0 (CH), 60.2 (CH₂), 55.2 (CH₃), 51.9 (CH), 31.0 (CH₂), 30.2 (CH₂), 23.3 (CH₂), 22.3 (CH₃);

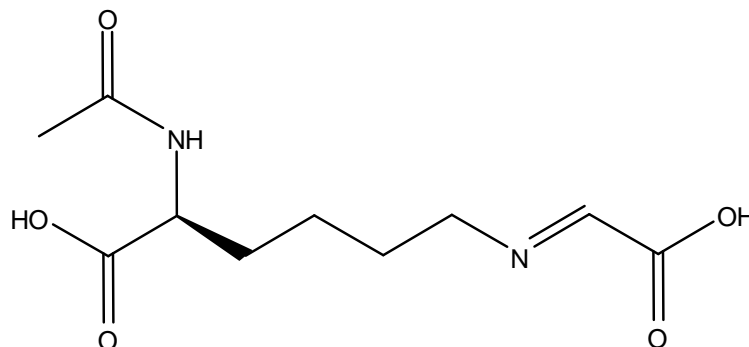
4.2.7 Reazioni fra N_{α} -acetil-L-lisina e acido gliossilico

In un pallone da 10 mL si sciolgono 10 mg ($5,40 \cdot 10^{-5}$ mol) di N_{α} -acetil-L-lisina in 1 mL di soluzione alcalina (KOH in soluzione acquosa a pH = 7.5) precedentemente preparata. Dopo 5 minuti si aggiungono 4 mg ($5,40 \cdot 10^{-5}$ mol) di acido gliossilico, si scalda a 65 °C mediante bagnomaria per 2 ore, dopo di che si aumenta la temperatura a 110 °C per favorire l'evaporazione dell'acqua. Dopo 30 minuti il solvente è evaporato.

Il prodotto ottenuto è stato sciolto in DMSO- d_6 ed analizzato mediante spettroscopia NMR che ha mostrato presenza di piccole quantità di prodotti di partenza e segnali compatibili con quelli di due isomeri (presumibilmente geometrici).

La reazione è stata condotta anche in assenza di KOH, i prodotti ottenuti sono i medesimi della reazione precedente.

Un'ulteriore prova è stata effettuata, miscelando i reagenti in quantità equimolare come nel caso descritto sopra, in tubo per spettroscopia NMR in D₂O monitorando la reazione nel tempo e al variare della temperatura. A temperatura ambiente lo spettro ¹H NMR in D₂O della miscela di reazione ha mostrato esclusiva presenza dei reagenti, dopo 2 ore a 60 °C risultavano solo tracce di prodotti mentre dopo 6 ore il rapporto fra i prodotti e il reagente lisinico (valutato integrando i segnali del gruppo metilenico legato all'azoto) era circa di 4:96. la soluzione è stata portata quindi a 90 °C per 3 ore e il relativo spettro ¹H NMR ha mostrato un aumento della conversione al 12% con un rapporto fra i picchi dei due prodotti isomerici di circa 65/35. I segnali diagnostici sono i seguenti: 7.96 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 3.26 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.20 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), I primi due corrispondenti rispettivamente al protone imminico dei due isomeri e gli altri due ascrivibili al segnale metilenico adiacente all'atomo di azoto imminico. Da notare, come atteso, l'assenza in questo solvente del segnale relativo al protone legato all'atomo di azoto in alfa al carbossile lisinico visibile invece in DMSO- d_6 .

N^2 -ACETIL- N^6 -(CARBOSSIMETILEN)-L-LISINA (MISCELA DI 13A E 13B)

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz) (due isomeri, dati selezionati)

δ , ppm = 8.02 (s, 1H), 7.99 (d, J = 7.81 Hz, 1H, NH), 7.96 (d, J = 7.61 Hz, 1H, NH), 7.91 (s, 1H), 4.12–4.02 (m, 2H), 3.24 (t, J = 6.86 Hz, 2H), 3.16 (t, J = 7.31 Hz, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.82 (s, 3H) 1.70–1.60 (m, 3H), 1.59–1.47 (m, 3H), 1.47–1.34 (m, 2H), 1.34–1.26 (m, 2H), 1.25–1.14 (m, 2H);

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 105.818 MHz) (due prodotti, dati selezionati)

δ , ppm = 174.24 (C), 174.21 (C), 171.8 (C), 170.4 (C), 169.54 (C), 169.51 (C), 163.8 (CH), 163.1 (CH), 52.41 (CH), 52.36 (CH), 49.6 (CH₂), 47.3 (CH₂), 27.4 (CH₂), 26.8 (CH₂), 26.3 (CH₂), 22.9 (CH₂), 22.56 (CH₃), 22.54 (CH₃);

4.3 PREPARAZIONE DEI CAMPIONI PER LE ANALISI DI SPETTROSCOPIA RAMAN, ATR-FT-IR ED ANALISI DI MICROSCOPIA ELETTRONICA A SCANSIONE (SEM)

I campioni utilizzati per l'analisi di spettroscopia Raman e IR e per le analisi di microscopia elettronica a scansione sono costituiti da una ciocca di peli di yak di circa 20 cm di lunghezza e 0.5 cm di diametro.

I campioni utilizzati (in parentesi il tipo di analisi a cui sono stati sottoposti) sono stati:

1. Pelo di yak senza alcun trattamento (Raman, ATR-FT-IR, SEM).
2. Pelo di yak senza alcun trattamento stirato (Raman, ATR-FT-IR)
3. Pelo di yak trattato con soluzione alcalina (SEM), risciacquato con acqua e asciugato con phon.
4. Pelo di yak trattato con soluzione alcalina, risciacquato con acqua, asciugato con phon e poi stirato (Raman, ATR-FT-IR, SEM).
5. Pelo di yak trattato con soluzione di acido gliossilico (Raman, ATR-FT-IR, SEM).
6. Pelo di yak trattato con soluzione alcalina, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi immerso nella soluzione lisciante (SEM).
7. Pelo di yak trattato con soluzione alcalina, risciacquato con acqua, asciugato con phon poi immerso nella soluzione lisciante e stirato (Raman, ATR-FT-IR, SEM).

Il trattamento basico è stato eseguito mediante l'immersione delle ciocche in una soluzione acquosa di KOH a pH=8.97 per 5 minuti. Quindi i campioni sono risciacquati e sono stati asciugati con un phon.

Il trattamento con la soluzione lisciante è stato eseguito immergendo le ciocche, precedentemente trattate con la soluzione alcalina (quando specificato), in una soluzione al 6% di acido gliossilico in acqua per 30 minuti. Quindi i campioni sono stati asciugati con un phon senza risciacquare.

Il processo di stiratura dei campioni è stato eseguito passando per 6 volte le ciocche di pelo di yak (5 volte nel caso di capelli umani ricci), per tutta la loro lunghezza, sotto una piastra per capelli preriscaldata alla temperatura di 230 °C.

Gli spettri ottenuti sui diversi campioni agli spettrometri ATR-FT-IR e Raman sono riportati nella sezione risultati e discussione, così come le immagini acquisite al SEM. Nel caso delle analisi al SEM della sezione trasversale, la qualità dei campioni ottenuti

con questa tecnica è risultata non adatta a ottenere immagini di buona qualità. Le immagini riportate in figura 2.3.5 sono state ottenute come descritto per l'analisi effettuata longitudinalmente, ruotando il portacampioni di 90° e registrando l'immagine sul bordo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 181-182, e referenze ivi citate.
- [2] N.G. Hillier, *Profitable Permanent Waving*, published by the author, New York, 1948, pp. 8-9.
- [3] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 1-9, e referenze ivi citate.
- [4] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 14-21, e referenze ivi citate.
- [5] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 30-42, e referenze ivi citate.
- [6] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 182-207, e referenze ivi citate.
- [7] M. Kireche, J.L. Peiffer, D. Antonios, I. Fabre, E. Giménez-Arnau, M. Palladry, J.P. Lepoittevin, J.C. Ourlin, *Chem. Res. Toxicol.*, **2011**, *24*, 2115-2128.
- [8] G. Malle, P. Barbarat, I. Pasini, *Method for straightening keratinous fibers using heating means and an acid derivative*, **Dec. 2, 2010**, US patent 2010/0300471.
- [9] P. Coppola, V.C. Bucario, *Reactive keratin protein formulation and methods of using for revitalizing hair*, **Aug. 27, 2009**, US patent 2009/0211593 A1.
- [10] A. Mannozi, *Process for semi-permanent straightening of curly, frizzy or wavy hair*, **Feb. 23, 2011**, WO patent 2011/1104282 A1.
- [11] A. Mannozi, *Process for semi-permanent straightening of curly, frizzy or wavy hair*, **Jan. 26, 2012**, WO patent 2012/010351 A2.
- [12] T.W. Greene, P. G. M. Wuts, *Protective groups in organic synthesis*, 3 edizione, John Wiley & Sons, **1999**.
- [13] E. Martuscelli, *Degradazione delle fibre naturali e dei tessuti antichi, Aspetti Chimici, Molecolari, Strutturali e Fenomenologici*, Paideia Ed., Firenze **2006**.
- [14] E. Menefee, G. J. Yee, *Appl. Pol. Sci.* **1965**, *9*, 2847–2853.
- [15] D. Tome, N. Naulet, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1981**, *17*, 501-507.
- [16] R. G. Kalle, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 6236–6248.
- [17] L. Forlani, E. Marianucci, P. E. Todesco, *J. Chem. Res.(S)* **1984**, 126–127 .

- [18] J. A. Chudek, R. Foster, D. Young, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2*, **1985**, 1285–1289.
- [19] M. E. Belowich, Fraser Stoddart, *J. Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 2003–2024.
- [20] A. Bocoum, C. Boga, D. Savoia, A. Umani-Ronchi, *Tetrahedron* **1991**, 32, 1367–1370.
- [21] C. Hansch, A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, Wiley-Interscience, New York, 1979.
- [22] R. W. Layer, *Chem. Rev.* **1963**, 63, 489–510.
- [23] M. B. Smith, J. March, *March's Advanced Organic Chemistry: reactions, Mechanisms, and Structure* 6 ed. John Wiley & Sons, Hoboken, **2007**, p. 1282.
- [24] C. Boga, D. Savoia, A. Umani-Ronchi, *Tetrahedron Asymm.* **1990**, 1, 291–294.
- [25] W. H. Perkin, *J. Chem. Soc.* **1877**, 32, 90.
- [26] H. Debus, *J. Chem. Soc.* **1904**, 85, 1382.
- [27] H. Debus, *Ann. Chem. Pharm.* **1856**, 100, 1.
- [28] A. J. Hoefnagel, H. v. Bekkum, J. A. Peters, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3916–3921.
- [29] F. Chastrette, C. Bracoud, M. Chastrette, G. Mattioda, Y. Christidis, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1985**, II66-II74.
- [30] U. Dutta, M. A. Cohenford, M. Guha, Dain, *J. A. Bioorg. Chem.* **2007**, 35, 11–24.
- [31] A. Schmitt, J. Schmitt, G. Münch, Gasic-Milencovic *J. Anal. Bioch.* **2005**, 338, 201–215.
- [32] G. Mattioda, Y. Christidis, *Glyoxylic Acid. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH: Weinheim, **2000**, Vol. 17, p. 89–92.
- [33] R. A. Back, S. Yamamoto, *Can. J. Chem.* **1985**, 63, 542-548.
- [34] L. H. Colthup, S.E. Daly, Wiberley, *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*, 3rd edition, Academic Press, San Diego, **1990**.

-
- [35] A. T. Tu, *Raman Spectroscopy in Biology: Principles and Applications*, John Wiley, New York, **1982**.
- [36] F. S. Parker, *Applications of Infrared, Raman, and Resonance Raman Spectroscopy in Biochemistry*, Plenum Press, New York, **1983**.
- [37] J. S. Church, G.L. Corino, A.L. Woodhead, *Biopolymers* **1997**, 42, 7.
- [38] A. Kuzuhara, T. Hori, *Polymer* **2003**, 44, 7963–7970.
- [39] T.P. Macrae, G.E. Rogers, *Fraser RDB Nature* **1962**, 193, 1052–5.
- [40] B. G. Frushour, J. L. Koenig, *Biopolymers* **1975**, 14, 2115.
- [41] M. N. Siamwiza, R. C. Lord, M. C. Chen, T. Takamatsu, I. Harada, H. Matsuura, T. Shimanouchi, *Biochemistry* **1975**, 14, 4870.
- [42] G.J. Thomas Jr., *Biopolymers* **2002**, 67, 214.
- [43] P. Taddei, T. Asakura, J. Yao, P. Monti, *Biopolymers* **2004**, 75, 314.
- [44] D. C. Jones, C.M. Carr, W. D. Cooke, D. M. Lewis, *Text Res J* **1998**, 68(10),739–48.
- [45] Akio Kuzuhara, *Biopolymers* **2005**, 77, 335–344.
- [46] Akio Kuzuhara, *Biopolymers* **2005**, 79, 173–184.
- [47] P. Taddei, M. Tsukada, G. Freddi, *J. Raman Spectr.* **2012**, DOI 10.1002/jrs.4168.
- [48] J. L. Koenig, P.L. Sutton, *Biopolymers* **1971**, 10, 89.
- [49] A. Gupta, P. Tandon, V. D. Gupta, S. Rastogi, *Polymer* **1997**, 38, 2389.
- [50] C. Zviak, *Scienza della cura dei capelli*, ed. Masson, New York, 1987, pp 182–183, e referenze ivi citate.
- [51] K. R. Ackermann, J. Koster, S. Schlücker, *J. Biophoton.*, **2008**, 1, 419–424.
- [52] T. Lefèvre, M.-E. Rousseau, M. Pézolet, *Biophys. J.* **2007**, 92, 2885.
- [53] L. Rintoul, E. A. Carter, S. Stewart, P. M. Fredericks, *Biopolymers* **2000**, 57, 19.

SCHEMA DI DATI DI SICUREZZA

secondo il Regolamento (CE) Num. 1907/2006

Versione 5.7 Data di revisione 10.04.2012

Data di stampa 19.04.2012

1. IDENTIFICAZIONE DELLA SOSTANZA O DELLA MISCELA E DELLA SOCIETÀ/IMPRESA**1.1 Identificatori del prodotto**

Nome del prodotto : Formaldeide Soluzione

Codice del prodotto : F8775
Marca : Sigma
N. INDICE : 605-001-00-5
N. CAS : 50-00-0**1.2 Usi pertinenti identificati della sostanza o miscela e usi sconsigliati**

Usi identificati : Chimici di laboratorio, Produzione di sostanze chimiche

1.3 Informazioni sul fornitore della scheda di dati di sicurezzaSocietà : Sigma-Aldrich S.r.l.
Via Gallarate 154
I-20151 MILANO
Telefono : +39 02-3341-7310
Fax : +39 02-3801-0737
Indirizzo e-mail : eurtechserv@sial.com**1.4 Numero telefonico di emergenza**Telefono per le emergenze : +39 02-6610-1029 (Centro Antiveneni Niguarda
Ca' Granda - Milano)**2. IDENTIFICAZIONE DEI PERICOLI****2.1 Classificazione della sostanza o della miscela****Classificazione secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [EU-GHS/CLP]**Tossicità acuta, Orale (Categoria 3)
Tossicità acuta, Inalazione (Categoria 3)
Tossicità acuta, Dermico (Categoria 3)
Corrosione cutanea (Categoria 1B)
Sensibilizzazione cutanea (Categoria 1)
Cancerogenicità (Categoria 2)
Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola (Categoria 1)
Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola (Categoria 3)**Classificazione secondo le Direttive EU 67/548/CEE o 1999/45/CE**

Tossico per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione. Tossico: pericolo di effetti irreversibili molto gravi per inalazione, a contatto con la pelle e per ingestione. Provoca ustioni. Possibilità di effetti cancerogeni - prove insufficienti. Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.

2.2 Elementi dell'etichetta**Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]**

Pittogramma



Avvertenza

Pericolo

Indicazioni di pericolo

H301 Tossico se ingerito.
H311 Tossico per contatto con la pelle.
H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
H331	Tossico se inalato.
H335	Può irritare le vie respiratorie.
H351	Sospettato di provocare il cancro.
H370	Provoca danni agli organi.
Consigli di prudenza	
P260	Non respirare la polvere/ i fumi/ i gas/ la nebbia/ i vapori/ gli aerosol.
P280	Indossare guanti/ indumenti protettivi/ Proteggere gli occhi/ il viso.
P301 + P310	IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico
P305 + P351 + P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
Descrizioni supplementari del rischio	nessuno(a)

Secondo la Direttiva Europea 67/548/CEE, e successive modifiche.

Simbolo/i di pericolo



Fraasi "R"	
R23/24/25	Tossico per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione.
R34	Provoca ustioni.
R39/23/24/25	Tossico: pericolo di effetti irreversibili molto gravi per inalazione, a contatto con la pelle e per ingestione.
R40	Possibilità di effetti cancerogeni - prove insufficienti.
R43	Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.
Fraasi "S"	
S26	In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.
S36/37/39	Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.
S45	In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico (se possibile, mostrargli l'etichetta).

2.3 Altri pericoli

Lacrimogeno., Assorbito rapidamente attraverso la pelle.

3. COMPOSIZIONE/ INFORMAZIONI SUGLI INGREDIENTI

3.2 Miscela

Sinonimi	:	Formalin
Formula	:	CH ₂ O
Peso Molecolare	:	30,03 g/mol

Component	Classificazione	Concentrazione
Formaldehyde		
N. CAS	50-00-0	25 - 50 %
N. CE	200-001-8	
N. INDICE	605-001-00-5	
		Acute Tox. 3; Skin Corr. 1B; Skin Sens. 1; Carc. 2; H301 + H311 + H331, H314, H317, H351 T, Carc.Cat.3, R23/24/25 - R34 - R40 - R43
Methanol		
N. CAS	67-56-1	10 - 20 %
N. CE	200-659-6	
N. INDICE	603-001-00-X	
Numero di registrazione	01-2119433307-44-XXXX	
		F, T, R11 - R23/24/25 - R39/23/24/25

Per il testo completo dei codici H e delle frasi R citati in questa sezione, vedere la sezione 16.

4. MISURE DI PRIMO SOCCORSO

4.1 Descrizione delle misure di primo soccorso

Informazione generale

Consultare un medico. Mostrare questa scheda di sicurezza al medico curante.

Se inalato

Se viene respirato, trasportare la persona all'aria fresca. Se non respira, somministrare respirazione artificiale. Consultare un medico.

In caso di contatto con la pelle

Lavare con sapone e molta acqua. Portare subito l'infortunato in ospedale. Consultare un medico.

In caso di contatto con gli occhi

Sciacquare accuratamente ed abbondantemente con acqua per almeno 15 minuti e rivolgersi ad un medico.

Se ingerito

NON indurre il vomito. Non somministrare alcunchè a persone svenute. Sciacquare la bocca con acqua. Consultare un medico.

4.2 Principali sintomi ed effetti, sia acuti e che ritardati

Avvertenza: contiene metanolo. Può causare cecità o la morte se ingerito. Non può venire detossificato.

4.3 Indicazione dell'eventuale necessità di consultare immediatamente un medico oppure di trattamenti speciali

nessun dato disponibile

5. MISURE ANTINCENDIO

5.1 Mezzi di estinzione

Mezzi di estinzione idonei

Utilizzare acqua nebulizzata, schiuma alcool resistente, prodotti chimici asciutti o anidride carbonica.

5.2 Pericoli speciali derivanti dalla sostanza o dalla miscela

Ossidi di carbonio

5.3 Raccomandazioni per gli addetti all'estinzione degli incendi

Indossare in caso di incendio, se necessario, dispositivi di protezione delle vie respiratorie con apporto d'aria indipendente.

5.4 Ulteriori informazioni

Spruzzi d'acqua possono essere usati per raffreddare contenitori chiusi.

6. MISURE IN CASO DI RILASCIO ACCIDENTALE

6.1 Precauzioni personali, dispositivi di protezione e procedure in caso di emergenza

Usare una protezione respiratoria. Evitare di respirare vapori/nebbia/gas. Prevedere una ventilazione adeguata. Eliminare tutte le sorgenti di combustione. Evacuare il personale in aree di sicurezza. Attenti ai vapori addensati che possono formare delle concentrazioni esplosive. I vapori si possono addensare in zone poco elevate.

6.2 Precauzioni ambientali

Evitare sversamenti o perdite supplementari, se questo può essere fatto senza pericolo. Non lasciar penetrare il prodotto negli scarichi. La discarica nell'ambiente deve essere evitata.

6.3 Metodi e materiali per il contenimento e per la bonifica

Contenere e raccogliere quanto riversato accidentalmente con un aspirapolvere protetto dalle scariche elettriche o con una spazzola bagnata e porlo in un recipiente rispettando le direttive locali (riferirsi alla sezione 13). Conservare in contenitori adatti e chiusi per lo smaltimento.

6.4 Riferimenti ad altre sezioni

Per lo smaltimento riferirsi alla sezione 13.

7. MANIPOLAZIONE E IMMAGAZZINAMENTO

7.1 Precauzioni per la manipolazione sicura

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Non inalare vapori o nebbie.
Conservare lontano da fiamme e scintille - Non fumare. Prendere misure preventive per evitare la produzione di cariche elettrostatiche.

7.2 Condizioni per l'immagazzinamento sicuro, comprese eventuali incompatibilità

Immagazzinare in luogo fresco. Tenere il contenitore ermeticamente chiuso in un ambiente secco e ben ventilato. Chiudere accuratamente i contenitori aperti e riporli in posizione verticale per evitare perdite.

7.3 Usi finali specifici

nessun dato disponibile

8. CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE/PROTEZIONE INDIVIDUALE

8.1 Parametri di controllo

Componenti con limiti di esposizione

Component	N. CAS	Valore	Parametri di controllo	Base
Methanol	67-56-1	TWA	200 ppm 260 mg/m ³	Valori indicativi di esposizione professionale
	Osservazioni	Identifica la possibilità di significativo assorbimento attraverso la pelle Indicativo		
		TWA	200 ppm 260 mg/m ³	Valori limite indicativi di esposizione professionale agli agenti chimici
		La notazione 'Pelle' attribuita ai valori limite di esposizione indica possibilità di assorbimento significativo attraverso la pelle.		

8.2 Controlli dell'esposizione

Controlli tecnici idonei

Evitare il contatto con la pelle, con gli occhi e con gli indumenti. Lavarsi le mani prima delle pause e subito dopo aver maneggiato il prodotto.

Protezione individuale

Protezioni per occhi/volto

Occhiali di sicurezza ben aderenti. Visiera protettiva (minimo 20 cm). Utilizzare dispositivi per la protezione oculare testati e approvati secondo i requisiti di adeguate norme tecniche come NIOSH (USA) o EN 166 (EU)

Protezione della pelle

Manipolare con guanti. I guanti devono essere controllati prima di essere usati. Usare una tecnica adeguata per la rimozione dei guanti (senza toccare la superficie esterna del guanto) per evitare il contatto della pelle con questo prodotto. Smaltire i guanti contaminati dopo l'uso in accordo con la normativa vigente e le buone pratiche di laboratorio. Lavare e asciugare le mani.

I guanti di protezione selezionati devono soddisfare le esigenze della direttiva UE 89/686/CEE e gli standard EN 374 che ne derivano.

Protezione fisica

Indumenti protettivi completi resistenti alle sostanze chimiche, Il tipo di attrezzatura di protezione deve essere selezionato in funzione della concentrazione e la quantità di sostanza pericolosa al posto di lavoro.

Protezione respiratoria

Qualora la valutazione del rischio preveda la necessità di respiratori ad aria purificata, utilizzare una maschera a pieno facciale con filtri combinati di tipo ABEK (EN 14387) come supporto alle misure tecniche. Se il respiratore costituisce il solo mezzo di protezione, utilizzare un sistema ventilato a pieno facciale. Utilizzare respiratori e componenti testati e approvati dai competenti organismi di normazione, quali il NIOSH (USA) il CEN (UE).

9. PROPRIETÀ FISICHE E CHIMICHE

9.1 Informazioni sulle proprietà fisiche e chimiche fondamentali

a) Aspetto	Stato fisico: liquido, limpido Colore: incolore
b) Odore	nessun dato disponibile
c) Soglia olfattiva	nessun dato disponibile
d) pH	nessun dato disponibile
e) Punto di fusione/punto di congelamento	nessun dato disponibile
f) Punto di ebollizione iniziale e intervallo di ebollizione.	nessun dato disponibile
g) Punto di infiammabilità.	64 °C - vaso chiuso
h) Tasso di evaporazione	nessun dato disponibile
i) Infiammabilità (solidi, gas)	nessun dato disponibile
j) Infiammabilità superiore/inferiore o limiti di esplosività	Limite superiore di esplosività: 73 %(V) Limite inferiore di esplosività: 7 %(V)
k) Tensione di vapore	69 hPa a 37 °C
l) Densità di vapore	1,04 - (Aria = 1.0)
m) Densità relativa	1,016 g/cm ³
n) Idrosolubilità	nessun dato disponibile
o) Coefficiente di ripartizione: n-ottanolo/acqua	nessun dato disponibile
p) Temperatura di autoaccensione	nessun dato disponibile
q) Temperatura di decomposizione	nessun dato disponibile
r) Viscosità	nessun dato disponibile
s) Proprietà esplosive	nessun dato disponibile
t) Proprietà ossidanti	nessun dato disponibile

9.2 Altre informazioni sulla sicurezza

nessun dato disponibile

10. STABILITÀ E REATTIVITÀ

10.1 Reattività

nessun dato disponibile

10.2 Stabilità chimica

nessun dato disponibile

Contiene il seguente stabilizzante(i):

Methanol (≥ 10 - ≤ 15 %)

10.3 Possibilità di reazioni pericolose

nessun dato disponibile

10.4 Condizioni da evitare

Calore, fiamme e scintille.

10.5 Materiali incompatibili

Aniline, Fenolo, Isocianati, Anidridi di acido, Acidi forti, Basi forti, Agenti ossidanti forti, Ammine, Perossidi

10.6 Prodotti di decomposizione pericolosi

Altre prodotti di decomposizione pericolosi - nessun dato disponibile

11. INFORMAZIONI TOSSICOLOGICHE

11.1 Informazioni sugli effetti tossicologici

Tossicità acuta

nessun dato disponibile

Corrosione/irritazione cutanea

nessun dato disponibile

Lesioni oculari gravi/irritazioni oculari gravi

nessun dato disponibile

Sensibilizzazione respiratoria o cutanea

Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.

Mutagenicità delle cellule germinali

nessun dato disponibile

Cancerogenicità

IARC: 1 - Gruppo 1: cancerogeno per l'uomo (Formaldehide)

Tossicità riproduttiva

nessun dato disponibile

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola

nessun dato disponibile

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta

nessun dato disponibile

Pericolo in caso di aspirazione

nessun dato disponibile

Potenziati conseguenze sulla salute

Inalazione

Tossico se inalato. Provoca irritazione delle vie respiratorie.

Ingestione

Tossico se ingerito.

Pelle

Tossico se assorbito attraverso la pelle. Provoca ustioni alla pelle. Può causare una reazione allergica sulla pelle.

Occhi

Provoca ustioni agli occhi.

Segni e sintomi di esposizione

Avvertenza: contiene metanolo. Può causare cecità o la morte se ingerito. Non può venire detossificato.

ulteriori informazioni

RTECS: LP8925000

12. INFORMAZIONI ECOLOGICHE

12.1 Tossicità

nessun dato disponibile

12.2 Persistenza e degradabilità

nessun dato disponibile

12.3 Potenziale di bioaccumulo

nessun dato disponibile

12.4 Mobilità nel suolo

nessun dato disponibile

12.5 Risultati della valutazione PBT e vPvB

nessun dato disponibile

12.6 Altri effetti avversi

Nocivo per gli organismi acquatici.

13. CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

13.1 Metodi di trattamento dei rifiuti

Prodotto

Il presente prodotto combustibile può venire bruciato in inceneritore per prodotti chimici dotato di sistema di postcombustione e di abbattitore. Conferire le soluzioni non riciclabili e le eccedenze ad una società di smaltimento rifiuti autorizzata.

Contenitori contaminati

Smaltire come prodotto inutilizzato.

14. INFORMAZIONI SUL TRASPORTO

14.1 Numero ONU

ADR/RID: 2209

IMDG: 2209

IATA: 2209

14.2 Nome di spedizione dell'ONU

ADR/RID: FORMALDEIDE IN SOLUZIONE

IMDG: FORMALDEHYDE SOLUTION

IATA: Formaldehyde solution

14.3 Classi di pericolo connesso al trasporto

ADR/RID: 8

IMDG: 8

IATA: 8

14.4 Gruppo d'imballaggio

ADR/RID: III

IMDG: III

IATA: III

14.5 Pericoli per l'ambiente

ADR/RID: no

IMDG Marine pollutant: no

IATA: no

14.6 Precauzioni speciali per gli utilizzatori

nessun dato disponibile

15. INFORMAZIONI SULLA REGOLAMENTAZIONE

Questa scheda di sicurezza rispetta le prescrizioni del Regolamento (CE) Num. 1907/2006

15.1 Norme e legislazione su salute, sicurezza e ambiente specifiche per la sostanza o la miscela

nessun dato disponibile

15.2 Valutazione della sicurezza chimica

nessun dato disponibile

16. ALTRE INFORMAZIONI

Testo del/i codice/i H e frase/i R menzionate nella Sezione 3

Acute Tox.	Tossicità acuta
Carc.	Cancerogenicità
Flam. Liq.	Liquidi infiammabili
H225	Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H301 + H311 + H331	Tossico se ingerito, a contatto con la pelle o se inalato
H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
H351	Sospettato di provocare il cancro.
H370	Provoca danni agli organi.
Skin Corr.	Corrosione cutanea
Skin Sens.	Sensibilizzazione cutanea
STOT SE	Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola
F	Facilmente infiammabile

R11	Facilmente infiammabile.
R23/24/25	Tossico per inalazione, contatto con la pelle e per ingestione.
R34	Provoca ustioni.
T	Tossico
R39/23/24/25	Tossico: pericolo di effetti irreversibili molto gravi per inalazione, a contatto con la pelle e per ingestione.
R40	Possibilità di effetti cancerogeni - prove insufficienti.
R43	Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.

Ulteriori informazioni

Diritti d'autore 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Si autorizza la stampa di un numero illimitato di copie per esclusivo uso interno.

Le informazioni di cui sopra sono ritenute corrette, tuttavia non possono essere esaurienti e dovranno pertanto essere considerate puramente indicative. La Sigma-Aldrich Corporation e le sue filiali non potranno essere ritenute responsabili per qualsiasi danno derivante dall'impiego o dal contatto con il prodotto di cui sopra. Per ulteriori termini e condizioni di vendita fare riferimento al sito www.sigma-aldrich.com e/o al retro della fattura o della bolla di accompagnamento.

SCHEDA DI DATI DI SICUREZZA

secondo il Regolamento (CE) Num. 1907/2006

Versione 5.0 Data di revisione 03.08.2012

Data di stampa 08.10.2012

1. IDENTIFICAZIONE DELLA SOSTANZA O DELLA MISCELA E DELLA SOCIETÀ/IMPRESA

1.1 Identificatori del prodotto

Nome del prodotto : Acido gliossilico monoidrato

Codice del prodotto : G10601

Marca : Aldrich

N. CAS : 563-96-2

1.2 Usi pertinenti identificati della sostanza o miscela e usi sconsigliati

Usi identificati : Chimici di laboratorio, Produzione di sostanze chimiche

1.3 Informazioni sul fornitore della scheda di dati di sicurezza

Società : Sigma-Aldrich S.r.l.
Via Gallarate 154
I-20151 MILANO

Telefono : +39 02-3341-7310

Fax : +39 02-3801-0737

Indirizzo e-mail : eurtechserv@sial.com

1.4 Numero telefonico di emergenza

Telefono per le emergenze : +39 02-6610-1029 (Centro Antiveleni Niguarda
Ca' Granda - Milano)

2. IDENTIFICAZIONE DEI PERICOLI

2.1 Classificazione della sostanza o della miscela

Classificazione secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [EU-GHS/CLP]

Lesioni oculari gravi (Categoria 1)

Sensibilizzazione cutanea (Categoria 1)

Classificazione secondo le Direttive EU 67/548/CEE o 1999/45/CE

Rischio di gravi lesioni oculari. Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.

2.2 Elementi dell'etichetta

Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Pittogramma



Avvertenza

Pericolo

Indicazioni di pericolo

H317

Può provocare una reazione allergica cutanea.

H318

Provoca gravi lesioni oculari.

Consigli di prudenza

P280

Indossare guanti/ proteggere gli occhi/ il viso.

P305 + P351 + P338

IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Descrizioni supplementari del rischio

nessuno(a)

Secondo la Direttiva Europea 67/548/CEE, e successive modifiche.

Simbolo/i di pericolo



Fraasi "R"

R41

Rischio di gravi lesioni oculari.

R43

Può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle.

Fraasi "S"

S26

In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

S36/37/39

Usare indumenti protettivi e guanti adatti e proteggersi gli occhi/la faccia.

Attenzione: sostanza non ancora completamente sottoposta a test.

2.3 Altri pericoli - nessuno(a)

3. COMPOSIZIONE/ INFORMAZIONI SUGLI INGREDIENTI

3.1 Sostanze

Formula : $C_2H_2O_3 \cdot H_2O$

Peso Molecolare : 92,05 g/mol

Component	Concentrazione
Glyoxylic acid monohydrate	
N. CAS	563-96-2
N. CE	206-058-5
	-

4. MISURE DI PRIMO SOCCORSO

4.1 Descrizione delle misure di primo soccorso

Informazione generale

Consultare un medico. Mostrare questa scheda di sicurezza al medico curante.

Se inalato

Se viene respirato, trasportare la persona all'aria fresca. Se non respira, somministrare respirazione artificiale. Consultare un medico.

In caso di contatto con la pelle

Lavare con sapone e molta acqua. Consultare un medico.

In caso di contatto con gli occhi

Sciacquare accuratamente ed abbondantemente con acqua per almeno 15 minuti e rivolgersi ad un medico.

Se ingerito

Non somministrare alcunchè a persone svenute. Sciacquare la bocca con acqua. Consultare un medico.

4.2 Principali sintomi ed effetti, sia acuti e che ritardati

4.3 Indicazione dell'eventuale necessità di consultare immediatamente un medico oppure di trattamenti speciali

nessun dato disponibile

5. MISURE ANTINCENDIO

5.1 Mezzi di estinzione

Mezzi di estinzione idonei

Utilizzare acqua nebulizzata, schiuma alcool resistente, prodotti chimici asciutti o anidride carbonica.

5.2 Pericoli speciali derivanti dalla sostanza o dalla miscela

Ossidi di carbonio

5.3 Raccomandazioni per gli addetti all'estinzione degli incendi

Indossare in caso di incendio, se necessario, dispositivi di protezione delle vie respiratorie con apporto d'aria indipendente.

5.4 Ulteriori informazioni

nessun dato disponibile

6. MISURE IN CASO DI RILASCIO ACCIDENTALE

6.1 Precauzioni personali, dispositivi di protezione e procedure in caso di emergenza

Usare i dispositivi di protezione individuali. Evitare la formazione di polvere. Evitare di respirare vapori/nebbia/gas. Prevedere una ventilazione adeguata. Evacuare il personale in aree di sicurezza. Non inalare polvere.

6.2 Precauzioni ambientali

Non lasciar penetrare il prodotto negli scarichi.

6.3 Metodi e materiali per il contenimento e per la bonifica

Ritirare e provvedere allo smaltimento senza creare polvere. Spazzare e spalare. Conservare in contenitori adatti e chiusi per lo smaltimento.

6.4 Riferimenti ad altre sezioni

Per lo smaltimento riferirsi alla sezione 13.

7. MANIPOLAZIONE E IMMAGAZZINAMENTO

7.1 Precauzioni per la manipolazione sicura

Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Evitare la formazione di polvere e la dispersione del prodotto nell'aria.

Adottare un'adeguata ventilazione nei luoghi dove si sviluppano le polveri.

7.2 Condizioni per l'immagazzinamento sicuro, comprese eventuali incompatibilità

Immagazzinare in luogo fresco. Tenere il contenitore ermeticamente chiuso in un ambiente secco e ben ventilato.

Igroscopico. altamente igroscopico/a Conservare in atmosfera inerte.

7.3 Usi finali specifici

nessun dato disponibile

8. CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE/PROTEZIONE INDIVIDUALE

8.1 Parametri di controllo

Componenti con limiti di esposizione

Non contiene sostanze con valore limite di esposizione professionale.

8.2 Controlli dell'esposizione

Controlli tecnici idonei

Manipolare rispettando le buone pratiche di igiene industriale e di sicurezza adeguate. Lavarsi le mani prima delle pause ed alla fine della giornata lavorativa.

Protezione individuale

Protezioni per occhi/volto

Visiera e occhiali di protezione. Utilizzare dispositivi per la protezione oculare testati e approvati secondo i requisiti di adeguate norme tecniche come NIOSH (USA) o EN 166 (EU)

Protezione della pelle

Manipolare con guanti. I guanti devono essere controllati prima di essere usati. Usare una tecnica adeguata per la rimozione dei guanti (senza toccare la superficie esterna del guanto) per evitare il contatto della pelle con questo prodotto Smaltire i guanti contaminati dopo l'uso in accordo con la normativa vigente e le buone pratiche di laboratorio. Lavare e asciugare le mani.

I guanti di protezione selezionati devono soddisfare le esigenze della direttiva UE 89/686/CEE e gli standard EN 374 che ne derivano.

Protezione dall'immersione

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

Tempo di penetrazione: > 480 min

Materiale testato: Dermatril® (Aldrich Z677272, Taglia M)

Protezione dagli schizzi

Materiale: Gomma nitrilica

spessore minimo: 0,11 mm

Tempo di penetrazione: > 30 min

Materiale testato: Dermatril® (Aldrich Z677272, Taglia M)

Fonte dei dati: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, tel. +49 (0)6659 873000, e-mail sales@kcl.de, metodo di prova: EN374

Se usato in soluzione, o mischiato con altre sostanze, e in condizioni diverse da quelle menzionate nella norma EN 374, contattare il fornitore di guanti approvati dalla CE. Questa raccomandazione vale a titolo di consiglio e dev'essere valutata da un Igienista Industriale al corrente della situazione specifica dell'uso previsto dai nostri clienti. Non si deve interpretare come un'approvazione di uno specifico scenario di esposizione.

Protezione fisica

Indumenti protettivi completi resistenti alle sostanze chimiche, Il tipo di attrezzatura di protezione deve essere selezionato in funzione della concentrazione e la quantità di sostanza pericolosa al posto di lavoro.

Protezione respiratoria

Qualora la valutazione del rischio preveda la necessità di respiratori ad aria purificata, utilizzare un facciale filtrante con filtri di tipo P3 (EN 143) come supporto alle misure tecniche. Se il respiratore costituisce il solo mezzo di protezione, utilizzare un sistema ventilato a pieno facciale. Utilizzare respiratori e componenti testati e approvati dai competenti organismi di normazione, quali il NIOSH (USA) il CEN (UE).

9. PROPRIETÀ FISICHE E CHIMICHE

9.1 Informazioni sulle proprietà fisiche e chimiche fondamentali

a) Aspetto	Stato fisico: solido Colore: giallo chiaro
b) Odore	nessun dato disponibile
c) Soglia olfattiva	nessun dato disponibile
d) pH	nessun dato disponibile
e) Punto di fusione/punto di congelamento	Punto/intervallo di fusione: 49 - 52 °C
f) Punto di ebollizione iniziale e intervallo di ebollizione.	100 °C
g) Punto di infiammabilità.	110 °C - vaso chiuso
h) Tasso di evaporazione	nessun dato disponibile
i) Infiammabilità (solidi, gas)	nessun dato disponibile
j) Infiammabilità superiore/inferiore o limiti di esplosività	nessun dato disponibile
k) Tensione di vapore	nessun dato disponibile
l) Densità di vapore	nessun dato disponibile
m) Densità relativa	nessun dato disponibile

n)	Idrosolubilità	nessun dato disponibile
o)	Coefficiente di ripartizione: n-ottanolo/acqua	nessun dato disponibile
p)	Temperatura di autoaccensione	nessun dato disponibile
q)	Temperatura di decomposizione	nessun dato disponibile
r)	Viscosità	nessun dato disponibile
s)	Proprietà esplosive	nessun dato disponibile
t)	Proprietà ossidanti	nessun dato disponibile

9.2 Altre informazioni sulla sicurezza

nessun dato disponibile

10. STABILITÀ E REATTIVITÀ

10.1 Reattività

nessun dato disponibile

10.2 Stabilità chimica

nessun dato disponibile

10.3 Possibilità di reazioni pericolose

nessun dato disponibile

10.4 Condizioni da evitare

nessun dato disponibile

10.5 Materiali incompatibili

Basi, Agenti ossidanti, Agenti riducenti

10.6 Prodotti di decomposizione pericolosi

Altre prodotti di decomposizione pericolosi - nessun dato disponibile

11. INFORMAZIONI TOSSICOLOGICHE

11.1 Informazioni sugli effetti tossicologici

Tossicità acuta

nessun dato disponibile

Corrosione/irritazione cutanea

Pelle - su coniglio - Nessuna irritazione della pelle - 4 h - OECD TG 404

Lesioni oculari gravi/irritazioni oculari gravi

Occhi - su coniglio - Rischio di gravi lesioni oculari. - OECD TG 405

Sensibilizzazione respiratoria o cutanea

topo - Può causare una reazione allergica sulla pelle.

Mutagenicità delle cellule germinali

nessun dato disponibile

Cancerogenicità

IARC: Nessun componente di questo prodotto presente a livelli maggiori o uguali allo 0.1% è identificato come cancerogeno conosciuto o previsto dallo IARC.

Tossicità riproduttiva

nessun dato disponibile

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola

nessun dato disponibile

14.6 Precauzioni speciali per gli utilizzatori
nessun dato disponibile

15. INFORMAZIONI SULLA REGOLAMENTAZIONE

Questa scheda di sicurezza rispetta le prescrizioni del Regolamento (CE) Num. 1907/2006

15.1 Norme e legislazione su salute, sicurezza e ambiente specifiche per la sostanza o la miscela
nessun dato disponibile

15.2 Valutazione della sicurezza chimica
nessun dato disponibile

16. ALTRE INFORMAZIONI

Ulteriori informazioni

Diritti d'autore 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Si autorizza la stampa di un numero illimitato di copie per esclusivo uso interno.

Le informazioni di cui sopra sono ritenute corrette, tuttavia non possono essere esaurienti e dovranno pertanto essere considerate puramente indicative. La Sigma-Aldrich Corporation e le suo filiali non potranno essere ritenute responsabili per qualsiasi danno derivante dall'impiego o dal contatto con il prodotto di cui sopra. Per ulteriori termini e condizioni di vendita fare riferimento al sito www.sigma-aldrich.com e/o al retro della fattura o della bolla di accompagnamento.
