



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

**CORSO DI LAUREA SPECIALISTICA IN CHIMICA E TECNOLOGIA
FARMACEUTICHE**

TESI DI LAUREA

FORMULAZIONE E VALUTAZIONE DI UN TRATTAMENTO COSMETICO
PER CAPELLI A BASE DI SERICINA

RELATRICE: PROF.SSA Alessandra Semenzato

CORRELATRICE: DOTT.SSA Giada Zanni

LAUREANDO: Antonio Valmorbida

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

1	INTRODUZIONE	3
1.1	Il cosmetico per capelli	3
1.2	Capelli e cuoio capelluto	5
1.2a	Struttura del cuoio capelluto	5
1.2b	Struttura e chimica del capello	8
1.2c	Principali problematiche di cuoio capelluto e capelli	11
1.3	Sericina Integra	13
1.3a	Proteine in cosmetica	13
1.3b	La seta: origine e struttura	14
1.3c	Processi industriali	18
1.3d	Applicazioni tecnologiche della sericina in campo cosmetico	20
1.4	Obiettivi della tesi e piano sperimentale di lavoro	22
2	MATERIALI E METODI	25
2.1	Materiali	25
2.2	Metodi	32
2.2a	Preparazione delle emulsioni O/A	32
2.2b	Metodo di preparazione dei campioni	32
2.2c	Sistematica formulativa	33
2.2d	Preparazione dei campioni per l'analisi al ESEM	38
2.3	Strumenti	43
2.3a	Microscopio ottico	43
2.3b	Centrifuga	43
2.3c	Turboemulsore	44
2.3d	Reometro	44
2.3e	Microscopio elettronico a scansione ambientale	46
3	RISULTATI E DISCUSSIONE	49
3.1	Analisi reologica	49

3.2	Valutazione e stabilità	60
3.3	Valutazione di efficacia condizionante	64
3.3a	Considerazioni finali	64
3.3b	Analisi dei risultati	67
3.4	Analisi sensoriale – “Saloon Test”	82
3.4a	Gradevolezza cosmetica e analisi sensoriale	82
3.4b	Saloon Test	83
3.4c	Risultati e discussione	85
4	CONCLUSIONI	101
	<i>RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI</i>	103
	ALLEGATO A – Scheda operativa per analisi sensoriale “Saloon Test”	107
	<i>RINGRAZIAMENTI</i>	115

1 INTRODUZIONE

1.1 IL COSMETICO PER CAPELLI

I prodotti *hair-care* occupano un'importante fetta di mercato del settore cosmetico a livello mondiale, diretta conseguenza del fatto che, oggigiorno, i capelli rivestono un ruolo importante e decisivo nella vita di ogni donna, ma anche di ogni uomo. I capelli di un individuo danno forma alle sue aspirazioni, riflettono il suo stile di vita, influiscono sulla sua personalità.

In un mercato in divenire e sempre attento alle nuove esigenze del consumatore, spesso governato da un marketing aggressivo, è oggi diventata una prerogativa molto importante fornire un prodotto che sia quanto più "green" possibile, sia nei confronti dell'ambiente che della persona che lo utilizza, ma al contempo che non dimentichi di svolgere al meglio la sua funzione, punto cardinale di ogni prodotto che si rispetti. Il mercato delle materie prime cosmetiche per *hair-care* si sta infatti sviluppando verso prodotti che siano certamente performanti sulla fibra capillare, ma che al contempo rispettino e preservino la cute del cuoio capelluto, o addirittura che riportino effetti benefici anche per lo scalpo, sempre nei limiti del prodotto cosmetico.

Il cosmetico non è un farmaco: esso non può vantare un effetto terapeutico sulla cute ma può, certamente, migliorarne e preservarne l'aspetto, aiutare al ripristino della struttura e riequilibrarne la funzionalità.

L'Unione Europea, ha emanato un nuovo regolamento sui prodotti cosmetici in sostituzione alla direttiva 76/768/CE¹, le cui norme sono entrate in vigore l'11 luglio 2013 e in cui si afferma che:

“Prodotti cosmetici: le sostanze e le preparazioni, diverse dai medicinali, destinate ad essere applicate sulle superfici esterne del corpo umano (epidermide, sistema pilifero e capelli, unghie, labbra organi genitali esterni) oppure sui denti e sulle mucose della bocca allo scopo, esclusivo o prevalente, di pulirli, profumarli, modificarne l'aspetto, correggere gli odori corporei, proteggerli o mantenerli in buono stato”.

Comma 2:

“[...] non hanno finalità terapeutiche e non posso vantare finalità terapeutiche”.

Essenziale, tra le normative che coinvolgono il prodotto cosmetico, è quella relativa alla sua sicurezza d'uso, incrementata nel nuovo regolamento, rispetto il precedente. Il prodotto non deve risultare rischioso o arrecare danni all'utilizzatore, quando applicato nelle normali condizioni d'utilizzo.

Articolo 7:

“[...] non deve arrecare danni alla salute umana quando applicato nelle normali e ragionevoli condizioni d'uso.”

¹ Regolamento (CE) n.1223/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 novembre 2009

L'immissione in commercio di un cosmetico deve soddisfare i seguenti requisiti di:

- **STABILITA'**: fisica (il prodotto deve garantire il suo stato fisico per tutta la durata nello scaffale, dall'acquisto all'utilizzo finale), microbiologica (il sistema preservante deve essere sufficientemente efficace a garantirne la conservazione per tutto il tempo di vita del prodotto stesso), chimica (le proprietà organolettiche e funzionali non devono cambiare nel tempo);
- **SICUREZZA**: il prodotto deve essere formulato minimizzando il rischio possibile di sensibilizzazione cutanea, irritazione od allergie;
- **USABILITY**: intesa come la gradevolezza cosmetica del prodotto. Comprende la facilità di applicazione, lo skin feeling, le proprietà sensoriali, la percezione della sua funzionalità nel breve tempo. Tutti i fattori che aumentano l'accettabilità del prodotto e ne confermano il successo sullo scaffale. La sensorialità del prodotto è infatti essenziale e discriminante, nel cliente finale, tra un prodotto ed un suo competitor.
- **EFFICACIA**: il prodotto deve mantenere le promesse impresse in etichetta. Talvolta non basta il solo ingrediente "attivo" per rendere un cosmetico veramente efficace. È la formulazione in toto, costituita da ingredienti presentanti funzioni differenti, a garantire la performance del cosmetico (insieme degli effetti sinergici degli attivi con il veicolo).

Il segmento Hair-care si divide essenzialmente in tre tipologie di prodotto:

- **Cosmetico ad azione detergente**: la detergenza dei capelli non è soltanto una pratica essenziale nell'igiene personale, ma un rituale volto a migliorare l'aspetto di tutta la persona. Tale azione è svolta principalmente da shampoo e balsami.
- **Cosmetici ad azione eutrofica**: cosmetici che agiscono sulla crescita del capello, commercializzati specialmente in forma di lozioni rinforzanti, o che vantano proprietà lenitive, idratanti od emollienti per il cuoio capelluto.
- **Cosmetici ad azione estetica**: formulazioni che migliorano l'aspetto del capello, come maschere o spray condizionanti, prodotti per lo styling, coloranti, decoloranti e agenti per acconciature.

1.2 CAPELLI E CUIO CAPELLUTO

1.2a STRUTTURA DEL CUIO CAPELLUTO

Il cuoio capelluto è costituito da cute², una spessa membrana che riveste l'intera superficie corporea, continuandosi, in corrispondenza degli orifici naturali del corpo, con le membrane mucose. Esso contiene circa 100.000 follicoli piliferi (1/50 di quelli presenti in tutto il corpo). Di questi follicoli circa un terzo daranno vita al capello. Il cuoio capelluto di un uomo adulto conterrà quindi all'incirca 250 capelli per cm², valore che diminuisce con l'avanzare dell'età³.

La cute, così come il cuoio capelluto, svolge una funzione di protezione nei confronti di agenti esterni nocivi chimici, fisici e microbiologici, una funzione di termoregolazione, attraverso fenomeni di vasocostrizione e vasodilatazione, mediante la sudorazione, ed infine una funzione nervosa recettiva in quanto sede di numerose terminazioni nervose che raccolgono stimoli (tattili, pressori, termici e dolorifici) dall'ambiente esterno. Il cuoio capelluto si presenta strettamente adeso, con interposizione di un sottile strato di tessuto connettivo, alla galea capitis, aponeurosi che riveste direttamente le ossa del cranio. Possiede notevole elasticità e resistenza e presenta un pH di superficie leggermente acido (compreso tra 4,2 e 5,6).

Il cuoio capelluto si presenta costituito da uno strato superficiale chiamato epidermide, e da uno strato sottostante definito derma, o corion. Al di sotto del derma è presente uno strato di connettivo sottocutaneo definito ipoderma.

L'epidermide è formata da un epitelio pavimentoso stratificato cheratinizzato, privo di vasi sanguigni, spesso da 0.1 a 2 mm, e risulta attraversata dai peli che sporgono all'esterno e dai condotti delle ghiandole cutanee.

Nell'epidermide si possono distinguere quattro tipi cellulari differenti:

- cheratinociti: cellule che attraverso citomorfosi e perdita del nucleo per apoptosi, si cheratinizzano trasformandosi in cellule cornee;
- melanociti: cellule di forma stellata, in quantità media di 1500 per mm², che si trovano frammisti ai cheratinociti negli strati spinoso e basale. Sono caratterizzati dalla presenza di organuli, melanosomi, contenenti un pigmento organizzato in lamelle e denominato melanina. La melanina determina la pigmentazione cutanea e protegge l'organismo dalle radiazioni solari.
- cellule dendritiche (di Langerhans): cellule ramificate con attività fagocitaria, derivanti da cellule staminali del midollo osseo. Contengono caratteristici granuli a forma di racchetta (granuli di Birbeck), ma non contengono melanina. Inducono risposte immunitarie cellulo-mediate in quanto sono capaci di migrare dalla cute ai linfonodi regionali, presentando ai linfociti T gli antigeni fagocitati a livello cutaneo.

² A. Pasqualino, G.L. Panettoni, "Anatomia Umana: citologia, istologia, embriologia, anatomia sistematica", UTET Scienze mediche, 941-944, 2005.

³ A. Tosti, B.M Piraccini, "Tricologia ambulatoriale. Malattie dei capelli e del cuoio capelluto", Springer-Verlag Italia, 1, 2014.

- cellule di Merkel: cellule presenti nello strato basale dell'epidermide con attività di tipo endocrino-paracrino o di tipo recettoriale-tattile.

L'epidermide (fig. 1) si presenta costituita da 5 strati cellulari, corrispondenti agli stadi del processo di citomorfosi cornea dei cheratinociti.

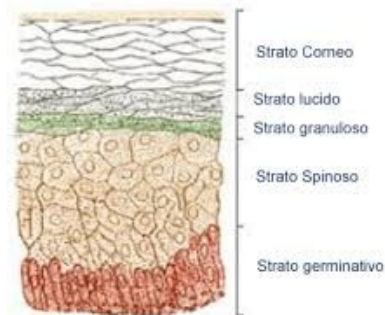


Figura 1 - Strati dell'epidermide umana

- strato basale: è caratterizzato da uno strato di cellule cubiche o cilindriche con grosso nucleo, da cui originano per intensa proliferazione, i cheratinociti degli strati sovrastanti. Le cellule poggiano sulla membrana basale, ancorati per mezzo di emidesmosomi.

- strato spinoso: formato da 3-7 strati di cellule di forma poliedrica, separate le una alle altre da spazi intercellulari sottili (15 nm). Le cellule costituenti questo strato sono dette "spinose" in quanto posseggono brevi espansioni citoplasmatiche (spine) che fungono da giunzione con cellule adiacenti. Lo strato spinoso contribuisce all'impermeabilità della cute: le cellule spinose più superficiali contengono particolari granuli detti cheratinosomi, che liberano negli spazi intercellulari lamelle fosfolipidiche. Lo strato spinoso, assieme allo strato basale, formano lo *strato germinativo*.

- strato granuloso: formato da 2-6 strati di cellule appiattite, contenenti, nel citoplasma, oltre che a cheratinosomi anche granuli di cheratoialina (granuli basofili) e alcuni fascetti di tonofibrille. Questi granuli basofili partecipano al processo di formazione della cheratina.

- strato lucido: costituito da vari piani di cellule anucleate, che contengono, nel citoplasma, eleidina (sostanza lipidica solforata).

- strato corneo: formato da vari strati di cellule morte e disidratate, prive di nucleo, dette lamelle di cheratina, presentanti membrana plasmatica molto ispessita. Negli spazi intercellulari sono presenti sostanze lipidiche impermeabilizzanti, derivate dai cheratinosomi. Nel corneo profondo le lamelle sono strettamente adese tra loro, ma risalendo agli strati superficiali si dissociano assumendo la forma di *squame* e dando origine, con la desquamazione, alla forfora.

Il derma rappresenta la sede del cuoio capelluto dove risiedono i vasi sanguigni e avviene la vascolarizzazione cutanea che apporta nutrimento ai capelli e salute alla cute. È uno strato

connettivale situato al di sotto dell'epidermide. Il piano più superficiale, a contatto con l'epidermide è detto *strato papillare*. Lo strato papillare presenta le *papille dermiche*, rilievi di forma conica. Questo strato è formato da connettivo fibrillare denso, ricco di fibre elastiche, mentre le papille contengono anse vascolari e terminazioni nervose. Lo *strato reticolare*, invece, è localizzato sotto lo strato papillare, presenta fasci di fibre collagene molto addensate e contiene le formazioni pilifere e ghiandolari; ai peli sono annessi i muscoli erettori del pelo. Il derma è prevalentemente costituito da fibroblasti, mastociti e macrofagi (durante le reazioni infiammatorie possono esser presenti anche linfociti e leucociti). Contiene sostanza amorfa costituita da acqua, elettroliti, glicoproteine e proteoglicani solforati che garantiscono viscosità. L'acido ialuronico è il principale proteoglicano non solforato in esso contenuto. La componente fibrosa è costituita da collagene ed elastina, glicoproteine prodotte dai fibroblasti. Il collagene è organizzato in fasci strettamente intrecciati. L'elastina forma fibre che intrecciano quelle del collagene conferendo elasticità. Queste due glicoproteine assicurano compattezza ed elasticità a tutta la struttura cutanea.

Il tessuto connettivo sottocutaneo, chiamato ipoderma, si trova al di sotto del derma e contiene in quantità variabile, tessuto adiposo. L'ipoderma è in continuità con il derma mediante trabecole fibrose, mentre, profondamente, è in rapporto con la fascia di rivestimento dei muscoli superficiali o direttamente con lo scheletro. È composto da tre strati di tessuto connettivo, difficilmente separabili:

- Strato superficiale: chiamato anche strato areolare, è in continuità con il derma mediante tralci fibrosi (retinacoli);
- Strato intermedio: costituito da una lamina di connettivo denso;
- Strato profondo: strato lamellare, con retinacoli diretti parallelamente alla superficie cutanea. È uno strato solitamente più sottile rispetto lo strato superficiale.

Le ghiandole sebacee sono *ghiandole alveolari semplici e composte* e sono deputate alla produzione del sebo cutaneo. Principalmente si trovano annesse ai peli e versano il loro secreto nel follicolo pilifero. Costano di un *corpo ghiandolare*, situato nello strato profondo del derma e formato da alveoli, e del *condotto escretore*. Il sebo ha due funzioni principali.

- Contribuisce, assieme alle secrezioni apocrine, alla formazione del film idrolipidico di membrana, deputato a proteggere e lubrificare la superficie cutanea;
- Impermeabilizza la superficie esterna del capello via via che questo allunga.

Il sebo che fuoriesce e si accumula sulla superficie cutanea risulta composto da: trigliceridi, diacilgliceroli e acidi grassi liberi che assieme ammontano al 50-60%, squalene 10-16%, esteri cerosi 20-30%, colesterolo esterificato 2-4%⁴.

⁴ E. Camera, M. Ludovici, M. Galante, J. Sinagra, M. Picardo "Comprehensive analysis of the major lipid classes in sebum by rapid resolution high-performance liquid chromatography and electrospray mass spectrometry", J. Lipid Res, 51:(11) 3377-3388, 2010.

1.2b STRUTTURA E CHIMICA DEL CAPELLO

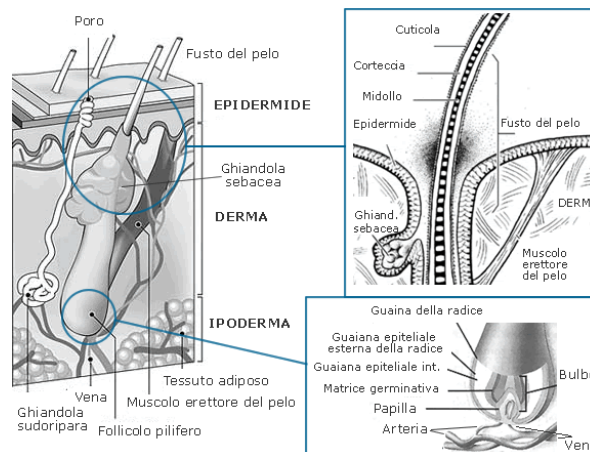


Figura 2 - struttura e localizzazione del capello e del follicolo pilifero

I peli⁵, produzioni cornee dell'epidermide, sono filamenti sottili e flessibili, presenti su tutta la pelle ad eccezione della cute della pianta del piede, della palma delle mani, dei polpastrelli, delle dita, dei capezzoli, delle mammelle, delle labbra, del prepuzio, del clitoride, delle piccole labbra e della superficie interna delle grandi labbra.

Essi possono essere classificati in piccoli peli (o lanugine o vellus) o grossi peli. Hanno una funzione protettiva e per il ricco dispositivo nervoso terminale di cui sono provvisti, anche funzione sensitiva e tattile. I peli possono essere classificati a seconda della regione del corpo in cui si trovano; si distinguono quindi i *capelli*, i *baffi*, la *barba*, le *ciglia*, le *sovracciglia*, le *vibrisse*, i *tragi*, i *peli del pube e delle ascelle*.

Nel pelo (figura 2), così come nel capello, si possono distinguere il *fusto* (o *parte libera*) che sporge alla superficie esterna della cute, e la *radice*, impiantata nella pelle e contenuta in un sacchetto denominato follicolo pilifero, inclinato di 75° rispetto alla linea della superficie cutanea. Lo sviluppo del capello origina da invaginazioni dell'epidermide nel derma. Il *follicolo pilifero* è costituito, pertanto, esternamente da uno strato connettivale o "guaina connettivale del follicolo" e da uno strato epiteliale interno o "epidermide del follicolo".

Nel follicolo possono essere messi in evidenza:

- Ostio: rappresenta lo sbocco del follicolo sulla superficie cutanea;
- Colletto: una strozzatura presente nel terzo superiore del follicolo ed in rapporto con il fusto;
- Infundibolo: porzione delimitata tra ostio e colletto;
- Istmo (o parte intermedia): porzione posta tra colletto e attacco inferiore del muscolo pilo-erettore;

⁵A. Pasqualino, G.L. Panettoni, "Anatomia Umana: citologia, istologia, embriologia, anatomia sistematica", UTET Scienze mediche, 944-946, 2005.

- Parte profonda o fondo: corrisponde al bulbo dal quale si evidenzia una struttura connettivale ricca di vasi sanguigni, linfatici e strutture nervose, denominata papilla e deputata al nutrimento e al controllo endocrino della matrice del pelo.

Al follicolo sono annesse ghiandole sebacee e un muscolo formato da fibrocellule muscolari lisce chiamato anche muscolo erettore del pelo, lungo fino a 2-3 mm, originario dallo strato papillare del derma ed inserito nella guaina dello stesso follicolo. Il complesso viene anche chiamato apparato pilo-sebaceo.

Il fusto del capello (o stelo) è costituito da tre strati concentrici (figura 3).

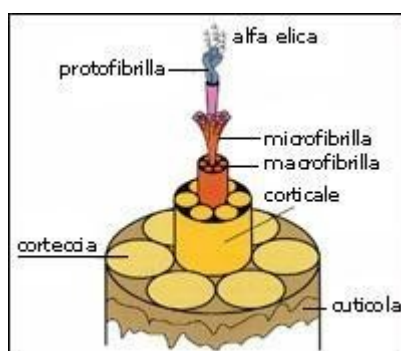


Figura 3 - disposizione di cuticola, corteccia e midollo (o corticale)

Esternamente troviamo l'epidemicola o cuticola, formata da lamelle cornee embricate fra loro, pluristratificate, con spessore di 0.5µm disposte in fila "obliquamente" a formare scaglie lunghe da 45 a 60 µm, immerse nel CMC (cell membrane complex) o "cemento cellulare" costituito prevalentemente da lipidi⁶.

La cuticola, composta prevalentemente da cheratina amorfa ricca in zolfo⁷, forma una barriera protettiva per la fibra capillare, ne governa le proprietà funzionali ed è ampiamente responsabile dell'integrità strutturale del capello. Morfologicamente è formata dall'esterno all'interno, dalla epicuticola, visibile mediante microscopia elettronica a scansione, dalla esocuticola e dalla endocuticola, tre stratificazioni lamellari cheratiniche di varia conformazione. L'epicuticola, è una membrana spessa circa 3nm e rappresenta la prima vera copertura della fibra capillare, grazie alla sua struttura fortemente cheratinizzata e contenente lipidi, conferisce impermeabilità al capello. L'esocuticola rappresenta circa i 2/3 della cuticola e possiede un alto contenuto in cistina (30%), che conferisce le caratteristiche proprietà fisico-chimiche del capello, grazie all'apporto di legami disolfuro cisteinici (-S-S-). Infine l'endocuticola rappresenta lo strato inferiore della cuticola e corrisponde alla frazione più debole della struttura, dovuta al basso contenuto di cistina⁸. Alcuni

⁶ Yang et al. (2014), "The structure of people's hair", PeerJ2:e619; DOI10.7717/peerj.619

⁷ J. Knowlton, S. Pearce "Handbook of cosmetic science and technology", prima edizione, Oxford: Elsevier Advanced Technology, 205, 1993

⁸ D.H. Johnson et al, "Hair and Hair Care", Marcel Dekker Inc., 5-6, 1997.

studi⁹ hanno dimostrato che la cuticola viene gradualmente intaccata e frammentata dall'azione abrasiva dovuta ad esempio all'uso di shampoo e spazzolature.

A livello intermedio si evidenzia la corteccia, formata da cellule allungate, pigmentate (melanina), ricche di macrofibrille di cheratina, con diametro da 0.2 a 0.9 μm , unite a mucopolisaccaridi¹⁰. La corteccia rappresenta la parte più abbondante del capello.

Lo strato interno o midollo è formato da cellule poliedriche pigmentate contenenti tonofibrille.

La radice del capello fa seguito al fusto e ha medesima struttura. Si trova localizzata nel follicolo pilifero. Il bulbo del capello è alloggiato nella porzione inferiore della parte profonda del follicolo e contiene cellule epidermiche che costituiscono la matrice del capello. Queste cellule sono elementi prismatici, simili a cellule basali germinative dell'epidermide, caratterizzate da intensa attività proliferativa, che provvedono all'accrescimento del capello, sospingendo verso l'alto quelle nate in precedenza ed elaborando al loro interno la cheratina con conseguente "processo di cheratinizzazione".

Tra le cellule della matrice sono presenti melanociti, il cui pigmento passa poi alle cellule della corticale.

Chimicamente il capello, oltre che da acqua, è costituito da cheratina, lipidi, minerali e pigmenti.

La cheratina è una proteina fibrosa localizzata prevalentemente nella corteccia del capello. È costituita da 18 aminoacidi¹¹ di cui la cisteina è quello più rappresentato (seguono, serina, acido glutammico, treonina, arginina, valina e isoleucina). I residui di cisteina formano ponti disolfuro cistinici che consentono il legame tra catene polipeptidiche adiacenti¹². L' α -cheratina, a basso contenuto di zolfo, è quella presente in maggior quantità nella corteccia dei capelli.

A livello molecolare la cheratina è quindi una proteina elicoidale. Nella corteccia è prevalentemente organizzata in macrofibrille di 0,5 μm orientate parallelamente all'asse della fibra del capello. Ogni macrofibrilla è costituita da microfibrille, formate da una struttura tetrametrica di protofibrille, di circa 7.5nm separate da una matrice amorfa ricca di cistina¹³. Le microfibrille non contengono, se non in bassa quantità, aminoacidi contenenti zolfo, a differenza della matrice in cui sono immerse. I domini N- e C- terminali di ciascun polipeptide agevolano la costruzione degli avvolgimenti avvolti (dimeri) in protofilamenti, due dei quali (due file sfalsate di avvolgimenti avvolti associati testa-coda) costituiscono una protofibrilla.

⁹ S.S. Sandhu, R. Ramachandran, C.R. Robbins "A simple and sensitive method using protein loss measurements to evaluate damage to human hair during combing", J. Soc. Cosmet. Chem., Vol. 46, No. 1, 39-52, 1994.

¹⁰ J. Knowlton, S. Pearce "Handbook of cosmetic science and technology", prima edizione, Oxford: Elsevier Advanced Technology, 206, 1993

¹¹ F.H. Martini, M.J. Timmons, R.B. Tallitsch "Anatomia umana", quinta edizione, Edises, 99-103, 2012

¹² D. Voet, J.G. Voet, C.W. Pratt "Fondamenti di biochimica", seconda edizione, Zanichelli, 131-132, 2007

¹³ D.H. Johnson et al, "Hair and Hair Care", Marcel Dekker Inc., 6, 1997

I lipidi¹⁴ presenti nella struttura del capello sono rappresentati da trigliceridi, cere, fosfolipi, colesterolo, squalene ed acidi grassi liberi. Sono difficilmente quantificabili in quanto derivano dal sebo presente dipendente da moltissimi fattori esogeni ed endogeni.

Innumerevoli studi descrivono la determinazione quantitativa di vari elementi chimici presenti nei capelli umani. Oltre a carbonio, idrogeno, azoto, ossigeno e zolfo si trovano costituenti inorganici, presenti in tracce e maggiormente rappresentati da Ca, Mg, Al, Na, K, Zn, Cu, Mn, Fe, Ag, Mg, As, Pb.

I pigmenti sono rappresentati dalla melanina (eumelanina, scura e presente nei capelli neri, e feomelanina, chiara e presente nei capelli dorati, biondi o rossi), sintetizzata a partire dall'aminoacido tirosina. I granuli di melanina sono contenuti nei melanociti alla base del follicolo pilifero e sono estruse dalle cellule durante il processo di crescita della fibra capillare.

1.2c PRINCIPALI PROBLEMATICHE DI CUOIO CAPELLUTO E CAPELLI

Le più comuni problematiche legate al cuoio capelluto sono date da:

- Prurito: sensazione di bruciore e fastidio generalizzata a tutta la testa o localizzata al cuoio capelluto. Le cause possono esser molteplici e sono da ricondurre ad alterazioni quali forfora, dermatite seborroica, reazione allergica, psoriasi o follicolite. Il prurito rappresenta, dunque, un sintomo comune di una problematica riguardante la cute.
- Psoriasi¹⁵: disordine cutaneo in cui le cellule staminali dello strato basale sono iperattive, e ciò provoca ipercheratosi del cuoio capelluto. Di conseguenza avviene un'anomalia della desquamazione degli strati più superficiali che talvolta risulta incompleta. Le manifestazioni più comuni sono papule e chiazze eritematose formate da scaglie bianco-argentee ben delimitate, con zone arrossate, che si sfaldano continuamente. Le lesioni sono di varie dimensioni e la severità può variare da pochi punti di desquamazione di tipo forforoso a dermatosi generali con esfoliazioni ed eruzioni debilitanti. La psoriasi è sovente accompagnata da prurito e forfora.
- Xerosi: cute eccessivamente secca dovuta a veloce deterioramento della membrana plasmatica delle cellule presenti negli strati superficiali dell'epidermide. Lo strato corneo diviene molto più permeabile con conseguente aumento (fino a 75 volte) di traspirazione insensibile.
- Dermatite seborroica¹⁶: rappresenta il risultato di tre diversi fattori, presenza di sebo alterato quali-quantitativamente, proliferazione eccessiva del lievito *Malassezia* ed infiammazione del cuoio capelluto. La lesione è caratterizzata da chiazze eritematose

¹⁴ C.R. Robbins, "Chemical and physical Behaviour of human hair", quarta edizione, Springer, 91-96, 2002.

¹⁵ F.H. Martini, M.J. Timmons, R.B. Tallitsch "Anatomia umana", quinta edizione, Edises, 104, 2012

¹⁶ A. Tosti, B.M Piraccini, "Tricologia ambulatoriale. Malattie dei capelli e del cuoio capelluto", Springer-Verlag Italia, 111-115, 2014.

ricoperte da squame giallastre di aspetto untuoso accompagnate spesso da prurito e forfora.

- Cute sensibile¹⁷: è una cute intollerante con una predisposizione a reagire a numerose sostanze, anche debolmente irritanti, che se applicate sulla pelle di altre persone non darebbero ruolo ad alcuna reazione. Questa condizione va distinta sia dall'atopia che dall'allergia da contatto ed è caratterizzata da bruciore e prurito accompagnati da leggero edema. Sono stati descritti quattro tipi di pelle sensibile: 1. Cute reattiva verso sostanze chimiche dei cosmetici, dei trucchi e dei saponi. 2. Cute reattiva verso condizioni ambientali (vento, freddo...). 3. Cute reattiva dovuta a risposta abnorme a stress, dieta ed abuso di alcool. 4. Cute reattiva verso un quadro a carattere disreattivo ormonale.

Le più comuni problematiche legate ai capelli sono:

- Capelli secchi: problematica di tipo estetico. I capelli si presentano deboli, fragili, tendono a sfibrarsi e spezzarsi, spesso soggetti a tricoptilosi (doppie punte). I capelli secchi possono derivare da xerosi del cuoio capelluto, ridotta secrezione sebacea, o da fattori esterni quali esposizione protratta ai raggi solari, temperature rigide, agenti e trattamenti chimici aggressivi (colorazioni, meches, stirature, permanenti...).
- Capelli sfibrati: appaiono opachi e privi di luminosità. Tale fenomeno è dovuto allo sfaldamento e progressivo deterioramento della cuticola del fusto del capello. Trattamenti tricologici cosmetici aggressivi, esposizione al sole e inquinamento ambientale sono fattori che intaccano la cuticola. La conseguente assenza del rivestimento superficiale del capello espone la corteccia al progressivo deterioramento della fibra.
- Capelli grassi: appaiono sporchi, unti, oleosi e lucidi. Ciò è dovuto alla eccessiva produzione di sebo dalle ghiandole sebacee (seborrea). Un capello grasso pregiudica l'estetica dei capelli.

Alcune cause, appena elencate, determinanti i capelli secchi e sfibrati sono riconosciute ed investigate da molti anni.

- *Tolgyesi*¹⁸ ha descritto gli effetti, sui capelli, di esposizioni climatiche ed ambientali, dimostrando come questi siano in grado di determinare lo sfaldamento della cuticola e la rottura della fibra capillare.
- *Dubief*¹⁹, invece, usando una lampada a xexon, ha simulato gli effetti sul capello di una protratta esposizione solare capace di indurre un'alterazione strutturale della fibra ed un fenomeno definito fotodecolorazione.
- *Wolfram*²⁰ ha descritto l'influenza di trattamenti di styling ad alte temperature sul capello. Ha dimostrato che una temperatura moderata (120°C) non danneggia il capello nemmeno dopo 50 cicli ripetuti. L'uso di piastre e ferri arriccianti dovrebbero operare ad

¹⁷ L. Celleno, "Dermatologia Cosmetologica", Tecniche Nuove, 263-265, 2008

¹⁸ E. Tolgyesi, "Wheathering of hair", Cosmet Toiletries, vol 98(10), 29-33, 1983.

¹⁹ C. Dubief, "Experiments with hair photodegradation", Cosmet Toiletries, vol 107(10), 95-102, 1992.

²⁰ L.J. Wolfram, "Letter to the editor", J. Soc. Cosmet. Chem, vol 35, 229-230, 1984.

una temperatura inferiore a 175°C. Temperature superiori portano ad un indebolimento strutturale fino alla rottura della fibra capillare.

- *Fair and Gupta*²¹ hanno discusso le interazioni chimiche tra capello e cloro contenuto nell'acqua delle piscine. Il cloro indebolisce i capelli intaccando le proteine e degradandole con un danneggiamento evidente delle cuticole. Anche il sale dell'acqua di mare danneggia i capelli in quanto, dopo una nuotata, può cristallizzare e determinare una forte abrasione meccanica sulla fibra capillare se non velocemente ed adeguatamente risciacquato.
- L'effetto di trattamenti chimici aggressivi (meches, colorazioni, permanente) sui capelli descritti da *Corbett*^{22,23} hanno spiegato come il perossido d'idrogeno porti alla rottura dei ponti disolfuro sulla cheratina. Mentre *Wickett*²⁴ ha dimostrato come il trattamento permanente per creare capelli ricci riduca le proprietà di resistenza alla trazione, l'elasticità e determini velocemente un danneggiamento dopo semplice pettinatura o spazzolatura.

1.3 SERICINA INTEGRA

1.3a PROTEINE IN COSMETICA

Le proteine²⁵ sono ampiamente e consapevolmente usate, come agenti attivi e protettivi, nel settore cosmetico da almeno 35 anni, nei prodotti ad azione detergente e in quelli specifici per capelli. I motivi che portarono al loro successo possono fondamentalmente essere ricondotti a due fattori importanti: in primo luogo sono capaci di attenuare l'aggressività dei tensioattivi, diminuendo la formazione di legami polari e covalenti con la cheratina cutanea. Di conseguenza viene, quindi, migliorata la risciaquabilità e ridotta la possibilità di fenomeni irritativi. Secondo, da un punto di vista prettamente "emotivo", le proteine "mattoni della crescita umana, elemento di qualità dei cibi", hanno sempre evocato immediatamente il concetto di benessere e nutrimento.

Successivamente anche le creme trattamento e i trattamenti leave-on le hanno adottate, per il loro potere idratante, filmogeno, levigante e il tatto vellutato.

L'uso di proteine in cosmetica può oggi esser ricondotto a due tipologie distinguibili a seconda del peso molecolare della proteina stessa:

- Le proteine ad alto peso molecolare sono principi attivi che in una formulazione cosmetica conferiscono azione filmogena e idratante.

²¹ N.B. Fair, B.S. Gupta, "The chlorine-hair interactions. I. Review of mechanism and changes in properties of keratin fibers", J. Soc. Cosmet. Chem., vol. 38, 359-370, 1987.

²² J.F. Corbett, "Chemistry of hair colorant processes – science as an aid to formulation and development", J. Soc. Cosmet. Chem, vol 35, 297-310, 1984.

²³ J.F. Corbett, "Hair coloring processes", Cosmet. Toiletries, vol. 106(7), 53-57, 1991.

²⁴ R.R. Wickett, "Disulfide bond reduction in permanent waving", Cosmet. Toiletries, vol. 106(7), 37-47, 1991.

²⁵ L. Rigano, R. Leporatti, N. Lionetti, C. Mieli (2005) "Sericina integra. Una molecola bioadesiva dalla seta" Cosmet Technol, vol 8(1), 18-19.

- Le proteine a basso peso molecolare agiscono come agenti emollienti e rivitalizzanti cutanei, oltre che come protettivi dall'azione degli alcali²⁶.

I numerosi siti attivi a carica diversa permettono l'impiego in emulsioni O/A od A/O. In Tabella 1 si riportano le funzioni esercitate dalle proteine in cosmetica e che ne hanno decretato l'ampio utilizzo.

Tabella 1 Utilizzo delle proteine in cosmetica	
Impiego prodotti Skincare	Impiego prodotti Haircare
Idratazione	Sostantività
Filmogeno	Protezione da agenti esterni, tensioattivi, alcali
Miglior percezione sensoriale	Rinforzante (contro le rotture)
Antirughe, rigenerante	Filmogeno
Protezione da agenti esterni, tensioattivi	Elasticizzante

1.3b LA SETA: ORIGINE E STRUTTURA

La seta²⁷ è una fibra proteica animale originata dal filo prodotto dal bruco *Bombyx Mori* (Bombice del Gelso) o detto comunemente *baco da seta*, appartenente alla famiglia dei Bombici, ordine dei Lepidotteri, proveniente dalla Cina e poi selezionato mediante numerosi incroci.

Questo insetto segue quattro stadi a mutamento completo di forma e struttura:

- Uova
- Larva
- Crisalide o ninfa
- Farfalla

Il ciclo larvale ha durata di circa 30 giorni a 25°C, durante il quale si susseguono cinque "età" (periodo durante il quale la larva si nutre incessantemente di foglie di gelso) e quattro "mute" (durante le quali rimane immobile, ancorata al piano d'appoggio mediante sottili fili di seta). Durante le "mute", denominate anche "dormite", la larva rinnova i suoi tessuti e si accresce da pochi millimetri fino a 8-9 centimetri.

²⁶ N.I. Challoner, S.P. Chahal, R.T. Jones (1997), "Cosmetic protein for skin-care", *Cosm Toil*, Vol 112, 51-63

²⁷ L. Rigano, R. Leporatti, N. Lionetti, C. Mieli (2005) "Sericina integra. Una molecola bioadesiva dalla seta" *Cosmet Technol*, vol 8(1), 16-17.

Dopo la quinta "età" la larva è pronta per filare il bozzolo, un involucro che andrà ad assumere una funzione protettiva e di difesa, e sarà sede prima della mutazione a crisalide e poi della trasformazione a farfalla. Il bozzolo è costruito dalla larva in 2-3 giorni, depositando una bava serica, contenente da 800 a 1500 metri di seta grezza.

La bava serica, costituita prevalentemente da due proteine, fibroina e sericina, viene prodotta da due ghiandole setifere (seritteri), disposte ai lati dell'intestino, che si riempiono gradualmente di un liquido viscoso costituito da fibroina. Ogni serittero presenta una confluenza, mediante canale escretore, in un orificio di piccolo diametro, dove le due bave sottili di fibroina si saldano per mezzo di una guaina gommosa e trasparente, la sericina.

Una settimana dopo la costruzione del bozzolo, le larve mutano in crisalidi. Nel momento dello sfarfallamento, ossia l'uscita della farfalla dal bozzolo, l'insetto produce una sostanza alcalina capace di aprire un varco per poter fuoriuscire e portare a compimento il suo breve ciclo vitale.

Come appena descritto, il filo di seta risulta prevalentemente costituito da due proteine, fibroina e sericina (tab. 2), sintetizzate in zone separate delle ghiandole serigene come soluzioni acquose altamente concentrate. La sericina forma uno strato avvolgente il nucleo di fibroina. Prima dell'estrusione i due filamenti si uniscono ed il risultato sarà dato da un cuore di fibroina racchiuso da uno strato di sericina.

La fibroina, dunque, rappresenta il materiale portante del "cavo co-assiale" formatosi, mentre la sericina possiede una funzione protettiva, lubrificante ed agglutinante.

La fibra di seta risulta coesa oltre che da forze meccaniche tra le due proteine, anche da forze attrattive che vengono ad instaurarsi mediante interazioni chimiche (legami ad idrogeno, forze di Van der Waals).

Tabella 2 <i>Composizione chimica % della seta grezza</i>	
<i>Sostanze</i>	<i>%</i>
Fibroina	72-76
Sericina	22-23
Sostanze cerose	1-3
Sostanze minerali	0.3-1.6

Morfologia e chimica della Fibroina

La struttura della fibroina è stata ottenuta mediante diffrazione a raggi X: la glicoproteina presenta due componenti proteici distinti di 370 e 25 KDa rispettivamente uniti da ponti covalenti disolfuro.

Analisi chimiche della sequenza amminoacidica hanno evidenziato che essa è composta da unità fondamentali, ognuna delle quali recante 6 residui costituenti una catena polipeptidica di composizione generale:

$(\text{Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala})_n$

con rapporti quantitativi evidenziati di seguito: serina 12%, glicina 44%, alanina 30% e aminoacidi caratterizzati da polarità diverse.

È stato dimostrato che la fibroina contiene una quantità di zolfo molto modesta, pertanto tra le catene polimeriche non sono presenti legami disolfuro e solo pochi legami salini.

La forma del complesso proteico è determinata dalla formazione di ponti disolfuro e da forti legami covalenti con gruppi glucidici. Si distinguono regioni ordinate, di tipo cristallino, e regioni amorfe. Nella struttura cristallina, le catene polipeptidiche si dispongono nella conformazione lamellare a foglietto-beta di tipo antiparallelo uniti da numerosi ponti d'idrogeno (C=O---NH) similmente alla disposizione della β -cheratina.

La struttura origina microfibrille, aggregate successivamente in fasci da cui origina il filo di seta. Nella fase finale aggregativa il contributo conclusivo sarà dato dalla sericina.

Morfologia e chimica della Sericina

La sericina è la seconda proteina principale contenuta nel filo di seta. Si presenta principalmente in forma amorfa "a gomitolo" ed in misura inferiore in forma lamellare con struttura analoga a quella della fibroina. Il passaggio da una struttura amorfa globulare ad una forma lamellare organizzata avviene in seguito a ripetuti processi di assorbimento e rilascio di acqua e a stress meccanici localizzati. Sono state isolate 5 frazioni principali di sericina a diverso peso molecolare (65-400 KDa) e dalla composizione amminoacidica riportata in tabella 3 si nota come i suoi costituenti siano molto più differenziati rispetto la composizione della fibroina.

Come poi si può notare in tabella 4, anche in termini di polarità dei residui amminoacidici la composizione è più variegata.

Tabella 3 <i>Composizione aminoacidica della Sericina</i>		
<i>Polarità</i>	<i>Aminoacido</i>	<i>%</i>
Non polare alifatico	Alanina	6.0
	Glicina	13.5
	Isoleucina	0.8
	Leucina	1.0
	Prolina	0.7
	Valina	3.0
Non polare aromatico	Tirosina	2.6
Polare amidico	Asparagina	13.7
	Glutamina	4.4
Polare basico	Arginina	3.1
	Istidina	1.3
	Lisina	3.7
Polare ossidrilato	Serina	33.5
	Treonina	9.7

Tabella 4 <i>Distribuzione aminoacidica della Sericina</i>	
<i>Tipo</i>	<i>%</i>
Amminoacidi polari ossidrilati	45.8
Amminoacidi polari non ossidrilati	42.3
Amminoacidi non polari	12.2

Dai dati appena riportati può esser evidenziato l'alto contenuto dell'amminoacido serina, e la scarsa quantità di amminoacidi non polari.

La sericina presenta punto isoelettico a pH 4.00. E contiene anche zuccheri (3%) delle catene saccaridiche legate alla parte poli-peptidica da legami O-glucosidici o N-glucosidici²⁸.

Sono state identificate ed isolate tre principali frazioni della sericina²⁹:

- **Frazione A:** di massa molecolare di 250 KDa circa, rappresenta la frazione anteriore del secreto dei seritteri del bombice;
- **Frazione M³⁰:** è la frazione intermedia di circa 400 KDa e rappresenta la porzione più importante nel trattato della discussione in esame;
- **Frazione P:** è la porzione posteriore di circa 150 KDa.

Per ottenere queste tre frazioni sono state eseguite le seguenti operazioni: estrazione dai bozzoli (750mg) con 25mL di soluzione acquosa di urea 2M a 100°C, quindi a 20mL dell'estratto si aggiungono 80 mL di etanolo; si forma un precipitato che viene centrifugato a 4000 rpm per 20 minuti. Il precipitato viene sciolto in 3 mL di tiocianato di litio (LiTCN) e sottoposto a precipitazione frazionata con etanolo (*in accordo con lo studio di Takasu et al.*)

La frazione M è stata digerita con 0.15 mg di lisil endopeptidasi a 37°C per 24 ore e dopo digestione è stata cromatografata su colonna a fase inversa (RPC Resource 3ML, 0.64x10 cm, Amersham biosciences, Piscataway, NJ, USA). Sono stati rilevati due picchi di assorbimento che rappresentavano 2 frazioni con masse molecolari di circa 170 KDa e 10 KDa rispettivamente. La porzione attiva si è dimostrata essere quella da 170 KDa come verrà spiegato in modo più approfondito nel paragrafo 1.3d.

1.3c PROCESSI INDUSTRIALI

La sericina³¹ altro non è che un materiale di scarto nell'industria serica, ottenuta dalla sgommatura, eseguita ad una temperatura di 95-98°C in una soluzione alcalina (pH 9.5-9.8) per circa 3 ore. Alla fine del processo si ottengono molti differenti prodotti di scarto tra cui la sericina che può esser condensata, filtrata e liofilizzata al fine principale dello smaltimento aziendale. Il processo di liofilizzazione, in realtà, è piuttosto costoso ma consente di ottenere, come spiegato in seguito, una sericina integra di grado farmaceutico.

Nei processi industriali tradizionali inizialmente vengono soffocate le crisalidi attraverso il calore fornito da un essiccatore. La crivellatura consente poi di selezionare e separare i bozzoli a seconda delle dimensioni.

²⁸ K. Komatsu (1972), "Chemistry and structure of silk", JARQ, vol 13(1), 64-72.

²⁹ B.A. Catozzi, G. Mieli (2007), "Sericina M in cosmesi" Cosmetic Technology, Vol 10(2), 24.

³⁰ Y. Takasu, H. Yamada, K. Tsubouchi (2002), "Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, Bombyx mori", Biosci. Biotechnol. Biochem, Vol. 66(12), 2713-2716.

³¹ L. Rigano, R. Leporatti, N. Lionetti, C. Mieli (2005) "Sericina integra. Una molecola bioadesiva dalla seta" Cosmet Technol, vol 8(1), 17-18.

Successivamente i bozzoli vengono macerati in acqua ad 80°C per ammolare ed ottenere una prima eliminazione della sericina di rivestimento. Grazie all'utilizzo di speciali spazzole si "svolge" il bozzolo a partire dal "bandolo" ossia il capofilo. In questa fase di "svolgimento" del bozzolo si crea un filo ritorto e avvolto fino a formare una matassa composta da 4 ad 8 bave (il numero di bave varia a seconda del titolo che si vuole ottenere).

Nel filato grezzo si procede poi all'operazione di sgommatura. Come spiegato precedentemente, il processo, condotto ad una temperatura di 95°-98°C in una soluzione concentrata di acqua e sapone vegetale (pH 9.5-9.8) per circa 3 ore, toglierà tutta la sericina in eccesso.

Gli scarti che ne derivano possono essere di due tipi:

- Fibrosi, ossia costituiti da bave, fibroina con o senza sericina ed impurezze di natura animale o vegetale;
- Non fibrosi, ossia sericina solubilizzata nelle acque di trattamento, ma che presentano problemi di smaltimento in quanto sono "reflui" contenenti elevata carica organica con conseguenti alti costi di depurazione.

Questo processo tradizionale consente il recupero di sericina a differenti pesi molecolari, che possono esser predeterminati da processi di idrolisi graduati e brevettati, ma la proteina sarà sempre denaturata dal processo produttivo.

Il nuovo processo produttivo, con il quale è ottenuta la proteina di interesse dello studio qui discusso, coinvolge un metodo di purga meno aggressivo e più veloce. Il processo ora descritto è stato sviluppato da un'unica azienda in Europa:

il filo di seta greggia è trattato in autoclavi, in questo modo si può operare a temperatura e pressione controllate, con acqua ed un tensioattivo a pH 6.5 che svolge la funzione di sequestrante, alla temperatura di 130°C per 30 minuti.

I vantaggi risiedono nel minor tempo di lavorazione e nella costituzione di un ambiente a pH neutro che non rovina la fibroina e non altera la composizione chimica della sericina. Ottenuta con questo nuovo processo, la sericina, difatti, non subisce alterazioni irreversibili: se con l'aumento della temperatura viene coinvolta la sua struttura conformazionale, durante il raffreddamento sarà in grado di ricostituirsi integralmente.

Il filtrato concentrato al 10% di sericina, ottenuto da speciali microfiltri in ceramica, dove vengono spinte le acque di trattamento, viene liofilizzato con "standard" farmaceutici, fino ad ottenere una polvere bianco-crema di sericina integra.

1.3d APPLICAZIONI TECNOLOGICHE DELLA SERICINA IN CAMPO COSMETICO

La sericina, in cosmesi, è comunemente utilizzata come idrolizzato disperso in acqua o come liofilizzato in polvere; il liofilizzato può essere portato in soluzione acquosa mediante debole riscaldamento. La soluzione in questo modo costituita può essere impiegata in emulsioni skin-care o make-up, ed in prodotti per unghie e capelli.

Questa proteina riesce a stabilire effetti attrattivi e di bioadesione interagenti con la superficie cutanea. L'impiego di proteine integre, e dunque non frammentate, è oggi preferito rispetto l'utilizzo di idrolizzati a basso peso molecolare, poiché di fatto, le interazioni cutanee dei polimeri non sono soltanto dovute alla chimica dei monomeri che costituiscono la proteina.

La struttura tridimensionale determina zone a diversa polarità, zone di attrazione e repulsione di carica, zone ripetute di legame e non legame che riescono ad interagire con la superficie cutanea e "bio-aderire ad essa".

Le glicoproteine poi hanno anche la peculiarità di:

- poter coordinare molte molecole d'acqua;
- effettuare legami inter-molecolari e orientare le catene polipeptidiche;
- contribuire alla polarizzazione indotta dai legami amidici della cheratina e della loro distribuzione spaziale.

Proprietà idratanti e filmogene

L'azione idratante e filmogena³² della soluzione acquosa di sericina è dovuta alla formazione sulla pelle di un film viscoso, che garantisce una sensazione di pelle idratata. Le capacità filmogene, senza occlusione, aumentano al crescere del peso molecolare. La misura dinamica della TEWL (trans epidermal water loss), relativa agli scambi di umidità tra pelle ed ambiente esterno, ha dimostrato come la sericina apporti alla cute un marcato effetto idratante dato dalla conformazione della proteina stessa, per la presenza di numerose zone idrofile e di catene oligosaccaridiche capaci di trattenere l'acqua.

Proprietà antirughe e antinvecchiamento

Alcuni studi³³ hanno dimostrato come la sericina riesca ad inibire gli effetti degli enzimi responsabili dell'invecchiamento cutaneo e favorire la riduzione della comparsa di macchie.

La sericina ha dimostrato anche un effetto levigante sulle irregolarità cutanee e un'effettiva azione antirughe. Con il calco dei rilievi cutanei, tramite tecnica Silflo, sono state valutate profondità e direzionalità delle rughe, sia prima che dopo 21 giorni di trattamento con crema alla sericina²⁴.

³² R. Voegeli, J. Meier, R. Blust et al (1993), "Sericin Silk Protein: unique structure and properties", *Cosmet. Toil.*, vol. 108(12), 101-108.

³³ U. Griesbach, M. Klingels et al (1998), "Proteins: classic additives and actives for skin and hair care", *Cosmet. Toil.*, vol. 113(11), 69-73.

Affinità per proteine idrofobe

Proprio per la sua struttura di proteina bio-adesiva, la sericina ha grande affinità verso le proteine idrofobe (quali ad esempio la fibroina e la cheratina dei capelli e dello strato corneo). Ne deriva anche un possibile impiego come attivo in prodotti hair-care.

Sericina e crescita di fibroblasti

Sono molti gli studi in passato che attestano come la sericina, usata come substrato sia in grado di favorire la crescita e l'unione in vitro dei fibroblasti murini ed umani³⁴⁻³⁵.

Lo studio di Tsubouchi et al³⁶ ha ulteriormente rafforzato questa teoria, indagando in particolare quale fosse la porzione di proteina responsabile di tale processo. Sono state utilizzate colture cellulari primarie di fibroblasti, isolate da pelle adulta umana (Kurabo, Osaka, Japan), seminate in piastre di Petri e trattate con sericina 0.25-2.5-25.0 µg/cm², confrontandole al collagene come controllo positivo. La sericina utilizzata è stata ottenuta con il metodo descritto al paragrafo 1.3b, che permette di separare la porzione M (170 KDa).

Lo studio ha evidenziato una crescita cellulare del 250% nell'arco di 72 ore, e il collagene del 300% (incrementi valutati statisticamente con il test t-Student e valutati significativi rispetto al controllo).

La proliferazione cellulare aumentava in modo significativo nelle prime 24 ore, specialmente per la sericina.

Le colture cellulari sono state osservate al microscopio ottico a contrasto fasico che ha evidenziato come le cellule trattate con sericina mostrassero una forma particolarmente ramificata e ben estesa simile a quella ottenuta con il collagene, mentre nel controllo le cellule presentavano forma circolare.

Successivamente, il campione di sericina è stato separato nelle tre frazioni principali A, M e P e sono stati ripetuti i test sopra descritti. I risultati hanno evidenziato un'attività marcata dovuta alla frazione M. Le frazioni P ed A davano risultati analoghi al controllo.

In seguito a digestione enzimatica, la frazione M è stata separata cromatograficamente nelle sue due porzioni polipeptidiche di 170 KDa e 10 KDa. La porzione più attiva è risultata essere quella da 170 KDa, presumibilmente costituita da una sequenza ripetitiva ricca di serina, non presente nelle frazioni A e P.

Lo studio ha dunque evidenziato come la porzione M sia quella che più influenza l'unione dei fibroblasti primari cutanei umani coltivati. Si evince che l'utilizzo di sericina contenente la porzione

³⁴ N. Minoura et al (1995) "Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices" J. Biomed. Mater. Res., Vol 29, 1215-1221.

³⁵ S. Terada, T. Nishimura, M. Sasaki, H. Yamada, M. Miki, (2002), "Sericin, a protein derived from silkworm, accelerates the proliferation of several mammalian cells including a hybridoma", Cytotechnology, Vol. 40, 3-12.

³⁶ K. Tsubouchi et al (2005) "Sericin enhances attachment of cultured human skin fibroblasts", Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 69(2), 403-405.

M, veicolata in formulazioni cosmetiche, può giocare un ruolo importante nel processo di guarigione di lesioni della pelle.

Altre applicazioni tecnologiche

La sericina è stata oggetto di studio anche per applicazioni nell'industria farmaceutica e biomedica per prodotti riguardanti il drug-delivery e per funzioni sostitutive (tessuti artificiali).

In campo biomedico è stato interessante lo sviluppo di materiali seta-idrossiapatite da usare come protesi per la rigenerazione ossea. In campo farmaceutico la sericina è stata invece studiata per lo sviluppo di garze per il trattamento di ustioni e di tessuti bioattivi con attività antimicrobica.

Anche membrane di fibroina hanno trovato un impiego come possibile substrato per la ricrescita del tessuto osseo in quanto altamente biocompatibili, permeabili all'ossigeno ed al vapore acqueo³⁷.

Uno studio molto recente³⁸ vede l'utilizzo, in campo biomedico, della sericina per produrre un particolare idrogel iniettabile, che può fungere da veicolo per il delivery di farmaci o cellule.

1.4 OBIETTIVI DELLA TESI E PIANO SPERIMENTALE DI LAVORO

L'obiettivo di questo lavoro di tesi svolto presso l'azienda Orignitalia S.R.L di Caldogno (VI) è quello di mettere a punto, al fine della commercializzazione, una formula cosmetica hair-care ristrutturante della fibra capillare, che segua le nuove tendenze di mercato, ossia performante sul capello, ma "attiva" anche sul cuoio capelluto. È stato così deciso di inserire nel prodotto la proteina Sericina Integra, dalle spiccate proprietà idratanti, filmogene e riepitelizzanti. L'idea di base è quella di affiancare un prodotto performante sulle cuticole del capello ad un cuoio capelluto sensibilizzato che presenta problematiche di prurito, desquamazione cutanea o intollerante ai normali trattamenti hair-care. La formulazione quindi ha dovuto tener conto della sicurezza delle materie prime, in modo da minimizzare il rischio di possibili alterazioni dell'effetto barriera dell'epidermide. Prima però della sua possibile immissione in commercio è stato necessario fare una valutazione oggettiva della capacità della proteina di condizionare il capello, per poter vantare l'efficacia dichiarata. Si è scelto, a tal scopo, di eseguire una valutazione oggettiva qualitativa dello stato della cuticola prima e dopo l'applicazione del prodotto, mediante analisi con microscopia elettronica a scansione ambientale (ESEM). Essendo però la formula ricca, come spiegato in seguito, di altre molecole chimiche capaci di condizionare il capello, è stato necessario procedere alla realizzazione di una sistematica formulativa che consentisse di togliere l'incidenza condizionante di tali altri composti, per non falsare il risultato, e poter così affermare l'effettiva capacità della sericina di "bio-aderire" al fusto della fibra capillare.

³⁷ B.A. Catozzi, G. Mieli (2007), "Sericina M in cosmesi" Cosmetic Technology, Vol 10(2), 23-26.

³⁸ Z. Wang, Y. Zhang, J. Zhang, L. Huang, J. Liu, Y. Li, G. Zhang, C.S.Kundu, L.Wang (2014), "Exploring natural silk protein sericin for regenerative medicine, an injectable photoluminescent, cell adhesive 3D hydrogel", Sci Rep., 4:7064.

Lo studio è stato suddiviso nelle seguenti fasi:

- Formulazione di una sistematica che inizia dalla semplice associazione di ingredienti emollienti, fino all'inserimento della proteina in differenti concentrazioni, con o senza emulsionante e con o senza quantità differenti di modificatore reologico. Tale sistematica ha verificato la compatibilità chimica tra gli ingredienti inseriti in formula.
- Analisi reologica³⁹ dei prodotti per descrivere la struttura di ogni campione, durante le fasi di sviluppo del prodotto prevedendone proprietà strutturali e funzionali. L'analisi in *temperature sweep* ha permesso di impartire ai campioni le stesse sollecitazioni termiche impiegate nei processi industriali, ma in tempi più rapidi. La valutazione temperatura-dipendente del campione ha consentito di fare considerazioni di stabilità nel tempo, interessanti ed importanti soprattutto per il prodotto finale. Le emulsioni sono state caratterizzate anche attraverso analisi microscopiche e test in centrifuga che ne hanno permesso di evidenziare morfologia, omogeneità della dispersione e fenomeni immediati di instabilità della formula.
- Valutazione funzionale della capacità di Sericina Integra di "bio-aderire" alle cuticole del capello mediante microscopia elettronica a scansione ambientale⁴⁰.
- Valutazione dell'efficacia percepita⁴¹ del prodotto finito contenente sericina per definire la usability del cosmetico e prevederne così il successo commerciale. Questo tipo di analisi è stata condotta in collaborazione con saloni di parrucchieri che hanno utilizzato il prodotto ed espresso una valutazione numerica in merito alle capacità del trattamento di migliorare l'aspetto di un capello danneggiato. L'analisi è stata condotta, in cieco, con un benchmark di confronto contenente un pool di agenti condizionanti molto elevato, compresi siliconi, posizionato nel medesimo segmento di mercato (etichetta "green").

³⁹ Condotta presso dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova.

⁴⁰ Condotta in collaborazione con il laboratorio Eurochem Ricerche srl.

⁴¹ Redatta con la collaborazione con il dott. A. Gion, psicologo esperto di psicometria.

2 MATERIALI E METODI

2.1 MATERIALI

EMOLLIENTI

BURRO DI KARITE'

INCI NAME: BUTYROSPERMUM PARKII (SHEA BUTTER)

Il Burro di Karitè viene abitualmente utilizzato nella formulazione di molteplici prodotti cosmetici perchè è capace di apportare emollienza alla cute e ai capelli secchi.

Si presenta come una sostanza grassa, semisolida a temperatura ambiente, di colore giallo ed odore caratteristico, ottenuta per estrazione dai semi dell'albero *Butyrospermum parkii*, appartenente alla famiglia delle Saponataceae. Fonde ad una temperatura compresa tra 30-45°C.

Le proprietà emollienti ed idratanti sono assicurate dalla sua composizione, chimicamente costituita (secondo schede tecniche fornite dalla casa produttrice) da:

Acido stearico	35-48%
Acido oleico	40-50%
Acido linoleico	4-10%
Acido palmitico	3-8%

Contiene anche quantità esigue di acido laurico, miristico, palmitoleico, margarico, margarolenico, arachidico, eicosanoico, beenico.

OLIO DI JOJOBA

INCI NAME: SIMMONDSIA CHINENSIS (JOJOBA) SEED OIL

Principalmente utilizzato come ingrediente emolliente e condizionante per cute e capelli in quanto presenta proprietà e costituenti affini con il sebo umano, l'olio di Jojoba è estratto dai semi di Jojoba, una pianta appartenente alle Buxaceae, presente nelle zone desertiche dell'Arizona meridionale, del Messico nord-occidentale e della California meridionale.

Si presenta come un olio denso e di colore giallo oro.

Chimicamente è costituito da una miscela di esteri cerosi, con lunghe catene (da 36 a 46 carboni). Ogni molecola consiste di un acido grasso e di un gruppo lipo-alcolico connessi da un legame esterico.

È prevalentemente costituito da:

Acido eicosanoico	40-80%
-------------------	--------

Acido erucico	10-25%
Acido oleico	5-25 %

OLIO DI BABASSU

INCI NAME: ORBIGNYA OLEIFERA SEED OIL

L'olio di babassu è usato in cosmetica per le sue proprietà protettive, nutrienti ed emollienti.

È capace di rendere i capelli più morbidi e luminosi ed è indicato per pelle secca e sensibile, in quanto considerato sicuro e non irritante a qualunque concentrazione. Si presenta come una massa semi-solida a temperatura ambiente, di colore bianco-avorio e con odore caratteristico. È ottenuto dalle noci del Babassu, una palma originaria del Brasile, Messico e Guatemala.

Risulta composto da gliceridi di acidi grassi laurico (40-55%), miristico (11-27%) ed oleico (9-20%). In quantità inferiori sono presenti anche acidi grassi caprico, caprilico, stearico e linoleico.

OLIO DI ABISSINIA

INCI NAME: CRAMBE ABYSSINICA SEED OIL

L'olio di Abissinia proviene dalla *Crambe abyssinica*, una pianta oleosa originaria della zona del Mediterraneo. Viene estratto dai semi per spremitura a freddo.

L'olio presenta colore giallo chiaro ed odore caratteristico gradevole. È considerato un olio particolarmente stabile dall'ossidazione e non termo-labile.

È considerato un olio dalla buona sensorialità (non untuoso), soprattutto per l'applicazione hair-care, ed un buon disperdente per pigmenti.

Contiene un'alta percentuale di acidi grassi insaturi C₂₂, acido erucico (50-65%), e quantità inferiori di acido oleico (10-25%), linoleico (7-15%) e linolenico (2-5%).

BURRO DI CHIURI

INCI NAME: BASSIA BUTYRACEA SEED BUTTER

L'albero del Chiuri (nome scientifico *Diploknema butyracea*, famiglia delle Sapotaceae) è un sempre-verde di media grandezza. Si trova nel tratto sub-himalayano, da Dehra Dun al Buthan, tra i 400-1400 metri di altitudine (fino a 4500 metri di altitudine).

In Nepal si trova nella zona sub-himalayana, su pendii scoscesi, terreni rovinosi e precipizi, soprattutto nelle foreste dei distretti di Chitwan, Gorkha, Dhading, Rolpa, Argha, Khanchi e Makwampur.

La sua storia è molto interessante in quanto la sua coltivazione e produzione ha avuto un'importanza socio-culturale notevole per i Chepang, uno dei 61 gruppi etnici ufficialmente riconosciuti dal governo nepalese e uno dei più piccoli, poveri e marginalizzati di tutto il Nepal, con caratteristiche tipicamente mongoloidi.

Lo studio della pianta e lo sviluppo sostenibile della produzione della materia prima sono stati parte integrante del progetto SEACOW (School for Ecology, Agriculture and Community Work) sulle pratiche agricole e produttive ecologiche, che si è concentrato sulla capacità di utilizzare il sapere tradizionale e i secoli di rapporto dei Chepang con la foresta per modificare l'immagine di sé e per demistificare i processi economico-produttivi, in modo che la popolazione stessa potesse trarre vantaggio economico e sociale dalle proprie conoscenze.

Il burro di chiuri si presenta solido a temperatura ambiente. Il suo punto di fusione si trova tra 47-49°C. È principalmente composto da acidi grassi palmitico (50-65%), oleico (25-36%) e linoleico (3-4%).

Il burro contiene carotenoidi (340µg/100gr), vitamina E (in tocoferoli totali 44,8mg/100gr) di cui 10,3mg/100gr di α-tocoferolo e 32,4mg/100gr di γ-tocoferolo.

Il burro apporta emollienza a cute e capelli, donando morbidezza e lucentezza.

OLIO DI CAROTA

INCI NAME: ZEA MAYS GERM OIL, DAUCUS CAROTA SATIVA ROOT EXTRACT

L'olio di carota è ottenuto per macerazione di carote essiccate in un olio vegetale (oleolita), in questo caso in olio di mais, che rilasciano tutti i loro principi liposolubili. I carotenoidi sono la classe di composti contenuti in maggior quantità e responsabili del colore caratteristico giallo-arancione dell'olio. Dalla scheda tecnica della materia prima il prodotto non risulta possedere effetto irritante o sensibilizzante sulla cute. Viene aggiunto alla fase oleosa.

ANTIOSSIDANTE

OLIO DI GIRASOLE ed ESTRATTO DI ROSMARINO

INCI: HELIANTHUS ANNUUS (SUNFLOWER) SEED OIL, ROSMARINUS OFFICINALIS (ROSEMARY) LEAF EXTRACT.

Miscela antiossidante naturale ad efficacia comparabile con i più comuni antiossidanti utilizzati in cosmetica. Secondo le schede tecniche fornite dalla casa produttrice della materia prima, si tratta di una miscela oleosa compatibile con gran parte degli ingredienti utilizzati nel settore cosmetico. Non modifica né il colore né il profumo del prodotto finito.

Può esser aggiunto ad emulsioni O/A preferibilmente nella fase oleosa, prima del processo di emulsione, sia a caldo che a freddo.

Da test di efficacia condotti sulla materia prima è stato dimostrato che questa miscela oleosa ha attività antiossidante simile o maggiore rispetto tocoferolo e BHT (butylhydroxytoluene).

La sicurezza della materia prima è stata dimostrata da test di irritazione cutanea, da cui è risultata essere non irritante.

Se ne consiglia l'utilizzo in percentuale 0.01-0.15% della formula.

PRESERVANTE

ETILESILGLICERINA e FENOSSIETANOLO

INCI NAME: ETHYLHEXYLGLICERYN AND PHENOXYETHANOL

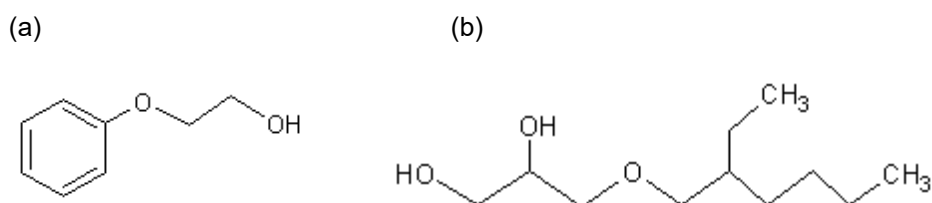


Figura 1 – fenossietanolo (a) ed etilesilglicerina (b)

Miscela preservante cosmetica a base di etilesilglicerina e fenossietanolo (fig.1), ad ampio spettro, ugualmente attiva contro batteri, muffe e lieviti.

L'aggiunta di etilesilglicerina agisce nella tensione interfacciale della membrana cellulare di microorganismi, aumentando l'attività conservante del fenossietanolo.

È considerato un conservante batteriostatico, efficace a tutti i pH fino a 12. È solubile e dispersibile in varie matrici cosmetiche. Va usato sotto i 35°C.

La concentrazione consigliata nelle emulsioni va da 0.5 a 1%.

In accordo con le condizioni stipulate con la Direttiva 76/768/EEC la materia prima può esser usata in preparazioni cosmetiche (leave-on, rinse-off) in concentrazione massima di 1,1%.

Alla concentrazione raccomandata la materia prima è considerata sicura. (Sono stati eseguiti studi di tollerabilità cutanea mediante patch test).

ATTIVO FUNZIONALE

SERICINA INTEGRA (J.AND.C COSMETICI SRL)

INCI NAME: SERICIN

Sericina Integra (vedi cap. 1 paragrafo 1.3) è una proteina globulare naturale derivata dal processo di lavorazione della seta. Quando applicata sulla cute forma un film sottile che conferisce alla pelle idratazione e ne preserva la naturale elasticità. L'affinità tra Sericina Integra e le proteine della pelle e dei capelli è dovuta dal contenuto della frazione proteica M e dall'alta concentrazione di serina, aminoacido idrofilo che gioca un ruolo importante nel contenuto di umidità della struttura cutanea.

Si presenta come una polvere liofilizzata, cristallina, di colore avorio-crema, con odore caratteristico, solubile in acqua tiepida (35-40°C).

Da scheda tecnica si apprende che presenta:

- Peso molecolare non inferiore a 500.000Dalton;
- Contenuto proteico non inferiore al 65%;
- Contenuto in metalli pesanti inferiore a 20ppm;
- Contenuto in glutine inferiore a 10mg/Kg
- Non contiene OGM.

Profilo amminoacidico:

Aminoacido	Range percentuale		
Ser	28,0-31,0	Val	3,0-4,0
Asp	15,5-17,5	Met	0,2-0,4
Thr	8,0-9,0	Ile	0,8-1,2
Glu	4,0-5,0	Leu	1,3-1,8
Pro	0,5-0,8	Tyr	2,8-3,2
Gly	15,0-17,0	Phe	0,4-0,6
Ala	6,0-8,0	His	1,0-1,3
Lys	2,4-2,8	Arg	2,8-3,2

Se ne consiglia l'utilizzo in concentrazione dallo 0,1% al 5% in creme, lozioni, gel, sieri, saponi, shampoo e conditioner previa solubilizzazione o mediante dispersione.

È dichiarata non tossica e non patogena.

EMULSIONANTE

BIS-(ETHYL PPG-3 BEHENATE) DIMONIUM METHOSULFATE e BEHENAMIDO PROPYL DIMETHYL AMINE

INCI NAME: BIS-(ETHYL PPG-3 BEHENATE) DIMONIUM METHOSULFATE, BEHENAMIDOPROPYL DIMETHYLAMINE

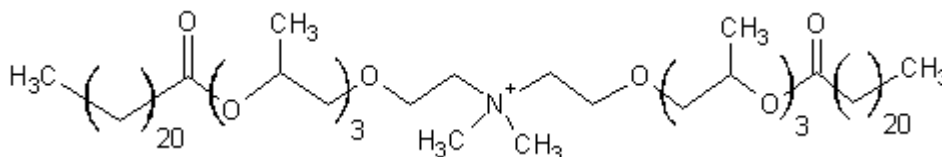


Figura 2 - rappresentazione strutturale dell'emulsionante cationico utilizzato coperto da brevetto US 7,202,204.

Emulsionante cationico e condizionante contenente un gruppo ammonico quaternario (fig.2). È commercializzato in forma di pastiglie gialle a forma di fiocchi, dall'odore caratteristico.

Usato come agente condizionante per capelli con effetto districante. Possiede un eccellente profilo di tossicità acquatica e un alto grado di biodegradabilità, risulta utile per stabilizzare emulsioni.

Può rientrare nella formulazione di balsami, spray districanti e maschere condizionanti per capelli.

Viene consigliata una percentuale d'uso del 1-5%. A queste concentrazioni è risultato non irritante per occhi e mucose. Test di applicazione al 5% su volontari umani non hanno dimostrato proprietà di sensibilizzazione respiratoria e cutanea.

Sulla materia prima sono stati eseguiti studi di tossicità acquatica e di biodegradabilità. Per la biodegradabilità il composto è stato testato con il metodo "OECD 301B CO₂ evolution test", con sodio acetato usato come controllo positivo. Alla fine dei 28 giorni di test è risultata una degradazione del prodotto del 60%.

Per la tossicità acquatica è stato utilizzato il metodo "OECD 202 Daphnia sp. Acute immobilisation test", un test di tossicità acuta su crostacei di tipo statico, che definisce la concentrazione di immobilizzazione del 50% della specie trattata con la materia prima in 48 ore. È stata così determinata una EC₅₀ maggiore di 100mg/L.

MODIFICATORE REOLOGICO E CONDIZIONANTI

POLYQUATERNIUM-37

INCI NAME: POLYQUATERNIUM-37

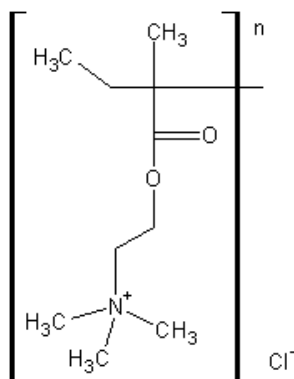


Figura 3 - trimetilammonio etilmetacrilato

Questa materia prima è usata nella formula finale come modificatore reologico. Essendo però un omopolimero di cloruro trimetilammonio etilmetacrilato, e quindi un polimero cationico (fig.3), presenta anche un elegante profilo sensoriale ed un effetto condizionante/sostantivante per pelle e capelli. Per questo motivo è stato scelto come controllo positivo per il test al microscopio elettronico a scansione ambientale.

Si presenta in polvere bianca, dall'odore acrilico caratteristico. Risulta stabile in un range di pH da 3 a 11 ed è processabile anche a freddo.

ALCOL CETILSTEARILICO

INCI NAME: CETEARYL ALCOHOL

Miscela di alcol cetilico (25-35%) e alcol stearilico (60-75%), alcoli grassi costituiti rispettivamente da 16 e 18 atomi di carbonio, saturi e con catena lineare. È un solido bianco a scaglie di consistenza cerosa, insolubile in acqua e solubile in alcol. Fonde a circa 60°C.

Viene usato in cosmetica come emolliente e fattore di consistenza della fase oleosa. Conferisce viscosità al prodotto senza appesantirlo, mentre ne migliora scorrevolezza e stendibilità sulla pelle.

PROFUMO

INCI NAME: PARFUM

Il profumo utilizzato è esente da allergeni.

2.2 METODI

2.2a PREPARAZIONE DELLE EMULSIONI O/A

La sistematica formulativa realizzata è stata pianificata razionalmente per il test di microscopia elettronica a scansione ambientale su ciocche di capelli standardizzate. Questo al fine di poter ricavare l'effettiva capacità della sericina di condizionare il capello ed eventualmente riparare gli strati della cuticola danneggiati. Per poter giungere a tale risultato è stato necessario apportare allo scheletro formulativo variazioni sia di tipo quantitativo che qualitativo.

La formula è stata arricchita di concentrazioni diverse di sericina e di concentrazioni diverse di condizionante polimerico ammonico quaternario (polyquaternium-37), che serviva da confronto per valutare l'effetto sul capello.

L'introduzione della componente oleosa è stata graduale. Anche questa scelta è stata dettata dal fatto che la componente lipidica poteva portare ad interferenze nella lettura dell'analisi del test. Ai fini aziendali rimane comunque fondamentale l'efficacia dimostrata sul prodotto finito e, dunque l'efficacia data anche dalla sinergia di tutti gli ingredienti costituenti la formula, che in questo caso può esser apportata anche dalla componente oleosa. Di fatto, la sensorialità cosmetica diviene un fattore predeterminante nel successo del prodotto stesso.

La preparazione delle emulsioni è stata effettuata con:

- Un turboemulsore Silverson
- Una piastra riscaldante
- Un agitatore meccanico
- pH-metro GRISON GLP 21+

Tutte le formulazioni sono state realizzate nel quantitativo standard di 1500 grammi, sufficiente per tutti i test reologici, di stabilità e per l'analisi al microscopio elettronico a scansione ambientale.

2.2b METODO DI PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1 – preriscaldare l'acqua deionizzata, in un becker di opportune dimensioni, alla temperatura di 40°C±1°C e solubilizzare Sericina Integra;

2 – regolare il pH della soluzione appena ottenuta in un intervallo 4.00-4.50;

3 - portare a temperatura di 70°C±1°C la soluzione acquosa di Sericina Integra;

4 – in un altro becker unire tutti gli ingredienti della fase B oleosa e portare alla temperatura di 72°C±2°C;

5 – aggiungere lentamente la fase B nella soluzione acquosa contenente sericina (fase A) mediante turboemulsore fino ad omogeneizzazione;

6 – durante l'emulsione disperdere la fase C (polyquaternium-37). Proseguire fino a completo emulsione: mantenere sotto agitazione a velocità massima per 4 minuti, diminuire poi la velocità controllando che la polvere appena inserita sia ben dispersa e solubilizzata;

7 – lasciare raffreddare l'emulsione, sotto pala mediante mescolatore, fino ad una temperatura di 35°C+/-2°C;

8 – Aggiungere sotto costante mescolamento il conservante ed il profumo;

9 – regolare il pH fino ad un valore compreso tra 4,00-4,50.

2.2c SISTEMATICA FORMULATIVA

Di seguito verranno elencate le formulazioni prodotte. Per motivi aziendali di protezione della formula finale si è deciso di dichiarare solamente il nome comune delle materie prime (mediante inci name), proteggendo i nomi commerciali. È stato deciso di fornire range di concentrazione per le materie prime che non sono oggetto finale di studio, rendendo note le concentrazioni effettive di Sericina Integra utilizzata e di Polyquaternium-37.

Formula Base (F0)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
Fase B	Alcool cetilsteirico	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Base + Sericina 1% (F0.1)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
	Sericina	1
Fase B	Alcool cetilstearylco	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Base + Sericina 0,5% (F0.2)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
	Sericina	0.5
Fase B	Alcool cetilstearylco	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Base + Polyquaternium-37 0,5% (F0.3)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
Fase B	Alcool cetilsteirlico	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Condizionante/modificatore-reologico (Polyquaternium-37)	0.5
Fase D	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Base + Polyquaternium-37 1% (F0.4)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
Fase B	Alcool cetilsteirlico	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Condizionante/modificatore-reologico (Polyquaternium-37)	1
Fase D	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Base + Polyquaternium-37 1% + Sericina 1% (F0.5)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
	Sericina	1
Fase B	Alcool cetilstearylco	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
Fase C	Condizionante/modificatore-reologico (Polyquaternium-37)	1
Fase D	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1

Formula Finale (F1)

Materia Prima		Range %
Fase A	Acqua deionizzata	q.b a 100
	Sericina	1
Fase B	Alcool cetilstearyllico	3-7
	Burro di Karitè	1-5
	Olio di Carota	0.2-1
	Emulsionante (bis-ethylppg-behenate dimonium methosulfate and behenamidopropyl dimethylamine)	1-5
	Antiossidante (rosmarinus officinalis (rosemary) leaf extract and helianthus annuus (sunflower) seed oil)	0.01-0.15
	Burro di Chiuri	0.5-3
	Olio di Babassu	0.5-3
	Olio di Jojoba	0.5-3
Olio di Abissinia	0.5-3	
Fase C	Condizionante/modificatore-reologico (Polyquaternium-37)	1
Fase D	Preservante (phenoxyethanol and ethylhexylglycerin)	0.5-1
Fase E	Profumo	0.3-1

2.2d PREPARAZIONE DEI CAMPIONI PER L'ANALISI AL ESEM

La preparazione dei campioni per l'analisi al microscopio elettronico a scansione è stata condotta presso EUROCHEM RICERCHE SRL. Ogni prodotto è stato applicato su due ciocche di capelli standardizzate: TRATTATE e DECOLORATE (figura 4). Il protocollo con il quale è stata effettuata la preparazione dei campioni, e l'analisi generale, è validato internamente dal laboratorio suddetto.

PROTOCOLLO TRATTAMENTO CIOCCHHE

Dati e parametri

Quantità di SHAMPOO per lavare ogni ciocca: **3.5** grammi

Quantità di PRODOTTO per trattare ogni ciocca: **1.5** grammi

Temperatura acqua di lavaggio e risciacquo: **35-40°C**

Tempo di applicazione shampoo: **60 secondi**

Tempo di risciacquo shampoo: **60 secondi**

Tempo di applicazione del prodotto: **60 secondi**

Tempo di posa: **10 minuti**

Tempo di risciacquo del prodotto: **60 secondi**

Metodo:

Figura 4 - ciocche standardizzate trattate (castane) e decolorate (chiare) prima del trattamento



1 - Bagnare con acqua alla temperatura di 35-40°C la ciocca da trattare. (Figura 5)

Figura 5 – (a) processo di lavaggio della ciocca standardizzata trattata; (b) processo di lavaggio della ciocca standardizzata decolorata

(a)



(b)



2 – Lavare accuratamente la ciocca per 60 secondi con shampoo (vedi specifiche shampoo in seguito). (Figure 6a,6b)

Figura 6 – Le figure (a) e (b) mostrano il lavaggio con shampoo di una ciocca di capelli trattata

(a)



(b)



3 – Risciacquare con acqua alla temperatura di 35-40°C la ciocca per 60 secondi e strizzarla tra le mani per eliminare l'acqua in eccesso.

4- Pesare una quantità di prodotto di 1.5 grammi e stenderla sulla ciocca, per 60 secondi, aiutandosi dapprima con le mani, poi con un pettine a denti larghi (10 pettinate) ed infine con un pettine a denti stretti (10 pettinate). (Figura 7)

Figura 7 - operazione di applicazione del prodotto sulla ciocca di capelli



5- Lasciare riposare la ciocca per 10 minuti su apposito stendino. (figura 8)

Figura 8 - tempo di riposo della ciocca di 10 minuti.

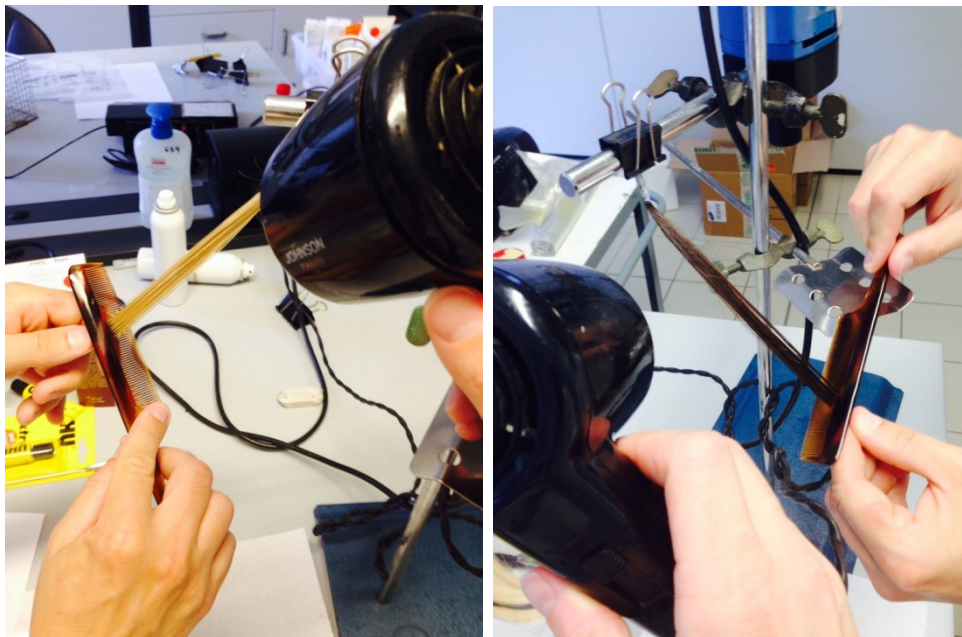


6- Risciacquare la ciocca per 60 secondi con acqua alla temperatura di 35-40°C.

7- Tamponare bene la ciocca con carta assorbente

8- Asciugare completamente la ciocca con phon, aiutandosi con un pettine. (Figura 9)

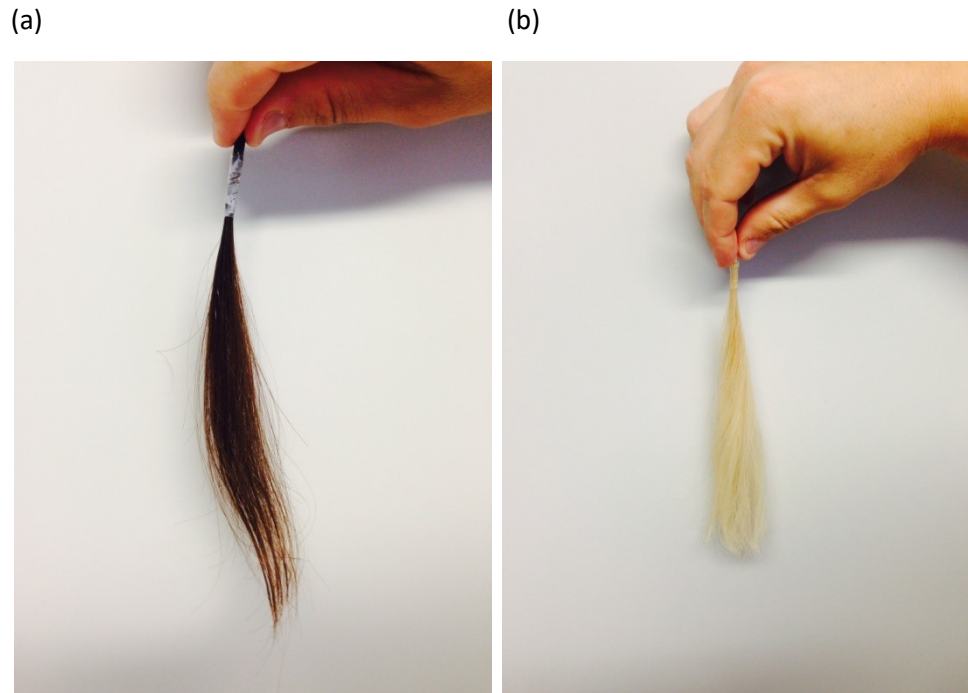
Figura 9 – le figure rappresentano il processo di asciugatura con phon



9- Ripetere il protocollo dal punto 1 per altre 2 volte.

10 – Tagliare una manciata di capelli ed inserirli nelle apposite buste recanti il codice prodotto e l'indicazione Capelli trattati e Capelli non trattati. I campioni serviranno per l'analisi al microscopio elettronico a scansione ambientale (ESEM).

Figura 10 - Ciocca standardizzata trattata (a) e decolorata (b) dopo il trattamento con maschera contenente sericina 1%



Lo shampoo utilizzato per lavare le ciocche è stato fornito da EUROCHEM RICERCHE SRL. Possiede una SAL del 16,61% e ha la seguente composizione:

TEXAPON N40® – Sodium Laureth Sulfate	47,00%
DEHYTON K® – Cocamido propyl betaina	6,50%
ARLYPON F® – Laureth-2	0,60%
SODIO CLORURO	0,40%
ACNIBIO AC® (preservante)	0,05%
ACQUA QB	al 100%

2.3 STRUMENTI

2.3a MICROSCOPIO OTTICO

L'analisi microscopica è stata condotta utilizzando il microscopio ZEISS AXIOVERT 40 CFL (figura 11) con obiettivo ad immersione a 1000 ingrandimenti, collegato ad analizzatore d'immagini AXIO VISION per permettere una visione diretta dell'immagine dei campioni da catturare.



Figura 11- Zeiss Axiovert 40 CFL

L'analisi microscopica consente di osservare la struttura dell'emulsione e la distribuzione della fase interna, analizzandone la qualità, la stabilità e l'omogeneità. Con questo tipo di strumento possono essere valutati i primi segnali d'instabilità dell'emulsione. A tale scopo sono stati utilizzati due obiettivi (40x e 100x) per la messa a fuoco dell'immagine.

I campioni sono stati preparati ponendo un'esigua quantità di prodotto da analizzare in un vetrino standard, in quantità tale da formare un sottile film per permettere una visione nitida, omogenea ed ingrandita, senza il sovrapporsi di piani d'immagine.

2.3b CENTRIFUGA

Il test in centrifuga rappresenta uno dei metodi più rapidi e veloci per prevedere la stabilità di emulsioni nel tempo. Il test permette di identificare fenomeni d'instabilità quali ad esempio cremificazione e sedimentazione, a seguito di una condizione di stress meccanico forte.

Le prove in centrifuga sono state eseguite con centrifuga ALC CENTRIFUGE PK 110, ponendo 50gr di prodotto in provetta di materiale plastico ed effettuando il test per tre volte, 10 minuti ciascuna, alla velocità massima di 4000rpm.

2.3c TURBOEMULSORE

I prodotti sono stati preparati utilizzando un miscelatore da laboratorio SILVERSON SL2, adibito all'allestimento di formule su piccola scala. Il motore ha una potenza di 75W e velocità massima nominale di 9000rpm (6000 rpm a pieno carico). Come testa di lavoro è stato usato un setaccio emulsionante ideale per la preparazione di tutti i tipi di emulsione.

Questo tipo di miscelatore con rotore/statore ad alta azione di taglio, rispetto ai convenzionali agitatori e mescolatori, deriva dall'azione di miscelazione e taglio multistadio esercitata nel momento in cui i materiali vengono aspirati all'interno della testa di lavoro. L'alta rotazione delle lame del rotore attira le sostanze liquide e solide dal fondo del serbatoio e le porta all'interno della testa di lavoro. Successivamente le sostanze vengono spinte verso la zona esterna della testa di lavoro dalla forza centrifuga, e qui vengono sottoposte ad una forte azione di taglio nello spazio compreso tra le lame del rotore e la parete interna dello statore. I materiali vengono quindi espulsi attraverso i fori dello statore e di seguito proiettati ad alta velocità verso le pareti del serbatoio, contemporaneamente alla continua aspirazione di altro materiale verso la testa di lavoro.

2.3d REOMETRO

L'analisi reologica è stata eseguita utilizzando un reometro Rheoplus Anton Paar MCR 101 termostato a $23 \pm 0.05^\circ\text{C}$ (figura 12).



Figura 12- Reometro Rheoplus Anton Paar MCR 101

Per l'analisi di tutti i campioni di emulsione è stato impiegato il sensore PP50 piatto-piatto zigrinato con gap controllato di 1 mm.

Le misure sono state eseguite in moto continuo ed in moto oscillatorio, e i dati sono stati acquisiti in scala logaritmica.

Analisi in moto continuo

CSR – controlled shear rate: Analisi distruttiva per il campione, individua la curva di flusso in funzione della deformazione applicata al campione.

La curva di flusso fornisce una indicazione sulle proprietà di scorrimento del prodotto.

Analisi in moto oscillatorio

AS – amplitude sweep: analisi in funzione della deformazione applicata a frequenza costante. Permette di individuare la zona di viscoelasticità lineare, cioè l'intervallo in cui il campione non subisce modifiche irreversibili.

FS – frequency sweep: analisi in funzione della frequenza, con applicazione di uno sforzo costante, tale da mantenere il campione in condizioni di viscoelasticità lineare.

Queste misurazioni sono effettuate in condizioni non distruttive, ma possono fornire informazioni sulle caratteristiche strutturali del prodotto e sul tipo di interazioni che determinano le proprietà del campione prima di esser applicato sulla cute.

Le condizioni generali impostate per ogni prodotto sono le seguenti:

	(s ⁻¹)	γ(%)	ω(Hz)
Controlled shear stress	0,001-1.000		
Amplitude sweep		0,001-1.000	1
Frequency sweep		γ < γ _{critica}	10-0.01

Temperature Sweep

Analisi in funzione della temperatura, in condizioni di stress e frequenza costanti. Tale analisi è stata condotta su ogni campione della sistematica formulativa al fine di individuare variazioni di struttura che possono manifestarsi al variare del gradiente di temperatura. L'analisi viene eseguita per aumento della temperatura da 5°C a 55°C con incremento graduale di 1°C al minuto, in seguito la temperatura viene riportata da 55°C a 5°C con la stessa velocità.

	T(°C)	γ(%)	ω(Hz)
Temperature sweep da 5°C a 55°C – 1°C/min	5-55	γ < γ _{critica}	1
Temperature sweep da 55°C a 5°C – 1°C/min	55-5	γ < γ _{critica}	1

2.3e MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE AMBIENTALE

Già dalla fine degli anni '60 è stato intuito come gli effetti benefici di trattamenti cosmetici su cute e capelli potessero esser messi in evidenza attraverso l'uso della microscopia elettronica a scansione (SEM), e di come questa fosse preferibile all'utilizzo del microscopio elettronico a trasmissione (TEM).⁴²

Il microscopio a scansione è schematicamente costituito dai seguenti elementi: (figura 13)

- una colonna elettronica, dove viene creato il fascio di elettroni;
- una camera da vuoto, dove il fascio elettronico interagisce con il campione;
- vari tipi di rivelatori, che acquisiscono il segnale dell'interazione tra il campione ed il fascio elettronico;
- uno schermo con un software che elabora l'immagine ottenuta dal segnale.

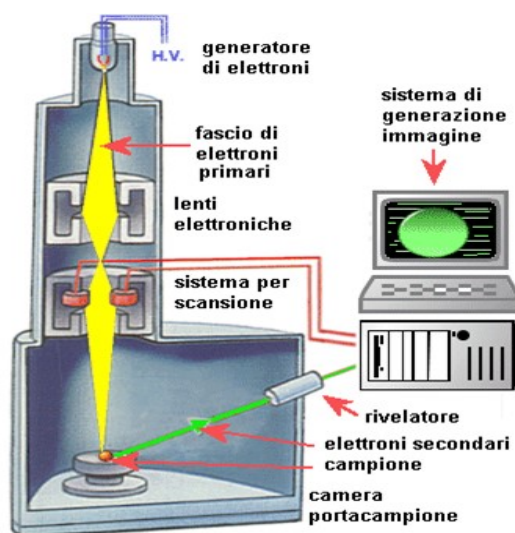


Figura 13- schema generale della struttura di un SEM

Il microscopio elettronico a scansione (SEM) fornisce informazioni di notevole importanza sulla morfologia, sulla natura e sulle proprietà di superficie dei campioni analizzati, solitamente solidi, con un potere di risoluzione di circa 2-5nm (riferito al segnale generato da elettroni secondari). Il SEM produce immagini, ad alta risoluzione e profondità di campo, che forniscono una rappresentazione tridimensionale della superficie del campione.

Il meccanismo che sta alla base del funzionamento del SEM consiste nella generazione di un fascio di elettroni da parte di un catodo (cannone elettronico) situato all'apice della colonna. Il fascio generato viene attratto dall'anodo e condensato da lenti collimatrici e focalizzato verso il campione da lenti obiettivo. Quando una superficie è investita da elettroni ad elevata energia, vengono prodotti due differenti tipi di segnali:

- elettroni secondari o segnale SE (Secondary electron);

⁴² C.A. Garber, C.T. Nightingale "Characterizing cosmetic effects and skin morphology by scanning electron microscopy", J. Soc. Cosmet. Chem., Vol. 27, 509-531, 1976.

- elettroni retrodiffusi o segnale BSE (Back-scattered electron).

Questi elettroni sono raccolti da due detector, uno per i secondari e l'altro per i retrodiffusi, ed in seguito convertiti prima in segnali elettrici amplificati e successivamente in pixels elaborati da un computer.

Gli elettroni secondari (SE) sono convenzionalmente definiti come gli elettroni uscenti dal campione con energia minore o uguale a 50eV. Essi provengono da una profondità di pochi nm, forniscono informazioni topografiche e sulla distribuzione di campi magnetici o elettrici. L'immagine fornita da tali elettroni appare in rilievo ed è ideale per osservare dettagli minuti sulla morfologia del campione analizzato.

Gli elettroni retrodiffusi (BSE) sono convenzionalmente definiti come gli elettroni uscenti dal campione con energia maggiore di 50eV che derivano principalmente dalle interazioni tra il fascio primario ed i nuclei degli atomi del campione. Di norma la risoluzione ottenuta dal segnale BSE è minore rispetto a quella ottenuta dal segnale SE, ma poiché gli elettroni BSE forniscono informazioni riguardo il numero atomico medio della zona di provenienza del campione e la sua struttura cristallina, sono in grado di dare "contrasto" all'immagine.

I primi strumenti messi a disposizione potevano operare solo sotto vuoto spinto (10^{-5} Torr) poiché l'aria avrebbe impedito la produzione del fascio (data la bassa energia degli elettroni).

I SEM più moderni permettono di rilevare elettroni secondari o backscatterati in condizioni di vuoto variabile.

Questo risulta semplice per campioni conduttori di elettricità, in quanto l'accumulo di cariche è minimizzato e la rivelazione degli elettroni secondari non rimane inficiata. Materiali non conduttori devono, quindi, esser precedentemente metallizzati, utilizzando uno sputter/vaporizzatore.

Lo strumento utilizzato, però, al fine dell'analisi delle formule precedentemente presentate è un microscopio elettronico a scansione ambientale, ESEM (Environmental scanning electron microscopy) modello Philips XL30 TMP. ESEM oltre ad una evoluzione elettronica ed informatica del SEM, è un nuovo approccio concettuale che consente di superare il vincolo imposto dalla necessità di operare in condizioni di vuoto spinto, condizione talvolta incompatibile con i campioni biologici.

Il diverso funzionamento è basato sull'utilizzo di una colonna che può lavorare, oltre che in modo convenzionale, anche a vuoto differenziale controllato e frazionato: elevato nella colonna vera e propria (zona filamento e zona lenti), minore in prossimità del diaframma finale, e decisamente più basso nella camera ove è posto il campione (1-10 torr), pur mantenendo lo stesso potere risolutivo visto precedentemente (circa 5nm). Il rivelatore sviluppato per questa analisi (GSED – Gaseous secondary electron detector) è capace di operare in presenza di gas (vapore acqueo o altro gas) all'interno della camera potendo così sfruttare il segnale prodotto dal campione bombardato dal fascio elettronico ed amplificato per "effetto valanga" dal gas flussante stesso.

I risultati ottenuti dal processo sono di due tipi:

- *Estrazione e neutralizzazione* delle cariche in eccesso dalla superficie del campione. Queste cariche se fossero presenti interferirebbero con l'osservazione in quanto impedita dal campo elettrostatico che potrebbe generarsi. Questo consente l'osservazione di campioni anche isolanti senza dover rendere conduttiva la superficie.
- La produzione di un segnale *morfologico* proporzionale agli elettroni secondari rimossi dalla superficie del campione.

Un software permette di scegliere e selezionare le condizioni sperimentali quali pressione, temperatura, energia, corrente del fascio primario sul campione.

La pressione è controllata da valvole di ingresso e dal sistema di aspirazione del gas fino al raggiungimento del valore impostato, che può esser modificato continuamente, anche durante l'esperimento.

Il controllo della temperatura è reso possibile da un sistema con celle Peltier su cui è posto il materiale da osservare. Questo dispositivo può operare a $\pm 15^{\circ}\text{C}$ rispetto alla temperatura del liquido refrigerante (di norma acqua) che circola a contatto con le celle Peltier, proveniente da un bagno termostato esterno.

Il seguente sistema permette ad esempio:

- L'osservazione diretta di campioni biologici;
- Studio degli effetti del gas sul preparato;
- Valutazione degli effetti di idratazione e disidratazione del campione;
- Studio di polimeri, oli, grassi etc...;
- Studi agronomici (pollini, foglie...).

I limiti maggiori risiedono nell'evaporazione di acqua dal campione e nel danneggiamento termico del preparato che si può verificare durante l'osservazione.

I campioni normalmente vengono preparati in 6 fasi principali:

- **Prelievo:** operazione fisica con cui si ottiene il campione da esaminare;
- **Fissazione:** processo con il quale si bloccano i processi di degradazione del tessuto prelevato. Le strutture interne ed esterne di cellule e tessuti vengono conservate e bloccate nelle loro posizioni. La procedura inattiva gli enzimi che potrebbero alterare la morfologia cellulare ed evita modificazioni dovute a successiva colorazione e osservazione;
- **Disidratazione ed Inclusione:** l'acqua viene sostituita con un solvente in genere idrofobico che rende il campione più resistente;
- **Taglio:** procedimento per ottenere sezioni sottili di tessuto di circa 100nm per l'analisi al SEM;
- **Colorazione:** trattamento del campione in genere con coloranti o con sali di metalli pesanti in grado di aumentare il contrasto fra le diverse componenti del tessuto e delle cellule.

Per l'analisi l'azienda Originalia srl si è affidata ad Eurochem ricerche Srl.

3 RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 ANALISI REOLOGICA

L'analisi reologica è uno strumento importante in campo cosmetico per valutare le caratteristiche strutturali dei prodotti, per verificare la compatibilità tra gli ingredienti inseriti in formula e per determinare le caratteristiche di applicabilità del cosmetico sulla pelle e sui capelli, oltre che offrire la possibilità di fare considerazioni riguardo il packaging più idoneo da scegliere per quel determinato prodotto. Nel presente studio la reologia può risultare d'aiuto nella valutazione del tipo di cambiamento strutturale dovuto all'inserimento di Sericina Integra nell'emulsione, in confronto all'effetto dovuto al modificatore reologico polimerico Polyquaternium-37, e al tipo di interazioni strutturali che possono verificarsi.

Per valutare le caratteristiche reologiche delle strutture di emulsioni sono state eseguite analisi reologiche sia in moto continuo che in moto oscillatorio.

L'analisi reologica in moto continuo fornisce una curva di flusso in funzione della velocità di deformazione applicata permettendo così di valutare l'andamento della viscosità dei prodotti all'aumentare del gradiente di scorrimento (shear-rate).

Da una visione d'insieme (figura 1) i 7 campioni analizzati mediante CSR (controlled shear rate) presentano tutti un comportamento di tipo pseudo-plastico: la viscosità diminuisce man mano che aumenta la shear rate fino a crollare oltre il punto critico, il quale rappresenta l'energia fornita cui la struttura non riesce più ad opporre resistenza. Applicando, infatti, una forza ad un materiale la sua struttura viene gradualmente distrutta all'aumentare della forza applicata poiché vengono alterate le interazioni tra i costituenti la formula. Essi infatti tendono ad allinearsi alla direzione del movimento e generare nuovi legami strutturali.

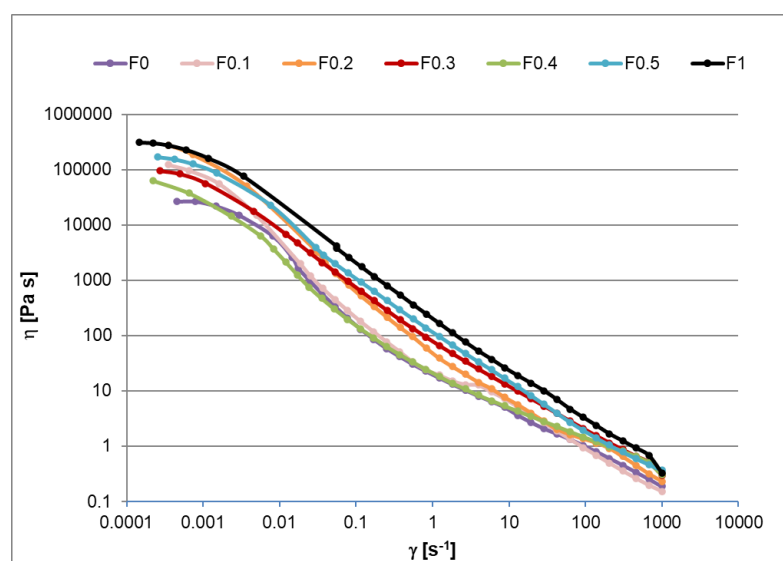


Figura 1 - confronto di curve CSR tra le formule F0, F0.1, F0.2, F0.3, F0.4, F0.5, F1

Dalla figura 1 possiamo comprendere come i prodotti più strutturati mostrino maggiore resistenza alla rottura, come indicato dalla prima parte della curva. I campioni mostrano altresì andamenti

delle curve di flusso simili ma con valori di viscosità (inizialmente compresi tra la quinta e la sesta decade) proporzionali alle caratteristiche degli ingredienti costituenti le formule della sistemica. È facilmente intuibile, ad esempio, che le formule F0.3 ed F0.4, contenenti rispettivamente il modificatore reologico polimerico Polyquaternium-37 allo 0,5% ed 1%, mostrino una curva di flusso con andamento superiore rispetto alla formula base F0. Questo può esser riconducibile all'aumento delle interazioni del polimero con la fase disperdente, che nel caso di F0 risulta molto più libera di muoversi indipendentemente nel mezzo.

È importante sottolineare come l'analisi in moto continuo, simulando il comportamento dei prodotti al flusso, dia una indicazione di viscosità al tempo zero e al tempo infinito correlabile alle caratteristiche di applicazione iniziale e dopo l'utilizzo sulla pelle e sui capelli. A tal riguardo è intuibile come il prodotto finale F1, sia quello più strutturato, con una curva di flusso superiore a tutte le altre e quindi con caratteristiche di *spreading* su cute e capelli più critiche.

Dalla figura 2 è possibile confrontare l'andamento delle curve di flusso con l'aggiunta di concentrazioni differenti di Polyquaternium-37 (0.5% nella formula F0.3 ed 1% nella formula F0.4) alla formula F0.

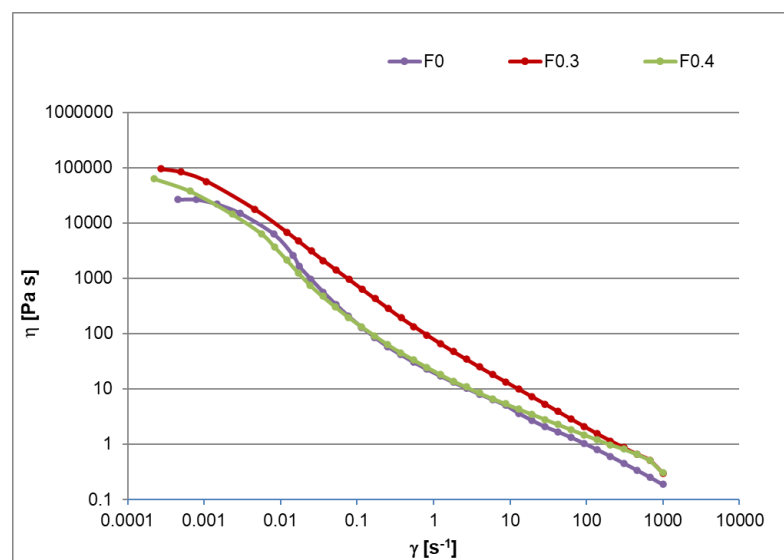


Figura 2 - confronto di curve CSR tra le formule F0, F0.3, F0.4

È chiaramente visibile come l'aggiunta di un polimero cationico aiuti a strutturare l'emulsione di partenza. I valori di viscosità iniziali e finale sono gli stessi per entrambe le concentrazioni di polimero, ciononostante il profilo migliore si ottiene con la concentrazione dello 0,5%. Tale concentrazione potrebbe essere ottimale per due motivi:

- formazione di interazioni molecolari con la fase disperdente, capaci di formare un reticolo strutturato;
- capacità emulsionante, intrinseca del polimero cationico polyquaternium-37 capace di abbassare ulteriormente la tensione interfacciale tra le fasi interna ed esterna e apportare stabilità all'emulsione.

Anche le analisi condotte in moto oscillatorio sembrano concordare con quanto descritto finora.

Le analisi reologiche condotte in moto oscillatorio consentono di ottenere informazioni più precise circa le caratteristiche strutturali delle emulsioni in quanto, a contrario di quanto accade per la CSR, sono condotte in condizioni stazionarie tali da non alterare in modo irreversibile i prodotti e grazie alle quali è possibile misurare la forza e qualità dei legami presenti nella struttura.

Mediante misure a frequenza costante ed ampiezza di oscillazione variabile (amplitude sweep) è possibile valutare la zona di viscoelasticità lineare dei campioni, ossia l'intervallo di deformazione non dipendente dalla sollecitazione applicata e quindi la zona in cui i campioni non sono irreversibilmente alterati.

Nelle figure 3 e 4 si riportano gli andamenti delle analisi di *amplitude sweep* delle formule F0, F0.3 ed F0.4. Si può così dedurre come i risultati siano in linea con quanto osservato al flusso.

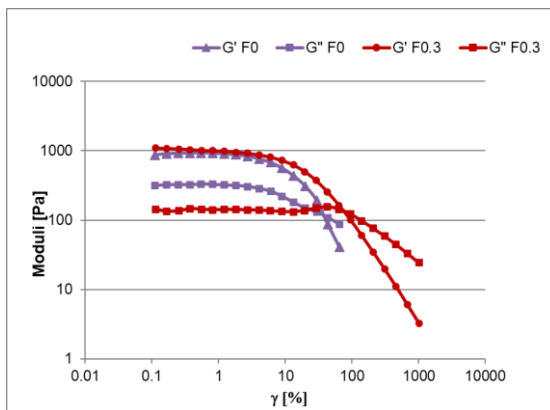


Figura 3 - confronto tra le formule F0 ed F0.3, dei moduli elastico G' e viscoso G'' , nelle curve AS

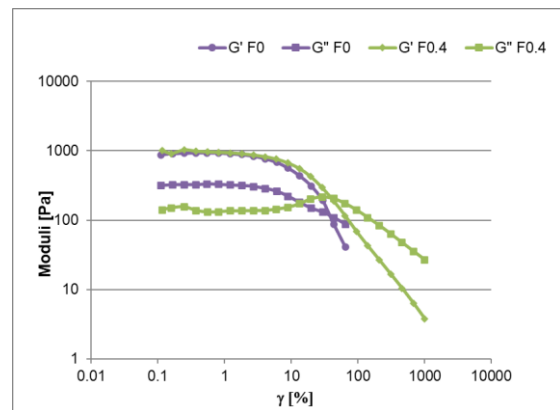


Figura 4 - confronto tra le formule F0 ed F0.4, dei moduli elastico G' e viscoso G'' , nelle curve AS.

Si può notare come il crossover point, ossia, il punto in cui i due moduli elastico e viscoso hanno lo stesso valore e in cui avviene la rottura della struttura dell'emulsione, si trovi a valori di deformazione critica maggiore per F0.3, mentre per la formulazione F0.4 il valore non subisce notevoli variazioni rispetto alla formula F0. Questo significa che l'aggiunta di Polyquaternium-37 forma una tipologia di legami differenti e rende l'emulsione più resistente rispetto a ciò che accade in F0.

Entrambi i moduli, elastico G' e viscoso G'' , presentano invece analogo andamento ma la zona di viscoelasticità lineare è maggiore per l'emulsione contenente Polyquaternium-37 allo 0.5% e precisamente si trova a valori di deformazione critica compresi tra 0.5 e 8%. Il modulo elastico è in tutti i casi sempre più sensibile alla deformazione, tanto che la curva di decremento è sempre più ripida. L'andamento del modulo viscoso per le formule F0.3 ed F0.4 presenta differenza rispetto G'' di F0. Difatti entrambi dimostrano una leggera crescita prima di crollare. Ciò significa che le emulsioni contenenti Polyquaternium-37 presentano una struttura ed un fenomeno di destrutturazione differenti rispetto F0. Le strutture di F0.3 ed F0.4 impongono una resistenza

maggiore, all'aumentare dell'ampiezza di oscillazione, proprio per la presenza di una differente strutturazione.

L'analisi reologica *frequency sweep*, permette, infine, di descrivere la microstruttura delle emulsioni, valutando gli andamenti elastico G' e viscoso G'' in condizioni di viscoelasticità lineare e in funzione della frequenza di oscillazione.

Dalle figure (5,6) sotto riportate si evidenzia come l'andamento di entrambi i moduli sia simile: il modulo elastico G' è sempre superiore al modulo viscoso G'' in tutto l'intervallo di frequenze indagato, ma cambia la forma delle curve dei moduli a seconda della frequenza applicata, con l'aggiunta di polimero. Questo indica che il polimero crea una struttura meno influenzabile dalle frequenze applicate, meglio evidenziabile per la concentrazione di Polyquaternium-37 allo 0.5%.

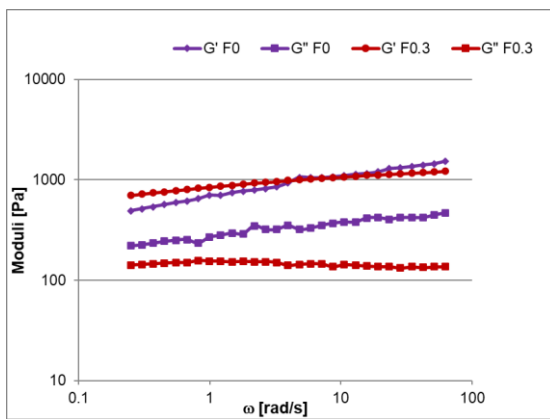


Figura 5 - confronto tra le formule F0 ed F0.3, dei moduli elastico G' e viscoso G'' nelle curve FS.

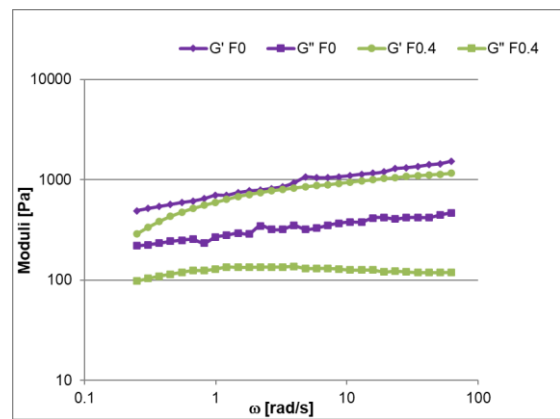


Figura 6 - confronto tra le formule F0 ed F0.4, dei moduli elastico G' e viscoso G'' nelle curve FS.

L'aggiunta dunque di Polyquaternium-37, specialmente alla concentrazione dello 0.5%, altera la struttura della formula base F0 ma non dimostra segni di incompatibilità tra gli ingredienti. Non sussiste una variazione strutturale che causi un valore di viscosità non confrontabile, invece cambia la struttura microscopica del sistema che diviene meno suscettibile a sollecitudini esterne.

Anche la microscopia ottica permette una visione che giustifichi quanto detto finora. Le immagini (figure 7,8,9) di seguito riportate dimostrano come la struttura dell'emulsione si presenti molto diversa se l'emulsione contiene Polyquaternium-37: le emulsioni appaiono più strutturate ed omogenee.

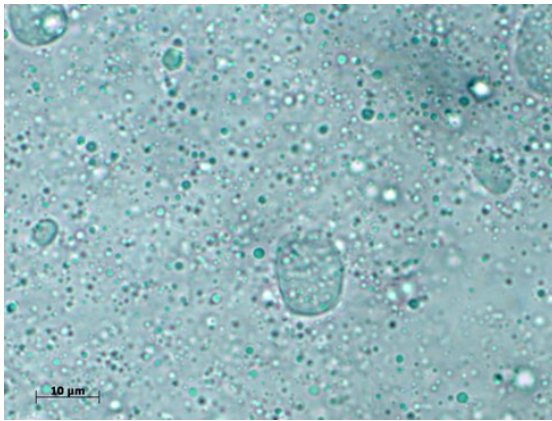


Figura 7 - Analisi microscopica del campione F0

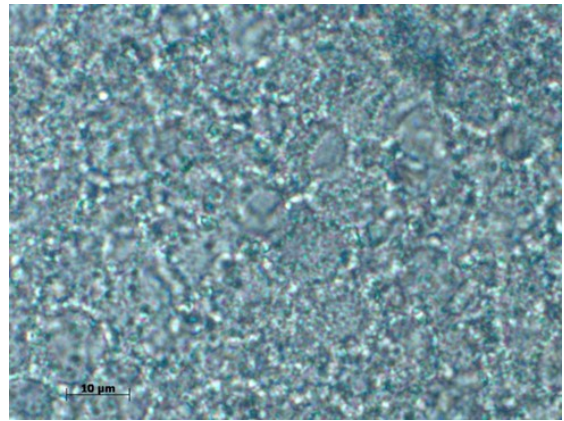


Figura 8 - Analisi microscopica del campione F0.3

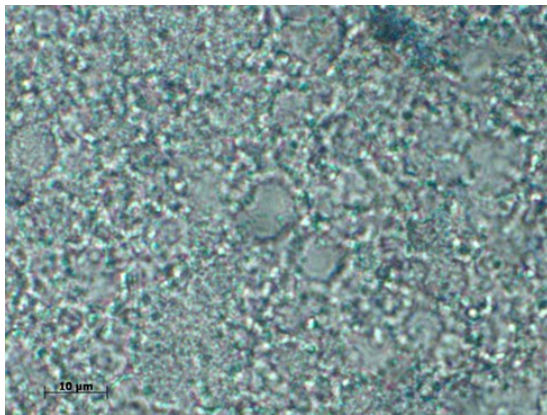


Figura 9 - Analisi microscopica del campione F0.4

L'introduzione alla formula base di Sericina Intgra in concentrazione allo 0.5% (F0.2) ed 1% (F0.1) dimostra evidenze differenti rispetto la formula base F0. La figura 10 mostra l'andamento delle curve di flusso delle formule F0.1 ed F0.2 confrontate alla formula base.

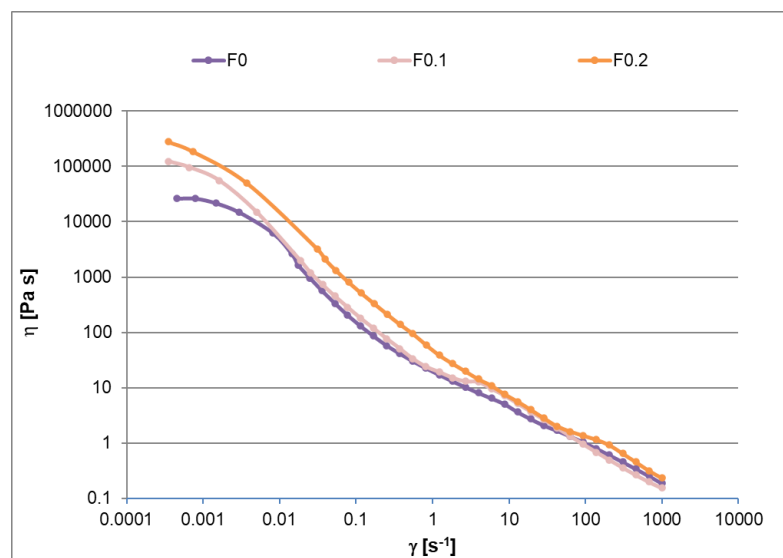


Figura 10 - confronto delle curve CSR tra le formule F0, F0.1 ed F0.2

Dal grafico CSR si può vedere come la viscosità iniziale si presenti maggiore nelle formule contenenti sericina, ma come assuma un andamento coincidente con la formula base a mano a mano che la velocità di deformazione aumenta. Evidenziando però le curve di flusso di F0.1 ed F0.2 possiamo sottolineare come la struttura della formula contenente sericina all'1% sia poco resistente anche a basse velocità di deformazione applicata. A shear stress compresi tra 0.01 e 0.1 infatti, all'aumentare della quantità di proteina presente in formula, avviene la destrutturazione dell'emulsione fino alla sua rottura. Sericina Integra sembra dunque apportare un fenomeno di instabilità alla formula base. Tale instabilità potrebbe essere ricondotta ad un'interazione chimica con l'emulsionante cationico utilizzato, portatore di un consistente numero di cariche positive che potrebbero destabilizzare il sistema per interazione con le cariche negative presenti sulla proteina. La proteina presumibilmente si trova nella fase disperdente e la sua interazione con l'emulsionante potrebbe sfavorire l'azione dello stesso nel diminuire la tensione interfacciale tra le fasi.

Dalla curva di flusso seguente (figura 11) si può evidenziare come l'aggiunta di polyquaternium-37 allo 0,5% risolva questo problema d'instabilità. Il modificatore reologico riesce a colmare questa instabilità con l'apporto di cariche positive che riescono ad abbassare ulteriormente la tensione interfacciale.

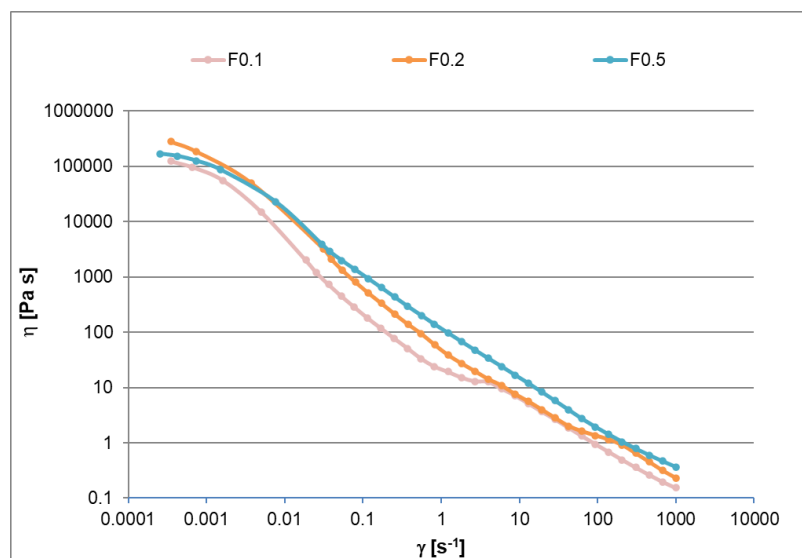
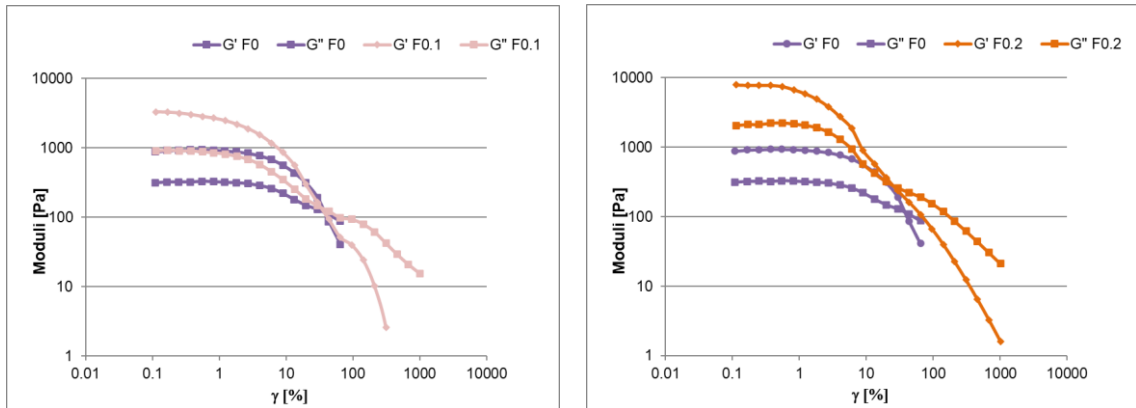


Figura 11 - confronto delle curve CSR tra le formule F0.1, F0.2 ed F0.5

La curva di flusso della formula F0.5 presenta tipico comportamento di un materiale pseudo-plastico in cui i valori di viscosità decrescono all'aumentare del gradiente di scorrimento. Le nuove interazioni molecolari dovute all'aggiunta del modificatore reologico strutturano l'emulsione in modo più efficace nonostante la presenza al suo interno di Sericina Integra all'1%, dimostrando come l'andamento della curva di flusso mantenga valori di viscosità con le formulazioni confrontate.

I test in centrifuga eseguiti sulle formule F0.1 ed F0.2 non hanno, comunque, evidenziato possibili effetti di instabilità, quali cremificazione e sedimentazione. Entrambe le formule, di fatto, hanno

superato il test in centrifuga alla velocità di 4000rpm per 10 minuti, ripetuta tre volte consecutivamente, non mostrando alcun segno di separazione. Significa che il forte stress meccanico applicato non è stato sufficiente a mettere in evidenza le problematiche evidenziate dalla curva di flusso.



(a)

(b)

Figura 12a - confronto tra le formule F0 ed F0.1, degli andamenti dei moduli elastico G' e viscoso G'' , nelle curve AS.

Figura 12b - confronto tra le formule F0 ed F0.2, degli andamenti dei moduli elastico G' e viscoso G'' , nelle curve AS.

Nelle figure 12 a,b sono riportati i grafici ottenuti dalle valutazioni di *amplitude sweep* delle formule F0.1 ed F0.2 confrontate con la formula base. Si può notare, rispetto alla formula base, come l'aggiunta di proteina fa incrementare il valore sia del modulo elastico G' sia del modulo viscoso G'' . Al contempo però, la zona di viscoelasticità lineare diminuisce rispetto F0. Entrambi i moduli G' e G'' delle formule contenenti sericina risultano essere più sensibili alla deformazione: la curva di decremento di entrambi i moduli è più ripida se confrontata con la formula base. La proteina dunque, a seconda della sua concentrazione, si dispone nella fase esterna e riesce ad influenzare la reologia del preparato. Probabilmente per interazioni di legame con la fase disperdente, Sericina Integra riesce a formare legami ad H con l'acqua e a viscosizzare la fase esterna, influenzando così la struttura dell'emulsione.

Anche analizzate mediante microscopio ottico, le emulsioni (figure 13,14,15) contenenti sericina si presentano visivamente differenti e si può notare come l'idrolizzato proteico si disponga nella struttura. In stato di quiete le emulsioni F0.1 ed F0.2 formano strutture leggermente più omogenee.

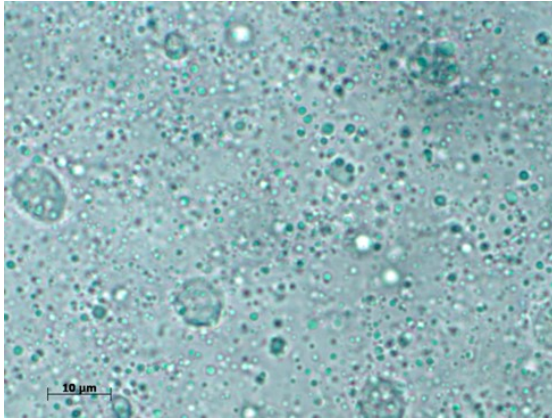


Figura 13 - analisi microscopica della formula F0

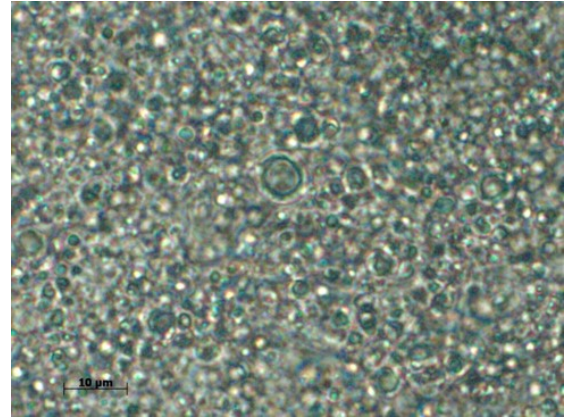


Figura 14 - analisi microscopica della formula F0.1

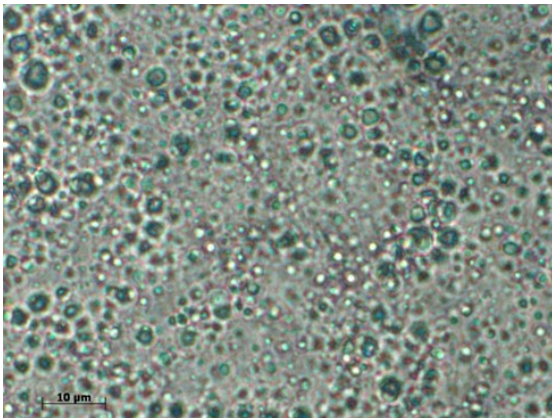


Figura 15 - analisi microscopica della formula F0.2

Dal grafico (figura 16) di amplitude sweep della formula F0.5 contenente sericina all'1% e polyquaternium-37 allo 0.5%, possiamo notare come il crossover point si sposti verso valori di deformazione critica più elevati, e la zona di viscoelasticità lineare sia più ampia. L'andamento di entrambi i moduli prima della rottura rimane uguale, con una destrutturazione graduale ad ampiezza di oscillazione crescente e frequenza costante.

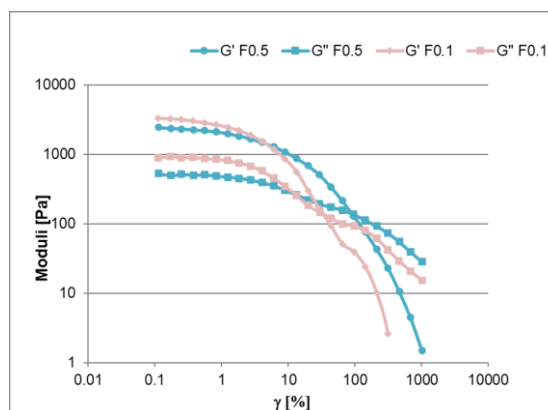


Figura 16 - confronto tra le formule F0.1 ed F0.5, degli andamenti dei moduli elastico G' e viscoso G'' , delle curve AS.

L'analisi al microscopio ottico dell'emulsione F0.5 (figura 17) dimostra visivamente una maggiore omogeneità nella morfologia dell'emulsione rispetto le formulazioni viste precedentemente.

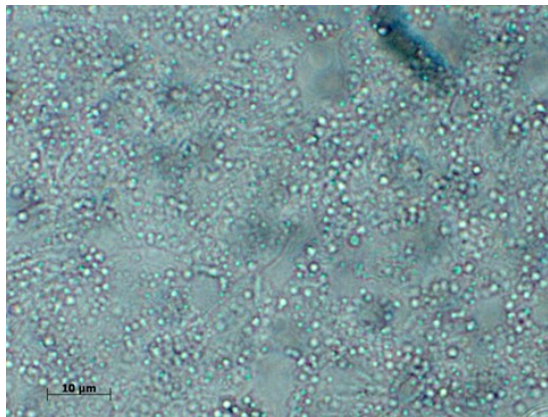


Figura 17 - analisi microscopica della formula F0.5

Anche per la formulazione F0.5 il test in centrifuga, condotto alla velocità di 4000rpm per 10 minuti, per tre cicli consecutivi non ha evidenziato separazione di fase.

Possiamo ritenere dunque che le emulsioni contenenti sericina F0.1 ed F0.2, anche se non valutabili commercialmente, non possano dare problematiche per il tempo di applicazione sulle ciocche standardizzate per il test di microscopia elettronica a scansione ambientale.

La formula finale, composta da una miscela di oli e burri emollienti, da sericina integra all'1% e modificatore reologico allo 0,5%, dimostra (figura 18), inequivocabilmente, al microscopio ottico, una struttura morfologicamente più omogenea. Il test in centrifuga per la formula F1, condotto alla velocità di 4000rpm per 10 minuti, per tre cicli consecutivi, non ha evidenziato nessuna problematica di instabilità.

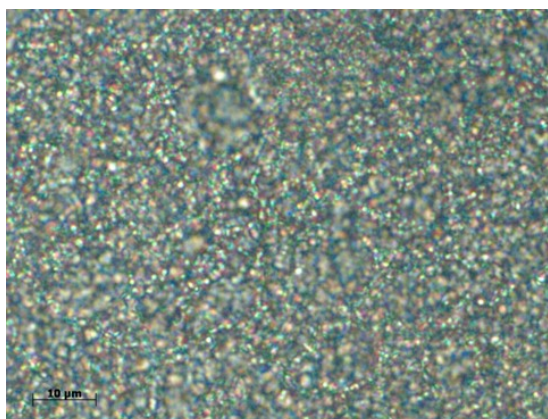


Figura 18 - analisi microscopica della formula F1

La curva di flusso (figura 19), in funzione della velocità di deformazione applicata, che permette di valutare l'andamento della viscosità del prodotto F1, all'aumentare della shear rate (gradiente di scorrimento), dimostra che il prodotto finale presenta un comportamento di tipo pseudoplastico, in cui la viscosità diminuisce a mano a mano che il gradiente di scorrimento aumenta. L'aumento

di concentrazione di fase interna, dovuto all'inserimento di oli e burri, apportano notevole consistenza all'emulsione con valori di viscosità iniziale che cadono nella sesta decade. La struttura oppone maggiore resistenza alla rottura, fenomeno evidente vista l'ampiezza iniziale della curva.

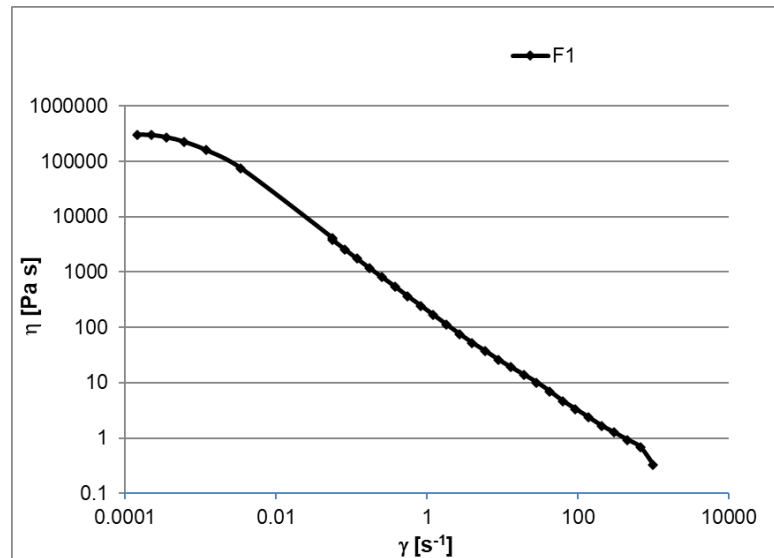


Figura 19 - curva CSR della formula F1

L'analisi in moto oscillatorio a frequenza costante ed ampiezza di oscillazione crescente evidenzia un intervallo di viscoelasticità lineare più ampio rispetto ai precedenti. Lo stesso punto di rottura cade a valori più ampi di deformazione, anche se comparabile con quello identificato per l'emulsione F0.5. (Figura 20).

L'analisi in frequency sweep (figura 21), capace di descrivere la microstruttura del materiale valutando gli andamenti elastico G' e viscoso G'' in condizioni di viscoelasticità lineare e in funzione della frequenza di oscillazione, dimostra come l'emulsione posseda un buon grado di strutturazione, scarsamente dipendente dalla variazione di frequenza di oscillazione applicata. L'andamento del modulo elastico G' è sempre superiore al modulo viscoso G'' in tutto l'intervallo di frequenze indagato. Questo indica che la componente elastica domina sempre sulla componente viscosa, cioè il prodotto immagazzina più energia di quella che viene dispersa in seguito di piccole di deformazioni subite.

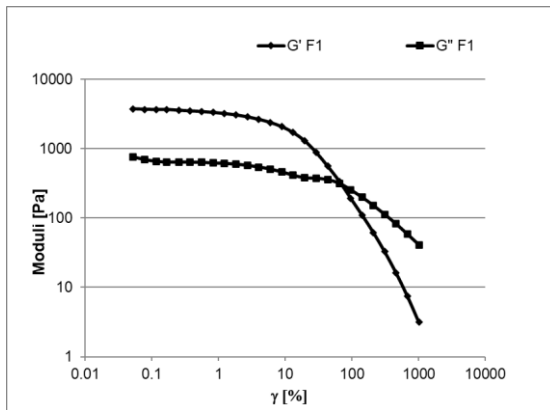


Figura 20 - andamento dei moduli elastico G' e viscoso G'' nella curva AS, della formula F1.

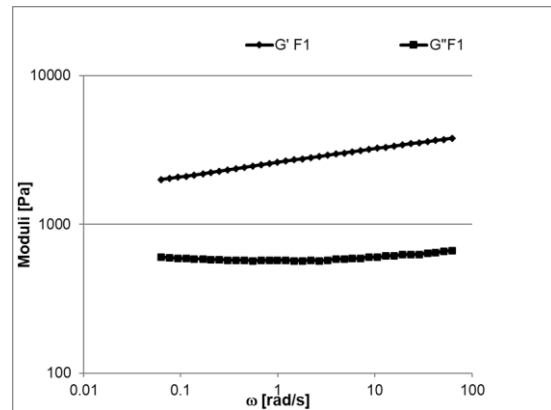


Figura 21 - andamento dei moduli elastico G' e viscoso G'' nella curva FS, della formula F1.

Ai fini pratici più la struttura della formula è elastica (solid-like) più essa riesce a garantire una migliore stabilità di struttura e di conseguenza riesce a formare un film omogeneo di prodotto una volta applicato. Questo fattore risulta essere molto importante al fine pratico dello studio e può influenzare l'efficacia stessa della formula finita. Infatti quello che si vuole valutare è proprio l'effetto condizionante della formula sul capello e la capacità della proteina utilizzata di aderire alla fibra capillare migliorando a livello microscopico l'aspetto delle cuticole, che si riflette a livello macroscopico sulla bellezza stessa del capello. A questo scopo, è utile fare una valutazione sul peso relativo della componente elastica sulla viscoelasticità dei prodotti. Tale valore, definito *fattore di smorzamento*, si ricava dall'andamento della tangente dell'angolo di sfasamento δ (*tan delta*) in funzione della frequenza di oscillazione, ossia il rapporto tra il modulo viscoso G'' ed il modulo elastico G' . In termini pratici, tanto minore è il valore di *tan delta*, tanto maggiore sarà la componente elastica della struttura e viceversa, e che quindi potrà reggere di più ad oscillazioni più frequenti. In figura 22 sono riportati gli andamenti di *tan delta* delle formule F1, F0.5 ed F0.1. Nonostante gli andamenti e valori siano tra loro molto simili, la formula finale è quella che presenta una componente elastica maggiore, e dunque quella da cui dovremmo aspettarci, oltre che per l'aspetto formulativo, una migliore *performance* sul capello. Inoltre l'aggiunta del polimero cationico Polyquaternium-37 alla formula F0.1 contenente sericina all'1%, migliora la componente elastica del sistema e quindi, di rimando la sua intrinseca stabilità strutturale. (Figura 22)

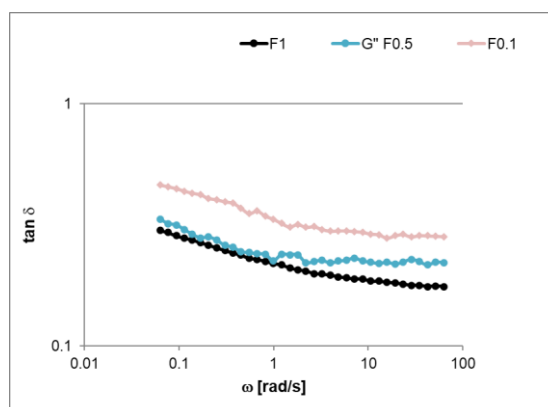


Figura 22 - confronto tra le formule F0.1, F0.5 ed F1 del fattore di smorzamento.

3.2 VALUTAZIONE DI STABILITA'

Un'emulsione cosmetica per essere definita stabile deve garantire il mantenimento delle caratteristiche chimico-fisiche per un tempo sufficientemente lungo da consentire la sua commercializzazione ed il suo utilizzo. La natura dei legami che si instaurano tra le materie prime riflette la stabilità del prodotto stesso.

Fattori di instabilità di un preparato cosmetico possono essere dati da *sbalzi termici* cui è sottoposto il prodotto, *reazioni chimiche* come l'ossidazione delle materie prime in esso contenute, *stress fisici* che alterano la sua organizzazione strutturale ed *interazioni chimico-fisiche* tra gli ingredienti.

Tali fenomeni possono presentarsi non solo durante la *shelf life* del prodotto, ma anche durante il processo di produzione mediante energia meccanica e termica fornita dalle apparecchiature.

I principali ingredienti responsabili della stabilità fisica di un'emulsione sono:

- gli *emulsionanti*: sostanze capaci di ridurre la tensione interfacciale tra la fase acquosa e la fase oleosa;
- i *modificatori reologici* e i *polimeri*: capaci di "legare" molecole d'acqua, reticolare la fase esterna, diminuendo così la mobilità della fase dispersa.

In relazione alla quantità e alla qualità dei componenti scelti, in fase di formulazione, e al processo di produzione applicato, possono instaurarsi strutture differenti con risposte reologiche quantitativamente diverse.

In azienda sono stati condotti test di invecchiamento accelerato in stufa termostata, in quanto lo stress termico è tra le forme di stress più comunemente utilizzato per l'analisi aziendale di stabilità di prodotti cosmetici. La temperatura è utilizzata in quanto capace di accelerare fenomeni d'instabilità dei campioni che altrimenti si manifesterebbero a livello visivo e sperimentale in tempi troppo lunghi.

Il controllo di stabilità aziendale condotto in stufa termostata è un processo che dura 12 settimane. È stato eseguito su tutti i 7 prodotti costituenti la sistemica.

Nelle prime 4 settimane si è operato come segue: ogni prodotto è stato diviso in 5 porzioni, da 100gr ciascuno, ed ognuna di queste è stata posta in uno stato termico diverso.

- un bulk in termostato a +4°C;
- un bulk in termostato a +40°C;
- un bulk in termostato a +25°C
- un bulk di campione esposto alla luce UV;
- un bulk di campione, denominato prova Shock, ogni settimana ha subito lo spostamento da un termostato all'altro.

Durante queste quattro settimane, alla scadenza del settimo giorno di ognuna di esse si è fatta un'analisi merceologica (colore, odore, aspetto) e una misurazione del pH.

Nelle successive 8 settimane: il campione a +40°C è stato conservato in termostato per altri due mesi. L'analisi merceologica e il controllo del pH sono state eseguite a cadenza settimanale.

Al termine di questo periodo di tempo sono state regolarmente eseguite analisi microscopiche per valutare cambiamenti morfologici dei campioni.

Nessuno dei campioni ha evidenziato problematiche di stabilità: non sono avvenuti particolari cambiamenti di pH e merceologici (colore, odore, aspetto). Non è stato evidenziato nessun fenomeno di separazione di fase.

A livello aziendale viene comunemente effettuato anche un controllo di viscosità mediante utilizzo di viscosimetro Brookfield, sempre come controllo per definire la stabilità dei preparati. Nel caso di questo studio, tale analisi è stata volontariamente omessa.

Si è preferito studiare cambiamenti strutturali in funzione della temperatura, mediante il test reologico *temperature sweep*. Tale analisi, di fatto, risulta utile per determinare se le interazioni tra i componenti sono tali da garantire la stabilità strutturale nel tempo o se sussistono interazioni chimiche che ne modificano le proprietà reologiche fino ad inficiare la stabilità dei preparati.

Le analisi di *temperature sweep* permettono di valutare gli andamenti dei moduli elastico G' e viscoso G'' al variare della temperatura, in condizioni di deformazione e frequenza costanti. Tale analisi fornisce una prima indicazione sulla *shelf life* dei prodotti. Per tale motivo l'intervallo di temperatura prescelto è compreso tra 5°C e 55°C, un range realistico di variazione termica a cui il prodotto può esser sottoposto nel suo tempo di vita e in cui rientrano anche le condizioni di trasporto ed utilizzo.

Pur riconoscendo un'importanza fondamentale nella valutazione di stabilità del prodotto finito (formula F1) si è deciso di valutare anche tutti gli altri prodotti intermedi della sistematica formulativa, al fine di omogeneizzare i dati con l'analisi reologica precedentemente descritta.

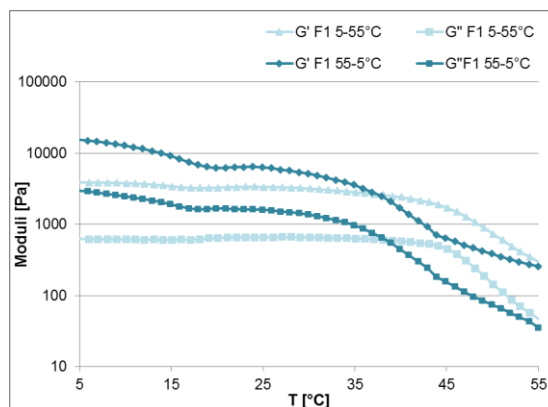


Figura 23 - Andamento della curva di andata e di ritorno del modulo elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F1

In figura 23, si evidenziano l'andamento dei moduli elastico e viscoso al variare della temperatura. Nella curva di andata, 5-55°C, i due moduli elastico e viscoso presentano andamenti rettilinei fino al valore di 40-45°C, portando poi ad una sostanziale diminuzione ad alte temperature, i cui valori diminuiscono di circa una decade, ciò mette in evidenza un decremento strutturale sopra tale temperatura. Ciò può esser dovuto alla componente oleosa della formula, derivante dal punto di fusione dei burri in essa contenuti che fanno spostare il sistema verso una forma meno viscosa. Lo stesso emulsionante presenta catene alchiliche che a temperature crescenti incontrano il loro punto di melting. Nella curva di ritorno si nota un incremento della struttura a circa 40°C che procede per entrambi i moduli più alta rispetto la curva di andata. Nella curva di ritorno i moduli elastico e viscoso aumentano di valore di circa una decade. Questo significa che il sistema raggiunge nel tempo nuove forme di equilibrio, differenti da quelle iniziali, e una crescita della viscosità del formulato. La stabilità del prodotto può dunque essere compromessa ad una temperatura superiore ai 45°C.

Tale comportamento può essere evidenziato anche nelle formule F0.1 ed F0.2. (Figure 24-25)

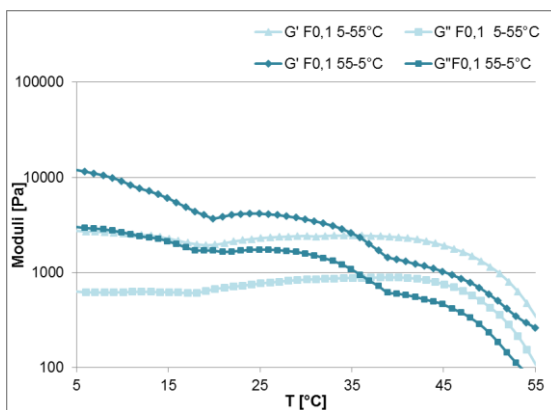


Figura 24 - Andamento della curva di andata e ritorno del modulo elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F0.1 con sericina all'1%

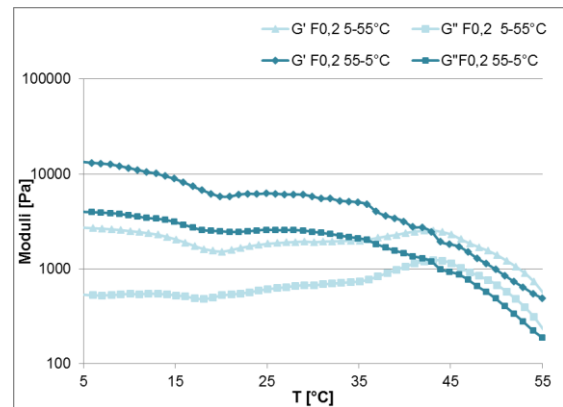


Figura 25 - Andamento della curva di andata e ritorno del modulo elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F0.2 con sericina allo 0.5%.

Come visto precedentemente, i moduli elastico e viscoso, compresi tra la terza e la quarta decade, alla temperatura di circa 40-45°C vedono una graduale diminuzione della viscosità, evidenziando un decremento strutturale. Nella curva di ritorno entrambi i moduli aumentano di valore a partire dai 40°C, gradualmente. A temperatura ambiente i valori dei moduli rimangono confrontabili, mentre la differenza dei valori di viscosità tra andata e ritorno cresce al decrescere della temperatura, fino a raggiungere una differenza di circa una decade. Il contenuto di sericina, comunque, potrebbe influenzare la stabilità dell'intero sistema per interazione con l'emulsionante carico positivamente. Tali interazioni giustificerebbero un'instabilità alla temperatura. Di fatto l'aggiunta del polimero/modificatore reologico Polyquaternium-37 allo 0,5% (formula F0.5), non fa variare l'andamento delle curve di andata e ritorno. (Figura 26).

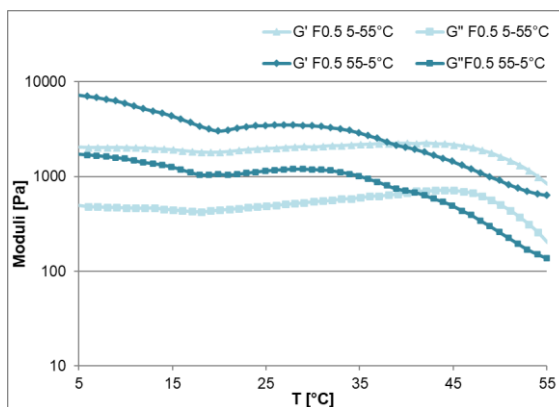


Figura 26 - Andamento della curva di andata e ritorno del modulo elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura, della formula F0,5 contenente sericina 1% e polyquaternium-37 0.5%

Per la formula F0.5 possono esser fatte le analoghe considerazioni viste precedentemente. Da notare nella curva di andata un leggero incremento di entrambi i moduli, da 15 a 45°C, leggermente più marcati rispetto a quelli visti, e trascurati, per le formule precedentemente trattate. Questo può essere spiegato con la formazione di nuovi equilibri dovuti all'aggiunta del polimero all'aumentare della temperatura.

Tale comportamento lo si può evidenziare anche dall'analisi temperature sweep delle formule F0.3 ed F0.4 (figure 27-28). Le seguenti formule non contengono sericina ed il comportamento reologico alla temperatura è molto differente a quanto visto finora.

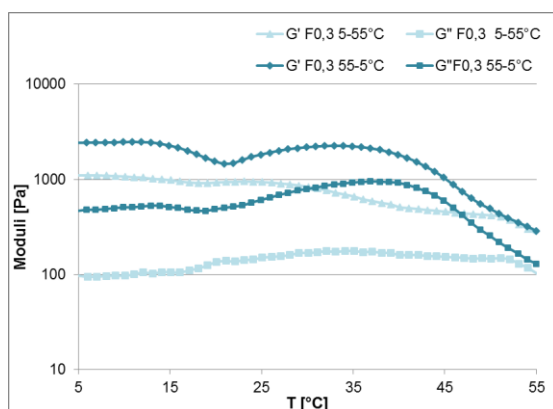


Figura 27 - Andamento della curva di andata e di ritorno dei moduli elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F0.3 contenente Polyquaternium-37 allo 0.5%

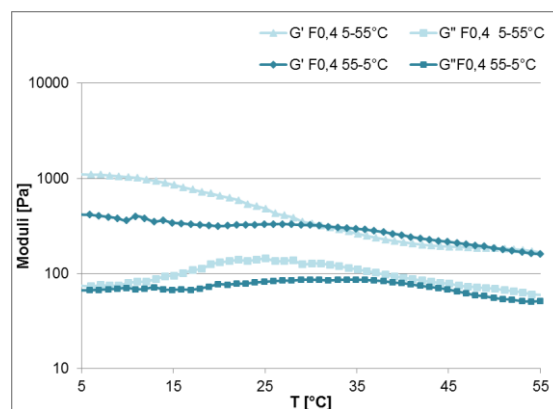


Figura 28 - Andamento della curva di andata e di ritorno dei moduli elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F0.4 contenente Polyquaternium-37 all'1%.

La curva di andata vede il modulo elastico diminuire gradualmente di valore a partire da 25°C per la formula F0.3 e da 15°C per la formula F0.4, mentre il modulo viscoso aumenta gradualmente con l'aumentare della temperatura da 15°C per poi decrescere a temperature più elevate per entrambi i prodotti, senza però portare ad un drastico calo dei valori di viscosità. Le curve di ritorno evidenziano poi come le formulazioni si ristrutturino in modo differente dalle formule di partenza. Le curve di andata e ritorno non seguono lo stesso andamento, ma le differenze dei

valori di viscoelasticità sono confrontabili con quelli di partenza. Si può dunque evidenziare che senza sericina all'interno avvengono meno cambiamenti strutturali dovuti dalla temperatura.

L'effetto che Polyquaternium-37 apporta alla struttura è ancor meglio evidenziabile se messo a confronto con la formula F0 corrispondente alla base dello scheletro formulativo (Figura 29).

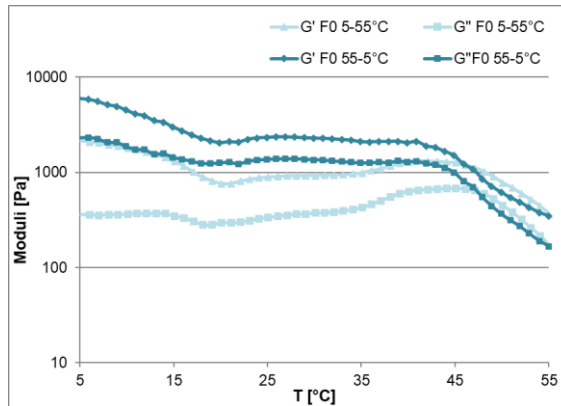


Figura 29 - Andamento delle curve di andata e ritorno dei moduli elastico G' e viscoso G'' in funzione della temperatura della formula F0.

La formula base dimostra un profilo delle curve di entrambi i moduli molto affine a quello visto nelle figure (24,25,26). L'aggiunta di Polyquaternium-37 rende, però, la struttura meno suscettibile alle alte temperature.

3.3 VALUTAZIONE DI EFFICACIA CONDIZIONANTE

3.3a CONSIDERAZIONI INIZIALI

Ogni agente condizionante per apportare benefici al capello deve prima depositarsi sulla sua superficie o essere assorbito. I conditioners possono rientrare nella formulazione di forme cosmetiche con o senza risciacquo. Nel caso dell'utilizzo a risciacquo, come vuole essere "trattamento sericina 1%", il deposito dell'agente condizionante sul capello è dipendente dall'affinità di tale molecola per la fase acquosa dell'emulsione in confronto alla sua affinità di legame per il capello.

L'attrazione delle molecole condizionanti per la matrice cosmetica dipende dalla *carica* stessa della materia prima e dal numero di gruppi *polari* e *non polari*. L'abilità di legarsi al capello è invece influenzata dal pH del prodotto, dalla carica netta, dal peso molecolare della molecola e dal punto isoelettrico del capello.

Il punto isoelettrico rappresenta il pH al quale una proteina, sottoposta ad un campo elettrico, non migra. È il pH al quale una proteina presenta carica netta neutra, ed è una proprietà correlabile alle caratteristiche acido-base della superficie dei capelli. In quanto ricca di proteine, la superficie dei capelli contiene sia cariche negative (dovute ai gruppi carbossilici) che cariche positive (apportate da gruppi amminici carichi positivamente).

Sotto il punto isoelettrico il capello si carica positivamente, sopra il punto isoelettrico prevalgono invece le cariche negative e capaci di attrarre molecole con cariche positive. I capelli decolorati posseggono punto isoelettrico ancora minore.

Il punto isoelettrico dei capelli cade a circa pH 3,7, un valore inferiore rispetto al normale pH dei capelli.

I condizionanti cationici, quindi, possono neutralizzare le cariche negative presenti sulla superficie della cuticola e ridurre la repulsione coulombiana tra zone adiacenti. In questo modo il capello migliora il suo profilo sensoriale e diviene più facile da pettinare una volta asciutto, in quanto le forze frizionali risultano ridotte.

Non tutti gli agenti condizionanti sono cationici. Molte materie prime condizionanti appartengono a classi di composti chimici differenti: siliconi, oli ed esteri. Questi composti, ad esempio, sono definiti *non ionici* in quanto non possiedono una carica elettrica. La capacità dimostrata di queste molecole di condizionare i capelli risiede in interazioni chimiche idrofobiche dovute alla presenza di gruppi non polari. Il legame avviene appunto per l'idrofobicità intrinseca di due strutture apolari vicine (che cercano di rifuggire l'acqua e quindi si avvicinano) che per interazioni elettrostatiche dipolo-indotti, ossia forze di Van der Waals⁴³.

Anche i lipidi sono considerate sostanze condizionanti per i capelli. Sono molecole che, per la presenza di lunghe catene idrocarburiche, hanno carattere idrofobico.

I polimeri cationici, invece a differenza di tensioattivi ed emulsionanti cationi, dimostrano migliori capacità performante antistatica sui capelli. Risultano anche molto efficaci su capelli ricci e mossi.

Il pH, dunque, influenza lo stato della cuticola. Normalmente, per ragioni di carica, un pH alcalino apporta fenomeni repulsivi tra le cuticole facendole dunque rialzare ed allontanare, le una dalle altre. Tale tecnica è normalmente utilizzata nei trattamenti chimici di decolorazione e colorazione dei capelli. Un pH acido, invece, favorisce il rinsaldo e la chiusura delle scaglie formanti la cuticola.

Gli shampoo normalmente in commercio presentano, per questo motivo, un pH leggermente maggiore (5.00-6.00) rispetto il conditioner della medesima linea di prodotto, che ricade invece in intervalli di pH compresi tra 3.50 e 4.00. Tale considerazione è fatta per apportare i suddetti benefici al capello.

Un trattamento, invece, che preveda il "sollevamento della cuticola" (pH>8), può risultare utile qualora si voglia decolorare il capello, o si voglia far "penetrare maggiormente ingredienti attivi che apportino idratazione e riducano la porosità della struttura capillare". Il trattamento successivo sarà comunque il lavaggio con una lozione riequilibrante il pH, e dunque acida.

⁴³ D.H. Johnson et al, "Hair and Hair Care", Marcel Dekker Inc., 68-82, 1997

“Trattamento sericina 1%” presenta un intervallo di pH compreso tra 4.00 e 4.50. E’ stato evitato di scendere sotto tale range perchè un pH troppo acido potrebbe sbilanciare l’equilibrio di una cute che presenti problematiche irritative od infiammatorie in atto (vedi capitolo 1 par. 1.2c e 1.4). Di fatto il cuoio capelluto è generalmente molto colpito da tali problematiche ed una maschera per capelli talvolta, a causa di applicazioni frettolose o non sufficientemente accorte, finisce per venire a contatto con la base della nuca o con il cuoio capelluto. L’eventuale contatto con tali zone, usando “trattamento sericina 1%” non dovrebbe arrecare ulteriore danno, anzi potrebbe addirittura risultare benefico, visto l’alto contenuto di Sericina Integra al suo interno (vedi capitolo 1 par.1.3).

Ai fini dello studio, per valutare l’efficacia condizionante sui capelli di questo trattamento cosmetico, è stata utilizzata un’analisi visiva ottenuta tramite microscopia elettronica a scansione ambientale. Eurochem Ricerche Srl si è servito di un protocollo validato e standardizzato internamente, un test adottato per la valutazione della resistenza del colore su ciocche colorate chimicamente.

Tale protocollo ha visto l’applicazione, di ogni prodotto della sistematica (F0, F0.1, F0.2, F0.3, F0.4, F0.5, F1), su due tipi differenti di ciocche standardizzate:

- Ciocca di capelli trattata: capello che ha subito un trattamento chimico aggressivo di colorazione ed è stata successivamente bilanciata e riequilibrata con altri prodotti. È rappresentativa della maggior parte dei capelli presente nella popolazione.
- Ciocca di capelli decolorata: capello che ha subito un trattamento chimico di decolorazione ma che non è stato successivamente ricolorato.

Come già evinto in fase di discussione sull’applicazione del prodotto (capitolo 2 par 2.2d), sono state mimate 3 applicazioni di prodotto, così da valutare l’efficacia del trattamento dopo 3 applicazioni.

Lo shampoo utilizzato per lavare le ciocche prima del trattamento ha la seguente formula:

Nome commerciale	Nome INCI	% d'impiego
TEXAPON® N40	Sodium Laureth Sulfate	47,00
DEHYTON® K	Cocamidopropyl betaine	6,50
ARLYPON® F	Laureth-2	0,60
SODIO CLORURO	Sodium chloride	0,40
ACNIBIO® AC	Methylchloroisothiazolinone, methylisothiazolinone	0,05
ACQUA DEIONIZZATA	Aqua	q.b. a 100

La formula presenta un pH compreso tra 8.00 e 8.50. Tale pH elevato consente di ottenere un effetto di “rialzamento” e “danneggiamento” della cuticola. A tale capello è stato successivamente applicato il prodotto senza prima utilizzare una lozione bilanciante che migliorasse lo stato della cuticola. È composto principalmente da un tensioattivo anionico primario caratterizzato da Sodium Laureth Sulfate e da un tensioattivo anfotero, cocamidopropyl betaine, che conferiscono alla formula una SAL (sostanza attiva lavante) del 16.61%.

3.3b ANALISI DEI RISULTATI

Nell'analisi dei risultati ottenuti mediante microscopia elettronica a scansione ambientale si riportano le immagini del trattamento per ogni prodotto testato su entrambe le ciocche.

T0 rappresenta l'immagine della ciocca prima del trattamento.

TF rappresenta l'immagine della ciocca dopo la simulazione di 3 trattamenti completi.

Sono state fatte valutazioni a due ingrandimenti:

- 1000x per una visione d'insieme della struttura del capello;
- 2000x per una visione più dettagliata della struttura della cuticola.

Formula F0

La formula F0 rappresenta la preparazione base di “trattamento sericina 1%”. È un'emulsione contenente una esigua quantità di fase dispersa. Contiene un'emulsionante cationico.

Ciocca trattata

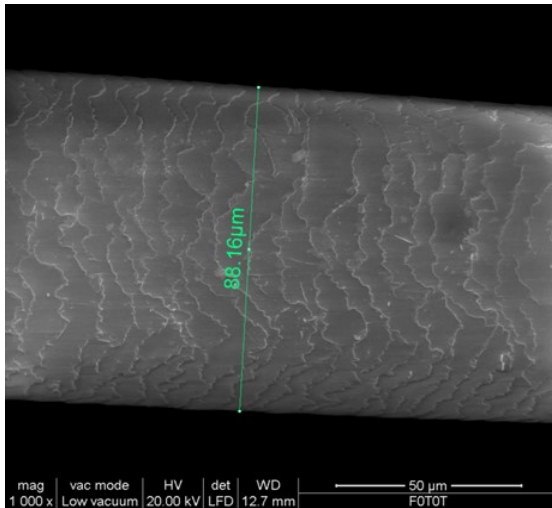


Figura 30 - T0 ciocca trattata F0 - 1000x

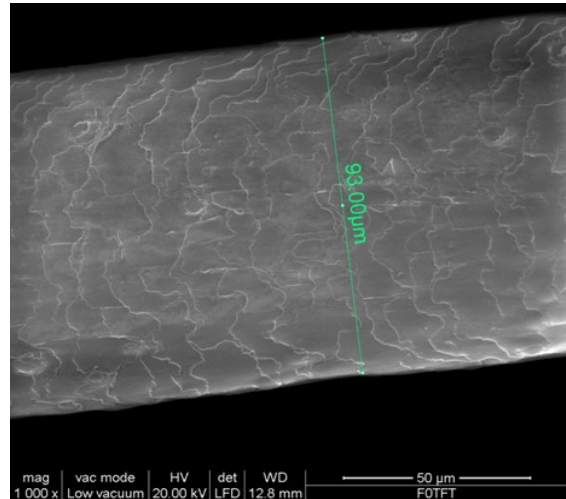


Figura 31 - TF ciocca trattata F0 - 1000x

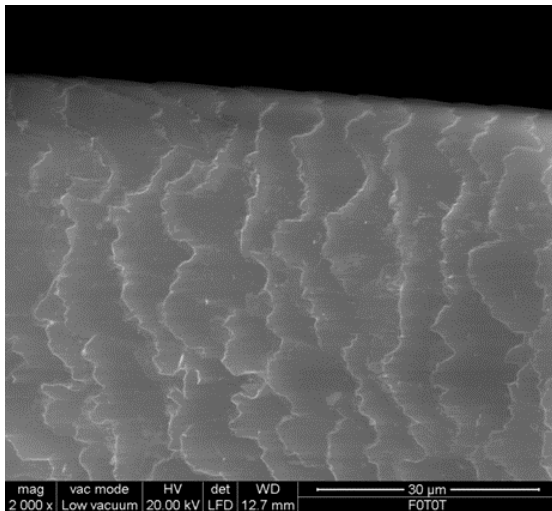


Figura 32 - T0 ciocca trattata F0 - 2000x

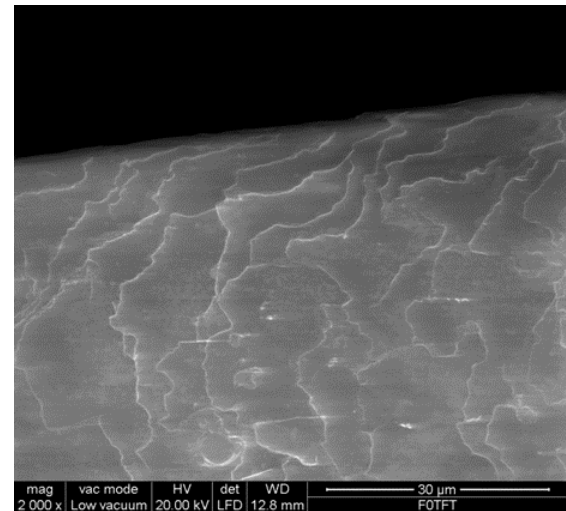


Figura 33 - TF ciocca trattata F0 - 2000x

Le immagini riportate in figura 30,31,32 e 33 dimostrano come un capello trattato, dopo tre trattamenti con il prodotto F0 porti in evidenza una leggera variazione dello stato del capello. Le cuticole divengono più irregolari, ma non si evidenziano peggioramenti rispetto lo stato iniziale. Il lavaggio con shampoo a pH> 8.00 seguito dal trattamento con un prodotto contenente un condizionante cationico, non dimostra un ritorno della cuticola allo stato di partenza, anche se non si evidenziano cuticole rialzate.

Ciocca decolorata

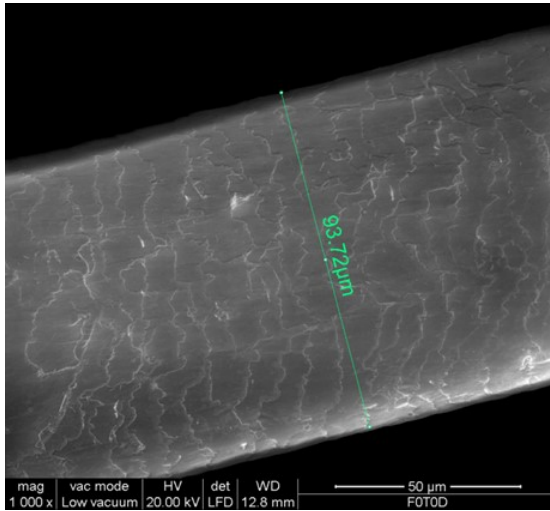


Figura 34 - T0 ciocca decolorata F0 - 1000x

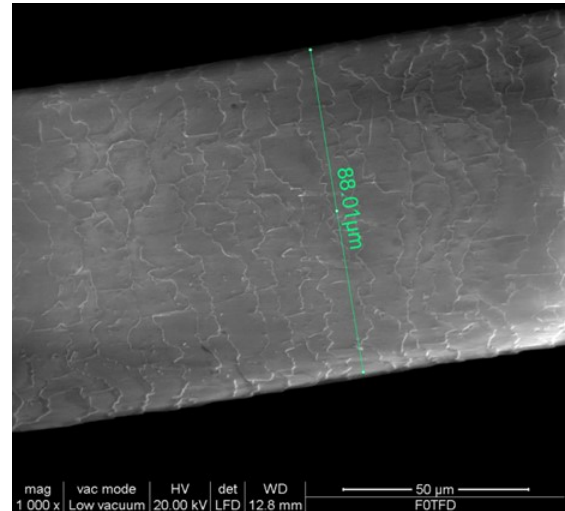


Figura 35 - TF ciocca decolorata F0 - 1000x

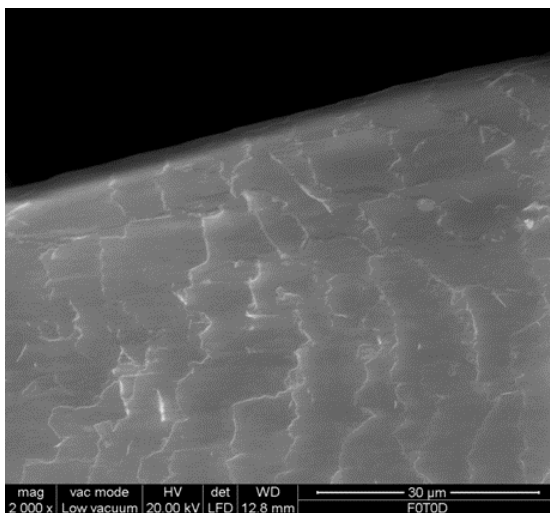


Figura 36 - T0 ciocca decolorata F0 - 2000x

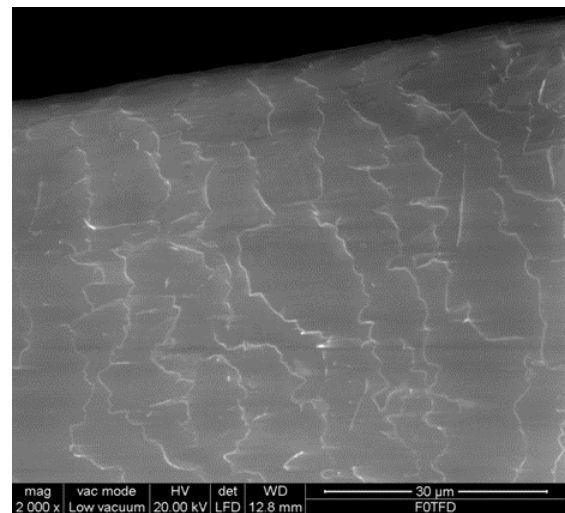


Figura 37 - TF ciocca decolorata F0 - 2000x

Il trattamento sulla ciocca decolorata del prodotto F0 non determina variazioni evidenti dello stato della cuticola prima e dopo l'utilizzo, se non una leggera variazione nella regolarità della cuticola che appare migliore dopo trattamento con F0. Va evidenziato che lo stato della cuticola di partenza non è particolarmente critico, non si evidenziano pesanti irregolarità o sollevamenti.

In conclusione il prodotto F0 non determina variazioni particolarmente degne di nota sullo stato del capello, dopo 3 applicazioni di prodotto. (figure 34,35,36,37)

Formula F0.1

La formula F0.1 rappresenta, dal piano evolutivo, la funzionalizzazione del prodotto base F0 con Sericina Integra 1%. La visione dello stato della cuticola prima e dopo il trattamento può dunque essere indicatrice di quanto è performante questa proteina ad alto peso molecolare sullo stato generale del capello e sulla cuticola.

Ciocca trattata

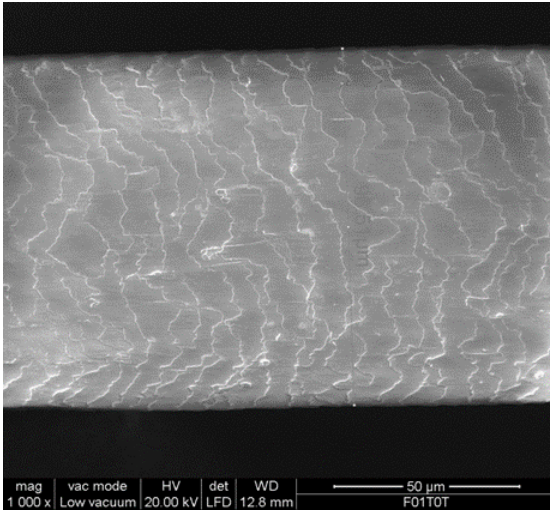


Figura 38 - T0 ciocca trattata F0.1 - 1000x

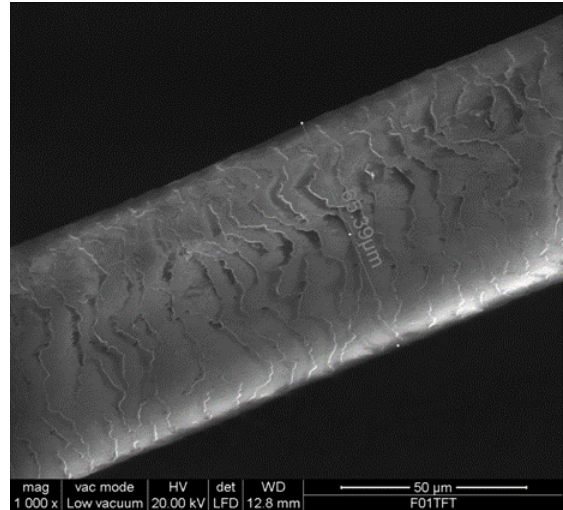


Figura 39 - TF ciocca trattata F0.1 - 1000x

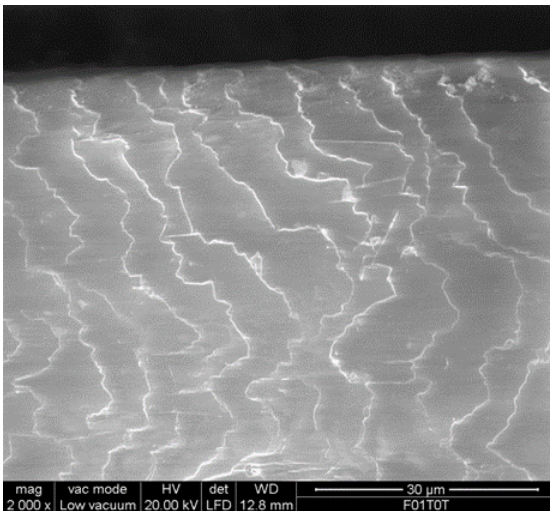


Figura 40 - T0 ciocca trattata F0.1 - 2000x

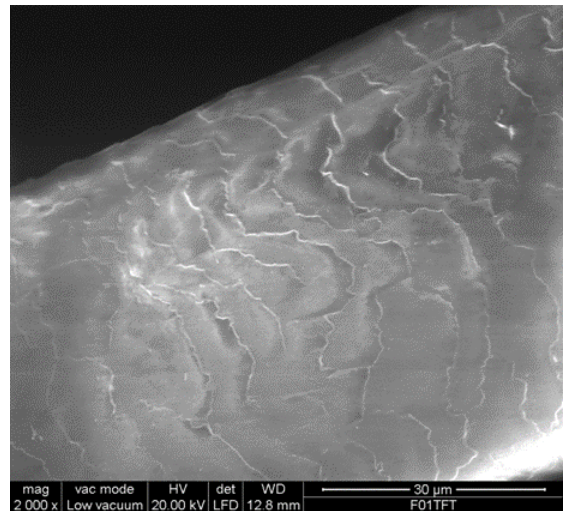


Figura 41 - TF ciocca trattata F0.1 - 2000x

Nelle immagini riportate nelle figure 38,39,40 e 41 si nota come il trattamento con F0.1 porti ad un'alterazione strutturale della ciocca trattata. Le cuticole dopo il trattamento appaiono leggermente più regolari e meno rialzate. Il miglioramento ottenuto, dopo 3 applicazioni, non raggiunge ancora un livello ottimale.

Ciocca decolorata

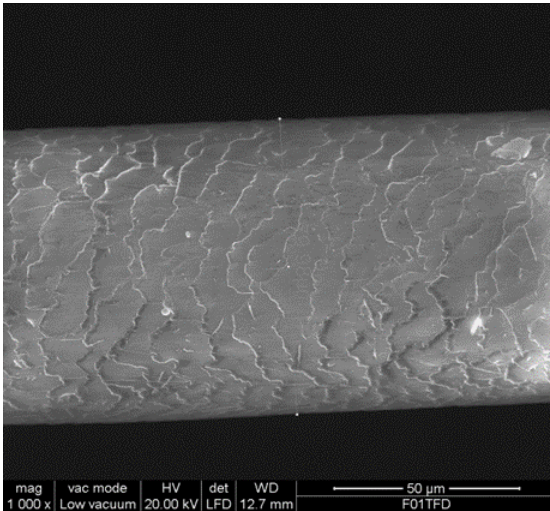


Figura 42 - T0 ciocca decolorata F0.1 - 1000x

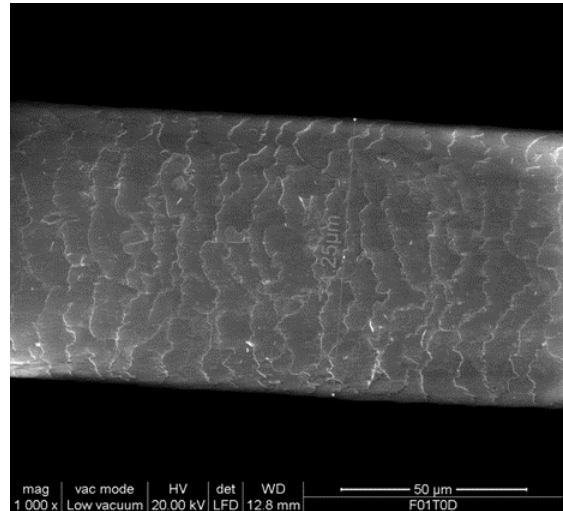


Figura 43 - TF ciocca decolorata F0.1 - 1000x

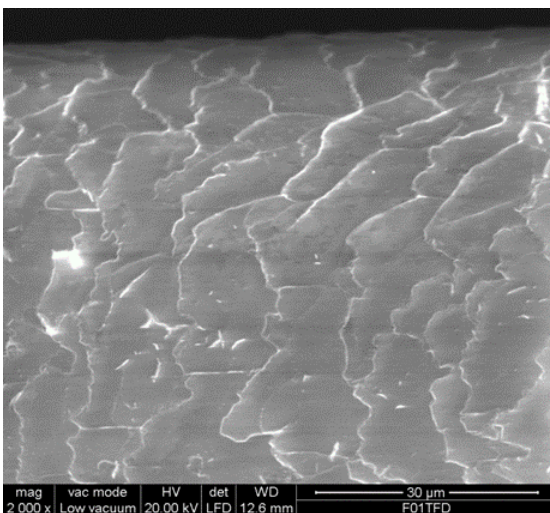


Figura 44 - T0 ciocca decolorata F0.1 - 2000x

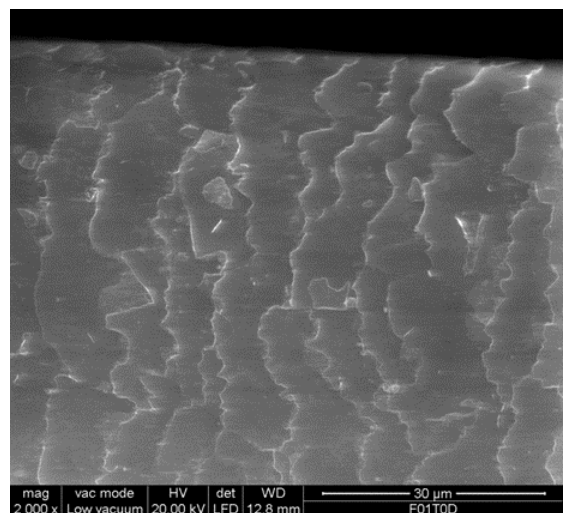


Figura 45 - TF ciocca decolorata F0.1 - 2000x

Le immagini riportate nelle figure 42,43,44 e 45 evidenziano, dopo tre applicazioni, un leggero miglioramento sullo stato del capello decolorato. La cuticola appare più regolare e meno sollevata. Lo stato del capello non raggiunge però un livello ottimale ed accettabile.

In conclusione la formula F0.1 contenente Sericina integra all'1%, in combinazione con un emulsionante cationico, apporta un miglioramento sullo stato della cuticola del capello, più evidente rispetto a quello determinato dalla formula F0. Tale risultato è maggiormente visibile sulle immagini della ciocca decolorata. Si può comunque ritenere che le considerazioni reologiche viste per la formula F0.1 possano avere determinato un risultato sottostimato.

Formula F0.2

La formula F0.2 ha la peculiarità di contenere Sericina Integra in concentrazione dello 0.5%.

È interessante osservare il risultato ottenuto da una concentrazione proteica più bassa, per determinare come può variare l'effetto condizionante al variare della concentrazione di Sericina.

Ciocca trattata

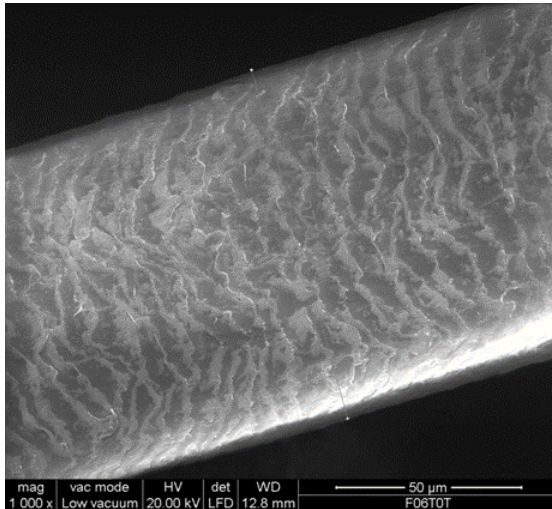


Figura 46 - T0 ciocca trattata F0.2 - 1000x

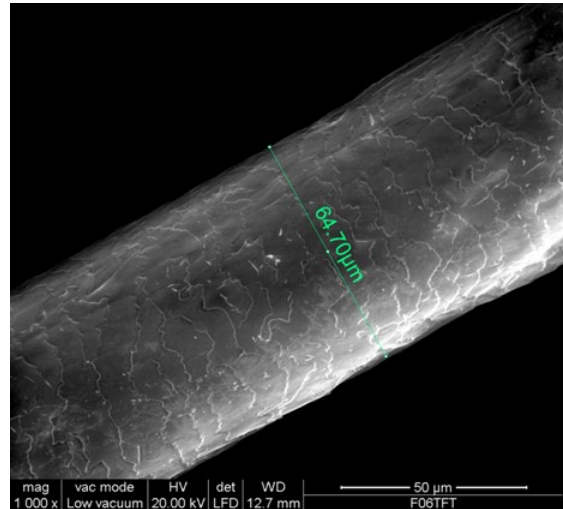


Figura 47 - TF ciocca trattata F0.2 - 1000x

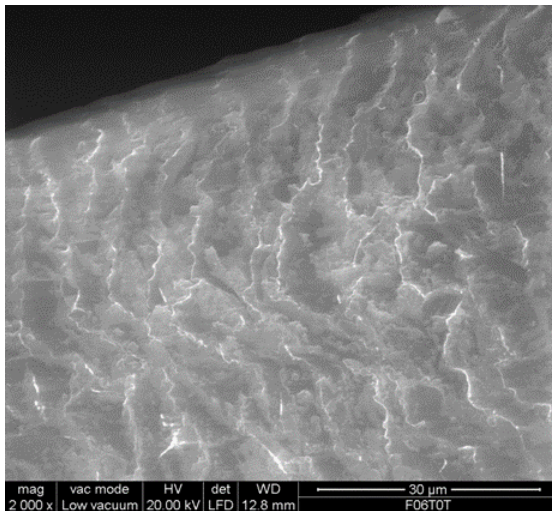


Figura 48 - T0 ciocca trattata F0.2 - 2000x

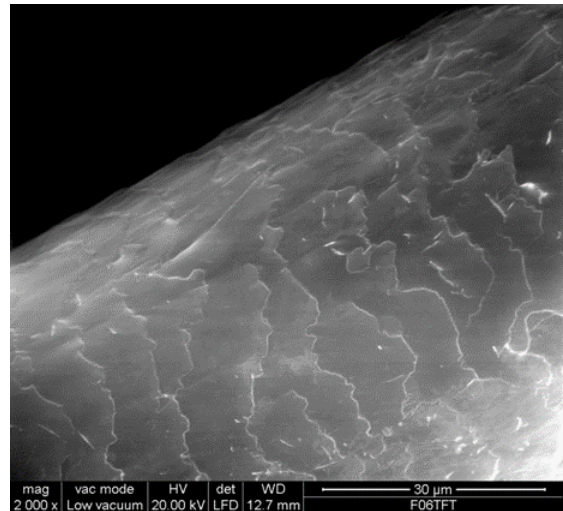


Figura 49 - TF ciocca trattata F0.2 - 2000x

Le immagini rappresentate nelle figure 46,47,48 e 49 dimostrano un miglioramento, dopo 3 applicazioni della formula F0.2, sull'aspetto e sulla struttura della ciocca trattata. Il miglioramento come per le immagini fornite dalla formula F0.1, rimane ancora non ottimale. Nonostante le cuticole appaiano maggiormente regolari, sono ancora evidenti le creste e si presentano non uniformi.

Ciocca decolorata

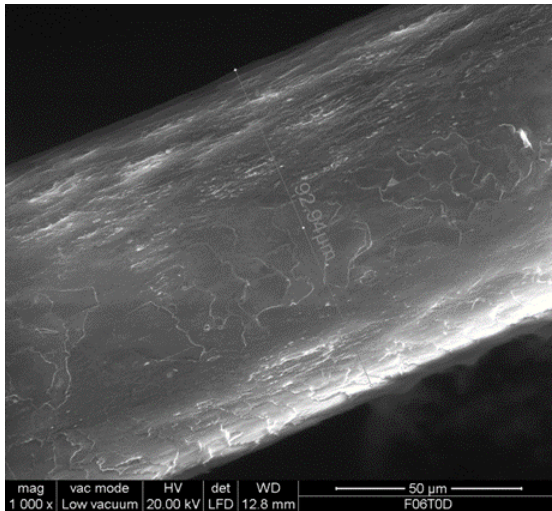


Figura 50 - T0 ciocca decolorata F0.2 - 1000x

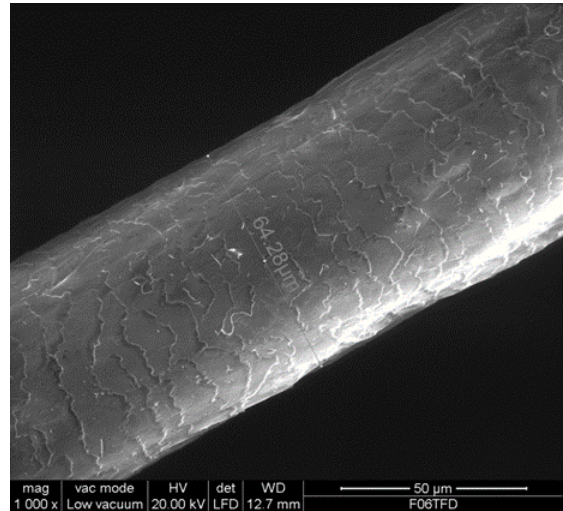


Figura 51 - TF ciocca decolorata F0.2 - 1000x

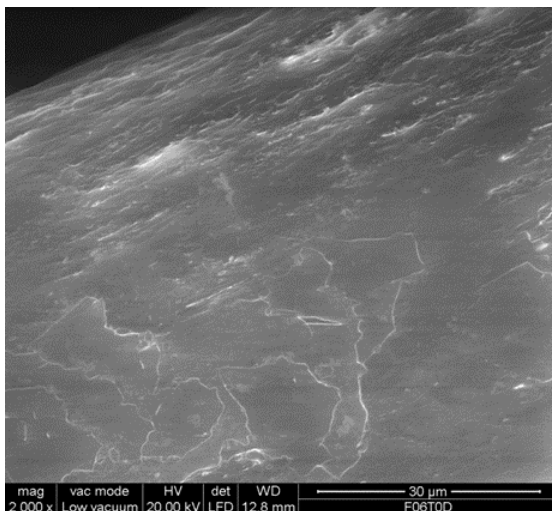


Figura 52 - T0 ciocca decolorata F0.2 - 2000x

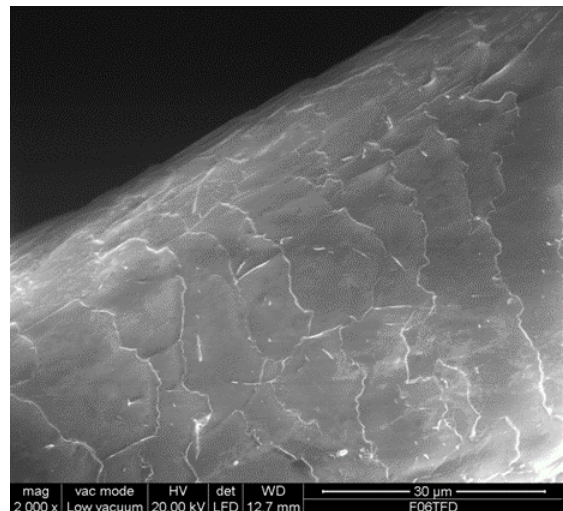


Figura 53 - TF ciocca decolorata F0.2 - 2000x

Anche per la ciocca decolorata si evidenzia un miglioramento della struttura generale del capello che resta, dopo tre trattamenti non ottimale, ma la formula F0.2 riesce a riparare ai danni causati dal lavaggio con uno shampoo a pH alcalino. Dalla foto 50 si può vedere come un capello inizialmente sfibrato presenti, dopo trattamento con un prodotto contenente Sericina Integra allo 0.5%, un miglioramento generale della fibra capillare (foto 51).

In conclusione anche il trattamento F0.2 riesce a contrastare il lavaggio iniziale con uno shampoo a pH > 8.00. Il risultato può essere considerato analogo o leggermente inferiore a quello ottenuto dalla formula F0.1. L'effetto, da una comparazione con le immagini ottenute dopo trattamento con F0, può essere correlato all'introduzione in formula di Sericina Integra.

Formula F0.3

La formula F0.3 oltre ad un emulsionante cationico, contiene un polimero cationico, Polyquaternium-37 in concentrazione dello 0.5%. Tale composto dovrebbe riuscire ad evidenziare un miglioramento dello stato del capello. Le cariche positive della molecola, infatti, neutralizzerebbero le cariche negative presenti nella proteina della cuticola, ora molto esposte dopo il lavaggio con uno shampoo alcalino.

Ciocca trattata

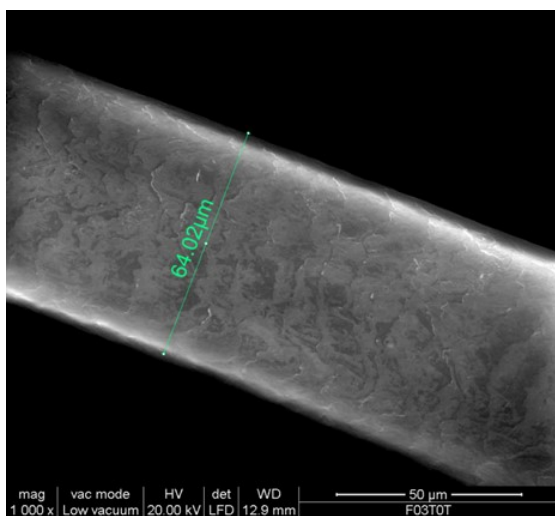


Figura 54 - T0 ciocca trattata F0.3 - 1000x

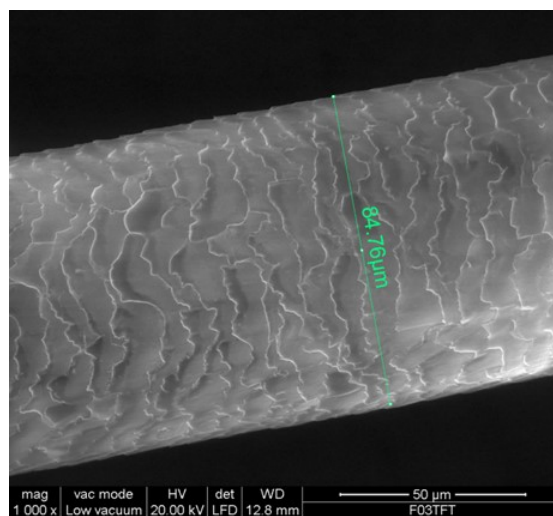


Figura 55 - TF ciocca trattata F0.3 - 1000x

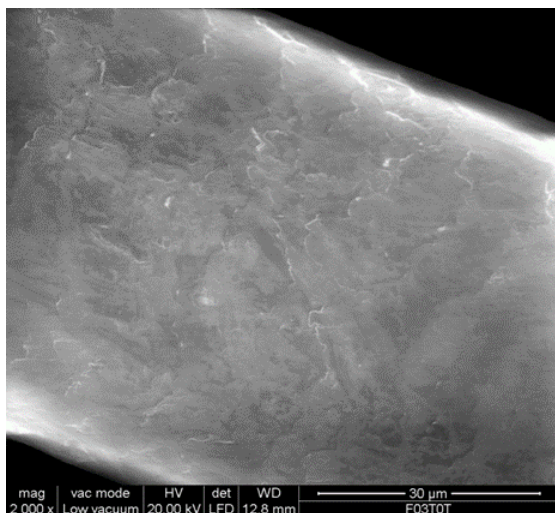


Figura 56 - T0 ciocca trattata F0.3 - 2000x

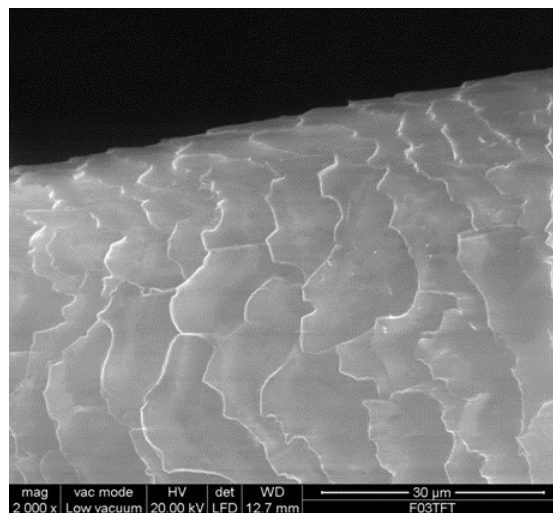


Figura 57 - TF ciocca trattata F0.3 - 2000x

Le figure 54,55,56 e 57 dimostrano come, dopo 3 applicazioni di prodotto F0.3, la struttura del capello abbia un peggioramento globale. Le cuticole si presentano irregolari e le creste sono rialzate. Il prodotto F0.3 non è riuscito a ripristinare il danno causato da 3 lavaggi con shampoo a pH > 8.00, nonostante la presenza di due molecole contenenti cariche positive.

Ciocca decolorata

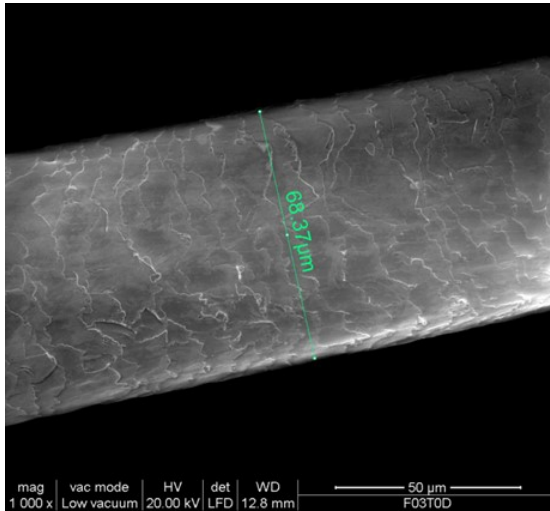


Figura 58 - T0 ciocca decolorata F0.3 - 1000x

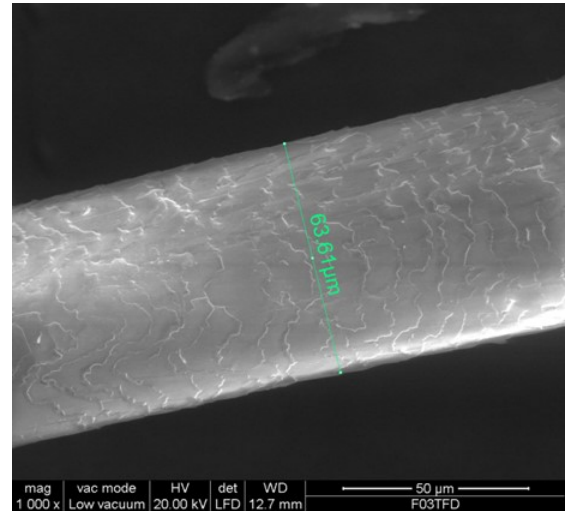


Figura 59 - TF ciocca decolorata F0.3 - 1000x

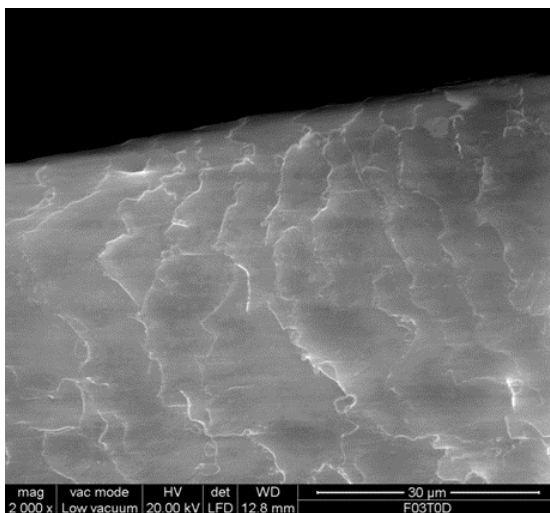


Figura 60 - T0 ciocca decolorata F0.3 - 2000x

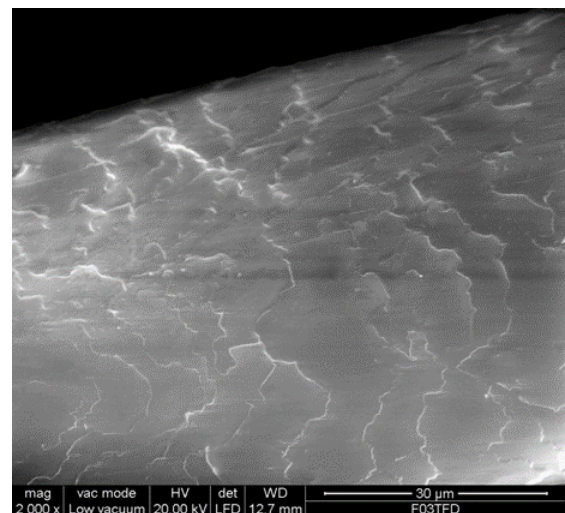


Figura 61 - TF ciocca decolorata F0.3 - 2000x

Le immagini (58,59,60 e 61) dimostrano come non si osservi nessun miglioramento apprezzabile, sullo stato del capello di una ciocca decolorata, dopo trattamento con la formula F0.3. La struttura iniziale non è ottimale, e dopo trattamento non si evidenziano cambiamenti a livello di regolarità, omogeneità dello stato della cuticola.

Si deduce che l'impiego di Polyquaternium-37 allo 0.5%, pur essendo capace di apportare un cambiamento strutturale all'emulsione, non riesce a condizionare il capello e a migliorare lo stato danneggiato della cuticola. Polyquaternium-37 allo 0.5% può dunque esser utilizzato nella formulazione di prodotti cosmetici per capelli con lo scopo di modificare e stabilizzare la struttura dell'emulsione, ma non può vantare effetti condizionanti sulla cuticola danneggiata.

Formula F0.4

Nella formula F0.4 è stata incrementata la concentrazione di Polyquaternium-37 all'1%. Questo al fine di indagare la sua reale efficacia come agente condizionante polimerico per capello. Lo studio inoltre è servito come controllo positivo per valutare l'efficacia di Sericina Integra all'interno della formulazione.

Ciocca trattata

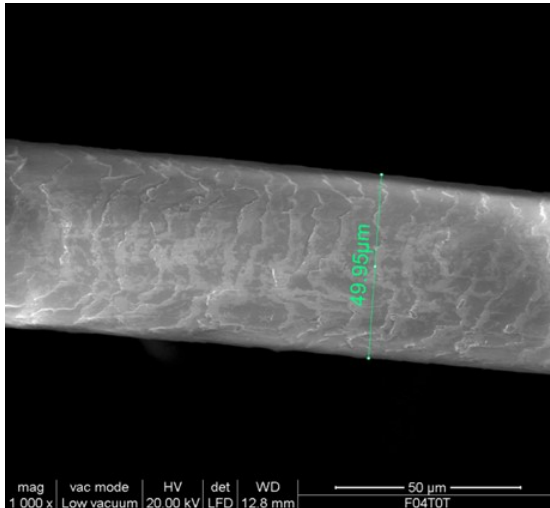


Figura 62- T0 ciocca trattata F0.4 - 1000x

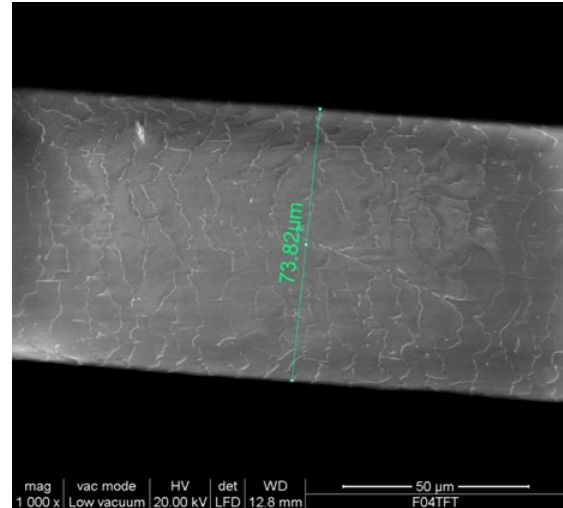


Figura 63 - TF ciocca trattata F0.4 - 1000x

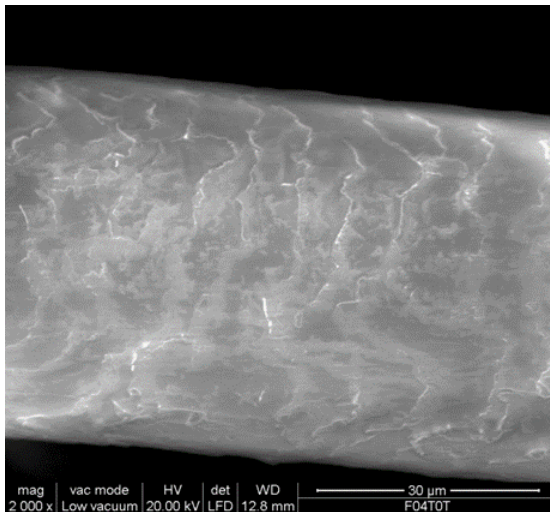


Figura 64 - T0 ciocca trattata F0.4 - 2000x

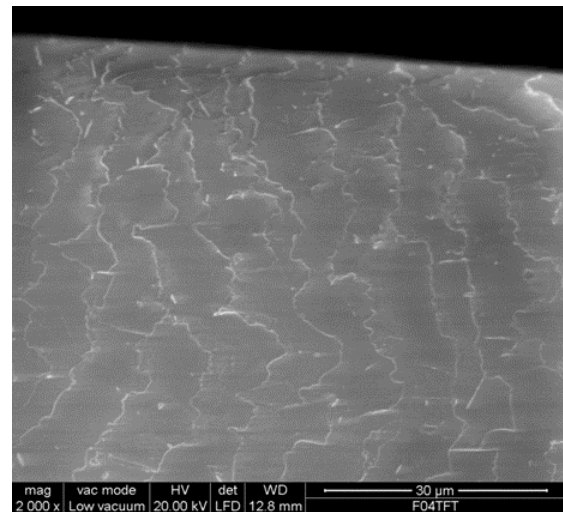


Figura 65 - TF ciocca trattata F0.4 - 2000x

Le immagini riportate nelle figure 62,63,64 e 65 non dimostrano miglioramenti alla struttura del capello dopo l'utilizzo del prodotto F0.4. Lo stato del capello non mostra miglioramenti evidenti e permane la stessa irregolarità della cuticola.

Ciocca decolorata

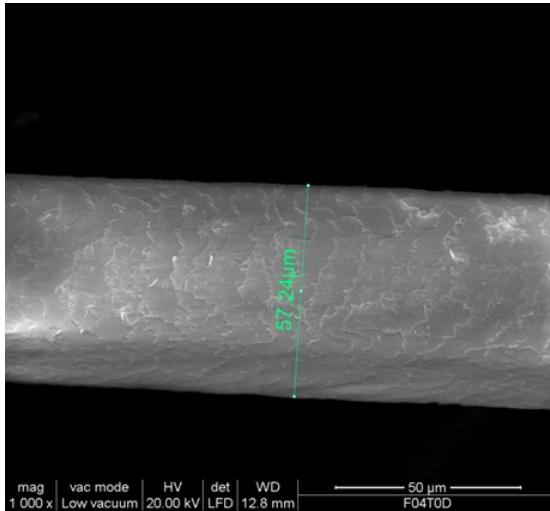


Figura 66 - T0 ciocca decolorata F0.4 - 1000x

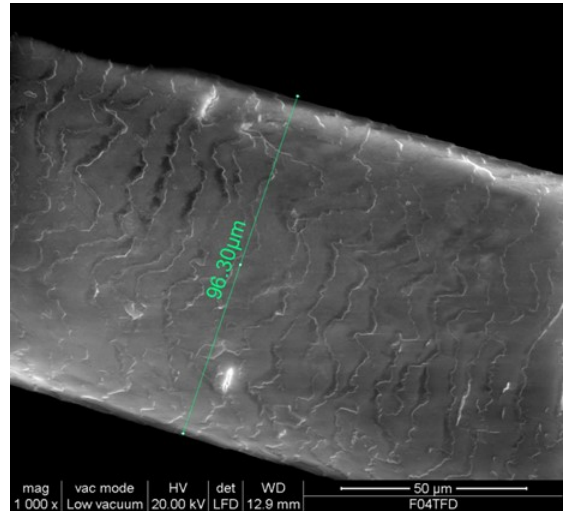


Figura 67 - TF ciocca decolorata F0.4 - 1000x

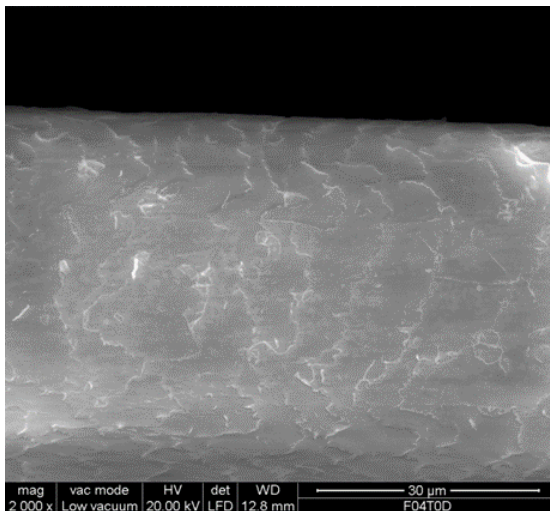


Figura 68 - T0 ciocca decolorata F0.4 - 2000x

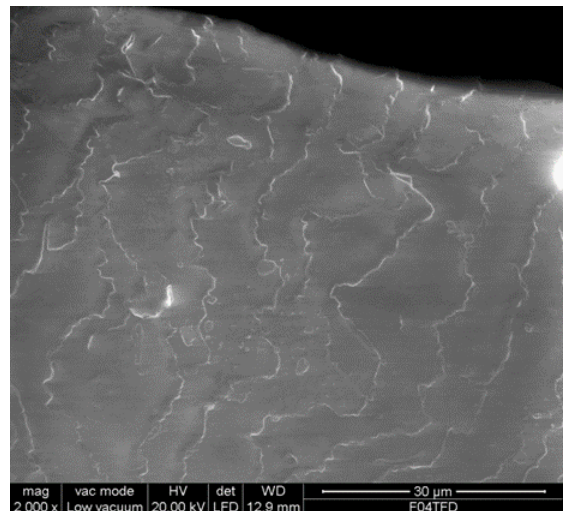


Figura 69 - TF ciocca decolorata F0.4 - 2000x

Dopo trattamento con la formula F0.4, su ciocca decolorata, viene evidenziato un evidente peggioramento dello stato del capello. Le immagini riportate nelle figure 66,67,68,69 dimostrano come Poliquaternium-37 all'1% non si dimostri efficace nel condizionare un capello trattato precedentemente con uno shampoo alcalino. Sericina Integra, ad entrambe le concentrazioni dimostra miglioramenti più marcati.

Polyquaternium-37, in quanto polimero cationico, in associazione con l'emulsionante cationico, può fungere, come suggerito da Patel⁴⁴, da agente antistatico. Inoltre, può provvedere ad un

⁴⁴ C.U Patel, "Anti-static properties of some cationic polymers used in hair care products", Int. J. Cosmet. Sci, Vol 5, 181-188, 1983.

miglioramento dello stato dei capelli ricci e del mantenimento dell'arricciatura effettuata in salone professionale.

Formula F0.5

La formula F0.5 rappresenta il penultimo step, per la realizzazione del prodotto finito. Essa deriva dalla formula F0.1, funzionalizzata con l'inserimento del modificatore reologico Polyquaternium-37 in concentrazione dello 0.5%. Permette una valutazione di sinergia dell'effetto condizionante delle tre molecole in essa contenute: l'emulsionante cationico, il polimero cationico e Sericina Intgra.

Ciocca trattata

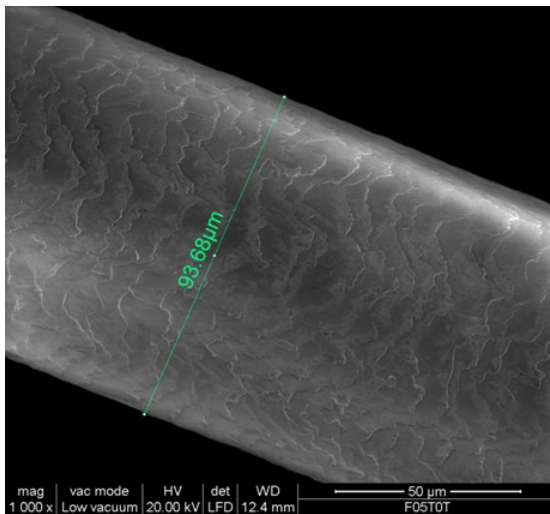


Figura 70 - T0 ciocca trattata F0.5 - 1000x

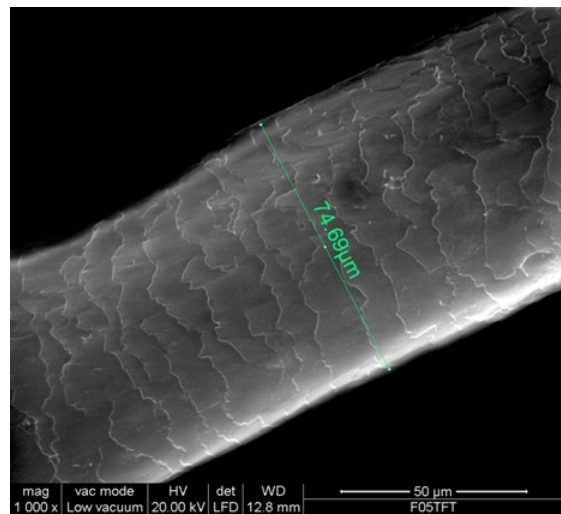


Figura 71 - TF ciocca trattata F0.5 - 1000x

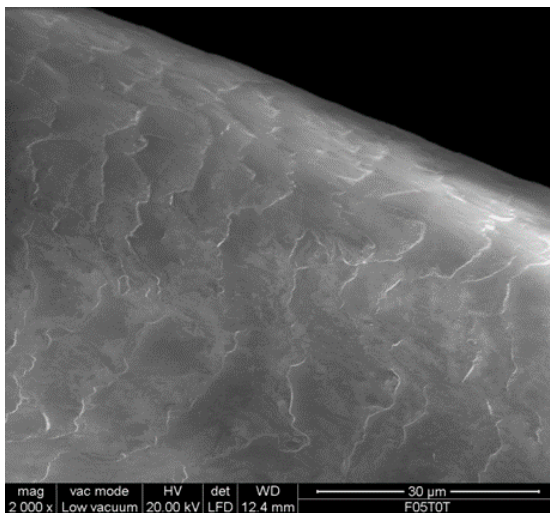


Figura 72 - T0 ciocca trattata F0.5 - 2000x

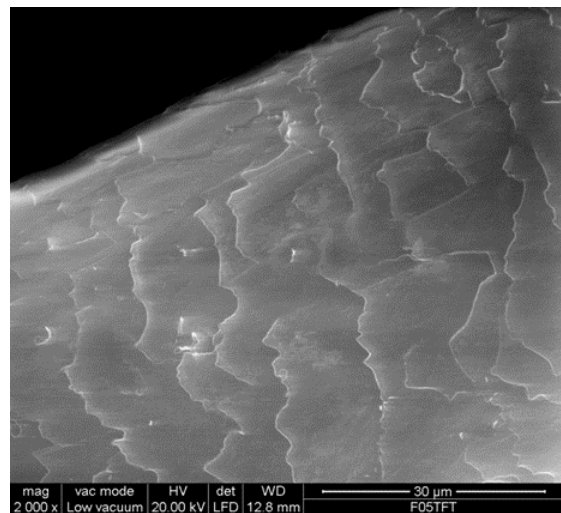


Figura 73 - TF ciocca trattata F0.5 - 2000x

Le immagini 70,71,72 e 73 dimostrano come la struttura del capello appaia alterata dopo il trattamento con il prodotto F0.5. Il capello non appare ancora allo stato ottimale.

Ciocca decolorata

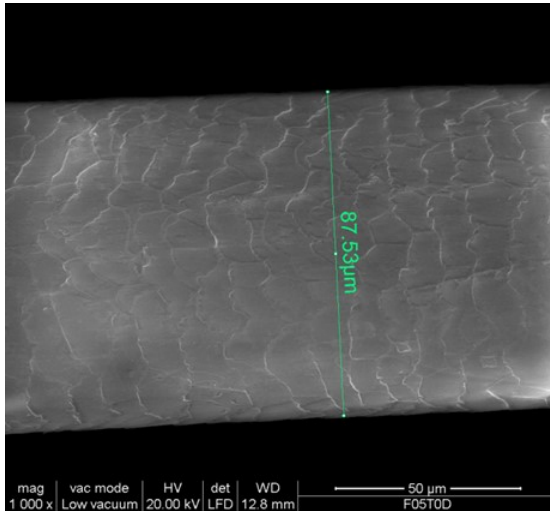


Figura 74 - T0 ciocca decolorata F0.5 -1000x

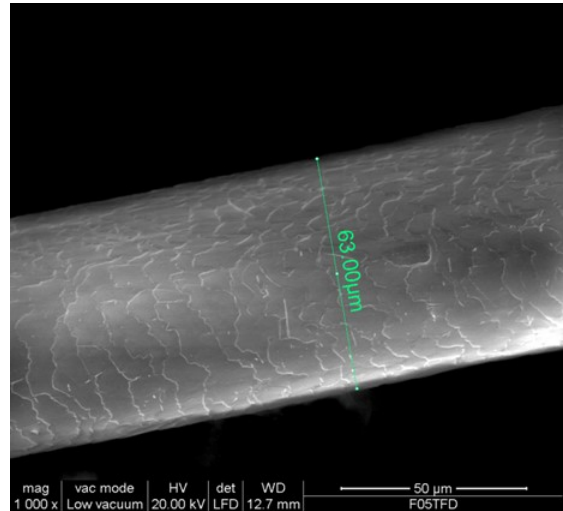


Figura 75 - TF ciocca decolorata F0.5 - 1000x

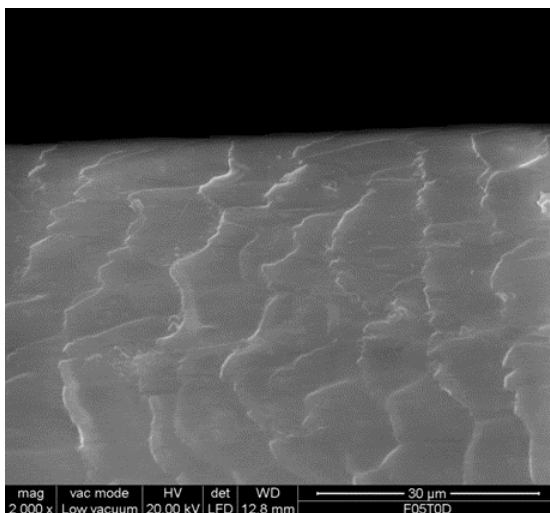


Figura 76 - T0 ciocca decolorata F0.5 - 2000x

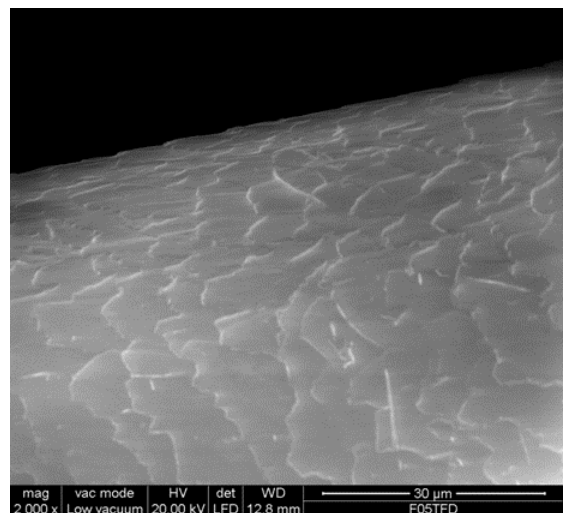


Figura 77 - TF ciocca decolorata F0.5 - 2000x

Anche nella ciocca decolorata, dopo trattamento con prodotto F0.5 (figure 75,77), non sussistono particolari variazioni alla struttura del capello. Le cuticole subiscono un miglioramento nella disposizione nella fibra. Va comunque evidenziato che lo stato iniziale della fibra è buono. Non appaiono fenomeni evidenti di degradazione della fibra capillare e dunque la lettura appare inficiata. Di fatto le immagini 74 e 76 dimostrano come la cuticola non appaia evidentemente danneggiata o sollevata e come la struttura sia omogenea o comunque non presenti elementi di criticità. Dalle immagini ottenute non può così esser determinata la reale efficacia del trattamento F0.5.

L'eventuale effetto sinergico tra Polyquaternium-37 allo 0.5% e Sericina Integra all'1% non può dunque esser considerato effettivo. Presumibilmente, il ripristino della struttura del capello, dopo

l'applicazione di uno shampoo alcalino che sicuramente ha sollevato la cuticola, è dovuto alla sola presenza di Sericina Integra nella formula.

Formula F1

La formula F1 rappresenta il prodotto finale, quello che dovrebbe essere commercialmente più valido. La formula F0.5 è stata ulteriormente funzionalizzata con una fragranza ed una fase dispersa quantitativamente maggiore, costituita da un insieme di oli e burri che hanno lo scopo di nutrire e rendere l'aspetto del capello migliore.

Ciocca trattata

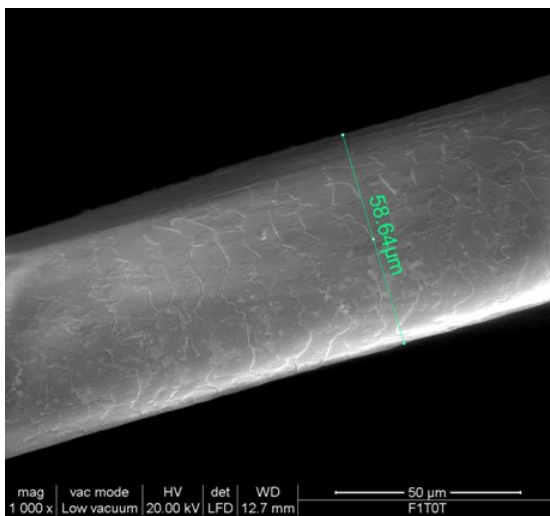


Figura 78 - T0 ciocca trattata F1 - 1000x

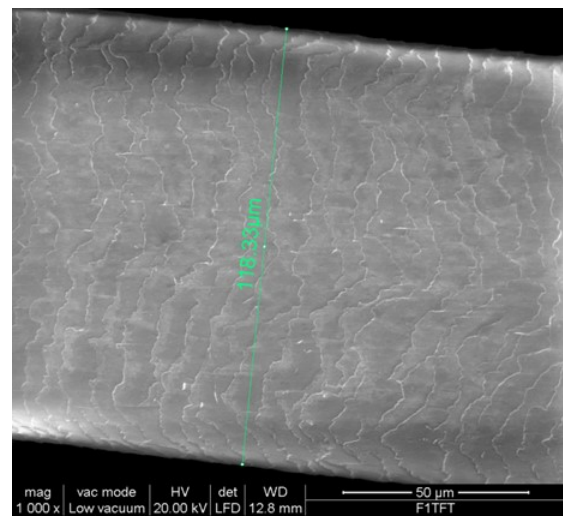


Figura 79 - TF ciocca trattata F1 - 1000x

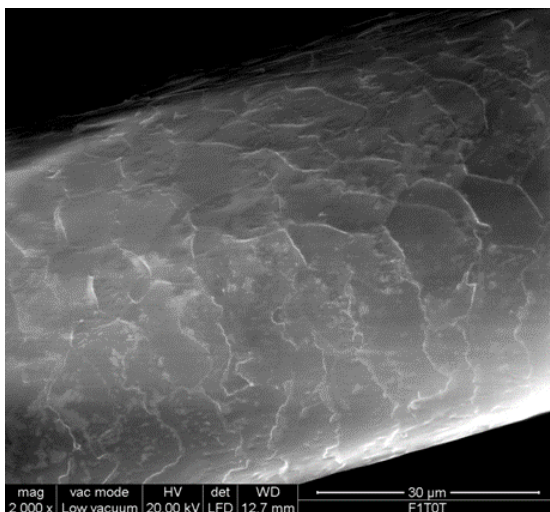


Figura 80 - T0 ciocca trattata F1 - 2000x

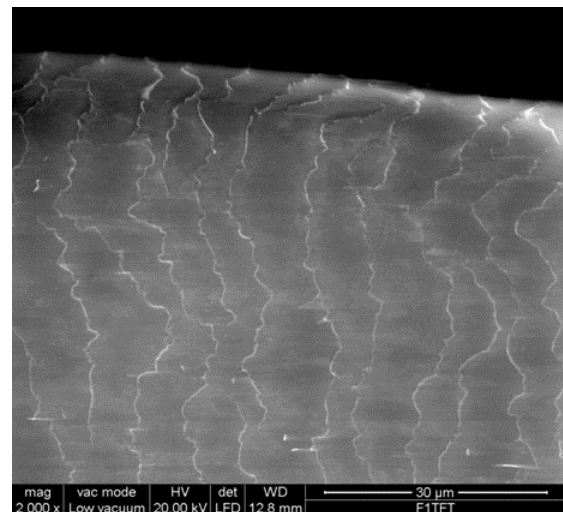


Figura 81 - TF ciocca trattata F1 - 2000x

Dalle immagini 78,79,80 e 81 è evidente come il prodotto finale porti ad un notevole miglioramento, dopo solo tre applicazioni, alla struttura generale del capello. Lo stato risulta ancora non ottimale.

La cuticola dapprima rialzata e con un principio di evidente sfaldamento (figura 80), si rinalda e diviene molto più regolare dopo il trattamento (figura 81).

Ciocca decolorata

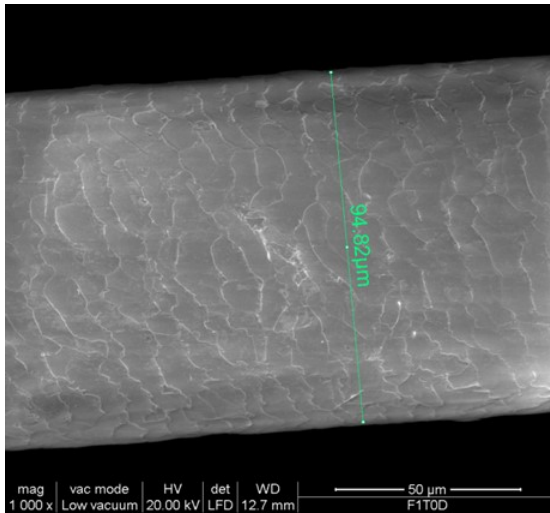


Figura 82 - T0 ciocca decolorata F1 - 1000x

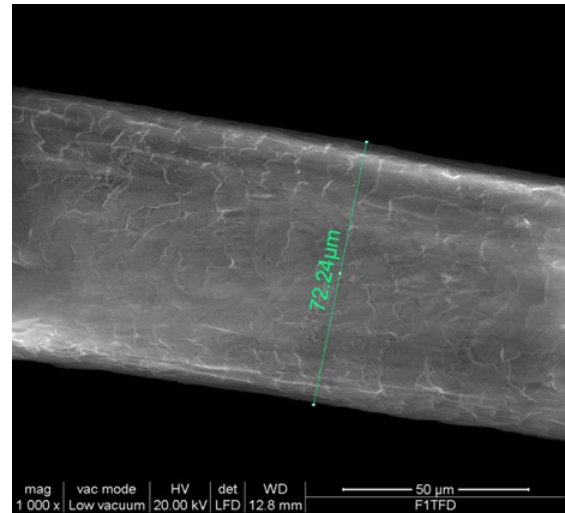


Figura 83 - TF ciocca decolorata F1 - 1000x

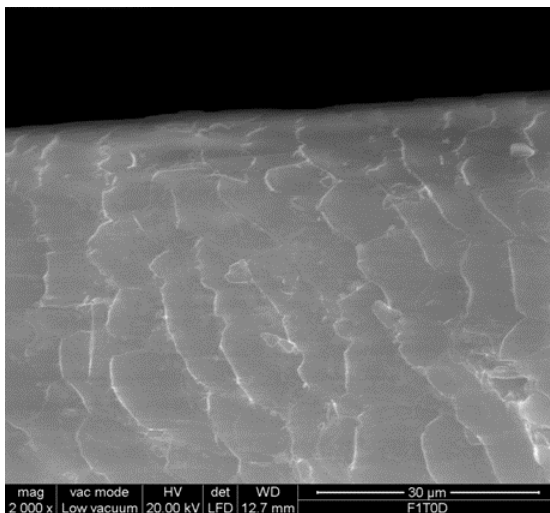


Figura 84 - T0 ciocca decolorata F1 - 2000x

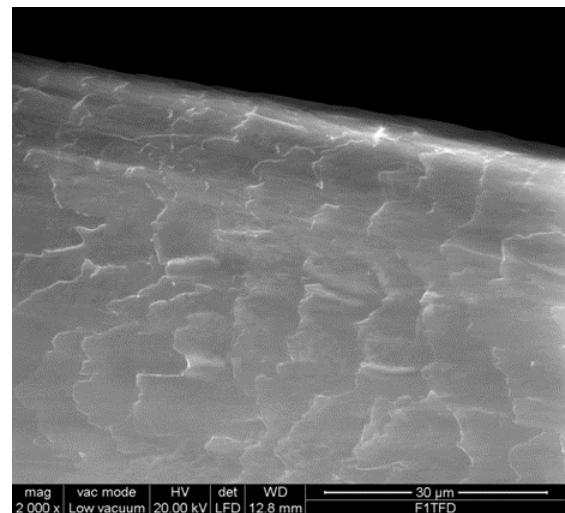


Figura 85 - TF ciocca decolorata F1 - 2000x

Anche sulla ciocca decolorata, si osserva (figure 82,83,84,85) un miglioramento a livello della cuticola. Il miglioramento risulta meno evidente rispetto l'effetto di F1 sulla ciocca trattata.

Sicuramente l'applicazione del prodotto F1 consente di notare, al microscopio elettronico a scansione ambientale, il risultato migliore, tra tutti quelli verificati. La fase dispersa dell'emulsione, costituita da oli e burri, assicura emollienza al capello e lo condiziona ulteriormente.

L'effetto della sola proteina Sericina Integra non assicura, dopo tre applicazioni, un miglioramento evidente della struttura della fibra capillare, se quindi non accompagnata da una frazione lipidica consistente.

La maschera condizionante per capelli, qui valutata, rappresenta dunque un buon veicolo per la proteina oggetto del presente studio.

3.4 ANALISI SENSORIALE – “SALOON TEST”

3.4a GRADEVOLEZZA COSMETICA E ANALISI SENSORIALE

La formulazione dei moderni cosmetici non può prescindere da un’attenta valutazione delle proprietà sensoriali. L’insieme delle sensazioni, definite come estetica del prodotto, suscitate assieme alle caratteristiche essenziali di sicurezza ed efficacia, rendono un prodotto attraente per il cliente finale.

L’industria cosmetica, per questo motivo, ha investito risorse per sviluppare sistemi di analisi oggettivi che, basandosi sulle valutazioni sensoriali di un gruppo di persone addestrate, possano prevedere l’impatto del prodotto sul mercato.

L’analisi sensoriale⁴⁵ si prefigge lo scopo di interpretare le sensazioni evocate dai prodotti nei consumatori rappresentando, quindi, uno strumento imprescindibile, per valutare e supportare i claims dichiarati. Per alcune proprietà del cosmetico, infatti, non esistono unità di misura fisiche precise, inerenti ad esempio l’aspetto liscio, luminoso, vellutato e soffice di pelle e capelli, o le “caratteristiche di untuosità al tatto” o la gradevolezza di un profumo.

Lo studio sensoriale, se ben svolto ed applicato, consente di comprendere le motivazioni che avvicinano i consumatori al prodotto, svelando meccanismi reali, fantasie e aspettative su cui si basano le scelte.

L’uomo rappresenta lo strumento di misurazione dell’analisi e i parametri presi in considerazione sono valutati attentamente attraverso i 5 sensi. I *panelisti* sono valutatori istruiti, capaci di quantificare oggettivamente la percezione sensoriale in condizioni standard e sono attentamente seguiti da un *panel leader*.

La valutazione che ne deriva fa riferimento a due componenti fondamentali, la prima di carattere *sensoriale* (valutazione della qualità ed intensità di sensazione evocata dal prodotto), l’altra di carattere *edonistico* (legata alla soggettività del panelista).

A seconda di queste due componenti il test sensoriale può subire una prima classificazione in:

- *Test quali-quantitativi*: descrivono in modo oggettivo le sensazioni evocate dal prodotto utilizzando “descrittori oggettivi”;
- *Test edonistici*: descrivono in modo soggettivo la gradevolezza evocata dal cosmetico, utilizzando domande a carattere personale.

⁴⁵ A. Bovero, “Dermocosmetologia. Dall’inestetismo al trattamento cosmetico”, Tecniche Nuove, 111-112, 2011.

I test possono essere poi distinti in:

- *Test discriminativi*: test piuttosto semplici ed utilizzati nelle fasi di sviluppo di nuovi cosmetici. Ad esempio consentono di capire se l'aggiunta di un nuovo ingrediente ad una formula può determinare variazioni alla gradevolezza. Per questo tipo di test non sono utilizzati valutatori eccessivamente addestrati;
- *Test descrittivi*: sono più complessi dei test discriminativi, richiedono valutatori preparati in grado di utilizzare "descrittori oggettivi" per fornire la descrizione completa del profilo sensoriale. Normalmente richiedono tre valutazioni sequenziali, prima – durante – dopo l'applicazione del prodotto;
- *Test edonistici*: sono test condotti direttamente a casa da volontari, ai quali vengono forniti il prodotto e un apposito questionario contenente precise istruzioni di utilizzo. Rappresenta una valutazione individuale del prodotto nella sua totalità senza pretese di risultati quali-quantitativi delle singole sensazioni evocate.

3.4b SALOON TEST

Il panel test che ho scelto di utilizzare per ottenere una valutazione sensoriale del prodotto "*trattamento sericina 1%*" è un test descrittivo professionale, svolto in saloni di parrucchieri, e condotto da personale qualificato in grado di giudicare oggettivamente i "descrittori" del prodotto. Ai parrucchieri è stato affidato il prodotto da utilizzare corredato da una scheda operativa (v. allegato A) con la richiesta di effettuare il trattamento, una sola volta, su almeno 4 volontari ciascuno, aventi tipologie differenti di capello. Si è scelto di operare utilizzando "*trattamento sericina 1%*" solo su metà della testa. Nell'altra metà veniva utilizzato un prodotto "benchmark", come riferimento, sempre fornito dall'azienda. I professionisti, tuttavia, non erano a conoscenza di quale prodotto stessero utilizzando.

Come "benchmark" si è scelto di utilizzare un prodotto che potesse essere un diretto marketing-competitor di "*trattamento sericina 1%*" e che presentasse in etichetta gli stessi claims proposti per il prodotto oggetto di discussione del presente studio. Il "benchmark" scelto è il prodotto "*300 – Trecento Revitalising Hair Treatment*" commercializzato dal marchio *HER – Haircare Rituals*. Si tratta di una maschera ristrutturante rivolta a tutti i tipi di capello, che può essere utilizzata sia pre-shampoo, che post-shampoo a seconda della tipologia di esigenza. Tale prodotto è stato oggetto di studio strumentale, sempre attraverso SEM, ed è stata dimostrata la reale efficacia come ristrutturante del capello.

Ai parrucchieri sono state proposte due tipi di analisi:

- Una prima analisi sensoriale per entrambi i prodotti utilizzati, a carattere descrittivo, corredata da una precedente scheda per determinare il profilo del capello su cui si stava per eseguire il test.
- Una seconda analisi complessiva di carattere edonistico con una valutazione soggettiva sulla performance dei prodotti utilizzati.

Nell'analisi sensoriale descrittiva, è stata fatta una valutazione su parametri oggettivi, chiedendo un giudizio da 1 a 5, durante l'applicazione, prima dell'asciugatura e dopo l'asciugatura dei capelli. Più precisamente i descrittori utilizzati sono stati:

- Distribuzione: valutazione della facilità di stendere il prodotto sui capelli;
- Risciacquabilità: valutazione della facilità di risciacquo del prodotto dai capelli;
- Pettinabilità: valutazione della capacità di districare i capelli;
- Aspetto globale: valutazione di quanto è migliorato visibilmente il capello;
- Lucentezza: valutazione di quanto risulta più brillante il capello;
- Morbidezza: valutazione al tocco di quanto è morbido il capello.

Nella valutazione globale dei prodotti, i descrittori hanno assunto un carattere più soggettivo o edonistico, ma comunque proiettato al giudizio (sempre da 1 a 5) di un professionista. Le domande poste al parrucchiere hanno riguardato:

- La gradevolezza del prodotto dopo e durante l'utilizzo;
- L'efficacia percepita dopo una sola applicazione;
- La praticità di utilizzo;
- La quantificazione di quanto le aspettative riposte nel prodotto siano state soddisfatte;
- La gradevolezza della profumazione;
- Un'indicazione di quanto il prodotto possa esser consigliato al cliente.

Come spiegato al paragrafo precedente, un test così condotto può fornire un'indicazione del successo dell'immissione in commercio di *"trattamento sericina 1%"*, e al contempo, indagando anche l'utilizzo su varie tipologie di capello, può esser utile per apportare valide informazioni in etichetta o per veicolare il prodotto verso determinati claims.

Anche "l'efficacia percepita dopo una sola applicazione", ritengo sia una domanda chiave che fornisce un'indicazione importante per la predizione del successo sul mercato.

Il confronto, infine, con un secondo prodotto, può fornire precise informazioni sulla "bontà" della formulazione finale del prodotto qui oggetto della discussione.

In ultima, prima di passare alla discussione dei risultati ottenuti, è doveroso, per onestà intellettuale, riportare i nomi dei saloni dei parrucchieri che hanno partecipato all'analisi sensoriale qui descritta e sono:

- "Salone Espressioni" di Manuela Broccardo, Santorso (Vicenza)
- "Salone Ginger Group" di Mauro Galzignato, Thiene (Vicenza)
- "Salone l'Anglè", di Elisabetta Arnaldi, Molina di Malo (Vicenza)
- "Salone Piccadilly Style" di Monica Zanella, Schio (Vicenza)

In allegato A si riporta la scheda operativa consegnata ai professionisti e redatta con la collaborazione del Dott. A. Gion, psicologo ed esperto in psicometria.

3.4c RISULTATI E DISCUSSIONE

Prima di procedere alla dimostrazione dei risultati ottenuti, è utile fare una distinzione tra i due prodotti cosmetici utilizzati, evidenziandone eventuali analogie o differenze. A tal fine ci viene in aiuto la formula INCI dei due prodotti.

INGREDIENTS: AQUA (WATER), BUTYROSPERMUM PARKII (SHEA BUTTER), CETEARYL ALCOHOL, BASSIA BUTYRACEA SEED BUTTER, BIS-ETHYL PPG- BEHENATE DIMONIUM METHOSULFATE, SERICIN, CRAMBE ABYSSINICA SEED OIL, ORBIGNYA OLEIFERA SEED OIL, SIMMONDSIA CHINENSIS (JOJOBA) SEED OIL, ZEA MAYS (CORN) GERM OIL, DAUCUS CAROTA SATIVA (CARROT) ROOT EXTRACT , HELIANTHUS ANNUUS (SUNFLOWER) SEED OIL, ROSMARINUS OFFICINALIS (ROSEMARY) LEAF EXTRACT, BEHENAMIDOPROPYL DIMETHYLAMINE, POLYQUATERNIUM-37, PHENOXYETHANOL, ETHYLHEXYLGLYCERIN, PARFUM (FRAGRANCE).

INCI 300-TRECENTO NATURAL HAIR TREATMENT

INGREDIENTS: AQUA (WATER), CETEARYL ALCOHOL, BASSIA BUTYRACEA SEED BUTTER, ELAEIS GUINEENSIS (PALM) OIL, BEHENAMIDOPROPYL DIMETHYLAMINE, DIVINYLDIMETHICONE DIMETHICONE COPOLYMER, BUTYROSPERMUM PARKII (SHEA BUTTER), MACADAMIA TERNIFOLIA SEED OIL, CYSTINE BIS-PG-PROPYL SILANETRIOL, OLEA EUROPAEA (OLIVE) LEAF EXTRACT, ORBIGNYA OLEIFERA SEED OIL, ZEA MAYS (CORN) GERM OIL, PANAX GINSENG ROOT EXTRACT, HYDROLYZED SOY PROTEIN, HYDROLYZED WHEAT PROTEIN, CHONDRUS CRISPUS (CARRAGEENAN), ORYZA SATIVA (RICE) STARCH, JUGLANS REGIA (WALNUT) SHELL EXTRACT, DAUCUS CAROTA SATIVA (CARROT) ROOT EXTRACT, CYPERUS PAPYRUS STEM EXTRACT, COFFEA ROBUSTA SEED EXTRACT, CHAMOMILLA RECUTITA (MATRICARIA) FLOWER EXTRACT, CALENDULA OFFICINALIS FLOWER EXTRACT, ROSMARINUS OFFICINALIS (ROSEMARY) LEAF EXTRACT, HELIANTHUS ANNUUS (SUNFLOWER) SEED OIL, PANTHENOL, SACCHARIDE ISOMERATE, LECITHIN, LINOLEAMIDOPROPYL PG-DIMONIUM CHLORIDE PHOSPHATE, TOCOPHERYL ACETATE, TOCOPHEROL, GLYCOLIPIDS, POLYQUATERNIUM-37, BUTYLENE GLYCOL, ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE, DIMETHYLMETHOXY CHROMANOL, TRIPEPTIDE-1, ACRYLATES/C10-30 ALKYL ACRYLATES CROSSPOLYMER, XANTHAN GUM, PROPYLENE GLYCOL, LACTIC ACID, GLYCERIN, C12-13 PARETH-23, C12-13 PARETH-3, CAPRYLYL GLYCOL, GLUCONOLACTONE, PHENOXYETHANOL, SODIUM BENZOATE, TRIETHANOLAMINE, LINALOOL, LIMONENE, CITRONELLOL, PARFUM (FRAGRANCE).

Da un primo sguardo possiamo già intuire come il benchmark (tabella 1) sia un prodotto con una formula più ricca e forse più completa, o quanto meno omologata a moltissimi altri prodotti presenti in commercio, rispetto a quella di *“trattamento sericina 1%”*, che risulta invece apparentemente povera.

Tabella 1 – Funzionalizzazione ingredienti 300- Hair treatment			
Ingrediente	Funzione	Ingrediente	Funzione
Aqua	Solvente	Cyperus Papyrus Stem Extract	Attivo
Cetearyl Alcohol	Fattore di consistenza	Coffea Robusta Seed Extract	Attivo
Bassia Butyracea Seed Butter	Emolliente	Chamomilla Recutita (Matricaria) Flower Extract	Attivo
Elaeis Guineensis (Palm) Oil	Emolliente	Calendula Officinalis Flower Extract	Attivo
Behenamidopropyl Dimethylamine	Emulsionante Cationico	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Extract	Antiossidante
Divinyldimeticone/ Dimeticone Copolymer	Agente Emolliente E Condizionante	Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Oil	Emolliente
Butyrospermum Parkii (Shea Butter)	Emolliente	Panthenol	Attivo Idratante
Macadamia Ternifolia Seed Oil	Emolliente	Saccharide Isomerate	Attivo Idratante
Cystine Bis-Pg-Propyl Silanetriol	Attivo	Lecithin	Stabilizzante
Olea Europaea (Olive) Leaf Extract	Emolliente	Linoleamidopropyl Pg-Dimonium Chloride Phosphate	Condizionante
Orbignya Oleifera Seed Oil	Emolliente	Tocopheryl Acetate	Antiossidante
Zea Mays (Corn) Germ Oil	Emolliente	Tocopherol	Antiossidante
Panax Ginseng Root Extract	Attivo	Glycolipids	Attivo
Hydrolyzed Soy Protein	Idratante	Polyquaternium-37	Modificatore Reologico/ Condizionante
Hydrolyzed Wheat Protein	Idratante	Butylene Glycol	Umettante
Chondrus Crispus(Carrageenan)	Stabilizzante	Ethylhexyl Methoxycinnamate	Filtro Solare
Oryza Sativa (Rice) Starch	Idratante	Dimethylmethoxy Chromanol	Antiossidante
Juglans Regia (Walnut) Shell Extract	Attivo	Tripeptide-1	Attivo
Daucus Carota Sativa (Carrott) Root Extract	Attivo	Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylates Crosspolymer	Modificatore Reologico

Caprylyl Glycol	Umettante	Xanthan Gum	Modificatore Reologico
Gluconolactone	Preservante	Propylene Glycol	Umettante
Phenoxyethanol	Preservante	Glycerin	Umettante
Sodium Benzoate	Preservante	C12-13 Pareth-23	Surfattante
Triethanolamine	Regolatore Di pH	C12-13 Pareth-3	Surfattante
Linalool	Allergene Del Profumo		
Limonene	Allergene Del Profumo		
Citronellol	Allergene Del Profumo		
Parfum	Profumo		

Il benchmark, come è facile prevedere, contiene una componente lipidica, data da oli e cere con funzione emolliente e nutriente, più ricca in numero ed in percentuale rispetto il prodotto oggetto di studio; 300 presenta, inoltre, “cystine bis-pg-propyl silanetriol”, un attivo capace di prevenire e ristrutturare la cuticola del capello danneggiata, grazie al contenuto per l'appunto di cistina in grado di rinsaldare la cuticola mediante interazione disolfurica (-S-S-). Il benchmark contiene alcuni estratti probabilmente a scopo marketing (come estratto di ginseng, proteine idrolizzate di soia e germe di grano...) mentre altri con ricercata attività. “Cyperus papyrus stem extract” e “Coffea robusta seed extract”, ad esempio, sono due estratti dei quali è dimostrata l'azione fortificante ed idratante per il primo, stimolante e rivitalizzante per il cuoio capelluto nel secondo, dovuto al contenuto di caffeina. Sempre secondo le schede marketing fornite, si evidenzia come 300-Natural Hair treatment contenga un veicolo liposomiale direzionante attivi anti-invecchiamento che rendono il capello più resistente, lo protegge dall'azione dei radicali liberi e lo condiziona. Il liposoma incorpora un fosfolipide cationico, fornente una carica elettrica positiva che permette l'aggancio alla fibra del capello e direziona gli “attivi”: estratto di noce, vitamina E acetato, etilesil metossicinnamato, estratto di camomilla ed olio di calendula.

Il profumo contenuto nel prodotto 300, contiene sicuramente allergeni, come indicato chiaramente in etichetta (linalool, limonene, citronellol), al contrario del profumo contenuto in “trattamento sericina 1%”.

Per quanto riguarda gli emulsionanti, in entrambi i casi sono di tipo cationico, molto utilizzati, infatti, quando si vuol ottenere un prodotto performante sulla fibra capillare. In tal caso “trattamento sericina 1%” utilizza la miscela di “bis-ethyl ppg- behenate dimonium methosulfate e behenamidopropyl dimethylamine”, mentre il competitor solamente “behenamidopropyl dimethylamine”. Come detto precedentemente (capitolo 2 paragrafo 2.1a), la miscela emulsionante contenuta in “trattamento sericina 1%” assicura bassa tossicità acquatica.

Un notevole elemento di differenza tra i due prodotti però, è dato dalla presenza nel competitor del seguente ingrediente: divinyl dimethicone dimethicone copolymer, polimero siliconico presente in formula in quantità notevole. I siliconi sono ingredienti vincenti e performanti nei prodotti per capelli, in quanto assicurano pettinabilità, lucentezza e districabilità del capello, sono considerati emollienti, formanti un film su tutta la superficie della fibra capillare. È difficile ottenere una performance paragonabile ai composti siliconici con altri attivi presenti in commercio, se non utilizzandoli direttamente in formula.

I risultati, per entrambe le analisi, verranno elencati nel seguente modo:

- grafico di confronto tra i due prodotti per ogni salone;
- grafico di confronto tra i due prodotti finali;
- grafico di confronto tra i due prodotti per classe di capello (secco, normale, sfibrato, riccio-mosso);
- grafico di confronto del solo trattamento sericina per classe di capello.

I giudizi sono misurati in una scala di valori da 1 a 5, a seconda del grado di soddisfazione raggiunto:

- 1: per niente
- 2: poco
- 3: abbastanza
- 4: molto
- 5: moltissimo

ANALISI SENSORIALE

Si riportano i grafici di confronto tra i due prodotti per ogni salone.

Figura 86 - valutazione sensoriale Salone Espressioni

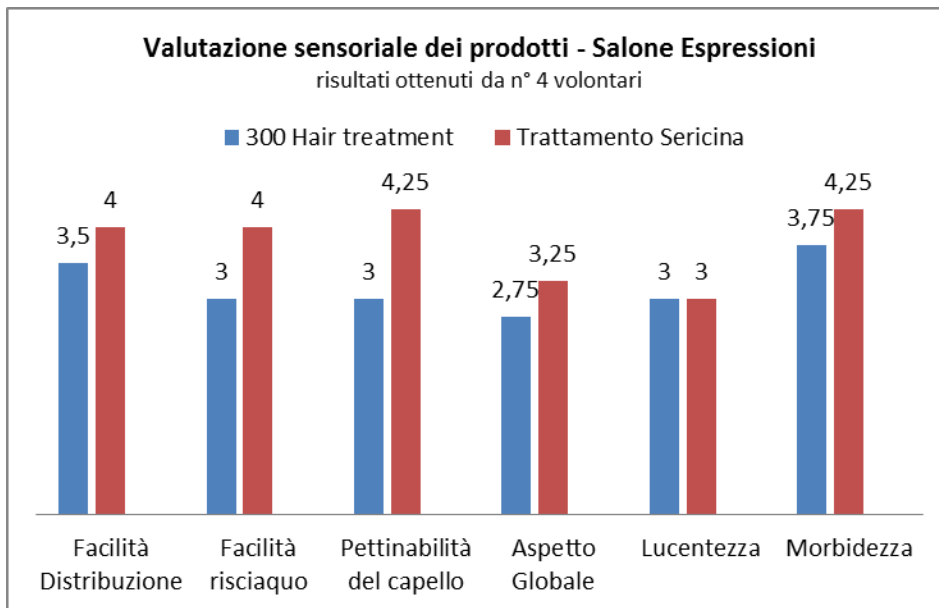


Figura 87 - valutazione sensoriale Salone Ginger Group

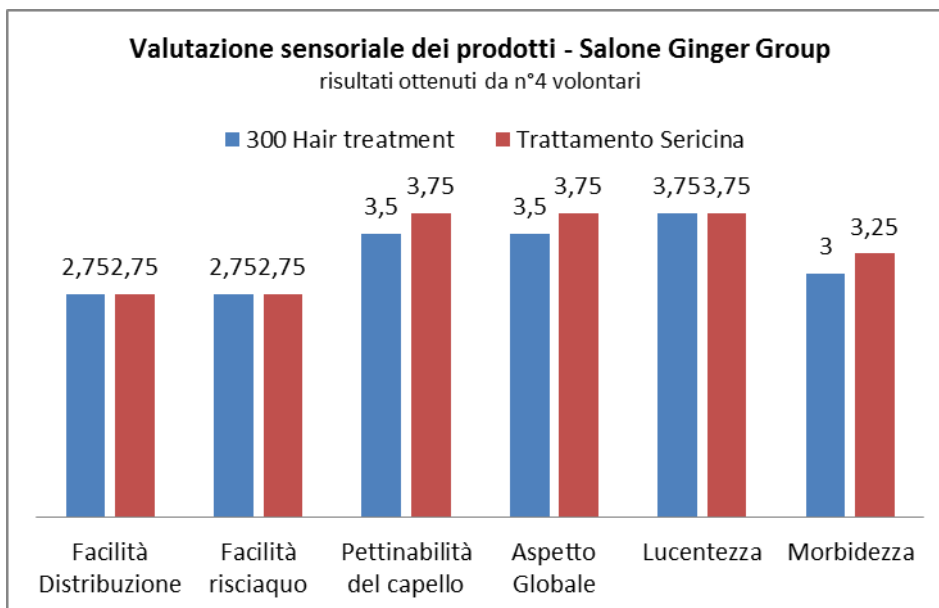


Figura 88 -valutazione sensoriale Salone L'Anglè

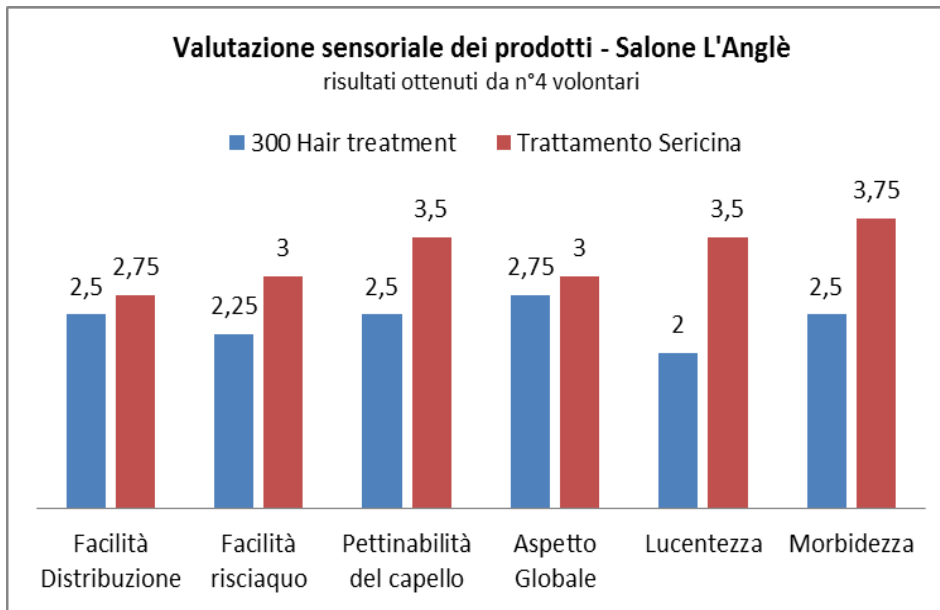
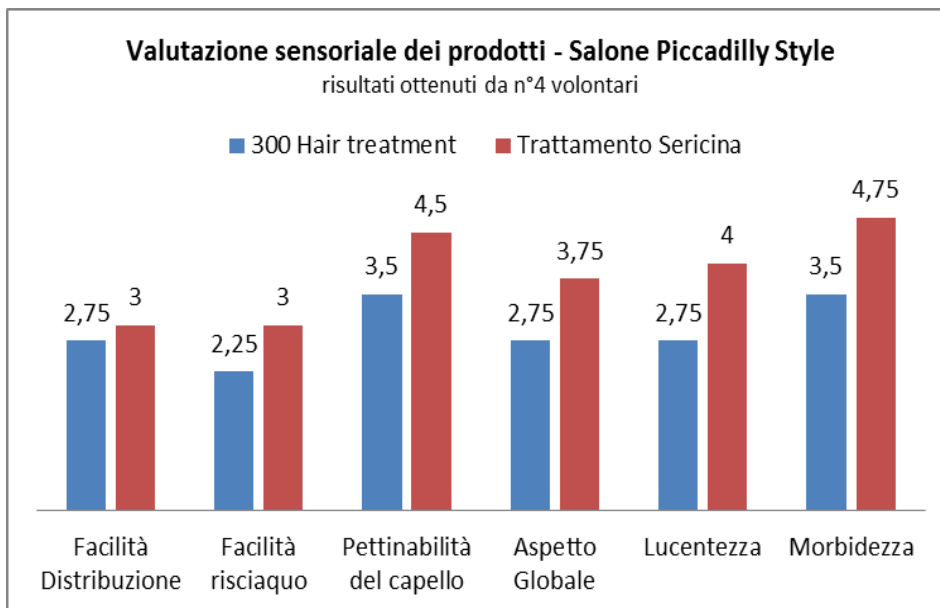


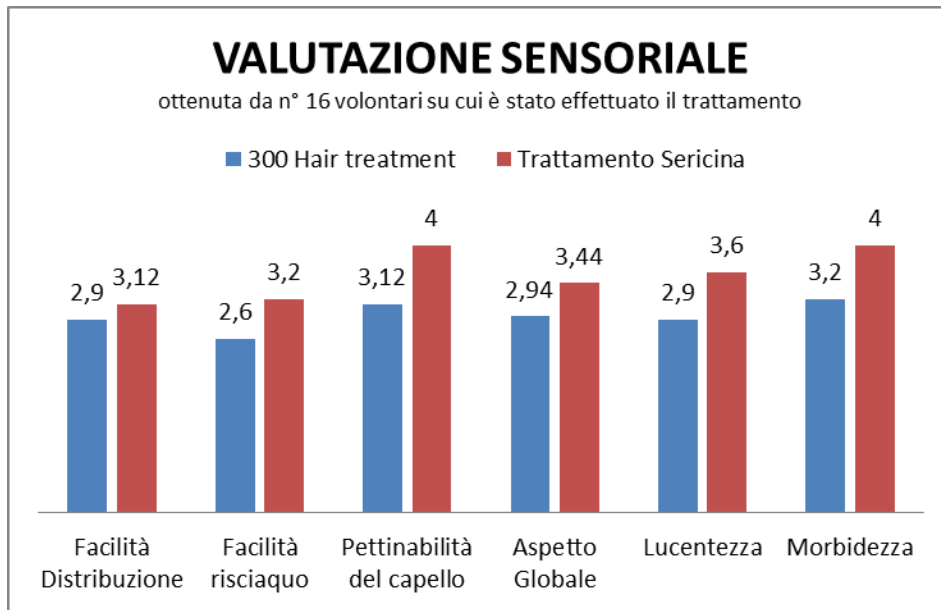
Figura 89 -valutazione sensoriale Salone Piccadilly Style



Come si può evincere dagli istogrammi sopra riportati (Fig. 86-87-88-89), si evidenzia sempre un trend positivo, o comunque non inferiore, per *“trattamento sericina 1%”* rispetto il competitor. Questo mette in evidenza come ogni professionista abbia dato una valutazione concorde con gli altri colleghi, rendendo il giudizio apprezzabile da un punto di vista *“quali-quantitativo”*.

Dal grafico invece di seguito riportato (Fig. 90), che mette in relazione i risultati ottenuti dalla media dei giudizi dei parrucchieri, si può confermare che *“trattamento sericina 1%”* da risultati migliori per ogni descrittore utilizzato, rispetto il competitor.

Figura 90 - valutazione sensoriale ottenuta dalla media dei giudizi dei 4 saloni che hanno effettuato il trattamento su 16 volontari totali



“Trattamento sericina 1%” rispetto “300-Hair treatment” da migliori effetti in termini di pettinabilità del capello, aspetto globale, lucentezza e morbidezza. Possiamo assumere quindi che, nonostante la formula qui oggetto di discussione non contenga al suo interno polimeri siliconici, la proteina sericina utilizzata in quantità dell’1% sia in grado di “bio-aderire” alla fibra capillare, creando un sottile film, che riesce comunque a rendere più pettinabile il capello e più lucente per la diffrazione della luce sulle cuticole in buono stato.

La maggior morbidezza del capello può sempre esser giustificata dalla presenza nella formulazione di oli e cere, che non appesantiscono il capello, ma che insieme alla proteina cooperano positivamente al risultato raggiunto.

Il leggero aumento della facilità di risciacquo può trovare conferma nell’utilizzo in formula di minor numero e quantità di frazione lipidica in “trattamento sericina 1%” rispetto il competitor.

La successiva suddivisione dei risultati, evidenziata dai grafici seguenti (figure 91,92,93,94), è stata possibile grazie alla classificazione del capello operata dai professionisti sulla scheda operativa (vedere ALLEGATO A).

Figura 91 - valutazione sensoriale dei prodotti su capelli secchi

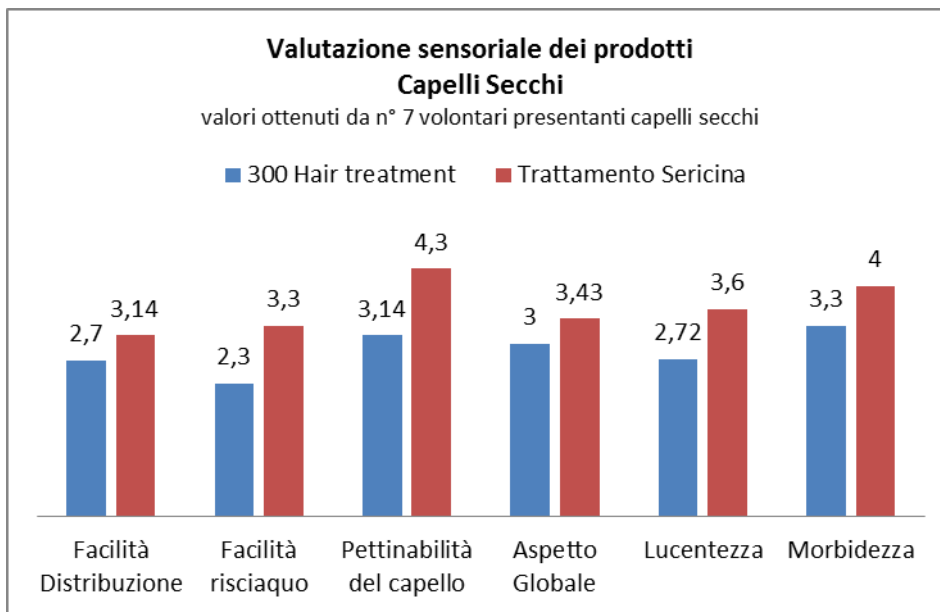


Figura 92 - valutazione sensoriale dei prodotti su capelli normali

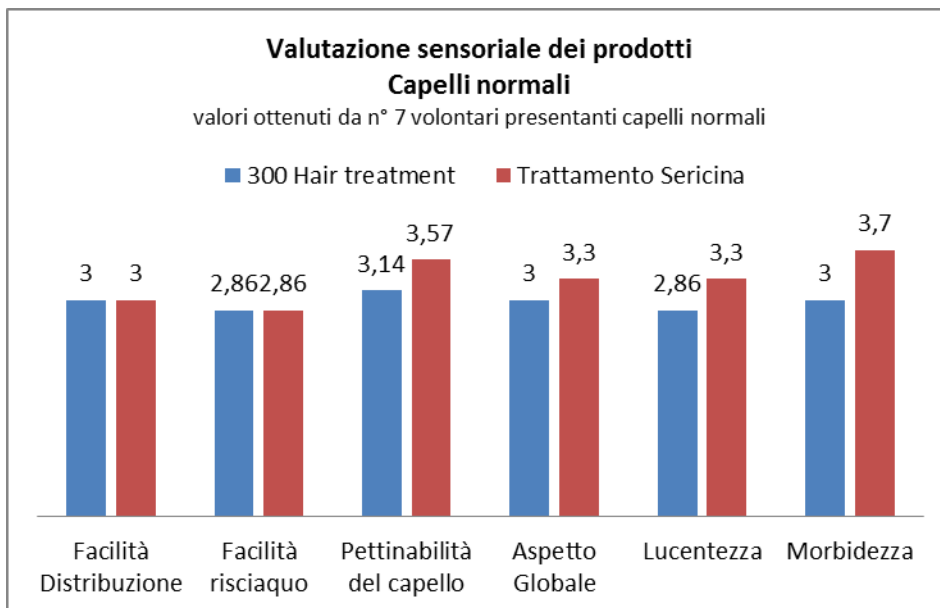


Figura 93 - valutazione sensoriale dei prodotti su capelli sfibrati

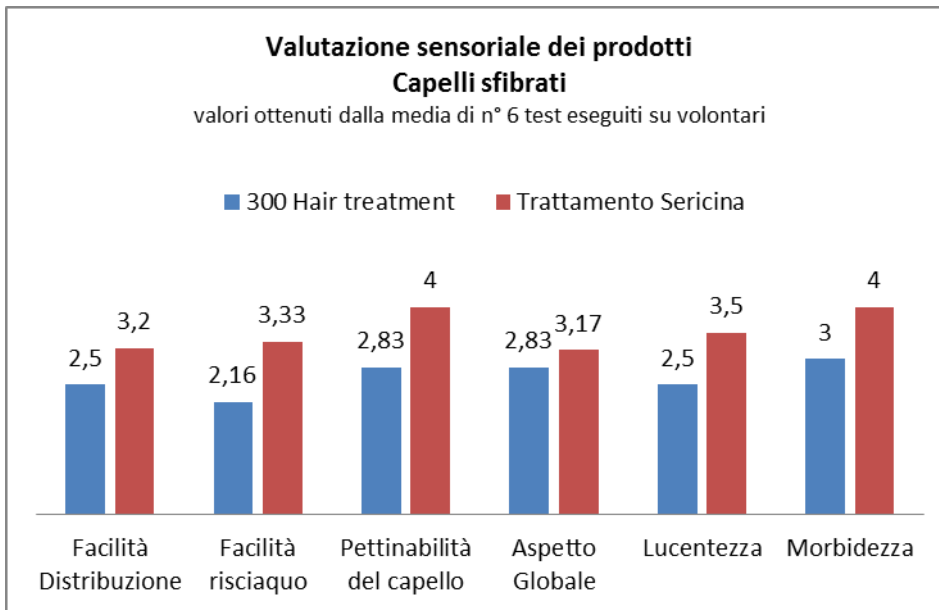
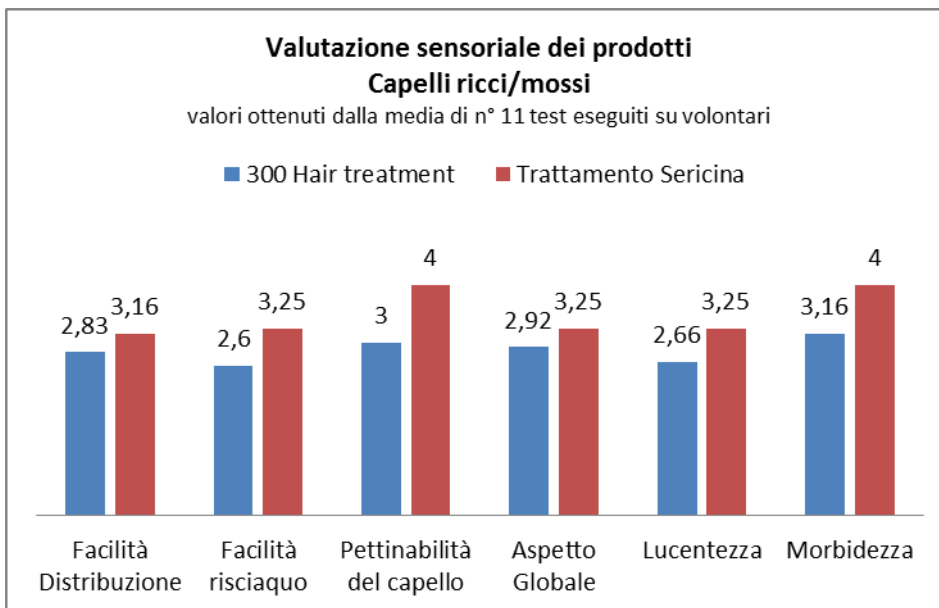
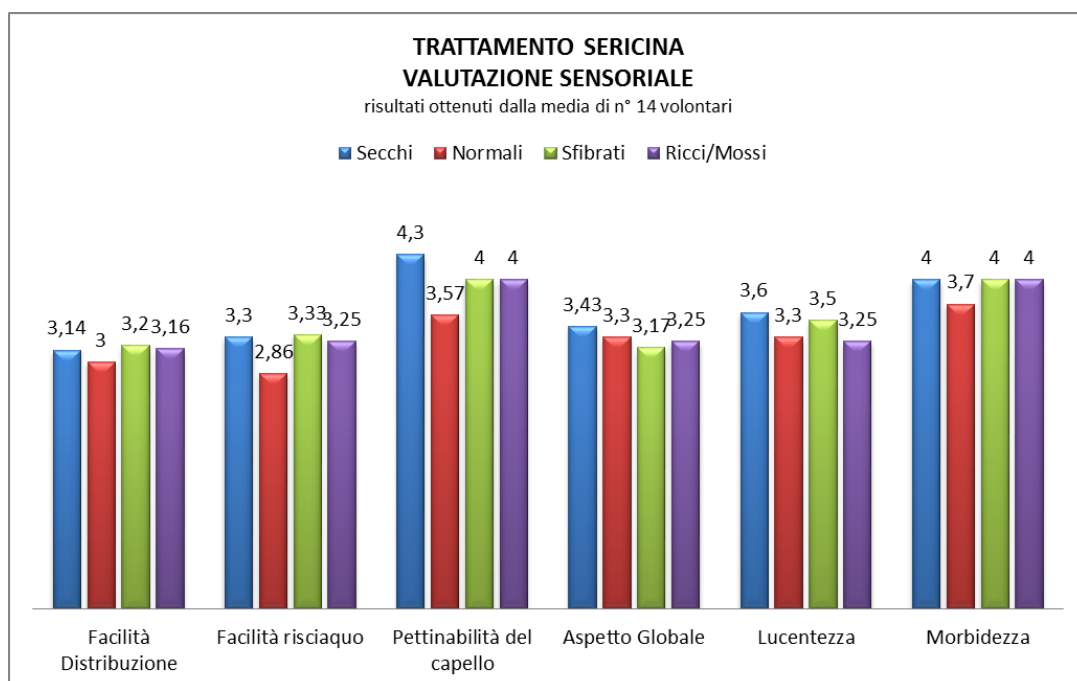


Figura 44 - valutazione sensoriale dei prodotti su capelli ricci/mossi



Da questa classificazione, ancora, si può notare come per tutti quattro gli stati del capello (secco, normale, sfibrato, riccio-mosso), *“trattamento sericina 1%”* sia più performante rispetto il competitor. In figura 95, invece, viene messa in evidenza la differenza diretta di *“trattamento sericina 1%”* e si può, quindi, notare come il prodotto sia sostanzialmente performante su tutti i presenti tipi di capello, ed in particolar modo per quelli secchi, sfibrati e ricci-mossi. Probabilmente un capello normale, equilibrato e quindi sano, non risente spiccatamente dei benefici di tale formulazione, anzi potrebbe risultare *“appesantito”* da un cosmetico così formulato. Inoltre, i migliori risultati sono stati ottenuti in termini di pettinabilità del capello e di morbidezza.

Figura 95 - valutazione sensoriale di "trattamento sericina 1%" diversificata per tipologia di capello: secco, normale, sfibrato, riccio-mosso



VALUTAZIONE COMPLESSIVA DEI PRODOTTI

Si riportano, qui di seguito (figure 96,97,98,99), i grafici di confronto per ogni prodotto, tra i quattro saloni.

Figura 96 - valutazione globale dei prodotti Salone Espressioni

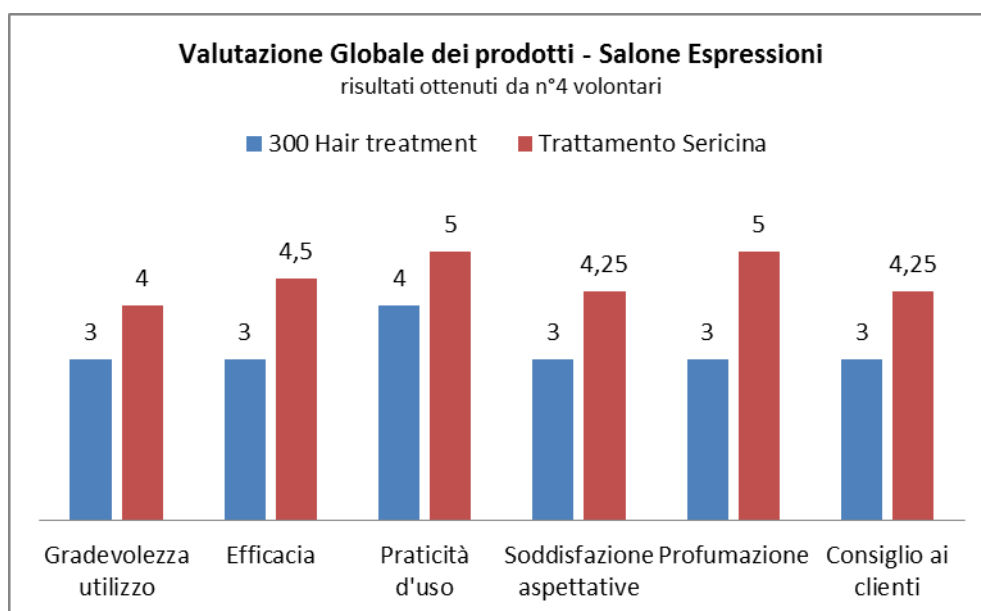


Figura 97 - valutazione complessiva dei prodotti - Salone Ginger Group

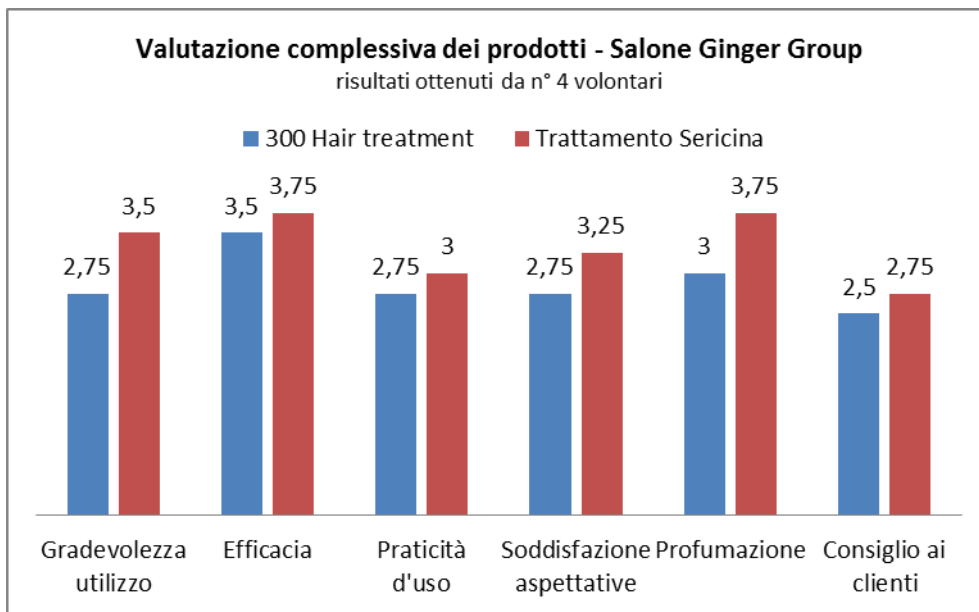


Figura 98 - valutazione globale dei prodotti - Salone L'Anglè

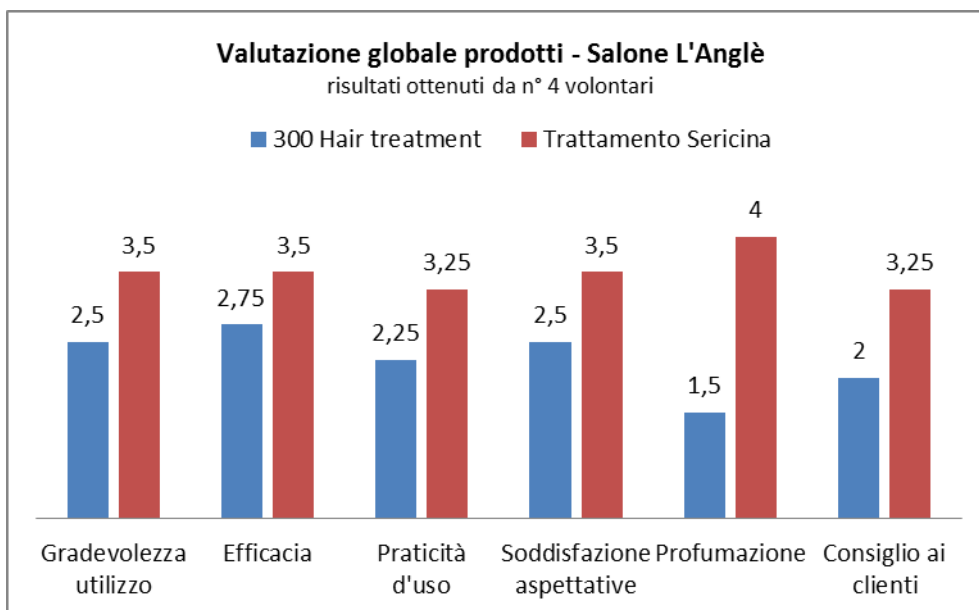
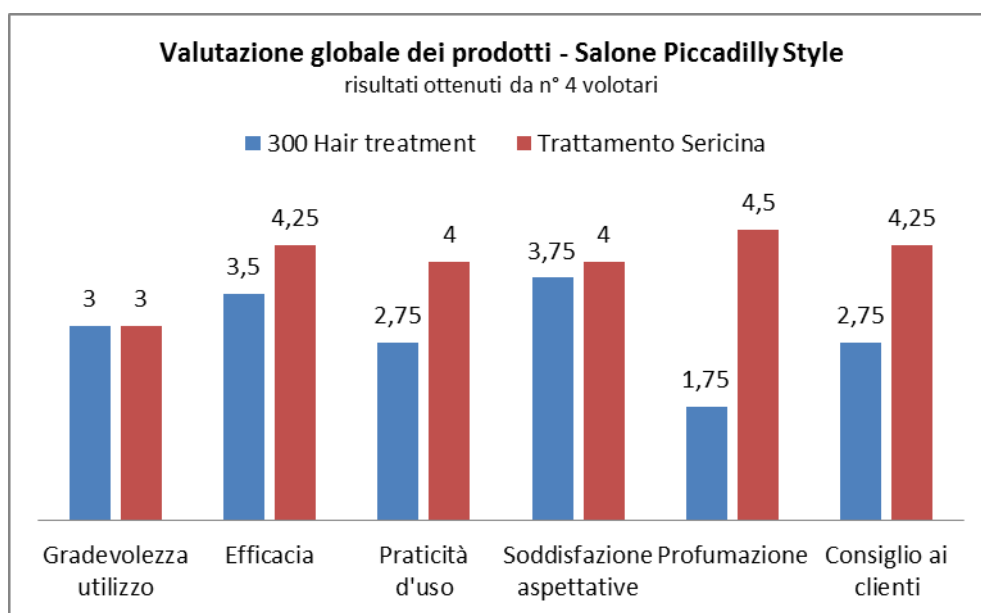


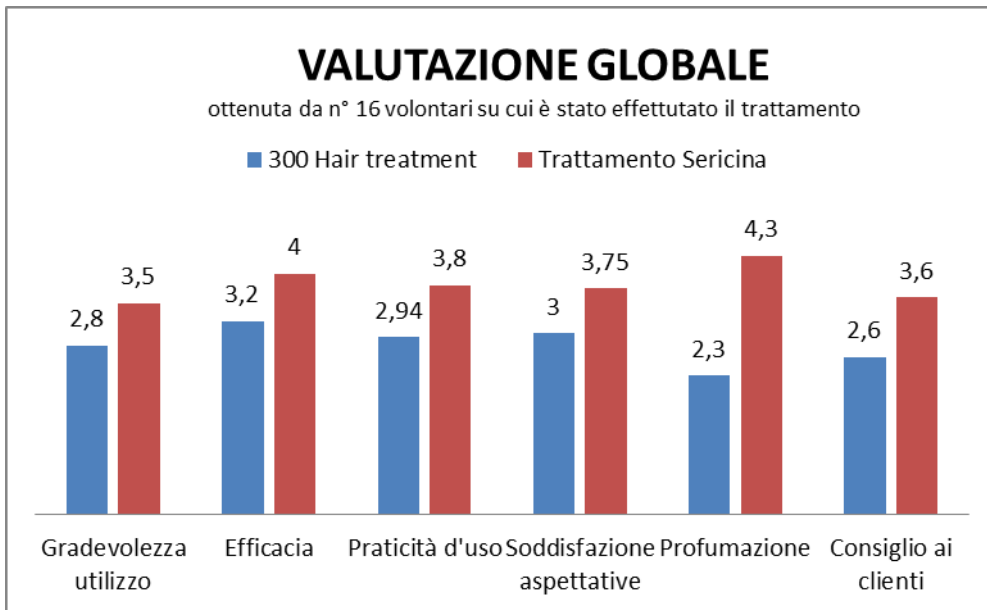
Figura 99 - valutazione globale dei prodotti Salone Piccadilly Style



Dai grafici sopra riportati e dal successivo (figura 100), ancora una volta, si evince come “*trattamento sericina 1%*” sia tendenzialmente preferito rispetto il competitor, da tutti i parrucchieri, in quanto:

- Presenta maggior gradevolezza d'utilizzo: i parrucchieri concordano nell'affermare che “*trattamento sericina 1%*” si presenta meno compatto del competitor, quindi è più facilmente dosabile e stendibile su tutti i tipi di capello. Quest'affermazione è conseguente al maggior contenuto di oli e burri, e di modificatore reologico (Polyquaternium-37) contenuto in *300 – Hair treatment*;
- Percezione d'efficacia elevata: i professionisti affermano che *300 – Hair treatment*: “è poco efficace in quanto il capello rimane opaco e vetroso al tatto” (Salone L'Anglè), mentre: “*trattamento sericina 1%* migliora l'aspetto visivo del capello” (Salone Espressioni) anche se “può appesantire un capello normale se non adeguatamente dosato” (Salone L'Anglè);
- Miglior praticità d'uso in quanto: “*trattamento sericina 1%* è più morbido rispetto il competitor e può esser lavorato e dosato meglio sulle punte e sulla lunghezza (Salone L'Anglè) oltre al fatto che si risciacqua più facilmente” (Salone Espressioni);
- Le aspettative per il prodotto sono meno soddisfatte per il competitor in quanto: “il capello risulta sufficientemente lucido ma poco ristrutturato e poco elastico” (Salone Ginger Group, Salone L'Anglè) mentre: “*trattamento sericina 1%* consente di ottenere un capello pettinabile, corposo, morbido ed elastico” (Salone L'Anglè). È stato inoltre evidenziato come la messa in piega ottenuta dopo l'uso di “*trattamento sericina 1%*” sia risultata molto duratura nel tempo (Salone Ginger Group).
- La profumazione risulta più delicata e gradevole rispetto alla fragranza contenuta in *300-Hair treatment*.

Figura 100 - valutazione globale dei due prodotti, ottenuta dalla media delle 16 valutazioni fatte dai Saloni.



I grafici ora elencati (figure 101,102,103,104,105) dimostrano come il giudizio complessivo dei prodotti subisca delle leggere variazioni a seconda dello stato del capello (normale, secco, sfibrato, riccio-mosso). “Trattamento sericina 1%” è sempre preferito rispetto al competitor qualunque sia la tipologia di capello trattato. Ancora una volta il giudizio globale è maggiormente positivo se i capelli sono secchi, sfibrati, ricci/mossi.

Figura 101 - valutazione globale dei prodotti su capelli secchi

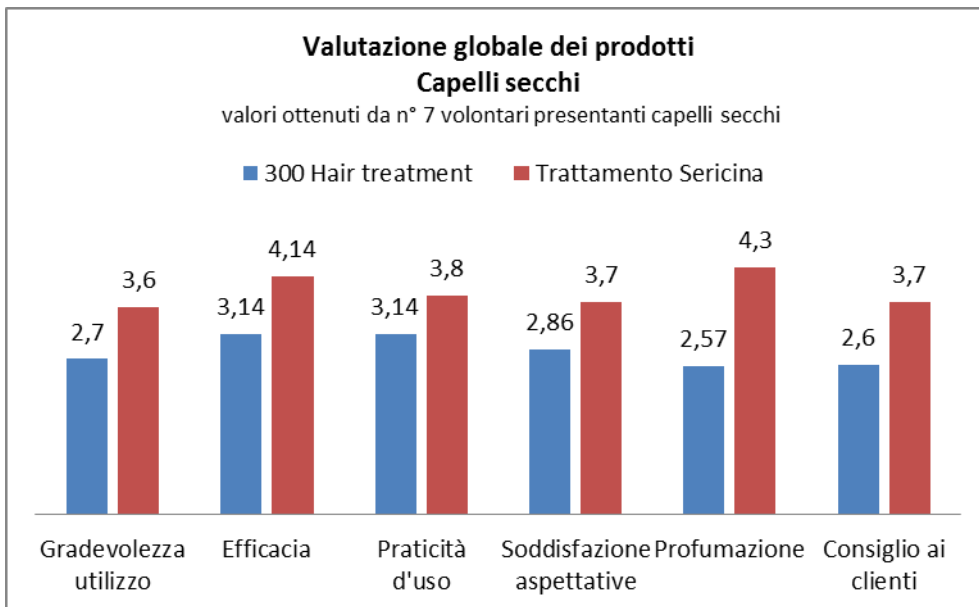


Figura 102 - valutazione globale dei prodotti su capelli normali

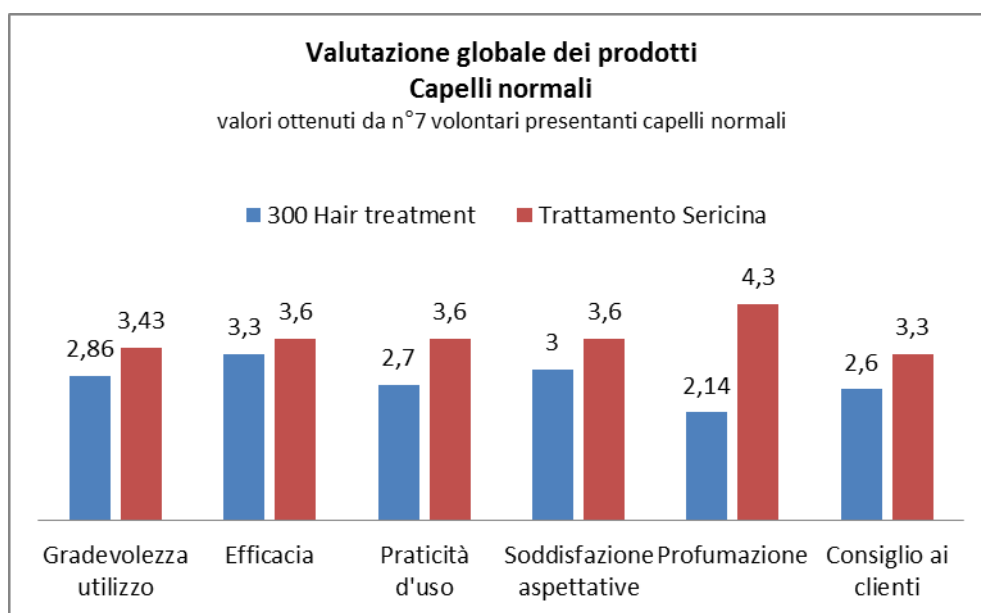


Figura 103 - valutazione globale dei prodotti su capelli sfibrati

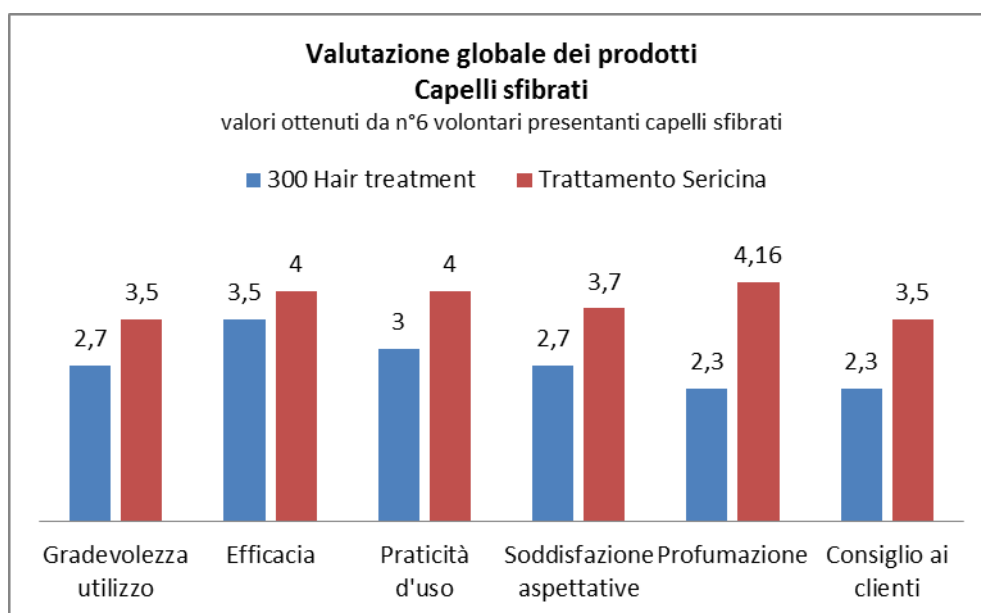


Figura 104 - valutazione globale dei prodotti su capelli ricci-mossi

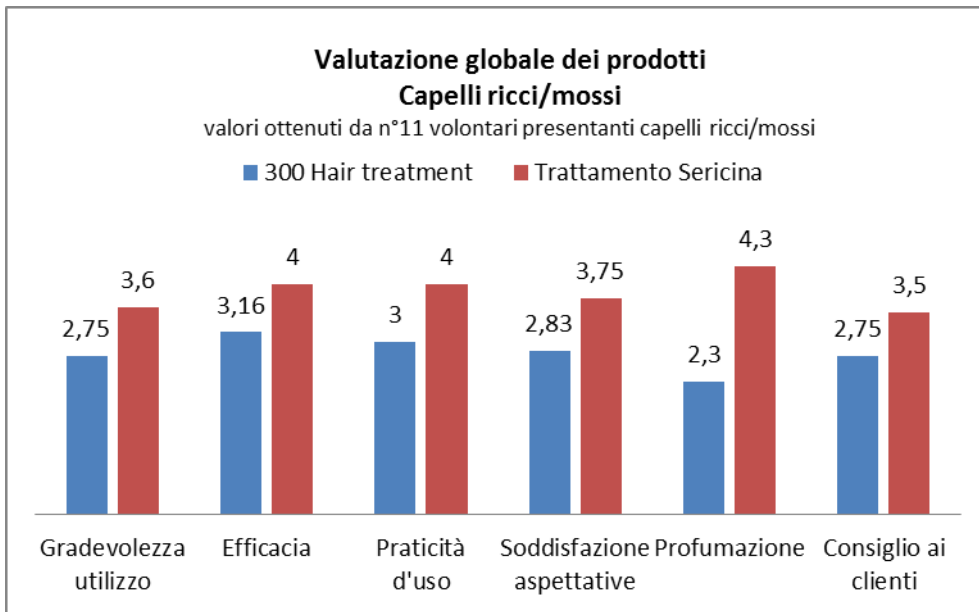
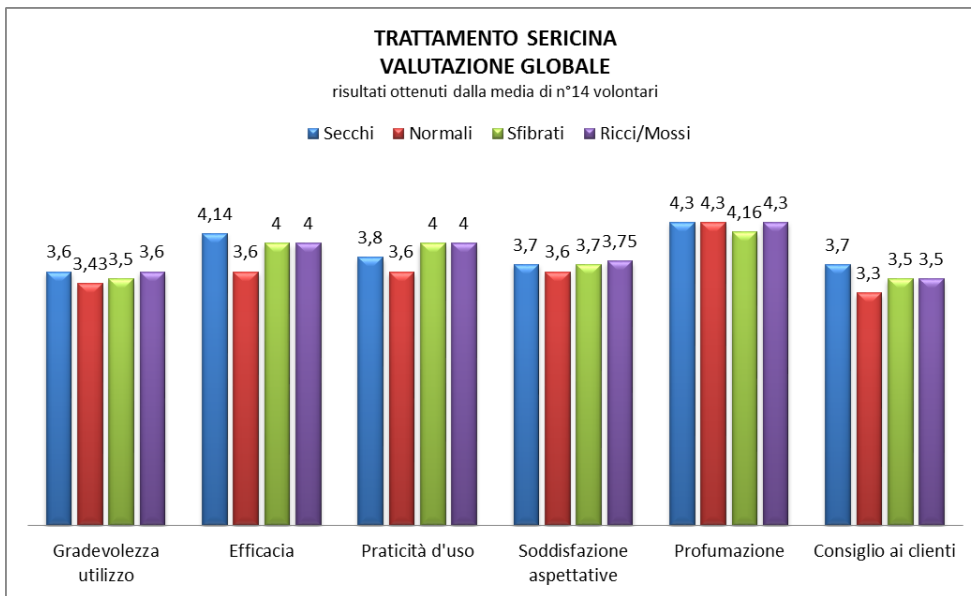


Figura 105 - valutazione globale di trattamento sericina 1% diversificata per tipologia di capello



L'analisi sensoriale e la valutazione globale dimostrano così che il prodotto contenente sericina migliora l'aspetto del capello dopo un solo trattamento (morbidezza e lucentezza), rendendolo inoltre più pettinabile nonostante la "semplicità" della formula rispetto il competitor e la mancanza di alcuni ingredienti chiave, come i polimeri siliconici, contenuti di sovente nei prodotti condizionanti per capelli.

La diversificazione per tipologia di capello dimostra che, se adeguatamente dosato, applicato e risciacquato, il prodotto contenente sericina può essere usato su tutte le tipologie di capello qui sopra descritte.

Non è stata adeguatamente investigata la performance del prodotto su capelli grassi.

4 CONCLUSIONI

Il progetto di tesi svolto presso l'azienda Orignitalia Srl ed in parte presso il dipartimento di Scienze del Farmaco dell'Università degli Studi di Padova ha permesso di mettere a punto un prodotto trattamento capelli a base di sericina. Questa tipologia di cosmetico per capelli è stata pensata, progettata e realizzata per un target di pubblico che necessiti di un prodotto performante sulla fibra capillare, dunque condizionante, che permetta di migliorarne l'aspetto, e che fosse allo stesso tempo, quanto più "sicuro" per il cuoio capelluto, in modo da poter essere utilizzato da persone con cute intollerante ai normali prodotti hair-care o con necessità di non peggiorare uno stato infiammatorio cutaneo in atto.

È noto, infatti, come patologie dermatologiche, quali psoriasi, o disordini cutanei come la dermatite seborroica si riflettano anche, in modo diretto, sul cuoio capelluto.

A tal proposito si è cercato di formulare un prodotto che escludesse ingredienti, quanto più possibile, intolleranti verso la pelle. Si è scelto ad esempio di eliminare sostanze allergeniche contenute nei profumi, scegliendo una fragranza che non li possedesse. Altra scelta è stata quella di evitare l'utilizzo di polimeri siliconici, sostanze molto performanti sui capelli in quanto capaci di rendere la chioma più pettinabile e condizionata, senza compromettere "l'effetto pesante" che normalmente queste maschere tendono ad apportare, e talvolta demonizzati anche dagli stessi dermatologi. È stato deciso invece di usare una proteina globulare ad alto peso molecolare, derivata dal mondo animale, ottenuta dal processo di lavorazione della seta, denominata Sericina Integra, la cui azione sul cuoio capelluto e sui capelli era ben documentata in letteratura da studi in vitro.

La sistematica formulativa realizzata è servita ad analizzare possibili interazioni tra le materie prime, ad evidenziare l'effetto sul capello di due percentuali differenti di proteina, 0.5 e 1% in confronto ad un condizionante polimerico cationico, Polyquaternium-37, sempre allo 0.5 e 1%, fino ad arrivare all'effetto visivo diretto del prodotto finito, punto aziendale cardine dello studio per poter rendere potenzialmente commerciale il prodotto oggetto della trattazione.

L'analisi reologica ha rappresentato uno *step* importante dello studio in quanto ha messo in evidenza un'interazione chimica dovuta dall'emulsionante cationico con la proteina caricata negativamente, ed ha fornito un'indicazione ben precisa sulla stabilità del prodotto. A tal riguardo, anche per il prodotto finito, è emersa una criticità in termini di stabilità a temperature maggiori di 45°C.

Le immagini al microscopio elettronico a scansione hanno messo in evidenza come dopo trattamento con Sericina Integra, ad entrambe le concentrazioni, le ciocche di capelli standardizzate dimostrano un effetto migliore, rispetto il controllo Polyquaternium-37, che invece non si dimostra sufficientemente capace di ripristinare il danno causato mediante lavaggio delle ciocche con uno shampoo a pH alcalino.

Il prodotto finale, apporta un miglioramento dello stato della cuticola, anche se non ancora ottimale, dopo tre lavaggi. Questo indica che la fase dispersa contenente oli e burri contribuisce a rendere l'aspetto del capello oggettivamente migliore. La sola Sericina Integra, da sola, non si dimostra capace di condizionare adeguatamente il capello, dopo 3 applicazioni, in questa emulsione che funge da veicolo.

L'analisi sensoriale è stata condotta mediante panel test professionale in 4 saloni di parrucchieri. Tale analisi è stata condotta con un benchmark di confronto, che contiene la stessa molecola emulsionante, e lo stesso condizionante polimerico Polyquaternium-37, oltre che un polimero siliconico, e altri "attivi" capaci di ristrutturare un capello sfibrato e danneggiato. I claims del benchmark sono supportati da test strumentale mediante microscopia elettronica a scansione.

Secondo i parrucchieri professionisti "trattamento sericina 1%" è migliore rispetto il benchmark per tutti i descrittori analizzati. Si può supporre che tale risultato sia dunque imputabile al contenuto di Sericina Integra che migliora le caratteristiche di sensorialità del prodotto, di applicazione e di risultato finale. In particolare i parrucchieri hanno apprezzato come la maschera, dopo l'utilizzo rendesse il capello più morbido, lucente e pettinabile, migliorandone l'aspetto, e rendesse l'operazione di acconciatura successiva più semplice e duratura nel tempo. Tale effetto è più evidente sui capelli mossi/ricci. Sericina Integra, dunque, probabilmente influisce maggiormente su tal tipo di capelli. I capelli ricci, di solito a carattere cimatropico, dimostrano notevoli problemi di elasticità ed "effetto-crespo", proprio per costituzione stessa.

L'analisi sensoriale ha permesso, grazie all'applicazione di prodotto su capelli differenti, di mettere in evidenza come il risultato sia indipendente dal tipo di capello trattato. La maschera condizionante ha risposto significativamente bene sui capelli normali, secchi, sfibrati e in particolar modo sul riccio.

In conclusione questo lavoro di tesi conferma come lo sviluppo razionale della formulazione ed i relativi controlli chimico fisici di tipo reologico siano uno strumento importante per l'azienda per sviluppare nuovi prodotti ad alto valore aggiunto che sono in grado di dare buoni risultati all'applicazione. Lo studio conferma, inoltre, come i test di efficacia percepita risultino per una azienda molto più utili per valutare la reale efficacia di un prodotto rispetto ai test strumentali, assai più costosi e focalizzati solo a misurare una specifica proprietà del formulato.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Regolamento (CE) n.1223/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 novembre 2009.

A.Pasqualino, G.L. Panettoni, "Anatomia Umana: citologia, istologia, embriologia, anatomia sistematica", UTET Scienze mediche, 2005.

A.Tosti, B.M Piraccini, "Tricologia ambulatoriale. Malattie dei capelli e del cuoio capelluto", Springer-Verlag Italia, 1, 2014.

E. Camera, M. Ludovici, M. Galante, J. Sinagra, M. Picardo "Comprehensive analysis of the major lipid classes in sebum by rapid resolution high-performance liquid chromatography and electrospray mass spectrometry", J. Lipid Res, 51:(11) 3377-3388, 2010.

Yang et al. (2014), "The structure of people's hair", Peer J2:e619; DOI10.7717/peerj.619.

J. Knowlton, S. Pearce "Handbook of cosmetic science and technology", prima edizione, Oxford: Elsevier Advanced Technology, 1993.

D.H. Johnson et al, "Hair and Hair Care", Marcel Dekker Inc., 1997.

S.S. Sandhu, R. Ramachandran, C.R. Robbins, "A simple and sensitive method using protein loss measurements to evaluate damage to human hair during combing", J. Soc. Cosmet. Chem., Vol. 46, No. 1, 1994.

J. Knowlton, S. Pearce "Handbook of cosmetic science and technology", prima edizione, Oxford: Elsevier Advanced Technology, 1993.

F.H. Martini, M.J. Timmons, R.B. Tallitsch "Anatomia umana", quinta edizione, Edises, 2012.

D. Voet, J.G. Voet, C.W. Pratt "Fondamenti di biochimica", seconda edizione, Zanichelli, 2007.

C.R. Robbins, "Chemical and physical Behaviour of human hair", quarta edizione, Springer, 2002.

- L. Celleno, "Dermatologia Cosmetologica", Tecniche Nuove, 2008.
- E. Tolgyesi, "Wheathering of hair", *Cosmet Toiletries*, vol 98(10), 1983.
- C. Dubief, "Experiments with hair photodegradation", *Cosmet Toiletries*, vol 107(10), 95-102, 1992.
- L.J. Wolfram, "Letter to the editor", *J. Soc. Cosmet. Chem*, vol 35, 229-230, 1984.
- N.B. Fair, B.S. Gupta, "The chlorine-hair interactions. I. Review of mechanism and changes in properties of keratin fibers", *J. Soc. Cosmet. Chem.*, vol. 38, 359-370, 1987.
- J.F. Corbett, "Chemistry of hair colorant processes – science as an aid to formulation and development", *J. Soc. Cosmet. Chem*, vol 35, 297-310, 1984.
- J.F Corbett, "Hair coloring processes", *Cosmet. Toiletries*, vol. 106(7), 53-57, 1991.
- R.R. Wickett, "Disulfide bond reduction in permanent waving", *Cosmet. Toiletries*, vol. 106(7), 37-47, 1991.
- L. Rigano, R. Leporatti, N. Lionetti, C. Mieli (2005) "Sericina integra. Una molecola bioadesiva dalla seta" *Cosmet Technol*, vol 8(1).
- N.I. Challoner, S.P. Chahal, R.T. Jones (1997), "Cosmetic protein for skin-care", *Cosm Toil*, Vol 112, 51-63.
- K. Komatsu (1972), "Chemistry and structure of silk", *JARQ*, vol 13(1), 64-72.
- B.A. Catozzi, G. Mieli (2007), "Sericina M in cosmesi" *Cosmetic Technology*, Vol 10(2), 24.
- Y. Takasu, H. Yamada, K. Tsubouchi (2002), "Isolation of three main sericin components from the cocoon of the silkworm, *Bombyx mori*", *Biosci. Biotechol. Biochem*, Vol. 66(12), 2713-2716.
- R. Voegeli, J. Meier, R. Blust et al (1993), "Sericin Silk Protein: unique structure and properties", *Cosmet. Toil.*, vol. 108(12), 101-108.

U. Griesbach, M. Klingels et al (1998), "Proteins: classic additives and actives for skin and hair care", *Cosmet. Toil.*, vol. 113(11), 69-73.

N. Minoura et al (1995) "Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices" *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol 29, 1215-1221.

S. Terada, T. Nishimura, M. Sasaki, H. Yamada, M. Miki, (2002), "Sericin, a protein derived from silkworm, accelerates the proliferation of several mammalian cells including a hybridoma", *Cytotechnology*, Vol. 40, 3-12.

K. Tsubouchi et al (2005) "Sericin enhances attachment of cultured human skin fibroblasts", *Biosci. Biotechol. Biochem.*, Vol. 69(2), 403-405.

Z. Wang, Y. Zhang, J. Zhang, L. Huang, J. Liu, Y. Li, G. Zhang, C.S.Kundu, L.Wang (2014), "Exploring natural silk protein sericin for regenerative medicine, an injectable photoluminescent, cell adhesive 3D hydrogel", *Sci Rep.*, 4:7064.

C.A. Garber, C.T. Nightingale "Characterizing cosmetic effects and skin morphology by scanning electron microscopy", *J. Soc. Cosmet. Chem.*, Vol. 27, 509-531, 1976.

C.U Patel, "Anti-static properties of some cationic polymers used in hair care products", *Int. J. Cosmet. Sci*, Vol 5, 181-188, 1983.

A.Bovero, "Dermocosmetologia. Dall'inestetismo al trattamento cosmetico", *Tecniche Nuove*, 111-112, 2011.

SCHEDA OPERATIVA

INFORMAZIONI GENERALI

PROTOCOLLO D’USO

Modo d’utilizzo:

1. lavare i capelli con lo SHAMPOO e risciacquare;
2. applicare dalle radici alle punte il prodotto TRATTAMENTO 1 su metà cuoio capelluto;
3. pettinare i capelli con un pettine fino per distribuire uniformemente il prodotto;
4. ripetere i punti 2 e 3 con il prodotto TRATTAMENTO 2, facendo riferimento all’altra metà del cuoio capelluto;
5. lasciare in posa 10 minuti e sciacquare con acqua.

NB: La quantità di prodotto da utilizzare è una variabile soggettiva correlabile al tipo di capello, alla quantità dei capelli, alle normali abitudini di utilizzo di prodotti haircare.

VALUTAZIONE SENSORIALE DEL PRODOTTO COSMETICO

Vengono valutati i seguenti parametri:

Durante l’applicazione:

- **DISTRIBUZIONE:** valutazione della facilità di stendere il prodotto sui capelli.
- **RISCIACQUABILITA’:** valutazione della facilità di risciacquo del prodotto dai capelli.

Prima dell’asciugatura:

- **PETTINABILITA’:** valutazione della facilità di districare i capelli.

Dopo l’asciugatura:

- **ASPETTO GLOBALE:** valutazione di quanto è migliorato visibilmente il capello.
- **LUCENTEZZA:** valutazione di quanto risulta più brillante il capello.
- **MORBIDEZZA:** valutazione al tocco di quanto è morbido il capello.

PROFILO CAPELLO

Indicare, barrando con una ✕ la casella corrispondente, le caratteristiche dei propri capelli:

Domanda	1	2	3
Stato capello	Secco	Normale	Grasso
Luminosità	Opaca	Equilibrata	Elevata
Densità	Radi	Media	Folti
Texture	Fine	Media	Spessa
Caratteristica principale	Fragile	Normale	Sfibrato
Lunghezza	Corta	Media	Lunga
Trattamenti	Stiratura	Nessuno	Permanente
Arricciatura	Liscio	Mosso	Riccio
Lavaggio	Ogni 4/5 giorni	Ogni 2/3 giorni	Ogni giorno
Presenza forfora	Assente	Media	Elevata
Untuosità	Assente	Media	Elevata
Utilizzo Balsamo	Mai	A volte	Abitualmente
Utilizzo Maschere	Mai	A volte	Abitualmente
Utilizzo Integratori	Mai	A volte	Abitualmente
Utilizzo Gel/Cere	Mai	A volte	Abitualmente

VALUTAZIONE SENSORIALE DEI PRODOTTI

Indichi per ciascun prodotto, con una ✕ sulla casella corrispettiva, l'esperienza sensoriale indagata dalle seguenti domande.

PRODOTTO 1

Momento valutazione	Domanda	Per niente	Poco	Abbastanza	Molto	Moltissimo
Durante applicazione	Trovi che il prodotto sia facilmente distribuibile?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Trovi che il prodotto sia facilmente risciacquabile?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pre asciugatura	I capelli hanno una buona pettinabilità?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Post asciugatura	L'aspetto globale dei capelli è buono?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	I capelli mostrano una buona lucentezza?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Al tatto i capelli risultano morbidi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PRODOTTO 2

Momento valutazione	Domanda	Per niente	Poco	Abbastanza	Molto	Moltissimo
Durante applicazione	Trovi che il prodotto sia facilmente distribuibile?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Trovi che il prodotto sia facilmente risciacquabile?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pre asciugatura	I capelli hanno una buona pettinabilità?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Post asciugatura	L'aspetto globale dei capelli è buono?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	I capelli mostrano una buona lucentezza?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Al tatto i capelli risultano morbidi?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

VALUTAZIONE COMPLESSIVA DEI PRODOTTI

Indichi ora per ciascun prodotto, con una ✕ sulla casella corrispettiva, il suo livello di accordo con le seguenti affermazioni; per ciascuna affermazione è possibile indicare liberamente osservazioni più specifiche.

PRODOTTO 1

Affermazione	Per niente	Poco	Abbastanza	Molto	Moltissimo
Dopo e durante l'utilizzo, il prodotto risulta gradevole	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Trovo che il prodotto sia efficace	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Ritengo il prodotto pratico da utilizzare	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Il prodotto soddisfa le mie aspettative	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Osservazioni					
Ritengo la profumazione gradevole	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Penso che consiglierò il prodotto alle clienti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					

PRODOTTO 2

Affermazione	Per niente	Poco	Abbastanza	Molto	Moltissimo
Dopo e durante l'utilizzo, il prodotto risulta gradevole	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Trovo che il prodotto sia efficace	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Osservazioni					
Ritengo il prodotto pratico da utilizzare	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Il prodotto soddisfa le mie aspettative	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Ritengo la profumazione gradevole	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					
Penso che consiglierò il prodotto alle clienti	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Osservazioni					

RINGRAZIAMENTI

Vorrei dedicare questo spazio a chi, con dedizione e pazienza ha contribuito alla realizzazione di questo elaborato.

In primis, un ringraziamento particolare va alla mia relatrice, la prof.ssa Alessandra Semenzato che con infinita pazienza e disponibilità mi ha seguito in ogni step della realizzazione di questo progetto sin dall'inizio e ha saputo, in ogni circostanza, fornirmi suggerimenti e soluzioni concrete anche e soprattutto quando gli ostacoli incontrati parevano di difficile risoluzione. Se mi sono appassionato al settore cosmetico lo devo a lei e ad i suoi insegnamenti universitari.

Non posso non ringraziare tutto lo staff dell'azienda Originitalia Srl, motore di tutto il progetto e senza la quale questo elaborato non esisterebbe nemmeno. A tal proposito devo menzionare la mia correlatrice, la dott.ssa Giada Zanni e la responsabile del controllo qualità, la dott.ssa Emanuela Serafini, due professioniste che fin dal mio primo ingresso in azienda mi hanno accompagnato, passo dopo passo, alla scoperta della realtà dell'industria cosmetica e mi hanno supportato in ogni momento anche nei tempi più oscuri.

Ringrazio tutto lo staff di Eurochem Ricerche Srl per la collaborazione e le preziose indicazioni e spiegazioni fornitemi durante tutta la parte di analisi di microscopia elettronica a scansione ambientale.

Un doveroso ringraziamento lo devo a tutta la mia famiglia, i miei genitori, che mi sono stati accanto nei momenti più bui. Ed infine un grazie speciale a Giulia e alla sua caparbità, senza la quale non sarei mai giunto fin qui. Ti amo e sei sempre nel mio cuore.