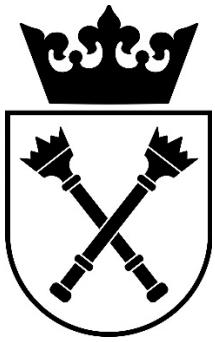


INSTYTUT FIZYKI
UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI

Dorota Zalitacz

BADANIE HYDRATACJI LUDZKICH TKANEK KERATYNOWYCH

Praca na stopień doktora nauk fizycznych w dziedzinie biofizyka
wykonana w Zakładzie Radiospektroskopii Instytutu Fizyki UJ

Promotor: dr hab. Hubert Harańczyk
(Instytut Fizyki UJ)

Kraków 2017

„Co my wiemy, to tylko kropelka. Czego nie wiemy, to cały ocean.”

Isaac Newton

Kraków 16.10.2017

Wydział Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej
Uniwersytet Jagielloński

Oświadczenie

Ja niżej podpisana Dorota Zalitacz (1086414) doktorantka Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego oświadczam, że przedłożona przeze mnie rozprawa doktorska pt. „Badanie hydratacji ludzkich tkanek keratynowych'' jest oryginalna i przedstawia wyniki badań wykonanych przeze mnie osobiście, pod kierunkiem dr. hab. Huberta Harańczyka. Pracę napisałam samodzielnie.

Oświadczam, że moja rozprawa doktorska została opracowana zgodnie z Ustawą o prawie autorskim i prawach pokrewnych z dnia 4 lutego 1994 r. (Dziennik Ustaw 1994 nr 24 poz. 83 wraz z późniejszymi zmianami).

Jestem świadoma, że niezgodność niniejszego oświadczenia z prawdą ujawniona w dowolnym czasie, niezależnie od skutków prawnych wynikających z ww. ustawy, może spowodować unieważnienie stopnia nabytego na podstawie tej rozprawy.

……
podpis doktorantki/doktoranta

Kraków 16.10.2017

Oświadczenie

Oświadczam, że przedłożone egzemplarze pracy doktorskiej pani magister inżynier Doroty Zalitacz pt. "Badanie hydratacji ludzkich tkanek keratynowych" stanowią wersję ostateczną.

dr hab. Hubert Harańczyk

PODZIĘKOWANIA

Pragnę podziękować mojemu promotorowi dr hab. Hubertowi Harańczykowi za umożliwienie realizacji ciekawych badań naukowych. Dziękuję za wszechstronną pomoc merytoryczną, za pieczołowicie przekazaną wiedzę jak i zaangażowanie oraz wykazaną cierpliwość.

Dziękuję wszystkim członkom Zakładu Radiospektroskopii UJ za tworzenie wspaniałego zespołu badawczego, a w szczególności Panu inżynierowi Tomaszowi Malarzowi za wsparcie w sprawach technicznych.

Szczególne podziękowania kieruję do Pana Piotra (dr Piotra Nowaka), który jest skarbnicą wiedzy i uczynności. Dziękuję, że przez te wspólne lata pracy okazał się nieocenionym wsparciem merytorycznym jak i przyjacielskim.

Dziękuję mojej współlokatorce Annie Woźniak, która empatycznie znosiła moje wszystkie stany emocjonalne związane z powstawaniem tej pracy.

Dziękuję mojej pierwszej nauczycielce fizyki Pani Urszuli Nagórzańskiej–Róg za wzbudzenie we mnie pasji do odkrywania fascynującego świata fizyki.

Przede wszystki dziękuję Mamie, Tacie i Siostrze za wspieranie mnie na każdym kroku.

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE....8
1.WŁOSY....9
1.1.Informacje ogólne....9
1.2.Klasyfikacja włosów....9
1.3.Skład włosów....10
1.4.Budowa mieszka włosowego....11
1.5.Cykl wzrostu włosa....12
1.6.Budowa włosa....13
1.6.1. Kutykula....14
1.6.2.Kora i rdzeń....15
1.7. Integralne oraz powierzchniowe lipidy włosów....16
1.8.Pigmentacja włosów....17
2.WODA....18
2.1.Woda i włosy....18
2.2.Właściwości makroskopowe wody....19
2.3.Wiązania chemiczne cząsteczek wody....20
2.4.Keratyna i woda....22
2.4.1.Sorpcja wody przez włosy....23
3. BADANE SUBSTANCJE EGZOGENNE....23
3.1. SLES....23
3.1.1. Właściwości fizykochemiczne SLES....24
3.2. Hydrolizat białka jedwabiu....24
3.2.1. Właściwości fizykochemiczne hydrolizatu białka jedwabiu....26
3.3. Kolagen....27
3.3.1.Właściwość fizykochemiczne kolagenu....28
3.4.Inulina....29
3.4.1.Właściwości fizykochemiczne inuliny....30
4.ELEMENTY TEORII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO....30
4.1.Moment magnetyczny i moment pędu....31
4.2.Obsadzenie stanów energetycznych....33
4.3.Magnetyzacja....33
4.4.Relaksacja spinowo – spinowa (poprzeczna)....37
4.5.Relaksacja spinowo – sieciowa (podłużna)....38
4.6.FID zanik swobodnej precesji....38
4.6.1.Składowa zaniku swobodnej precesji dla spinów fazy stałej....39
4.6.2.Zastosowanie funkcji Gaussa....40
4.6.3.Zastosowanie funkcji Lorentza....41
4.6.4.Sygnał od protonów ciała stałego oraz cieczy....42
4.7.Sekwencja CPMG (Carra-Purcela-Meibooma-Gilla)....43

5.IZOTERMA SORPCYJNA....46
5.1.MODEL Denta....46
5.2.MODEL BET....50
5.3.MODEL Langmuira....50
6. MATERIAŁY I METODY....53
6.1.Preparatyka próbek....53
6.2.Hydratacja próbek....54
6.3.Pomiary Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w domenie czasu....54
6.4. Pomiary w domenie częstotliwości (spektroskopia) Spektrometr MRJ Bruker Avance III 300 MHz....58
6.5.Numeryczne opracowanie danych pomiarowych....60
6.6.Mikroskopia elektronowa....60
7.WYNIKI....61
7.1.Pomiary kinetyki hydratacji włosów....61
7.1.1. Kinetyka hydratacji włosów o różnych różnej zawartości melaniny....61
7.1.2. Kinetyka hydratacji włosów z substancjami egzogennymi....64
7.2.Izoterma sorpcyjna....69
7.2.1.Włosy o różnych kolorach....69
7.2.2.Włosy pokryte substancjami egzogennymi....71
7.3.Pomiary relaksacyjne 1H-NMR dla włosów o różnej zawartości melaniny....75
7.3.1. Zależność hydratacyjna składowych cieczowych sygnałów 1H-NMR FID dla włosów o różnej zawartości melaniny....77
7.4.Spektroskopia 1H-NMR włosów o różnej zawartości melaniny....79
7.5.Spektroskopia 1H-NMR włosów pokrytych substancjami egzogennymi....85
7.5.1. Spektroskopia 1H-NMR włosów oczyszczonych SLES....85
7.5.2. Spektroskopia 1H-NMR włosów z naniesionymi substancjami....87
7.6.Czas relaksacji T2....92
7.6.1.Włosy o różnych kolorach....92
7.6.2.Włosy z naniesionymi substancjami....95
7.7.Obrazowanie SEM....98
8.DYSKUSJA....101
9.WNIOSKI....109
10. LITERATURA....111
11.SPIS PUBLIKACJI AUTORA....118
12.SPIS RYSUNKÓW....119
13. SPIS TABEL....122

WPROWADZENIE

Włosy to sprężyste, zrogowaciałe włókna, powstałe z komórek naskórka. Głównym budulcem włosa jest keratyna. Włosy pełnią rolę termoizolacyjną, chronią przed promieniowaniem ultrafioletowym, również są czułym narządem zmysłu [Brzezińska i in.,2003].

Absorpcja wody przez włosy ma wielkie znaczenie dla ich właściwości fizycznych. Przyłączanie się cząsteczek wody do włókien keratynowych, powoduje zwiększenie elastyczności oraz zmianę elektrycznych i mechanicznych właściwości włosów.

Naturalne włosy hydratują się średnio do poziomu około 30% swojej masy [Ward i in., 2004] . Ilość zaabsorbowanej wody zmienia się w obecności różnych substancji stosowanych w produktach kosmetycznych, jak hydrolizat białka jedwabiu, kolagen czy inulina.

Niniejsza miała praca miała na celu zbadanie mechanizmów absorpcji wody do powierzchni włosów, różniących się rodzajami melaniny oraz włosów pokrytych różnymi substancjami pielęgnującymi.

1.WŁOSY

1.1.Informacje ogólne

Średnia gęstość występowania włosów na powierzchni ciała to 10/cm^2, natomiast na powierzchni skóry głowy, liczba ta sięga 300/cm^2 [Sawicki, 2009]. Na głowie znajduje się około 100 000 włosów. Ilość włosów zależy od ich koloru - bruneci mają zwykle o 30% mniej włosów niż blondyni. Codziennie każdy człowiek traci około 100 włosów. Włosy rosną szybciej podczas snu oraz w okresie letnim. Pojedynczy włos może osiągnąć długość 70 cm przez okres 6 lat swojego wzrostu. Kobiety w okresie między wiekiem czterdziestu oraz pięćdziesięciu lat mogą utracić ok. 20% włosów, gdyż z wiekiem osobnika stają się one coraz bardziej suche i łamliwe [Małek, 2007].

Zadaniem włosów rosnących na głowie jest ochrona mózgu przed przegrzaniem. Włosy są również czułymi narządami dotykowymi, bodźce dotykowe działające na rzęsy wywołują zamykanie powiek. Rzęsy także chronią oczy przed drobnymi zanieczyszczeniami oraz chronią przed mocnym światłem. Dla człowieka owłosienie ponadto jest wtórną cechą płciową [Bochenek, Reicher, 2008].

1.2.Klasyfikacja włosów

Włosy można podzielić na cztery rodzaje.

Meszek płodowy *(lanugo hair)*, to cienkie włosy, pokrywające płód, które wypadają na miesiąc przed porodem. W centralnej części nie posiadają rdzenia. Nie są upigmentowane.

Włosy meszkowe *(vellus hair)*, to cienkie, krótkie włosy, pozbawione rdzenia, które pokrywają większość powierzchni ciała. Włosy meszkowe zastępują włosy meszka płodowego przed samym porodem. Nie są ubarwione. Włosy pośrednie (*intermediate hair)* są to włosy występujące niedługo po urodzeniu, na głowie noworodka. Charakteryzują się one względnie twardą kutykulą, rzadko pigmentacją i szczątkowym lub w ogóle nieobecnym rdzeniem. Włosy terminalne *(terminal hair)* to długie, grube włosy, które mają rdzeń. Są to włosy występujące np. na głowie lub w okolicy narządów płciowych

u osobników młodocianych lub u dorosłych. Na przyrost tych włosów ma wpływ stężenie androgenów [Blume-Peytavi i in., 2008].

Typ włosa	Charakterystyka
Meszek płodowy	<30µm średnicy; >2 mm długości
Włosy meszkowce	<30µm średnicy; <2mm długości
Włosy pośrednie	>30µm średnicy; <60µm średnicy; >2 mm długości
Włosy terminalne	>60µm średnicy; >2mm długości

Tabela 1. Charakterystyka różnych rodzajów włosów [Blume-Peytavi i in., 2008]

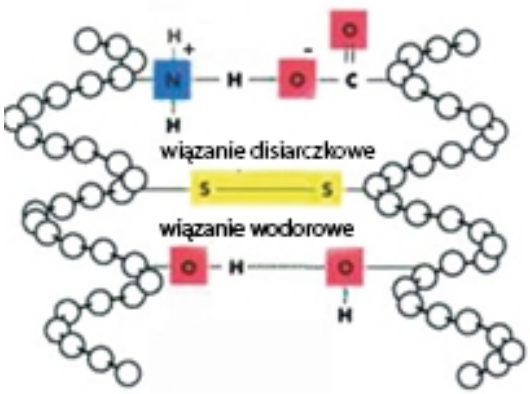
Włosy terminalne przekształcają się we włosy meszkowe w procesie łysienia typu męskiego. Natomiast w hirsutyzmie włosy meszkowe ulegają przemianie we włosy terminalne. Mieszki włosowe nie występują na: czerwieni wargowej, wargach sromowych mniejszych, żołędzi, wewnętrznej powierzchni dłoni oraz podeszw.

1.3.Skład włosów

W zależności od zawartości wody, ludzki włos składa się w przybliżeniu z 65-95% białek keratyny, pozostałe składniki to woda do 30%, lipidy (strukturalne i wolne), pigmenty oraz mikroelementy [Chen, Bushan, 2005].

Keratyna wytwarzana jest przez keranocyty w procesie keratynizacji. Masa cząsteczkowa ketayny wynosi 48 kDa [Winter i in., 2010]. Keratyna ma trójwymiarową strukturę.We włosach występuje w konformacji α-helisy. Największy udział w budowie keratyny maja następujące aminokwasy: glicyna, alanina, seryna, walina, lizyna oraz tryptofan. Ponadto zawiera w swojej budowie cysteinę. Każda jednostka cysteiny zbudowana jest z cysteinowych aminokwasów znajdujących sięw dwóch różnych łańcuchach, które leżą blisko siebie i są połączone dwoma atomami siarki, które tworzą bardzo silne wiązanie disiarczkowe [Gray, 2001]. Cysteinama znaczący wpływ na fizyczne właściwości włosów. Skutkuje to dużą wytrzymałością mechaniczną oraz chemiczną włosów.

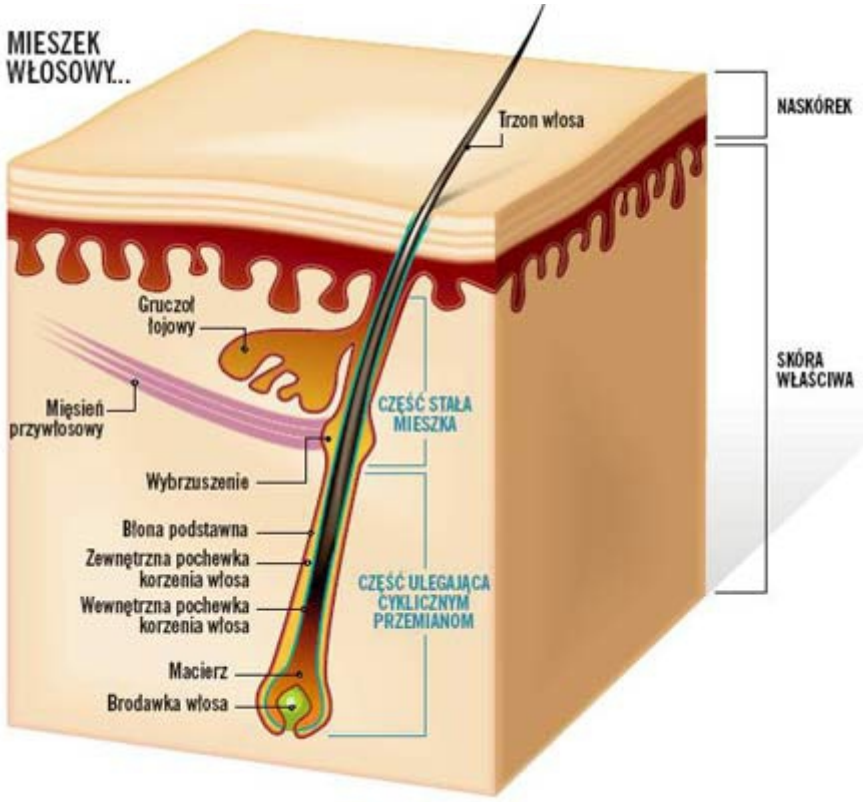
Występowanie grup CO- oraz NH- powoduje obecność wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami z sąsiednich łańcuchów.



Rysunek 1. Różne wiązania występujące wewnątrz struktury włosa. [Chen, Bhushan, 2005]

1.4.Budowa mieszka włosowego

Włosy są zbudowane w głównej mierze z martwych komórek, które powstają w mieszkach włosowych (*hair follicles)*. Część włosa, która znajduje się ponad powierzchnią naskórka nazywana jest łodygą *(hair shaft*). Natomiast cześć włosa, która przebiega ukośnie poprzez skórę oraz tkankę podskórną nazwana jest korzeniem (*hair root*).



Rysunek 2. Budowa mieszka włosowego[Bochenek A. Reicher M.]

Włosy powstają z cebulki włosowej, która jest położona najgłębiej wewnątrz mieszka włosowego. W cebulce znajdują się bardzo aktywne komórki macierzy włosa. Te komórki należą do najszybciej namnażających się w organizmie człowieka. Po okresie intensywnych podziałów, komórki te różnicują się, tj. spłaszczają, wydłużają oraz rogowacieją. Tak zwana brodawka (*derma papilla*), na której osadzona jest cebulka włosa służy jej odżywianiu. Do brodawki włosa dochodzą naczynia krwionośne, dzięki którym komórki macierzy czerpią substancje budulcowe oraz odżywcze niezbędne, aby się dzielić [Noszczyk, 2012].

Wzrost włosa możliwy jest dzięki prawidłowej współpracy miedzy dwiema najważniejszymi strukturami mieszka włosowego: brodawką włosa oraz komórkami macierzystymi (*stem cells)*. Komórki te zlokalizowane są w kutykuli na wysokości przyczepu mięśnia przywłosowego. Miejsce to zwane jest wybrzuszeniem bądź opuszką (*bulge*). Komórki macierzyste stymulowane są do podziału przez fibroblasty brodawki.

Na Rysunku 2 przedstawiono schemat cebulki wraz z włóknem włosa, które jest umieszczone wewnątrz mieszka włosowego, pochodzącego z tkanki podskórnej. Melanocyty, komórki, które produkują pigment także znajdują się w cebulce włosa. [Robbins, Clarence, 1994].

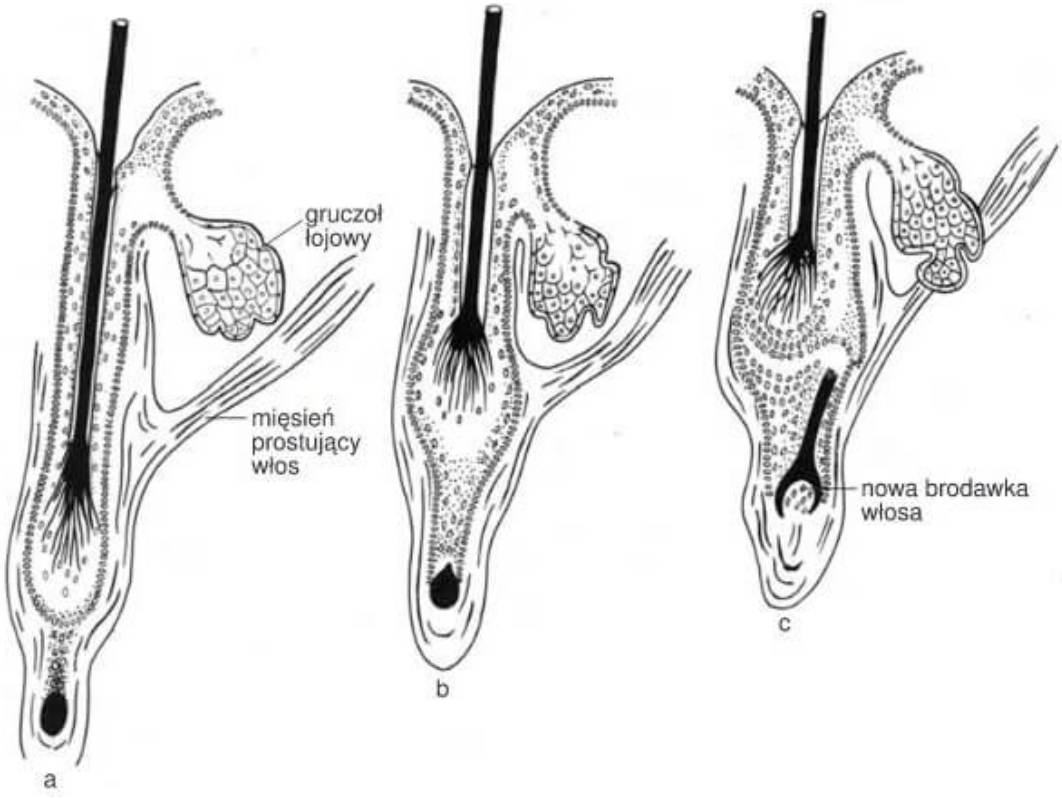
Gruczoł łojowy stanowi integralną część aparatu włosowo-łojowego. Ujście gruczołu łojowego znajduje się poniżej tzw. lejka (jest to miejsce, w którym włos wychodzi ze skóry). Niektóre hormony (progesteron i testosteron) powodują przerost gruczołów łojowych i zwiększone wydzielanie łoju, a inne (antyandrogeny oraz estrogeny) wywołują działanie odwrotne.

1.5.Cykl wzrostu włosa

Każdy rodzaj włosa ma ustalony czas wzrostu. U człowieka proces ten nie jest zsynchronizowany, natomiast u zwierząt synchronizacja skutkuje corocznym linieniem i zmianą owłosienia.

Anagen jest to faza wzrostu, w czasie której włos rośnie średnio około 0,3 mm w ciągu dnia. Długość tej fazy jest różna dla różnych osobników, może ona więc trwać od 1 roku do 10 lat (średnio jest to od 3 do 4 lat). *Katagen* jest fazą regresji, podczas której włos przestaje rosnąć, a cały mieszek włosowy kurczy się i przesuwa w stronę powierzchni

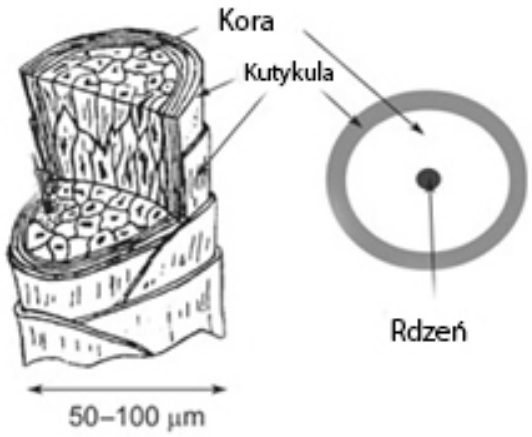
skóry głowy. Ta faza jest krótsza trwa od 2 do 3 lat. *Telogen* to faza odpoczynku, dzieli się na fazę wypadania oraz następującą po niej fazę uśpienia, gdzie cebulka pozostaje pusta. Czas trwania tej fazy to 2 do ponad 12 miesięcy. Badania naukowe są nakierowane w szczególności na fazę uśpienia, gdyż im dłużej ona trwa, tym więcej cebulek jest w stanie uśpienia, i tym włosy stają się cieńsze. Ogólnie w ciągu życia następuje 25-30 cykli życiowych mieszka włosowego [Graham-Brown, Bourke, 2009]. Cykl wrostu włosa został pokazany na Rysunku 3.



Rysunek 3. Cykl wzrostu włosa a) Anagen, b) Katagen, c) Telogen [Bochenek , Reicher, 2008]

1.6.Budowa włosa

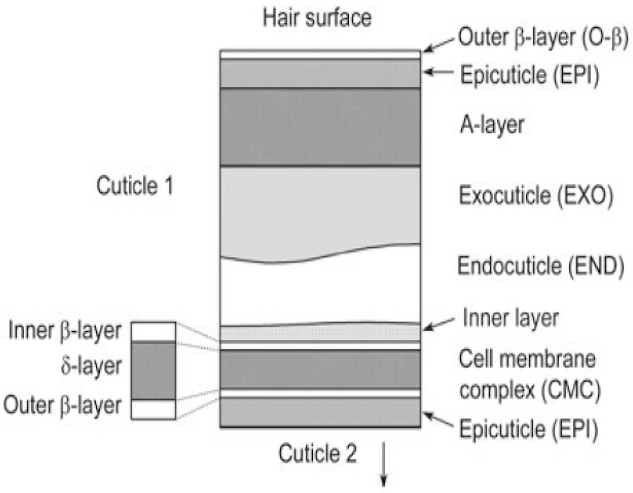
Rysunek 4 pokazuje schemat budowy włosa na poziomie komórkowym, złożonego z kilku warstw. Pojedynczy włos ma średnicę od 50 do 100 μm, składaja się z kutykuli, kory oraz w zależności od rodzaju włosa, z rdzenia w centralnej części [Bhushan, Bharat, 2010].



Rysunek 4. Schemat budowy włosa przez przekrój poprzeczny [Robbins, 1994]

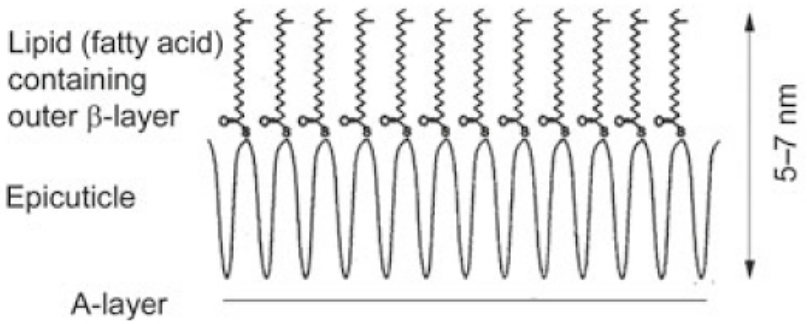
1.6.1. Kutykula

Kutykula włosa składa się z płaskich, nakładających się na siebie komórek. Komórki kutykuli są przyłączone do końca korzenia włosa i skierowane w stronę końców (ułożone są jak dachówki). Każda komórka kutykuli ma około 0.3-0.5 μm grubości, a widoczna część komórki ma długość 5-10 μm. Każda z komórek kutykuli w ludzkim włosie składa się z kilku sublamelarnych warstw o różnej grubości (epikutykuli, warstwy A, egzokutykuli, endokutykuli i warstwy wewnętrznej) oraz z CMC (*cell membran complex*), które spaja komórki kutykuli (Rysunek 5). Warstwy tworzą pierścieniowy kształt, otulający korę i rdzeń. [Shang i in., 2011].



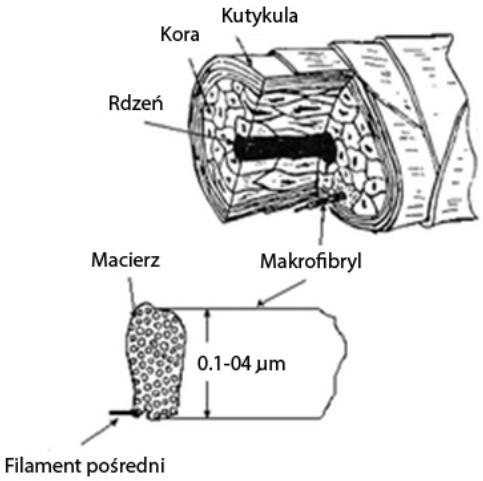
Rysunek 5. Przekrój warstwowy kutykuli [Smith, Swift, 2002].

Zewnętrzna warstwa (Rysynek 6) - epikutykula jest pokryta cienką warstwą lipidów (kwasami tłuszczowymi, które w przewadze zawierają kwas metylo eikozanowy 18 MEA (methyl eicosanoic acid).



Rysunek 6. Schemat zewnętrznej warstwy włosów z przyłączonymi lipidami [Smith, Swift, 2002].

1.6.2.Kora i rdzeń



Rysunek 7. Schemat struktury włókna włosa [Robbins, 1994]

Rysunek 7 przedstawia przekrój poprzeczny przez włókno włosa. Kora zbudowana jest z komórek korowych oraz ze spoiwa CMC. Komórki korowe mają 1 – 6 µm grubości oraz 100 µm długości, biegną one podłużnie, wzdłuż osi włókna włosów i zajmują

większość wewnętrznego składu włosa [Randebrook, 1964]. Podstawową komórką budującą kore włosa są makrofibryle, maja one średnicę 0.1 – 0.4 μm.

Każda makrofibryla zkłada się z macierzy oraz z cieńszych włókien nazywanych filamentami pośrednimi (7.5 nm średnicy). Filamenty pośrednie maja niska zawartość cysteiny (~ 6%), a macierz wysoką (~21%). Macierz ma tez dużą koncentrację wiązań disiarczkowych [Wei, Yichen i in., 2005].

CMC łączą razem kutykulę oraz komórki korowe. Międzykomórkowy cement CMC jest przede wszystkim niekeratynowym białkiem o niskiej zawartości cysteiny (~2%). Rdzeń ludzkiego włosa, jeżeli jest obecny, stanowi na ogół tylko niewielki procent masy całego włosa. Rdzeń w niewielkim stopniu wpływa na mechaniczne właściwości włókna ludzkiego włosa.

1.7. Integralne oraz powierzchniowe lipidy włosów

Rolą lipidów jest ochrona włosów przed nadmierną utratą wody [Elias i in., 1981]. Włosy ludzkie zawierają dwa rodzaje lipidów. Lipidy powierzchniowe oraz lipidy integralne. Lipidy przyłączone są do powierzchni włosa za pomocą wiązania kowalencyjnego [Stenn, Paus, 2011]. Lipidy integralne znajdują się w strukturze włosa i są trudne do usunięcia w czasie mycia szamponami. Grubość warstwy lipidów zewnętrznych jest bardzo ważnym czynnikiem dla absorpcji niektórych substancji [Lampe i in., 1983]. Lipidy powierzchniowe prowadzą do powszechnie niepożądanych efektów, jak przetłuszczanie się włosów.

Również integralne lipidy z wewnętrznej warstwy β cementu CMC, mogą z biegiem czasu być wypłukiwane z włosów. Całkowita suma lipidów ekstrahowana, jest na poziomie 9% masy włosów [Robbins, Clarence, 1994].

Skład lipidów integralnych, zmierzony za pomocą chromatografii (HPTLC) w całym mieszku włosowym składa się z: kwasów tłuszczowych, fitosfingozyny, ceramidów, cholesterolu, siarczanu cholesterolu oraz oleanianu cholesterolu (w malejącej kolejności) [Wertz, Downing, 1988]. Składy procentowe integralnych lipidów dla pasma włosów oraz dla mieszka włosowego zestawiono w Tabeli 2 [Lee, Woo-Soo, 2005].

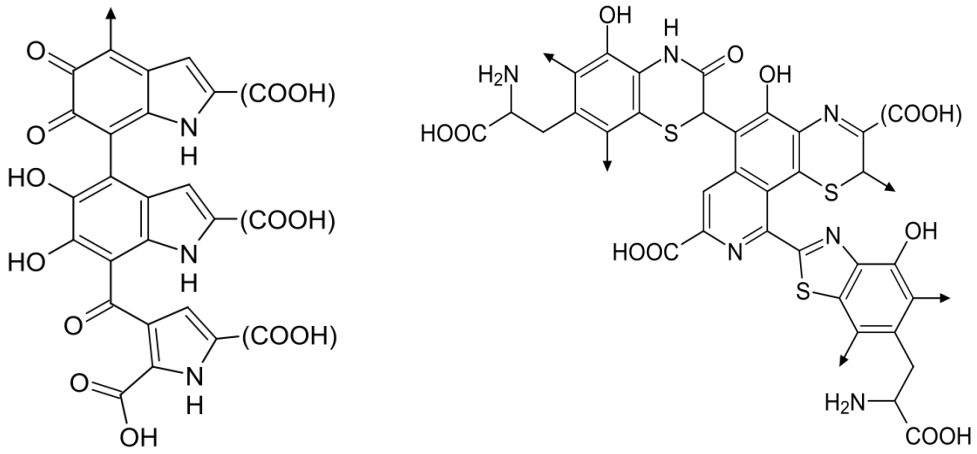
	Pasmo włosa (%)	Mieszek włosowy (%)
Kwasy tłuszczowe	29.60	49.10
Fitosfingozyna	37.20	26.30
Ceramidy	26.90	20.20
Cholesterol	5.10	3.70
Siarczan cholesterolu	1.10	0.30
Oleanian cholesterolu	0.20	0.30

Tabela 2. Udział procentowy składników wchodzących w skład lipidów włosowych [Lee, Woo-Soo, 2005].

1.8.Pigmentacja włosów

Melaniny są grupą pigmentów odpowiadającą za barwę włosów. Powstają one pod wpływem działania enzymu tyrozynazy w procesie enzymatycznym melanogenezy, na którą silny wpływ ma promieniowanie UV. Melaniny są produkowane w cebulce włosa przez komórki nazywane melanocytami. Melanina występuje w niej w postaci granulek pigmentu Wkład barwnika w przekroju poprzecznym włosa, wzrasta na zewnątrz i jest maksymalny tuż poniżej łuski włosa. Melanina jest bardzo odporna na działanie podwyższonej temperatury, nierozpuszczalna w wodzie i słabo poddaje się rozkładowi enzymatycznemu. Ma właściwości przeciwutleniające [Wang i in.,2006].

Są dwa typy melaniny (Rysunek 8) [Slawsonn i in., 1998]. E*umelanin*a to pigment nadający włosowi kolor od czarnego aż do brązu, a *feomelanina to* jaśniejszy barwnik barwiący włos od czerwonobrązowego, poprzez czerwonożółty, aż do żółtego.



Rysunek 8. Schemat budowy melaniny a) eumelanina, b)feomelafeomelanina [Ito, Kazumasa, 2008]

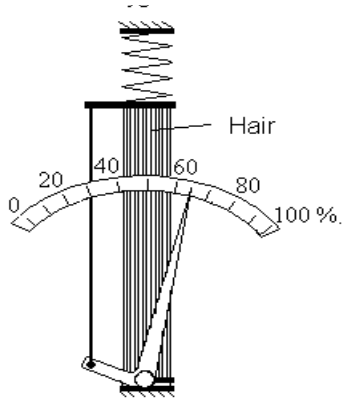
Włosy, niezależnie od koloru (poza albinotycznymi, które nie zawierają barwnika) zawierają eumelaninę oraz feomelaninę w różnej proporcji oraz w różnym stopniu rozproszenia czy skupiskach. Bardzo ciemne, czarne, azjatyckie lub afrykańskie włosy są mocno upigmentowane, mogą też zawierać wyłącznie eumelaninę [Warren, 1999].

Najciemniejsze włosy cechują się również największymi melaninowymi granulkami. Włosy blond zawierają mniej melaniny niż włosy ciemne, a ponadto mniej eumelaniny niż feomelaniny oraz mniejsze, bardziej rozproszone granulki melaniny. Siwe pasma włosów zawierają bardzo niewiele melaniny. Melanina może stanowić do 4% masy całego włosa w przypadku włosów ciemnych, średnia wartość to około 3% [Draelos, 2010] natomiast dla włosów blond jest to około 0.2 – 0.5 % masy całego włosa.

2.WODA

2.1.Woda i włosy

Woda stanowi najbardziej rozpowszechnioną ciecz w przyrodzie. Odgrywa esencjonalną rolę dla istnienia organizmów żywych. Zwykle jej brak powoduje śmierć organizmów. Woda ma też wpływ na właściwości fizyczne włosów. Już w XVIII w. De Sassure wykorzystał tę własność włosów, iż zmieniają one swoją długość w zależności od wilgotności otaczającego powietrza. Zbudował on higrometr włosowy. Wykorzystał tę właściwość, że im więcej wilgoci zaabsorbuje włos, tym jest on dłuższy. Budowa takiego higrometru jest następująca: do włosa przyczepiona jest wskazówka, która może obracać się na wyskalowanej tarczy i w ten sposób wskazuje wilgotność (Rysunek 9). Jednak pojawiła się konieczność standaryzacji włosów i pojawiły się problemy z powtarzalnością wyników. Dziś higrometry włosowe są stosowane raczej jako tanie wskaźniki, gdyż nie mają możliwości dobrego wzorowania ich jako przyrządów pomiarowych. Spotyka się je dziś zamknięte w jednej obudowie razem z barometrem oraz termometrem [Górski, Matejak, 1998].



Rysunek 9. Schemat budowy higrometru włosowego [Górski, Matejak, 1998]

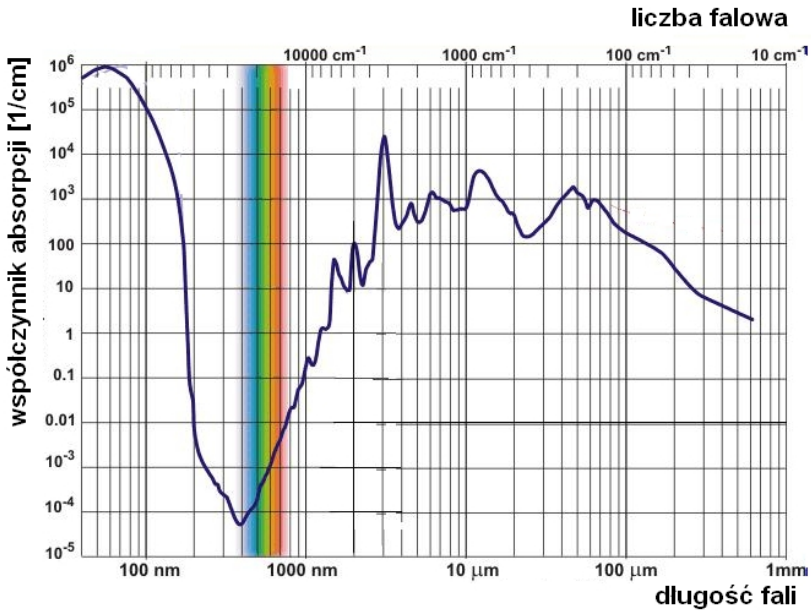
2.2.Właściwości makroskopowe wody

Woda wykazuje wiele właściwości, które mają kolosalny wpływ na funkcjonowanie przyrody i życia. Wiele właściwości jest anomalnych, w porównaniu do innych substancji, o takiej samej masie cząsteczkowej [Lehinger i in., 1979], [Lenk 1986], [Stillinger 1980], [Weast 1974].

Jedną z takich właściwości jest wykazywanie przez wodę maksimum gęstości w temperaturze 3.98°C dla normalnego ciśnienia (gęstość ta wynosi 1 g/cm^3). Woda znajdująca się w stałym stanie skupienia charakteryzuje się mniejszą gęstością, niż w stanie ciekłym, różnica ta wynosi około 9%. Również temperatury wrzenia oraz topnienia są stosunkowo wysokie (temperatura topnienia to 273.15K, a wrzenia 373.15K) . Podobnie i temperatura krytyczna jest wysoka (647,35 K), zwłaszcza biorąc po uwagę fakt, iż woda nie jest substancją metaliczną, ani jonową. Woda cechuje się również wysokimi wartościami ciepła topnienia, ciepła parowania oraz ciepła właściwego. Przenikalność dielektryczna wynosi $\varepsilon_r = 80.37$ w 20°C, co jest stosunkowo dużą wartością. Kolejną ciekawą właściwością wody jest wysoka wartość, napięcia powierzchniowego (od około 60 mN/m dla temperatur bliskich 100°C do około 75 mN/m temperatur około 0^{0}C). Ponadto woda jest uniwersalnym rozpuszczalnikiem oraz medium powodującym powstawanie rdzy.

Pojedyncza molekuła wody składa się z jednego atomu tlenu oraz dwóch atomów wodoru, jej masa cząsteczkowa jest niewielka i wynosi 18 g/mol. W warunkach normalnych (p = 1013.25 hPa, T = 293.15 K) ma delikatnie niebieskawą barwę. Jest to

spowodowane zależnością współczynnika absorpcji od długości fali promieniowania elektromagnetycznego (Rysunek 10), jest on najmniejszy dla światła niebieskiego (z całego spektrum widzialnego).



Rysunek 10. Zależność dla wody współczynnika absorpcji promieniowania elektromagnetycznego od długości fali (od 10 nm do 0.6 mm). [Warren, 1984, Quickenden, Irvin, 1980, Buiteveld i in., 1994].

2.3.Wiązania chemiczne cząsteczek wody

W cząsteczce wody są dwa wiązania O-H i są to wiązania kowalencyjne spolaryzowane. Na wiązanie składają się: orbitale atomowe o hybrydyzacji *ls* atomów wodoru oraz orbital atomowy tlenu o hybrydyzacji sp^3. Energia tego wiązania jest równa około 420 kJ/mol. Kąt pomiędzy wiązaniami kowalencyjnymi wynosi 104.45^o i jest to wartość bliska dla kąta czworościennego. Wiązanie wodorowe powstaje na skutek tego, iż tlen jest atomem silnie elektroujemnym, więc staje się on donorem ładunku dodatniego atomu wodoru. Wiązanie tworzy się pomiędzy atomem wodoru, obdarzonym ładunkiem dodatnim (donor wiązania wodorowego) jednej cząsteczki wody, a atomem tlenu z drugiej cząsteczki (akceptor wiązania wodorowego).

Czynnikiem najsilniej wpływającym na energię wiązania jest oddziaływanie elektrostatyczne. Innymi, słabszymi czynnikami są przyczynki oddziaływań: odpychających, które związane są z zakazem Pauliego; dyspersyjnych, które są krótko

zasięgowymi ruchami elektronów; delokalizacyjnych, które wywołane są dalekozasięgową dystorsją chmur elektronowych [Rao, 1972].

Poza występowaniem wiązania wodorowego pomiędzy atomem wodoru oraz atomem tlenu, wiązanie to może występować także pomiędzy atomem wodoru, a innymi atomami elektroujemnymi, które obecne są w grupach: aminowej, tiolowej, hydroksylowej. Wiązanie wodorowe powstaje pomiędzy atomem wodoru, a silnie elektroujemnym atomem, który jest akceptorem wiązania np: fluorem, chlorem, jodem czy borem.

W 1920 r. Latimer i Rodebush próbowali wyjaśnić zachowanie wody, proponując występowanie wiązania wodorowego [Latimer, Rodebush, 1920]. Swoją teorię oparli na rozwijającej się wówczas teorii wartościowości. Założyli, że atomy wodoru są dwuwartościowe, więc mogą przyłączać dwie pary elektronów. Wyjaśniali oni, iż jedna z par elektronów tworzy wiązanie kowalencyjne w ramach cząsteczki, a druga para wiązanie wodorowe pomiędzy cząsteczkami. Oczywiście założenie o dwuwarościowości wodoru, było błędne. Niecałe czterdzieści lat później, w 1957 roku Coulson zaprezentował warunki, jakie powinny spełniać atomy X i Y, by w układzie X–H···Y, mogło zaistnieć wiązanie wodorowe [Coulson, 1957]. Wyjaśnił on iż dany atom X, związany z atomem wodoru, dzięki wiązaniu kowalencyjnymu spolaryzowanemu, musi być silnie elektroujemny. Wolna para elektronów w niesymetrycznym orbitalu atomowym, z kolei musi zaistnieć w atomie elektroujemnym, który wiąże się z wodorem. Oś tego orbitalu i kowalencyjne wiązanie X-H muszą być współliniowe.

Wiązania wodorowe cechują się bardzo krótkimi czasami życia. W temperaturze pokojowej to czas rzędu 0.1 ps. Wraz ze spadkiem temperatury czas ten wydłuża się do czasów rzędu 1ps [Chen, Teixeira, 1985].

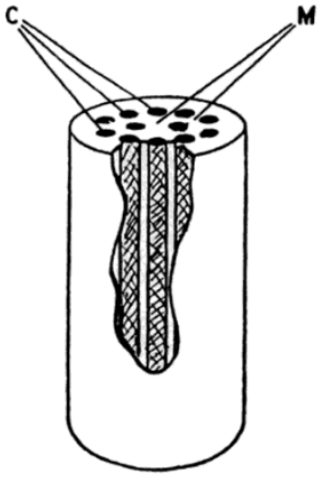
Energia wiązanie kowalencyjnego jest znacznie większa niż wiązania wodorowego – 21 kJ/mol [Suresh, Naik, 2000]. Pomimo niskiej energii oddziaływania, wiązania wodorowe mają ogromne znaczenie dla życia. To właśnie one powodują powstawanie trzeciorzędowej struktury białkowej oraz DNA. Również to wiązanie jest odpowiedzialne za wspomniane już wyżej anomalne zachowanie wody w czasie zamarzania. Wymuszają one określone położenia cząsteczek wody w lodzie, co sprawia, że lód ma mniejszą gęstość od wody w stanie ciekłym.

2.4.Keratyna i woda

Zawartość wody zmienia mechaniczne, cieplne i elektryczne własności włókien α-keratynowych, więc α-keratynę z różną zawartością wody należy rozważać jako różny materiał keratynowy. Woda tworzy wraz z łańcuchami polipeptydowymi keratyny wzajemnie przenikającą się polimerową sieć, dzięki wiązaniom wodorowym. Żeby zrozumieć fizyczne właściwości układu keratyny z wodą, trzeba najpierw zrozumieć naturę zachowania wody wewnątrz struktury włókien α-keratyny.

W strukturze keratyny woda, może wiązać się wiązaniami wodorowymi zarówno z dodatnio jak i z ujemnie naładowanymi grupami, resztami kwasowymi (- COO^-), czy zasadowymi (- NH_3^+) grupami pobocznymi polipeptydowego łańcucha. Jedna cząsteczka wody może tworzyć do czterech wiązań wodorowych z innymi cząsteczkami wody lub z polarnymi grupami innych molekuł, jak grupa amidowa –NH, karboksylowa –C =O i hydroksylowa –OH. Pozwala to na powstanie ciągłego trójwymiarowego układu wiązań wodorowych pomiędzy keratyną a wodą [Johnson 1997].

We włóknie włosa można wyodrębnić dwie fazy, fazę C oraz fazę M (Rysunek 11), które są odpowiedzialne za fizyczne właściwości włosów. Faza C zbudowana jest z włókien, które są nie dostępne dla wody i są ułożone równolegle wzdłuż pasma włosa. Są one zanurzone w fazie M, która pęcznieje pod wpływem wody. Faza C zajmuje około 30% objętości pojedynczego włókna włosa [Johnson 1997].



Rysunek 11. Struktura włókna α – keratyny, w odniesieniu do dwóch faz. Fazy C nieprzepuszczalnej dla wody oraz M, przepuszczalnej dla wody, w której faza C jest zanurzona. [Johnson,1997].

2.4.1.Sorpcja wody przez włosy

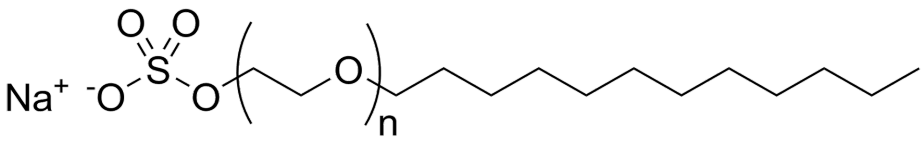
Pomiary magnetycznego rezonansu jądrowego (MRJ) wykazały, że molekuły wody obecne we włóknie włosów są bardziej mobilne od keratyny [Feughelman, 1997]. Te cząsteczki wody są w reżimie szybkiej wymiany protonowej, dlatego metodą MRJ nie można rozróżnić molekuł wody związanych do względnie sztywnej struktury keratyny, a molekułami wody związanych tylko do innych molekuł wody. Pomiary MRJ wskazują jednak, że gdy uwodnienie włókna rośnie, to średnia mobilność molekuł wody też wzrasta. Jednak nawet dla wysokich wilgotności (p/p_0 > 90%), mobilność molekuł wody związanej jest niższa niż mobilność cząsteczek wody swobodnej.

3. BADANE SUBSTANCJE EGZOGENNE

3.1. SLES

Sól sodowa siarczanu oksyetylenowanego alkoholu laurylowego (Rysunek 12) $CH_3(CH_2)_{11}(OCH_2CH_2)_nOSO_3Na$ (SLES) jest zaliczana do anionowych środków powierzchniowo czynnych (surfaktantów). Występuje w postaci ciekłej, jest bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie. SLES jest emulgatorem typu o/w, stabilizującym emulsje, w których fazą ciągłą jest faza wodna, a fazą rozproszoną olej. Pod wpływem mikroorganizmów ulega biodegradacji. SLES ma silne właściwości pianotwórcze [Agner, 1991], zmiękczające twardą wodę. Dzięki obniżeniu napięcia powierzchniowego możliwe jest usunięcie z powierzchni tłuszczu oraz brudu [Pytkowska i in., 2010, Marie-Claude, 2007].

Jak wiele innych detergentów, SLES wykazuje właściwości drażniące dla skóry, które wzrastają wraz ze wzrostem stężenia. Wykazano, iż podobny w działaniu do SLES, surfaktant SLS (laurylosiarczan sodu) [Magnusson, 1973], wykazuje właściwości uczulające u osób, które stosują kosmetyki z nim, przez dłuższy okres czasu [VanHaute, Dooms-Goossens, 1983].



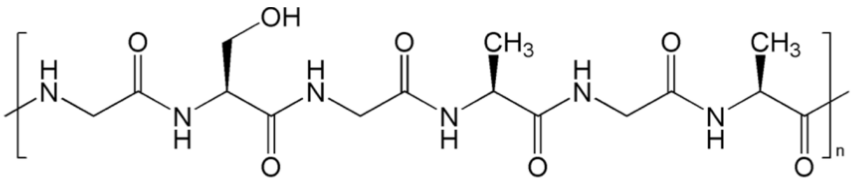
Rysunek 12. Schemat budowy SLES, gdzie n może przyjmować wartości od 1 do 4.

3.1.1. Właściwości fizykochemiczne SLES

SLES jest klarowną jasnożółtą cieczą. W badaniach był używany 25% roztwór wodny. Zawartość substancji aktywnej SLES wahała się pomiędzy 24.5 – 25.5 %. Gęstość SLES w temperaturze 20°C wynosi 1,025 - 1,045, a jego pH waha się pomiędzy 6,5 - 9,0. Należy przechowywać go w szczelnie zamkniętych pojemnikach, nie można dopuszczać do kontaktu z kwasami, które mogą spowodować hydrolizę produktu. Optymalna temperatura przechowywania to 20-35°C. SLES należy chronić przed mrozem, przegrzaniem oraz przed światłem słonecznym. Należy unikać bezpośredniego kontaktu ze skórą i oczami. SLES działa również szkodliwie na organizmy wodne. Okres ważności preparatu SLES to 365 dni od daty produkcji.

3.2. Hydrolizat białka jedwabiu

Głównym budulcem jedwabiu jest fibroina. Białko fibroiny składaja się z antyrównoległych warstw tworzących strukturę w postaci kartki-β. Jego podstawową strukturę tworzą powtarzające się sekwencję aminokwasów (Rysunek 13). Struktura pierwszorzędowa fibroiny to $(Gly\text{-}Ser\text{-}Gly\text{-}Ala\text{-}Gly\text{-}Ala)_n$.



Rysunek 13. Schemat budowy fibroiny, głównego budulca włókien jedwabiu [Elahi i in., 2014]

Proteina jedwabiu jest zaliczana do klasy białek egzogennych. Ze względu na swoje właściwości jak i duże podobieństwo w składzie chemicznym do protein znajdujących się w skórze oraz włosach ludzkich. Jest ona częstym składnikiem preparatów kosmetycznych przeznaczonych do pielęgnacji skóry oraz włosów. Wykorzystuje się ją, gdyż w kosmetyce ma właściwości wygładzające oraz nawilżające włos. Kosmetyki zawierające w swoim składzie proteinę jedwabiu przywierają do powierzchni skóry, a włosy pokryte takim

preparatem nie elektryzują się. Hydrolizat białka jedwabiu posiada szeroki zakres mas cząsteczkowych, zaczynając od wolnych aminokwasów, aż do polipeptydów o dłuższych łańcuchach. W badaniach wykorzystywano hydrolizaty białka jedwabiu o różnym stopniu hydrolizy. Były to mieszaniny aminokwasów, peptydów oraz polipeptydów, o stosunkowo wysokiej średniej masie cząsteczkowej: 55.000=70.000 Da.

Wraz ze wzrostem stopnia hydrolizy, maleje średnia masa cząsteczkowa hydrolizatu, maleją też jego własności błonotwórcze oraz spada jego działanie ochronne. Natomiast większy udział cząsteczek o mniejszej masie cząsteczkowej zwiększa penetrację struktury włosa, więc poprawia jego regenerację.

Peptydy i aminokwasy o niższej masie cząsteczkowej, które wchodzą w skład fibroiny, mogą wnikać do wnętrza zarówno zniszczonych jak i nieuszkodzonych włosów lub do wnętrza naskórka skóry głowy, co zwiększa i utrwala efekt głębokiego nawilżenia (efekt kondycjonujący).

Polipeptydy długołańcuchowe i o dużej masie cząsteczkowej, które wchodzą w skład fibroiny posiadają silne właściwości błonotwórcze. Dzięki temu są one polecane szczególnie do pielęgnacyjnego leczenia włosów. Tworzą one cieniutki film ochronny na powierzchni włosów bądź skóry, dzięki czemu zwiększają zatrzymywanie wilgoci, powodują wrażenie przyjemnego dotyku oraz pomagają przy rozczesywaniu włosów. Film jaki tworzy się na powierzchni włosów, oprócz utrzymania równowagi wodno-tłuszczowej, pełni jeszcze jedną funkcję. Powoduje on specyficzne "uszczelnianie" powierzchni i nie przepuszcza do wnętrza, obecnych w powietrzu, substancji chemicznych, które mogą być składnikami zanieczyszczeń przemysłowych oraz spalin z pojazdów mechanicznych. Dany mechanizm nie został do końca wyjaśniony i nie polega on wyłącznie na mechanicznym zatrzymywaniu szkodliwych substancji chemicznych. Takie właściwości hydrolizatu są niezwykle ważne dla mieszkańców dużych aglomeracji miejskich oraz przemysłowych.

W preparatach stosowanych do pielęgnacji włosów, hydrolizat białka jedwabiu, zatrzymuje wodę na powierzchni włosa i dzięki temu poprawia ich podatność na układanie, przeciwdziała elektryzowaniu oraz nadaje im elastyczność, zdrowy wygląd, miękkość oraz jedwabisty połysk.

Preparaty zawierające hydrolizat białka jedwabiu są szczególne zalecane dla włosów słabych i zniszczonych zabiegami fryzjerskimi, jak też szkodliwymi

czynnikami środowiska. Pomagają one odzyskać naturalny stopień nawilżenia włosów, wywołując tym samym efekt przyjemnego i długotrwałego uczucia świeżości i gładkości włosów.

Są one stosowane w płynach do trwałej ondulacji, serum, odżywkach, żelach, piankach, lakierach do włosów, preparatach do rozjaśniania włosów, delikatnych szamponach do codziennego stosowania [Materiały własne firmy „Farmona"].

3.2.1. Właściwości fizykochemiczne hydrolizatu białka jedwabiu

Hydrolizat białka jedwabiu jest biologicznie czynną substancją kosmetyczną, która otrzymywana jest na drodze kontrolowanej hydrolizy czystej fibroiny.
Jest to klarowna, lekko opalizująca ciecz, barwy żółtej do bursztynowej. Ma słaby charakterystyczny zapach. Średnia masa cząsteczkowa wynosi nie mniej niż 50.000 Da. Odczyn pH wynosi 5.0-7.5.

Zbadano, że ogólna liczba drobnoustrojów mezofilicznych w hydrolizacie białka jedwabiu, wynosi nie więcej niż 1000 jtk/g (jednostek tworzących kolonię/gram), Pseudomonas aeruginosa nieobecne w 0.1 g. *Staphylococcus aureus* nieobecne w 0.1 g, *Candida albicanus* nieobecne w 0.1 g.

Hydrolizat jest rozpuszczalny w wodzie, w alkoholu, wodnych roztworach detergentowych. Nie jest rozpuszczalny w olejach mineralnych, naturalnych oraz syntetycznych.

Używany w badaniach preparat, charakteryzuje się dużym udziałem cząsteczek o mniejszej masie cząsteczkowej), więc aplikowany na włosy, sprawia, że łatwiej się je rozczesuje. Działa wygładzająco z dodatkowym efektem nawilżenia. Proponowana doza w kosmetyku powinna mieścić się pomiędzy 1.0-5.0% roztworu wodnego.

Hydrolizat białka jedwabiu znajduje zastosowanie w produkcji: odżywek do włosów, tuszów do rzęs, żeli do pielęgnacji skóry i włosów, kremów do twarzy oraz rąk, szamponów. Białko jedwabiu najlepiej jest wprowadzać do gotowego produktu w temperaturze nieprzekraczającej 70°C.

Dermatologiczne badania wodnego roztworu hydrolizowanego jedwabiu, wykonano na próbie 20 osób i nie wykazały żadnego działania drażniącego i uczulającego.

Preparat jest bezpieczny do stosowania w preparatach kosmetycznych. Badania zostały przeprowadzone dla roztworów do stężenia 10% hydrolizowanego jedwabiu.

Hydrolizat białka jedwabiu należy przechowywać w oryginalnie zapakowanych opakowaniach, w temperaturze 10-20°C. Aby uniknąć zakażenia mikroorganizmami z powietrza, raz otwarte opakowanie należy zużyć w jak najkrótszym czasie. Czas przydatności to 12 miesięcy dla opakowań oryginalnie zamkniętych [Materiały własne firmy „Farmona"].

3.3. Kolagen

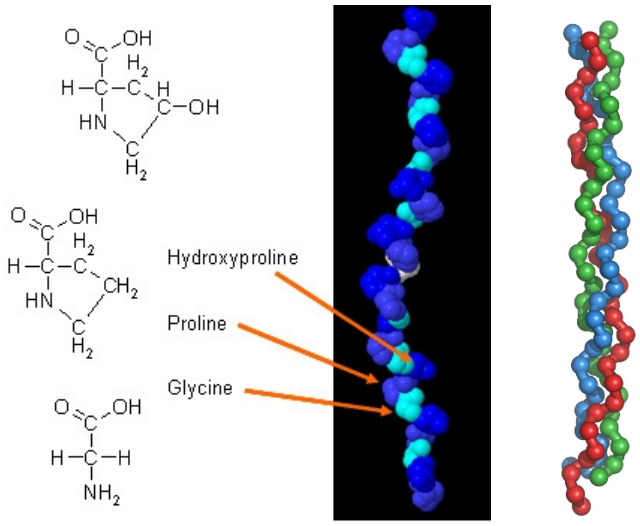
Kolagen jest głównym strukturalnym białkiem pozakomórkowej przestrzeni w różnych tkankach łącznych organizmów zwierzęcych. Jako główny składnik tkanki łącznej jest najpowszechniejszym białkiem ssaków, stanowi od 25% do 35% masy wszystkich białek całego ciała [Di Lullo i in., 2002] . W zależności od stopnia mineralizacji, włókna kolagenowe mogą być sztywne (kolagen występujący w kościach) oraz bardziej elastyczne (kolagen występujący w ścięgnach), lub może mieć elastyczność pośrednią między oboma stanami granicznymi (kolagen występujący w chrząstkach) [Sherman, Vincent 2015]. Kolagen w postaci podłużnych włókien znajduje się głównie w tkankch włóknistych jak więzadła, ścięgna oraz skóra. Ponadto kolagen występuje również w rogówce, naczyniach krwionośnych, jelitach, krążkach międzykręgowych, a także w zębinie [Sherman, Vincent, 2015].

Kolagen jest szeroko wykorzystywany w przemyśle. Dzięki swoim właściwościom, jako naturalny czynnik nawilżający wpływa na utrzymanie przez skórę odpowiedniego poziomu nawilżenia, chroniąc ją tym samym przed utratą wody transepidermalnej (*Transepidermal Water Loss*) czyli ilości wody, która dyfunduje poprzez skórę z wnętrza ciała do otaczającej atmosfery. Proces starzenia się skóry polega na sukcesywnemu przekształcaniu się kolagenu rozpuszczalnego w postać nierozpuszczalną. Nierozpuszczalny kolagen stracił zdolność pobierania wody. Wtedy skóra staje się mało elastyczna.

Rozpuszczalny kolagen składa się z trzech lewoskrętnych helis (Rysunek 14), które tworzą prawoskrętną helisę o dużej masie cząsteczkowej, wykazuje właściwości filmotwórcze. To znaczy, że po zaaplikowaniu preparatu na włosy, tworzy on cieniutki

film ochronny na ich powierzchni. Sprawia on, że włosy zatrzymują wilgoć oraz są przyjemniejsze w dotyku.

3.3.1.Właściwość fizykochemiczne kolagenu



Rysunek 14. Schemat budowy a) pojedynczego włókna kolagenu b) tropokolagenu – trzech lewoskrętnych helis tworzących prawoskrętną helisę [Yamazaki i in., 2010]

Włókna kolagenowe są w konformacji α-trójhelikalnej. Strukturę tą tworzą trzy odrębne α-helisy. Ta struktura nosi nazwę *tropokolagenu* [Bella i in., 1994]. Każdy z łańcuchów zawiera charakterystyczną sekwencję lewoskrętnych aminokwasów poliproliny, często określanej jako poliprolina typu II w postaci helisy-α [Shoulders, Raines, 2009]. Odpowiednie sfałdowanie, każdy łańcuch zawdzięcza obecności glicyny, która obecna jest na każdym trzecim miejscu łańcucha polipeptydowego.

Trzy łańcuchy w konformacji helisy–α tworzą strukturę przypominającą linę. Są one stabilizowane poprzez międzycząsteczkowe wiązania wodorowe. Długość splotu tropokolagenu wynosi 260 nm, jego grubość to 1.5 nm, a skok 0.3 nm [Kilarski, 2005]. Każdy helikalny łańcuch otoczony jest warstwą (to nie sfera, tylko walec) hydratacyjną, utworzonej przez sieć wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody oraz grupami peptydowymi kolagenu, które są akceptorami [Shoulders, Raines, 2009].

W badaniach wykorzystywano preparat rozpuszczalnego kolagenu o przemysłowej nazwie Collasol ™ M. Jest to płyn o bursztynowym kolorze. Jego masa cząsteczkowa wynosi 300.000 Da. Preparat zawiera natywny rozpuszczalny kolagen podobny to tego, który można znaleźć w skórze. Ma właściwości nawilżające włosy. Ulega denaturacji w temperaturze powyżej 28^0C. Może być wykorzystywany jako biologicznie czynny

składnik kosmetyków do pielęgnacji włosów oraz w chemii gospodarczej. Może znaleźć również zastosowanie jako czynnik antystatyczny [Niepublikowane dane Firmy Farmona].

3.4.Inulina

Inulina jest polisacharydem, należącym do grupy fruktooligosacharydów, zbudowanych z wielu podjednostek β-D-fruktozy oraz pojedynczej cząsteczki glukozy (Rysunek 15). Jako fruktan długołańcuchowy, inulina zawiera 20-50 cząsteczek fruktopiranozowych, które połączone są wiązaniem β-2-1 glikozydowym. Uważa się, że inulina ma pozytywny wpływ na organizm człowieka, co może być związane z jej właściwościami prebiotycznymi, wynikającymi z obecności wiązania β-glikozydowego, które odporne jest na hydrolizę przez enzymy trawienne jelita cienkiego.

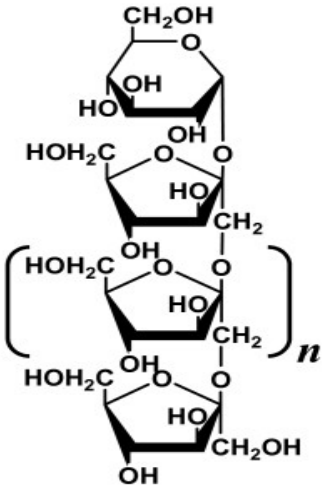
Inulina jest materiałem zapasowym wielu roślin, który gromadzony jest w wakuolach [Kopcewicz , Lewak, 2002] głównie w bulwach, a także kłączach, dolnych częściach łodyg i w mniejszych ilościach w liściach. Inulina jest składnikiem powszechnie spożywanych warzyw i owoców. Zawartość inuliny w szeroko znanych surowcach inulinowych są równe odpowiednio: w kłączach topinamburu 35% - 52%, w korzeniach cykorii 25% - 44%, w korzeniach omanu 16% - 34%, w korzeniach mniszka 12% - 34% [Kamiński i in., 1982].

W przemyśle kosmetycznym inulina wykorzystywana jest jako emulgator. Inulina bardzo dobrze oddziaływuje z detergentami oraz lipidami, dlatego stosowana jest w produkcji środków myjących, a dzięki swoim właściwościom powoduje ich łagodniejsze działanie na skórę i włosy.

W badaniach wykorzystywany był preparat Inutec H25P. Wyekstrahowany został z korzenia cykorii *(Cichorium intybus)* za pomocą gorącej wody, a następnie inulina ta była enzymatycznie oczyszczana. Preparat Inutec H25P tworzy na skórze i włosach gładką warstwę, dodaje się go zwłaszcza do kosmetyków, które należy spłukać po zastosowaniu. Żele pod prysznic zawierające Inutec H25P zmiękczają skórę. Szampony i odżywki z tym składnikiem sprawiają, że włosy stają się gładsze i odzyskują swój naturalny blask. Ponadto Inutec 25P wiąże składniki zapachowe oraz olejowe, dzięki czemu przedłuża działanie olejków zawartych w kosmetykach.

3.4.1.Właściwości fizykochemiczne inuliny

Preparat Inutec H25P ma postać białego proszku. Nie posiada zapachu, jego pH waha się pomiędzy 5, a 7 (50% roztwór wodny ilnuliny). Jest higroskopijny, a jego rozpuszczalność w wodzie wynosi 750 g/l. Po dodaniu do wody od razu się w niej rozprasza, wymagając tylko lekkiego mieszania. Roztwór preparatu inuliny jest przezroczysty. Nie wykazuje żadnych właściwości drażniących, ani toksycznych, jest bezpieczny dla środowiska. Powinien być przechowywany w warunkach zaciemnionych oraz pozbawionych wilgoci. Jest trwały do 3 lat od daty produkcji [Niepublikowane dane Firmy Farmona].



Rysunek 15. Wzór strukturalny inuliny [Ueno i in, 2011]

4.ELEMENTY TEORII MAGNETYCZNEGO REZONANSU JĄDROWEGO

Magnetyczny rezonans jądrowy (MRJ ang. *Nuclear Magnetic Resonance,* NMR) bazuje na oddziaływaniu jąder atomowych o niezerowym spinie ze zmiennym i ze stałym zewnętrznym polem magnetycznym. Możemy wnioskować o dynamice układu spinów jądrowych, na podstawie szybkości zachodzenia procesów relaksacyjnych, odbywających się w stałym polu magnetycznym. Zmiany te zachodzą na skutek pobudzenia układu

spinów przez impuls zmiennego pola magnetycznego. Woda stanowi główny składnik organizmów żywych. Protonowy rezonans magnetyczny może stanowić narzędzie do wyznaczenia poziomów uwodnień badanych tkanek keratynowych, a także badać ruchliwość zawartej w nich wody.

Magnetyczny rezonansu jądrowy jest zjawiskiem kwantowym, tyczącym się momentów magnetycznych jąder atomowych oraz związanych z nimi spinami. Dla próbek makroskopowych, które posiadają wiele jąder atomowych, wygodniej jest opisywać zjawisko w oparciu o zachowanie się wypadkowego momentu magnetycznego próbki.

4.1.Moment magnetyczny i moment pędu

Jądra atomowe (z wyjątkiem parzysto-parzystych) posiadają niezerowy moment pędu $\vec{K}$. Jest on iloczynem wektorowym jego wektora wodzącego $\vec{r}$ i pędu $\vec{p}$, względem określonej osi i dany jest wzorem:

$$\vec{K} = \vec{r} \times \vec{p}\,. \tag{4.1}$$

W przypadku, gdy ciało posiada moment magnetyczny $\vec{\mu}$ oraz jest umieszczone w polu magnetycznym o indukcji $\vec{B}_0$, to działa na niego moment siły $\vec{M}_s$, taki że:

$$\vec{M}_s = \vec{\mu} \times \vec{B}_0\,. \tag{4.2}$$

Poruszającym się ładunkom elektrycznym, towarzyszy właśnie moment magnetyczny i jest związany z momentem pędu $\vec{K}$, zależnością, :

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{K}\,, \tag{4.3}$$

gdzie γ to czynnik żyromagnetyczny.

Jak już zostało wspomniane, jądra atomowe o nieparzystej liczbie protonów lub nieparzystej liczbie neutronów posiadają niezerowy spin oraz niezerowy moment magnetyczny. Spin jest wielkością ze świata mechaniki kwantowej, więc rzut jądrowego momentu magnetycznego na wybrana oś będzie skwantowany. Możemy zapisać jego operator następująco:

$$\vec{\mu}_z = \gamma\hbar\vec{I}_z, \tag{4.4}$$

gdzie $\vec{I}_z$ – jest operatorem rzutu spinu związanego z osią kwantyzacji. Wartości własne operatora $\vec{\mu}_z$ to:

$$\lambda_{\mu_z} = m\gamma\hbar, \tag{4.5}$$

m może przyjmować wartości *–I, – I+1*, ... , *I–1*, *I,* gdzie *I* jest liczbą kwantującą spin jądra.

Energia oddziaływania momentu magnetycznego z zewnętrznym polem magnetycznym

Gdy jądro atomowe posiada moment magnetyczny, to oddziałuje z zewnętrznym polem magnetycznym. W klasycznym ujęciu energia potencjalna tego oddziaływania dana jest wzorem:

$$E = -\vec{\mu}\cdot\vec{B}_0 \tag{4.6}$$

Kierunek pola $\vec{B}_0$ przyjmuje się zwykle jako kierunek osi *z*. Przy takim założeniu energia oddziaływania może być zapisana jako:

$$E = -\mu_z B_0 \tag{4.7}$$

Jako, że moment magnetyczny jest skwantowany (równanie (4.4)), hamiltonian enerii oddziaływania można wyrazić wzorem:

$$H = -\gamma\hbar B_0 I_z, \tag{4.8}$$

Jego wartości własne będą wynosiły:

$$E = -m\gamma\hbar B_0 \tag{4.9}$$

Między dwoma sąsiednimi poziomami energetycznymi, różnica energii będzie dana wzorem:

$$\Delta E = E(m+1) - E(m) = -(m+1)\gamma\hbar B_0 + m\gamma\hbar B_0 = -\gamma\hbar B_0 \tag{4.10}$$

Przy założeniu, że magnetyczna liczba kwantowa *m* może przyjmować wartości ze zbioru {*–I, –I*+1,... *I*-1, I}, to umieszczone jądro atomowe w polu magnetycznym $\vec{B}_0$ będzie mogło przyjąć *2I+1* stanów energetycznych.

4.2.Obsadzenie stanów energetycznych

Próbka jest obiektem makroskopowym, więc znajduje się w niej dużo jąder atomowych (rząd liczby Avogadro). W temperaturze pokojowej, ruchy termiczne powodują obsadzenie również wyższych poziomów energetycznych. Dwa sąsiednie stany energetyczne o energiach kolejno E_1 i E_2, będą miały stosunek obsadzeń N_{E1} i N_{E2}, który będzie dany rozkładem Boltzmana:

$$\frac{N_{E_2}}{N_{E_1}} = e^{-\frac{E_2 - E_1}{kT}} . \tag{4.11}$$

Energie poziomów magnetycznych różnią się niewiele w porównaniu z energią termiczną (tzn., gdy $kT >> \gamma\hbar B_0$). Dla przykładu stosunek obsadzeń danych rozkładem Boltzmana jest zbliżony do 1. W polu magnetycznym o indukcji kilku tesli dla jąder ^{1}H, różnica ta jest rzędu jednego jądra na milion. Jak było opisane wyżej, próbka posiada ilość jąder rzędu 10^{24} (liczba Avogadro), więc różnica obsadzeń dla całej próbki będzie rzędu 10^{18}, więc wypadkowy moment magnetyczny staje się już mierzalny.

4.3.Magnetyzacja

Do tej pory mowa była o pojedynczym momencie magnetycznym $\vec{\mu}$. Do opisu namagnesowania makroskopowej próbki, musimy użyć nowej wielkości zwanej magnetyzacją $\vec{M}$. Magnetyzacja jest sumą wszystkich spinowych momentów magnetycznych, którą próbka mieści w swojej objętości, co wyraża wzór:

$$\vec{M} = \frac{\sum_1^n \vec{\mu}_n}{V} \tag{4.12}$$

Gdy na próbkę nie działa zewnętrzne pole magnetyczne, to magnetyzacja jest równa 0, gdyż rozkład momentów magnetycznych jest jednorodny w całej próbce. W momencie gdy włączymy zewnętrzne pole magnetyczne o indukcji $\vec{B}_0$ (skierowanej wzdłuż osi z

laboratoryjnego układu odniesienia), w którym umieszczona będzie próbka, składowa wektora magnetyzacji M_z, staje się już niezerowa, zaś składowe M_x i M_y nadal uśredniają się i wynoszą zero:

$$M_x = \frac{\sum_{1}^{n} \mu_{nx}}{V} = 0 \tag{4.13a}$$

$$M_y = \frac{\sum_{1}^{n} \mu_{ny}}{V} = 0 \tag{4.13b}$$

$$M_z = \frac{\sum_{1}^{n} \mu_{nz}}{V} = \frac{\sum_{m=-I}^{I} \mu_{z_m} N_m}{V} \tag{4.14}$$

Ruch magnetyzacji, dla próbki umieszczonej w stałym polu magnetycznym

Dla magnetyzacji zachodzi związek:

$$\vec{M} = \gamma \vec{K} \tag{4.15}$$

Gdyż jest ona proporcjonalna do sumy momentów magnetycznych próbki. $\vec{K}$ jest wektorem momentu pędu, który przypada na jednostkę objętości próbki.

Na podstawie drugiej zasady dynamiki dla ruchu obrotowego oraz korzystając z równań (4.15) i (4.2) otrzymujemy zależność:

$$\frac{d}{dt}\vec{K} = \vec{M}_S, \tag{4.16}$$

gdzie $\vec{M}_S = \vec{r} \times \vec{F}$ jest wektorem momentu siły. Co prowadzi do równania ruchu wektora magnetyzacji:

$$\frac{d}{dt}\vec{M} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 \tag{4.17}$$

Rozwiązanie ogólne powyższego równania, będzie rozwiązaniem układu trzech równań różniczkowych. Można też przejść do wirującego układu odniesienia, gdzie jedna z osi z osi - z' ($\vec{B}_0 \| z'$) i środek są tożsame z osią z i środkiem układu laboratoryjnego.

Jeżeli mamy poruszający się punkt z prędkością $\vec{v}'$ w układzie wirującym i chcemy go transformować do układu laboratoryjnego, to jego prędkość $\vec{v}$ w układzie laboratoryjnym, będzie dana wzorem:

(4.18)

$$\vec{v} = \vec{v}' + \vec{\omega} \times \vec{r}$$

$\vec{\omega}$ to prędkość kątowa układu wirującego względem układu laboratoryjnego,

$\vec{r}$ to wektor wodzący poruszającego się punktu.

Wektor magnetyzacji możemy traktować tak jak wektor wodzący pewnego punktu. Kładąc $\vec{r} \to \vec{M}$ oraz z definicji

$$\vec{v}' = (\frac{d}{dt}\vec{M})' \tag{4.19}$$

dalej

$$\vec{v} = \frac{d}{dt}\vec{M} = \gamma\vec{M} \times \vec{B}_0 . \tag{4.20}$$

zależności (4.19) i (4.20) podstawiamy do (4.18) i dostajemy:

$$\gamma\vec{M} \times \vec{B}_0 = (\frac{d}{dt}\vec{M})' + \vec{\omega} \times \vec{M} , \tag{4.21}$$

co dalej, po przekształceniach prowadzi do:

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times \vec{B}_0 - \vec{\omega} \times \vec{M} \tag{4.22}$$

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times \vec{B}_0 + \vec{M} \times \vec{\omega} \tag{4.23}$$

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times (\vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma}) \tag{4.24}$$

Powyższy związek opisuje równanie ruchu wektora magnetyzacji dla wirującego układu odniesienia i jest bliskie postaci równania (4.17). Jeżeli podstawimy:

$$\vec{B}_{eff} = \vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma} \tag{4.25}$$

forma równań robi się taka sama, z tym, że $\vec{B}_{eff}$ jest to indukcja pola magnetycznego mierzonego w wirującym układzie (tak zwane pole efektywne).

Dla częstości Larmora równej:

$$\vec{\omega}_0 = -\gamma\vec{B}_0 , \tag{4.26}$$

równanie (4.21) przyjmuje postać:

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times (\vec{B}_0 - \frac{\gamma\vec{B}_0}{\gamma}) , \tag{4.27}$$

więc

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = 0 \tag{4.28}$$

co prowadzi do:

$$\vec{M}' = const \tag{4.29}$$

zaś efektywne pole magnetyczne wynosi zero.

Gdy układ wirujący obraca się z częstością Larmora, $\vec{\omega}_0 = -\gamma\vec{B}_0$, to wektor magnetyzacji się nie porusza. Co prowadzi do wniosku, iż w układzie laboratoryjnym, magnetyzacja porusza się ruchem precesyjnym, co można wyrazić wzorami:

$$M_x = M_\perp \cos(\omega_0 t) \tag{4.30a}$$

$$M_y = M_\perp \sin(\omega_0 t) \tag{4.30b}$$

$$M_z = const, \tag{4.30c}$$

$M_\perp$ jest rzutem wektora $\vec{M}$ na płaszczyznę *xy,* a M_z - na oś *z.*

Ten szczególny rodzaj precesji nazywamy precesją Larmora.

Magnetyzacja, która wykonuje precesję wokół wektora $\vec{B}_0$, jest rozwiązaniem równania (4.17), więc rozwiązaniem równania:

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times \vec{B}_{eff} \tag{4.31}$$

będzie również magnetyzacja wykonująca precesję lecz wokół „widzianego" magnetycznego pola o indukcji $\vec{B}_{eff}$ i z prędkością kątową

$$\vec{\omega} = -\gamma\vec{B}_{eff} \tag{4.32}$$

Złożenie pola o indukcji $\vec{B}_0 \parallel z$ oraz pola wirującego w płaszczyźnie *xy* z prędkością kątową $\vec{\omega}_e$ oraz indukcji $\vec{B}_1$, daje wypadkowe pole, w którym umieszczamy próbkę. Wtedy równanie ruchu wektora magnetyzacji w układzie wirującym z prędkością kątową $\vec{\omega}_e$, będzie przyjmowało postać:

$$(\frac{d}{dt}\vec{M})' = \gamma\vec{M} \times (\vec{B}_0 + \vec{B}_1 + \frac{\vec{\omega}_e}{\gamma}) \tag{4.33}$$

W układzie wirującym pole $\vec{B}_1$ będzie stałe. Dla przypadku, gdy prędkość wirowania tego układu będzie równa $\vec{\omega}_e = -\gamma\vec{B}_0$, to jedyne pole działające w tym układzie to pole $\vec{B}_1$. W układzie wirującym precesja wektora magnetyzacji $(\vec{M})'$ zachodzi wokół pola $\vec{B}_1$, co powoduje odchylenie wektora magnetyzacji $(\vec{M})'$ od osi *z*'. Pole $B_1 << B_0$, dlatego jedynie za pomocą wirującego pola magnetycznego wirującego z częstością γB_0 lub o zbliżonej wartości, można odchylić wektor magnetyzacji. Takie zjawisko jest w ujęciu klasycznym zjawiskiem magnetycznego rezonansu jądrowego.

4.4.Relaksacja spinowo – spinowa (poprzeczna)

Relaksacja spin–spin opisuje transfer energii wewnątrz układu spinów. Nie następuje wymiana energii z otoczeniem. Skutkuje to utratą uporządkowania układu. Relaksacja spin–spin opisuje zanik poprzecznej składowej magnetyzacji $M_\perp$, składowej prostopadłej do wektora $\vec{B}_0$. Opisana jest ona równaniem różniczkowym:

$$\frac{dM_\perp}{dt} = -\frac{M_\perp}{T_2}, \tag{4.34}$$

czas T_2 jest czasem relaksacji poprzecznej (spinowo-spinowej).

W chwili *t = 0,* gdy magnetyzacja znajdowała się w płaszczyźnie xy, czyli:

$$M_\perp(t=0) = M_0, \tag{4.35}$$

równanie różniczkowe posiada rozwiązanie:

$$M_\perp(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \tag{4.36}$$

4.5.Relaksacja spinowo – sieciowa (podłużna)

Relaksacja ta opisuje transfer energii z układu spinów do sieci (ogół poziomów energetycznych otoczenia). Następuje powrót składowej M_z wektora magnetyzacji do stanu równowagowego.
Relaksację spinowo-sieciową można opisać równaniem:

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}, \tag{4.37}$$

M_0 opisuje równowagową wartość magnetyzacji, T_1 to czas podłużnej.

Rozwiązaniem powyższego równania będzie funkcja:

$$M_z(t) = -2M_0 e^{-\frac{t}{T_1}} + M_0, \tag{4.38}$$

w chwili $t = 0$:

$$M_z(t=0) = -M_0. \tag{4.39}$$

Równania różniczkowe opisujące relaksację podłużną i poprzeczną stanowią część relaksacyjną równań Blocha. Czasy relaksacji podłużnej i poprzecznej różnią się od siebie. Jest to spowodowane tym, iż na magnetyzację składa się wypadkowa suma momentów magnetycznych jąder znajdujących się w próbce. Utrata koherencji spinów wykonujących precesję oraz wymiana energii układu spinów z siecią są zjawiskami niezależnymi.

4.6.FID zanik swobodnej precesji

Do próbki, która znajduje się w zewnętrznym polu magnetycznym $\vec{B}_0$ przykładamy impuls π/2, więc wektor magnetyzacji zostanie obrócony o 90° wokół osi prostopadłej do kierunku pola $\vec{B}_0$. Gdy impuls przestanie działać, nastąpi precesja, poprzecznej składowej mgnetyzacji $M_\perp$, wokół pola $\vec{B}_0$. To z kolei wyindukuje zmienną siłę elektromotoryczną w cewce nadawczo-odbiorczej spektrometru, która umieszczona jest

w płaszczyźnie xy. Ten właśnie sygnał, rejestrowany przez spektrometr nazwany jest sygnałem zaniku swobodnej precesji FID (ang. *Free Induction Decay*) [Fukushima, Roeder, 1981].

Dla układów biologicznych sygnał zaniku swobodnej precesji będzie sumą składowych pochodzących od protonów ciała stałego FID_S oraz od protonów cieczowych FID_L. Co można zapisać jako:

$$FID(t) = FID_S(t)+FID_L(t) \tag{4.40}$$

Amplituda sygnału będzie zanikać z powodu procesu relaksacji poprzecznej oraz z powodu niejednorodności pola $\vec{B}_0$.

Spiny z różnych częci próbki będą precesować z różnymi częstotliwościami Larmora. Precesujące magnetyzacje w różnych częściach próbki o różnym $\vec{B}_0$, będą się rozwijąć w wachlarz [Timur, 1969]. Skraca to czas relaksacji zgodnie relacją:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma \Delta B_0}{2}, \tag{4.41}$$

czas T_2^* jest czasem relaksacji poprzecznej, który mierzony jest z zaniku funkcji FID (efektywny czas relaksacji), natomiast czas T_2 czasem relaksacji spinowo-spinowej próbki [Hennel, 1966].

4.6.1.Składowa zaniku swobodnej precesji dla spinów fazy stałej

Dla cieczy, w których ruchy molekuł są szybkie, lokalne pola, które pochodzą od poszczególnych jąder, uśredniają się (linia absorpcji jest wąska). Można ją opisać zwyke za pomocą funkcji Lorentza, natomiast funkcja zaniku swobodnej precesji, zgodnie z równaniami Blocha opisywana jest funkcją eksponencjalną.

Dla ciał stałych, poza zewnętrznym polem magnetycznym o indukcji $\vec{B}_0$, występują również pola lokalne. Wtedy sygnał zaniku swobodnej precesji jest opisywany bardziej złożoną funkcją

Składową stałą FID_S, można rozwinąć w szereg momentów statystycznych linii MRJ, zgodnie ze wzorem:

$$FID_S(t) = \sum_n M_{2n}(-1)^n \frac{t^{2n}}{(2n)!}. \tag{4.42}$$

4.6.2.Zastosowanie funkcji Gaussa

Najlepszym sposobem opisującym składową stałą sygnału zaniku swobodnej precesji jest zastosowanie funkcji Gaussa, która jest złożeniem wielu eksponent.

Stosowalność tej funkcji dla dopasowania składowej stałej funkcji FID jest możliwa do sprawdzenia, poprzez wyznaczenie ilorazu czwarteo i drugiego momentu linii.

Rozwinięcie funkcji Gausa przyjmuje postać:

$$f(t) = e^{-(t/T_{2G})^2} = e^{-\frac{t^2}{2\sigma^2}} = \sum_n (-1)^n \frac{t^{2n}}{n!(2\sigma^2)^n}, \tag{4.43}$$

gdzie: $T_{2G} = \sqrt{2}\sigma$.

Porównując równanie (4.43) z (4.42) można wywnioskować, iż moment funkcji Gaussa to:

$$M_{2n} = \frac{(2n)!}{n!(2\sigma^2)^n}, \tag{4.44}$$

iloraz $\frac{M_4}{(M_2)^2}$ wynosi:

$$\frac{M_4}{(M_2)^2} = \frac{\frac{3}{\sigma^4}}{\frac{1}{\sigma^4}} = 3. \tag{4.45}$$

W ogólności FID można opisać złożeniem większej ilości funkcji Gaussa:

$$FID_S(t) = \sum_{i=1}^{N} S_i e^{-(\frac{t}{T_{2Gi}^*})^2}, \quad (4.46)$$

gdzie S_i to amplitudy składowych stałych, natomiast T_{2Gi}^* mierzonymi czasami relaksacji spinowo-spinowej.

4.6.3.Zastosowanie funkcji Lorentza

W cieczach cząseczki szybko się ruszają, dlatego składową sygnału zaniku swobodnej precesji od protonów fazy ciekłej FID_L, można bardzo dobrze opisać za pomocą funkcji Lorentza:

$$f(\omega) = \frac{\Delta\omega_{1/2}}{(\Delta\omega_{1/2})^2 + (\Delta\omega)^2}, \quad (4.47)$$

gdzie $\Delta\omega_{1/2}$ jest szerokością połówkową linii rezonansowej, a $\Delta\omega$ opisana jest zależnością $\Delta\omega = \omega_0 - \omega$. Zależność pomiędzy szerokością połówkową, a czasem relaksacji można wyrazić następująco:

$$\Delta\omega = \frac{1}{T_2}. \quad (4.48)$$

W skutek niejednorodności pola magnetycznego linie rezonansowe są poszerzone, więc miara szerokości połówkowej będzie efektywny czas relaksacji poprzecznej T_2^*

$$\Delta\omega = \frac{1}{T_2^*}. \quad (4.48)$$

Transformacja Fouriera funkcji Lorentza dana jest funkcją eksponencjalną, więc sygnał FID pochodzący od składowej cieczowej opisywany jest funkcją eksponencjalną.

W przypadku występowania wielu podukładów spinowych, sygnał FID_L , przyjmuje postać:

$$FID_L(t) = \sum_{j=1}^{M} L_i e^{-\frac{t}{T_{2Lj}^*}}, \tag{4.49}$$

gdzie L_i są amplitudami kolejnych składowych cieczowych, natomiast T_{2L}^* są ich czasami relaksacji poprzecznej, a M jest to liczba podukładów spinowych.

4.6.4.Sygnał od protonów ciała stałego oraz cieczy

W niektórych układach sygnał pochodzi zarówno od protonów ciała stałego jak i cieczy. Jest to superpozycja sygnału od protonów o małej ruchliwości oraz dla protonów o dużej ruchliwości. Zarejestrowany sygnał będzie sumą obu sygnałów [Derbyshire i in., 2004].

Widmo absorpcji

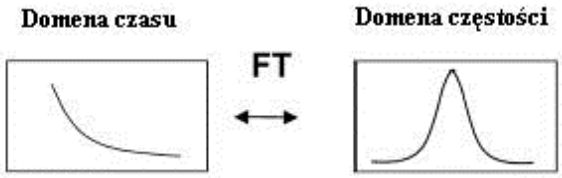
Sygnał zaniku swobodnej precesji poddany transformacie Fouriera daje widmo absorpcyjne $G(\omega)$:

$$G(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} FID(t) e^{-i\omega t} dt \tag{4.50}$$

Ta część sygnału FID, która opisywana jest za pomocą funkcji Gaussa (pochodzi od protonów ciała stałego), zgodnie z równaniem (4.50) w domenie częstotliwości, również będzie opisywana przez funkcję Gaussa o dużej szerokości połówkowej $\Delta\nu_G$ (jest ona wyrażona w jednostkach częstotliwości) (Rysunek 16). Relację pomiędzy czasem relaksacji, a szerokością połówkową linii wyraża wzór:

$$T_{2G} = \frac{2\sqrt{\ln 2}}{\pi \Delta \nu_G} \tag{4.51}$$

Składowa sygnału, pochodząca od protonów cieczowych jest opisywana funkcją Lorentza i pochodzi ona z transformaty Fouriera funkcji eksponencjalnej. Szerokość połówkowa funkcji Lorentza jest znacznie mniejsza niż funkcji Gaussa (która opisuje frakcję stałą widma). Spiny frakcji ciekłej wzbudzane są w o wiele węższym zakresie częstości, który może zostać poszerzony przez niejednorodności zewnętrznego pola magnetycznego, które z kolei w stosunkowo niewielkim stopniu wpływa na poszerzenie protonów frakcji stałej.



Rysunek 16. Związek między sygnałem MRJ frakcji stałej w domenie czasu i domenie częstości, funkcja Gaussa funkca Gaussa. [Derbyshire i in., 2004].

Ogólnie sygnał w domenie częstości jak i czasu może zostać opisany wieloma składowymi pochodzącymi od frakcji stałej:

$$G_S(\nu) = \sum_{i=1}^{N} \frac{A_{Gi}}{\sqrt{\pi \ln 2}\Delta\nu_{Gi}} \exp\left[-2 \cdot \left(\frac{\nu - \nu_{Gi}}{\sqrt{2 \ln 2}\Delta\nu_{Gi}} \right)^2 \right], \tag{4.52a}$$

oraz od frakcji ciekłej

$$G_L(\nu) = \sum_{j=1}^{M} \frac{2A_{Lj}}{\pi} \left[\frac{\Delta\nu_{Lj}}{4 \cdot (\nu - \nu_{Lj})^2 + \Delta\nu_{Lj}^2} \right]., \tag{4.52b}$$

A_{Gi} , A_{Li} to pola pod powierzchnią krzywej Gaussa oraz Lorentza

$\Delta\nu_{Gi}$, $\Delta\nu_{Li}$ to ich szerokości połówkowe,

ν_{Gi} , ν_{Li} to położenia ich centrów,

N i M odpowiednio liczbą rozróżnionych składowych stałych oraz cieczowych.

4.7.Sekwencja CPMG (Carra-Purcela-Meibooma-Gilla)

Podczas pomiaru sygnału zaniku swobodnej precesji, po ustaniu działania impulsu π/2 wyznaczany jest efektywny czas relaksacji poprzecznej, czyli T_2^*. Jest to czas krótszy od czasu T_2, w skutek wpływu niejednorodności zewnętrznego pola magnetycznego. Efekt ten jest niewielk dla frakcji stałej, jednak dla protonów frakcji ciekłej jest już znaczny.

W celu wyznaczenia bezwzględnych wartości czasów relaksacji dla protonów frakcji ciekłej T_2, aplikuje się, po zadziałaniu impulsu π/2, następującą po sobie sekwencję równoległych impulsów π (jest to sekwencja CPMG): $(\pi/2)_x - \tau - (\pi_y - 2\tau - \pi_y - 2\tau - \pi_y)\cdot n$. Po zadziałaniu pierwszego impulsu $(\pi/2)_x$, w następstwie niejednorodności zewnętrznego pola magnetycznego ΔB_0, następuje rozwinięcie się magnetyzacji w wachlarz.

Po czasie τ podawany jest impuls π w kierunku osi y', co implikuje odwrócenie płaszczyzny $x'y'$ – spiny, które precesują z większą szybkością znajdą się z tyłu, natomiast wolniejsze przed nimi. Po kolejnym upływie czasu τ od podania impulsu π najszybsze spiny doganiają wolniejsze, a magnetyzacje znów się sumują, tworząc tym samym sygnał ech spinowego (echo Hahna). Po kolejnym rozwinięciu magnetyzacji. Z chwilą, gdy wektor magnetyzacji znowu podda się rozwinięciu w wachlarz, po czasie τ, aplikuje się kolejny impuls π który powoduje powtórne zwijanie się magnetyzacji (Rysunek 17).

Wraz ze zwiększającą się ilością n impulsów, wydłuża się też czas ewolucji układu zgodnie ze wzorem:

$$t = (2\tau + t_\pi)n \tag{4.53}$$

2τ – czas pomiędzy impulsami

t_π – czas trwania impulsu π

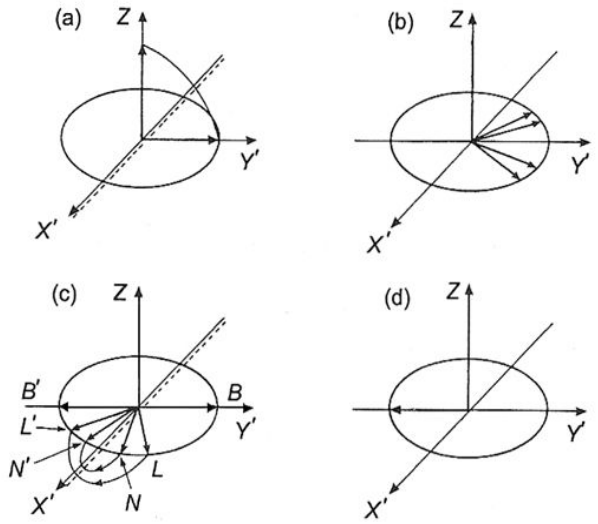
n – liczba impulsów π

Zmniejszanie się amplitud generowanych ech wiąże się ze zmniejszaniem poprzecznej składowej magnetyzacji, co można ogólnie wyrazić z pomocą funkcji eksponencjalnej (Rysunek 18) z czasem zaniku T_2:

$$FID_L(t) = L\, e^{-\frac{t}{T_{2L}}} \tag{4.54}$$

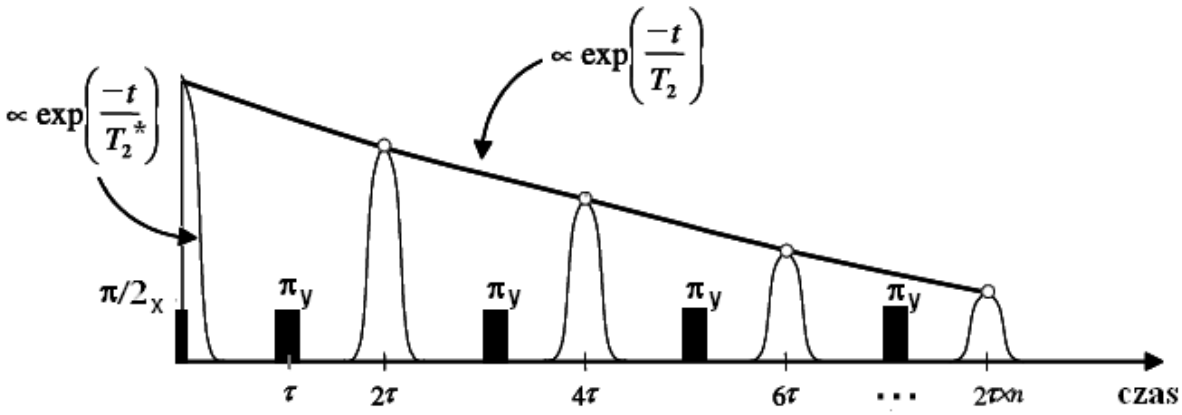
Dla mierzonych próbek została dopasowana funkcja dwueksponencjalna wyrażona wzorem:

$$FID_L(t) = L_1 e^{-\frac{t}{T_{21}L_1}} + L_2 e^{-\frac{t}{T_{22}L_2}} \tag{4.55}$$



Rysunek 17. Rozwijanie się magnetyzacji w wachlarz

Sygnał MRJ jest obwiednią malejących ech.



Rysunek 18. Sekwencja impulsów dla metody CPMG.

5.IZOTERMA SORPCYJNA

Izoterma sorpcyjna opisuje związek adsorbowanej przez próbkę masy wody w funkcji wilgotności względnej otoczenia. Już na początku XX wieku Langmuir [Langmuir, 1918] podejmował pierwsze próby ilościowego opisu adsorpcji. Jego teoria zakładała jednowarstwową sorpcję molekuł wody do powierzchni absorbenta. Izoterma Langmuira opisuje poprawnie zachowanie układu dla wilgotności względnych h < 0.1. Rozbudowany model został zaproponowany w 1938 r. przez Brunauera, Emetta i Tellera. [Brunauer i in., 1938]. W ich modelu zostały wyróżnione pierwotne i wtórne miejsca wiążące wodę przy założeniu, że miejsca wtórne wypełnione są w takim samym stopniu. Model ten opisuje prawidłowo dane doświadczalne dla wilgotności względnych nie większych niż h=0.4. W 1977 roku Dent zaproponował najogólniejszy model [Dent, 1977].

5.1.MODEL Denta

Model Denta wyodrębnia dwa rodzaje miejsc wiążących molekuły adsorbatu: pierwotne – molekuły te wiążą się wprost do powierzchni adsorbenta, oraz wtórne miejsca wiążące –molekuły wody wiążą się do innych cząsteczek wody, wcześniej już związanych.

Jeśli przez N oznaczymy liczbę wszystkich miejsc wiążących, a przez S_i liczbę miejsc wiążących, do których zaadsorbowanych zostało i molekuł a przez S_0 liczbę takich, do których nie została zaadsorbowana żadna molekuła wody, a przez S_1 liczbę takich, do których zaadsorbowała się jedna molekuła, , wówczas:

$$S_0 + S_1 + S_2 + ... = N \,. \tag{5.1}$$

Wprowadzamy ap , które oznaczać będzie szybkość wiązania molekuł (a współczynnik przyłączania, p ciśnienie atmosferyczne), dalej C_0 oznaczać będzie szybkość z jaką uciekać będą molekuły z pierwotnych miejsc wiążących, natomiast C szybkość ucieczki z wtórnych miejsc. Zakładamy, że mamy warunki równowagi termodynamicznej ($\frac{dS_0}{dt} = \frac{dS_1}{dt} = \frac{dS_2}{dt} = ... = 0$), oraz wykorzystujemy warunek (5.1), dostajemy układ równań:

$$\begin{cases} \frac{1}{N}\frac{dS_0}{dt} = C_0 \frac{S_1}{N} - ap\frac{S_0}{N} = 0 & (5.2a) \\ \frac{1}{N}\frac{dS_1}{dt} = C\frac{S_2}{N} - ap\frac{S_1}{N} - C_0\frac{S_1}{N} + ap\frac{S_0}{N} = 0 & (5.2b) \\ \frac{1}{N}\frac{dS_2}{dt} = C\frac{S_3}{N} - ap\frac{S_2}{N} - C\frac{S_2}{N} + ap\frac{S_1}{N} = 0 & (5.2c) \end{cases}$$

… ,

dzięki któremu możemy wyznaczyć liczbę miejsc wiążących *i* molekuł wody w zależności od $S_{0,}$ ponieważ:

$$\frac{S_1}{N} = \frac{a}{C_0} p \frac{S_0}{N} \quad (5.3a)$$

$$\frac{S_2}{N} = \frac{a}{C}\frac{a}{C_0} p^2 \frac{S_0}{N} \quad (5.3b)$$

$$\frac{S_3}{N} = \left(\frac{a}{C}\right)^2 \frac{a}{C_0} p^3 \frac{S_0}{N} \quad (5.3c)$$

… ,

Sprowadza się to do zależności:

$$\frac{S_i}{N} = \left(\frac{a}{C}\right)^{i-1} \frac{a}{C_0} p^i \frac{S_0}{N} . \quad (5.4)$$

Jeśli założymy, że *i* jest bardzo duże, wtedy z wykorzystaniem warunku (5.1), otrzymamy:

$$\frac{S_0}{N} = 1 - \sum_{i=1}^{\infty} \frac{S_i}{N} . \quad (5.5)$$

Zauważamy, że $\sum_{i=1}^{\infty} \frac{S_i}{N}$ jest sumą szeregu geometrycznego, więc:

$$\frac{S_0}{N} = \frac{1 - \left(\frac{a}{C}\right)p}{1 + \left(\frac{a}{C_0}\right)p - \left(\frac{a}{C}\right)p} . \quad (5.6)$$

Liczba wszystkich molekuł, które zostały zaadsorbowanych wynosi:

$$I = \sum_{i=1}^{\infty} i \cdot S_i \tag{5.7}$$

Możemy wyrazić średnią liczbę molekuł $\overline{S}$ przypadającą na jedno miejsce wiążące jako:

$$\overline{S} = \frac{I}{N}. \tag{5.8}$$

Powyższe wyrażenie (5.8) jest sumą nieskończonej ilości wyrazów ciągu arytmetyczno-geometrycznego:

$$\overline{S} = \sum_{i=0}^{\infty} i \frac{S_i}{N} = \frac{a}{C_0} p \frac{S_0}{N} \left[1 + 2\left(\frac{a}{C}\right)p + 3\left(\frac{a}{C}\right)^2 p^2 + 4\left(\frac{a}{C}\right)^3 p^3 + \ldots \right], \tag{5.9}$$

co sprowadza się do:

$$\overline{S} = \left(\frac{a}{C_0}\right) p \left(\frac{S_0}{N}\right) \frac{1}{\left[1 - \left(\frac{a}{C}\right)p\right]^2}. \tag{5.10}$$

Przy wykorzystaniu zależność (5.6):

$$\overline{S} = \frac{\left(\frac{a}{C_0}\right)p}{\left[1 - \left(\frac{a}{C}\right)p\right]\left[1 + \left(\frac{a}{C_0}\right)p - \left(\frac{a}{C}\right)p\right]}. \tag{5.11}$$

Wprowadzimy wyrażenia: $h = \frac{p}{p_0}$, $b_1 = \frac{a}{C_0} p_0$, $b = \frac{a}{C} p_0$:

$$\overline{S} = \frac{b_1 h}{(1 - bh)(1 + b_1 h - bh)}. \tag{5.12a}$$

Za pomocą równania (5.8) lub odwołując się bezpośrednio do masy zaadsorbowanej masy wody, możemy zapisać średnią liczbę molekuł przypadającą na jedno miejsce wiążące. Liczba miejsc wiążących *N* jest proporcjonalna do masy wody

ΔM, a liczba wszystkich zaadsorbowanych molekuł I do całkowitej masy woda zaadsorbowanej Δm, tak więc:

$$\overline{S} = \frac{I}{N} = \frac{\Delta m}{\Delta M} = \frac{b_1 h}{(1-bh)(1+b_1 h - bh)}. \tag{5.12b}$$

Po przekształceniu równania (5.12b) i normalizacji do suchej masy absorbenta m_0, otrzymujemy równanie izotermy sorpcyjnej Denta:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{(1-bh)(1+b_1 h - bh)}. \tag{5.13}$$

Korzystając z równania (5.4) zauważamy, że stosunek ilości wiążących *i+1* molekuł wody, do ilości wiążącej *i* molekuł ($i \geq 1$) można wyrazić:

$$\frac{S_{i+1}}{S_i} = \frac{\left(\frac{a}{C}\right)^i \frac{a}{C_0} p^{i+1} \frac{S_0}{N}}{\left(\frac{a}{C}\right)^{i-1} \frac{a}{C_0} p^i \frac{S_0}{N}} = \frac{a}{C} p \tag{5.14}$$

Na podstawie równania (5.3) stosunek liczby miejsc, do których nie jest związana żadna molekuła wody, do liczby miejsc z przyłączaoną jedną molekułą wynosi:

$$\frac{S_0}{S_1} = \frac{\frac{S_0}{N}}{\frac{a}{C_0} p \frac{S_0}{N}} = \frac{C_0}{ap} \tag{5.15}$$

Przy wilgotności względnej *h*=1, $p = p_0$. Wówczas równania (5.14) i (5.15) dane są:

$$\left.\frac{S_{i+1}}{S_i}\right|_{h=1} = \frac{a}{C} p_0 = b \tag{5.16}$$

oraz:

$$\left.\frac{S_0}{S_1}\right|_{h=1} = \frac{C_0}{ap_0} = \frac{1}{b_1} \tag{5.17}$$

Parametr *b,* w modelu zaproponowanym przez Denta, jest stosunkiem szybkości przyłączania do szybkości odłączania molekuł wody, dla miejsc, do których związana jest przynajmniej jedna cząsteczka wody w warunkach nasycenia (h=1). Również jest to wyrażony stosunek miejsc wiążących $i+1$ molekuł wody do liczby miejsc wiążących i molekuł wody. W modelu Denta zakładamy, że powyższy stosunek jest stały dla każdego $i \geq 1$. Natomiast parametr b_1 jest stosunkiem ilości nieobsadzonych miejsc wiążących do ilości wiążących jedną cząsteczkę wody. Wyraża on również miarę hydrofobowości powierzchni wiążących.

5.2.MODEL BET

Brunauer, Emett i Teller zaproponowali model wiązania absorbantu do powierzchni, w którym, w warunkach nasycenia, szybkość z jaką molekuły wiążą się ap_0 oraz szybkość z jaką się odłączają C, od wtórnych miejsc wiążących jest taka sama [patrz wzory (5.2)]. Prowadzi to do wniosku, że stosunek liczby miejsc wiążących $i+1$ cząsteczek wody do miejsc wiążących i cząsteczek wody równy jest b=1, czyli liczby S_i i S_{i+1} są sobie równe.
Po podstawieniu h=1 w równaniu (5.13), otrzymujemy równanie izotermy BET:

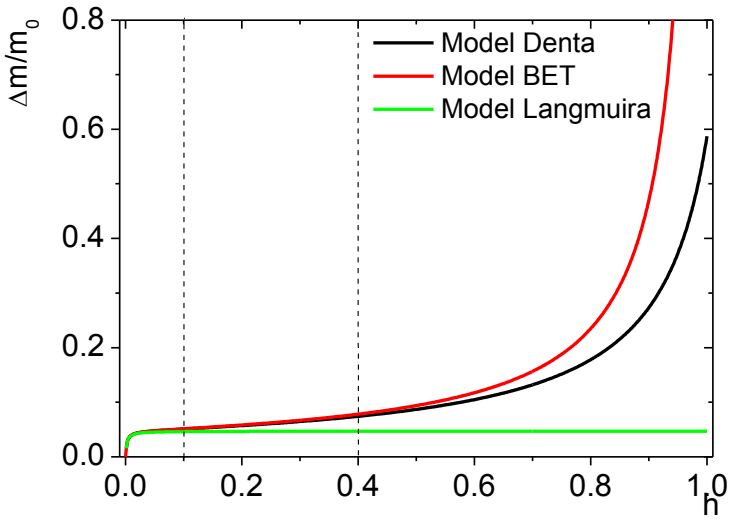
$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{(1-h)(1+b_1 h-h)} \tag{5.18}$$

5.3.MODEL Langmuira

Matematyczny model, który jako pierwszy opisywał wiązanie molekuł absorbatu do powierzchni absorbentu, zakładał jednowarstwowość. Istnieją tylko pierwotne miejsca wiążące, co oznacza, że cząsteczki mogą przyłączać się jedynie do powierzchni absorbentu. Po podstawieniu w równaniu (5.13) b=0 otrzymujemy równanie izotermy sorpcyjnej Langmuira:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{1 + b_1 h} \tag{5.19}$$

Model Langmuira jest najprostszym modelem, opisującym dobrze proces dla niskich poziomów wilgotności względnej, w której zachodzi proces adsorpcji. Różnice między modelami BET, a Dent stają się widoczne dla poziomów wilgotności względnej wyższych niż 40% (Rysunek 18).



Rysunek 18. Symulacja, która porównuje modele Langmuira, BET i Denta izotermy sorpcyjnej.

Często przedstawia się w formie parabolicznej zależność zaadsorbowanej masy wody w jednostkach suchej masy do wilgotności względnej otoczenia.
Dzieląc *h* przez równanie (5.13) otrzymuje się:

$$\frac{h}{\Delta m / m_0} = A + B \cdot h - C \cdot h^2 \tag{5.20}$$

gdzie: *A, B, C* są współczynnikami izotermy sorpcyjnej modelu Denta, która wyrażona jest w formie parabolicznej. Związane są ze współczynnikami w formie sigmoidalnej następująco:

$$A = \frac{1}{\frac{\Delta M}{m_0} b_1} \tag{5.21a}$$

$$B = \frac{b_1 - 2b}{\frac{\Delta M}{m_0} b_1} \tag{5.21b}$$

$$C = \frac{b_1 b - b^2}{\frac{\Delta M}{m_0} b_1} \tag{5.21c}$$

Odwrotna zamiana do (5.21), która pozwala na podstawie znanych współczynników izotermy Denta w postaci parabolicznej wyliczyć współczynniki izotermy sorpcyjnej Denta w postaci sigmoidalnej, ma postać:

$$\frac{\Delta M}{m_0} = \frac{1}{\sqrt{B^2 + 4AC}} \tag{5.22a}$$

$$b = \frac{\sqrt{B^2 + 4AC} - B}{2A} \tag{5.22b}$$

$$b_1 = \frac{\sqrt{B^2 + 4AC}}{A} \tag{5.22c}$$

Dla modelu BET, w równaniach transformacyjnych (5.21) i (5.22) należy podstawić za $b = 1$, co sprowadza się do warunku:

$$B = C - A \tag{5.23}$$

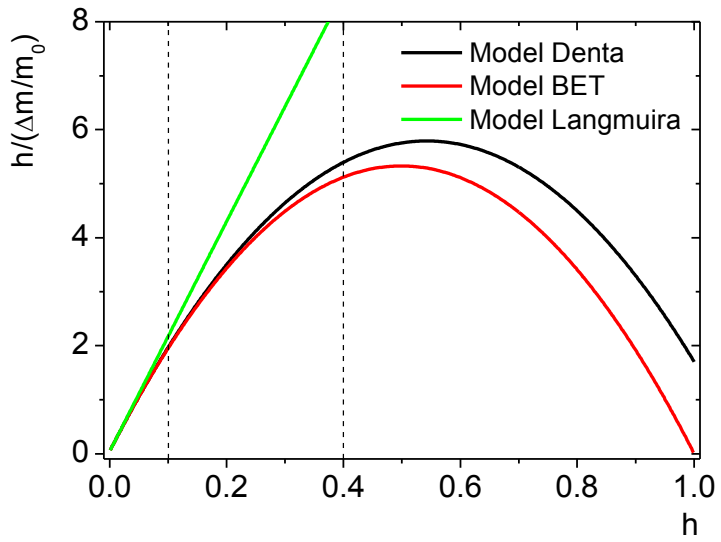
i prowadzi do równania formy parabolicznej izotermy BET:

$$\frac{h}{\Delta m / m_0} = A + (C - A) \cdot h - C \cdot h^2 \tag{5.24}$$

W przypadku monowarstwy Langmuira danych nie przedstawia się formie parabolicznej, ponieważ warunek $b = 0$, na podstawie (5.22b), prowadzi do $C = 0$, co sprowadza się do liniowej zależności $\frac{h}{\Delta m / m_0}(h)$ (Rysunek 19):

$$\frac{h}{\Delta m / m_0} = A + B \cdot h \tag{5.25}$$

Porównanie krzywych teoretycznych danych równaniami (5.20), (5.24) i (5.25) przedstawia Rysunek 19.



Rysunek 19. Symulacja, która porównuje modele Langmuira, BET i Denta dla danych przedstawionych w formie parabolicznej.

Powyższe krzywe przechodzą przez punkt o współrzędnych (0, *A*), podczas gdy cechą charakterystyczną krzywej, która opisuje model BET jest to, że przechodzi ona również przez punkt o współrzędnych (1,0), a jej maksimum przypada na wilgotność względną $h = 0.5$.

6. MATERIAŁY I METODY

6.1.Preparatyka próbek

W pierwszej części badań wykorzystywane były włosy rasy kaukaskiej, różniące się między sobą kolorem. Zostały przebadane włosy skatalogowane wg skali Fischera-Sallera [Martin i in., 1962], w następujących kolorach: ciemnym (próbka pochodząca

od 21-letniej kobiety), rudym (próbka o od 25-letniej kobiety), wreszcie siwe (od 57-letniej kobiety).

Włosy te zostały wykorzystane w pomiarach kinetyki hydratacji, izotermy sorpcyjnej, pomiarach czasu zaniku swobodnej precesji (FID) ^{1}H-NMR, do pomiarów hydratacyjnych widm ^{1}H-NMR oraz w pomiarach CPMG ^{1}H-NMR.

W pomiarach wpływu czynników egzogennych, badano włosy ciemne pochodzące od 35-letniej kobiety rasy kaukaskiej. Próbka była wstępnie oczyszczana z użyciem SLES. Próbki włosów były myte preparatem SLES, a następnie wielokrotnie płukane wodą destylowaną. Na tak przygotowane próbki, aplikowano albo hydrolizat podstawowego białka jedwabiu, albo wodny roztwór kolagenu, albo rozpuszczony w wodzie 10% roztwór inuliny.

Dla tak przygotowanych próbek mierzono kinetykę hydratacji, izotermę sorpcyjną, czasy zaniku swobodnej precesji (FID) ^{1}H-NMR, wreszcie widma ^{1}H-NMR.

Poziom uwodnienia włosów wyznaczano grawimetrycznie z wykorzystaniem wagi RADWAG, typ WAX 110 (dokładnosc skali 0.00001 g).
Suchą masę włosów wyznaczano po wygrzewaniu próbek w temperaturze 70^{0}C przez 72 h [Gaff, 1977].

6.2.Hydratacja próbek

Przed pomiarami kinetyki hydratacji, próbki włosów umieszczano na dwie doby w środowisku nad żelem krzemionkowym (p/p_0 = 0%) w temperaturze pokojowej.

Trasy hydratacyjne z fazy gazowej prowadzono w temperaturze pokojowej w eksykatorach, o nad powierzchnią nasyconych roztworów H_3PO_4 (p/p_0 = 0.09), $CaCl_2$ (p/p_0 = 0.32), K_2CO_3 (p/p_0 = 0.44), $Na_2Cr_2O_7$ (p/p_0 = 0.52), NH_4NO_3 (p/p_0 = 0.63), $Na_2S_2O_3$ (p/p_0 = 0.76), K_2CrO_3 (p/p_0 = 0.88), Na_2SO_4 (p/p_0 = 0.93), K_2SO_4 (p/p_0 = 0.97) lub nad wodą destylowaną (p/p_0 = 1).

6.3.Pomiary Magnetycznego Rezonansu Jądrowego w domenie czasu

Pomiary ^{1}H-NMR, wykonano za pomocą relaksometru impulsowego WNS HB65 firmy Waterloo NMR Spetrometers, Waterloo, Ontario, Kanada (Rysunek 20). Spektrometr pracował na częstotliwości 30 MHz, w polu wytwarzanym przez

elektromagnes o indukcji B_0 = 0.7 T. Czasy impulsów wynosiły $\pi/2$ = (1.4-1.5) μs, a moc była równa 400 W. Czas repetycji wynosił 2.003 s, a czas martwy spektrometru 10 μs. Każdy pomiar hydratacyjny był uśrednieniem 2000 akwizycji.

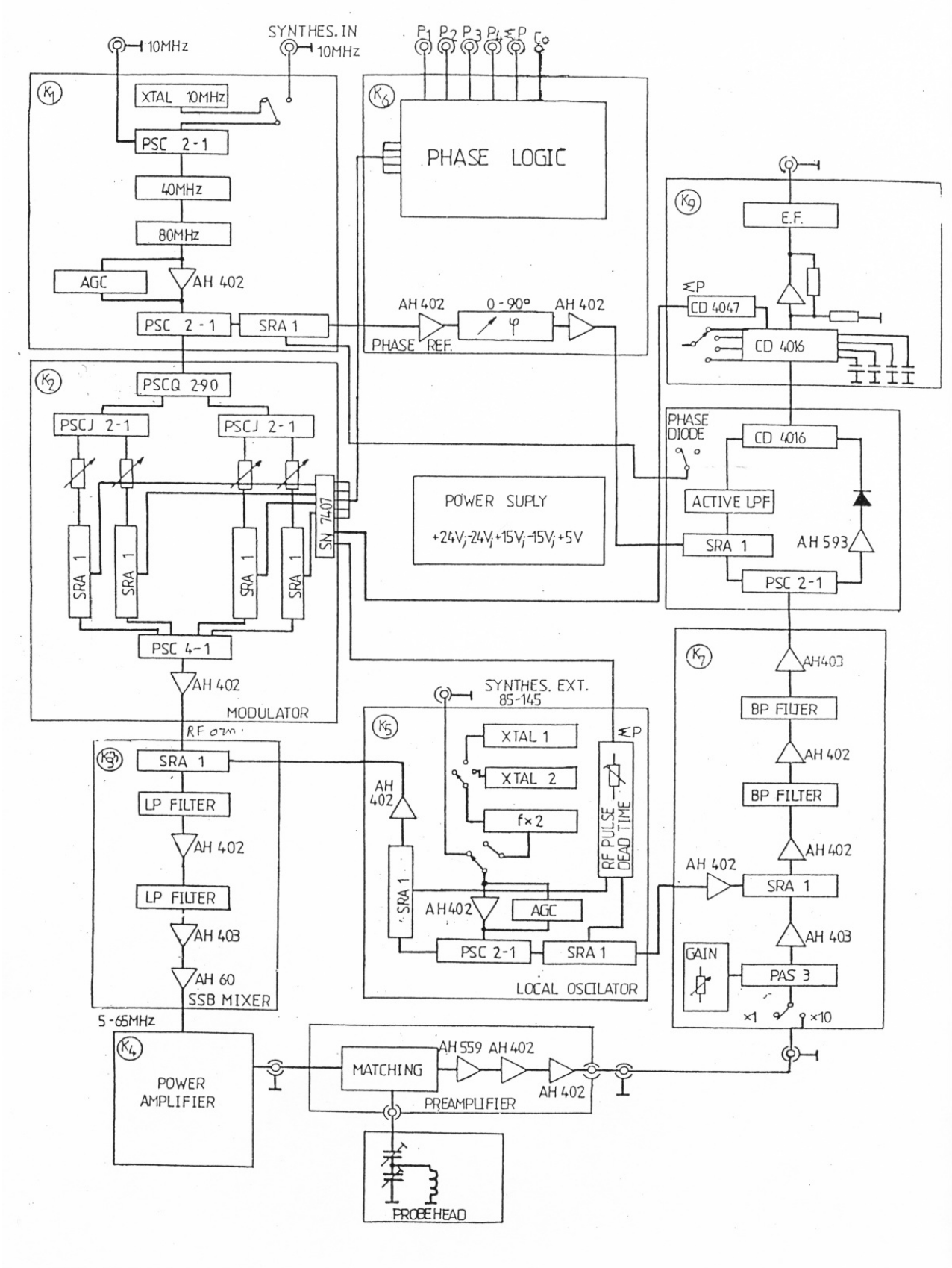
Impuls MRJ projektowany był za pomocą programu TEX, dostarczonego przez producenta sprektrometru Waterloo NMR Spectrometers. Zaimplementowana liczba trafiała do programatora impulsów, gdzie wytwarzany był schodkowy sygnał o zaprogramowanej długości oraz wysokości 5 V.

Generowany impuls zostaje wypełniony sinusoidalną funkcją o larmorowskiej częstotliwości (ν =10 MHz). Sygnał ten otrzymany z generatora jest powielany, dzięki czemu otrzymujemy sygnał o częstotliwości ν = 80 MHz, który dalej zostaje rozdzielony do czterech mieszaczy, gdzie jest modyfikowany amplitudowo prostokątnymi impulsami, wytwarzanymi w programatorze impulsów. Impulsy wysokiej częstotliwości mieszają się z sygnałem o częstotliwści ν=110 MHz. Po przepuszczeniu przez filtr dolnoprzepustowy dają one sygnał ν=30 MHz. Sygnał zostaje wzmocniony i trafia do głowicy pomiarowej.

W stałym polu magnetycznym o indukcji B_0, między nabiegunnikami elektromagnesu, znajduje się głowica pomiarowa (*Probehead*), która jest układem LC. Służy ona jednocześnie do nadawania i odbierania sygnału. Za pomocą kondensatora o zmiennej pojemności, obwód może zostać dostrojony do częstości rezonansowej.

Magnetyzacja jądrowa wirująca z częstością Larmora indukuje sygnał siły elektromotorycznej, który miesza się z sygnałem o częstotliwości ν =110 MHz i w ten sposób otrzymujemy sygnał o częstotliwości 80 MHz. Jest on wyodrębniany filtrem dolnoprzepustowym. Blok GAIN ustala wielkość wzmocnienia sygnału, co później jest niezbędne przy obróbce danych pomiarowych. Dalej sygnał zostaje demodulowany synchronicznie lub diodowo, następnie za pomocą filtra dolnoprzepustowego jest przygotowywany do wyjścia. Obwiednia odfiltrowanego sygnału od częstości larmorowskiej nosi nazwę zaniku swobodnej precesji (FID) i przesyłany jest bezpośrednio na oscyloskop, gdzie zostaje zbierany na kartę cyfrowego oscyloskopu Compuscope 2000 komputera PC 80386. Schemat blokowy spektrometru impulsowego składa się

z następujących elementów: K1: Generator częstotliwości, K2. Programator impulsów, K6. Przesuwnik fazowy, K3: Filtr częstotliwości, K4: Wzmacniacz mocy impulsów, K7: Wzmacniacz sygnału, K9: Filtr dolnoprzepustowy (Rysunek 20).



Rysunek 20. Schemat blokowy regulatora spektrometru impulsowego HB56.

6.4. Pomiary w domenie częstotliwości (spektroskopia) Spektrometr MRJ Bruker Avance III 300 MHz

Pomiary MRJ w domenie częstotliwości wykonywane były za pomocą spektrometru Bruker Avance III 300 produkcji firmy Bruker Biospin. Sprektrometr ten wyposażony jest w nadprzewodzący magnes typu *wide bore* o średnicy 89 mm, który wytwarza pole magnetyczne o indukcji B_0 = 7T, co odpowiada częstości rezonansowej protonów 300 MHz. Układ pomiarowy wyposażony jest również w głowicę pomiarową wysokiej mocy (która umożliwia również wykonywanie pomiarów MRJ jąder ^{19}F i ^{1}H oraz ^{15}N i ^{31}P), stację roboczą z oprogramowaniem TopSpin 3.0 dostarczonym przez producenta oraz stabilizator temperatury. Nadprzewodzący magnes chłodzony jest ciekłym helem (temp. około -270°C), dalej otoczony jest warstwą izolującą zawierającą ciekły azot (temp. poniżej -196°C). Tak zmontowany układ pozwala na pomiar zarówno widm, jak i czasów relaksacji NMR.

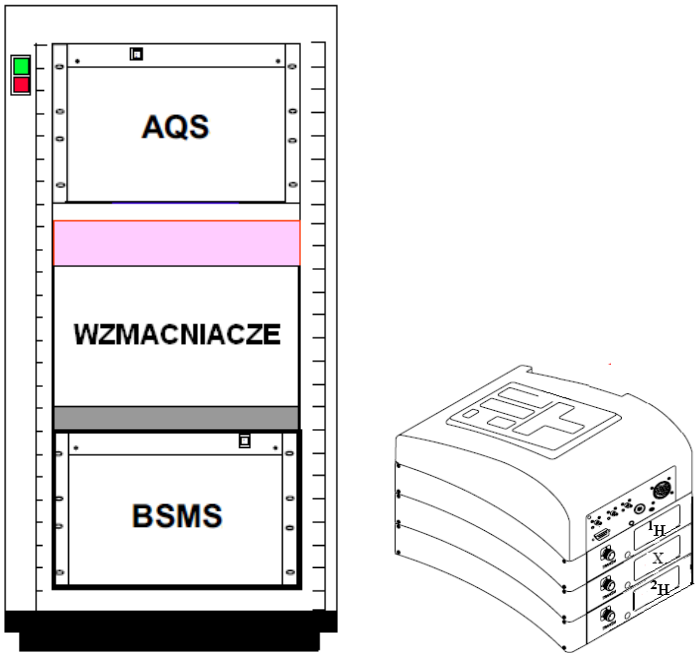
Oprogramowanie spektrometru, umożliwia używanie wszystkich powszechnie znanych metod impulsowych. Generowanie impulsu o wysokiej mocy pozwala na badanie próbek biologicznych w postaci ciała stałego jak i cieczy w szerokim spektrum temperatur.

Widma ^{1}H-NMR rejestrowano stosując impuls$\pi/2$ o mocy 400 W i czasie trwania od 1.7 do 2.1 μs, a następnie zapisywano zmierzony zanik swobodnej precesji. Czas repetycji wynosił 2 s. Wykonywano 40 akwizycji, a widmo było wynikiem transformaty Fouriera ze zmierzonego sygnału. Całkowity czas pomiaru wynosił około dwóch minut.

Spektrometr

AQS (Blok kontroli akwizycji, *Acquisition Control System*): Część SGU (*Signal Generate Unit* jest odpowiedzialny za wytwarzanie impulsów o częstotliwościach radiowych stosowanych do pobudzenia próbki, natomiast część DRU (*Digital Receiver Unit*) odpowiedzialna jest za odbieranie i wzmacnianie sygnałów od próbki (Rysunek 21).

System wzmacniaczy: wzmacnia sygnał wytwarzany przez jednostkę SGU.



Rysunek 21. Schemat przedstawiający podział spektrometru na poszczególne jednostki oraz zewnętrzny przedwzmacniacz HPPR.

HPPR (Przedwzmacniacz wysokiej wydajności, *High Performance Preampfiler*):

Ta jednostka ma za zadanie transmitowanie oraz filtrowanie wcześniej wygenerowanego i wzmocnionego (za pomocą systemowi wzmacniaczy) sygnału do cewki nadawczo-odbiorczej (tzw. tor nadawczy), gdzie znajduje się dana próbka. Również wzmacnia sygnał wytwarzany prze próbkę po pobudzeniu jej impulsem (tzw. tor odbiorczy).

BSMS (System kontroli magnetycznej, *Bruker Smart Magnet System*):

Ta jednostka ma za zadanie utrzymać stałe pole magnetyczne – stabilizować i kompensować jego niejednorodności.

VTU (*Variable Temperature Unit*):

Jednostka ta odpowiada za regulację temperatury. Główną część układu stanowi termopara, która pełni funkcę termometru, grzałka i linia azotowa (z wewnętrzną wbudowaną grzałką, która zwiększa szybkość parowania azotu – element chłodniczy). Układ jest sterowany za pomocą programu TopSpin 3.0.

6.5.Numeryczne opracowanie danych pomiarowych

Wyniki otrzymane z pomiarów NMR w domenie czasu opracowywane zostały w programie CracSpin, który powstał w Zakładzie Radiospektroskopii Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz w komercyjnie dostępnym programie Origin 7.0.

Program CracSpin został napisany, aby analizować sygnały NMR, w tym do analizowania sygnału zaniku swobodnej precesji. Program CracSpin. Bazuje on na algorytmie Marquarta. Jednowymiarowa procedura programu CracSpin daje możliwość dopasowania złożenia funkcji Gaussa (maksymalnie dwie składowe) oraz funkcji eksponencjalnej (maksymalnie siedem składowych). Daje również możliwość dopasowania funkcji *stretched exponential* gdzie wykładnik fraktalny a < 1. Wykorzystując program CracSpin można wyznaczyć ampitudy poszczególnych składowych, a także czasy ich zaniku (czasy relaksacji $T2^{*}$).

Program umożliwia również dwuwymiarową analizę danych, dzięki analizie jednowymiarowego przekroju poprzecznego macierzy relaksacji [Węglarz, Haranczyk, 2000].

Dane pomiarowe otrzymane z pomiarów kinetyki hydratacji, izotermy sorpcyjnej jak i NMR częstotliwości wykonano w komercyjnie dostępnym oprogramowaniu Origin 7.0. Program Origin ver. 7.0, OriginLab Corporation, Northampton Massachusetts, USA działa na podstawie algorytmu Levenberga-Marquardta, znajduje miejscowo najmniejsze wartości funkcjonału:

$$\chi^2 = \sum_{k=1}^{N} [f(t_k, \vec{a}) - y_k]^2 \tag{6.1}$$

Program oferuje możliwość definiowania przez użytkownika dowolnej funkcji, którą można dopasować do danych pomiarowych. Ma także możliwość pracować z dowolnym obszarem danych.

6.6.Mikroskopia elektronowa

Obrazy skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) włosów wykonano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego Hitachi Z – 4700 z emisją polową

(zimna katoda), pracującym dla napięcia przyspieszania elektronów 20 kV. Mikroskop posiada spektrometr energii w detektorem (*Energy Dispersive Spectrometer* Vantage), który chłodzony jest ciekłym azotem. Posiada również niezależne dwa detektory elektronów wtórnych (*Secondary Electrons Detector*), detektor elektronów wstecznie rozproszonych typu YAG oraz detektor luminescencji katodowej MiniCL GATAN.

7.WYNIKI

7.1.Pomiary kinetyki hydratacji włosów

7.1.1. Kinetyka hydratacji włosów o różnych różnej zawartości melaniny

Próbki włosów różniących się pigmentacją, jak również dotowanych różnymi substancjami egzogennymi uwadniano z fazy gazowej, poprzez umieszczenie ich w eksykatorach, gdzie panowała atmosfera o kontrolowanej wilgotności względnej, p/p_0. Podczas procesu hydratacji wyznaczano przyrost masy próbki. Dla poziomów uwodnień w zakresie h = 0.09 – 0.44 krzywe hydratacji włosów, były dobrze opisane zależnością jednoeksponencjalną:

$$\frac{\Delta m}{m_o} = A_0^h + A_1^h \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_1^h}\right)\right) \tag{7.1},$$

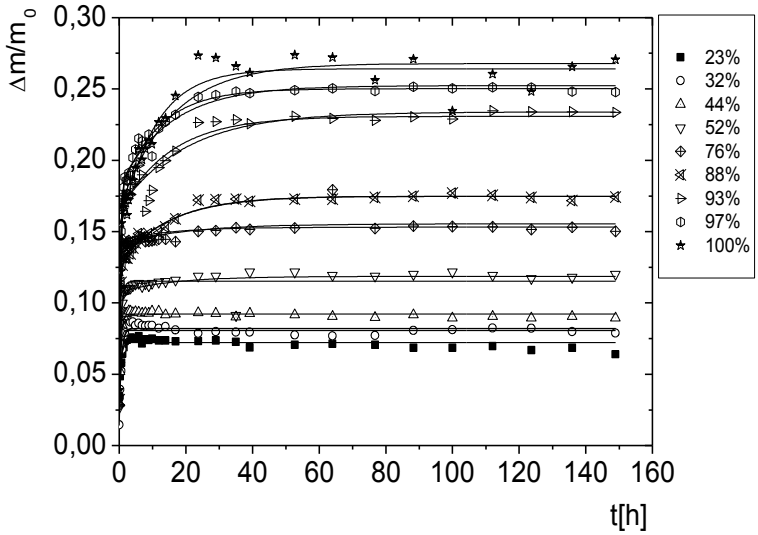
gdzie m_0 to sucha masa próbki, Δm jest to przyrost masy na skutek hydratacji, A^h_0 to poziom hydratacji dla wilgotności względnej h = 0, A_1^h jest to poziom nasyceniowy hydratacji dla pierwszej składowej hydratacji, a t_1^h to czas hydratacji dla pierwszej składowej hydratacji.

Dla wilgotności względnych atmosfery h = 0.5 oraz wyższych zależności były dobrze opisywane przez funkcję dwueksponencjalną:

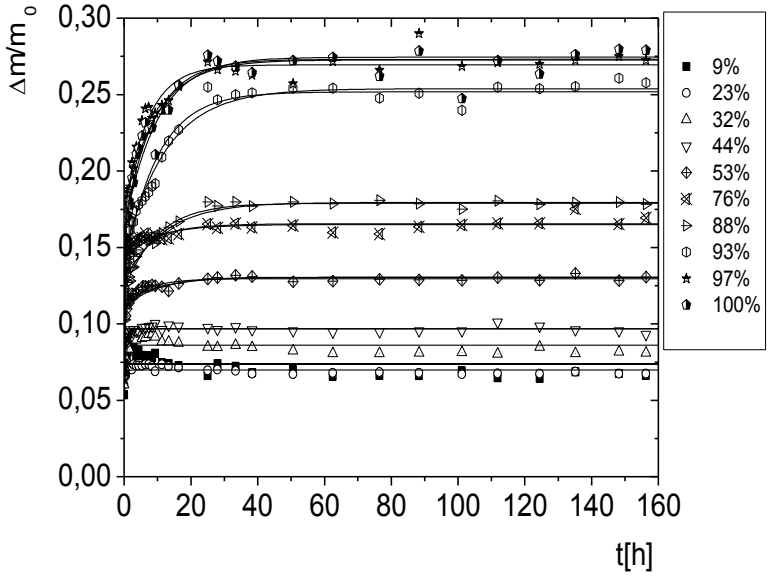
$$\frac{\Delta m}{m_o} = A_0^h + A_1^h \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_1^h}\right)\right) + A_2^h \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{t_2^h}\right)\right) \tag{7.2}$$

gdzie A_2^h *to* poziom nasyceniowy hydratacji dla drugiej składowej, a t_2^h to czas hydratacji dla drugiej składowej hydratacji

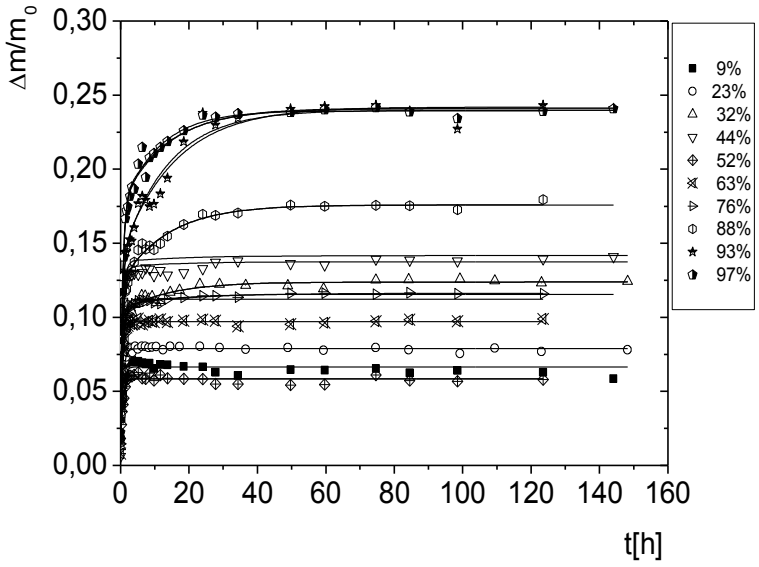
a)



b)



c)



Rysunek 25. Wykresy kinetyki hydratacji dla włosów a) ciemnych, b) rudych, c) siwych, prowadzonej z fazy gazowej dla różnych wilgotności względnych atmosfer. Poziomy wilgotności względnych h = p/p_0 zostały przedstawione w legendzie obok wykresu.

Proces uwadniania włosów różniących się zawartością melaniny był przeprowadzany przez okres 150 h (Rysunek 25).

Udział frakcji wody najściślej związanej, której nie da się usunąć podczas dehydratacji nad żelem krzemionkowym, uśredniony dla wszystkich tras hydratacyjnych wynosi A_0^h = (0.014 ± 0.011) dla włosów ciemnych, A_0^h = (0.03 ± 0.01) dla włosów rudych oraz A_0^h = (0.068 ± 0.006) dla włosów siwych. Czas hydratacji najszybciej wiążącej się wody do powierzchni włosów wynosi odpowiednio t_1^h = (0.65 ± 0.05) h dla włosów ciemnych, t_1^h = (0.54 ± 0.01) h dla włosów rudych oraz t_1^h = (0.14 ± 0.01) h dla włosów siwych. Najszybciej wiążącą się frakcję wody można utożsamić z pulą wody ściśle związanej do powierzchni włosów. Jej poziom rośnie wraz ze wzrostem wilgotności względnej otoczenia, by dla wilgotności względnej h = 0.44 osiągnąć wartość maksymalną równą A_1^h = (0.07 ± 0.02) dla włosów ciemnych, A_1^h = (0.064 ± 0.012) dla włosów rudych oraz A_1^h = (0.054 ± 0.017) dla włosów siwych. Gdy frakcja wody silnie związanej już się

wysyci, to wraz ze wzrostem wilgotności atmosfery, wiąże się następna frakcja wody – wody luźno związanej, o dłuższym czasie hydratacji, wynoszącym odpowiednio: t_2^h = (13.2 ± 2.9) h dla włosów ciemnych t_2^h, = (15.3 ± 4.6) h dla włosów rudych oraz t_2^h = (9.9 ± 2.4) h dla włosów siwych.

	Włosy ciemne	**Włosy rude**	**Włosy siwe**
A_0^h	0.014 ± 0.011	0.03 ± 0.01	0.068 ± 0.006
A_1^h	0.07 ± 0.02	0.064 ± 0.012	0.054 ± 0.017
t_1^h [h]	0.65 ± 0.05	0.54 ± 0.01	0.14 ± 0.01
t_2^h [h]	13.2 ± 2.9	15.3 ± 4.6	9.9 ± 2.4

Tabela 3. Porównanie parametrów kinetyki hydratacji dla włosów o różnej zawartości melaniny

7.1.2. Kinetyka hydratacji włosów z substancjami egzogennymi

Włosy wstępnie oczyszczane 25% roztworem SLES i płukane wodą destylowaną, były hydratowane z fazy gazowej, w atmosferach o kontrolowanej wilgotności względnej, p/p_0.

Na włosy oczyszczone z użyciem SLES nanoszono hydrolizat białka jedwabiu, kolagen lub inulinę. Tak przygotowane próbki dehydratowano nad powierzchnią żelu krzemionkowego, w atmosferze o wilgotności względnej p/p_0 = 0%. Proces dehydratacji trwał 48h. Dehydratowane próbki włosów dotowanych substancjami egzogennymi poddano przez 120 h hydratacji z fazy gazowej. Podczas procesu uwadniania dokonywano pomiarów masy.

Wyliczono poziom związanej substancji do powierzchni włosów. Dla włosów oczyszczonych SLES masa zmalała o 3.6% w stosunku do włosów nieoczyszczonych. Po zastosowaniu substancji egzogennych zmierzono wzrost masy próbek. Dla próbek z naniesionym hydrolizatem jedwabiu wzrost masy był na poziomie 27% dla włosów z kolagenem masa wzrosła o 4.2%, a dla próbek z inuliną wzrost masy był na poziomie 33% względem próbek oczyszczonych SLES.

Dla wszystkich próbek włosów dotowanych wzmiankowanymi substancjami krzywe kintetyki hydratacji włosów, były dobrze opisane przez zależnościami jednoeksponencjalnymi dla hydratacji z fazy gazowej o wilgotności względnej *h,* w zakresie od 0.09 do 0.44 (równanie 7.1). Dla wyższych wilgotności $h > 0.44$ była dopasowywana funkcja dwueksponencjalna (równanie7.2).

Dla włosów oczyszczonych SLES wartość A_0^h poziomu uwodnienia włosa w atmosferze o wilgotności względnej p/p_0 = 0% wynosiła $A_0^h = 0,069 \pm 0,007$. Dla ustalenia wartości poziomu A_0^h dla włosów z naniesionymi substancjami egzogennymi, należało uwzględnić efekt pochodzący od oczyszczaniem SLES. Należało pomniejszyć frakcje A_0^h dla włosów z substancjami egzogennymi o wartość A_0^h dla SLES.

Dla włosów pokrytych jedwabiem wartość frakcji wody najściślej związanej wynosiła A_0^h= 0,008±0,002, dla włosów pokrytych kolagenem A_0^h=0,011±0,014, a dla włosów pokrytych inuliną A_0^h=0,008±0,005. Można więc przyjąć, iż amplituda wody najściślej związanej, dla włosów z naniesionymi substancjami, jest na takim samym poziomie (w granicach błędu pomiarowego) jak dla włosów naturalnych w kolorze ciemnym. Wartość ta jest dużo wyższa dla włosów oczyszczonych SLES jak również wartość A_0^h wzrasta wraz z wiekiem osobnika lub ze zmniejszaniem się zawartości melaniny we włosach.

Czas hydratacji dla wody najszybciej wiążącej się do powierzchni włosa lub powierzchni włosa pokrytego substancją wynosił odpowiednio: $t_1^h = 0,48 \pm 0,11$ dla włosów oczyszczonych SLES, $t_1^h = 0,59 \pm 0,18$ dla włosów z naniesionym hydrolizatem białka jedwabiu, $t_1^h = 0,8 \pm 0,2$ dla włosów pokrytych kolagenem oraz $t_1^h = 1,25 \pm 0,5$ dla włosów pokrytych inuliną.

Oczyszczenie SLES włosa nieznacznie skraca czas hydratacji włosa frakcją wody ściśle związanej. Pokrycie powierzchni włosa hydrolizatem białka jedwabiu spowalnia czas wiązania tej frakcji, jednakże spowolnienie wiązania tej frakcji wody jest bardziej widoczne dla dotowania włosa kolagenem, a pokrycie powierzchni włosa inuliną obniża prędkość hydratacji wody ściśle związanej ponad dwukrotnie.

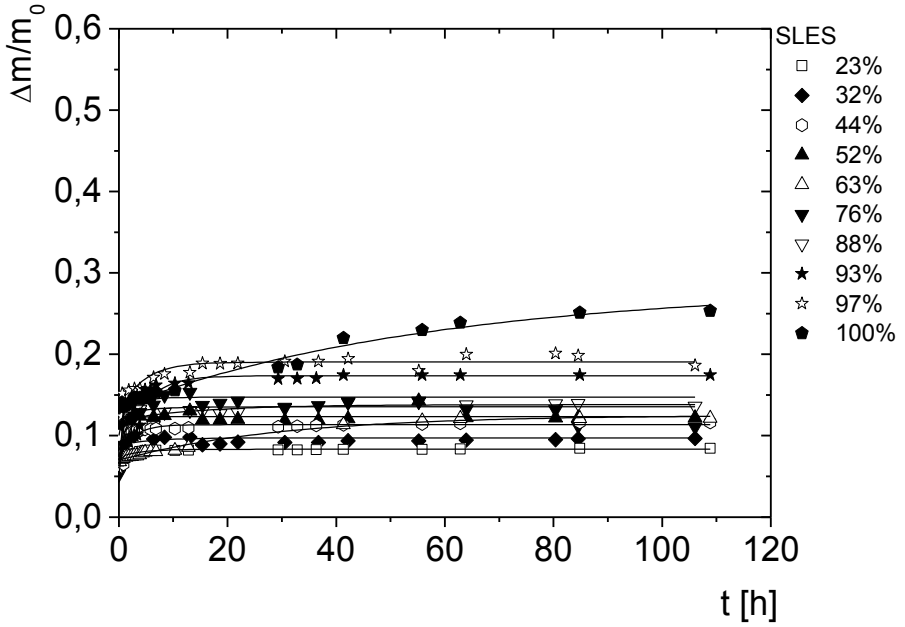
Pula wody ściśle związanej narasta aby w wilgotności h = 0.44 osiągnąć maksimum odpowiednio: $A_1^h = 0,078 \pm 0,008$ dla włosów oczyszczonych SLES, $A_1^h = 0,07 \pm 0,03$ dla włosów pokrytych hydrolizatem głównego białka jedwabiu, $A_1^h = 0,042 \pm 0,019$ dla włosów pokrytych kolagenem wreszcie $A_1^h = 0,060 \pm 0,002$ dla włosów pokrytych inuliną. Można zaobserwować iż za wyjątkiem włosów oczyszczonych SLES, na następnie pokrytych egzogennym kolagenem, poziom wody ściśle wiązanej jest (w granicach błędu pomiarowego) na podobnym poziomie dla włosów pokrytych różnymi substancjami, a nawet na zbliżonym poziomie jak dla włosów nautralnych różniących się zawartością melaniny, nieodmywanych SLES. Oznaczać to może, że użycie substancji egzogennych nie modyfikuje powierzchni dostępnej dla wody ściśle związanej do powierzchni włosa. Wyjątkiem jest tu egzogenny kolagen, którego użycie najprawdopodobniej zmniejsza liczbę miejsc wiążących wodę na powierzchniach włosa.

Gdy frakcja wody ściśle związanej ulegnie wysyceniu, to ze wzrostem wilgotności otoczenia, pojawia się kolejna frakcja – wody luźno związanej, o dłuższym czasie hydratacji, który wynosi odpowiednio: $t_2^h = 13,2 \pm 2,1$ dla włosów oczyszczonych SLES, co jest wartością zbliżoną, jak dla próbki kontrolnej. Użycie substancji egzogennych wydłuża czasy hydratacji frakcji wody luźno związanej, a mianowicie do $t_2^h = 16,9 \pm 2,3$ dla włosów pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, $t_2^h = 14,4 \pm 2,4$ dla włosów pokrytych kolagenem wreszcie $t_2^h = 18,8 \pm 5,2$ dla włosów pokrytych inuliną.

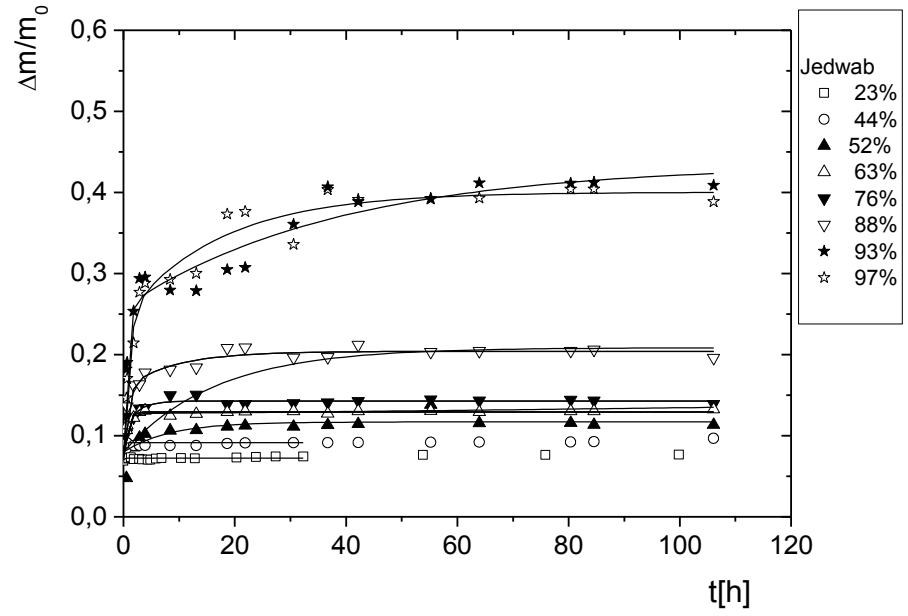
	SLES	**hydrolizat białka jedwabiu**	**kolagen**	**inulina**
A_0^h	$0,069 \pm 0,007$	0,008±0,002	0,011±0,014	0,008±0,005
A_1^h	$0,078 \pm 0,008$	$0,07 \pm 0,03$	$0,042 \pm 0,019$	$0,060 \pm 0,002$
t_1^h [h]	$0,48 \pm 0,11$	$0,59 \pm 0,18$	$0,8 \pm 0,2$	$1,25 \pm 0,5$
t_2^h [h]	$13,2 \pm 2,1$	$16,9 \pm 2,3$	$14,4 \pm 2,4$	$18,8 \pm 5,2$

Tabela 4. Zestawienie parametrów hydratacji włosów pokrytych różnymi substancjami

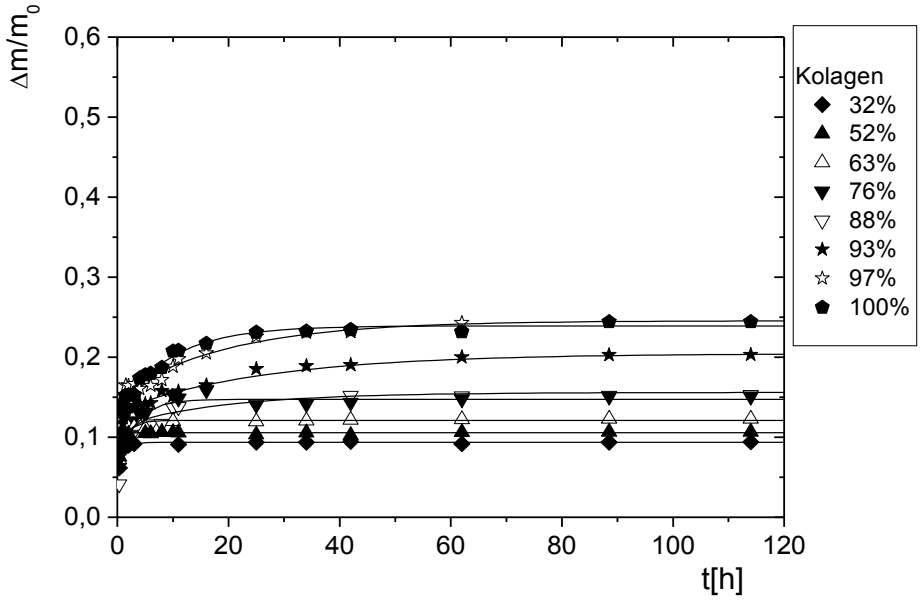
a)


Δm/m0
0,0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0
20
40
60
80
100
120
t [h]
SLES
23%
32%
44%
52%
63%
76%
88%
93%
97%
100%

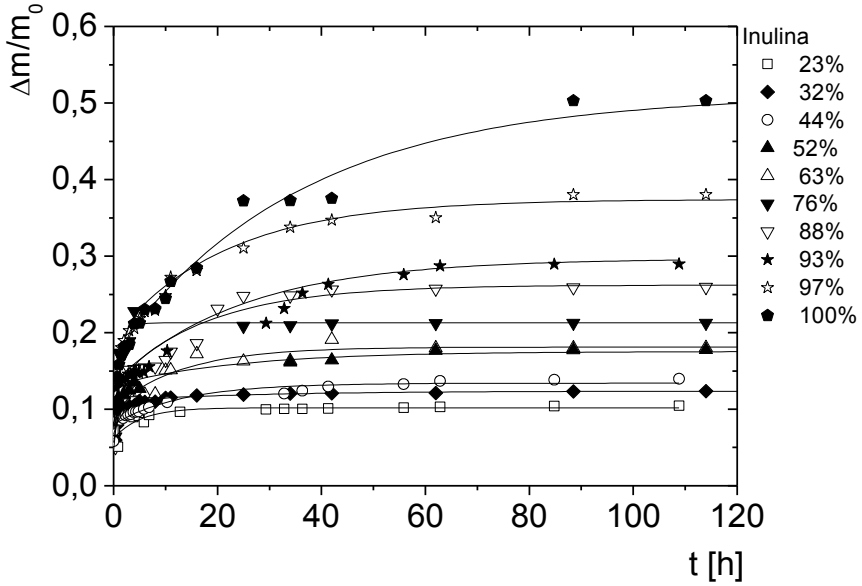
b)


Δm/m0
0,0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0
20
40
60
80
100
120
t[h]
Jedwab
23%
44%
52%
63%
76%
88%
93%
97%

c)



d)



Rysunek 22. Wykresy kinetyki hydratacji dla włosów a) oczyszczonych SLES, b) pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, c) włosów pokrytych kolagenem, d) włosów pokrytych inuliną, prowadzonej z fazy gazowej dla różnych wilgotności względnych atmosfer.

Poziomy wilgotności względnych $h = p/p_0$ zostały przedstawione w postaci legendy obok wykresów.

7.2.Izoterma sorpcyjna

Do skonstruowania izoterm sorpcyjnych, wyznaczono całkowity poziom hydratacji nasyceniowej dla odpowiednich wilgotności, jako sumę amplitud frakcji wody. Dla włosów z rożną zawartością melaniny całkowity poziom nasyceniowy został opisany wzorem (7.3a).

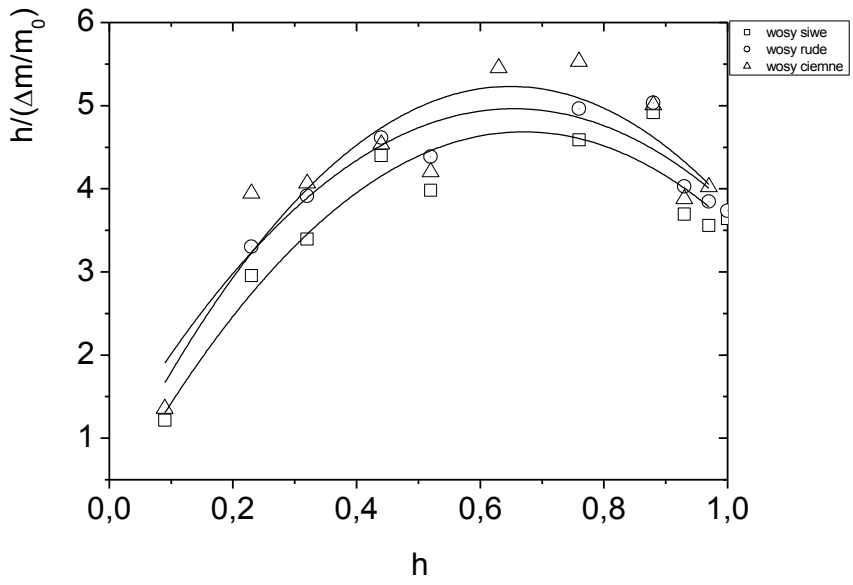
$$C^h = A^h{}_0 + A_1^h + A_2^h \tag{7.3a}$$

Dla włosów pokrytych substancjami egzogennymi całkowity poziom hydratacji nasyceniowej został opisany wzorem (7.3b), który uwzględnia efekt wcześniejszego działania SLES na włosy.

$$C^h = A^h{}_0 + A^h{}_1 + A^h{}_2 - A^h{}_{0\,SLES} \tag{7.3b}$$

7.2.1.Włosy o różnych kolorach

Izotermy sorpcyjne dla próbek włosów o różnych kolorach przedstawiono w formie parabolicznej. Dla modelu BET forma paraboliczna izotermy przechodzi przez zero dla wilgotności h = 1. Odchylenie od tej wartości jest miarą stosowalności modelu Denta. Na podstawie tej analizy uznano, iż model Denta lepiej opisuje wyniki izotermy sorpcyjnej niż model BET (Rysunek 23).



Rysunek 23. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów o różnych kolorach.

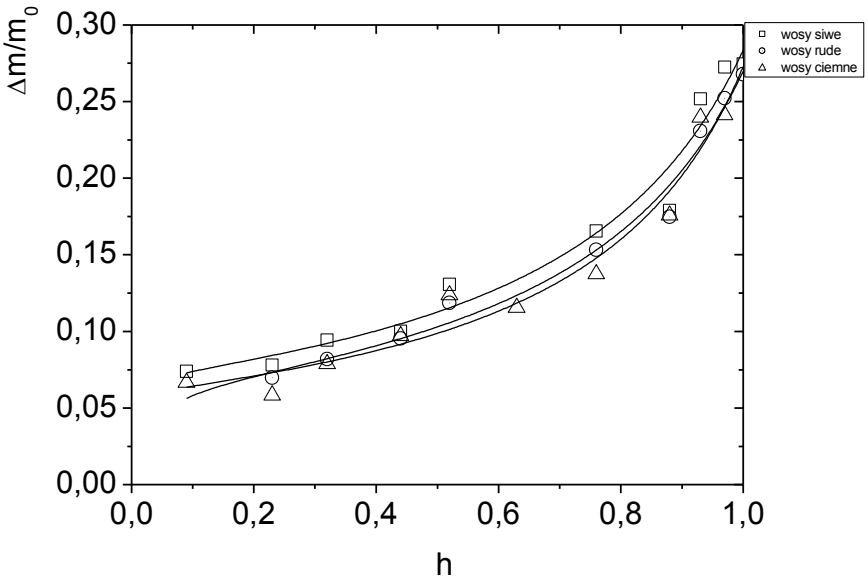
Z dopasowania do danych pomiarowych izotermy sorpcyjnej według modelu Denta otrzymano poziom frakcji wiążącej pierwotne miejsca wiążące do powierzchni włosów ciemnych, jako $\Delta M/m_0 = 0.06\pm0.01$, włosów rudych jako $\Delta M/m_0 = 0.06\pm0.01$ oraz siwych jako $\Delta M/m_0 = 0.07\pm0.01$.

Parametr b wyraża spadek względnej populacji miejsc wiążących wraz ze wzrastającą ilością warstw wody związanej. Wartość tego parametru, którego różnica od jedynki jest również miarą stosowalności modelu Denta, wynosi dla włosów ciemnych $b = 0.77\pm0.03$, dla włosów rudych $b = 0.77\pm0.03$ oraz $b = 0.75\pm0.03$ dla włosów siwych.

Miarą hydrofobowości włosów jest parametr $1/b_1$, który jest równy dla włosów ciemnych $1/b_1 = 0.87\%$, dla włosów rudych $1/b_1 = 0.51\%$ oraz $1/b_1 = 0.39\%$ dla włosów siwych.

		Włosy ciemne	Włosy rude	Włosy siwe
Forma sigmoidalna	**$\Delta M/m_0$**	0.06±0.01	0.06±0.01	0.07±0.01
	b	0.77±0.03	0.77±0.03	0.75±0.03
	$1/b_1$ (%)	0.87	0.51	0.39
Forma paraboliczna	**A**	0,42±0.64	0.8±0.7	0.17±0.45
	B	14,8±2.7	12.6±2.7	13.4±1.9
	C	-11,4±2.4	-9.6±2.1	-10.0±1.6

Tabela 5 Parametry izotermy sorpcyjnej dopasowanej według modelu Denta dla włosów o różnych kolorach



Rysunek 24. Sigmoidalna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów o różnych kolorach.

7.2.2.Włosy pokryte substancjami egzogennymi

Izoterma sorpcyjna dla włosów pokrytych różnymi substancjami również została opisywana za pomocą modelu Denta. Masa wody wysycającej pierwotne miejsca wiążące dla włosów oczyszczonych SLES wynosiła $\Delta M/m_0 = 0.06$, dla włosów pokrytych jedwabiem $\Delta M/m_0 = 0.026$, dla włosów pokrytych kolagenem $\Delta M/m_0 = 0.024$, a dla

włosów pokrytych inuliną $\Delta M/m_0$ = 0.031. Wartości dla włosów oczyszczonych SLES są na takim samym poziomie jak dla włosów o różnej pigmentacji.

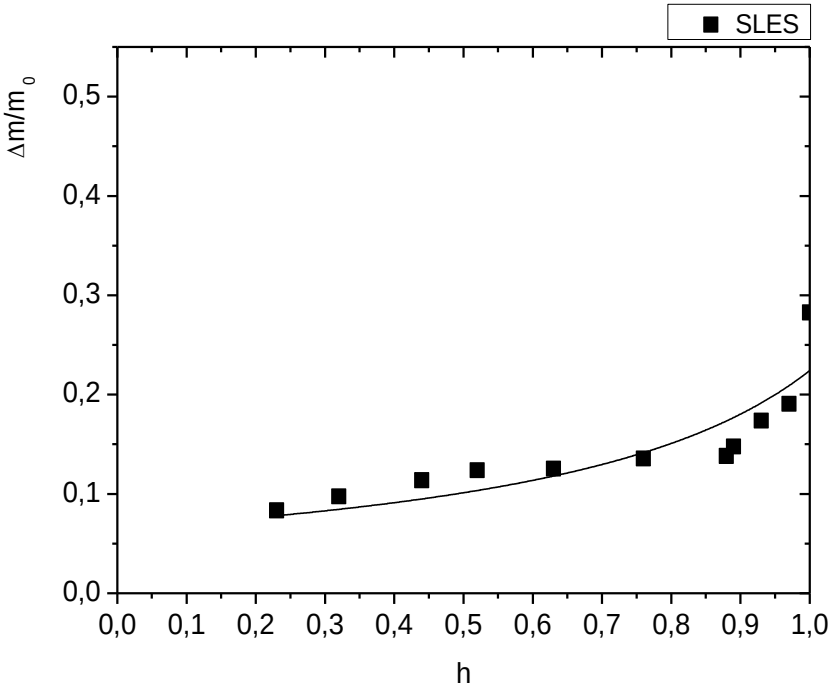
Wartość parametru *b,* opisującego spadek względnej populacji miejsc wiążących (gdy wzrasta liczba warstw wody związanej), dla włosów oczyszczonych SLES wynosi b = 0.71, dla włosów pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu b = 0.92, dla włosów pokrytych kolagenem b = 0.75, natomiast dla włosów pokrytych inuliną wynosi b = 0.88. Można opisywać dane pomiarowe za pomocą modelu Denta, gdyż dla próbek włosów odchylenia tego parametru od jedynki są niewielkie. Dla jedwabiu oraz inuliny są one nieco wyższe niż dla włosów oczyszczonych SLES i pokrytych kolagenem. Nie ma większych różnic wartości parametru *b* wywołanych substancjami egzogennymi w porównaniu do próbek włosów o różnych kolorach.

Liczba nieobsadzonych miejsc wiążących $1/b_1$, dla włosów oczyszczonych SLES wynosiła $1/b_1$ = 0.39%, dla włosów pokrytych jedwabiem $1/b_1$ = 0.62%, dla włosów z kolagenem $1/b_1$ = 0.53%, a dla włosów z Inuliną $1/b_1$ = 0.51%.
Wartości wszystkich parametrów dla włosów pokrytych różnymi substancjami zostały zestawione w Tabeli 6.

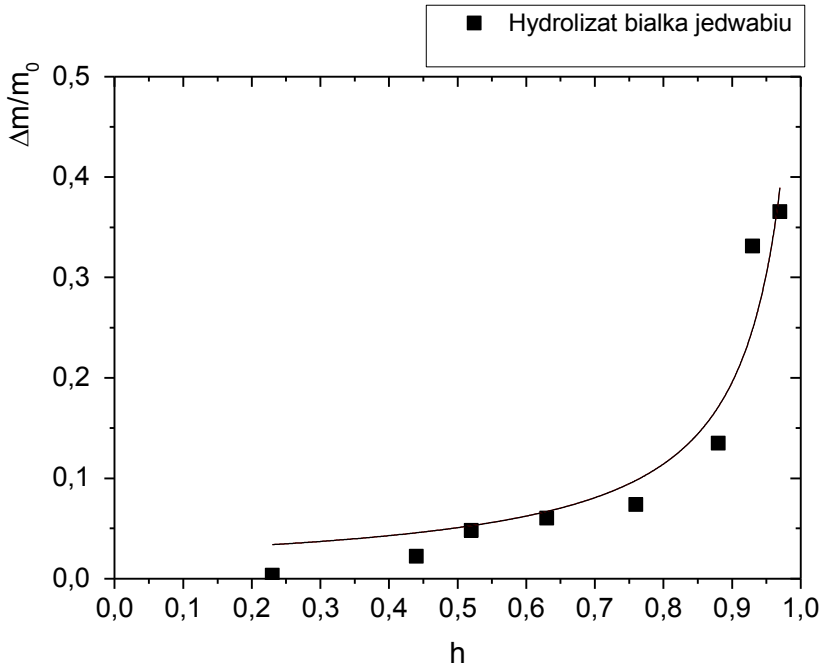
	SLES	**Hydrolizat białka jedwabiu**	**Kolagen**	**Inulina**
$\Delta M/m_0$	0.06±0.01	0.026±0.007	0.024±0.003	0.031±0.003
b	0.71±0.06	0.96±0.02	0.87±0.02	0.93±0.01
$1/b_1$ (%)	0.39	0.37	0.58	0.51

Tabela 6. Parametry izotermy sorpcyjnej dopasowanej według modelu Denta dla włosów pokrytych różnymi substancjami

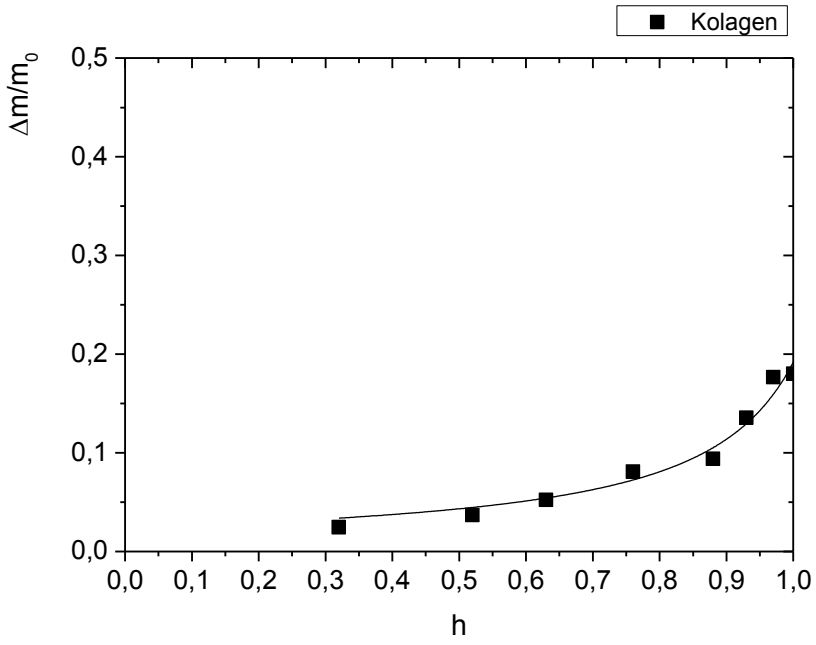
a)


SLES
Δm/m0
0,0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0
h

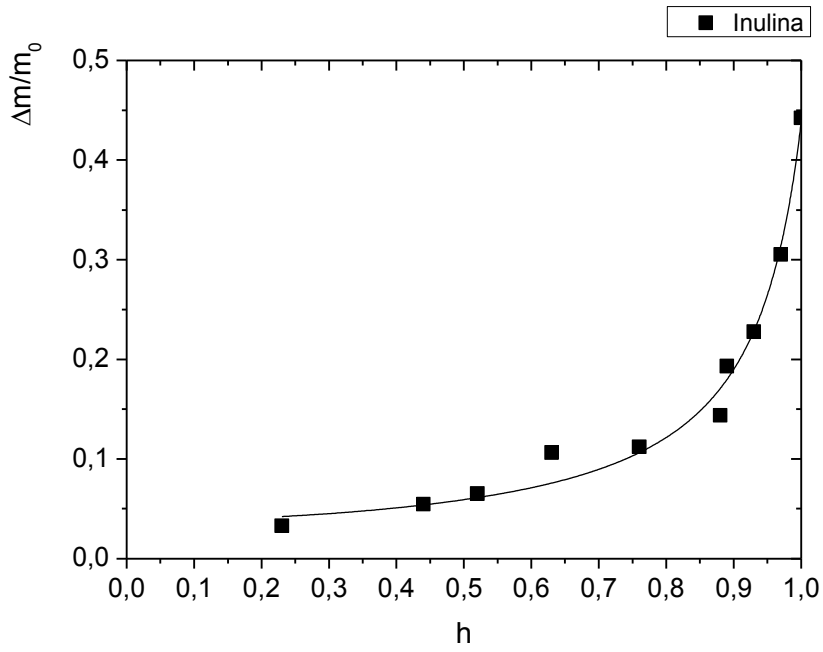
b)


Hydrolizat bialka jedwabiu
Δm/m0
0,0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,0 0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0
h

c)



d)



Rysunek 25. Sigmoidalna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów odmywanych a) SLES, b) pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, c) kolagenem, d) inuliną.

7.3.Pomiary relaksacyjne ^{1}H-NMR dla włosów o różnej zawartości melaniny

Pomiary relaksacyjne ^{1}H-NMR dla włosów o różnej zawartości melani przeprowadzono w pełnym spektrum uwodnień uzyskanych z fazy gazowej (dla $\Delta m/m_0 \leq 0.2$).

Sygnał zaniku swobodnej precesji (FID) przy niższych poziomach uwodnienia ($\Delta m/m_0 \leq 0.045$ dla włosów ciemnych, $\Delta m/m_0 \leq 0.061$ dla włosów rudych oraz $\Delta m/m_0 \leq 0.034$ dla włosów siwych), dobrze opisany był za pomocą superpozycji funkcji Gaussa o amplitudzie S, pochodzącej od protonów unieruchomionych próbki oraz dwóch funkcji eksponencjalnych o amplitudzie L_1, która pochodzi od protonów wody ściśle związanej do powierzchni włosów oraz amplitudzie L_2, pochodzącej od wody luźno związanej. Zależność tę wyraża wzór:

$$FID(t) = S\exp\left[-(\frac{t}{T_{2S}^*})^2\right] + L_1\exp(-\frac{t}{T_{2L1}^*}) + L_2\exp(-\frac{t}{T_{2L2}^*}) \tag{7.4}$$

Dla wyższych uwodnień odpowiednio ($\Delta m/m_0 \geq 0.045$ dla włosów ciemnych, $\Delta m/m_0 \geq 0.061$ dla włosów rudych oraz $\Delta m/m_0 \geq 0.034$ dla włosów siwych) sygnał od wody ściśle związanej przestaje być obserwowany. Całkowity sygnał FID jest więc dobrze opisywany superpozycją funkcji Gaussa o amplitudzie S, która pochodzi od protonów matrycy stałej włosów oraz funkcji eksponencjalnej, której amplituda L_1 pochodzi od protonów wody luźno związanej. Zgodnie ze wzorem:

$$FID(t) = S\exp\left[-(\frac{t}{T_{2S}^*})^2\right] + L_1\exp(-\frac{t}{T_{2L1}^*}) \tag{7.5}$$

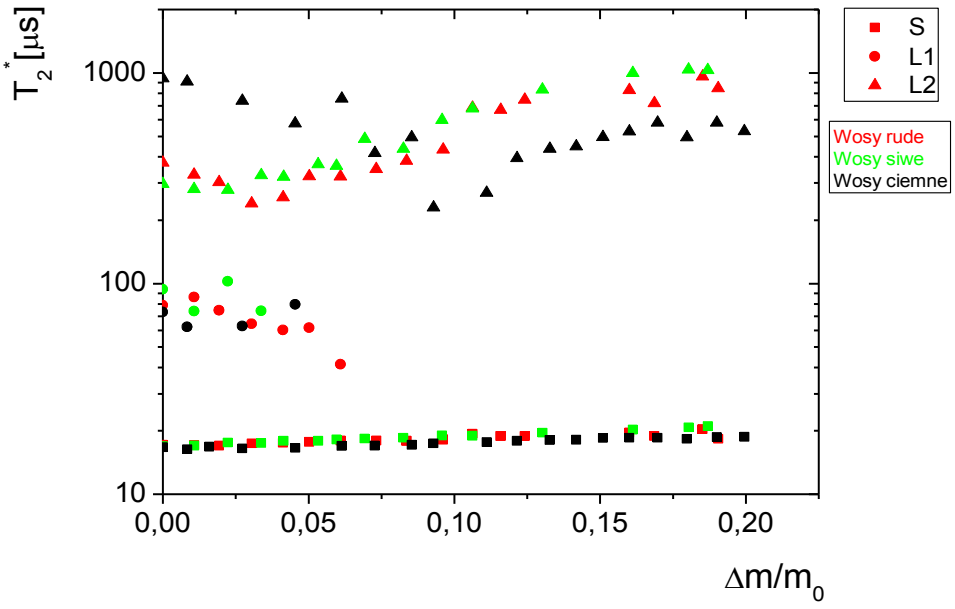
gdzie czas T_{2S}^* jest czasem relaksacji spinowo-spinowej dla matrycy stałej włosa. Opisuje on zanikanie składowej gaussowskiej do poziomu 1/e wartości początkowej. Czas T_{2L1}^* to czas relaksacji spinowo-spinowej frakcji wody ściśle związanej, natomiast T_{2L2}^* to czas relaksacji spinowo - spinowej frakcji wody luźno związanej.

Można wyodrębniać dwie frakcje wody: luźno oraz ściśle związanej, są one rozróżnialne dzięki dynamice molekularnej atomów wodoru, które wchodzą w ich skład. Można inaczej wyrazić to, iż różnią się czasami relaksacji poprzecznej. Czas relaksacji spinowo - spinowej dla wszystkich przebadanych włosów różniących się kolorem, dla frakcji protonów matrycy stałej ma zbliżoną wartość, która wynosi około $T_{2S}^{*} \approx 18$ μs.

Otrzymane czasy T_{2S}^{*} mają zbliżone wartości do otrzymanych w plechach grzybów zlichenizowanych oraz do innych układów biologicznych jak ziarna zbóż, łyko, błony syntetyczne, szkliwo zębów [Harańczyk i in., 2003], kompleksy DNA-surfaktant [Harańczyk i in., 2010], czy pokrywy chrząszczy [Harańczyk i in., 2012], które pochodzą od stałej matrycy włosów, więc rozkład pól lokalnych wewnątrz włosów będzie podobny [Pintar, 1991].

Czas relaksacji spinowo - spinowej dla protonów frakcji wody ściśle związanej obserwowany był tylko dla dehydratowanych próbek włosów i wynosił: $T_{2L1}^{*} \approx 69 \pm 5.8$ μs dla włosów w kolorze ciemnym, $T_{2L1}^{*} \approx 67 \pm 5.2$ μs dla włosów rudych oraz $T_{2L1}^{*} \approx 86 \pm 7.4$ μs dla włosów siwych.

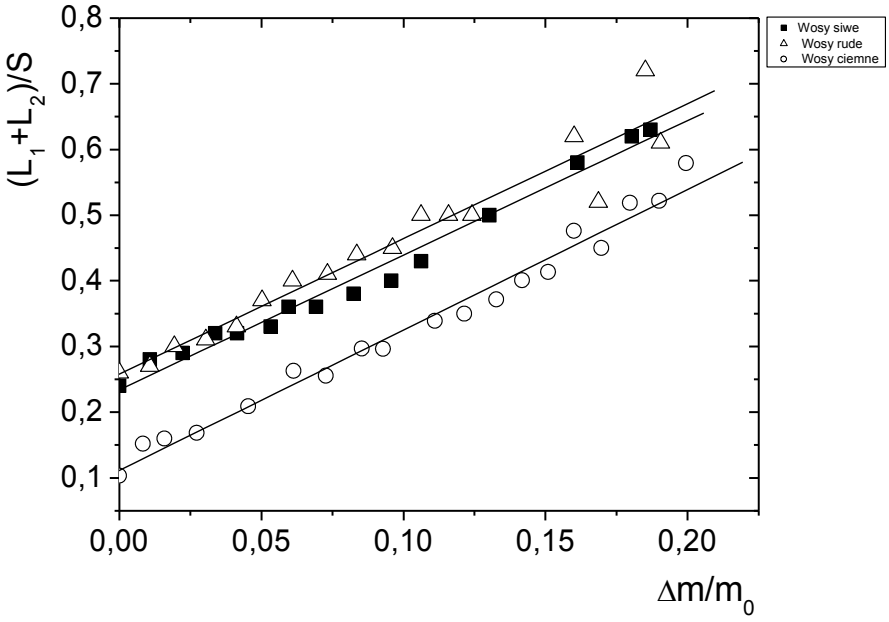
Czas relaksacji spinowo-spinowej dla protonów frakcji wody luźno związanej jest najdłuższy i nieznacznie rośnie wraz ze wzrostem poziomu uwodnienia próbki. Dla wszystkich rodzajów włosów różniących się zawartością melaniny czas ten waha się od wartości $T_{2L2}^{*} \approx 300$ do $T_{2L2}^{*} \approx 1000$ μs (Rysunek 26).



Rysunek 26. Zależność hydratacyjna czasów relaksacji spinowo-spinowej dopasowana z sygnałów zaniku swobodnej precesji dla protonów we włosach o różnym kolorze.

7.3.1. Zależność hydratacyjna składowych cieczowych sygnałów ^{1}H-NMR FID dla włosów o różnej zawartości melaniny.

Zależność hydratacyjna sumy sygnałów ^{1}H-NMR FID dla sumarycznego sygnału od protonów mobilnych pochodzącego od wody ściśle oraz od wody luźno związanej wyrażonego w funkcji amplitudy sygnału pochodzącego od matrycy stałej $\frac{L_1+L_2}{S}=\frac{L}{S}$ dla włosów o różnej zawartości melanin (Rysunek 27).



Rysunek 27. Całkowity sygnał cieczowy wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji hydratacji

Zależność hydratacyjna całkowitego sygnału pochodzącego od protonów mobilnych wyrażona w jednostkach sygnału od frakcji stałej sygnału opisana jest funkcją liniową wyrażoną wzorem:

$$\frac{L_1 + L_2}{S} = \frac{L}{S} = A \cdot \frac{\Delta m}{m} + B \tag{7.6}$$

Wartości parametrów dopasowania liniowego dla wszystkich badanych kolorów włosów zestawiono w Tabeli 7.

	Włosy ciemne	Włosy rude	Włosy siwe
A	2,14±0,072	2,06±0,14	2,05±0,078
B	0,1112±0,0087	0,258±0,015	0,2341±0,0079

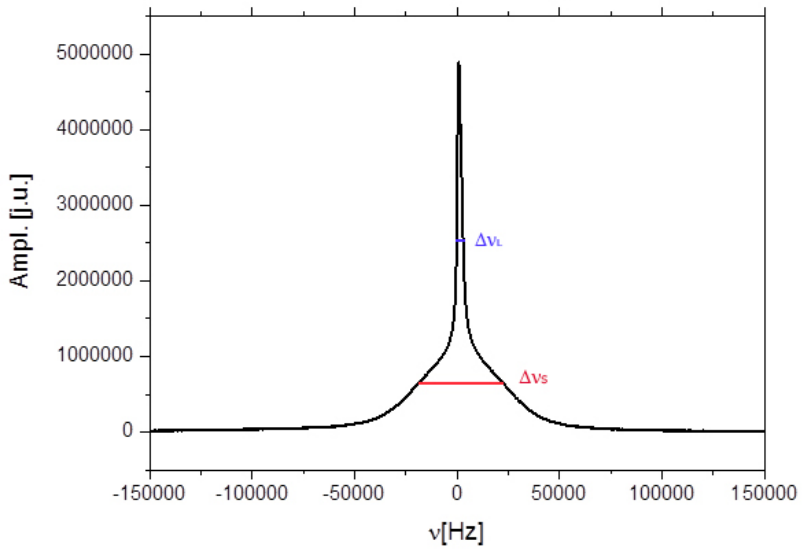
Tabela 7 Parametry dopasowania dla całkowitego sygnału cieczowego wyrażonego w jednostkach ciała stałego w funkcji hydratacji

Liniowa forma zależności hydratacyjnej (Rysunek 27) oznacza, że dla próbek włosów nie obserwuje sią frakcji stałej rozpuszczalnej w wodzie, gdyż w takim przypadku zależność hydratacyjna byłaby opisana funkcją wymierną [Harańczyk i in., 1996, Haranczyk i in., 1999].

7.4.Spektroskopia ^{1}H-NMR włosów o różnej zawartości melaniny

Widma ^{1}H-NMR dla włosów o różnych kolorach zarejestrowano w pełnym zakresie uwodnień uzyskanych z fazy gazowej, tzn. dla $\Delta m/m_0 \leq 0.2$.

Dla całego przedziału uwodnień próbki widmo jest superpozycją szerokiej linii pochodzącej od frakcji protonów o mocno ograniczonej mobilności, pochodzących od matrycy keratynowej włosa i dopasowanej funkcją Gaussa oraz linii wąskiej pochodzącej od mobilnych protonów wody związanej a dobrze opisanej funkcją Lorentza. Widmo ^{1}H-NMR dla próbki włosów można przedstawić równaniem (7.7).

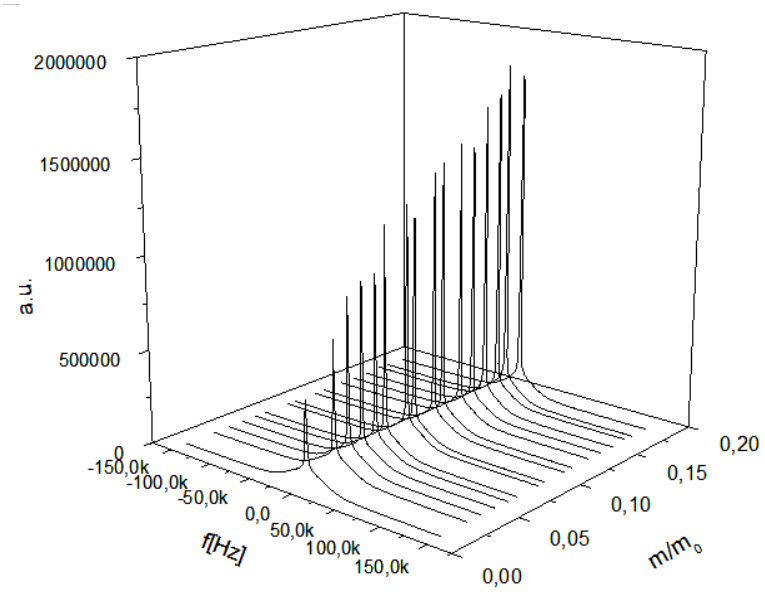


Rysunek 28. Widmo ^{1}H NMR dla włosów w kolorze ciemnym uwodnione do poziomu $\Delta m/m_0$=0.029. Linia czerwona-szerokość połówkowa sygnału opisanego funkcją Gaussa, linia niebieska-szerokość połówkowa sygnału opisanego funkcją Lorenza.

$$G(\nu) = \frac{S_G}{\sqrt{\pi \ln 2 \Delta \nu_G}} \exp\left[-2\left(\frac{\nu - \nu_G}{\sqrt{2 \ln 2 \Delta \nu_G}} \right)^2 \right] + \frac{2S_L}{\pi} \left[\frac{\Delta \nu_L}{4 \cdot (\nu - \nu_L)^2 + \Delta \nu_L^2} \right] \quad (7.7),$$

gdzie $\Delta\nu_G$ to szerokość połówkowa szerokiej składowej opisanej funkcją Gaussa, $\Delta\nu_L$ to szerokość połówkowa wąskiej składowej widma opisanej funkcją Lorentza; ν_G, ν_L to położenia środków linii Gaussa oraz składowej dopasowanej funkcją Lorentza, a S_G, S_L to pola powierzchni pod linią Gaussa oraz składowej dopasowanej funkcją Lorentza.

W funkcji hydratacji próbki włosów prowadzonej z fazy gazowej wąska składowa widma ^{1}H-NMR pochodząca od protonów mobilnych narasta (Rysunek 29), wydaje się więc, że można powiązać ją z wodą deponowaną z pary.



Rysunek 29. Widma ^{1}H-NMR dla próbki włosów ciemnych zmierzone w funkcji poziomu hydratacji z fazy gazowej zarejestrowane w temperaturze pokojowej.

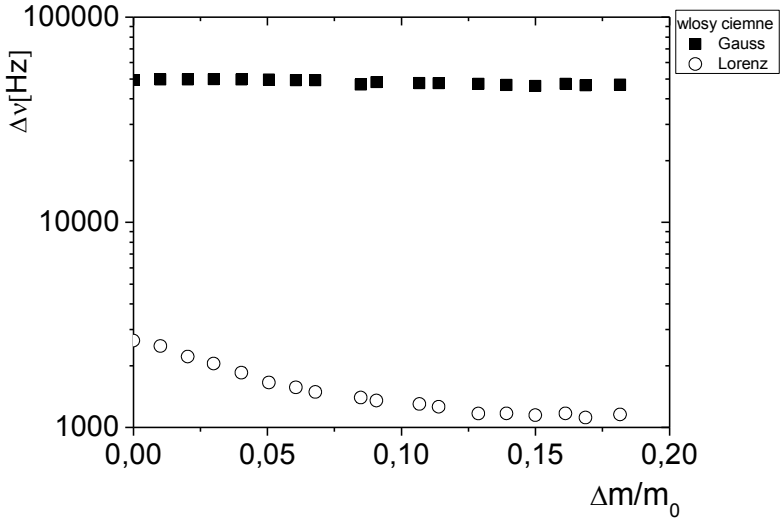
Druga składowa widma ^{1}H-NMR dla próbek włosów, wydaje się, że pochodzi od matrycy stałej włosa, gdyż stanowi szeroką linię, dobrze opisywanej przez funkcję Gaussa o szerokości połówkowej równej $\Delta\nu_G \approx 45$ kHz. Szerokość połówkowa linii pochodzącej od protonów o znacznym stopniu unieruchomienia nieco zmniejsza się wraz ze wzrostem uwodnienia próbek, wskazując na nieznaczny wzrost mobilności protonów matrycy stałej zachodzący wraz z narastającą hydratacją. Pole powierzchni pod linią ^{1}H-NMR jest proporcjonalne do liczby spinów składowej stałej włosów. Dlatego pole pod linią pochodzącą od protonów matrycy stałej keratyny można wykorzystać jako skalę dla sygnału pochodzącego od bardziej ruchliwych protonów wody związanej.

Dla wszystkich próbek badanych włosów o różnej zawartości melaniny zarejestrowano tylko jedną składową pochodzącą od mobilnych protonów cieczy, która może być dobrze opisywana za pomocą funkcji Lorentza.

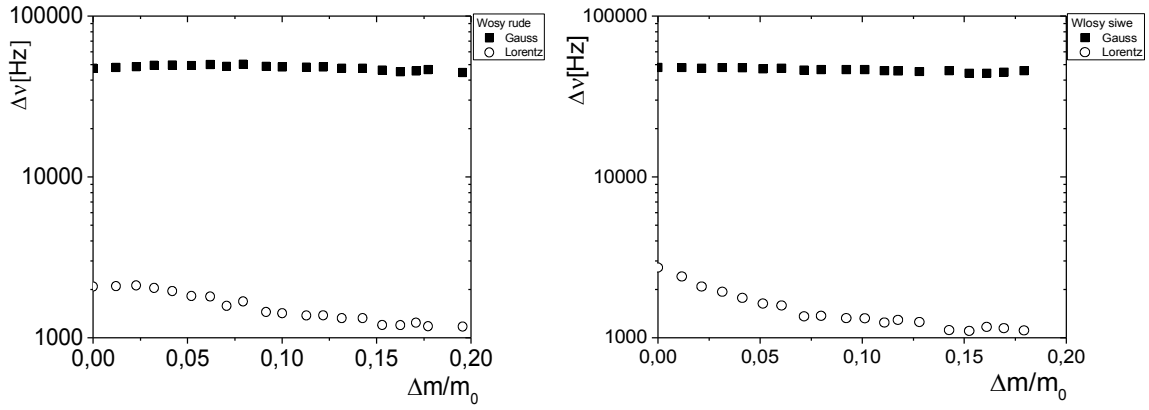
Dla włosów ciemnych przy niskim poziomie uwodnienia szerokość połówkowa linii Lorentza wynosiła $\Delta\nu_G \approx 2652$ Hz i malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 1157$ Hz dla $\Delta m/m_0 = 0{,}182$, natomiast dla włosów rudych od wartości $\Delta\nu_G \approx 2079$ Hz dla skrajnie niskiego poziomu uwodnienia malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 1172$ Hz dla $\Delta m/m_0 = 0{,}195$, wreszcie dla włosów siwych od wartości $\Delta\nu_G \approx 2730$ Hz malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 1108$ Hz. dla $\Delta m/m_0 = 0{,}179$ (Rysunek 30).

Zmiana szerokości połówkowej linii pochodzącej od wody związanej, zachodząca wraz ze wzrostem poziomu uwodnienia oznacza, że sygnał ten jest superpozycją sygnału pochodzącego od wody ściśle związanej (prawdopodobnie bezpośrednio do powierzchni keratyny) oraz sygnału pochodzącego od wody luźno związanej (do molekuł wody ściśle związanej lub poprzednich molekuł wody luźno związanej). Wraz ze wzrostem poziomu uwodnienia udział składowej bardziej mobilnej rośnie, a linia się zwęża.

a)



b) c)



Rysunek 30. Szerokości połówkowe widma ^{1}H NMR włosów, linii pochodzących od protonów mobilnych opisanych funkcją Lorenza ○ oraz od protonów mało mobilnych opisanych funkcją Gaussa ■, dla a) włosów ciemnych b) włosów rudych, c) włosów siwych

Zależność hydratacyjna intensywności sygnału pochodzącego od mobilnych protonów wody związanej w tkance włosa można wyrazić jako stosunek pola pod linią Lorentzowską do pola pod linią Gaussowską, pochodzącą od mało mobilnych protonów matrycy keratynowej tkanki. Zależność ta jest dobrze opisywana funkcją liniową. A_L/A_G. (Rysunek 31). Dla wszystkich próbek włosów różniących się zawartością melaniny, zależność hydratacyjną sygnału pochodzącego od wody związanej można opisać prostą w postaci:

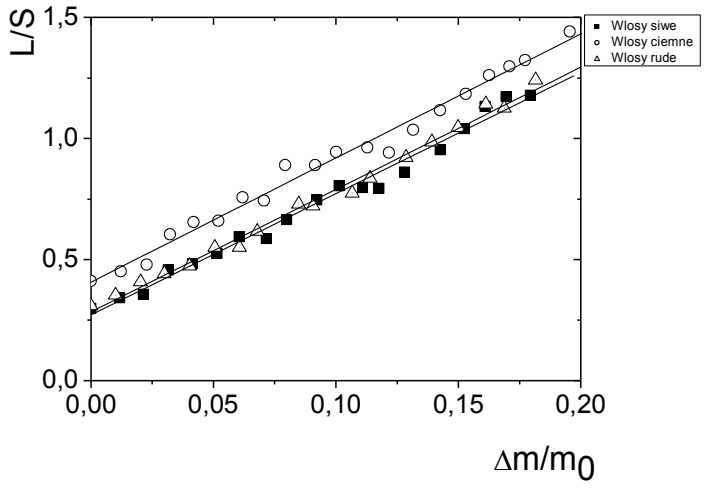
$$\frac{A_L}{A_G} = A\frac{\Delta m}{m_0} + B \tag{7.8}$$

	Włosy ciemne	Włosy rude	Włosy siwe
A	5,1±0,1	5,1±0,1	5,0±0,1
B	0,41±0,02	0,28±0,01	0,27±0,01

Tabela 8. Zestawienie parametrów dopasowania zależności hydratacyjnej A_L/A_G dla włosów o różnych kolorach

Współczynnik $B = \frac{A_L}{A_G}\left(\frac{\Delta m}{m_0} = 0\right)$ jest miarą ilości wody zapułapkowanej we włosach, która nie jest usuwana podczas dehydratacji próbki nad powierzchnią żelu krzemionkowego (dla p/p_0 =0%). Można ją wyznaczyć poprzez znalezienie hipotetycznego uwodnienia, dla którego wartość funkcji się zeruje. Postulowana ilość wody zapułapkowanej we włosach wykryta tą metoda wynosi odpowiednio 0,08 dla włosów ciemnych, 0,05 dla włosów rudych oraz 0.054 dla włosów siwych. Wartość ta dla włosów siwych oraz rudych jest zbliżona do wartości frakcji A^h_0 otrzymanej z kinetyki hydratacji. Dla włosów ciemnych wartość ta jest wielokrotnie wyższa.

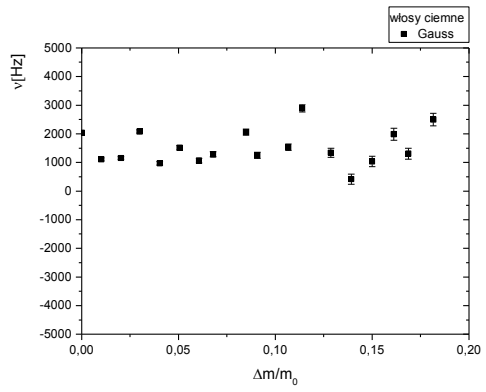
Liniowa forma zależności hydratacyjnej oznacza, że w próbce włosów nie następuje częściowe rozpuszczanie frakcji stałej podczas procesu hydratacji, jak to miało miejsce w innych układach biologicznych [Harańczyk i in., 1999].

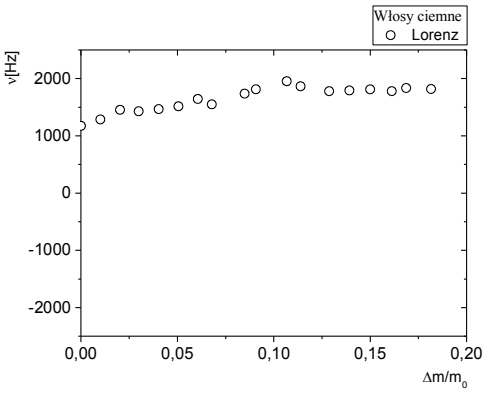


Rysunek 31. Hydratacyjna zależność amplitud składowych cieczowych sygnału NMR wyrażona w jednostkach amplitud ciała stałego włosów o różnej zawartości melaniny. Do punktów pomiarowych dopasowano funkcję liniową.

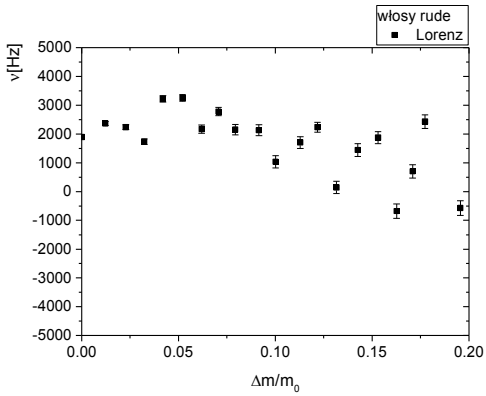
Położenia środków gaussowskich pików dla włosów o różnych kolorach wahają się pomędzy $\nu_G \approx 415$ Hz, a $\nu_G \approx 2886$ Hz. Piki Lorenza w zerowej hydratacji dla włosów ciemnych mają wartość $\nu_L = 1173$ Hz i wraz ze wzrostem uwodnienia przesuwa się do wartości $\nu_L = 1816$ Hz ; dla wosów rudych ν_L =1068 Hz i z rosnącym uwodnieniem osiąga w końcu wartość $\nu_L = 1977$ Hz; dla włosów siwych $\nu_L = 1414$ Hz i rośnie do wartości $\nu_L = 1884$ H (Rysunek 32).

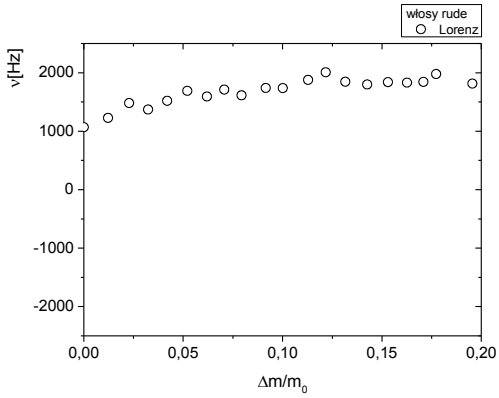
a)



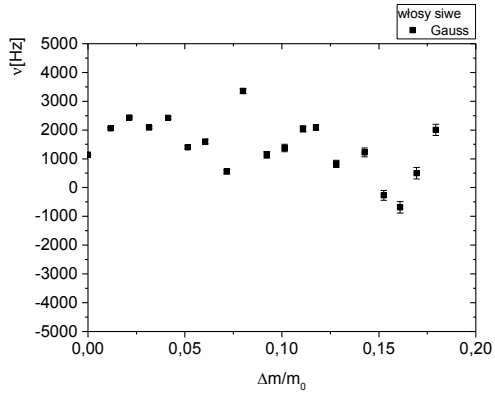


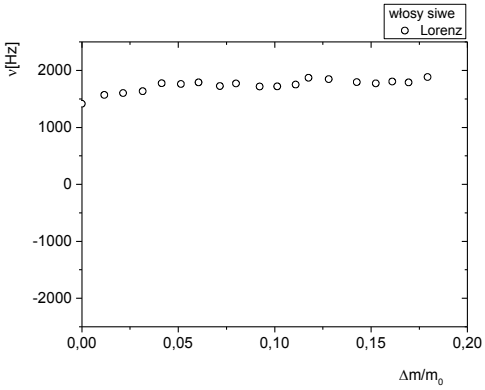
b)





c)





Rysunek 32. Położenia linii Gaussa (■) i Lorentza (○) dla a) włosów ciemnych, b) włosów rudych, c) włosów siwych.

7.5.Spektroskopia ^{1}H-NMR włosów pokrytych substancjami egzogennymi

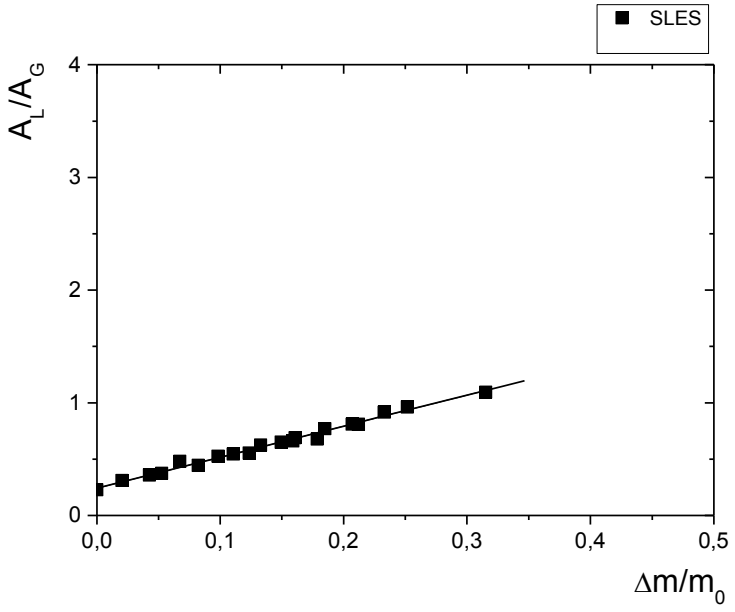
Podobnie jak dla włosów o różnej zawartości melaniny pomiary hydratacyjne ^{1}H-NMR w domenie częstotliwości były prowadzone w całym zakresie uwodnień uzyskanych z fazy gazowej. Do badań wybrano próbkę włosów o wysokim poziomie melaniny. W pierwszym eksperymencie próbkę poddano oczyszczeniu użyciem SLES i przeanalizowano wpływ tej substancji na hydratację włosa (zmierzono poziom hydratacji pomiędzy $\Delta m/m_0 = 0.02$ a $\Delta m/m_0 = 0.23$).

Następnie próbki włosów oczyszczonych SLES, pokryto hydrolizatem białka jedwabiu (zmierzony poziom hydratacji od $\Delta m/m_0 = 0.01$ do $\Delta m/m_0 = 0.48$), pokrytych kolagenem (zmierzony poziom hydratacji od $\Delta m/m_0 = 0.01$ do $\Delta m/m_0 = 0.21$) oraz dla włosów pokrytych inuliną (zmierzony poziom hydratacji od $\Delta m/m_0 = 0.01$ do$\Delta m/m_0 = 0.46$).

Podobnie jak dla włosów niepoddanych działaniu substancji egzogennych, zależność hydratacyjna relacji sygnału od protonów bardziej ruchliwych (pole pod krzywą Lorentza) przedstawiona w jednostkach sygnału, który pochodzi od protonów o ograniczonej mobilności (pole pod linią Gaussa i Lorentza) A_L/A_G ma zależność liniową. Również ten eksperyment potwierdził brak rozpuszczania.

7.5.1. Spektroskopia ^{1}H-NMR włosów oczyszczonych SLES

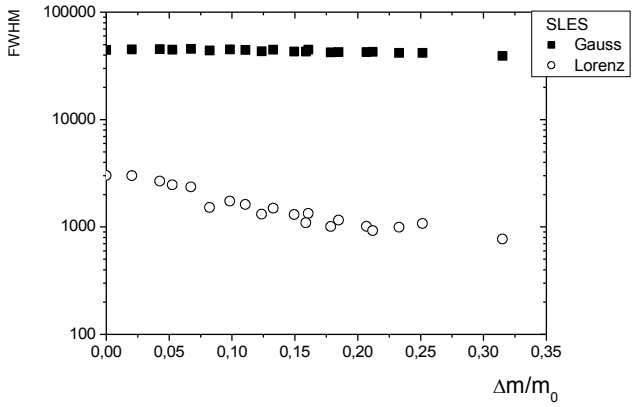
Wykorzystując wzór $\frac{A_L}{A_G} = A\frac{\Delta m}{m_0} + B$ do danych pomiarowych włosów oczyszczonych SLES została dopasowana prosta o parametrach A= 2,8±0,1 oraz B=0,24±0,02 (Rysunek 33). Modyfikowanie powierzchni włosów SLES powoduje obniżenie wartości nachylenia prostej w stosunku do włosów naturalnych, różniących się zawartością melaniny(wartość współczynnika A dla tych włosów w kolorze ciemnym wynosiła A=5.1). Może to sugerować wymywanie jonów paramagnetycznych przez SLES. Współczynnik B jest również niższy niż w przypadku włosów w kolorze ciemnym. Parametr B jest miarą wody zapulapkowanej we włosach nie wykrywalnej metodami grawimetrycznymi.



Rysunek 33. Hydratacyjna zależność sygnału cieczowego NMR dla włosów oczyszczonych SLES

Dla włosów oczyszczonych SLES składowa ^{1}H-NMR, która odpowiada matrycy stałej, zaobserwowana została w postaci szerokiej linii, którą opisać można za pomocą funkcji Gaussa. Składowa ta wraz ze wzrostem uwodnienia jest na stałym poziomie, a jej wartość wynosi około $\Delta\nu_G \approx 45$ kHz. Pole pod pikiem w dalszym ciągu może służyć do normalizacji amplitudy sygnału od protonów cieczowych.

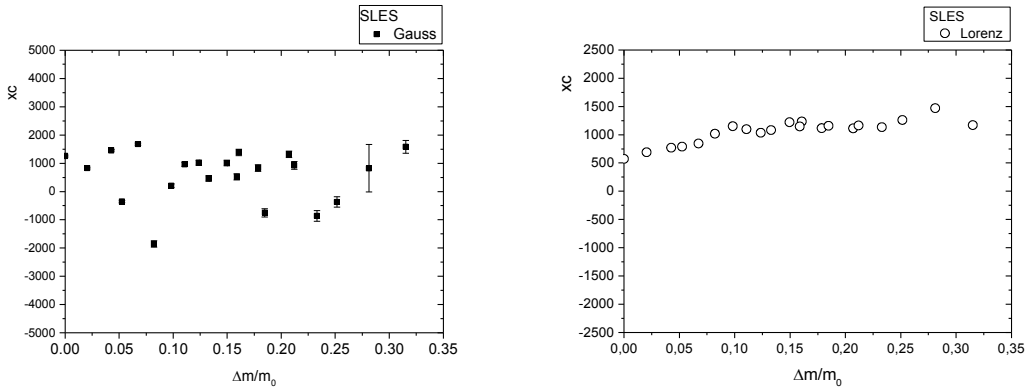
We włosach oczyszczonych SLES zaobserwowano jeden sygnał pochodzący od składowej cieczowej i jest on dobrze opisywany za pomocą funkcji Lorentza.
W niskich uwodnieniach szerokość połówkowa linii Lorentza wynosiła $\Delta\nu_G \approx 3017$ Hz i malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 773$ Hz (Rysunek 34).



Rysunek 34. Szerokości połówkowe obu linii składowych widma ^{1}H-NMR włosów SLES

Położenia centrów dla sygnału ciała stałego, który jest o wiele szerszy niż pik lorenzowski, wykazywały się dużą fluktuacją (Rysunek 35a). Położenia centrów pików dla sygnału cieczowego w miarę wzrostu uwodnienia przesuwają się od wartości $\nu \approx 571$ Hz aż do $\nu \approx 1470$ Hz. (Rysunek 35b).

a) b)



Rysunek 35. Położenia linii a) Gaussa (■) i b)Lorentza (○) dla włosów oczyszczonych SLES

7.5.2. Spektroskopia ^{1}H-NMR włosów z naniesionymi substancjami

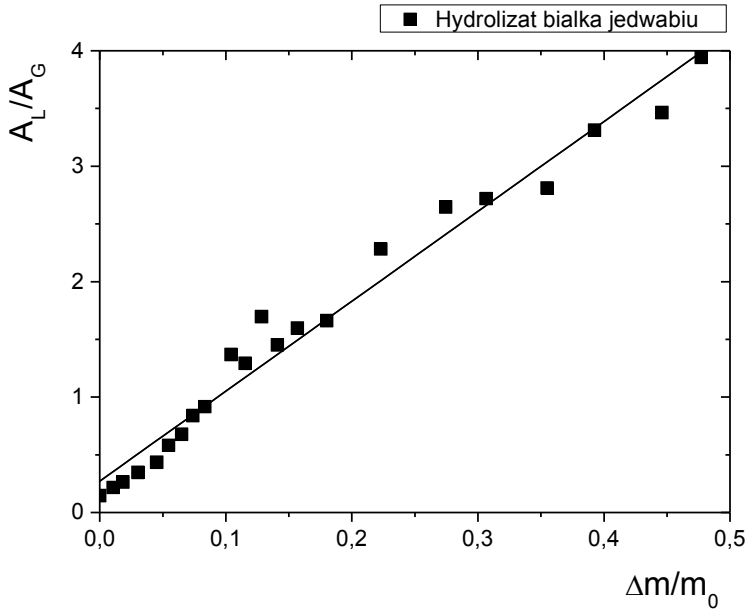
Dane pomiarowe włosów z naniesionymi substancjami egzogennymi, można było również opisać za pomocą funkcji linowej (danej wzorem 7.8). Parametr nachylenia prostej znowu wzrastał w stosunku do włosów oczyszczonych SLES ($A = 2,8 \pm 0,1$). Dla włosów z substancjami egzogennymi wynosił on kolejno $A = 7,8 \pm 0,1$ dla włosów pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, $A = 4,5 \pm 0,1$ dla włosów z kolagenem oraz $A = 5,2 \pm 0,1$. Wnioskować można, iż zastosowanie owych substancji powoduje wzrost stężenia jonów paramagnetycznych. Współczynnik B jest na takim samym poziomie jak w przypadku włosów oczyszczonych SLES ($B = 0,24 \pm 0,02$) dla włosów z naniesionym hydrolizatem białka jedwabiu $B = 0,27 \pm 0,01$ oraz dla włosów z kolagenem $B = 0,24 \pm 0,01$. Jest to też wartość taka jak dla włosów w kolorze rudym ($B = 0,28 \pm 0,01$) oraz siwym $B = (0,27 \pm 0,01)$. Natomiast dla włosów pokrytych inuliną parametr ten jest dużo niższy i wynosi $B = 0,09 \pm 0,01$ (Rysunek 36). Można wywnioskować iż inulina obniża ilość wody zapułapkowanej.

Parametry dopasowania prostej dla włosów oczyszczonych SLES jak i pokrytych substancjami egzogennymi zostały zebrane w Tabeli 9.

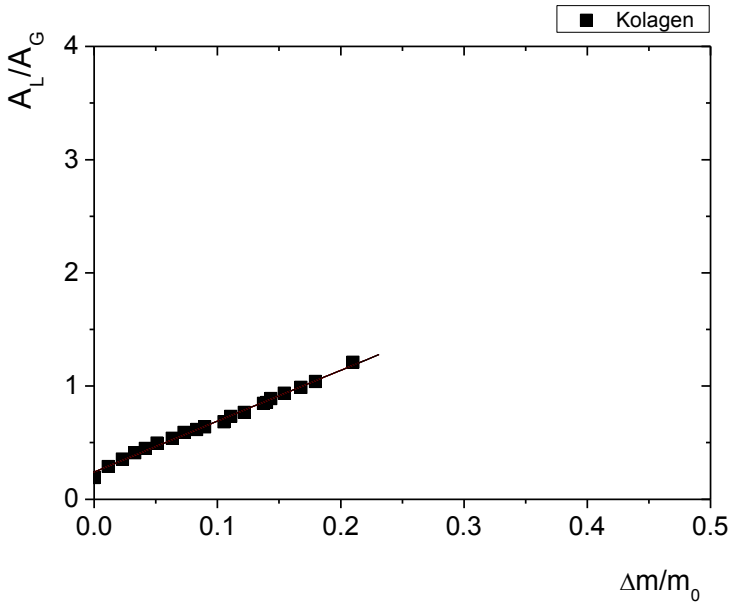
	SLES	**Hydrolizat białka jedwab**	**Kolagen**	**Inulina**
A	2,75±0,1	7,79±0,1	4,49±0,1	5,2±0,1
B	0,24±0,02	0,27±0,01	0,24±0,01	0,09±0,1

Tabela 9. Zestawienie parametrów dopasowania zależności hydratacyjnej A_L/A_G dla włosów pokrytych różnymi substancjami.

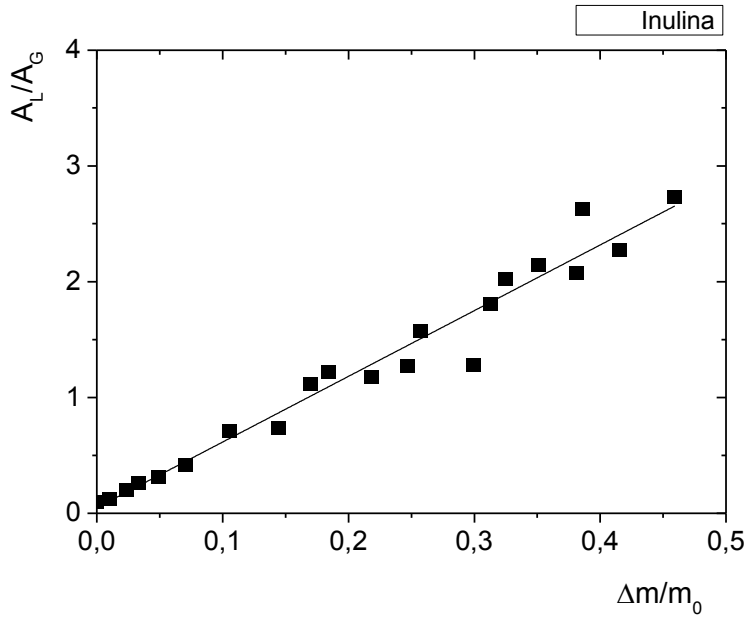
a)



b)



c)



Rysunek 36. Hydratacyjna zależność sygnału cieczowego NMR dla włosów a) z hydrolizatem białka, b) z kolagenem, c) z inuliną.

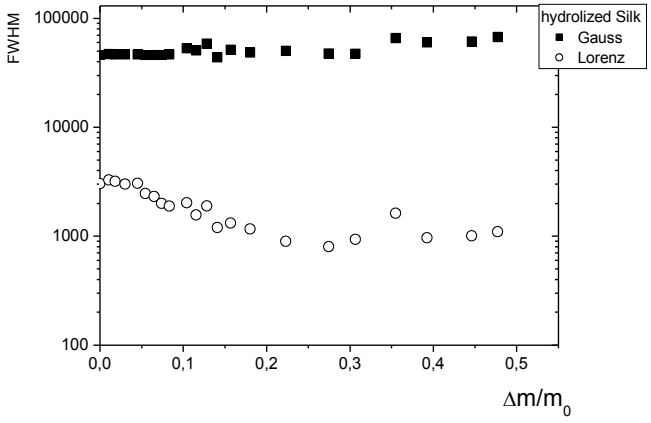
Dla próbek włosów pokrytych substancjami egzogennymi ^{1}H-NMR, która odpowiada matrycy stałej, obserwowana jest w postaci szerokiej linii, opisana została również funkcją Gaussa. Składowa ta wraz ze wzrostem uwodnienia jest na stałym poziomie, a jej wartość wynosi około $\Delta\nu_G \approx 45$ kHz dla wszystkich rodzajów włosów

pokrytych substancjami. Pole pod pikiem w dalszym ciągu może służyć do normalizacji amplitudy sygnału od protonów cieczowych.

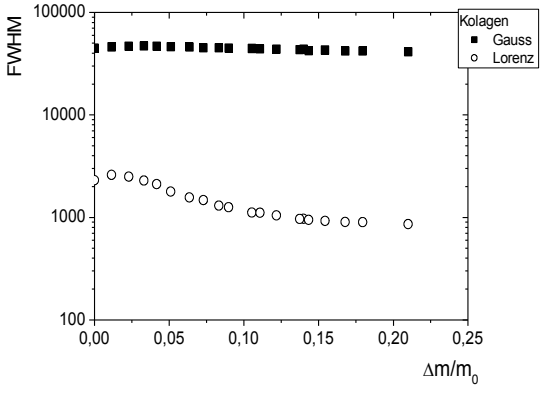
We włosach pokrytych substancjami zarejestrowano jeden sygnał pochodzący od składowej cieczowej i jest on, tak jak w poprzednich przypadkach dobrze opisywany za pomocą funkcji Lorentza.

Dla niskich uwodnień szerokość połówkowa linii Lorentza wynosiła: $\Delta\nu_G \approx 3273$ Hz i malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 798$ Hz dla włosów pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu; $\Delta\nu_G \approx 2497$ Hz i malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 857$ Hz dla włosów z kolagenem oraz $\Delta\nu_G \approx 2498$ Hz i malała do wartości $\Delta\nu_G \approx 579$ Hz dla włosów pokrytych inuliną (Rysunek 37).

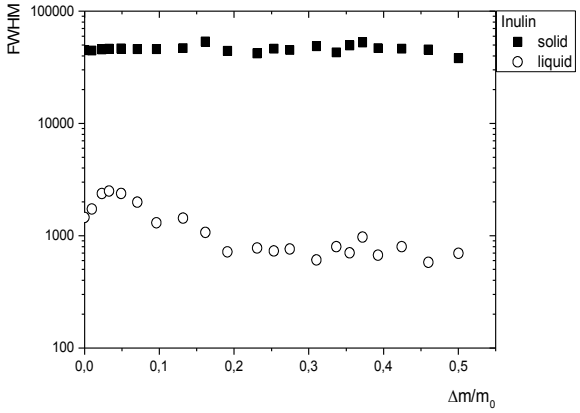
a)



b)



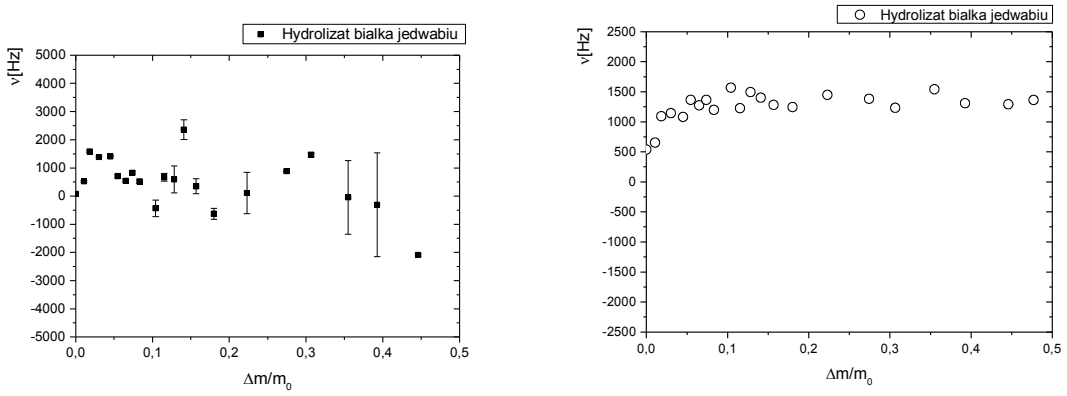
c)



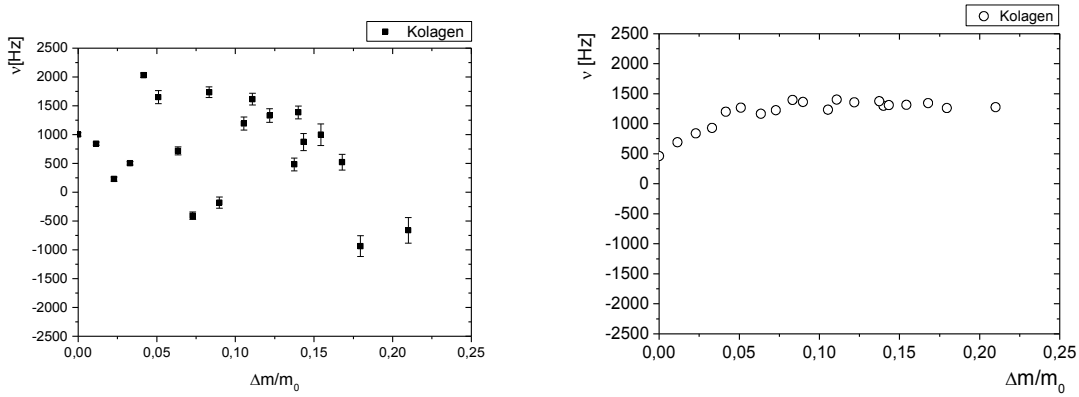
Rysunek 37. Szerokosci połówkowe obu linii składowych widma ^{1}H-NMR włosów a) z hydrolizatem białka jedwabiu b) z kolagenem, c) z inulin

Położenia centów dla sygnału ciała stałego, który jest o wiele szerszy niż pik lorenzowski, również wykazywały się dużą fluktuacją. Położenia centrów pików dla sygnału cieczowego w miarę wzrostu uwodnienia przesuwa się od wartości $\nu \approx 537$ Hz aż do $\nu \approx 1447$ Hz dla włosów pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, $\nu \approx 460$ Hz aż do $\nu \approx 1314$ Hz dla włosów z kolagenem oraz $\nu \approx 164$ Hz aż do $\nu \approx 1396$ Hz dla włosów z inuliną (Rysunek 38).

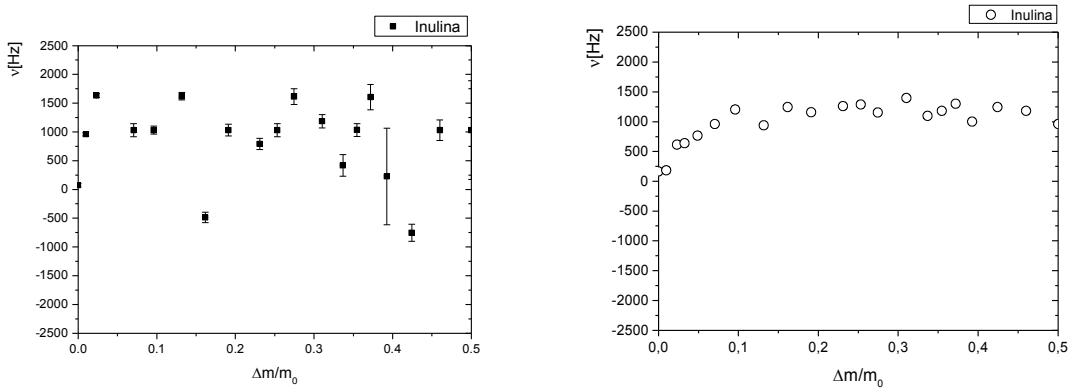
a)



b)



c)



Rysunek 38. Położenia linii Gaussa (■) i Lorentza (○) dla a) włosów z naniesionym hydrolizatem białka jedwabiu, b) włosów z kolagenem, c) włosów z inuliną

7.6.Czas relaksacji T_2

Wyznaczenie rzeczywistego czasu T_2 możliwy jest dzięki zastosowaniu sekwncji Carra-Purcella-Meibooma-Gilla (CPMG). Ta skala czasowa pozwala na zmierzenie jedynie cieczowej składowej. Pomiar włosów różniących się kolorami został wykonany z czasem $\tau = 25$ μs, więc czas pomiędzy kolejnymi impulsami π był równy w przybliżeniu 50 μs. Pomiar taki daje możliwość obserwacji frakcji wody luźno związanej, gdyż jej czas relaksacji T_2 jest względnie długi. Do ech spinowych w domenie częstotliwości zarejestrowanych za pomocą metody CPMG dopasowano dwie funkcje Lorentza.

7.6.1.Włosy o różnych kolorach

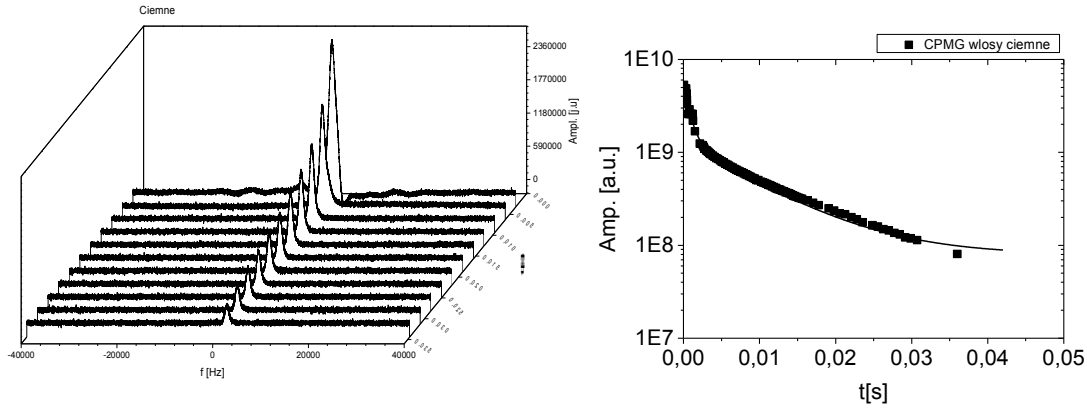
Do pomiarów metodą CPMG oraz pomiaru czasu czasu T_2^* zostały spreparowane próbki jak do pomiarów widm NMR. W celu weryfikacji występowania lipidów, pomiary zostały wykonane na suchych próbkach. Próbki były suszone nad żelem krzemionkowym, w eksykatorze, gdzie panowała wilgotność 0% .

Dla włosów o różnej zawartości melaniny czasy T_2 z dopasowania funkcji dwueksponencjalnej opisanej wzorem (4.55), dla włosów w kolorze ciemnym wynosił $T_{21} = 801$ μs dla składowej L_1 oraz $T_{22} = 12000$ μs dla składowej L_2; dla włosów w kolorze rudym odpowiednio $T_{21} = 302$ μs dla składowej L_1 oraz $T_{22} = 27600$ μs dla składowej L_2; a dla włosów siwych $T_{21} = 386$μs dla składowej L_1 oraz $T_{22} = 14050$ μs dla składowej L_2.

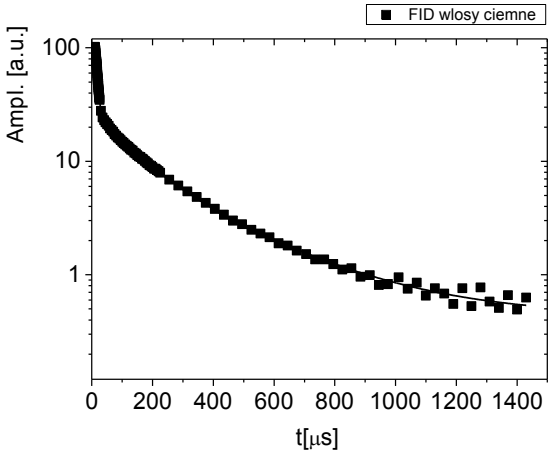
Dla zmierzonego FID czas T_2^*, zgodnie z przewidywaniami był krótszy niż czas T_2. Wynosił odpowiednio dla włosów ciemnych $T_{21}^* = 110$ μs dla składowej L_1 oraz $T_{22}^* = 305$ μs dla składowej L_2; dla włosów rudych $T_{21}^* = 62$ μs dla składowej L_1 oraz $T_{22}^* = 323$ μs dla składowej L_2 oraz dla włosów siwych $T_{21}^* = 31$ μs dla składowej L_1 oraz $T_{22}^* = 388$ μs dla składowej L_2 (Tabela 10).

	Włosy ciemne	**Włosy rude**	**Włosy siwe**
T_{21} [μs]	801	302	386
T_{21}^* [μs]	110	62	31
T_{22} [μs]	12000	27600	14050
T_{22}^* [μs]	305	323	388

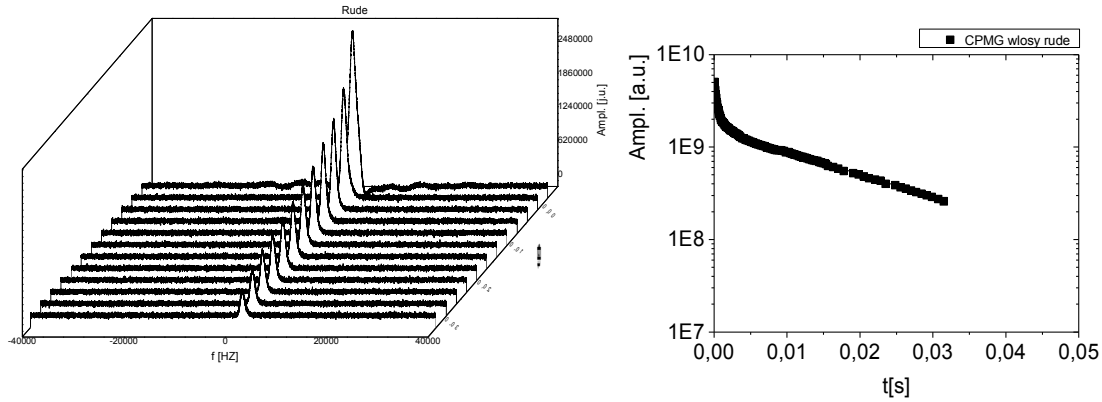
Tabela 10. Zestawienie parametrów czasów T_{21} oraz T_{21}^* dla włosów o różnych kolorach



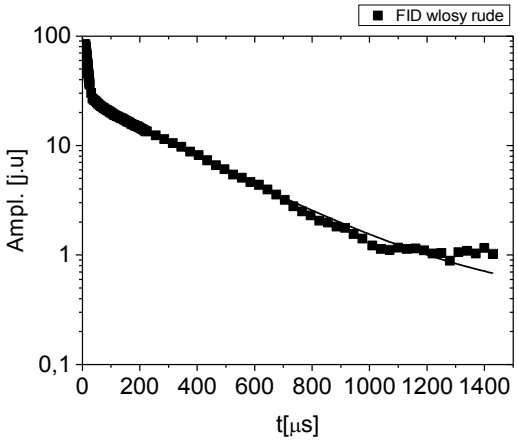
Rysunek 39. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze ciemnym dla bardzo suchej próbki.



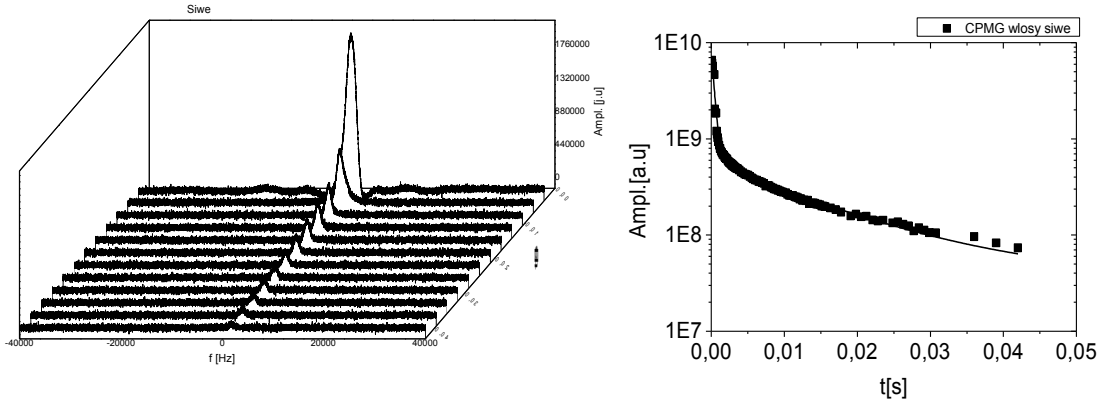
Rysunek 40. Wykres FID dla włosów ciemnych dla bardzo suchej próbki



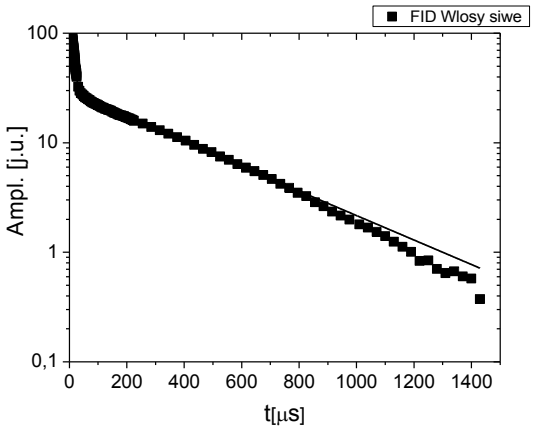
Rysunek 41. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze rudym dla bardzo suchej próbki.



Rysunek 42. Wykres FID dla włosów rudych dla bardzo suchej próbki



Rysunek 43. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze siwym dla bardzo suchej próbki.



Rysunek 44. Wykres FID dla włosów siwych dla bardzo suchej próbki

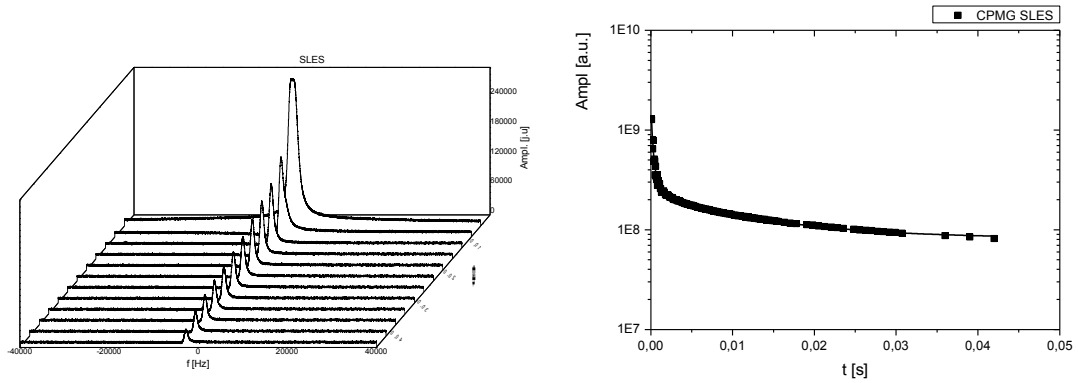
7.6.2.Włosy z naniesionymi substancjami

Dla włosów z naniesionymi substancjami czasy T_2 po dopasowaniu funkcji dwueksponencjalnej opisanej wzorem (4.55), wynosiły odpowiednio: dla włosów oczyszczonych SLES 241 μs dla składowej L_1 oraz 6820 μs dla składowej L_2; dla włosów z naniesionym hydrolizowanym jedwabiem odpowiednio 188 μs dla składowej L_1 oraz 4650 μs dla składowej L_2; dla włosów z kolagenem 214 μs dla składowej L_1 oraz 6760 μs dla składowej L_2, a dla włosów z inuliną 204 μs dla składowej L_1 oraz 5220 μs dla składowej L_2.

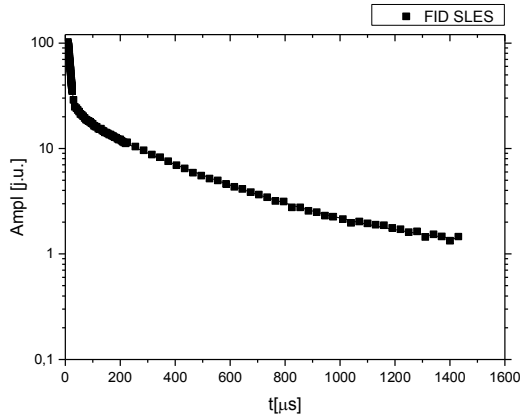
Dla włosów pokrytych substancjami czas T_2^* otrzymany ze zmierzonego FID jest tak samo, jak w przypadku włosów różniących się kolorem, krótszy niż czas otrzymany z metody CPMG. Wynosił odpowiednio dla włosów oczyszczonych SLES T_{21}^* = 71 μs dla składowej L_1 oraz T_{22}^*= 365 μs dla składowej L_2; dla pokrytych jedwabiem T_{21}^* = 71 μs dla składowej L_1 oraz T_{22}^*= 433 μs dla składowej L_2; dla włosów z naniesionym kolagenem T_{21}^* = 63 μs dla składowej L_1 oraz T_{22}^*= 285 μs dla składowej L_2 oraz dla włosów z inuliną T_{21}^* = 83 μs dla składowej L_1 oraz T_{22}^*= 278 μs dla składowej L_2.

	SLES	**Hydrolizowany jedwab**	**Kolagen**	**Inulina**
T_{21} [μs]	241	188	214	204
T_{21}^*[μs]	71	71	63	83
T_{22} [μs]	6820	4650	6760	5220
T_{22}^* [μs]	365	433	285	278

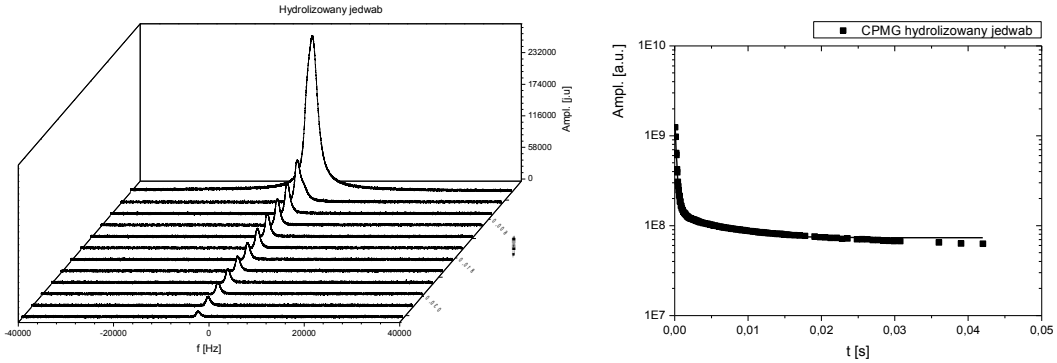
Tabela 11.Zestawienie parametrów czasów T_{21} oraz T_{21}^* dla włosów pokrytych różnymi substancjami



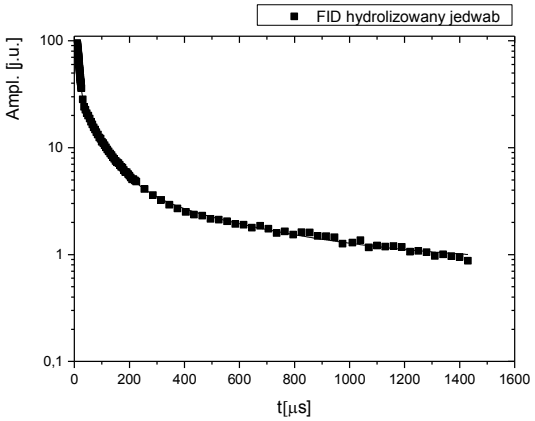
Rysunek 45. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów oczyszczonych SLES dla bardzo suchej próbki



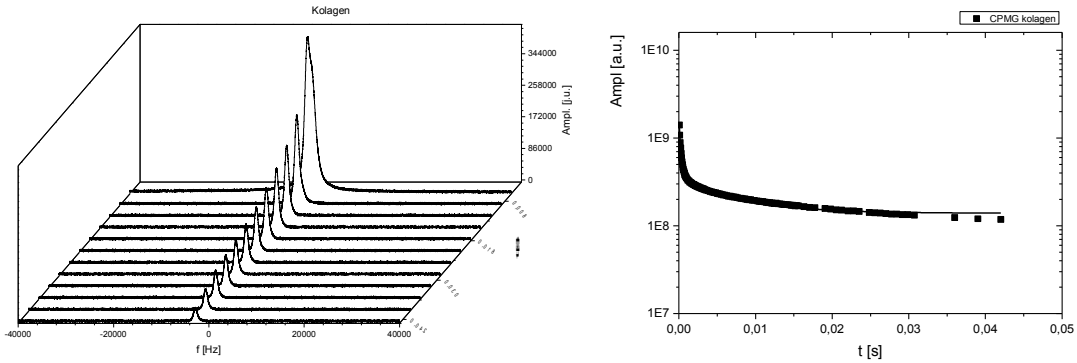
Rysunek 46. Wykres FID dla włosów oczyszczonych SLES dla bardzo suchej próbki



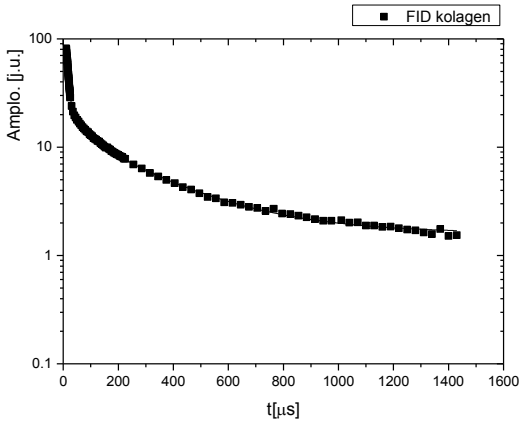
Rysunek 47. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów pokrytych jedwabiem dla bardzo suchej próbki.



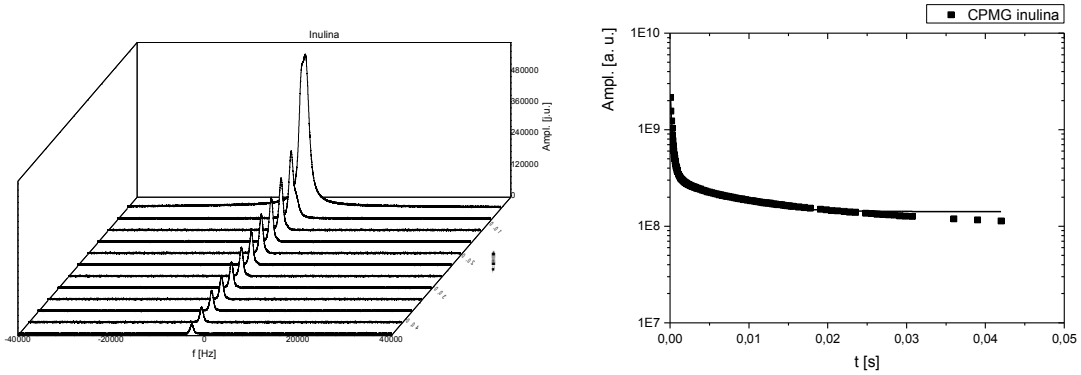
Rysunek 48. Wykres FID dla włosów pokrytych jedwabiem dla bardzo suchej próbki



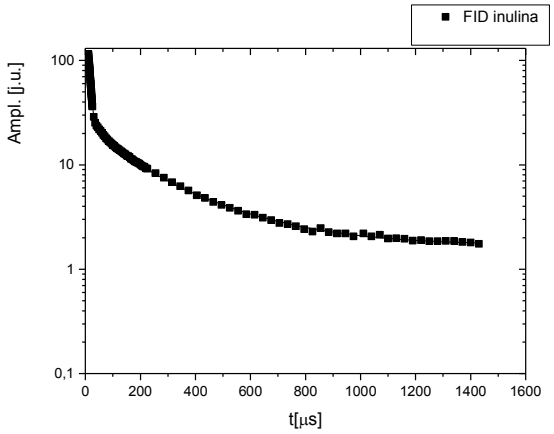
Rysunek 49. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów z kolagenem dla bardzo suchej próbki.



Rysunek 50. Wykres FID dla włosów z kolagenem dla bardzo suchej próbki



Rysunek 51. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów z inuliną dla bardzo suchej próbki.



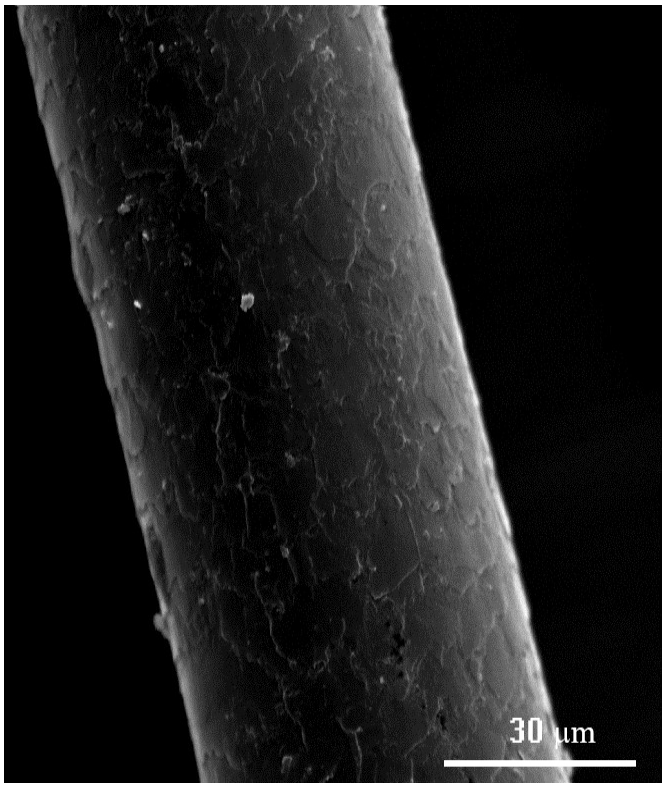
Rysunek 52. Wykres FID dla włosów z inuliną dla bardzo suchej próbki

Z wykorzystaniem metody CPMG nie zaobserwowano sygnału, który mógłby pochodzić od lipidów. Czas T_2 sygnału dla lipidów powinien być krótszy niż otrzymany z pomiarów [MacKay,1981]. Dla błon foto syntetycznych czas ten wyniósł 83.6 μs. [Harańczyk i in., 2015].

7.7.Obrazowanie SEM

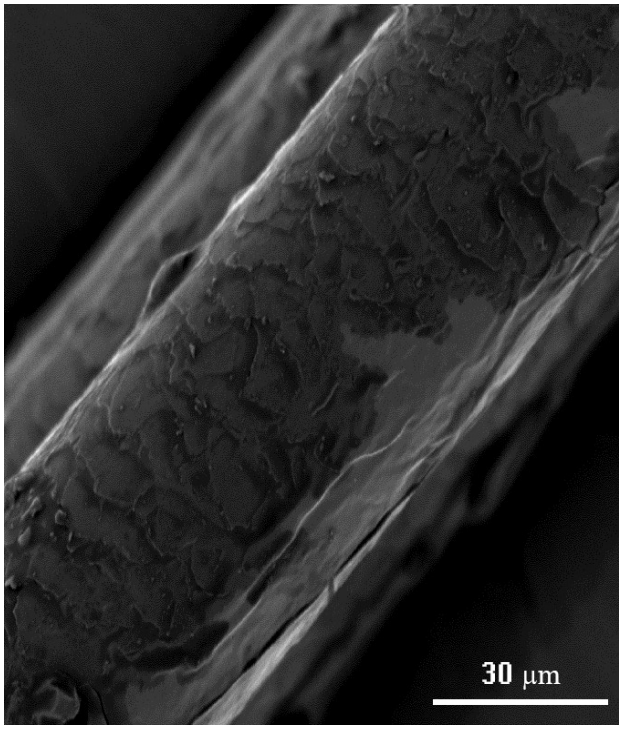
Dla włosów, na powierzchnię których zostały naniesione różne substancje, zostały wykonane zdjęcia przy użyciu mikroskopu SEM. Pozwoliło to na zaobserwowanie w jaki sposób badane substancję przyłączają się do powierzchni.

Włosy które zostały oczyszczone SLES są bardzo gładkie, a na ich powierzchni znajduje się niewiele zanieczyszczeń (Rysunek 53).



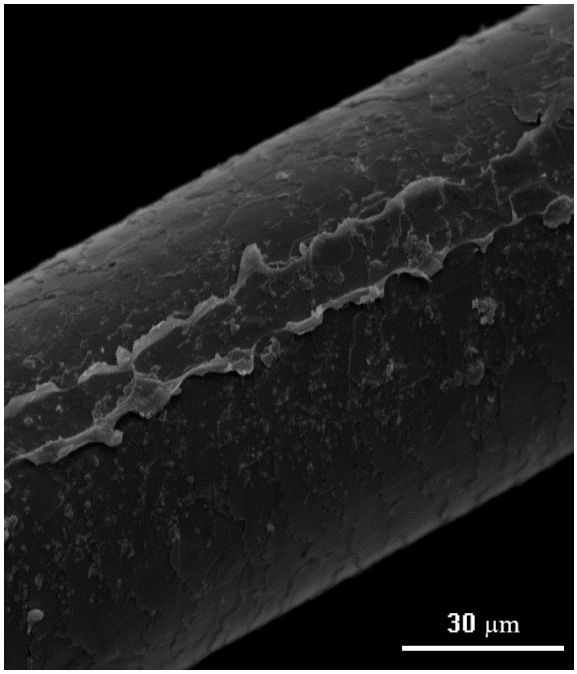
Rysunek 53. Zdjęcie powierzchni włosa oczyszczonego SLES

Na włosach pokrytych hydrolizowanym jedwabiem, widać jak jedwab tworzy cienki film, pokrywający włókno włosa z każdej strony (Rysunek 54).



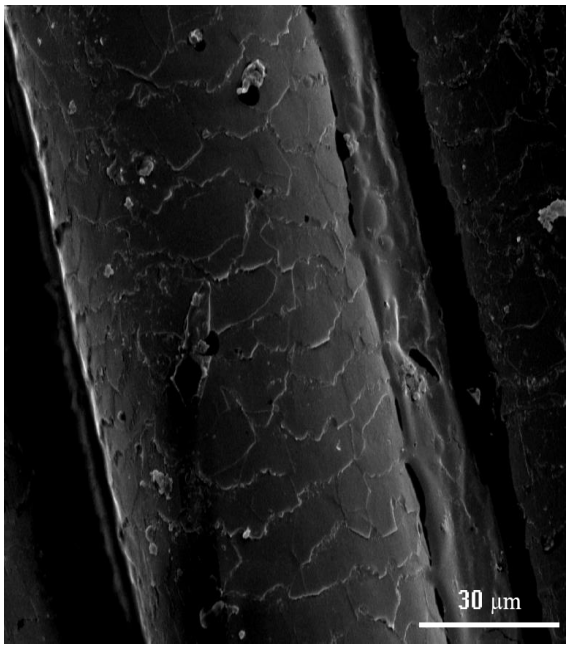
Rysunek 54. Zdjęcie powierzchni włosa pokrytego hydrolizowanym jedwabiem

Włókna kolagenu przyczepiają się do powierzchni włosów w postaci cienkich nitek (Rysunek 55). Na zdjęciu nie widać, tak jak w przypadku hydrolizowanego białka jedwabiu, aby kolagen tworzył film .



Rysunek 55. Zdjęcie powierzchni włosa z naniesionym kolagenem.

Na powierzchni włosów pokrytych inuliną, podobnie jak w przypadku włosów pokrytych jedwabiem tworzy się film (Rysunek 56).



Rysunek 56. Zdjęcie powierzchni włosa po pokryciu go inuliną

8.DYSKUSJA

Badania pozwoliły wyodrębnić różne rodzaje frakcji wody. Rozróżniając je ze względu na siłę wiązania została wyodrębniona frakcja wody najściślej związanej, A_0, frakcja wody ściśle związanej A_1 oraz frakcja wody luźno związanej, A_2. Na szczegółowe rozróżnienie frakcji wody, pozwoliły metody kinetyki hydratacji oraz izotermy sorpcyjnej. Natomiast badania NMR rozróżniają frakcje wody ze względu na mobilność molekuł, więc taki podział jest nieco inny.

W pomiarach kinetyki hydratacji amplituda sygnału od wody najściślej związanej A_0 jest większa dla włosów siwych (o mniejszej zawartości melaniny) niż dla włosów w kolorze ciemnym lub rudym. Możliwe, iż z wiekiem gdy następuje degradacja melanin, pojawiają się dodatkowe miejsca, do których przyłączyć się mogą molekuły wody. Dla niektórych układów biologicznych wartość A_0 ma zbliżone wartości jak dla badanych włosów. Na przykład amplituda wody najściślej związanej w kompleksach DNA/CTMA wynosi A_0=0,061±0,004 [Harańczyk i in., 2013], a dla grzyba antarktycznego *Umbilicaria aprina* wynosi A_0=0.054± 0.011 [Harańczyk i in., 2012] jest to poziom zbliżony, jak dla włosów siwych (A_0=0,068±0,006). W przypadku włosów rudych wartość A_0=0,03±0,001 była podobna jak dla wody hydratującej powierzchnie pokryw chrząszcza *Liparus glabrirostris* i wynosiła A_0=0,037±0,004 [Harańczyk i in., 2013] . Ogólnie oznacza to, iż dla włosów, powierzchnia dostępna dla molekuł wody ma wartość zbliżoną, jak dla innych dehydratowanych układów biologicznych.

Można pokusić się o ilościową ocenę liczby molekuł wody wiązanych na badanych powierzchniach. Otóż na jedną grupę aminową przypada 1.4 molekuły wody przy wilgotności względnej otoczenia wynoszącej 25% [Leeder, Watt, 1965]. Wiadomo też, iż w keratynie występuje 18 różnych aminokwasów, które ją budują [Wolfram, 2003] oraz, że masa molowa wszystkich grup aminowych budujących białko keratyny wynosi 260 g/mol. Bazując na tych danych wyliczyłam, że do jednego grama keratyny w podanej wilgotności może przyłączyć się $8 \cdot 10^{21}$ molekuł wody. Jest to wartość większa niż dla DNA, gdzie na jeden nukleotyd przypada 3.8 molekuły wody w wilgotności względnej 17.3% [Warman i in., 1996], a uśredniona masa molowa pary nukleotydów wynosi 660 g/mol. Analogicznie wyliczyłam, iż w jednym gramie DNA znajduje się $6{,}5 \cdot 10^{21}$ molekuł wody.

Ilość wody najściślej związanej A_0 jest niższa niż ilość wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące obserwowanej metodą izotermy sorpcyjnej. Można więc wnioskować, iż ilość tej wody, $\Delta M/m_0$, jest sumą wody najściślej związanej A_0 oraz części frakcji wody ściśle związanej A_1. Metoda izotermy sorpcyjnej nie jest w stanie rozróżnić tych dwóch frakcji identycznie, jak kinetyka hydratacji. Model izotermy sorpcyjnej uśrednia frakcje wody związanej, które są rozróżnialne w metodzie kinetyki hydratacji. Porównując ilość wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące $\Delta M/m_0$ we włosach różniących się zawartością melaniny z innymi suchymi układami biologicznymi, w keratynie wartość ta jest nieco niższa niż dla liofilizatów DNA ($\Delta M/m_0$ = 0.114) czy skrobi ziemniaczanej ($\Delta M/m_0$ = 0.086) [Witek i in., 2006]. Jest natomiast na podobnym poziomie jak w przypadku plechy *Cetraria aculeata* ($\Delta M/m_0$ = 0.0457±0.0032). Izoterma sorpcyjna, która opisuje zależność nasyceniowego poziomu uwodnienia włosów od wilgotności względnej, podobnie jak dla innych układów biologicznych, takich jak na przykład zlichenizowane grzyby [Haranczyk, 2003, i referencje tamże], ma postać sigmoidalną.

Znając parametr $\Delta M/m_0$ oraz wiedząc, iż na 100Å^2 przypada 10 molekuł wody, można wyliczyć powierzchnię dostępną dla cząsteczek wody przypadającą na jeden gram włosów. Dla włosów w kolorze ciemnym oraz rudym wartość ta wynosi 200 m^2/g, a dla włosów siwych 233 m^2/g. Są to duże wartości, jednakże nie odbiegają one znacząco w stosunku do innych badanych układów biologicznych. Są to wartości nieco wyższe niż dla plechy grzyba zlichanizowanego *Ramalina terebrata* – 131 m^2/g [Harańczyk, Pater i in., 2012] oraz nieco niższe niż dla ziaren komosy – 298 m^2/g [Tolaba i in., 2004].

O hydrofobowości powierzchni włosów mówi wiele parametr $1/b_1$. Parametr ten w przypadku każdego rodzaju badanych włosów jest mniejszy niż dla porostów (który dla różnych gatunków grzybów zlichenizowanych był na poziomie $1/b_1$ = 0.9%), a także znacznie mniejszy niż dla DNA spermy łososia ($1/b_1$ = 2.95%) [Haranczyk i in., 2010]. Oznacza to iż włosy wykazują się dość dużą hydrofilowością w stosunku do innych układów biologicznych.

Powyżej wilgotności p/p_0 = 44% proces hydratacji został opisany funkcją dwueksponencjalną. Oznacza to, że pojawia się frakzja wody luźno związanej A_2. Różne fazy uwodnienia wyodrębniano również dla innych układów biologicznych. Dwueksponencjalna kinetyka hydratacji została zaobserwowana w grzybach zlichenizowanych *Ramalina terebrata* [Harańczyk i in., 2012]. Występuje on w trudnych

warunkach klimatycznych, więc taki sposób hydratacji może chronić go przed negatywnymi czynnikami atmosferycznymi. Mechanizm ten może również chronić włosy przed uszkodzeniami podczas ekspozycji na ekstremalne warunki pogodowe. Dla liofilizatów błon fotosyntetycznych pszenicy [Harańczyk, i in., 2015], liofilizatów DGDG [Harańczyk i in., 2009] proces hydratacji został opisany funkcją jednoeksponencjalną. Sugerować to może, iż natura hydratacji ukazuje ogólniejszą prawidłowość tego procesu. Analiza wstępnych faz uwadniania liofilizatu DNA spermy łososia ujawniła proces jednoeksponencjalny dla atmosfery o niskiej wilgotności względnej, a mianowicie od 9% do 32%. Między 44% a 63%, był to proces dwueksponencjalny, a dla $p/p_0 \geq 76\%$ proces opisany funkcją trójeksponencjalną. Dla wilgotności względnej $p/p_0 = 100\%$, po 244 h zaobserwowano proces pęcznienia, polegający na tym, iż po owym czasie rozpoczął się nowy proces hydratacji opisany kolejną eksponentą [Harańczyk i in., 2010]. Jednakże zjawiska pęcznienia nie zaobserwowano w żadnej z badanych próbek włosów. Pojawienie się nowego procesu hydratacji w badanym DNA następowało na skutek rozluźnienia jego struktury. Brak występowania takiego zjawiska we włosach może sugerować, iż charakteryzują się one wysoką wytrzymałością struktury oraz odpornością na niekorzystne warunki atmosferyczne.

Masa wody najściślej związanej A_0 jest większa dla włosów oczyszczonych SLES niż dla włosów z naniesionymi substancjami egzogennymi. Może to oznaczać, że odmycie SLES zwiększyło powierzchnię dostępną dla molekuł wody. Odmycie SLES mogło spowodować usunięcie naturalnych lubrykantów, a przez to wzrosła hydrofilowość powierzchni włosa. Może też tak być, że molekuły SLES zostały przyłączone do powierzchni włosów i to one dają częściowy wkład do zmierzonej frakcji A_0, natomiast opuszczają powierzchnię włosa dopiero w temperaturach stosowanych przy wyznaczaniu suchej masy. Również ilość wody nasycającej pierwotne miejsca $\Delta M/m_0$ nie zmieniła się po oczyszczeniu włosów SLES w stosunku do włosów różniących się zawartością melaniny. Nie można zapomnieć, iż ta frakcja wody jest mieszaniną frakcji A_0 oraz A_1, wartość ta nie pokrywa się liczbowo z metodą kinetyki hydratacji.

Oczyszczenie włosów SLES nie wpłynęło natomiast na zwiększenie masy całkowitej wody zaabsorbowanej przez włosy w porównaniu do włosów różniących się zawartością melaniny. Moiże to wynikać z natury oddziaływań molekuł wody. Fakt ten

może wynikać z tego, iż cylindryczny kształt włosa może przyłączyć tylko określoną ilość molekuł wody.

Powierzchnia dostępna dla cząsteczek wody przypadającą na jeden gram włosów oczyszczonych SLES ma wartość zbliżoną zarówno dla włosów ciemnych jak i włosów rudych (200 m^2/g). Może to również wynikać z cylindrycznej geometrii włosa.

Najmniejszy udział wody bardzo ściśle związanej zaobserwowano we włosach z naniesionymi substancjami egzogennymi. Możliwe iż naniesienie substancji egzogennych takich jak hydrolizat białka jedwabiu, kolagen oraz inulina, blokuje miejsca, gdzie przyłączać mogą się molekuły wody ściśle związanej.

Całkowita ilość zaabsorbowanej wody ($A_0+A_1+A_2$) zmieniała się pod wpływem zastosowania badanych substancji egzogennych. Po zaaplikowaniu na powierzchnię włosów hydrolizatu białka jedwabiu lub inuliny, masa przyłączonej wody się podwoiła. Oznaczać to może iż badane substancje mają właściwości hydrofilowe. Możliwe jest, iż zastosowanie tych substancji powoduje powstanie kawern w których może znajdować się dodatkowa woda. Jednak mikrogramy elektronowe włosów z naniesionymi substancjami nie sygnalizują porowatości powierzchni. Postulowane kawerny mogą mieć jednak wielkość poniżej rozdzielczości zdjęcia (powiększenie włosów było 1000 krotne, a najmniejszy element który można zaobserwować jest rzędu 1μm). Inną hipotezą tłumaczącą wzrost masy zaabsorbowanej wody po aplikacji hydrolizatu białka jedwabiu lub inuliny jest możliwość, że substancje te zwiększają gęstość powierzchniową miejsc wiążących wodę. Zastosowanie badanych substancji przy produkcji kosmetyków może znacznie poprawić nawilżanie włosów.

Zaaplikowanie na powierzchnię włosów kolagenu nie spowodowało zwiększenia absorpcji całkowitej ilości wody. Poziom zaabsorbowanej wody był podobny jak w przypadku włosów o różnej zawartości melaniny. Pomimo, iż trójhelikalna budowa kolagenu mogłaby sugerować łatwość tworzenia wiązań wodorowych i przyłączania się do niej cząsteczek wody bardziej niż do struktury kartki-β, jaki tworzy hydrolizat białka jedwabiu. Jednak może być też tak, że następuje zmiana lokalnej struktury kolagenu, po aplikacji na powierzchnię włosów.

Zastosowanie substancji egzogennych spowodowało spadek ilość wody nasycającej pierwotne miejsca $\Delta M/m_0$ w stosunku do włosów różniących się zawartością melaniny.

Dla włosów z naniesionymi substancjami egzogennymi, powierzchnia dostępna dla cząsteczek wody przypadająca na jeden gram tkanki ma wartość znacznie niższą dla włosów oczyszczonych SLES oraz dla włosów różniących się zawartością melaniny. Dla włosów dotowanych hydrolizatem białka jedwabiu wynosi 87 m^2/g, dla włosów z kolagenem 80 m^2/g, a dla włosów dawkowanych inuliną 70 m^2/g. Jest to zgodne z wynikami z kinetyki hydratacji, gdzie wartość parametru A_0 jest znacznie niższa dla włosów z naniesionymi substancjami. Może to potwierdzać hipotezę o blokowaniu pierwotnych miejsc wiążących wodę przez zastosowane substancje.

Analiza widm ^{1}H-NMR w domenie częstotliwości umożliwiła obserwację sygnału pochodzącego od ciała stałego oraz uśredniony sygnał od jednej składowej wody związanej. W mierzonych widmach można sklasyfikować składową, która pochodzi od matrycy stałej włosów (keratyny) i jest obserwowana w postaci szerokiej linii. Można opisać ją za pomocą funkcji Gaussa $\Delta\nu_G \approx 45$ kHz, dla wszystkich próbek przebadanych włosów. Szerokość połówkowa linii Gaussa wskazuje, iż zakres pól lokalnych występujących we włosach sięga 1 mT. Obejmuje więc nieco szerszy zakres wartości pól lokalnych niż w innych tkankach dehydratowanych. Dla badanych włosów różniących się kolorem, zarejestrowano jedną składową cieczową, która jest dobrze opisywana za pomocą funkcji Lorentza.

Zależność całkowitego pola powierzchni pod pikiem lorentzowskim, który został wyrażony w jednostkach pola powierzchni pod pikiem gaussowskim został opisany funkcją liniową. Potwierdza to brak obecności frakcji stałej rozpuszczalnej we wodzie, jak miało to miejsce w badanych grzybach lichenizowanych, gdzie zależność taka opisana została funkcją wymierną.

Również dla pomiarów w domenie czasu, zależność hydratacyjna sumarycznego sygnału cieczowego, wyrażonego w jednostkach sygnału stałego, została dobrze opisana funkcją liniową. Badania relaksacyjne potwierdzają wyniki w domenie częstotliwości o braku substancji w matrycy stałej, które rozpuszczają się w wodzie, tak jak to miało miejsce w przypadku badań grzybów zlichenizowanych. Można wnioskować, iż brak takich substancji przyczynia się do polepszenia odporności włosów na czynniki środowiskowe.

Dla włosów sygnał ^{1}H-NMR od protonów wody związanej rośnie nieproporcjonalnie do ilości dodawanej wody. Gęstość protonowa dla cząsteczki wody wynosi 0,111, a dla włosów, które składają się z 18 różnych aminokwasów budujących keratynę [Wolfram, 2003] oraz lipidów i melanin, gęstość ta została obliczona na 0,074. Stosunek tych gęstości wynosi 1.5. Natomiast współczynnik kierunkowy zależności *L/S* w funkcji uwodnienia w domenie czasu dla włosów różniących się kolorem wynosił około 2, a w domenie częstotliwości około 5. Wzrost tego sygnału może wynikać z wpływu paramagnetyzmu elektronowego przypadkowo związanych lub endogennych jonów. Eksperymenty EPR pokazują, że keratyna zawiera mierzalne ilości paramagnetycznych zanieczyszczeń, które skracają czasy relaksacji protonów w takim stopniu, że sygnał w całości relaksuje w czasie krótszym od czasu martwego spektrometru (tak znacznie poszerzają linię od frakcji stałej protonów). Widma EPR ujawniają strukturę nadsubtelną, co może świadczyć o obecności jonów Mn^{2+} w keratynie. Liczba centrów paramagnetycznych w przeliczeniu na 1g próbki jest w temperaturze pokojowej podobna jak i w temperaturze w ciekłego azotu [Pielesz, 2006]. W skutek dodatkowego mechanizmu relaksacji w obecności paramagnetyzmu elektronowego, część sygnału stałego protonów nie jest obserwowana zarówno w domenie czasu, jak i w domenie częstotliwości. W procesie melanogenezy tworzą się centra paramagnetyczne wskutek hydroksylacji L–fenyloalaniny oraz L-tyrozyny; są one odpowiedzialne za specjalne właściwości paramagnetyczne melaniny [Plonka, 2009].

Szerokość połówkowa linii lorentzowskiej maleje wraz ze zwiększającym się poziomem uwodnienia włosów. Oznacza to, iż w uśrednionym sygnale cieczowym uwadnianej keratyny coraz większy udział mają protony od frakcji wody luźno związanej. Takie widmo, które składa się z szerokiej linii Gaussa oraz znacząco węższej linii Lorentza jest częstym obrazem dla próbek dehydratowanych układów biologicznych. Na przykład w plechach *Claudonia mitis*, *Himantormia lugubris* i *Usnea aurantiaco-atra* gaussowska linia miała szerokość 32 – 39 kHz, a lorentzowska linia miała szerokość połówkową rzędu 1.6 kHz [Haranczyk, 2003]. Z kolei plechy *Umbilicaria aprina* miały szerokość połówkową linii pochodzącej od protonów o ograniczonej mobilności 37 – 43 kHz, natomiast pochodząca od protonów mobilnych 1.8 – 3.0 kHz [Haranczyk i in., 2012b].

Pomiary ^{1}H-NMR w domenie czasu również pozwoliły wyodrębnić we włosach o różnej zawartości melaniny, dwóch frakcji wody, a mianowicie frakcję wody ściśle związanej oraz frakcję wody luźno związanej. Otrzymane czasy T_{2S}* mają zbliżone wartości, jak w innych badanych układach biologicznych np: w plechach grzybów zlichenizowanych, ziarnach zbóż, w łyku, w błonach syntetycznych, szkliwie zębów [Harańczyk i in., 2003], polimerach DNA [Harańczyk i in., 2010] czy w pokrywach chrząszczy [Harańczyk i in., 2012].

Stosując metodę CPMG zmierzono również czasy relaksacji poprzecznej T_2. Czas ten w stosunku do czasu T_2* był o rząd wielkości dłuższy. Znaczna różnica pomiędzy faktycznym czasem relaksacji poprzecznej, a efektywnym czasem (wyznaczonym z szerokości połówkowej linii), wynika z niejednorodności pola B_0 spektrometru.

Czas relaksacji spinowo-spinowej dla składowej mobilnych protonów włosów siwych jest bardzo podobny do wartości czasu T_2 dla cholesterolu (14,3 ± 0,9 ms w temperaturze 20-22°C) [Sharma, 2010]. Badane w tym eksperymencie włosy siwe nie były oczyszczane SLES, zatem obecne na powierzchni włosa lipidy (lubrykanty) mogły dawać taki sygnał. Najdłuższe wartości T_2 zarejestrowano dla włosów rudych, o dużej zawartości feomelaniny. Melanina, dla której czas T_2 wynosi (16,0 ± 1,2 ms w temp. 20-22^{0}C) [Sharma, 2010] może wpływać na zmierzony czas dla badanych włosów. Raczej wątpliwe, że ten sygnał pochodzi od glikolipidów, które w swoim składzie zawierać mogą sfingozynę [Gierczyk, Schroeder, 2011]. Czas T_2 dla glikolipidów wynosi (52.9 ± 2.5 ms w temperaturze 20-22°C) [Sharma, 2010]. Fitosfingozyna, która jest pochodną sfingozyny, stanowi teoretycznie największy udział w składzie integralnych lipidów we włosach [Lee, Woo-Soo, 2005]. Raczej można wykluczyć, że jest to też sygnał pochodzący od fosfolipidów. Zawiesina fosfolipidowych pęcherzyków, fosfatydylocholiny z żółtka jaja kurzego, zawieszona w standardowym roztworze soli fizjologicznej, pokazuje w temperaturze pokojowej wartość czasu T_2 zmienną w zależności od koncentracji. Dla zawartości lipidu równej 50mg/ml, T_2=148 ± 1 ms, natomiast dla 150mg/ml wynosi T_2=100 ± 1 ms [Kucharczyk i in., 1990].

Oczyszczenie włosów SLES spowodowało spadek wartości czasów relaksacji spinowo-spinowej T_2 dla próbki. Jednakże wartość T_2 jest zbyt długa, jak dla samej keratyny (gdzie wynosi T_2=2.2 ± 0,4 ms w temperaturze 20-22°C) [Sharma, 2010].

Możliwe jest, iż wpływ na sygnał ma woda, która jest nie usuwalna w procesie dehydratacji w temperaturze pokojowej.

Czasy T_2 zmierzone dla wszystkich rodzajów włosów są dłuższe niż dla układu biologicznego jakim są błony fotosyntetyczne dla których czas ten wyniósł 1.41 ± 0.16 ms [Harańczyk i in., 2015].

Szczegółowa analiza zmierzonych wyników ^{1}H-NMR dla różnych próbek włosów, wprawdzie pozwoliła na staranną analizę podukładów protonowych w badanym układzie, oraz jego zmian wywołanych odmyciem w SLES, jednakże efekt od substancji egzogennych (zarówno od inuliny, hydrolizatu białka jedwabiu, jak i od rozpuszczalnego kolagenu) zamanifestował się co najwyżej w zwiększeniu puli wody związanej, nie rozróżniając pomiędzy obiema substancjami.

9.WNIOSKI

1. Kinetyka hydratacji włosów różniących się kolorami oraz pokrytych różnymi substancjami pozwoliła wyodrębnić trzy różne frakcje wody związanej, różniące się stopniem wiązania do ich powierzchni, a mianowicie wodę bardzo ściśle związaną, wodę ściśle związaną, której udział stopniowo rósł wraz ze wzrostem wilgotności otoczenia, oraz frakcję wody luźno związanej, która pojawia się dla wilgotności względnej otoczenia $h > 0.44$.
2. Izoterma sorpcyjna dla włosów różniących się zawartością jak i rodzajem melaniny, a także dla włosów pokrytych substancjami egzogennymi, skutecznie opisywana jest za pomocą modelu Denta.
3. Podukład wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące obejmuje frakcję wody najściślej związanej oraz część frakcji wody ściśle związanej. Sugeruje to niejednorodność tej drugiej frakcji.
4. Udział nieobsadzonych pierwotnych miejsc wiążących pokazuje, że poziom hydrofobowości/hydrofilowości powierzchni włosa jest zbliżony do wielu innych układów biologicznych o bardzo niskiej hydratacji.
5. Pomiary czasów relaksacji ^{1}H-NMR pozwalają wyodrębnić sygnał pochodzący od protonów o znacznie ograniczonej mobilności (od tkanki włosa) oraz sygnały pochodzące od dwóch frakcji protonów mobilnych (od frakcji wody ściśle i wody luźno związanej, różniących się mobilnością).
6. W pomiarach widm ^{1}H-NMR dla badanych różnych próbek włosów nie udało się rozdzielić dwóch frakcji wody związanej w całym zakresie badanych uwodnień.
7. Zarówno mierzona relaksacją ^{1}H-NMR zależność hydratacyjna sumy frakcji cieczowych pochodzących od wody ściśle oraz luźno związanej do sygnału amplitudy od matrycy stałej włosów, jak i widma ^{1}H-NMR dla uśrednionej frakcji wody związanej, L/S, ma zależność liniową. Oznacza to, że dla hydratowanej tkanki keratynowej nie występuje zjawisko rozpuszczania frakcji stałej rozpuszczalnej, jak również nie stwierdza się zjawiska pęcznienia.

8. Pomiary relaksacyjne ^{1}H-NMR sygnalizują znaczną obecność substancji paramagnetycznych (endogennych lub egzogennych), które zmieniają lokalne pola i przyspieszają proces relaksacji.

9. Ponadto użycie metody CPMG wskazuje na obecność znacznej frakcji mobilnych protonów nieusuwalnych w procesie przewlekłej dehydratacji (prawdopodobnie pochodzących od molekuł lubrykanta).

10. LITERATURA

1. Agner T., Susceptibility of atopic dermatitis patients to irritant dermatitis caused by sodium lauryl sulphate*, Acta Dermato-venereologica.* **71** (4): 296–300, (1991)

2. Baias M., Demco D.E., Popescu C., et. al., Thermal denaturation of hydrated wool keratin by ^{1}H solid-state NMR *J., Phys. Chem*. B **113**, 2184-2192, (2009)

3. Bella J., Eaton M., Brodsky B., Berman HM., Crystal and molecular structure of a collagen-like peptide at 1.9 A resolution. *Science*, Oct 7;**266** (5182): 75-81, (1994)

4. Blume-Peytavi U., Whiting DA., and Trüeb M., eds., Hair growth and disorders. *Springer Science & Business Media*, (2008)

5. Bochenek A, Reicher M., *Anatomia człowieka* tom 5, Wyd.5, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa (2008)

6. Bruaner S., Emmett P.H., Teller E., Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Soc*iety, **60**, 309-319, (1938)

7. Brzezińska-Wcisło L., Lis A., Kamińska G., Wcisło-Dziadecka D., Fizjologia i patologia wzrostu i utraty włosów na głowie u człowieka, *Postępy Dermatologii i Alergologii XX*: 260-266, (2003)

8. Bhushan B., *Biophysics of Human Hair Structural, Nanomechanical, and Nano Tribological Studies*, (2010)

9. Britannica Concise Encyclopedia (2007)

10. Chen N., Bhushan B., Morphological, nanomechanical and cellular structural characterization of human hair and conditioner distribution using torsional resonance mode with an atomic force microscope, *Journal of microscopy* **220.2**: 96-112, (2005)

11. Chen S.H.,Teixeira J., Structure and dynamics of Low Temperature Water Studied by Scattering Techniques, *Advances in Chemical Physics*, **64**, 1-41, (1985)

12. Coulson C.A, The hydrogen bond – a review of the present position, *Research, London*, **10**, 149, (1957)

13. Dent R.W., A multilayer theory for gas sorption. Part I: Sorption of a single gas, *Textile Research Journal*, **47**, 145-152, (1977)

14. Derbyshire W.,van den Bosch M.,van Dusschoten D., MacNaughtan W., Farhat I.A., Hemming M.A., Mitchell J.R., Fitting of the beat pattern observed in NMR free induction decay signals of concentrated carbohydrate–water solutions, *Journal of Magnetic Resonance*, **168**, 278–283, (2004)

15. Di Lullo G. A., Sweeney S. M., Körkkö, J, et.all., Mapping the Ligand-binding Sites and Disease-associated Mutations on the Most Abundant Protein in the Human, Type I Collagen. *J. Biol. Chem.* **277** (6): 4223–4231 (2002)

16. Draelos Z.D., *Cosmetic Dermatology: Products and Procedure*s, (2010)

17. Elahi M. F., et al. Influence of Layer-by-Layer Polyelectrolyte Deposition and EDC/NHS Activated Heparin Immobilization onto Silk Fibroin Fabric. *Materials* 7.4 2956-2977, (2014)

18. Elias P.M., Cooper E.R., Korc A., et al., Avian epidermal differentiation II. Adaptive response of permeability barrier to water deprivation and replenishment, *Journal Investigative Dermatol*ogy, **76**, 297–301, (1981)

19. Feughelman M., *Mechanical Properties and Structure of Alpha-keratin Fibres: Wool, Human Hair and Related Fibres,* Sydney (1997)

20. Fukushima E., Roeder S.B.W., *Experimental pulse NMR*. Addison-Wesley Publishing Company Inc., Massachusetts, (1981)

21. Gaff D.F., Desiccation tolerant vascular plants of Southern Africa. *Oecologia* (*Berl.*), **31**, 95-109, (1977)

22. Gierczyk B., Schroeder G., *Fizykochemiczne podstawy życia, materiały do ćwiczeń,* Wydawnictwo UAM, Poznań (2011)

23. Górski J., Matejak M., Zarys historii pomiaru wilgotności powietrza, *Muzealnictwo,* **40**: 145-150, (1998)

24. Graham – Brown R., Bourke J., *Dermatologia. Podręcznik i atlas,* Łódź, 2009

25. Gray J., Hair care and hair care products, *Clinics in dermatology* 19.2: 227-236, (2001)

26. Harańczyk H., Nowak P., Bacior M., et al., Bound water freezing in Antarctic *U*mbilicaria aprina from Schirmacher Oasis, *Antarctic Science* **24**, 342-352, (2012)

27. Harańczyk H., Kobierski J., Nizioł J., et al., Mild hydration of didecyldimethylammonium chloride modified DNA by 1H-NMR and by sorption isotherm, *J. Appl. Phys*. **113**, 044702, (2013)

28. Harańczyk H., *On Water in Extremely Dry Biological Systems,* Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellonskiego, Kraków, (2003)

29. Harańczyk H., Czak J., Nowak P., Nizioł J., Initial phases of DNA rehydration by NMR and sorption isotherm, *Acta Physica Polonica A*,**117**, 257-262, (2010)

30. Harańczyk H., Florek M., Nowak P., Knutelski S., Water Bound in Elytra of the Weevil *Liparus glabrirostris* (Küster, 1849) by NMR and Sorption Isotherm (Coleoptera: Curculionidae), *Acta Physica Polonica A*,**121**, 491-496, (2012a)

31. Harańczyk H., Pater Ł., Nowak P., Bacior M., Olech M. A. Initial phases of Antarctic Ramalina terebrata Hook f. & Taylor thalli rehydration observed by proton relaxometry. *Acta Phys. Polon*, *121*, 478-482, (2012)

32. Harańczyk H., Węglarz W. P., Sojka S., The Investigation of Hydration Processes in Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) and Pine (*Pinus silvestris* L.) Bark and Bast Using Proton Magnetic Relaxation*, Holzforschung*, **53,** issue 3, 299–310, (1999)

33. Harańczyk H., Baran E., Nowak P., Florek-Wojciechowska M., Leja A., Zalitacz D., Strzałka K. Non-cooperative immobilization of residual water bound in lyophilized photosynthetic lamellae. *Cellular and Molecular Biology Letters*, ***20***(5), 717-735, (2015)

34. Hennel J.W., *Wstep do teorii magnetycznego rezonansu jadrowego*, Panstwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, (1966)

35. Ito S., Kazumasa W., Chemistry of mixed melanogenesis—pivotal roles of dopaquinone, *Photochemistry and photobiology* **84.3**, 582-592, (2008)

36. Johnson D.H., *Hair and Hair Care,* New York (1997)

37. Kamiński B., Czucha K., Głowniak K., Sawicka W., Szaniawska-Dekundy D. Izolacja inuliny z krajowych surowców roślinnych, *Farm. Pol*. **6**, 298–300, (1986)

38. Kilarski W., *Strukturalne podstawy biologii komórki,*Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa (2005)

39. Kopcewicz J., Lewak S., *Fizjologia roślin*, Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN, 42, (2002)

40. Kucharczyk W., Lenkinski R. E., Kucharczyk J., Henkelman R. M., The effect of phospholipid vesicles on the NMR relaxation of water: an explanation for the MR appearance of the neurohypophysis?. *American Journal of Neuroradiology*, ***11***(4), 693-700, (1990)

41. Latimer W.M., Rodebush W.H., Polarity and Ionization from the Standpoint of the Lewis Theory of Valence, *Journal of the American Chemical Soc*iety, **42**, 1419- 1433, (1920)

42. Lampe M.A., Burlingame A.L., Whitney J.A., et al.,Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations., *J Lipid Res* **24,**120–130, (1983)

43. Langumir I., The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of American Chemical Society,* **40**, 1361-1403, (1983)

44. Lee, Won-Soo, et al., Integral lipid in human hair follicle, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings,* **10** (3), Elsevier, (2005)

45. Leeder J. D., Watt I. C., The role of amino groups in water absorption by keratin., *The Journal of physical chemistry,* **69.10** 3280-3284, (1965)

46. Lehninger A. L., *Biochemia*, Panstwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, (1979)

47. Lenk R., *Fluctuations, diffusion and spin relaxation*, Elsevier, Amsterdam, (1986)

48. MacKay A. L., A Proton NMR moment study of the gel and liquid-crystalline phases of dipalmitoyl phosphatidylcholine, *Biophys. J.*, **35** , 301–313, (1981)

49. Magnusson B. Gilje *O.,* Allergic contact dermatitis from a dish-washing liquid containing lauryl ether sulphate, *Acta Dermato-venereologica,* **53**(2), 136–140, (1973)

50. Małek E., *Charakterystyka budowy i funkcji skóry oraz włosów*, Instytut Technologii Eksploatacji – Państwowy Instytut Badawczy, Radom, (2007)

51. Marie – Claude M., *Kosmetologia, farmakologia skory,* Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, (2007)

52. Martin R., Saller K., Fischer G., *Lehrbuch der Anthropologie.* Stuttgart, (1962)

53. Pielesz A., Studies of Wool Keratin by EPR Spectroscopy, *Journal of Applied Polymer Science*, **102**, 1459-1465, (2006)

54. Pintar M.M., Some considerations of the round table subject, *Magnetic Resonance Imaging*, **9**, 753-754, (1991)

55. Plonka P.M., Electron paramagnetic resonance as a unique tool for skin and hair research, *Experimental Dermatology*, **18**(5), 472–484, (2009)

56. Pytkowska K., Kifert K., Barska K., Pauwels A., *Leksykon surowcow kosmetycznych,* Wyd. 1, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Zawodowej Kosmetyki i Pielęgnacji Zdrowia WSZKiPZ, Warszawa (2010)

57. Randebrook R. J., Neue erkenntnisse über den morphologischen aufbau des menschlichen haares, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists,* **15**.12, 691-706, (1964)

58. Rao C.N.R., Theory of hydrogen bonding in water. In: *Water, a comprehensive treatise, vol. 1: The physics and physical chemistry of water*, Plenum Press, New York-London, 93-114, (1972)

59. Robbins Clarence R., *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, New York, (1994)

60. Robbins Clarence R., The physical properties and cosmetic behavior of hair, *Chemical and physical behavior of human hair,* Springer New York, 299-370, (1994)

61. Sawicki W., *Histologia*, Wyd. 5, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa (2009)

62. Shang G., Senak L., Moore D., Measuring changes in chemistry, composition, and molecular structure within hair fibers by infrared and Raman spectroscopic imaging, *Journal of Biomedical Optics*, **16**(5), 056009, (2011)

63. Sharma R., Skin age testing criteria: characterization of human skin structures by 500 MHz MRI multiple contrast and image processing, *Physics in medicine and biology*, **55** (14), 3959, (2010)

64. Sherman V.R., Vincent R., The materials science of collagen, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 52: 22–50, (2015)

65. Shoulders M.D., Raines RT., Collagen structure and stability, *Annu Rev Biochem*.,78:929-58, (2009)

66. Slawsonn H., Wilkins D., Rollins D., *The Incorporation of Drugs into Hair: Relationship of Hair Color and Melanin Concentration to Phencyclidine*, (1998)

67. Smith J. R., J. A. Swift., Lamellar subcomponents of the cuticular cell membrane complex of mammalian keratin fibres show friction and hardness contrast by AFM, *Journal of microscopy,* **206.**3: 182-193, (2002)

68. Stenn K. S., Paus R., Controls of Hair Follicle Cycling, *Physiological Reviews*, **81**(1), 449-494, (2001)

69. Stillinger F.H., Water revisited*, Science,* **209**, 451-457, (1980)

70. Suresh S.J., Naik V.M., Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data, *Journal of Chemical Physics*, **113**, 9727-9732, (2000)

71. Timur A., Pulsed nuclear magnetic resonance studies of porosity, movable fluid, and permeability of sandstones, *J. Pet. Technol*., **21**,775-786, (1969)

72. Tolaba M. P., Peltzer M., Enriquez N., Pollio M. L. Grain sorption equilibria of quinoa grains, *Journal of Food Engineering*, ***61***(3), 365-371, (2004)

73. Ueno K., Ishiguro Y., Yoshida M., Onodera S., Shiomi N., Cloning and functional characterization of a fructan 1-exohydrolase (1-FEH) in edible burdock (Arctium lappaL.), *Chemistry Central Journal*, ***5***(1), 16. (2011)

*74. Van Haute N., Dooms-Goossens A., Shampoo dermatitis due to cocobetaine and sodium lauryl ether sulphate, Contact Dermatitis, **9**(2): 169. (1983)*

75. Wang Z., Dillon J., Gaillard E. R., Antioxidant Properties of Melanin in Retinal Pigment Epithelial Cells, *Photochemistry and Photobiology*, **82**(2), 474–479, (2006)

76. Ward K., Galoppo N., Lin M. , *Modeling Hair Influenced by Water and Styling Products*, Proc. of Computer Animation and Social Agents, (2004)

77. Warman J. M., Matthijs P. de Haas, Rupprecht A., DNA: a molecular wire?, *Chemical physics letters,* 249.5-6, 319-322, (1996)

78. Warren R., *Haircoloring in Plain English,* New York (1999)

79. Warren S.G., Optical-constants of ice from the ultraviolet to the microwave, *Applied Optic,* **23**, 1206-1225, (1984)

80. Weast R.C., *Handbook of Chemistry and Physics*, 55-ed, CRC Press Inc., (1974-75)

81. Wei Y., Ofek E., Quan L., Shum H.Y., Modeling hair from multiple views, *ACM Transactions on Graphics (TOG),* **24**, 3. ACM, (2005)

82. Weller R., Hunter J., Savin J., Mark D., *Dermatologia kliniczna*, Wyd. 1, Wydawnictwo Czelej, Lublin (2011)

83. Wertz P.W., Downing D.T., Integral lipids of human hair, *Lipids,* **23** (9), 878-88, (1988)

84. Węglarz W.P., Haranczyk H., Two-dimensional analysis of the nuclear relaxation function in the time domain: the program CracSpin*, Journal of Physics D: Applied Physics*, **33,** 1909-1920, (2000)

85. Winter H., Langbein L., Krawczak M., Cooper D. N., Jave-Suarez L. F., Rogers M. A., Schweizer J., Human type I hair keratin pseudogene fhHaA has functional orthologs in the chimpanzee and gorilla: evidence for recent inactivation of the human gene after the Pan-Homo divergence, *Human genetics*, ***108***(1), 37-42, (2001)

86. Wolfram L. J., Human hair: a unique physicochemical composite. *Journal of the American Academy of Dermatology*, ***48***(6), 106-S114, (2003)

87. Yamazaki C.M., Kadoya Y, Hozumi K, Okano-Kosugi H., et al., A collagen-mimetic triple helical supramolecule that evokes integrin-dependent cell responses, Biomaterials, **31** (7), 1925-34, (2010)

88. http://www.proteina.pl/jedwab.php Materiały własne producenta zhydrolizatu białka jedwabiu, firmy „Proteina", którego preparat był wykorzystywany w badaniach Strona producenta dostarczającego substancję

89. http://www.proteina.pl/kolagen.php Karta charakterystyki substancji chemicznej firmy C.H. Erbslöh, kórego preparat inutec h25p był wykorzystywany w czasie badań

11.SPIS PUBLIKACJI AUTORA

1. Harańczyk H., Baran E., Nowak P., Florek-Wojciechowska M., Leja A., Zalitacz D., Strzałka K., Non-cooperative immobilization of residual water bound in lyophilized photosynthetic lamellae, *Cellular and Molecular Biology Letters*, **20,** p. 717-735, (2015)

2. Zalitacz D., Harańczyk H., Nowak P., Delong P., Mild hydration effect of bound-water dynamics in human hair monitored by ^{1}H-NMR, *Journal of Investigative Dermatology*, **133**, p. 1424, (2013)

3. Harańczyk H., Kobierski J., Nizioł J., Hebda E., Pielichowski J., Zalitacz D., Marzec M. and El-Ghayoury A., Mild hydration of didecyldimethylammonium chloride modified DNA by 1H-nuclear magnetic resonance and by sorption isotherm, *Journal of applied physics,* **113**, 044702, (2013)

4. Harańczyk H., Kobierski J., Zalitacz D., Nowak P., Romanowicz A., Marzec M., Nizioł J., Rehydration of CTMA Modified DNA Powders Observed by NMR, *Acta Physica Polonica A,* **121**, pp. 485-490, (2012)

12.SPIS RYSUNKÓW

Rysunek 1. Różne wiązania występujące wewnątrz struktury włosa. [Chen, Bhushan, 2005].....11
Rysunek 2. Budowa mieszka włosowego[Bochenek A. Reicher M.].....11
Rysunek 3. Cykl wzrostu włosa a) Anagen, b) Katagen, c) Telogen [Bochenek , Reicher, 2008].....13
Rysunek 4. Schemat budowy włosa przez przekrój poprzeczny [Robbins, 1994].....14
Rysunek 5. Przekrój warstwowy kutykuli [Smith, Swift, 2002]. 14
Rysunek 6. Schemat zewnętrznej warstwy włosów z przyłączonymi lipidami [Smith, Swift, 2002].....15
Rysunek 7. Schemat struktury włókna włosa [Robbins, 1994].....15
Rysunek 8. Schemat budowy melaniny a) eumelanina, b)feomelafeomelanina [Ito, Kazumasa, 2008].....17
Rysunek 9. Schemat budowy higrometru włosowego [Górski, Matejak, 1998].....19
Rysunek 10. Zależność dla wody współczynnika absorpcji promieniowania elektromagnetycznego od długości fali (od 10 nm do 0.6 mm). [Warren, 1984, Quickenden, Irvin, 1980, Buiteveld i in., 1994].....20
Rysunek 11. Struktura włókna α – keratyny, w odniesieniu do dwóch faz. Fazy C nieprzepuszczalnej dla wody oraz M, przepuszczalnej dla wody, w której faza C jest zanurzona. [Johnson,1997]. 22
Rysunek 12. Schemat budowy SLES, gdzie n może przyjmować wartości od 1 do 4. 23
Rysunek 13. Schemat budowy fibroiny, głównego budulca włókien jedwabiu [Elahi i in., 2014].....24
Rysunek 14. Schemat budowy a) pojedynczego włókna kolagenu b) tropokolagenu – trzech lewoskrętnych helis tworzących prawoskrętną helisę [Yamazaki i in., 2010].....28
Rysunek 15. Wzór strukturalny inuliny [Ueno i in, 2011].....30
Rysunek 16. Związek między sygnałem MRJ frakcji stałej w domenie czasu i domenie częstości, funkcja Gaussa funkca Gaussa. [Derbyshire i in., 2004].....43
Rysunek 17. Rozwijanie się magnetyzacji w wachlarz.....45

Rysunek 18. Symulacja, która porównuje modele Langmuira, BET i Denta izotermy sorpcyjnej. 51
Rysunek 19. Symulacja, która porównuje modele Langmuira, BET i Denta dla danych przedstawionych w formie parabolicznej. 53
Rysunek 20. Schemat blokowy regulatora spektrometru impulsowego HB56. 57
Rysunek 21. Schemat przedstawiający podział spektrometru na poszczególne jednostki oraz zewnętrzny przedwzmacniacz HPPR.....59
Rysunek 22. Wykresy kinetyki hydratacji dla włosów a) oczyszczonych SLES, b) pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, c) włosów pokrytych kolagenem, d) włosów pokrytych inuliną, prowadzonej z fazy gazowej dla różnych wilgotności względnych atmosfer.....68
Rysunek 23. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów o różnych kolorach.....70
Rysunek 24. Sigmoidalna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów o różnych kolorach.....71
Rysunek 25. Sigmoidalna forma izotermy sorpcyjnej Denta dla włosów odmywanych a) SLES, b) pokrytych hydrolizatem białka jedwabiu, c) kolagenem, d) inuliną.....74
Rysunek 26. Zależność hydratacyjna czasów relaksacji spinowo-spinowej dopasowana z sygnałów zaniku swobodnej precesji dla protonów we włosach o różnym kolorze.....77
Rysunek 27. Całkowity sygnał cieczowy wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji hydratacji 78
Rysunek 28. Widmo 1H NMR dla włosów w kolorze ciemnym uwodnione do poziomu Δm/m0=0.029. Linia czerwona-szerokość połówkowa sygnału opisanego funkcją Gaussa, linia niebieska-szerokość połówkowa sygnału opisanego funkcją Lorenza.....79
Rysunek 29. Widma 1H-NMR dla próbki włosów ciemnych zmierzone w funkcji poziomu hydratacji z fazy gazowej zarejestrowane w temperaturze pokojowej.....80
Rysunek 30. Szerokości połówkowe widma 1H NMR włosów, linii pochodzących od protonów mobilnych opisanych funkcją Lorenza ○ oraz od protonów mało mobilnych opisanych funkcją Gaussa ■, dla a) włosów ciemnych b) włosów rudych, c) włosów siwych 82

Rysunek 31. Hydratacyjna zależność amplitud składowych cieczowych sygnału NMR wyrażona w jednostkach amplitud ciała stałego włosów o różnej zawartości melaniny. Do punktów pomiarowych dopasowano funkcję liniową.....83
Rysunek 32. Położenia linii Gaussa (■) i Lorentza (○) dla a) włosów ciemnych, b) włosów rudych, c) włosów siwych.....84
Rysunek 33. Hydratacyjna zależność sygnału cieczowego NMR dla włosów oczyszczonych SLES.....86
Rysunek 34. Szerokości połówkowe obu linii składowych widma 1H-NMR włosów SLES 86
Rysunek 35. Położenia linii a) Gaussa (■) i b)Lorentza (○) dla włosów oczyszczonych SLES.....87
Rysunek 36. Hydratacyjna zależność sygnału cieczowego NMR dla włosów a) z hydrolizatem białka, b) z kolagenem, c) z inuliną.....89
Rysunek 37. Szerokosci połówkowe obu linii składowych widma 1H-NMR włosów a) z hydrolizatem białka jedwabiu
b) z kolagenem, c) z inulin.....90
Rysunek 38. Położenia linii Gaussa (■) i Lorentza (○) dla a) włosów z naniesionym hydrolizatem białka jedwabiu, b) włosów z kolagenem, c) włosów z inuliną.....91
Rysunek 39. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze ciemnym dla bardzo suchej próbki.....93
Rysunek 40. Wykres FID dla włosów ciemnych dla bardzo suchej próbki.....93
Rysunek 41. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze rudym dla bardzo suchej próbki.....93
Rysunek 42. Wykres FID dla włosów rudych dla bardzo suchej próbki.....94
Rysunek 43. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów w kolorze siwym dla bardzo suchej próbki.....94
Rysunek 44. Wykres FID dla włosów siwych dla bardzo suchej próbki.....94
Rysunek 45. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów oczyszczonych SLES dla bardzo suchej próbki.....95
Rysunek 46. Wykres FID dla włosów oczyszczonych SLES dla bardzo suchej próbki.....96
Rysunek 47. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów pokrytych jedwabiem dla bardzo suchej próbki.....96

Rysunek 48. Wykres FID dla włosów pokrytych jedwabiem dla bardzo suchej próbki.....96
Rysunek 49. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów z kolagenem dla bardzo suchej próbki.....97
Rysunek 50. Wykres FID dla włosów z kolagenem dla bardzo suchej próbki.....97
Rysunek 51. Zanik magnetyzacji poprzecznej składowej cieczowej dla włosów z inuliną dla bardzo suchej próbki.....97
Rysunek 52. Wykres FID dla włosów z inuliną dla bardzo suchej próbki.....98
Rysunek 53. Zdjęcie powierzchni włosa oczyszczonego SLES.....99
Rysunek 54. Zdjęcie powierzchni włosa pokrytego hydrolizowanym jedwabiem.....99
Rysunek 55. Zdjęcie powierzchni włosa z naniesionym kolagenem.....100
Rysunek 56. Zdjęcie powierzchni włosa po pokryciu go inuliną.....100

13. SPIS TABEL

Tabela 1. Charakterystyka różnych rodzajów włosów [Blume-Peytavi i in., 2008].....10
Tabela 2. Udział procentowy składników wchodzących w skład lipidów włosowych [Lee, Woo-Soo, 2005].....17
Tabela 3. Porównanie parametrów kinetyki hydratacji dla włosów o różnej zawartości melaniny.....64
Tabela 4. Zestawienie parametrów hydratacji włosów pokrytych różnymi substancjami...66
Tabela 5 Parametry izotermy sorpcyjnej dopasowanej według modelu Denta dla włosów o różnych kolorach.....71
Tabela 6. Parametry izotermy sorpcyjnej dopasowanej według modelu Denta dla włosów pokrytych różnymi substancjami.....72
Tabela 7 Parametry dopasowania dla całkowitego sygnału cieczowego wyrażonego w jednostkach ciała stałego
w funkcji hydratacji.....78
Tabela 8. Zestawienie parametrów dopasowania zależności hydratacyjnej AL/AG dla włosów o różnych kolorach.....82
Tabela 9. Zestawienie parametrów dopasowania zależności hydratacyjnej AL/AG dla włosów pokrytych różnymi substancjami.....88

Tabela 10. Zestawienie parametrów czasów T21 oraz T21* dla włosów o różnych kolorach 92
Tabela 11.Zestawienie parametrów czasów T21 oraz T21* dla włosów pokrytych różnymi substancjami.....95