

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 666**

51 Int. Cl.:  
**G01N 33/52** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08153569 .2**  
96 Fecha de presentación: **28.03.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1975613**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2008**

54 Título: **Kits y procedimiento para la evaluación del daño en el pelo**

30 Prioridad:  
**29.03.2007 US 908719 P**  
**17.04.2007 US 912188 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.11.2012**

73 Titular/es:  
**L'ORÉAL (100.0%)**  
**14, RUE ROYALE**  
**75008 PARIS, FR**

72 Inventor/es:  
**SHMUYLOVICH, GRÉGORY;**  
**KALINOSKI, HENRY T.;**  
**PICONE, ROBERT;**  
**ROSEN, JACOB y**  
**KRAVETZ, MICHAEL A.**

74 Agente/Representante:  
**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 391 666 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Kits y procedimientos para la evaluación del daño en el pelo.

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere de forma general a kits y procedimientos para el análisis o evaluación del pelo, especialmente para la determinación del alcance del daño en el pelo, que comprende la colocación del pelo en una solución que comprende por lo menos un ion metálico de forma que una cantidad del ion metálico se una al pelo, la extracción del pelo de la solución, la determinación de la cantidad de ion metálico unido al pelo, y la determinación del alcance del daño al pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo. Estos kits y procedimientos permiten un análisis rápido y cuantitativo del pelo, especialmente la determinación del daño en el pelo.

10 **Discusión de los antecedentes**

El daño en el pelo se caracteriza por un aspecto sin brillo, fibras quebradizas que tienden a romperse fácilmente y presentan una mayor porosidad. Además, las células cuticulares tienden a levantarse indicando un daño en el pelo con la presencia de puntas abiertas.

15 El daño está provocado por tres tipos de agresiones: mecánica, química y medioambiental. Un cepillado o peinado demasiado frecuente o excesivo provoca un daño del pelo, la apertura de puntas y el desprendimiento de las células de la cutícula. Los tratamientos químicos demasiado agresivos para la permanente, la tinción, el aclarado o los champús demasiado alcalinos provocan la hidrólisis de la proteína del pelo y la oxidación de las uniones de cistina. La agresión medioambiental o "erosión" del pelo debido a la exposición climática, la luz solar, los contaminantes del aire, el viento, el agua de mar y el agua clorada de las piscinas provoca la rotura foto oxidativa de las uniones de cistina, inicia las lesiones de los radicales libres a la matriz proteica y aumenta la porosidad de la cutícula.

20 Para comprender mejor hasta qué punto el pelo es dañado debido a estos factores o tratamientos, o para evaluar hasta qué punto se ha reparado el daño en el pelo mediante procedimientos de mejora, es preferible realizar mediciones objetivas de las propiedades del pelo. Estas mediciones han sido de tipo mecánico como, por ejemplo, la medición de la resistencia del pelo a la rotura, o han presentado una naturaleza química como, por ejemplo, la medición de la solubilidad del pelo en un medio seleccionado. Estas mediciones requieren a menudo una cantidad abundante de tiempo y/o una gran cantidad de pelo para que se realicen. Además, estas mediciones requieren instrumentos específicos que sólo se pueden encontrar en laboratorios especializados y, por consiguiente, no es posible realizarlas en el lugar, o cerca del lugar, en el que se realiza el tratamiento del pelo.

25 Otros han intentado medir el daño en el pelo utilizando la absorción de cobre por parte del pelo. En dichos intentos, el daño en el pelo se determinó de forma indirecta analizando la cantidad de metal que queda retenida en una solución de tratamiento después de que la solución se expusiera a una muestra de pelo. Mediante la medición de la cantidad de metal residual en la solución, se dedujo la cantidad de metal que había sido absorbida por el pelo. Esta cantidad de metal se creía que podía estar relacionada con el alcance del daño en el pelo. Lamentablemente, es probable que estas mediciones indirectas no presenten la exactitud y la precisión necesarias para diferenciar el alcance del deterioro en muestras de pelo estrechamente relacionadas. Es más, estas mediciones indirectas se pueden complicar debido a la contaminación: es decir, la contribución al contenido de metal de la solución por parte del metal que ya está presente en el pelo puede sesgar los resultados, especialmente cuando se utilizan metales que se presentan más habitualmente como el cobre. Finalmente, estas mediciones indirectas pueden no ser precisas debido a la pérdida de metales de ion en otros lugares como, por ejemplo, los recipientes utilizados en el proceso de tratamiento, sesgando de esta forma los resultados.

30 Por ejemplo, el trabajo anterior de Tripathi y Tomaszewicz (1981) describe la utilización de una solución de cobre para evaluar el daño en el pelo y la medición indirecta del residuo de la solución de cobre para determinar la cantidad de absorción de cobre. Esta medición indirecta se llevó a cabo utilizando un ensayo de titulación en un laboratorio. Un enfoque similar se describe en la patente US nº 4.665.741 de Kabacoff y Govil (1985) y de Kabacoff *et al* (1987) en la que se utiliza la absorción de cobre por parte del pelo y la medición indirecta de la solución de cobre resultante. En estos trabajos, la concentración de cobre se determina midiendo la intensidad del color de la solución resultante. La intensidad del color se compara con un color físico estándar (carta de colores, tubo de color o portaobjetos), lo que requiere por consiguiente una medición subjetiva. También se pueden realizar otras mediciones objetivas de la intensidad del color, como un filtro fotométrico o una evaluación de la impedancia. Sin embargo, estas mediciones no resultan en una determinación objetiva de la cantidad real de metal presente, sólo en la medición del color de la solución. La patente US nº 5.290.519 de Bar-Or *et al*, que se refiere a la detección de los estados isquémicos en un paciente, y la patente US nº 5.552.297 de Wong *et al*, que se refiere a la detección de plomo en una muestra, describen varias combinaciones de componentes para conseguir la detección del producto diana. Además, la prueba de plomo Merckoquant: Instrucciones para la utilización de láminas da a conocer un kit para la detección de plomo en aguas subterráneas/superficiales, aguas residuales, agua filtrada, suelos, y conductos de tuberías y depósitos de superficie, y que el kit contiene unas tiras reactivas, reactivo para plomo, un recipiente para el ensayo, y una titulación estándar para plomo para una concentración de  $Pb^{2+}$  de 1000 mg/l. Sin embargo, ninguno de estos procedimientos proporciona los medios para aumentar la precisión de la determinación del daño en el pelo.

Además, los procedimientos existentes para la evaluación del daño en el pelo, normalmente no son lo suficientemente sensibles como para proporcionar unos resultados fiables del deterioro del pelo como resultado de todo tipo de tratamientos capilares, especialmente teniendo en cuenta que las compañías de cosméticos han desarrollado unos productos capilares suaves que, al utilizarlos, ocasionan menos deterioro en el pelo que la generación anterior de productos.

Por consiguiente, existe la necesidad de contar en la técnica con procedimientos sensibles, directos y objetivos para la determinación del deterioro del pelo, procedimientos que sean fáciles de utilizar, que utilicen una cantidad pequeña de pelo, que requieran un corto periodo de tiempo, y/o que utilicen un equipo poco complicado que permita que los procedimientos se realicen en el lugar, o cerca del lugar, en el que se realiza el tratamiento capilar (como por ejemplo, un salón de belleza o una peluquería).

### Sumario de la invención

La presente invención se refiere a los procedimientos para determinar el deterioro del pelo, según la reivindicación 1.

La presente invención también se refiere a los kits para el análisis del pelo según la reivindicación 10.

Debe apreciarse que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada siguiente son proporcionadas únicamente a título de ejemplo explicativo y no limitativo de la invención.

### Breve descripción de algunas vistas de las figuras

La figura 1 es un ejemplo de una tabla que muestra la correlación del alcance del daño capilar con la cantidad de ion metálico unido al pelo.

La figura 2 representa los resultados de la sonda de níquel frente a los valores de solubilidad alcalina de la Tabla 1.

La figura 3 muestra los valores de captación de níquel (ppm) en pelos caucásicos canosos teñidos en la Tabla 2.

La figura 4 muestra los valores de captación de níquel en las muestras de pelos caucásicos castaños teñidos en la Tabla 3.

La figura 5 muestra los valores de captación de níquel en las muestras de pelos alisados y rizados teñidos en la Tabla 6.

### Descripción detallada de la invención

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "por lo menos uno" significa uno o más y por consiguiente incluye componentes individuales así como mezclas/combinaciones.

Las composiciones y los procedimientos de la presente invención pueden comprender, consistir en, o consistir esencialmente en los elementos esenciales y de las limitaciones de la invención que se describen en la presente memoria, así como los ingredientes adicionales u opcionales, los componentes, o las limitaciones descritas en la presente memoria o los ingredientes, los componentes o las limitaciones útiles que normalmente se encuentran en las composiciones analíticas o en los procedimientos.

#### Procedimientos para determinar el daño en el pelo

Según la presente invención, se proporcionan los procedimientos para determinar el daño al pelo. Estos procedimientos comprenden la colocación del pelo en una solución que comprende por lo menos un tipo de ion metálico de forma que una cantidad del ion metálico se une al pelo, la extracción del pelo de la solución, la determinación de la cantidad de ion metálico unido al pelo, y la determinación del alcance del daño al pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo.

Aunque la intención no sea vincularse a una teoría en especial, se cree que los iones metálicos se pueden unir al pelo, antes y después del deterioro del pelo, principalmente a través del intercambio/absorción del ion, y que la captación de metales catiónicos se puede realizar para que sea proporcional al daño en el pelo.

Por consiguiente, al determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo, se puede determinar el daño en el pelo de forma objetiva y cuantitativa.

Según la presente invención, el pelo que se analiza para comprobar el daño puede ser cualquier tipo de pelo. Por ejemplo, puede ser el pelo de una persona (hombre o mujer) o el pelo de un animal (por ejemplo, un caballo, un perro, un gato, etc.). El pelo puede ser pelo de cualquier parte de la persona o del animal como, por ejemplo, cejas, pestañas o cabeza. Preferentemente, el pelo que se va a analizar es el pelo de una persona.

Según la presente invención, el pelo que se va a analizar se coloca en una solución. Tal como se utiliza en la presente memoria, "solución" hace referencia a una composición líquida (no sólida).

Además, según la presente invención, la solución comprende por lo menos un tipo de ion metálico y por lo menos un solvente que es compatible, y que solubiliza, por lo menos un tipo de ion metálico. Los solventes preferidos comprenden de manera no limitativa agua, alcoholes como, por ejemplo, etanol, propanol, butanol, etc., cetonas como acetona, y sus mezclas.

- 5 Según las formas de realización preferidas, la solución es acuosa y presenta un pH dentro de un intervalo de aproximadamente 6,5 hasta aproximadamente 7,5, más preferentemente de aproximadamente 7,0. El pH deseado se puede conseguir añadiendo una agente de ajuste del pH a la solución en una cantidad suficiente como para aumentar o disminuir el pH hasta el nivel deseado. Los ajustadores del pH adecuados incluyen los agentes acidificantes conocidos como, por ejemplo, ácido clorhídrico o ácido sulfúrico y agentes alcalinizantes conocidos como, por ejemplo, amoniaco o carbonato/bicarbonato alcalino.

- 10 Según la presente invención, se pueden utilizar muchos tipos de iones metálicos. Por ejemplo, se pueden utilizar iones metálicos con carga +2 y con carga +3. Los tipos de iones metálicos adecuados comprenden de manera no limitativa oro, plata, platino, hierro, cobre, cinc, níquel, y sus mezclas. Preferentemente, los iones metálicos son con estado de carga +2 y/o son iones de metales de transición. Según unas formas de realización especialmente preferidas, el ion metálico es un ion que no está presente normalmente en la dieta, en el medio ambiente y/o que no está presente normalmente en productos de belleza o higiene disponibles comercialmente. En la presente memoria, se hace referencia a estos iones como "iones metálicos no contaminantes", debido a la falta de estos iones en la dieta, en el medio ambiente y/o en productos de belleza o higiene disponibles comercialmente, y no se podrá encontrar ninguna o muy poca contaminación provocada por estos iones cuando se utilicen en los procedimientos de la invención. Por ejemplo, los iones metálicos como el níquel o el manganeso, no se encuentran normalmente en productos y/o en el medio ambiente y, por consiguiente, constituirán unos iones metálicos no contaminantes aceptables. En contraste, los iones de cobre, calcio, magnesio, fósforo, sodio, potasio, hierro y cinc están más presentes en las dietas, en los productos de belleza y/o en el medio ambiente, lo que significa que puede existir un mayor riesgo de contaminación (y, por consiguiente, un mayor riesgo de que afecte los resultados de los procedimientos de la invención). Los iones metálicos no contaminantes preferidos comprenden de manera no limitativa níquel y manganeso y sus mezclas. Los iones metálicos especialmente preferidos son los de iones de níquel, especialmente los iones de níquel 2+.

- 15 Según la presente invención, la solución comprende por lo menos un tipo de ion metálico en una cantidad suficiente para permitir que una cantidad detectable de ion metálico se una al pelo añadido a la solución. Por consiguiente, la cantidad de ion metálico en la solución puede variar en base a la cantidad de pelo que se añade a la solución. En las formas de realización preferidas, la cantidad de por lo menos un ion metálico presente en la solución es del orden de cientos de partes por millón (ppm), por ejemplo, entre 100 y 1.000 ppm. Más preferentemente, el ion metálico está presente en una cantidad de entre 200 y 600 ppm, y más preferentemente todavía, una cantidad de entre 350 y 450 ppm. La cantidad de pelo que se añade a la solución es preferentemente inferior a un gramo de pelo, más preferentemente inferior a 0,5 gramos de pelo, y más preferentemente todavía entre 0,1-0,3 gramos de pelo.

- 20 Según la presente invención, el pelo permanece en la solución durante el tiempo suficiente para permitir que los iones metálicos se unan al pelo. Preferentemente, el pelo permanece en la solución durante por lo menos 15 minutos, más preferentemente durante por lo menos 30 minutos, y más preferentemente durante por lo menos 45 minutos. Mientras que el pelo está en la solución, la solución se puede agitar (por ejemplo removiendo), si se desea.

- 25 Según la presente invención, por lo menos un tipo de ion metálico se une al pelo a través de un mecanismo adecuado. Los mecanismos preferidos incluyen, pero no se limitan, intercambio de iones, absorción, adsorción, ligación y unión por enlace. El mecanismo de unión más preferido es el intercambio de iones /absorción.

- 30 Según la presente invención, después de que el pelo se haya colocado en la solución y de que el ion metálico se haya unido al pelo, el pelo se extrae de la solución. Para extraer el pelo de la solución se puede utilizar uno de los procedimientos de extracción adecuados como, por ejemplo, la extracción del pelo de la solución con fórceps, pinzas u otro instrumento similar, vertiendo la solución sobre un filtro de papel o un tamiz de modo que la solución pasa a través del filtro/tamiz pero el pelo no, etc.

- 35 Según las formas de realización preferidas, después de que el pelo se haya extraído de la solución, el pelo se enjuaga con una solución de lavado para extraer el exceso metálico o bien el que no se ha unido. Preferentemente, la solución de lavado es la misma o sustancialmente similar a la solución de la que se ha extraído el pelo excepto que la solución de lavado no contiene iones metálicos. Más preferentemente, el pelo se lava entre 3 y 5 veces, y más preferentemente 4 veces.

- 40 Después, según las formas de realización preferidas, después del lavado, se seca el pelo. Preferentemente, el pelo se calienta durante el secado. Según las formas de realización preferidas, el pelo se calienta a una temperatura desde aproximadamente 80°C a aproximadamente 140°C, más preferentemente aproximadamente 110°C, durante entre aproximadamente 10 a aproximadamente 20 horas, más preferentemente aproximadamente 16 horas. Por supuesto, debe apreciarse que la temperatura a la que se seca el pelo es inversamente proporcional a la cantidad de tiempo que se utiliza para secar el pelo: a mayor temperatura, menos tiempo se necesitará para el secado, y viceversa.

Según la presente invención, después de que el pelo se haya extraído de la solución, se determina la cantidad de ion metálico unido al pelo. Según las formas de realización preferidas, la determinación de la cantidad de ion metálico unido al pelo es un proceso de dos etapas. La primera etapa separa el ion metálico del pelo (o desengancha el ion metálico del pelo). La segunda etapa determina la cantidad de ion metálico que se ha liberado (o desenganchado) del pelo.

Según la invención, el ion metálico se separa del pelo tratando el pelo con un agente de digestión en una cantidad suficiente como para que el ion metálico se libere del pelo. Se puede utilizar uno de los agentes de digestión (es decir, un agente que degrada el material queratinoso como el pelo) según la presente invención siempre y cuando haga que sustancialmente todo el ion metálico se libere o se separe del pelo. Preferentemente, el agente de digestión se presenta en una solución que comprende, además del agente de digestión, por lo menos un solvente compatible con el fin de solubilizar la mezcla, especialmente los iones metálicos.

Los agentes de digestión aceptables comprenden de manera no limitativa ácidos, hidroxiaácidos, sales de hidroxiaácidos, agentes oxidantes, enzimas, y sus mezclas.

Los ácidos aceptables incluyen ácidos como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico. El ácido nítrico es el ácido especialmente preferido.

Los hidroxiaácidos aceptables incluyen los derivados de los hidroxiaácidos alfa o beta. Los derivados de los hidroxiaácidos preferidos comprenden de manera no limitativa derivados que contienen sulfuro como, por ejemplo, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, ácido tiocítrico, ácido tiomálico, ácido tiosalicílico, y sus mezclas. Los hidroxiaácidos alfa sulfúricos especialmente preferidos son el ácido tioglicólico y el ácido tioláctico.

Las sales de hidroxiaácidos aceptables incluyen compuestos que contienen un catión y un anión que corresponden a un derivado de un hidroxiaácido alfa o beta. Los aniones preferidos que corresponden a un derivado de hidroxiaácido preferidos comprenden de manera no limitativa los aniones correspondientes a derivados que contienen sulfuro como, por ejemplo, ácido tioglicólico, ácido tioláctico, ácido tiocítrico, ácido tiosalicílico y ácido tiomálico. Los cationes preferidos comprenden de manera no limitativa metales alcali (sodio, potasio, etc.), metales alcalinotérreos (calcio, magnesio, etc.) y amonio. Las sales especialmente preferidas de hidroxiaácidos alfa sulfuros incluyen ácido tioglicólico de sodio (tioglicolato de sodio), ácido tioglicólico de potasio (tioglicolato de potasio), ácido tioláctico de sodio (tiolactato de sodio, ácido tioláctico de potasio (tiolactato de potasio), ácido tioláctico de amonio (tiolactato de amonio), ácido tioglicólico de amonio (tioglicolato de amonio), ácido tioglicólico de etanolamina (tioglicolato de etanolamina), ácido tioláctico de etanolamina (tiolactato de etanolamina), ácido tioglicólico de isooctilo (tioglicolato de isooctilo), ácido tioláctico de isooctilo (tiolactato de isooctilo), ácido tioglicólico de magnesio (tioglicolato de magnesio), ácido tioláctico de magnesio (tiolactato de magnesio), ácido tioglicólico de estroncio (tioglicolato de estroncio), ácido tioláctico de estroncio (tiolactato de estroncio), y sus mezclas.

Los agentes de digestión aceptables comprenden de manera no limitativa agentes oxidantes como peróxidos y derivados halogenados, sales haloideas y haluros. Un agente de digestión especialmente preferido de tipo peróxido es peróxido de hidrógeno.

Otro agente digestivo aceptable son las enzimas. Las enzimas adecuadas comprenden de manera no limitativa las queratinasas. Las queratinasas son generalmente proteasas producidas por insectos o microorganismos. Por ejemplo, ejemplos adecuados de queratinasas incluyen las del género de dermatófitos *Microsporum* o *Trichophyton* así como bacterias del género *Bacillus* o *Streptomyces*.

Preferentemente, el agente de digestión se utiliza en una cantidad suficiente para hacer que sustancialmente todo el ion metálico se libere o se separe del pelo. Cuando el agente de digestión está en una solución, la cantidad de agente de digestión presente está comprendida entre aproximadamente un 1% a aproximadamente un 90% en peso del peso total de la solución, más preferentemente entre aproximadamente un 5% a aproximadamente un 70% del peso total de la solución, más preferentemente entre aproximadamente un 10% a aproximadamente un 50% del peso total de la solución, y más preferentemente entre aproximadamente un 20% a aproximadamente un 40% del peso total de la solución, que incluye todos los intervalos y subintervalos entre estos. Según la presente invención, el pelo al que el ion metálico se ha unido permanece en la solución durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que los iones metálicos se desenganchen del pelo. Un experto en la materia apreciará que la cantidad de agente de digestión presente dependerá de varios factores como la cantidad de pelo que se analiza, la fuerza (actividad enzimática o actividad reductora/oxidante) del agente de digestión, el tiempo que el agente de digestión está expuesto en el pelo que se analiza, etc. Preferentemente, el pelo permanece en la solución por lo menos 1 minuto, más preferentemente por lo menos 10 minutos, y más preferentemente por lo menos 30 minutos. Según las formas de realización preferidas, la digestión tiene lugar a una temperatura elevada (es decir, superior a la temperatura ambiente) como, por ejemplo, entre 30°C y 95°C mediante una unidad de calentamiento como un horno convencional, un microondas o un calefactor, aunque la digestión también puede tener lugar a temperatura ambiente o inferior a la temperatura ambiente, si se desea. Es importante que después de la digestión que extrae el ion metálico del pelo, el ion metálico permanezca en la solución para el análisis.

Según las formas de realización preferidas, una vez que el ion metálico se ha separado del pelo, se determina la

cantidad de ion metálico liberado del pelo. Preferentemente, la cantidad de ion metálico se determina mediante la reacción del ion metálico liberado con un tinte u otro agente químico para formar un complejo coloreado que presenta una intensidad y después determinar la intensidad del complejo coloreado. Preferentemente, los iones metálicos y los tintes se seleccionan de forma que los complejos coloreados formados están en una proporción directa con la cantidad de ion metálico presente en la muestra o solución. La intensidad del color de estos complejos puede ser una medición sensitiva, directa, objetiva de la cantidad de ion metálico presente en la muestra o solución.

Por consiguiente, según las formas de realización preferidas de la presente invención, después de que el pelo que se analiza se haya añadido a la solución que contiene el agente digestivo para liberar el ion metálico de la muestra de pelo, el ion metálico se hace reaccionar después con un tinte u otro agente químico para formar un complejo coloreado que presenta una intensidad. Preferentemente, el ion metálico reacciona con el tinte u otro agente químico en la solución por lo menos durante 15 segundos, más preferentemente durante por lo menos 30 segundos, y más preferentemente durante por lo menos 45 segundos. También preferentemente, la cantidad de tinte u otro agente químico presente excede la cantidad de ion metálico presente para facilitar una unión sustancialmente completa del ion metálico.

Los tintes u otros agentes químicos adecuados para su utilización en los procedimientos de la invención comprenden de manera no limitativa compuestos que presentan una unión específica para los iones metálicos unidos al pelo. Los ejemplos de estos tintes u otras relaciones agentes químicos/metálico comprenden de manera no limitativa azul calcein metilo, Murexida, Fast Sulphon Black, Rojo de Eriocromo B, calceína, calcón, Calmagita, Negro de Eriocromo T, azul-negro de Eriocromo B, azul de Eriocromo SE, azul de hidroxinaftol, azul de metiltimol, violeta de ftaleína, rojo de pirogalol, 3,3'-dimetilnaftidina, Cromazurol S, verde de naftol B, 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), naranja de xilenol y reactivo cincón. Un experto en la materia será capaz de seleccionar fácilmente los tintes adecuados u otros agentes químicos en base al ion metálico unido al pelo y los tintes u otros agentes químicos disponibles que se unen a estos iones. Los agentes preferidos son los agentes que se unen a los iones de níquel 2+ como, por ejemplo, pirocatecolsulfonaftaleína (violeta de pirocatecol), murexida (sal monoamónica de [(hexahidrotrioxo-pirimidil)-imino]-pirimidina triona), piridilazo-naftol (PAN), tiazolilazo-naftol (TAN), ciclohexanodionadioximina (Nioxima), furildioxima hidratada (furildioxima alfa), diglima (éter de dimetildietilenglicol), Oxina, fenantrolina y dimetilglioxima.

Según una forma de realización de la presente invención, el tinte u otro agente químico se presenta en una solución que contiene el agente de digestión en el momento en el que se le añade el pelo. Según otra forma de realización, el tinte u otro agente químico se añade a la solución después de que se haya añadido el pelo a la solución y de que el metal se haya separado de pelo (o en proceso de separación del pelo).

Según la presente invención, el ion metálico y el tinte o el agente químico se unen para formar un "complejo de tinte metálico". El tinte u otro agente químico cambia de color cuando el compuesto reacciona con el ion metálico en la solución.

Según las formas de realización preferidas, la intensidad del color del complejo de tinte metálico se mide directamente de la solución.

Según otra de las formas de realización preferidas, la cantidad de iones metálicos se determina mediante la reacción del ion metálico de la solución liberado con una tira reactiva que comprende un tinte u otro agente químico para formar el complejo de tinte metálico en la tira reactiva. Según esta forma de realización, estas tiras reactivas están disponibles comercialmente para una gama de metales y muestran unos límites de detección bajos (del orden de 10 a 200 ppm) para los metales seleccionados. Normalmente, estas tiras reactivas se utilizan para analizar agua, agua residual, baños de galvanizado y lubricantes refrigerantes. Los ejemplos específicos de estas tiras reactivas comprenden de manera no limitativa tiras reactivas comercializadas en conexión con el sistema Reflectoquant comercializado por EMSscience. Las tiras reactivas adecuadas incluyen también las tiras a base de nanopartículas de partículas de tinte como las que se describen en Yukiko *et al.*, Ang. Chemie Intl. Edition, vol. 45, 6, 913-916, 12/2005, cuyo contenido completo se incluye en la presente memoria como referencia.

La intensidad del color del complejo en la solución o en la tira reactiva se puede medir de cualquier forma adecuada. Por ejemplo, la intensidad se puede leer y determinar directamente a ojo o utilizando un reflectómetro. La intensidad del color es directamente proporcional a la cantidad de ion metálico en la solución o en la tira reactiva.

Según la presente invención, una vez que se ha determinado la cantidad de ion metálico unido al pelo, se determina el daño al pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo. Como el alcance del daño en el pelo es proporcional a la cantidad de ion metálico unido al pelo, el alcance del daño en el pelo se puede determinar en base a la cantidad de ion metálico unido al pelo. Esta determinación se puede facilitar con auxiliares de correlación como, por ejemplo, una carta de colores, instrucciones por escrito o gráficas, y/o información videográfica (incluyendo información basada en soporte CD o DVD) que reflejan las intensidades de color visibles en relación a varias concentraciones de iones metálicos, y, por consiguiente, hace posible obtener una correlación entre la concentración de ion metálico y el alcance del daño capilar.

Por ejemplo, la figura 1 es un ejemplo de una carta que se podría crear para su utilización como auxiliar de

correlación. Esta carta se podría crear analizando muestras de pelo en un estado o deterioro conocidos utilizando los procedimientos analíticos descritos en la presente memoria. El pelo con un estado/daño conocidos se puede obtener de varias fuentes y el alcance del deterioro se puede establecer a través de técnicas adecuadas como, por ejemplo, las que se dan a conocer a continuación en los ejemplos. El contenido de níquel de estas muestras de pelo conocidas, después del tratamiento según la presente invención, se determina utilizando una técnica adecuada, como espectroscopia por absorción atómica (AAS), espectrometría de emisión por plasma de acoplamiento inductivo (ICP), otros procedimientos espectroscópicos, procedimientos espectrofotométricos, mediciones colorimétricas o a través de la utilización de tiras reactivas selectivas de níquel adecuadas. La tabla de colores se puede preparar evaluando las soluciones obtenidas en la digestión del pelo tratado y de los resultados obtenidos mediante la utilización de las tiras reactivas o del complejo de tinte metálico adecuado. El estado del pelo de una calidad desconocida se puede determinar mediante una comparación con esta ayuda para la correlación.

#### Kits para el análisis o evaluación del pelo

Según la presente invención, también se proporcionan los kits para el análisis o evaluación del pelo. Según las formas de realización preferidas, estos kits contienen los elementos suficientes que permiten la puesta en práctica de los procedimientos para el análisis o evaluación del pelo indicados anteriormente. Por consiguiente, estos kits pueden contener elementos como, por ejemplo, pinzas, fórceps, papel de filtro, etc. para la extracción del pelo de la solución; todos los recipientes, frascos o viales necesarios para la preparación y el análisis del pelo; todos los ingredientes necesarios para realizar los procedimientos de la invención, como, por ejemplo, iones metálicos, agentes de digestión, solventes etc., preferentemente empaquetados separadamente y de forma individual; y/o materiales de lavado como toallitas desinfectantes.

Según esta forma de realización, se proporcionan los kits para el análisis de pelo según la reivindicación 10. La solución, el ion metálico y el agente de digestión en estos kits se han tratado anteriormente. Los medios para la determinación de la cantidad de ion metálico unido al pelo comprenden preferentemente un tinte u otro agente químico que se une al ion metálico, que se puede presentar tanto en forma de solución o como parte de una tira reactiva. Preferentemente, estos medios comprenden además un reflectómetro.

Los kits comprenden unos medios para determinar el alcance del deterioro del pelo sobre la base de la cantidad de iones metálicos unido al pelo. Estos medios comprenden preferentemente una carta de colores, instrucciones por escrito o gráficas, y/o información videográfica (incluyendo información en soporte CD o DVD) que reflejan las intensidades de color visibles en relación a varias concentraciones de ion metálico haciendo posible de esta forma la correlación entre la concentración de ion metálico y el alcance del daño capilar.

El embalaje y los dispositivos que lo acompañan para uno de los objetivos de la invención se pueden seleccionar y ser manufacturado por los expertos en la materia en base a su conocimiento general, y adaptadas según la naturaleza de las composiciones que deban embalarse.

Excepto que se indique lo contrario, se entiende que todas las cantidades que se refieren a ingredientes, condiciones de la reacción, y demás utilizados en las descripciones y en las reivindicaciones están modificadas en todas las ocasiones por el término "aproximadamente".

#### **Ejemplo 1 - Procedimiento de muestreo para determinar el alcance del deterioro del pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo**

El procedimiento consta de las etapas siguientes:

##### A. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ESTÁNDARES

1. Se preparan tres soluciones estándar de cloruro de níquel a 1,0 µg/ml, 3,0 µg/ml y 5,0 µg/ml, cada solución con un contenido de 12 ml de ácido nítrico y agua (cs.), en un frasco volumétrico de 100 ml.
2. Se prepara otra solución de cloruro de níquel a 400 µg/ml en una solución tamponada de Tris, pH 7,0.
3. Se preparan 100 ml de una solución patrón que contiene 12 ml de ácido nítrico y agua (cs), en un frasco volumétrico de 100 ml.

##### B. TRATAMIENTO DEL PELO CON LA SOLUCIÓN DE CLORURO DE NÍQUEL

1. Se pesan 0,20-0,50 g de pelo seco en un frasco Erlenmeyer.
2. Se llena el frasco hasta la marca de 50 ml con la solución de cloruro de níquel, se agita durante un minuto y después se deja en reposo durante 60 minutos a temperatura ambiente.
3. Después de 60 minutos, la solución se desecha. Se añaden 50 ml de solución tampón al frasco, se agita durante un minuto y se deja en reposo durante 20 minutos. La solución tampón se desecha. Se repite la operación tres veces.

4. Se añaden 50 ml de agua desionizada al frasco, se agita durante un minuto, se deja reposar durante 20 minutos, y el agua se desecha en el fregadero.
5. El frasco se coloca con aire en una estufa y se seca a una temperatura de 105-110°C durante la noche.
6. Las muestras se enfrían en un desecador a temperatura ambiente.

5 C. DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Se pesan 0,10-0,30 de una muestra de pelo en un recipiente para digestión en microondas.
2. Se añaden 6 ml de ácido nítrico en una campana extractora.
3. Se tapa el recipiente y se aprieta la rosca del ventilador.
4. Se cargan el(los) recipiente(s) en el rotor según un patrón simétrico.
- 10 5. Se pone en marcha el horno microondas utilizando las condiciones que permitan completar la disolución de la muestra de pelo.
6. Se dejan enfriar los recipientes a una temperatura de aproximadamente 30°C. Se transfiere el rotor a la campana. Se afloja lentamente la rosca del ventilador para dejar que los gases se escapen. Se quitan las tapas.

15 D. DILUCIÓN

1. Se transfiere la solución de cada recipiente para digestión en microondas a un frasco de 50 ml que contiene 10 ml de agua desionizada.
2. Se enjuagan el recipiente y la tapa con agua desionizada por lo menos tres veces y se transfieren los lavados al mismo frasco. Se deja que el frasco se enfríe a temperatura ambiente.
- 20 3. Se diluye a volumen con agua desionizada y se mezclan correctamente. Esta es la solución de muestra. Se hacen diluciones adicionales si las lecturas de absorción se encuentran fuera del intervalo de calibración. La última dilución debería dar como resultado una concentración de níquel de entre 1,0 µg/ml y 5,0 µg/ml.

E. ANÁLISIS DE LA MUESTRA MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

- 25 1. Se prepara el espectrómetro de absorción atómica (AA), Perkin-Elmer Analyst 100 con una llama de acetileno comprimido, según las recomendaciones del fabricante del instrumento y se ajusta hasta que la señal de absorbancia aumenta.
2. Se pone a cero el lector de absorbancia a cero utilizando la solución control.
3. Se mide la absorbancia de los estándares de níquel 1,0 µg/ml, 3,0 µg/ml y 5,0 µg/ml.
- 30 4. Se prepara una curva de calibración utilizando estos estándares. El coeficiente de correlación no debería ser inferior a 0,999.
5. Se aspira cada solución de muestra y se registra la concentración medida.

H. CÁLCULO

$$C_{Ni} = C_m \times \frac{V}{W} \times DF$$

en la que:

- 35  $W$  = peso de la muestra, g
- $DF$  = factor de dilución (si es necesario)
- $C_{Ni}$  = concentración de níquel en el pelo, µg/g (ppm)
- $C_m$  = concentración de níquel en la solución de muestra, µg/ml
- $V$  = volumen de la solución de muestra (50 ml)

40

**Ejemplo 2 - Análisis de diferentes tipos de pelo**

5 Se trataron muestras de diferentes tipos de pelo con 50 ml de una solución de cloruro de níquel (II) a una concentración de 400 µg/ml siguiendo las condiciones del Ejemplo 1, utilizando en todos los casos entre 0,1 y 0,3 g de pelo. Después, los pelos se lavaron con tres porciones de 50 ml de tampón y una porción de agua desionizada y se secaron según el procedimiento anterior. Todas las soluciones de muestra se prepararon por triplicado.

10 En algunos casos, las muestras se digirieron utilizando las condiciones descritas en el Ejemplo 1. En otros casos, se utilizó una digestión alternativa en recipientes de digestión abiertos. Las muestras se pesaron en tubos desechables de polipropileno; se añadieron 6 ml de ácido nítrico a los tubos. Los tubos se colocaron en un bloque de calentamiento MiniMod de SPI International y se calentaron a una temperatura de 90°C durante 30 minutos. Después de enfriarlos a temperatura ambiente, las muestras de transfirieron a un frasco volumétrico de 50 ml, se completó el volumen con agua desionizada y se analizaron mediante AAS como se describe en el Ejemplo 1.

15 Los diferentes tipos de pelos analizados consistían en pelo virgen castaño claro, pelo afroamericano y pelo con un 90% de canas sometido a varios tratamientos como tinción, permanente, blanqueamiento o relajación alcalina, y exposición a rayos UV. Estas muestras de pelos presentaban una longitud de 12 pulgadas y se determinó que las muestras de pelo virgen castaño claro (de DeMeo Brothers, New York) presentaban un valor de solubilidad alcalina (SA) de 5,8%.

20 Se evaluaron las cantidades de iones de níquel absorbidos por las muestras de pelo y se compararon con los valores conocidos de solubilidad alcalina para validar el procedimiento de la sonda de níquel. Los procedimientos de solubilidad alcalina son conocidos y se ilustran en la solicitud de patente US 2004/0219121 y las patentes US nº 6.022.836, nº 5.679.113 y nº 5.932.201, así como en Maillan, Business Briefing: Global Cosmetics Manufacturing 2004 (disponible en [www.bbriefings.com](http://www.bbriefings.com)).

**RESULTADOS****PELO DECOLORADO**

25 Se avaluaron una serie de nueve muestras de pelo caucásico decolorado con valores de solubilidad alcalina conocidos utilizando el procedimiento de la sonda de níquel. Los resultados de ambos procedimientos se muestran en la tabla 1. Un valor elevado de solubilidad alcalina es una indicación de un aumento de daño en el pelo. Se encuentra una correlación lineal destacable ( $r^2 > 0,94$ ) cuando los resultados se representan en una gráfica como se muestra en la figura 2. Esta comparación indica que el procedimiento de la sonda de níquel es eficaz a la hora de medir el alcance del daño en el pelo en pelos caucásicos decolorados.

30 TABLA 1. Solubilidad alcalina (%SA) y valores de la sonda de níquel en una serie de muestras de pelo caucásico decolorado.

ID de la muestra de pelo	%SA	Sonda Ni (ppm)
A	6	587
B	16	4494
C	26,7	6562
D	35,1	7107
E	6,1	1870
F	26,4	6881
G	33,8	7906
H	39,8	8067
I	52,7	10680

PELO TEÑIDO

5 Se estudiaron dos tipos distintos de pelo teñido utilizando el procedimiento de la sonda de níquel. Se preparó un grupo de las muestras de pelo utilizando pelo canoso en 90%, en los que se aplicaron a muestras separadas cuatro aplicaciones de cada uno de los once tintes distintos para el pelo.

La segunda serie de muestras de pelo teñido se preparó utilizando el pelo virgen castaño que se sometió a una de las cuatro aplicaciones de los distintos tintes para el pelo.

10 Los resultados de todas las mediciones también se proporcionan en las tablas 2 y 3, y se muestran gráficamente en la figura 3. Todas las muestras de pelo teñido se pueden distinguir fácilmente del pelo canoso no tratado en base a la cantidad de níquel encontrada, lo que confirma el procedimiento de la sonda de níquel para evaluar el estado del pelo después de un proceso de tinción.

TABLA 2. Solubilidad alcalina (%SA) y valores de la sonda de níquel en una serie de pelo caucásico un 90% canoso teñido.

ID de la muestra de pelo	SA%	Ni, ppm
(1) Sin tratamiento	-	1078
(2)	73,9	9942
(3)	73,1	9644
(4)	60,5	9740
(5)	59,6	9950
(6)	65,8	9939
(7)	59,6	6265
(8)	63,4	6989
(9)	37,5	3050
(10)	59,7	8634
(11)	62,6	8125
(12)	65,4	8639

15 El procedimiento de la sonda de níquel se puede utilizar para distinguir entre varias muestras de pelo teñido. Por ejemplo, la muestra preparada utilizando la muestra 9 presenta un nivel de níquel muy inferior a la captación de níquel de una de las otras muestra, lo que permite distinguirlo de entre las muestras preparadas a partir de uno de los productos que se evalúan en este experimento. El resultado de la sonda níquel también está concuerda con las mediciones de SA para esta muestra, que también indica un valor inferior al de las otras muestra estudiadas.

20 Por consiguiente, según las condiciones anteriores, existe una correlación general entre los resultados con la sonda de níquel y las mediciones con SA (los resultados más bajos de NPM coinciden con los resultados más bajos en SA, los resultados más elevados tienden a coincidir), mientras que no se ha encontrado un grado elevado de correlación con el pelo virgen decolorado. El coeficiente de correlación lineal ( $r^2$ ) para la captación de níquel frente a SA para las muestras de pelo canoso teñido es 0,6655. Algunas de las muestras con valores de SA superiores (60-65%) muestran valores más bajos de captación de níquel. El procedimiento de la sonda de níquel parece mostrar una mejor discriminación para ciertos tipos de muestras que el procedimiento SA. Además, los resultados de SA que se encontraron para estas muestras son más elevados que los encontrados para el estudio con pelo decolorado (valores máximos de 74% vs. 53% de SA).

30

TABLA 3. Valores de captación de níquel de pelo caucásico castaño teñido

ID de la muestra de pelo	Color	Aplicaciones	Ni, ppm
1 - Sin tratamiento	Sin tratamiento	Sin tratamiento	751
2	Azul/ceniza	1x	767
3	Neutro	1x	991
4	Rojo/cobre	1x	999
5	Neutro	1x	1148
6	Azul/ceniza	4x	832
7	Neutro	4x	1024
8	Rojo/cobre	4x	1210
9	Neutro	4x	1469

5 En todos los casos, las muestras teñidas mostraron una captación de níquel superior que el pelo sin tratamiento. Sólo el pelo que se trató con el tono más suave (muestra 2, Azul/ceniza) no fue significativamente diferente al pelo sin tratamiento. Esto se encontró tanto con una sola aplicación como con la muestra tratada cuatro veces. Sin embargo, las muestras que se trataron con Azul/ceniza fueron significativamente distintas a todas las otras muestras teñidas. De hecho, todos los tonos se podrían distinguir entre sí en base a la captación de níquel, excepto en las muestras con una sola aplicación de 7 (neutro) y 8 (Rojo/cobre).

10 Los resultados del siguiente color más oscuro, muestra 7, Neutro, mostraron un pequeño aumento de la captación de níquel cuando se compararon las muestras con una aplicación primera y con cuatro aplicaciones. Sin embargo, esta diferencia moderada se juzgó poco significativa. Con los tonos más oscuros, se encontró una diferencia significativa entre una y cuatro aplicaciones.

15 Este experimento respalda la utilización del procedimiento con sonda de níquel para evaluar el daño capilar como resultado de la tinción del pelo. Este procedimiento puede distinguir entre muestras tratadas con diferentes tonos de tinte para el pelo así como entre la cantidad de veces que se aplica el tinte. Los tonos más oscuros de tinte pueden conllevar un mayor alcance de daño capilar.

#### PELO CON LA PERMANENTE

20 Se trató el pelo virgen castaño con tres productos diferentes para permanente. Se utilizó un tratamiento en cada muestra de pelo. También se trató una muestra de pelo con un 90% de canas con un producto de permanente.

25 Se estudió el daño en el pelo provocado por el tratamiento de la permanente utilizando el procedimiento de la sonda de níquel y los resultados se muestran en la Tabla 4. Se encontraron diferencias significativas entre el pelo tratado y el pelo sin tratamiento. Además, también se encontró que las diferencias entre uno de los dos de la permanente eran significativas. El alcance de captación de níquel es coherente con el deterioro que se preveía causado por los productos de tratamiento. El producto para pelo "FINE/LIMP" se preveía que sería menos nocivo, y este resultado se observa en los resultados de la sonda de níquel.

Además, el pelo con un 90% de canas se trató con otro producto para permanente (DULCIA VITAL) y las muestras se evaluaron antes y después del tratamiento. De nuevo se descubrió una diferencia significativa entre el pelo tratado y el pelo sin tratamiento.

30 TABLA 4. Valores de captación de níquel para pelos sometidos a un tratamiento de permanente

Tecnología	Permanente	Ni, ppm
Sin tratamiento	Sin tratamiento de permanente	751
Tioglicolato amoniaco	"The Conditioned Curl" de Redken Fórmula normal	3259
Tioglicolato amoniaco	Vector Plus Extra Body Fórmula	2189

Tioglicolato monoglicerol (GMTG)	Creative Curl Fine/Limp Fórmula	1755
Sin tratamiento	Sin tratamiento (pelo 90% canoso)	1078
Tecnología Thio	Dulcia Vital: DV2 (en pelo 90% canoso)	1734

PELO AFROAMERICANO ALISADO Y TEÑIDO

5 Se utilizó pelo afroamericano de varios donantes en dos estudios separados. En el primer estudio, primero se alisó un lote de pelo afroamericano con MIZANI Medium/Normal Lye Relaxer y después se tiñó con tres productos diferentes de teñido, Tinte 1, Tinte 2, Tinte 3. Los tratamientos del pelo se realizaron dos veces por separado por el mismo miembro del equipo, dando como resultado las muestras señaladas como Grupo 1 y Grupo 2.

10 Las muestras se analizaron utilizando el procedimiento de la sonda de níquel y los resultados se muestran en la Tabla 5. En ambos grupos se aprecia claramente la diferencia entre el pelo sin tratamiento y el pelo alisado. También se aprecian las diferencias entre la captación de níquel en relación a los diferentes tintes. Todas las diferencias son significativas. El procedimiento de la sonda de níquel proporciona información que permite diferenciar el pelo tratado con los diferentes productos.

TABLA 5. Valores de captación de níquel en una muestra de pelo afroamericano después del alisado y tinción. Tratamientos separados de dos lotes de la misma muestra de pelo.

TRATAMIENTO	Níquel, ppm	
	Grupo 1	Grupo 2
Afroamericano sin tratamiento	463	311
Alisado	4039	2574
Alisado + Tinte 1	6959	4922
Alisado + Tinte 2	5577	4638
Alisado + Tinte 3	5959	4703

15 En este estudio se debe destacar la diferencia de los resultados entre el Grupo 1 y el Grupo 2. Aunque tratamientos similares dieron unos resultados distintos, los resultados muestran la misma tendencia en los pelos sin tratamiento frente a los pelos tratados y entre los diferentes tintes evaluados. Además, los datos muestran la misma tendencia; las mismas muestras muestran los valores más elevados y más bajos en cada grupo. Los valores intermedios son consistentes entre los datos por grupos. Sin embargo, existen diferencias en los valores absolutos entre las mismas muestras tratadas en los dos grupos separados lo cual se podría atribuir fácilmente a la variabilidad inherente de la muestra natural de pelo, la variabilidad en el tratamiento de las muestras de pelo y la variabilidad en la práctica del procedimiento con la sonda de níquel. Todos estos factores se deben tener en cuenta en cualquier estudio sobre el alcance del deterioro en el pelo.

20 En un experimento separado, se alisó y después de tiñó tres, seis o nueve veces con productos específicos de tinción otro lote distinto de muestras de pelo afroamericano. Este segundo estudio con pelo afroamericano se realizó, principalmente para constatar las diferencias en el daño después de un aumento del número de tratamientos de tinción. Las muestras de pelo de alisaron utilizando Motions Hair Super Formula para pelo seco/resistente y se lavó utilizando champú neutralizante Motions comercializado por Alberto-Culver. Los tintes que se utilizaron para teñir las muestras de pelo presentaban una fórmula que contenía un polímero y un aceite (Composición D), una fórmula con aceite pero sin polímero (Composición E), y una fórmula sin aceite y sin polímero (Composición E). Una muestra se sometió solamente al tratamiento de alisado.

El pelo con un 90% de canas también se sometió al tratamiento de alisado utilizando una aplicación de SOFTSHEEN/CARSON Dark and Lovely Regular.

35 Los resultados del procedimiento con la sonda de níquel se proporcionan en la Tabla 6 y se muestran gráficamente en la figura 4. Se consiguieron los datos de solubilidad alcalina para algunas muestras y también se proporcionan en la Tabla 6.

Se encontró que las muestras tratadas presentaban niveles significativamente más elevados de captación de níquel que los pelos no tratados. Las muestras que se tiñeron después del alisado también presentaban niveles de captación de níquel claramente distintos. Para la Composición F y la Composición E, el aumento del número de

tratamientos de tinción dio como resultado un aumento de la captación de níquel. Los resultados concuerdan con las mediciones de solubilidad alcalina de las mismas muestras en comparación con el pelo sin tratamiento.

TABLA 6. Valores de captación de níquel y algunos de solubilidad alcalina para los pelos afroamericanos alisados y teñidos.

Tipo de pelo y tratamiento	Ni, ppm	% de SA
Afroamericano sin tratamiento	215	6,5
Alisado	5380	-
Alisado + Composición D 3x	4384	21,7
Alisado + Composición D 6x	4070	-
Alisado + Composición D 9x	3717	-
Alisado + Composición E 3x	7007	16,1
Alisado + Composición E 6x	8200	-
Alisado + Composición E 9x	10203	-
Alisado + Composición F 3x	7213	16,2
Alisado + Composición F 6x	8663	-
Alisado + Composición F 9x	11180	-

5

Las muestras tratadas con la Composición D mostraron valores totales de captación de níquel más bajos que los otros tratamientos y valores progresivamente más bajos de captación de níquel a medida que se completaban más aplicaciones. Todas las diferencias en estas muestras son significativas. Puede ser que la composición de la Composición D presente algún efecto que mejora la calidad del pelo después del tratamiento. En cambio, los resultados de la captación de níquel no concuerdan con las mediciones de solubilidad alcalina de la muestra tratada tres veces con la Composición D. Esta muestra proporcionó el valor más elevado de solubilidad alcalina. El tratamiento con esta formulación puede bloquear o dificultar el acceso al pelo que de otra forma estarían disponibles para unirse al níquel.

10

#### PELO EXPUESTO A LUZ UV

Se sometió una muestra de pelo virgen castaño a una exposición a luz UV, para determinar si el procedimiento de la sonda de níquel se podía utilizar para evaluar el daño resultante. Se expusieron ambos lados de muestras de mechones de pelo durante 24 horas a una luz 250 W/m<sup>2</sup> en un aparato SunTest XLS+ de Atlas Material Testing Solutions, Inc. Esto es equivalente a 21,6 MJ/m<sup>2</sup>, comparable a una exposición moderada a la luz solar. Se encontró que la muestra expuesta a la luz contenía 879 ppm de níquel, en comparación con el nivel de 751 ppm encontrado en el pelo sin tratamiento. La diferencia es lo suficientemente grande como para considerarla significativa. Este resultado apoya la utilización del procedimiento de la sonda de níquel para estudiar el daño capilar debido a la exposición a la luz.

20

#### **Ejemplo 3**

Para este ejemplo se siguieron los procedimientos descritos en el ejemplo anterior. Se preparó una solución de 400 ppm en un tampón tris. Se empapó pelo virgen Demeo en una solución de níquel de 20 ml durante una hora. Se lavó 6 veces con un tampón pH 7 (20 minutos por enjuague). Después, el pelo se secó en una estufa a una temperatura de 105°C.

25

#### Resultados del pelo virgen - Mechero Bunsen

Se pesaron porciones de pelo, se transfirieron a un tubo de ensayo y se descompusieron en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 50% aplicando calor con un mechero Bunsen. La descomposición fue parcial. El resultado fue una suspensión fina. Se añadieron 5 gotas de NaOH 0,1N para transformar el pH de 4 a 5. Se consiguió un volumen final de 10 ml añadiendo agua DI. Se realizaron varias lecturas reflectoquant para cada muestra con diferentes tiras reactivas. La mayoría de muestras proporcionaron una lectura de medición de LO que indicaba que se detectaron <10 ppm de níquel. Sin embargo, una o dos muestras de pelo mostraron lecturas de 10 a 14 ppm.

30

#### Cálculos

35

La captación de níquel en el pelo se presentó como ppm. El cálculo para convertir la cantidad de captación de níquel se realiza de la siguiente forma: (lectura de las ppm de la tira reactiva) x (volumen: 10 ml)/peso del pelo. Por consiguiente, a una tira reactiva cuya lectura sea de 50 ppm de una muestra con un peso de 0,1 g le corresponderá la siguiente captación de níquel en el pelo:  $50 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}/0,1 \text{ g} = 5000 \text{ ppm}$  de níquel en el pelo.

5 Daño en el pelo - Mechero Bunsen

Se repitieron los procesos con pelo gravemente dañado solubilidad alcalina de 50,9%). Los resultados fueron los siguientes:

1. 0,1058 g -> 52,45,48 ppm. Esto corresponde a una media de 4.568 ppm.
2. 0,1038 g -> 71,76,82 ppm. Esto corresponde a 7.354 ppm.
- 10 3. 0,1240 g -> 11,107,98 ppm. Esto corresponde a 8.495 ppm.
4. 0,1010 g -> 77,74,75 ppm. Esto corresponde a 7.459 ppm.

Existía una dispersión en estos resultados y la muestra 1 parece presentar un valor extremo. Sin embargo, las diferencias en la captación de níquel entre el pelo virgen y el pelo gravemente dañado se detectaron fácilmente.

Resultados de pelo dañado - Baño de agua

- 15 En este ejemplo se repitieron los experimentos utilizando un baño de agua (durante diez minutos) en lugar del mechero Bunsen. La muestra de pelo se secó se transfirió a un tubo de ensayo, y se añadieron 5 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 50%. El tubo de ensayo con pelo y peróxido se calentó en agua hirviendo durante diez minutos. Se extrajo el tubo de ensayo y se añadieron 5 gotas de NaOH 0,5N para conseguir un pH ~ 5.

El volumen se llevó a 10 ml con agua DI y se midió el níquel con una tira reactiva/metro reflectancia.

- 20 También, las muestras de pelo se extrajeron de la solución de níquel a intervalos de 15 minutos, 30 minutos y 1 hora.

Además, el tiempo de aclarado se acortó a 2 minutos por lavado durante un total de 12 minutos. El pelo se colocó en un vial de vidrio, se añadieron 5 ml de tampón tris, se tapó y se invirtió varias veces. El tampón se decantó y se añadió un tampón nuevo. El proceso de lavado se repitió 6 veces.

25 Remojo durante 15 minutos

0,14 g -> E-2,60,58 ppm 5673 ppm

Remojo durante 30 minutos

0,0984 g -> 82,82 ppm 8435 ppm

Remojo durante 1 hora

- 30 0,0954 g -> E-2,85,86 ppm 8910 ppm

Los resultados del remojo durante 30 y 60 minutos fueron sustancialmente parecidos.

Resultados del daño en el pelo - Solución de aclarado con agua

Se pueden repetir los procedimientos anteriores utilizando una solución de aclarado con agua.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para determinar el alcance del daño al pelo que comprende:
  - (a) colocar el pelo en una solución que comprende por lo menos un tipo de ion metálico de forma que una cantidad del ion metálico se una al pelo;
  - 5 (b) extraer el pelo de la solución;
  - (c) determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo, en el que dicha determinación comprende el tratamiento del pelo con un agente de digestión en una cantidad suficiente para liberar el ion metálico del pelo y determinar la cantidad de ion metálico liberado del pelo; y
  - (d) determinar el alcance del daño al pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución comprende por lo menos un tipo de ion metálico en estado de carga +2.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución comprende iones de níquel en estado de carga +2.
4. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agente de digestión es un agente de reducción o un agente oxidante.
- 15 5. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el agente de digestión es una enzima.
6. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la cantidad de ion metálico liberado del pelo se determina mediante la reacción del ion metálico liberado con un tinte para formar un complejo coloreado que presenta una intensidad y la determinación la intensidad del complejo coloreado.
- 20 7. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la cantidad de ion metálico liberado del pelo se determina mediante la reacción del ion metálico liberado con una tira reactiva que comprende un agente aglutinante para el ion metálico liberado para formar un complejo ion metálico/agente aglutinante y la determinación de la cantidad de complejo de ion metálico/agente aglutinante en la tira reactiva.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, en el que la cantidad de complejo de ion metálico/agente aglutinante sobre la tira reactiva se determina utilizando un reflectómetro.
- 25 9. Procedimiento según la reivindicación 7, en el que la cantidad de complejo de ion metálico/agente aglutinante de la tira reactiva se determina visualmente.
10. Kit para el análisis del pelo que comprende:
  - (a) una solución que comprende por lo menos un tipo de ion metálico en estado de carga +2 seleccionado de entre oro, plata, platino, cobre, cinc, níquel, manganeso, y sus mezclas;
  - 30 (b) un agente de digestión en una cantidad suficiente para liberar el ion metálico del pelo después de que el ion metálico haya resultado unido al pelo cuando el pelo se coloca en la solución;
  - (c) unos medios para determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo; y
  - (d) unos medios para determinar el alcance del daño al pelo sobre la base de la cantidad de ion metálico unido al pelo, comprendiendo los medios por lo menos un auxiliar de correlación que refleja las intensidades de colores visibles en relación a diferentes concentraciones de los iones metálicos.
  - 35
11. Kit según la reivindicación 10, en el que el agente de digestión es un agente de reducción o un agente oxidante.
12. Kit según la reivindicación 10, en el que el agente de digestión es una enzima.
13. Kit según la reivindicación 10, en el que el agente de digestión se encuentra en una solución.
- 40 14. Kit según la reivindicación 10, en el que los medios para determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo comprenden un tinte que forma, con el ion metálico, un complejo coloreado que presenta una intensidad.
15. Kit según la reivindicación 10, en el que los medios para determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo comprenden una tira reactiva que comprende un agente aglutinante para el ion metálico.
16. Kit según la reivindicación 10, en el que los medios para determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo comprenden un reflectómetro.
- 45 17. Kit según la reivindicación 10, en el que el kit comprende además unas instrucciones para interpretar visualmente

los resultados que reflejan la cantidad de ion metálico unido al pelo utilizando dicho por lo menos un auxiliar de correlación.

5 18. Kit según la reivindicación 10, en el que el agente de digestión es un agente oxidante y los medios para determinar la cantidad de ion metálico unido al pelo comprenden un reflectómetro y una tira reactiva que comprende un agente aglutinante para el ion metálico.

19. Kit según la reivindicación 10, que comprende además por lo menos un tubo de ensayo.

FIGURA 1

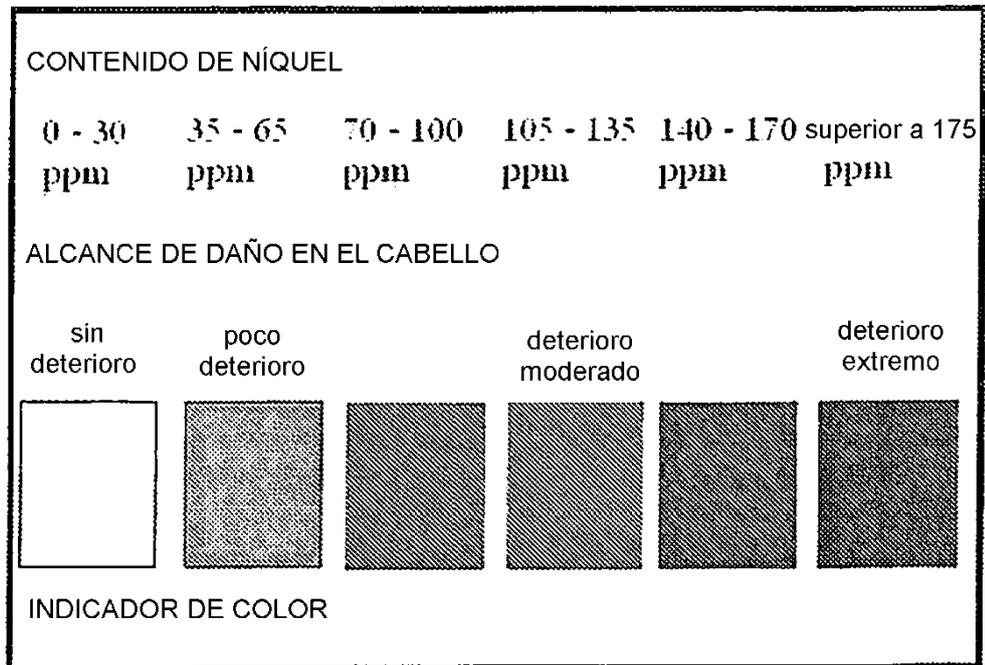


FIGURA 2

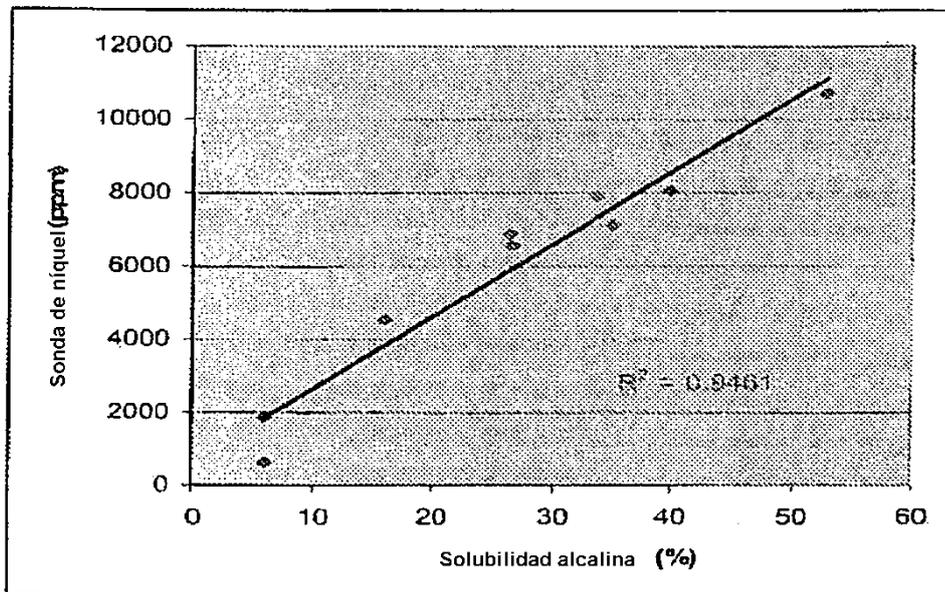


FIGURA 3

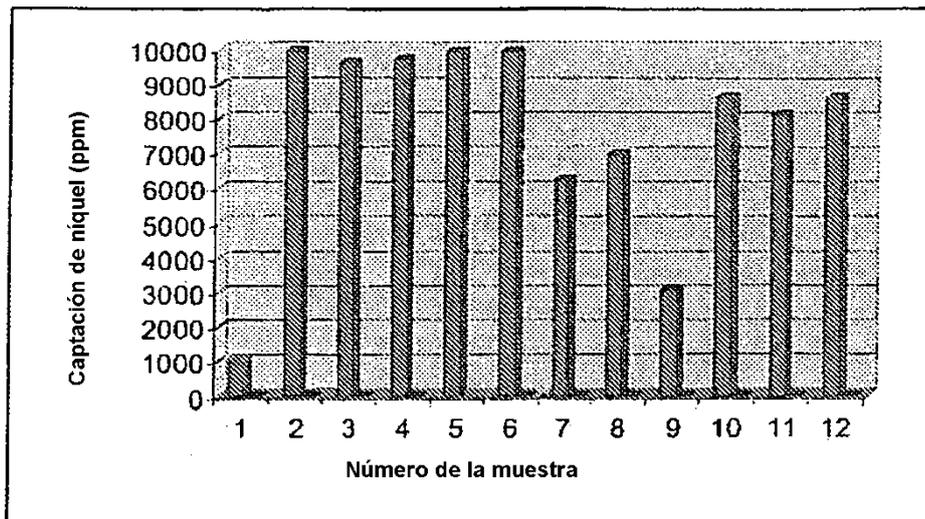


FIGURA 4

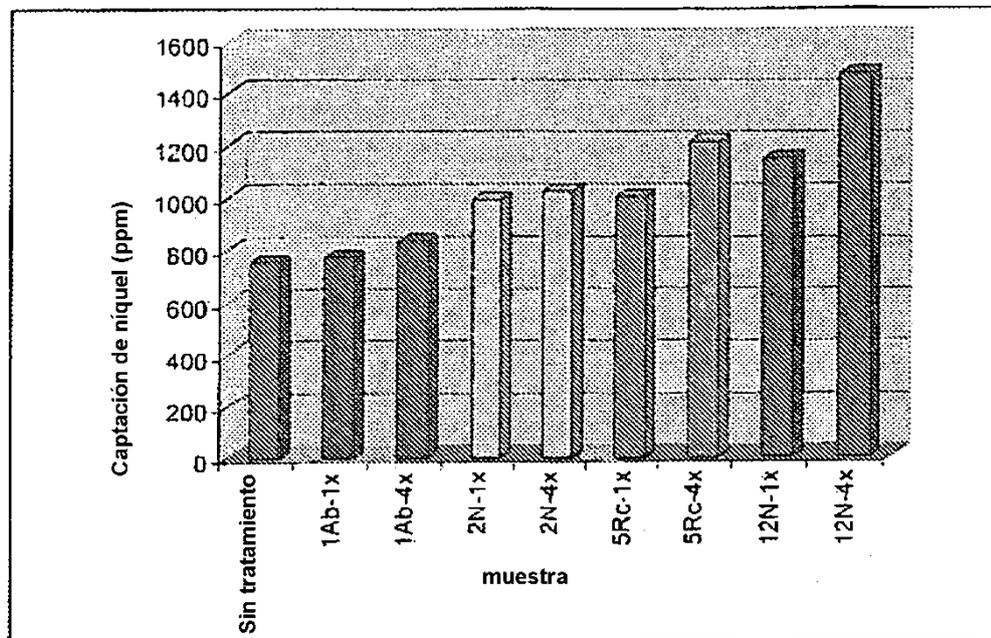


FIGURA 5

