

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 12/03/2022.



**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Instituto de Química  
Campus Araraquara - SP  
Programa de Pós-graduação em Química  
Departamento de Química Analítica**

**João Carlos de Souza**

**Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos e  
métodos cromatográficos para avaliação das  
reações de oxidação, mutagenicidade/toxicidade e  
determinação de *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol  
em águas residuárias mimetizando processos de  
tintura de cabelos**

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Valnice Boldrin Zanoni

**Araraquara - SP**

**2020**

**Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
Instituto de Química  
Campus Araraquara - SP  
Programa de Pós-graduação em Química  
Departamento de Química Analítica**

**João Carlos de Souza**

**Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos e  
métodos cromatográficos para avaliação das  
reações de oxidação, mutagenicidade/toxicidade e  
determinação de *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol  
em águas residuárias mimetizando processos de  
tintura de cabelos**

Tese apresentada ao Instituto de Química da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita  
Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do  
título de Doutor em Química.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Valnice Boldrin Zanoni

**Araraquara - SP**

**2020**

FICHA CATALOGRÁFICA

S719d Souza, João Carlos de  
Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos e métodos cromatográficos para avaliação das reações de oxidação, mutagenicidade/toxicidade e determinação de *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol em águas residuárias mimetizando processos de tintura de cabelos / João Carlos de Souza. – Araraquara : [s.n.], 2020  
237 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química  
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni

1. Corantes e tingimento. 2. Cabelo. 3. Queratinas.  
4. Oxidação. 5. Águas residuais. I. Título.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE:** "Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos e métodos cromatográficos para avaliação das reações de oxidação, mutagenicidade/toxicidade e determinação de *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol em águas residuárias mimetizando processos de tintura de cabelos"

**AUTOR: JOÃO CARLOS DE SOUZA**

**ORIENTADORA: MARIA VALNICE BOLDRIN**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> MARIA VALNICE BOLDRIN  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> MIRIAN CRISTINA DOS SANTOS  
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

  
Profa. Dra. IVANA CESARINO  
Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP - Botucatu

  
Prof. Dr. SEBASTIÃO DE PAULA EIRAS  
Departamento de Química Analítica / Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - UFU - Uberlândia

  
Prof. Dr. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUNOZ  
Departamento de Química Analítica / Centro de Ciências Exatas e Tecnologia - UFU - Uberlândia

Araraquara, 12 de março de 2020

Dedico esse pequeno trabalho de esforço pessoal e comprometimento de minha melhora intelectual e pessoal, a todos que proporcionaram, de forma direta e indiretamente, a execução deste trabalho.

## Dados curriculares

### 1. Dados pessoais

Nome: João Carlos de Souza

Nacionalidade: Brasileira

Nascimento: 23/10/1985 – Uberlândia – Minas Gerais - Brasil

Endereço profissional: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP

Instituto de Química de Araraquara - IQAr

Departamento de Química Analítica - DQA

Grupo de Eletroanalítica de Araraquara - GEAr

Rua Professor Francisco Degni, n° 55

Bairro Jardim Quitandinha - 14800-900

Araraquara - São Paulo - Brasil

Telefone: (16) 3301-9519

Endereço eletrônico: souza\_jc33@yahoo.com.br

### 2. Formação acadêmica / Titulação

#### 2.1. Graduação

Bacharelado em Química com Atribuições Tecnológicas

Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Uberlândia – Minas Gerais – Brasil

Período: Agosto 2004 - Dezembro 2009

Título: “Estudo da determinação de íons cobre(II) em cachaça com 1-(2-piridilazo)-2-naftol e empregando a mistura homogênea dos solventes água – etanol – metilisobutilcetona.”

Orientador: Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras

#### 2.2. Pós-graduação

Doutorado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP - Instituto de Química

Araraquara – São Paulo – Brasil

Período: Agosto 2015 – Março 2020

Título: “Desenvolvimento de sensores eletroanalíticos e métodos cromatográficos para avaliação das reações de oxidação, mutagenicidade/toxicidade e determinação de *p*-

toluenodiamina e *p*-aminofenol em águas residuárias mimetizando processos de tintura de cabelos.”

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Valnice Boldrin Zanoni

Estágio de Pesquisa no Exterior – Doutorado Sanduíche

Universidade de Coimbra – Faculdade de Ciências e Tecnologia – Departamento de Química  
Coimbra – Portugal

Período: Novembro 2018 – Setembro 2019

Título: “Estudo do comportamento eletroquímico da queratina e sua interação com *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol e seus produtos de oxidação mimetizando reações de tintura permanente de cabelo.”

Orientadora/Supervisora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Maria Coelho Ferreira de Oliveira Brett

Mestrado em Química Analítica

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP - Instituto de Química  
Araraquara – São Paulo – Brasil

Período: Agosto 2013 - Junho de 2015

Título: “Determinação íons cobre(II) em aguardente de cana-de-açúcar utilizando a combinação spot test - espectroscopia de reflectância difusa.”

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pezza

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Helena Redigolo Pezza

### **2.3. Formação complementar**

2017 - Técnicas analíticas em matrizes ambientais. (Carga horária: 8 horas).

Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Curitiba – PR – Brasil.

2016 - HPLC - GC - Preparação de amostra. (Carga horária: 8 horas).

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP. Araraquara – SP – Brasil

2016 - Análise de risco ambiental. (Carga horária: 3 horas).

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Florianópolis – SC – Brasil

2012 - Monitoramento do processo magistral. (Carga horária: 3 horas).

Instituto de Pesquisa Tecnológica e Controle de Qualidade - INTECQ. São José do Rio Preto – SP – Brasil.

2011 - Operação do HPLC isocrático JASCO PU 980. (Carga horária: 2 horas).

Instituto de Pesquisa Tecnológica e Controle de Qualidade - INTECQ. São José do Rio Preto – SP – Brasil.

2011 - Armazenamento de dados pelo sistema Baseline N2000. (Carga horária: 2 horas).

Instituto de Pesquisa Tecnológica e Controle de Qualidade - INTECQ. São José do Rio Preto – SP – Brasil.

2009 - Introdução à validação de métodos e ensaios químicos. (Carga horária: 21 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2008 - Química forense. (Carga horária: 3 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2008 – Quimiometria - análise multivariada de dados químicos. (Carga horária: 40 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2007 - Química analítica forense. (Carga horária: 6 horas).

Universidade Federal da Paraíba – UFPB. João Pessoa – PB – Brasil.

2007 - Agrotóxicos: Destinação final de embalagens vazias. (Carga horária: 6 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2007 - Produção de açúcar e álcool. (Carga horária: 20 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2006 - Biossegurança. (Carga horária: 6 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2006 - Cinética química. (Carga horária: 6 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

2005 - Composição química do café. (Carga horária: 6 horas).

Universidade Federal de Uberlândia - UFU. Uberlândia – MG – Brasil.

### 3. Artigos publicados

**SOUZA, J. C.;** MACHINI, W. B. S.; ZANONI, M. V. B.; BRETT, A. M. O. Human hair keratin direct electrochemistry and *in situ* interaction with *p*-toluenediamine and *p*-aminophenol hair dye precursors using a keratin electrochemical biosensor. **ChemElectroChem**, v. 7, p. 1277-1285, 2020.

**SOUZA, J. C.;** SILVA, B. F.; MORALES, D. A.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Assessment of *p*-aminophenol oxidation by simulating the process of hair dyeing and occurrence in hair salon wastewater and drinking water from treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 387, 122000, 2020.

**SOUZA, J. C.;** ZANONI, M. V. B.; BRETT, A. M. O. Genotoxic permanent hair dye precursors *p*-aminophenol and *p*-toluenediamine electrochemical oxidation mechanisms and evaluation in biological fluids. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 857, 113509, 2020.

**SOUZA, J. C.;** SILVA, B. F.; MORALES, D. A.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Assessment of the autoxidation mechanism of *p*-toluenediamine by air and hydrogen peroxide and determination of mutagenic environmental contaminant in beauty salon effluent. **Science of The Total Environment**, v. 685, p. 911-922, 2019.

**SOUZA, J. C.;** SILVA, J. L.; FABRÃO, R. M.; STRADIOTTO, N. R.; ZANONI, M. V. B. Electroactive sugars, organic acids and sugar alcohol analysis in wine using anon-exchange chromatography with electrochemical detection. **Microchemical Journal**, v. 1, n. 1, p. 972-978, 2019.

BESSEGATO, G. G.; **SOUZA, J. C.;** CARDOSO, J. C.; ZANONI, M. V. B. Assessment of several advanced oxidation processes applied in the treatment of environmental concern constituents from a real hair dye wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 2794-2802, 2018.

HUDARI, F. F.; **SOUZA, J. C.;** ZANONI, M. V. B. Adsorptive stripping voltammetry for simultaneous determination of hydrochlorothiazide and triamterene in hemodialysis samples using a multi-walled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 179, n. 1, p. 652-657, 2017.

MOREIRA, L. F. P. P.; BELUOMINI, M. A.; **SOUZA, J. C.**; STRADIOTTO, N. R. Study of the electrochemical behavior of biodiesel microemulsion. **Electroanalysis**, v. 29, n. 1, p. 1941-1949, 2017.

**SOUZA, J. C.**; TOCI, A. T.; BELUOMINI, M. A.; EIRAS, S. P. Determination of copper in sugarcane spirit by flame atomic absorption spectrometry using a ternary solvent mixture (water-ethanol-acetone). **Eclética Química Journal**, v. 42, n. 1, p. 33-39, 2017.

**SOUZA, J. C.**; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. A simple and green analytical method for determination of copper(II) in whisky and sugarcane spirit by diffuse reflectance spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 8, n. 1, p. 1867-1875, 2016.

**SOUZA, J. C.**; TOCI, A. T.; BELUOMINI, M. A.; EIRAS, S. P. Spectrophotometric determination of copper(II) in sugarcane spirit using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and a homogeneous ternary mixture of the solvents water, ethanol and methyl isobutyl ketone. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 3, p. 687-701, 2016.

#### **4. Capítulos de livros publicados**

SILVA, B. F.; **SOUZA, J. C.**; ZANONI, M. V. B. Cromatografia aplicada na análise de corantes. In: Maria Valnice Boldrin Zanoni; Hideko Yamanaka. (Orgs.). Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. 1ed. São Paulo: Editora Unesp, 2016, v. 1, cap. 11, p. 179-197.

#### **5. Resumos expandidos publicados em anais de congressos**

**SOUZA, J. C.**; ROSSINI, E. L.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Estudos de interferentes na determinação de íons cobre(II) em aguardente de cana-de-açúcar utilizando a combinação spot test - espectroscopia de reflectância difusa. In: 55º Congresso Brasileiro de Química, 2015, Goiânia - GO.

**SOUZA, J. C.**; TOCI, A. T.; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Otimização das variáveis para construção de um método analítico mais limpo na determinação de íons cobre(II) em aguardente de cana por spot test - reflectância difusa. In: 54º Congresso Brasileiro de Química, 2014, Natal - RN.

**SOUZA, J. C.;** BORGES, C. H. R.; LIMA, M. A. O.; EIRAS, S. P. Complexação de  $\text{Cu}^{2+}$  com PAN no sistema água - etanol - MIC para determinação do íon em cachaça. In: XLVIII Congresso Brasileiro de Química, 2008, Rio de Janeiro - RJ.

LIMA, M. A. O.; ALMEIDA, E. S.; **SOUZA, J. C.;** EIRAS, S. P. Estudo da complexação de íons  $\text{Co}^{2+}$  com 2-TTA em mistura homogênea de água - etanol - clorofórmio. In: XLVIII Congresso Brasileiro de Química, 2008, Rio de Janeiro - RJ.

BORGES, C. H. R.; ALMEIDA, E. S.; **SOUZA, J. C.;** IAMAMOTO, M. S.; EIRAS, S. P. Influência da massa de sílica funcionalizada com PAR e das vazões de percolação da amostra e do eluente na extração sólido - líquido de  $\text{Mn}^{2+}$ . In: XLVIII Congresso Brasileiro de Química, 2008, Rio de Janeiro - RJ.

### **3. Resumos publicados em anais de congressos**

**SOUZA, J. C.;** ZANONI, M. V. B.; BRETT, A. M. O. Electrochemical oxidation mechanism of the hair dye reagent *p*-aminophenol at a glassy carbon electrode. In: 47th IUPAC World Chemistry Congress, 2019, Paris – França.

**SOUZA, J. C.;** ZANONI, M. V. B.; BRETT, A. M. O. Electrochemical oxidation mechanism of the hair dye reagent *p*-toluenediamine at a glassy carbon electrode. In: XXV International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 2019, Limerick – Irlanda.

**SOUZA, J. C.;** SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B. Detection of *p*-aminophenol and sub-products formed during oxidative process in water and hair salon effluent. In: 41<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2018, Foz do Iguaçu - PR.

**SOUZA, J. C.;** SILVA, J. L.; FABRAO, R. M.; STRADIOTTO, N. R.; ZANONI, M. V. B. Determinação cromatográfica de açúcares, ácidos orgânicos e álcool de açúcares em vinho usando detecção eletroquímica. In: 19<sup>a</sup> Encontro Nacional de Química Analítica - 7<sup>o</sup> Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2018, Caldas Novas - GO.

**SOUZA, J. C.;** HUDARI, F. F.; ZANONI, M. V. B. Determinação de hidroclorotiazida e triantereno em água de hemodiálise por CLAE-DAD. In: 19<sup>a</sup> Encontro Nacional de Química Analítica - 7<sup>o</sup> Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2018, Caldas Novas - GO.

SILVA, B. F.; **SOUZA, J. C.**; ZANONI, M. V. B. Detection of harmful products formed during the reaction between *p*-toluenediamine and *p*-aminophenol, a common reagents used in permanent hair dyeing. In: 7th Conference on Mass Spectrometry, 2018, Rio de Janeiro - RJ.

MOREIRA, L. F. P. P.; BELUOMINI, M. A.; **SOUZA, J. C.**; STRADIOTTO, N. R. Estudo do comportamento eletroquímico do par redox  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  em microemulsões de biodiesel. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2017, Natal - RN.

**SOUZA, J. C.**; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B. Detection of harmful subproducts formed during the oxidative process of *p*-toluenediamine, the common reagent used in permanent hair dyeing. In: 46° World Chemistry Congress, 2017, São Paulo - SP.

**SOUZA, J. C.**; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B. Avaliação de *p*-toluenodiamina e *p*-aminofenol por CLAE-DAD em água e efluente oriundo de tintura de cabelo. In: VIII Encontro Nacional de Química Ambiental, 2017, Curitiba - PR.

**SOUZA, J. C.**; BESSEGATO, G. G.; ZANONI, M. V. B. Determinação de *p*-fenilenodiamina e resorcinol por CLAE-DAD em efluentes oriundos da tintura de cabelo. In: 18° Encontro Nacional de Química Analítica, 2016, Florianópolis - SC.

**SOUZA, J. C.**; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Metodologia analítica ambientalmente mais amigável para determinação de cobre em uísque. In: 67ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira Progresso da Ciência, 2015, São Carlos - SP.

**SOUZA, J. C.**; PEZZA, H. R.; PEZZA, L. Development of an environmentally more benign reflectometric method for determination of copper(II) ions in sugarcane spirit. In: 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2015, Águas de Lindóia - SP.

PEZZA, H. R.; TOCI, A. T.; COLETTA, A.; BORALLE, N.; **SOUZA, J. C.**; PEZZA, L. Autenticidade e rastreabilidade de cafés torrados brasileiro por  $^1\text{H}$ -RMN. In: 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Natal - RN.

REZENDE, H. P.; **SOUZA, J. C.**; PAIVA, V. A. B.; ALMEIDA, E. S.; EIRAS, S. P.; CRUZ, W. O. Simplex modificado para otimizar variáveis na formação do cis-diol de boro com curcumina na mistura de água – etanol – clorofórmio. In: XV Encontro Nacional de Química Analítica e III Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA.

**SOUZA, J. C.**; ALMEIDA, E. S.; REZENDE, H. P.; PAIVA, V. A. B.; EIRAS, S. P. Determinação espectrofotométrica de cobre em cachaça empregando PAN e mistura homogênea dos solventes água – etanol – MIC. In: XV Encontro Nacional de Química Analítica e III Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA.

OLIVEIRA, D. R.; **SOUZA, J. C.**; ALMEIDA, E. S.; IAMAMOTO, M. S.; EIRAS, S. P. Estudo da pré-concentração de soluções de íons  $\text{Cu}^{2+}$  no sistema de extração sólido - líquido e sílica funcionalizada com PAN. In: XV Encontro Nacional de Química Analítica e III Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA.

PAIVA, V. A. B.; ALMEIDA, E. S.; **SOUZA, J. C.**; REZENDE, H. P.; EIRAS, S. P. Determinação de matéria orgânica no solo: uma avaliação do impacto ambiental. In: XV Encontro Nacional de Química Analítica e III Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA.

LIMA, M. A. O.; **SOUZA, J. C.**; ALMEIDA, E. S.; OLIVEIRA, D. R.; EIRAS, S. P. Avaliação da influência da composição da mistura dos solventes  $\text{H}_2\text{O}$  - EtOH -  $\text{CHCl}_3$  na sensibilidade da determinação de íons  $\text{Co}^{2+}$  com 2-TTA. In: XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – MG, 2008, Belo Horizonte - MG.

ALMEIDA, E. S.; **SOUZA, J. C.**; LIMA, M. A. O.; BORGES, C. H. R.; EIRAS, S. P. Estudo dos interferentes na determinação de  $\text{Al}^{3+}$  com 8-hidroxiquinolina em uma mistura de água - etanol - clorofórmio. In: XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG, 2008, Belo Horizonte - MG.

BORGES, C. H. R.; **SOUZA, J. C.**; OLIVEIRA, D. R.; IAMAMOTO, M. S.; EIRAS, S. P. Caracterização da sílica gel funcionalizada com 4-(2-piridilazo)-resorcinol. In: XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – MG, 2008, Belo Horizonte - MG.

**SOUZA, J. C.**; LIMA, M. A. O.; ALMEIDA, E. S.; OLIVEIRA, D. R.; EIRAS, S. P. Tratamento de resíduos utilizados na determinação de íons  $\text{Co}^{2+}$  empregando o sistema água - etanol - clorofórmio. In: XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG, 2008, Belo Horizonte - MG.

**SOUZA, J. C.**; ALMEIDA, E. S.; LIMA, M. A. O.; BORGES, C. H. R.; EIRAS, S. P. Estudo dos interferentes na determinação de íons  $\text{Cu}^{2+}$  em cachaça com PAN e uma mistura de água -

etanol - metilisobutilcetona. In: XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG, 2008, Belo Horizonte - MG.

ALMEIDA, E. S.; SOUZA, J. C.; LIMA, M. A. O.; BORGES, C. H. R.; EIRAS, S. P. Estudo da influência da temperatura e do tempo na determinação de  $Al^{3+}$  com 8-hidroxiquinolina e uma mistura de água - etanol - clorofórmio. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - SP.

SOUZA, J. C.; ALMEIDA, E. S.; LIMA, M. A. O.; EIRAS, S. P. Avaliação do teor de cobre em cachaça empregando misturas dos solventes água - etanol - acetona e detecção por absorção atômica. In: 14º Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa - PB.

ALMEIDA, E. S.; SOUZA, J. C.; LIMA, M. A. O.; EIRAS, S. P. Estudo da complexação de íons  $Al^{3+}$  com 8-hidroxiquinolina em mistura homogênea de água - etanol - clorofórmio. In: XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG, 2007, Uberlândia - MG.

## 6. Apresentações de Trabalho (oral)

SOUZA, J. C.; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B. Detection of *p*-aminophenol and sub-products formed during oxidative process in water and hair salon effluent. In: 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2018, Foz do Iguaçu - PR.

PEZZA, H. R.; TOCI, A. T.; COLETTA, A.; BORALLE, N.; SOUZA, J. C.; PEZZA, L. Autenticidade e rastreabilidade de cafés torrados brasileiro por  $^1H$ -RMN. In: 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2014, Natal - RN.

SOUZA, J. C.; ALMEIDA, E. S.; EIRAS, S. P. Estudo da extração por fase única de alumínio: sistema água – etanol – clorofórmio e 8-hidroxiquinolina. In: IX Encontro Interno e XIII Seminário de Iniciação Científica - PIBIC/CNPq/FAPEMIG da Universidade Federal de Uberlândia, 2009, Uberlândia – MG.

## 7. Outras produções bibliográficas

SOUZA, J. C. Determinação íons cobre(II) em aguardente de cana-de-açúcar utilizando a combinação spot test - espectroscopia de reflectância difusa, 2015, Dissertação Mestrado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho.”

**SOUZA, J. C.** Estudo da determinação de íons cobre(II) em cachaça com 1-(2-piridilazo)-2-naftol e empregando a mistura homogênea dos solventes água – etanol – metilisobutilcetona, 2009, Trabalho Conclusão de Curso, Universidade Federal de Uberlândia.

## **8. Participação em eventos**

2019 – 47th IUPAC World Chemistry Congress. Paris – França.

2019 - XXV International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics. Limerick – Irlanda.

2018 - 41ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Foz do Iguaçu – PR – Brasil.

2017 – 46th IUPAC World Chemistry Congress e 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. São Paulo – SP – Brasil.

2017 - VI Escola de separações. Campinas – SP – Brasil.

2017 - VIII Encontro Nacional de Química Ambiental. Curitiba – PR – Brasil.

2016 - 18º Encontro Nacional de Química Analítica. Florianópolis – SC – Brasil.

2016 - Workshop Avanços em química analítica e bioenergia - Nelson Ramos Stradiotto. Florianópolis – SC – Brasil.

2015 - 67ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. São Carlos – SP – Brasil.

2015 - 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia – SP – Brasil.

2014 - 54º Congresso Brasileiro de Química. Natal – RN – Brasil.

2009 - Ferramenta para o desarmamento e a não proliferação de armas de destruição em massa. Palestra Programa Nacional de Integração Estado-Empresa na Área de Bens Sensíveis – PRONABENS. Uberlândia – MG – Brasil.

2008 - XLVIII Congresso Brasileiro de Química - CBQ. Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

2008 - XXII Encontro Regional SBQ-MG. Belo Horizonte – MG - Brasil.

2008 - Comemoração do dia nacional do químico. Uberlândia – MG – Brasil.

2007 - 14º Encontro Nacional de Química Analítica. João Pessoa – PB – Brasil.

2007 - XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. Uberlândia – MG – Brasil.

2006 - I Encontro de Química do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba - IV Mostra de Pós-Graduação - III Jornada Científica de Química. Uberlândia – MG – Brasil.

2006 - II Semana da Química - II Escola de Inverno. Uberlândia – MG – Brasil.

2005 - Comemoração ao dia Nacional do Químico. Uberlândia – MG – Brasil.

## **9. Organização de eventos, congressos, exposições e feiras**

2008 - XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. Uberlândia – MG – Brasil.

## **10. Orientações e supervisões**

1 - Juliana Paula de Oliveira. Avaliação de contaminantes oriundos do uso de tintura de cabelo: Análise de PPD e derivados em urina humana. Início: 2019 - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP. (Coorientador).

2 - Giovanna de Deus Sperandio. Início: 2019 - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho.” (Coorientador).

*“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”*

**Carl Gustav Jung**

## **Agradecimentos**

Ao Instituto de Química, Campus de Araraquara – SP, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP pelas facilidades, estrutura e recursos concedidos à realização deste trabalho;

Ao Departamento de Química - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra – UC e ao Instituto Pedro Nunes – IPN pela oportunidade de realização de estágio de pesquisa no exterior (doutorado sanduíche), pelas facilidades, estrutura e recursos concedidos à realização do estágio;

Em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Valnice Boldrin Zanoni pela orientação, amizade, paciência e pelos ensinamentos ao qual levarei comigo pelo resto da vida.

Em especial a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Coelho Ferreira de Oliveira Brett e ao Prof. Dr. Christopher Michael Ashton Brett pela recepção, orientação, amizade, paciência e ensinamentos durante a realização de estágio de pesquisa no exterior (doutorado sanduíche) em Coimbra – Portugal. Ensinamentos que levarei comigo pelo resto da vida.

Em especial a Dr<sup>a</sup>. Bianca Ferreira da Silva pela orientação, amizade, paciência, conversas e ensinamentos ao qual levarei comigo pelo resto da vida;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gisela de Aragão Umbuzeiro, Docente da Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP de Limeira – SP, pela parceria firmada e colaboração neste trabalho, e pelas análises de toxicidade e mutagenicidade realizadas em seu laboratório;

Ao Dr. Daniel Alexandre Morales e a Dr<sup>a</sup>. Adria Caloto de Oliveira, do Laboratório de Ecotoxicologia Genotoxicidade – LAEG, localizado na Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP de Limeira – SP, pela colaboração neste trabalho e pela realização das análises de mutagenicidade e toxicidade, respectivamente;

Ao Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes, Docente do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP de Araraquara - SP, por ceder a impressora 3D para confecção do suporte magnético utilizado neste trabalho;

À Mestre Natália da Costa Luchiari, do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP de Araraquara-SP, pela disposição e ajuda na confecção do suporte magnético utilizado neste trabalho;

Aos companheiros de trabalho do Grupo de Eletroanalítica de Araraquara - GEAr pela amizade, momentos de dificuldades, alegrias vividas juntos durante toda a jornada e pelas proveitosas discussões no decorrer deste trabalho;

Aos amigos e companheiros José Luiz, Edervaldo Buffon, Thúlio Ferreira, Marcos Vinícius, Maísa Beluomini, João Pedro, Acelino Cardoso, Josiel Silva, Kallyni Irikura, Beatriz Costa e Silva, César Marasco, Natália Luchiari, Guilherme Bessegato, Juliano Cardoso, Felipe Hudari, Alysso Martins, Lilian Torquato e João Angelo meus sinceros agradecimentos pela amizade, paciência, companhia, viagens, churrascos, momentos de dificuldades e de alegrias vividos juntos durante toda a jornada, e pelas proveitosas conversas e discussões no decorrer deste trabalho;

Aos amigos e companheiros, do Departamento de Química - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra – UC, Wesley Machini, Ana-Maria Chiorcea-Paquim e Isabel Fernandes, meus sinceros agradecimentos pela recepção, paciência, amizade, companhia, alegrias e pelas proveitosas conversas e discussões, durante o decorrer de meu estágio de pesquisa no exterior (doutorado sanduíche) em Coimbra - Portugal;

Aos demais professores e funcionários do Instituto de Química, Campus Araraquara – SP, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, que diretamente e indiretamente ajudaram no decorrer do curso e na realização deste trabalho;

Aos demais funcionários do Departamento de Química, da Faculdade de Ciências e Tecnologia, da Universidade de Coimbra – UC e do Instituto Pedro Nunes - IPN, que diretamente e indiretamente ajudaram no decorrer do estágio de pesquisa no exterior (doutorado sanduíche);

Aos demais amigos conquistados no decorrer do curso de doutorado pela amizade, momentos de dificuldades e alegria vividos juntos durante toda a jornada;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Processo n° 2015/12998-1) pela concessão da bolsa de doutorado e pelo apoio financeiro à pesquisa;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (Processo n° 2018/12449-6) pela concessão da bolsa de estágio de pesquisa no exterior - BEPE (doutorado sanduíche), no Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, e pelo apoio financeiro à pesquisa;

Aos meus pais por me proporcionarem a chance de realizar o doutorado, e por todo o amor e apoio dedicados, não só durante esta etapa, como também em todas as outras escolhas da minha vida;

À minha grande e melhor amiga Jaqueline Leschonski pela amizade, companheirismo paciência, pelos momentos de alegrias, pelas proveitosas conversas e discussões a respeito da vida e da espiritualidade, e por ter me salvado a vida;

À minha namorada Daniela Matos pelo companheirismo, paciência, apoio nos momentos difíceis, e pelo amor e carinho. Te amo muito, meu amor!!!

A todos os demais familiares e amigos próximos que sempre me apoiaram e incentivaram em todo o decorrer da minha vida.

## Resumo

O tingimento dos cabelos é um processo adotado por milhões de pessoas em todo o mundo, e envolve reações oxidativas complexas entre agentes precursores e acopladores em meio oxidante alcalino no interior do fio de cabelo. Embora estes compostos estejam presentes em tinturas comerciais de cabelos, poucos estudos são encontrados com foco no monitoramento de produtos e subprodutos formados a partir destas reações, em águas de rejeitos de salão de beleza e outras amostras ambientais e biológicas. Esta abordagem, poderia ser de alta relevância no entendimento da persistência e biotransformação dessas substâncias, já que nos últimos anos, vários estudos levantaram questionamentos a respeito da toxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade, acompanhada de uma grande preocupação dos órgãos reguladores de proteção ambiental e de saúde humana a respeito desses compostos.

Tendo em vista, contribuir para o melhor entendimento dessas reações, o presente trabalho propôs investigar a estabilidade dos precursores *p*-toluenodiamina (PTD) e *p*-aminofenol (PAF), em meio alcalino de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão amônio a pH 8,0, na presença e na ausência de agente oxidante (peróxido de hidrogênio). A reação de oxidação da PTD apresentou a formação de vários intermediários de reação como os derivados do radical semi-quinonadiimina, quinonadiimina, difenilamina e o produto derivado da Base de Bandrowski (BB). A reação de oxidação do PAF apresentou a formação de vários intermediários de reação como os derivados do radical semi-quinonaimina, quinonaimina, além da formação de dímeros, trímeros e um tetrâmero. A reação entre a PTD e o PAF apresentou a formação de vários intermediários e produtos finais de reação oriundos da oxidação da PTD e do PAF e de seis diferentes produtos.

Testes de mutagenicidade dos produtos finais da PTD e do PAF, bem como da reação entre ambos, foram realizados com bactérias *Salmonella enterica Typhimurium* YG1041, com e sem ativação metabólica. Os resultados obtidos mostrou alta mutagenicidade para o derivado da BB e para os produtos da reação entre a PTD e o PAF, e os produtos formados pela oxidação do PAF não mostraram mutagenicidade. Testes de toxicidade aguda, realizados com *Daphnia similis*, mostraram alta toxicidade.

Uma metodologia analítica foi desenvolvida para a determinação de PTD e PAF por CLAE/DAD. O método obteve relações boas lineares, bons limites de detecção e de quantificação com boa recuperação. O método foi aplicado de maneira satisfatória em amostras de água, bem como em amostra de efluente de salão de cabeleireiros. As concentrações encontradas, de PTD e de PAF, para amostra de água antes do tratamento foi de 2,48 ±

$0,10 \times 10^{-3}$  e  $1,90 \pm 0,30 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, para a amostra de água após o tratamento foi de  $1,77 \pm 0,10 \times 10^{-3}$  e  $1,30 \pm 0,20 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, e para amostra de efluente de salão de cabeleireiros foi de  $2,08 \pm 0,20$  mg L<sup>-1</sup> e  $2,10 \pm 0,50$  mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Na amostra de efluente foram identificados vários produtos da oxidação da PTD, do PAF e da reação entre ambos.

O comportamento eletroquímico oxidativo da PTD e do PAF foi investigado. As reações de oxidação da PTD e do PAF mostraram ser reversíveis, controladas por difusão e pela transferência de dois elétrons e dois prótons tanto para a PTD quanto para o PAF. Um mecanismo de oxidação eletroquímica para a PTD e para o PAF foi proposto. Os coeficientes de difusão da PTD e do PAF foram determinados, e os valores foram de  $D_{PTD} = 1,57 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> e  $D_{PAF} = 1,03 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, respectivamente.

Uma metodologia analítica para quantificação desses precursores, em amostras de fluidos biológicos de soro fetal bovino (simulando o plasma sanguíneo humano) e de urina artificial (simulando a urina humana), foi desenvolvida. A quantificação eletroquímica, na faixa de concentração de  $1,0 \times 10^{-7}$  a  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, mostrou um limite de detecção de  $1,2 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> para a PTD e de  $1,7 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> para o PAF. O método eletroanalítico desenvolvido foi aplicado satisfatoriamente para a determinação de PTD e PAF em amostras de soro fetal bovino e de urina artificial.

O comportamento eletroquímico da queratina capilar humana foi investigado. Para isso, foi realizada a construção de um biossensor de queratina pela modificação de um eletrodo de carbono vítreo com queratina de cabelo humano por voltametria de pulso diferencial. O comportamento eletroquímico da queratina mostrou dois picos de oxidação dependentes do pH. O primeiro pico correspondeu ao primeiro pico de oxidação dos resíduos de aminoácidos cisteína, P1<sub>Cis</sub>, em  $EP1 = + 0,53$  V, e o segundo pico correspondeu ao terceiro pico de oxidação dos resíduos aminoácidos cisteína e ao segundo pico de aminoácidos metionina P2<sub>Cis + Met</sub>, em  $EP2 = + 1,28$  V.

Foi estudada também a desnaturação da queratina de cabelo humano, pela incubação da queratina com agentes desnaturantes ureia e dodecil sulfato de sódio, e com o agente redutor tris(2-carboxietil) fosfina, por voltametria de pulso diferencial. Por fim, foi estudada a interação da queratina com a PTD e o PAF, por voltametria de pulso diferencial e espectroscopia de impedância eletroquímica, pela incubação da queratina com esses precursores, por diferentes períodos de tempo, a fim de entender o processo de tingimento dos cabelos e a fixação desses compostos no interior da fibra capilar. Os resultados dos experimentos de desnaturação e da interação da queratina com os precursores mostraram que

tanto os agentes desnaturantes, quanto os agentes redutores e precursores promoveram um aumento nas correntes de pico dos resíduos de aminoácidos eletroativos, ao longo do tempo de incubação. Além disso, foi verificado o aparecimento de novos picos de resíduos de outros aminoácidos presentes na estrutura da queratina, pelo desdobramento da estrutura da molécula da queratina, estavam enterrados e/ou encobertos.

Por fim, foi desenvolvido um sensor eletroquímico em eletrodo impresso de carbono, modificado com nanopartículas magnéticas (NPM) de ferro funcionalizadas com grupos ácido carboxílico e L-cisteína. As NPM funcionalizadas foram depositadas em cima do eletrodo de trabalho, onde ficaram imobilizadas pela atração magnética do ímã de neodímio, fixado em um suporte construído em impressora 3D. O comportamento eletroquímico dos analitos foi avaliado e o sensor eletroquímico mostrou-se bastante promissor na determinação da PTD e do PAF, com um ganho de corrente de 34,0% para a PTD e de 51,7% vezes para o PAF comparado ao eletrodo impresso sem as NPM. O processo de oxidação da PTD mostrou ser um processo irreversível com reações químicas do produto, com um de pico de oxidação em potencial de  $E_{OX_{PTD}} = + 0,25$  V. Para o PAF observou-se que a oxidação foi um processo reversível com reações químicas do produto em potencial de  $E_{OX_{PAF}} = + 0,21$  V. Por fim, o método foi otimizado quanto ao tempo de deposição dos analitos, concentração e volume de NPM a serem depositadas sobre o eletrodo. As otimizações apresentaram como condições ótimas um tempo de deposição de 3 minutos, concentração e volume de NPM de  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  e  $50,0 \text{ }\mu\text{L}$ , respectivamente.

**Palavras Chave:** *p*-toluenodiamina, *p*-aminofenol, corante de cabelos permanentes, queratina, efluente de salão de cabeleireiros, nanopartículas magnéticas

## Abstract

The hair dyeing is a process adopted by millions of people worldwide, and involves complex oxidative reactions between precursor and couplers agents, in alkaline oxidizing medium, inside the hair strand. Although these compounds are present in commercial hair dyes, few studies are found with a focus on monitoring products and byproducts formed from these reactions, during the hair dye process, in salon wastewater and other environmental and biological samples. This approach could be of high relevance in understanding of the persistence and biotransformation of these substances, since in recent years, several studies have raised questions about toxicity, mutagenicity and genotoxicity, accompanied by a major concern of the regulatory agencies for environmental protection and health about these compounds.

In order to contribute to a better understanding of these reactions, the present work proposed to investigate the stability of the precursors *p*-toluenediamine (PTD) and *p*-aminophenol (PAP), in an alkaline medium of 0.1 mol L<sup>-1</sup> ammonium buffer at pH 8.0, in the presence and absence of oxidizing agent (hydrogen peroxide). The PTD oxidation reaction showed the formation of several reaction intermediates, such as the derivatives of the semi-quinonediimine radical, quinonediimine, diphenylamine and the product derived from the Bandrowski's Base (BB). The PAP oxidation reaction showed the formation of several reaction intermediates, such as those derived from the semi-quinoneimine radical, quinoneimine, in addition to the formation of dimers, trimers and tetramer. The reaction between PTD and PAP showed the formation of several intermediates and final reaction products arising from the oxidation of PTD and PAP. In addition to these products, the formation of six different products were identified.

Mutagenicity tests of the final products of PTD and PAP, as well as of the reaction between both, were carried out with bacteria *Salmonella enterica Typhimurium* YG1041, with and without metabolic activation. The results obtained showed high mutagenicity for the derivative of BB and for the products of the reaction between PTD and PAP, and the products formed by the oxidation of PAP did not show mutagenicity. Acute toxicity tests, performed with *Daphnia similis*, showed high toxicity.

An analytical methodology was developed for the determination of PTD and PAP by HPLC-DAD. The method obtained good linear relationships, good limits of detection, quantification and recovery. The method was applied satisfactorily in water samples, as well as in a hairdressing salon effluent sample. The concentrations found of PTD and PAP, for

water sample before treatment were  $2,48 \pm 0,1 \times 10^{-3}$  and  $1,90 \pm 0,3 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, for the sample of water after treatment was  $1,77 \pm 0,1 \times 10^{-3}$  and  $1,90 \pm 0,3 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, and for a hairdressing salon sample it was  $2,08 \pm 0,2$  mg L<sup>-1</sup> and  $2,10 \pm 0,5$  mg L<sup>-1</sup>, respectively. In the effluent sample, several oxidation products of PTD, PAP and the reaction between them were identified. This shows that considerable quantities of these products are being discharged into the common sewer daily.

The oxidative electrochemical behavior of PTD and PAP was investigated. The oxidation reactions of PTD and PAP have been shown to be reversible. The reaction was controlled by diffusion, by transferring two electrons and two protons to PTD, which occurred in the nitrogen atoms of the amine groups of the molecule. The oxidation of PAP was controlled by diffusion, and by the transfer of two electrons and two protons, which occurred in the oxygen and nitrogen atoms of the hydroxyl and amine groups of the molecule, respectively. An electrochemical oxidation mechanism for PTD and PAP has been proposed. The diffusion coefficients of PTD and PAP were determined, and the values were  $D_{\text{PTD}} = 1.57 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> and  $D_{\text{PAP}} = 1.03 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, respectively.

An analytical methodology for quantifying these precursors, in samples of biological fluids from fetal bovine serum (simulating human blood plasma) and artificial urine (simulating human urine), was developed. Electrochemical quantification, in the concentration range of  $1.0 \times 10^{-7}$  to  $1.0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, showed a detection limit of  $1.2 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> for PTD and of  $1.7 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> for PAP. The electroanalytical method developed was applied satisfactorily in samples of fetal bovine serum and in artificial urine.

The electrochemical behavior of human capillary keratin was investigated. For this, the construction of a keratin biosensor was performed by modifying a glassy carbon electrode with human hair keratin by differential pulse voltammetry. The electrochemical behavior of keratin showed two pH-dependent oxidation peaks. The first peak corresponded to the first oxidation peak of the cysteine amino acid residues, P1<sub>Cys</sub>, at EP1 = + 0.53 V, and the second peak corresponded to the third oxidation peak of the cysteine amino acid residues, the second methionine amino acid peak and the peak of oxidation of histidine P2<sub>Cys + Met</sub> amino acid residues, at EP2 = + 1.28 V.

Human hair keratin denaturation was also studied, by incubating the keratin with denaturing agents urea and sodium dodecyl sulfate, and with the reducing agent tris-(2-carboxyethyl)-phosphine, by differential pulse voltammetry. Finally, the interaction of keratin with PTD and PAP was studied, using differential pulse voltammetry and electrochemical

impedance spectroscopy, through the keratin incubation with these precursors, for different periods of time, in order to understand the dyeing process of the hair and the fixation of these compounds inside the hair fiber. The results of the denaturation experiments and of the keratin interaction with the precursors showed that both the denaturing, reducing and precursor agents promoted an increase in the peak currents of the electroactive amino acid residues, over the incubation time. Probably, these compounds did not induce oxidative damage to keratin, but caused an unfolding of the morphological structure and this provided that amino acid residues, which were buried or covered up, were more exposed to the surface of the biosensor, facilitating its oxidation. In addition, the appearance of new peaks of residues of other amino acids present in the keratin structure was verified, which were also buried and/or covered by the unfolding of the keratin molecule structure.

Finally, the study of PTD and PAP was carried out on a printed carbon electrode, modified with iron magnetic nanoparticles (MNP) functionalized with carboxylic acid and L-cysteine groups. The functionalized MNP were deposited on top of the working electrode, where they were immobilized by the magnetic attraction of the neodymium magnet, fixed on a support built in a 3D printer. The electrochemical behavior of the analytes was evaluated. The modified electrode with the nanoparticles proved to be very promising in the determination of PTD and PAP, with a current gain of 34.0% for PTD and 51.7% for PAP, compared to the printed electrode without MNP. The PTD oxidation process was indicative of being an irreversible process with chemical reactions of the product, with a peak oxidation potential of  $E_{OXPTD} = + 0.25$  V. For PAP, it is observed that the potential oxidation of  $E_{OXPAp} = + 0.21$  V. Finally, the method was optimized regarding the time of deposition of the analytes, concentration and volume of MNP to be deposited on the electrode. The optimizations presented a deposition time of 3 minutes, concentration and volume of MNP of  $1.0 \text{ mg mL}^{-1}$  and  $50.0 \text{ }\mu\text{L}$ , respectively.

**Keywords:** *p*-toluenediamine, *p*-aminophenol, permanent hair dyes, keratin, wastewater from hairdressing salon, magnetic nanoparticles.

**Lista de figuras**

Figura 1 -	Estrutura tegumentar humana com uma unidade polissebácea.....	47
Figura 2 -	Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da medula porosa de uma seção transversal da fibra do cabelo.....	48
Figura 3 -	Estrutura do cabelo humano.....	49
Figura 4 -	Imagens de MEV do interior do cortéx do cabelo humano aumentada 1.000 vezes (A), 5.000 vezes (B), 10.000 vezes (C) e 20.000 vezes (D)...	50
Figura 5 -	Imagem de MEV da cutícula do cabelo humano.....	51
Figura 6 -	Estágios de crescimento do cabelo humano.....	53
Figura 7 -	Estrutura física do cabelo liso (A) e do cabelo crespo (B).....	53
Figura 8 -	Ligações e interações intra e intercelulares presentes nos fios de cabelos.....	54
Figura 9 -	Estruturas moleculares da eumelamina (A) e feomelamina (B).....	55
Figura 10 -	Estruturas moleculares da $\alpha$ -queratina (A) e da $\beta$ -queratina (B).....	63
Figura 11 -	Fixação dos corantes capilares temporários na fibra capilar.....	68
Figura 12 -	Fixação dos corantes capilares semipermanentes no interior da fibra capilar.....	73
Figura 13 -	Fixação dos corantes capilares permanentes no interior da fibra capilar.....	74
Figura 14 -	Processo alérgico provocado por corante capilar permanente* (A), por doses de PFD** (B) e em tatuagem de henna*** (C).....	79
Figura 15 -	Desenho do suporte magnético e suporte magnético impresso em impressora 3D.....	100
Figura 16 -	Procedimento de fixação do eletrodo de carbono impresso no suporte magnético, deposição das NPM-AC-LC sobre o eletrodo e montagem da célula eletroquímica.....	102
Figura 17 -	Espectro de massas obtido para 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PTD em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, após 3 horas de reação, na ausência de peróxido de hidrogênio.....	103
Figura 18 -	Espectro de massas obtido para 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PTD em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, após 3 horas de reação, na presença de peróxido de hidrogênio a 1,0% (v/v).....	105
Figura 19 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração castanho escuro.....	105

Figura 20 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração roxo.....	106
Figura 21 -	Espectros de absorção UV-Vis em 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PTD em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão amônio a pH 8,0: (A) oxigênio dissolvido e (B) peróxido de hidrogênio 0,1% (v/v).....	108
Figura 22 -	Espectros de absorção UV-Vis, obtidos em metanol, para o padrão de PTD e os produtos formados pela oxidação da PTD em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0 isolados por CCD.....	109
Figura 23 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração castanho escuro.....	110
Figura 24 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração roxa.....	111
Figura 25 -	Espectro de <sup>1</sup> H-RMN obtido para o produto de coloração castanho escuro em metanol deuterado.....	112
Figura 26 -	Espectro de <sup>1</sup> H-RMN obtido para o produto de coloração roxa em metanol deuterado.....	113
Figura 27 -	Espectro de massas obtido para 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PAF em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, após 3 horas de reação, na ausência de peróxido de hidrogênio.....	115
Figura 28 -	Espectro de massas obtido para 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PAF em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0 após 3 horas de reação na presença de peróxido de hidrogênio a 1,0% (v/v).....	117
Figura 29 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração castanho claro....	117
Figura 30 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração castanho escuro.....	118
Figura 31 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração rosa.....	118
Figura 32 -	Espectros de absorção UV-Vis em 10,0 mg L <sup>-1</sup> de PAF em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão amônio a pH 8,0: (A) oxigênio dissolvido e (B) peróxido de hidrogênio 0,05% (v/v).....	120-121
Figura 33 -	Espectros de absorção UV-Vis, obtidos em metanol, para o padrão e os produtos formados pela oxidação do PAF, em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, isolados por CCD.....	122
Figura 34 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração castanho claro.....	123
Figura 35 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração castanho escuro.....	124

Figura 36 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração rosa.....	125
Figura 37 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto precipitado (tetrâmero).....	126
Figura 38 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto de coloração castanho claro em metanol deuterado.....	127
Figura 39 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto de coloração castanho escuro em metanol deuterado.....	128
Figura 40 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto de coloração rosa em metanol deuterado.....	129
Figura 41 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto precipitado (tetrâmero) em metanol deuterado.....	130
Figura 42 -	Espectro de massas obtido para a reação entre a PTD e o PAF, na proporção de (1:1), em tampão amônio $0,1\text{ mol L}^{-1}$ a pH 8,0, após 3 horas de reação: (A) Espectro de massas aumentado na faixa de $m/z$ 100 a 150 Da, (B) espectro de massas aumentado na na faixa de $m/z$ 200 a 245 e em (C) espectro de massas aumento na faixa de $m/z$ 300 a 365 Da.....	132
Figura 43 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração castanho escuro.....	133
Figura 44 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração castanho claro....	134
Figura 45 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração roxo.....	134
Figura 46 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração marrom.....	135
Figura 47 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração rosa.....	135
Figura 48 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração marrom escuro...	136
Figura 49 -	Espectro de massas obtido para o produto de coloração rosa claro.....	136
Figura 50 -	Espectro de massas obtido para os produtos precipitados da reação entre a PTD e o PAF.....	137
Figura 51 -	Espectros de absorção UV-Vis para a reação da PTD e o PAF, na proporção de (1:1) (ambos a $10,0\text{ mg L}^{-1}$ ) em tampão amônio $0,1\text{ mol L}^{-1}$ , pH 8,0 em atmosfera de oxigênio dissolvido (A) e 1,0% (v/v) de peróxido de hidrogênio (B).....	141

Figura 52 -	Espectros de absorção UV-Vis, obtidos em metanol, para os produtos formados pela reação entre a PTD e o PAF, isolados por CCD.....	142
Figura 53 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração castanho escuro, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	143
Figura 54 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração castanho claro, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	144
Figura 55 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração roxo, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	145
Figura 56 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração marrom, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	146
Figura 57 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração rosa claro, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	147
Figura 58 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração rosa escuro, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	148
Figura 59 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto de coloração marrom escuro, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	149
Figura 60 -	Espectro de IR, obtido em clorofórmio, para o produto precipitado, formado pela reação entre a PTD e o PAF.....	150
Figura 61 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto de coloração rosa escuro em metanol deuterado.....	151
Figura 62 -	Espectro de $^1\text{H}$ -RMN obtido para o produto de coloração marrom escuro em metanol deuterado.....	152
Figura 63 -	Cromatograma obtido por CLAE/DAD para os padrões de PTD e PAF a $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Fase móvel tampão acetato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6):acetonitrila 98:2 (v/v), respectivamente, fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , temperatura da coluna de $40,0 \text{ }^\circ\text{C}$ , volume de injeção de $20,0 \text{ }\mu\text{L}$ e comprimento de onda de $\lambda = 236 \text{ nm}$ .....	162
Figura 64 -	Cromatogramas obtidos por CLAE/DAD para as amostras de água antes do tratamento (A), após o tratamento (B) e efluente de salão de cabeleireiros (C). Fase móvel tampão acetato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6):acetonitrila 98:2 (v/v), respectivamente, fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ , temperatura da coluna de $40,0 \text{ }^\circ\text{C}$ , volume de injeção de $20,0 \text{ }\mu\text{L}$ e comprimento de onda de $\lambda = 236 \text{ nm}$ .....	165-166
Figura 65 -	Espectro de massas <i>full scan</i> obtido para a amostra de efluente de salão de cabeleireiros.....	167

- Figura 66 - Espectro de massas obtido para a amostra de efluente de salão de cabeleireiros ampliado na faixa de  $m/z$  100 a 150 Da (A), ampliado na faixa de  $m/z$  150 a 200 Da (B), ampliado na faixa de  $m/z$  200 a 250 Da (C), ampliado na faixa de  $m/z$  300 a 350 Da (D), ampliado na faixa de  $m/z$  350 a 400 Da (E) e ampliado na faixa de  $m/z$  450 a 500 Da (F)..... 168-169
- Figura 67 - Voltamogramas cíclicos obtidos em GCE, para  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de PTD, a pH: (A) 1,0, (B) 4,0, (C) 7,0 e (D) 9,0; e para  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de PAF a pH: (E) 1,0, (F) 4,0, (G) 7,0 e (H) 9,0. (—) branco (eletrólito suporte), (—) primeira varredura e (—) segunda varredura, Velocidade de varredura  $\nu = 50,0$  mV s<sup>-1</sup>..... 171
- Figura 68 - Voltamogramas cíclicos obtidos em GCE, para  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de PTD (A) e de PAF (B), a pH 7,0 no intervalo de velocidade de varredura de 5,0 – 500,0 mVs<sup>-1</sup>..... 172
- Figura 69 - Voltamogramas de pulso diferencial em 3D, com linha de base corrigida, em GCE, para  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de PTD: (A) oxidação e (B) redução e  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de PAF: (C) oxidação e (D) redução, em diferentes pHs de eletrólito de suporte. Velocidade de varredura  $\nu = 5,0$  mV s<sup>-1</sup>. Gráficos *Eap* vs. pH para a PTD (E) e para o PAF (F)..... 173
- Figura 70 - Voltamogramas de onda quadrada obtidos em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, a pH 7,0, para  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de PTD (A) e PAF (B) em GCE. Velocidade de varredura  $\nu_{ef} = 50,0$  mV s<sup>-1</sup>.  $I_t$  – corrente de pico total,  $I_d$  – corrente de pico direta e  $I_i$  – corrente de pico inversa..... 176
- Figura 71 - Voltamogramas de pulso diferencial, com linha de base corrigida, obtidos em GCE, tampão de fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> a pH 7,0, nas concentrações de 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8 e  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> de PTD (A) a para o PAF (B). Voltamograma de pulso diferencial obtidos para as amostras de soro fetal bovino (—) e de urina artificial (—). Velocidade de varredura  $\nu = 5,0$  mV s<sup>-1</sup>..... 177
- Figura 72 - Voltamograma de pulso diferencial obtido, com linha de base corrigida, para o filme multicamadas espesso de queratina humana nativa adsorvida no GCE, em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> a pH 8,0. Velocidade de varredura  $\nu = 5,0$  mV s<sup>-1</sup>..... 180
- Figura 73 - (A) Voltamogramas de pulso diferencial obtidos, em 3D, com linha de base corrigida, para o filme multicamadas espesso de queratina capilar humana adsorvida no GCE, em diferentes pHs de eletrólitos suporte. (B) Gráfico de potencial de pico de oxidação do filme espesso de multicamadas de queratina capilar humana adsorvido no GCE (▲) Ep1<sub>Cis</sub> e (■) Ep2<sub>Cis + Met</sub> e de corrente de pico (▲) Ip1<sub>Cis</sub> e (■) Ip2<sub>Cis + Met</sub> vs. pH. Velocidade de varredura  $\nu = 5,0$  mV s<sup>-1</sup>..... 181
- Figura 74 - Estrutura 3D da queratina humana recombinante 36 (ab160141)..... 182
- Figura 75 - Gráfico de hidropaticidade da sequência da cadeia de aminoácidos da proteína queratina humana recombinante 36. Aminoácidos eletroativos: cisteína (amarelo), tirosina (vermelho), triptofano (verde), histidina

	(roxo) e metionina (azul).....	184
Figura 76 -	Voltamogramas de pulso diferencial obtidos, com linha de base corrigida, para o filme de multicamadas espesso de queratina humana adsorvido no GCE, em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0: (—) biossensor eletroquímico de queratina nativa e (—) desnaturada em: (A) 6,0 mol L <sup>-1</sup> de uréia, (B) SDS 33,3 mmol L <sup>-1</sup> , (C) TCEP 10,0 mmol L <sup>-1</sup> , durante diferentes períodos de tempo de 30, 60, 90 e 120 minutos. Velocidade de varredura de 5,0 mV s <sup>-1</sup> .....	185-186
Figura 77 -	Voltamogramas de pulso diferencial obtidos, com linha de base corrigida, para o filme de multicamadas espesso de queratina humana adsorvido no GCE, em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0: (—) biossensor eletroquímico de queratina nativa e (—) incubada em: (A) PTD 2,0×10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> , (B) PAF 2,0×10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> , (C) PTD e PAF (1:1) 2,0×10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> , durante diferentes períodos de tempo de 30, 60, 90 e 120 minutos. Velocidade de varredura de 5,0 mV s <sup>-1</sup> .....	187-188
Figura 78 -	Espectros de impedância de plano complexo, em tampão fosfato 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, em K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]/K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] a 5,0 mmol L <sup>-1</sup> , no potencial do ponto médio aplicado, E <sub>ap</sub> = + 0,25 V: Controle GCE (☆), controle do biossensor eletroquímico de queratina antes (violeta) e após interação com precursores de tinta de cabelo: (A) PTD, (B) PAF e (C) PTD + PAF, durante diferentes tempos de incubação: 30 (verde), 60 (azul) e 120 minutos (vermelho). Circuitos elétricos equivalentes (a1), (b1) e (c1).....	190-191
Figura 79 -	NPM de ferro funcionalizadas com grupos ácido carboxílico (A) e NPM de ferro funcionalizadas com grupos ácido carboxílico e L-cisteína (B).....	193
Figura 80 -	Espectro de IR obtido para NPM-AC (linha preta) e para as NPM-AC-LC (linha vermelha).....	194
Figura 81 -	Imagens de MEV-FEG obtidas para as NPM-AC-LC aumentadas 1.500 vezes (A), 5.000 vezes (B), 50.000 vezes (C) e 100.000 vezes (D).....	196
Figura 82 -	Histograma referente ao diâmetro das NPM-AC-LC.....	197
Figura 83 -	Espectro de energia dispersiva de raios X (EDX) das NPM-AC-LC.....	197
Figura 84 -	Imagens de MEV-FEG da superfície do eletrodo de carbono impresso aumentada 15.000 vezes (A), das NPM-AC-LC sobre a superfície do eletrodo de carbono impresso aumentadas 1.500 vezes (B), 5.000 vezes (C) e 25.000 vezes (D).....	198
Figura 85 -	Imagens de TEM das NPM-AC-LC (A), imagens HR-TEM das NPM-AC-LC (B), imagem ampliada da área das NPM-AC-LC (C) e padrão de difração cristalina de uma NPM-AC-LC (D).....	199

Figura 86 -	Difratograma de raios X das NPM-AC-LC.....	201
Figura 87 -	Voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 4,0) (A) e para $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PTD em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 4,0) em eletrodo impresso de carbono (B), eletrodo impresso modificado com NPM-AC (C) e eletrodo impresso modificado com NPM-AC-LC (D). Velocidade de varredura $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .....	202
Figura 88 -	Voltamogramas cíclicos obtidos para a oxidação $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 4,0) (A) e para $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PAF em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão BR (pH 4,0) em eletrodo impresso de carbono (B), eletrodo impresso modificado com NPM-AC (C) e eletrodo impresso modificado com NPM-AC-LC (D). Velocidade de varredura $v = 50,0 \text{ mV s}^{-1}$ .....	203
Figura 89 -	Tempo de deposição de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PTD (A) e PAF (B), em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 4,0, em eletrodo impresso de carbono modificado com NPM-AC-LC.....	204
Figura 90 -	Concentração de NPM-AC-LC em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PTD (A) e PAF (B) em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 4,0.....	205
Figura 91 -	Volume de NPM-AC-LC em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de PTD (A) e PAF (B) em tampão BR $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a pH 4,0.....	206

**Lista de esquemas**

Esquema 1 -	Mecanismo de biossíntese da eumelamina e da feomelanina.....	56
Esquema 2 -	Mecanismo de fixação do corante temporário Acid Orange 7 na fibra do fio de cabelo.....	70
Esquema 3 -	Mecanismo de fixação do corante temporário Basic Red 76 na fibra do fio de cabelo.....	71
Esquema 4 -	Processo químico de tingimento dos cabelos e os principais produtos formados, pela reação química entre a PFD e o RSN, na presença de peróxido de hidrogênio e amônia.....	76
Esquema 5 -	Representação esquemática da reação de oxidação da PTD, em meio alcalino, na presença e na ausência de peróxido de hidrogênio.....	114
Esquema 6 -	Representação esquemática da reação de oxidação do PAF, em meio alcalino, na presença e na ausência de peróxido de hidrogênio.....	131
Esquema 7 -	Representação esquemática da reação entre a PTD e o PAF, em meio alcalino, na presença e na ausência de hidrogênio.....	153
Esquema 8 -	Mecanismos de oxidação eletroquímica propostos para a PTD e para o PAF no GCE.....	175
Esquema 9 -	Representação esquemática da reação de funcionalização das NPM funcionalizadas de grupos ácido carboxílico com L-cisteína.....	200

## Lista de tabelas

Tabela 1	- Aminoácidos encontrados no cabelo humano natural.....	58-60
Tabela 2	- Aminoácidos encontrados na queratina do cabelo humano natural.....	61-62
Tabela 3	- Corantes temporários ácidos e básicos utilizados no tingimento dos cabelos.....	69-70
Tabela 4	- Compostos utilizados como corantes semipermanentes no tingimento dos cabelos.....	72
Tabela 5	- Estruturas propostas dos compostos detectados por MS/MS durante a oxidação da PTD, em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, na presença e na ausência de peróxido de hidrogênio.....	106-107
Tabela 6	- Estruturas propostas dos compostos detectados por MS/MS durante a oxidação do PAF, em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, na presença e na ausência de peróxido de hidrogênio.....	119-120
Tabela 7	- Estruturas propostas dos compostos detectados por MS/MS durante a reação da PTD e o PAF, na proporção de (1:1), em tampão amônio 0,1 mol L <sup>-1</sup> a pH 8,0, na presença e na ausência de peróxido de hidrogênio.	138-140
Tabela 8	- Resultados dos testes de mutagenicidade obtidos para o derivado da BB, analisada com a cepa Salmonella YG1041, com e sem ativação metabólica.....	156
Tabela 9	- Resultados dos testes de mutagenicidade obtidos para o Trímero, analisada com a cepa Salmonella YG1041, com e sem ativação metabólica.....	157
Tabela 10	- Resultados dos testes de mutagenicidade obtidos para o Precipitado (tetrâmero), analisada com a cepa Salmonella YG1041, com e sem ativação metabólica.....	158
Tabela 11	- Resultados dos testes de mutagenicidade obtidos para os produtos Precipitados 4,5,6 e 7, analisada com a cepa Salmonella YG1041, com e sem ativação metabólica .....	159
Tabela 12	- Teste de toxicidade aguda em <i>Daphnia similis</i> . Resultados expressos em efeito concentração 50%, 48 horas (EC50).....	160
Tabela 13	- Parâmetros cromatográficos obtidos para a PTD e para o PAF por CLAE/DAD.....	163
Tabela 14	- Valores de recuperação obtidos para a PTD nas amostras de água e efluente de salão de cabelereiros.....	164
Tabela 15	- Valores de recuperação obtidos para o PAF nas amostras de água e efluente de salão de cabelereiros.....	164-165
Tabela 16	- Comparação entre as figuras de mérito do método proposto, com o de outros métodos relatados na literatura, para a determinação de PTD e	

---

PAF.....	178
Tabela 17 - Determinação de PTD e de PAF nas amostras de fluídos biológicos de soro fetal bovino e de urina artificial.....	179
Tabela 18 - Parâmetros de Randles obtidos para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ , do plano complexo da EIS, em GCE sem modificação, no biossensor eletroquímico de queratina e após a interação com precursores de corantes capilares PTD, PAF e PTD + PAF, durante diferentes períodos de tempo.....	191-192

### **Lista de siglas e abreviaturas**

® - Marca Registrada

<sup>1</sup>H-RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

3D – Três Dimensões

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA – Associação Americana de Saúde (American Health Association)

BB – Base de Bandrowski

BR – Briton-Robinson

CCD – Cromatografia de Camada Delgada

CE – Energia de Colisão (Collision Energy)

CEM<sub>2</sub> – Concentração Efetiva Mínima

CG – Cromatografia Gasosa

CHT – Quitosana (chitosan)

Cis – Cisteína

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CUR – Gás de Cortina

CV – Voltametria Cíclica (Cyclic Voltammetry)

CXP – Potencial de Saída de Colisão

D – Coeficiente de Difusão

DAD – Detector por Arranjo de Diodos

DE – Detecção Eletroquímica

DMSO – Dimetilsulfóxido

DP – Potencial de Depleção (Depletion Potential)

DPV – Voltametria de Pulso Diferencial (Differential Pulse Voltammetry)

Dr. – Doutor

Dr.<sup>a</sup>. - Doutora

E – Potencial

EC – Concentração Efetiva (Effective Concentration)

EC – Eletroforese Capilar

EIS – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (Electrochemical Impedance Spectroscopy)

Eox – Potencial de Oxidação

EP – Potencial de Entrada (Entrance Potential)

Epa – Potencial de Pico Anódico

Epc – Potencial de Pico Catódico

EQM – Eletrodo Quimicamente Modificado

Ered – Potencial de Redução

EUA – Estados Unidos da América

GCE – Eletrodo de Carbono Vítreo (Glassy Carbon Electrode)

H – Altura dos Pratos Teóricos

His – Histidina

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (High Performance Liquid Chromatography)

HR-TEM - Microscopia de Transmissão Eletrônica de Alta Resolução (High Resolution Transmission Electronic Microscopy)

IARC – Agência Internacional para a Pesquisa sobre Câncer (International Agency for Research on Cancer)

Ipa – Corrente de Pico Anódico

Ipc – Corrente de Pico Catódico

IR – Infravermelho (Infrared)

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

M. P. – Método Proposto

*m/z* – Razão *massa/carga*

Met – Metionina

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MNP – Magnetic Nanoparticles (Nanopartículas Magnéticas)

MS/MS – Espectrometria de Massas Sequencial

MWNTS - Nanotubos de Carbono de Múltiplas Paredes (Multiple Wall Carbon Nanotubes)

N – Número de Pratos Teóricos

NAT1 – N-Acetiltransferase 1

NAT2 – N-Acetiltransferase 2

NPM – Nanopartículas Magnéticas

NPM-AC – Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com Grupos Ácido Carboxílico

NPM-AC-LC – Nanopartículas Magnéticas Funcionalizadas com Grupos Ácido Carboxílico e L-Cisteína

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAF – *p*-aminofenol

PAP – *p*-aminophenol

PFD – *p*-fenilenodiamina

pH – Potencial Hidrogeniônico

PTD – *p*-toluenodiamina

Prof. – Professor

Prof<sup>a</sup>. Professora

QDI - Quinonadiimina

R<sup>2</sup> – Coeficiente de Correlação

R<sub>ct</sub> – Resistência de Transferência de Carga

R<sub>f</sub> – Fator de Retenção

RPM – Rotações por minuto

R<sub>s</sub> – Resolução

RSN – Resorcinol

s – Coeficiente Ângular da Reta (Inclinação da Reta)

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

SP – São Paulo

std – Desvio Padrão

SWW – Voltametria de Onda Quadrada (Square Wave Voltammetry)

TCEP – tris(2-carboxietil)fosfina

TEM – Microscopia de Transmissão Eletrônica (Transmission Electronic Microscopy)

t<sub>R</sub> – Tempo de Retenção

t<sub>R</sub><sup>'</sup> – Tempo de Retenção Corrigido

UC – Universidade de Coimbra

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

USEPA – Associação de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (United States Environmental Protection Association)

UV-Vis – Ultravioleta e Visível

W<sub>1/2</sub> – Largura de Pico a Meia Altura

**Lista de símbolos e unidades**

% - porcentagem  
< - menor  
> - maior  
 $\leq$  - menor ou igual  
 $\geq$  - maior ou igual  
 $\alpha$  - alfa  
 $\beta$  - beta  
*o* - orto  
*m* - meta  
*p* - para  
*v* - velocidade de varredura  
*v/v* - volume/volume  
*v/v/v* - volume/volume/volume  
nm - nanômetros  
 $\mu\text{mol g}^{-1}$  - micromol por grama  
g - gramas  
mg - miligramas  
mL - mililitros  
 $\text{mL min}^{-1}$  - mililitro por minuto  
 $\text{mol L}^{-1}$  - mol por litro  
 $\mu\text{g L}^{-1}$  - microgramas por litro  
 $\text{mg L}^{-1}$  - miligramas por litro  
cm - centímetros  
Da - Daltons  
 $\mu\text{L}$  - microlitros  
mm - milímetros  
V - Volts  
mV - milivolts  
ms - milisegundos  
 $\text{mV s}^{-1}$  - milivolts por segundo  
A - Ampere

org – organismos

$\mu\text{L min}^{-1}$  – microlitros por minutos

$\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$  – microgramas por microlitros

psi – libra-força por polegada quadrada

$\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$  – nanogramas por microlitros

Hz – Hertz

ppm – partes por milhão

$^{\circ}\text{C}$  – graus Cécius

$\mu\text{m}$  - micrometros

$\text{mg mL}^{-1}$  – miligramas por mililitro

$\mu\text{S cm}^{-1}$  – microSiemens por centímetro

nA – nanoámpere

KHz – quilohertz

lux – nível de iluminância

$\text{mmol L}^{-1}$  – milimol por litro

$\text{g mol}^{-1}$  – gramas por mol

$\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$  – centímetro quadrado por segundo

mM – milimolar (milimol por litro)

---

## Sumário

1. Introdução.....	43
2. Revisão bibliográfica.....	46
2.1. Estrutura e morfologia do cabelo humano.....	46
2.2. Coloração do cabelo humano.....	54
2.3. Composição química do cabelo humano.....	57
2.4. Tinturas de cabelos.....	66
2.5. Toxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade e genotoxicidade das tinturas de cabelos.....	77
2.6. Métodos analíticos desenvolvidos e utilizados na quantificação e monitoramento de corantes capilares em diversas matrizes.....	82
3. Objetivos.....	87
4. Parte experimental.....	87
4.1. Reagentes e equipamentos.....	87
4.2. Oxidação da PTD, do PAF e a reação entre ambos.....	88
4.3. Produtos de oxidação da PTD, do PAF e da reação entre ambos.....	89
4.4. Monitoramento da PTD, do PAF e da reação entre ambos.....	90
4.5. Testes de mutagenicidade e toxicidade dos produtos formados pela reação de oxidação da PTD, do PAF, e da reação entre ambos.....	91
4.6. Determinação de PTD e de PAF em amostras de águas e rejeitos de cabeleireiros por CLAE/DAD em MS/MS.....	93
4.7. Estudo do comportamento eletroquímico e os mecanismos de transferência eletrônica da PTD e do PAF.....	95
4.8. Determinação eletroquímica da PTD e do PAF em fluidos biológicos.....	96
4.9. Comportamento de oxidação eletroquímica da queratina humana adsorvida no GCE (biossensor eletroquímico de queratina).....	97
4.10. Estudo eletroquímico da queratina humana desnaturada adsorvida no GCE.....	97
4.11. Estudo eletroquímico da interação da queratina capilar humana com a PTD e o PAF no biossensor eletroquímico de queratina.....	98
4.12. Aquisição e apresentação de dados eletroquímicos.....	99
4.13. Construção do suporte magnético para eletrodo impresso.....	99
4.14. Funcionalização das nanopartículas magnéticas (NPM) de grupos ácido carboxílicos com L-cisteína.....	100

4.15. Caracterização das NPM-AC-LC.....	100
4.16. Comportamento eletroquímico da PTD e do PAF com as NPM-AC-LC.....	101
4.17. Otimização dos parâmetros eletroquímicos.....	102
4.18. Avaliação do efeito de matriz.....	101
<b>5. Resultados e discussão.....</b>	<b>103</b>
<b>5.1. Oxidação da PTD, do PAF e a reação entre ambos.....</b>	<b>103</b>
5.1.1. Monitoramento da oxidação da PTD por espectrometria de massas (MS/MS).103	
5.1.2. Monitoramento da oxidação da PTD por espectrofotometria UV-Vis.....107	
5.1.3. Caracterização dos produtos de oxidação da PTD por espectrometria de infravermelho (IR).....109	
5.1.4. Caracterização dos produtos de oxidação da PTD por <sup>1</sup> H-RMN.....111	
5.1.5. Reação de oxidação da PTD.....113	
5.1.6. Monitoramento da oxidação do PAF por espectrometria de massas (MS/MS)115	
5.1.7. Monitoramento da oxidação do PAF por espectrofotometria UV-Vis.....120	
5.1.8. Caracterização dos produtos de oxidação do PAF por espectrometria de infravermelho (IR).....121	
5.1.9. Caracterização dos produtos de oxidação da PTD por <sup>1</sup> H-RMN.....126	
5.1.10. Reação de oxidação da PTD.....130	
5.1.11. Monitoramento da reação entre a PTD e o PAF por espectrometria de massas (MS/MS).....131	
5.1.12. Monitoramento da reação entre a PTD e o PAF por espectrofotometria UV-Vis.....140	
5.1.13. Caracterização dos produtos da reação entre a PTD e o PAF por espectrometria de infravermelho (IR).....143	
5.1.14. Caracterização dos produtos de reação entre a PTD e o PAF por <sup>1</sup> H-RMN...150	
5.1.15. Reação entre a PTD e o PAF.....153	
<b>5.2. Testes de mutagenicidade e toxicidade dos produtos formados pela reação de oxidação da PTD, do PAF e da reação entre ambos.....</b>	<b>154</b>
<b>5.3. Desenvolvimento da metodologia analítica para a determinação de PTD e PAF em amostras de águas e rejeitos de salão de cabeleiros por CLAE/DAD e MS-MS.....</b>	<b>161</b>
<b>5.4. Comportamento eletroquímico da PTD e do PAF no GCE.....</b>	<b>169</b>
5.4.1. Voltametria cíclica (CV).....169	

5.4.2. Voltametria de pulso diferencial (DPV).....	172
5.4.3. Voltametria de onda quadrada (SWW).....	175
<b>5.5. Determinação eletroquímica da PTD e do PAF em fluídos biológicos.....</b>	<b>176</b>
<b>5.6. Comportamento de oxidação eletroquímica da queratina humana adsorvida no GCE (biossensor eletroquímico de queratina).....</b>	<b>179</b>
<b>5.7. Estudo eletroquímico da queratina humana desnaturada adsorvida no GCE...183</b>	<b>183</b>
<b>5.8. Estudo eletroquímico da interação da queratina capilar humana com PTD e PAF no biossensor eletroquímico de queratina.....</b>	<b>186</b>
<b>5.9. Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS).....</b>	<b>190</b>
<b>5.10. Funcionalização das NPM de grupos ácido carboxílico com L-cisteína.....</b>	<b>193</b>
<b>5.11. Caracterização das NPM-AC-LC.....</b>	<b>193</b>
<b>5.12. Comportamento eletroquímico da PTD e do PAF sobre as NPM-AC-LC.....</b>	<b>201</b>
<b>5.13. Otimização dos parâmetros eletroquímicos.....</b>	<b>204</b>
<b>6. Considerações Finais.....</b>	<b>207</b>
<b>7. Referências bibliográficas.....</b>	<b>209</b>
<b>Apêndice.....</b>	<b>231</b>

## 1. Introdução

O cabelo é um componente muito importante do corpo dos mamíferos, pois é um revestimento externo que colabora para criar uma barreira de proteção do animal e o ambiente ao qual ele está inserido (1,2). Embora não possua uma função biológica vital nos seres humanos, os cabelos possuem significados psicológicos consideráveis, tendo papel fundamental na construção da imagem e na identificação corporal de homens e mulheres (1-5).

O comprimento, cor e estilo dos cabelos são imprescindíveis para a aparência física e auto-percepção, podendo ser modificados de acordo com o desejo e de como o indivíduo quer ser visto diante dos demais (5). Diferente de outros atributos físicos, a mudança nos cabelos podem ser facilmente realizadas, sem a necessidade de se recorrer a um procedimento cirúrgico (3,4,6). Talvez por esta razão, desde a antiguidade, os homens têm desenvolvido produtos e técnicas que buscam as mais diversas mudanças e alterações nas características físicas dos cabelos como: cor, textura e forma. (1,4)

O ser humano ao longo de sua existência sempre destinou parte de seus cuidados pessoais aos cabelos, o que pode ser comprovado pela imensa quantidade de produtos cosméticos e farmacêuticos criados, cujas funções vão desde uma simples limpeza, restauração de fios danificados, alterações das características físicas, até a remediação contra a queda, a calvície e demais doenças inerentes aos cabelos. Diante da vasta variedade de produtos destacam-se os corantes capilares, que tem como função primordial devolver e/ou alterar a pigmentação natural dos cabelos. (4,7)

As tinturas capilares são classificadas, de acordo com a origem, em tinturas vegetais, onde a tintura é obtida ou extraída de plantas ou parte delas (ex. henna, camomila e cinchona), em minerais ou metálicos, onde alguns minerais ou sais metálicos são utilizados para escurecer ou clarear gradualmente os cabelos (ex. nitrato de prata ou sais de chumbo), e em sintéticas, que são classificadas de acordo com a resistência à lavagem e pelo grau de permanência. (2,8-10)

As tinturas sintéticas capilares podem ser basicamente classificadas como: temporárias, semipermanentes e permanentes (2,4,8,11-13,16-18). Dentre estas, as tinturas permanentes são as mais utilizadas e representa ao redor de 80% dos corantes usados no mercado mundial, devido principalmente à sua durabilidade, versatilidade e facilidade de aplicação. (8,12,17)

O uso de corantes capilares sintéticos aumentou significativamente ao longo dos anos em todo o planeta, isto se deve ao fato do consumidor ter uma variedade cada vez maior de produtos de diferentes marcas, composições e colorações à sua disposição. As mulheres são as maiores consumidoras, onde atualmente mais de 50% das mulheres em todo o mundo fazem o uso de tinturas de cabelos sintéticas comerciais. Dentre os homens, acredita-se que pelo menos 25% dos homens em todo o planeta fazem regularmente o uso de tinturas de cabelos sintéticas comerciais. (11,14-21)

Nos Estados Unidos, aproximadamente 33% das mulheres com idade superior a 18 anos e mais de 10% dos homens com mais de 40 anos colorem seus cabelos (8,11,22,23). Dentro deste panorama, o Brasil não fica muito atrás. Uma pesquisa realizada pelo Target Group Index mostrou que cerca de 26% da população adulta utiliza com frequência tintura para os cabelos, sendo que desse total de pessoas, 85% é composto por mulheres e 15% por homens. (8)

O processo químico de tingimento dos cabelos com corantes permanentes é bastante complexo, envolvendo múltiplos componentes com diferentes funções e baseado em processos tecnológicos desenvolvidos e aprimorados há mais de 150 anos. Em um tingimento rotineiro, o processo é basicamente norteado por complexas reações oxidativas entre duas substâncias misturadas em meio alcalino e oxidante. (8,24-27)

Uma dessas substâncias utilizadas na composição da cor de corantes capilares permanentes é o intermediário primário, que também é denominado de agente precursor. O agente precursor consiste basicamente de amins aromáticas orto e para-substituídas com grupos amino e/ou hidroxilas, tal como a *p*-fenilenodiamina (PFD), a *p*-toluenodiamina (PTD), o *p*-aminofenol (PAF) e seus derivados (2,11,13,23,27).

Outro componente utilizado na mistura é o agente acoplador ou modificador, onde são muito utilizados os derivados aromáticos meta-substituídos, tal como: *m*-fenilenodiaminas, os *m*-aminofenóis, resorcinol (RSN), naftol, dentre outros. Os acopladores são substâncias que tem a função de determinar a cor final da coloração, por meio da reação com a forma oxidada dos intermediários primários, em uma proporção molar aproximada de (1:1), seguida por outras reações de acoplamento oxidativo. (2,8,11,27)

Por fim, é utilizado um agente oxidante em meio alcalino. Preponderantemente é preferido o uso do peróxido de hidrogênio na presença de amônia. (4,8,27)

Diante desses componentes, o processo de tintura permanente ocorre com a mistura do intermediário primário e o agente acoplador em meio alcalino na presença de uma solução de

peróxido de hidrogênio. A mistura então é aplicada nos cabelos, onde os precursores, e os acopladores juntamente com o peróxido de hidrogênio difundem para o interior do fio de cabelo, onde após reações químicas específicas forma-se um composto colorido com alta massa molar que são absorvidos pelo córtex capilar. (4,8,27)

De modo geral, os compostos químicos presentes nas tinturas capilares sintéticas permanentes como precursores, acopladores, aditivos, entre outros são considerados, de certa forma, os compostos mais reativos da indústria cosmética, o que faz a formação da cor permanente um processo complexo e que envolve sequencialmente a oxidação do intermediário primário com vários acopladores. (8)

A tonalidade final da coloração depende principalmente da composição, da quantidade e da natureza dos produtos utilizados. Depende também do pH, do tempo, da temperatura de reação e da velocidade de difusão dos componentes para o interior do fio de cabelo. Deste modo, após um processo rotineiro de tintura, pode-se encontrar nas formulações de tinturas de cabelos diferentes produtos químicos imprescindíveis para desenvolvimento da cor, persistência e estabilidade, além de grande profusão de corantes com as mais diversas características. Assim, a tintura de cabelo é uma arte ditada pela cinética química de uma complexa reação e por mecanismos de difusão. (18,27)

Ao longo dos anos a PTD e o PAF veem sendo cada vez mais utilizados nas composições de tinturas capilares permanentes (8,25,28-30). Em alguns casos, como por exemplo no leste europeu, a PTD é utilizada em muitas formulações para substituir a PFD (8,28,29). Além disso, a PTD é também muito utilizada como intensificador de cor na produção de tintas para tatuagens de henna e síntese de alguns azo corantes, como o vermelho básico 2 e o marrom ácido 103. (28,30)

Atualmente, a classe das arildiaminas, a qual pertence a PFD, a PTD e seus derivados, tem preocupado cada vez mais as agências de saúde e de meio ambiente ao redor do mundo a respeito dos aspectos ambientais e toxicológicos (8,28). Isso faz que com que essas substâncias fiquem sujeitas a regras e regulamentos mais criteriosos e exigentes. A *The European Economic Community Cosmetics* determinou, em uma diretiva, valores limites de concentração máxima permitida de diversas fenilendiaminas nas composições de corantes capilares permanentes e em tinturas de henna. Esses valores são de 6% para a PFD e 10% para a PTD, desde que esses produtos apresentem excesso de acopladores em sua composição. (28)

As tinturas capilares sintéticas apresentam relativa toxicidade, onde grande parte dos principais ingredientes que compõem suas formulações, como a PFD, a PTD e o PAF apresentam propriedades de toxicidade aguda moderadas (27), bem como riscos associados a alergias e dermatites. (8,27,31-33)

As aminas utilizadas como precursores podem ser facilmente oxidadas quando expostas, por exemplo, a luz solar ou ao oxigênio dissolvido no meio (28,34,35), podendo se polimerizar e formar subprodutos de alta toxicidade, como a Base de Bandrowski (BB), que é produzida pela oxidação e posterior polimerização da PFD. (8,28,36)

A presença dos acopladores na composição das tinturas capilares tem por função formar o corante de coloração desejada, e isso faz com que a formação de subprodutos oriundos da oxidação dos precursores seja atenuada. Porém, mesmo nas condições determinadas pelo fabricante, nem todo o precursor presente na formulação reage com o acoplador, de modo que uma certa quantidade desses subprodutos é formada (28). Portanto, um estudo das propriedades, do comportamento do mecanismo de reação, dos produtos e subprodutos que são gerados dessas aminas é de grande valia e extremamente necessários para o entendimento do processo de tingimento dos cabelos como um todo.

A maioria dos estudos com foco nos riscos ao meio ambiente e à saúde humana por estes corantes, seus precursores, acopladores, aditivos e produtos secundários formados são baseados nos corantes permanentes com uso da *p*-fenilamina, da PFD e de alguns aminofenóis (8,37). No entanto, pouco se sabe ainda a respeito desses compostos, o que é bastante preocupante, pois sabe-se que algumas aminas aromáticas usadas na preparação das formulações das tinturas sintéticas, ou formadas por biodegradação e/ou por degradação parcial dos corantes usados são substâncias biologicamente ativas e podem ser absorvidas percutaneamente (38-40), o que poderia produzir efeitos mutagênicos ou carcinogênicos (38-42). Todavia, a toxicidade dos corantes de cabelos e os ingredientes usados na sua composição ainda é pouco investigada, com dados bastante conflitantes, principalmente em relação ao real risco aos consumidores. (9,11)

Além disso, poucos estudos também são encontrados com foco no monitoramento desses compostos, de seus produtos e subprodutos reacionais em amostras ambientais de águas de rejeito de salão de beleza, águas superficiais e água potável, e em amostras biológicas como sangue, urina e outros fluidos biológicos. Outro aspecto importante, e que precisa ser avaliado, é a formação dos produtos principais e secundários destas reações com outros compostos utilizados na composição das tinturas capilares, que também são pouco

estudados e podem ser formados durante o processo de tintura permanente. Isto poderia ser de alta relevância no entendimento da persistência, biotransformação, toxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e avaliação da presença dessas substâncias em amostras biológicas como sangue, urina e outros fluidos biológicos, e em amostras ambientais como efluentes de salões de cabeleireiros, água de captação de estações de tratamento de água bem como no meio ambiente como um todo, uma vez que esses efluentes são descartados no esgoto comum das cidades podendo contaminar os reservatórios de captação de água para abastecimento das cidades, ressaltando que as técnicas convencionais utilizadas para o tratamento de água não conseguem, de maneira efetiva, tratar esse tipo de resíduo. (43-45)

## **2. Revisão bibliográfica**

### **2.1. Estrutura e morfologia do cabelo humano**

Os pêlos e/ou cabelos são importantes componentes na estrutura fisiológica de um organismo animal (1,2). Presente exclusivamente nos corpos dos mamíferos, os pelos e/ou cabelos podem ser definidos como estruturas epidermais bastante especializadas. (2,7)

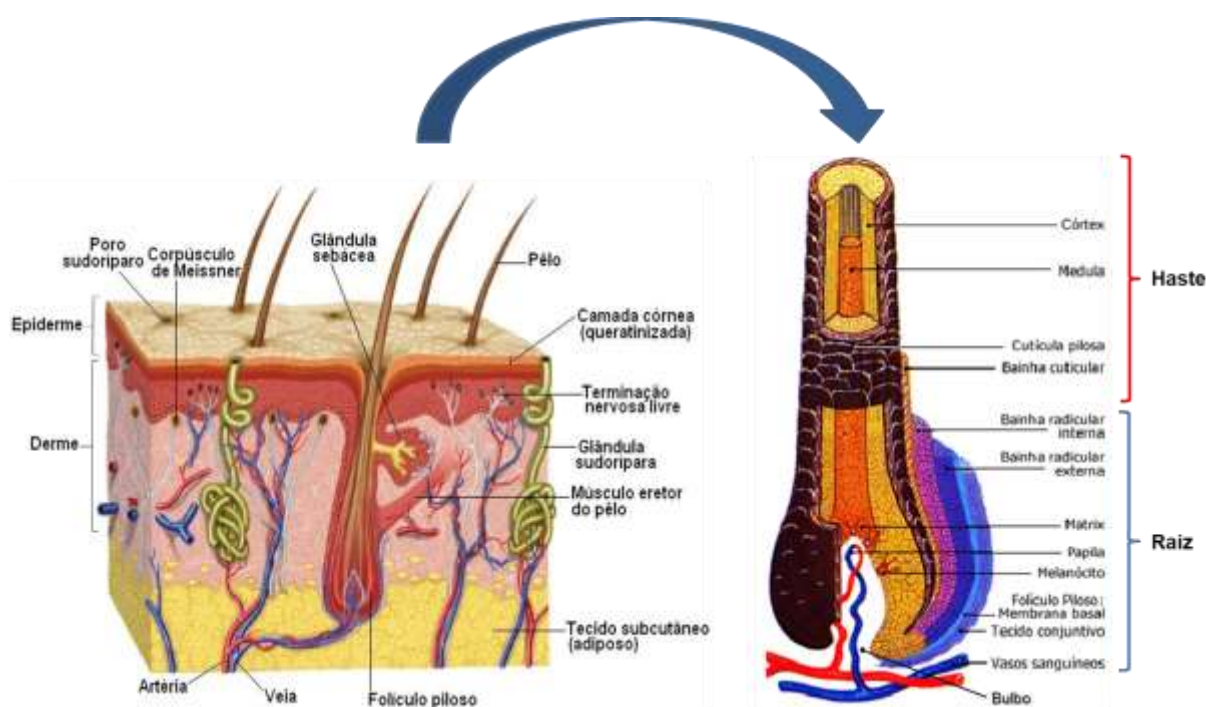
O cabelo é considerado a primeira barreira mecânica de proteção do corpo dos mamíferos contra agentes externos presentes no ambiente, protegendo o indivíduo principalmente contra as radiações solares e a abrasão mecânica. Além disso, os cabelos também atuam como isolante térmico, contribuem significativamente no aumento da superfície de evaporação do suor, auxilia nas funções nervosas e sensoriais cutâneas, e na regeneração epidérmica (1,2). Em especial, os pêlos presentes no interior das fossas nasais têm como função filtrar o ar inspirado, servindo como filtro de retenção de material particulado suspenso no ar, além de retardar o fluxo de ar para o sistema respiratório, podendo aquecer ou resfriar o ar inspirado para o interior do corpo (46). Nos seres humanos, além das funções biológicas, o cabelo tem um grande significado psicológico (1,2,5), participando da construção e no desenvolvimento da imagem corporal, comunicação e expressão de emoções (pelos das sobrancelhas), da estética e na autoidentificação dos homens e das mulheres. (2,3,4)

O cabelo consiste basicamente de uma raiz localizada na parte interna da derme e de uma haste projetada, em forma de tubo, para a parte externa da epiderme, conforme é mostrado na Figura 1. (8)

O folículo piloso ou capilar cresce longitudinalmente, de forma contínua e inclinada, dentro do canal pilárico ou poro (região que compreende desde a entrada do ducto da glândula

sebácea até a superfície da pele) até a parte externa da epiderme. Na parte inferior, o folículo piloso, Figura 1, apresenta uma região basal bastante dilatada, em formato de cebola, com um diâmetro maior em relação ao restante de sua estrutura, denominada de bulbo, que tem sua cavidade interna totalmente preenchida com um tecido conectivo denominado de papila dermal. (7,8,46)

A parte do folículo superior ao bulbo, Figura 1, que se estende através do canal pilárico, é denominada de haste. A haste do cabelo tem um formato cilíndrico e é bastante resistente as diferentes forças degenerativas como: fricção, tensão e radiação ultravioleta (46).



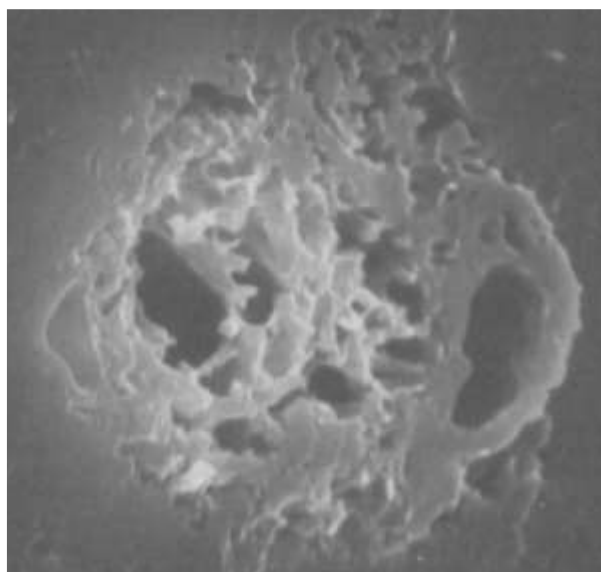
**Figura 1.** Estrutura tegumentar humana com uma unidade pilossebácea.

**Fonte:** Adaptado do site “Aula de Anatomia.com” (<https://www.auladeanatomia.com/novosite/sistemas/sistema-tegumentar>) (47), e do site “Tricologia” ([https://www.tricologia.com.br/sobre\\_cabelos\\_2.asp](https://www.tricologia.com.br/sobre_cabelos_2.asp)) (48). Acessado dia 28/12/2019.

Os cabelos são formados basicamente por um conjunto organizado de células altamente queratinizadas e se divide em quatro camadas: medula, córtex, cutícula e complexo de membrana celular (Figura 1). (7,8,13,46)

A medula é a parte mais interna e fica localizada na parte central dos cabelos (Figura 1). Geralmente é encontrada em cabelos mais grossos, ou seja, com diâmetro maior, e ausentes cabelos mais finos (7,46). Basicamente, a medula é composta por células

queratinizadas e sua estrutura é formada por inúmeros vacúolos, poros e cavidades, com espaços inter e intracelulares cheios de ar (8,46), como pode ser observado em uma imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV), Figura 2, feita da medula do interior de um fio de cabelo. A medula capilar tem como função principal armazenar a melanina (proteína responsável por proporcionar coloração aos cabelos), produzida no bulbo, e não contribui com nenhuma propriedade química ou mecânica dos fio de cabelo (7,8,13,46). Todavia, a medula está diretamente relacionada a características como brilho e tons de coloração dos cabelos. (46)



**Figura 2.** Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) da medula porosa de uma seção transversal da fibra do cabelo.

**Fonte:** Imagem adaptada do livro *Chemical and physical behavior of human hair*, 2nd ed., Chap. 1, p. 1-38. (46)

O córtex é a camada superior a medula e constitui a parte mais volumosa dos cabelos (Figura 1). É formado por células fusiformes longas, dispostas longitudinalmente e altamente queratinizadas, denominadas de células corticais (Figura 3). (7,8,13,46)

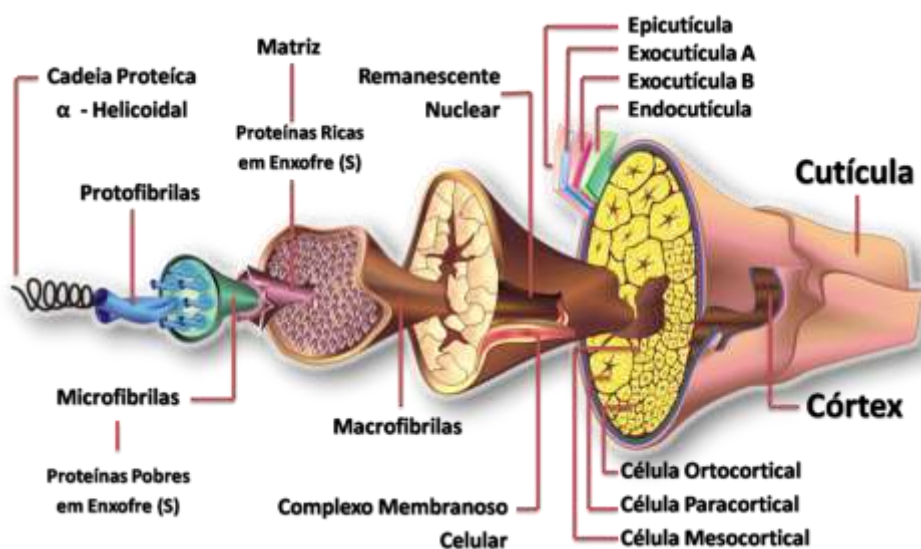
As células corticais, Figura 3, apresentam aproximadamente 100  $\mu\text{m}$  de comprimento e de 1 a 6  $\mu\text{m}$  de espessura. Essas células contêm em seu interior pequenos grânulos ou partículas ovais ou esféricas, de 0,2 a 0,8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com pigmentos, e apresentam pequenas cavidades alongadas próximo ao centro (46). As células corticais são formadas por subestruturas em forma de fuso, com diâmetro que varia de 0,1 a 0,4  $\mu\text{m}$ , denominada microfibrilas, que são constituídas por filamentos intermediários delgados altamente organizados denominados de microfibrilas, que tem um diâmetro de aproximadamente 70 Å,

que por sua vez são formadas por feixes de filamentos proteicos ordenados ao longo de um único eixo chamado de protofibrilas (Figura 3). (7,8,46).

No cabelo humano, as macrofibrilas apresentam-se compactadas em feixes com diâmetro aproximado de 2000 Å. Estes feixes estão cercados por uma matriz proteica pouco organizada e de alto teor de enxofre, conforme demonstrado na Figura 3. (7,46)

As protofibrilas são estruturas formadas por três cadeias proteicas  $\alpha$ -helicoidais de  $\alpha$ -queratina e possui um diâmetro de aproximadamente 20 Å. (7,46)

Toda estrutura do cabelo humano pode ser observada no esquema da Figura 3, e em imagens de MEV na Figura 4, que mostra detalhes da estrutura cortical do cabelo humano.

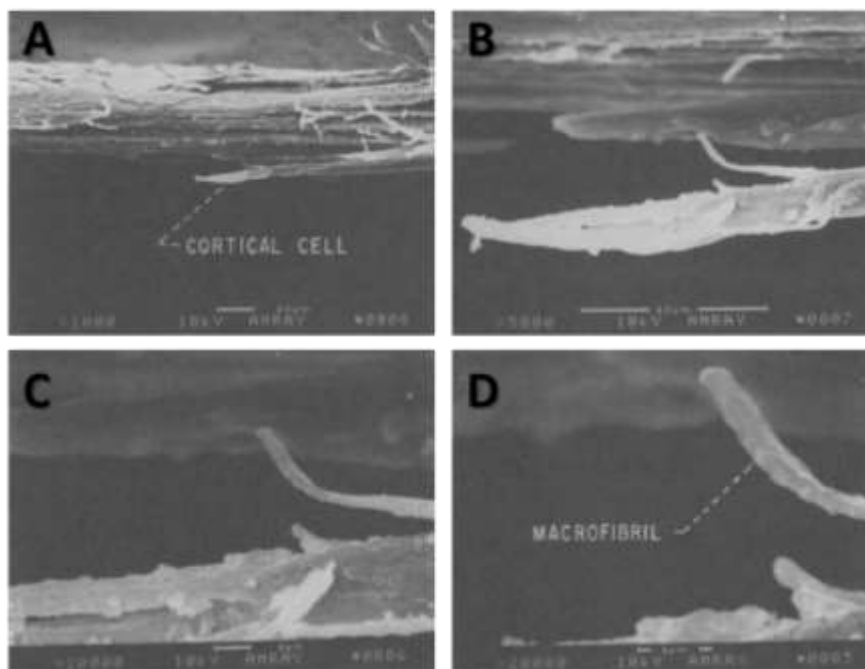


**Figura 3.** Estrutura do cabelo humano.

**Fonte:** Adaptado do site “Aula de Anatomia.com” (<https://www.auladeanatomia.com/novosite/sistemas/sistema-tegumentar>) (47), e site “Tricologia” ([https://www.tricologia.com.br/sobre\\_cabelos\\_2.asp](https://www.tricologia.com.br/sobre_cabelos_2.asp)) (48). Acessado dia 30/12/2019.

Além disso, em cabelos que apresentam pigmentação, glânulos de melanina são encontrados e estão distribuídos longitudinalmente em todas as células corticais do córtex capilar. (7,46)

A cutícula, Figura 5, é a camada mais externa e resistente do fio de cabelo, e é a principal barreira de controle de penetração de diferentes compostos e agentes químicos para o interior da estrutura do fio de cabelo. Funcionando como uma espécie de peneira molecular, a cutícula tem como principal função proteger toda a estrutura do fio de cabelo (principalmente o córtex) contra ataques químicos e mecânicos. (7,8,46)



**Figura 4.** Imagens de MEV do interior do cortéx do cabelo humano aumentada 1.000 vezes (A), 5.000 vezes (B), 10.000 vezes (C) e 20.000 vezes (D).

**Fonte:** Imagens adaptadas do livro *Chemical and physical behavior of human hair*, 2nd ed., Chap. 1, p. 1-38. (46)

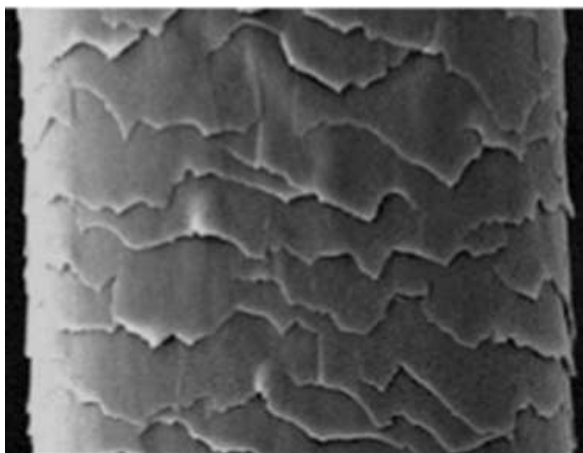
As células da cutícula, Figura 5, são translúcidas, não cristalinas, livres de pigmentação e estão ligadas na extremidade proximal (extremidade da raiz), apontando para a extremidade distal (extremidade da ponta) da fibra capilar como telhas em um telhado, apresentando uma estrutura de escamas com 6 a 10 camadas de espessura, de aproximadamente 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$  de espessura e 45  $\mu\text{m}$  de comprimento. No entanto, próximo da extremidade da raiz, a cutícula contém bordas lisas e ininterruptas, e não possui um sistema altamente organizado a nível molecular. (7,8,46)

A cutícula é altamente rica em enxofre, contendo uma porcentagem mais alta de cistina em relação as demais partes da fibra capilar e de outros aminoácidos que geralmente não são encontrados nos polipeptídeos  $\alpha$ -helicodais. É dividida em quatro partes: epicutícula, exocutícula A, exocutícula B e endocutícula, conforme mostrado na Figura 3. (7,8,46)

A exocutícula, Figura 3, é parte que tem a maior concentração de enxofre em relação a endocutícula, possuindo um maior número de ligações cruzadas de dissulfeto (S-S). (7,8,46)

Cada célula da cutícula contém uma fina membrana externa com uma espessura de 25  $\text{Å}$ , denominada de epicutícula (7,46). A epicutícula, Figura 3, é composta basicamente por ácidos graxos unidos por um material adesivo composto por uma camada fibrosa de proteína subjacente, conectada por ligações tio-éster de cisteína, de caráter hidrofóbico e bastante

resistente a condições extremas de álcalis, ácidos fortes, agentes oxidantes e redutores, e enzimas. (7,8,46)



**Figura 5.** Imagem de MEV da cutícula do cabelo humano.

**Fonte:** Imagem adaptada do livro *Chemical and physical behavior of human hair*, 2nd ed., Chap. 1, p. 1-38. (46)

Abaixo da epicutícula, Figura 3, existem três camadas: a exocutícula A, que é uma camada resistente com alto teor de cistina (> 30%); exocutícula B, também rica em cistina (aproximadamente 15%), e a endocutícula, com baixo teor de cistina (aproximadamente 3%). (46)

E finalmente, temos o complexo de membrana celular (Figura 3), que basicamente consiste de membranas celulares ligadas por um material adesivo (cimento). Essas estruturas juntas tem aproximadamente de 300 a 600 Å de espessura, e sua camada lipídica externa forma a epicutícula. A camada interna, denominada de cimento intercelular, está localizado entre as células da cutícula, consistindo de uma camada composta de proteínas com baixo teor de cistina (< 2%), com cerca de 12% de aminoácidos básicos e 17% de aminoácidos ácidos. A estrutura das bicamadas lipídicas com as proteínas da membrana incorporadas sofrem alterações conforme os cabelos crescem, embora a matriz estrutural de células adjacentes às membranas permanece inalterada. Além disso, outras conexões celulares podem aparecer entre a cutícula e as células corticais. O complexo de membrana celular e a endocutícula são comumente referidas como regiões não-queratinosas, devido ao baixo nível de aminoácidos contendo enxofre. (8,46)

Um ser humano saudável possui em média de 100 a 150 mil fios de cabelos na cabeça, com um diâmetro que varia de 15 a 110 µm. Em média os cabelos crescem a uma taxa média de 15,2 cm ao ano, com uma troca diária média de 100 fios. (46)

Existem basicamente três tipos de cabelos: cabelo lanugo ou primário, velos ou secundário e, terminal ou terciário. Os cabelos do tipo lanugo ou primário existem somente durante a vida intra-uterina, são extremamente finos, macios, relativamente longos e não pigmentados. Crescem em torno da 20ª semana de gestação e sua queda se dá entre a 32ª e 36ª semana. Posterior a queda do lanugo, crescem em praticamente todo o corpo os cabelos do tipo velos ou secundários, que são extremamente finos, curtos (comprimento menor que 1 cm) e com pouca ou quase nenhuma pigmentação. Por fim, desenvolvem-se os cabelos terminais ou terciários, normalmente mais longos e grossos comparados aos dois primeiros tipos, em todo o couro cabeludo, nas sobrancelhas, cílios, e na puberdade crescem nas axilas, região genital e no rosto dos homens (barba). (7,46)

O ciclo de vida de uma fibra capilar consiste de três estágios: anágeno (estágio de crescimento), catágeno (estágio de transição) e telogênio (estágio de repouso quando ocorre a troca do fio de cabelo), conforme é mostrado na Figura 6. Em um couro cabeludo saudável, aproximadamente 80% a 85% dos cabelos estão na fase anágena, 1% a 2% estão na fase catágena e 10% a 20% estão na fase telogênica. (46)

O estágio anágeno, Figura 6, é caracterizado por intensa atividade metabólica no bulbo capilar. Essa atividade geralmente dura de 4 a 6 anos, produzindo cabelos no couro cabeludo que podem crescer aproximadamente 100 cm de comprimento. (46)

O estágio catágeno, Figura 6, é um estágio de transição e pode durar várias semanas (2 a 4 semanas). Durante a fase catágena, a atividade metabólica diminui e a base do folículo migra para cima da pele em direção à superfície epidérmica. (46)

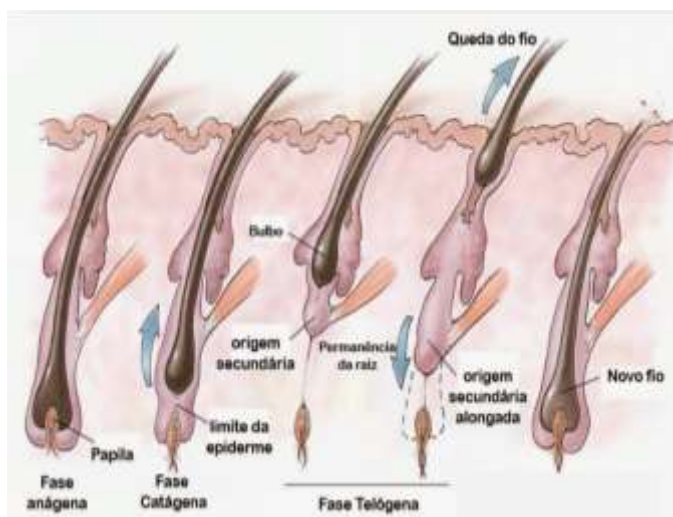
E por fim, o estágio telógeno ou de repouso, Figura 6, é quando o crescimento do cabelo para e a base do bulbo capilar se aproxima do nível do canal sebáceo. Um novo cabelo começa a crescer sob o folículo telógeno e empurra o folículo velho para cima, que acaba sendo liberado, ocasionando a troca do fio de cabelo em um processo que pode durar de 3 a 4 meses. (46)

Além disso, os cabelos terciários podem ser classificados em três tipos: cabelos lisos, ondulados, cacheados e crespos. (46)

Os cabelos lisos geralmente são mais finos, e em alguns casos por serem tão finos não apresentam medula. Sua estrutura física é formada principalmente por ligações de dissulfeto e ligações de hidrogênio horizontais (46), conforme pode ser observado na Figura 7A.

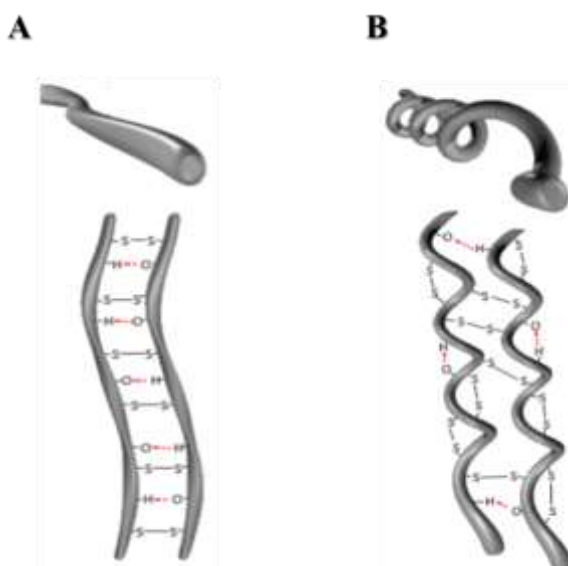
Os cabelos ondulados, cacheados e crespos apresentam fios mais grossos e um maior número de ligações de dissulfeto e ligações de hidrogênio, não só na posição horizontal, mas

também na posição vertical, o que faz com que fiquem nas suas respectivas formas ondulada, cacheada e crespa, respectivamente. Os Cabelos crespos, Figura 7B, tem um maior número de ligações de dissulfeto e ligações de hidrogênio laterais, seguido dos cabelos cacheados e por fim dos cabelos ondulados. Quando maior o número de ligações de dissulfeto e de ligações de hidrogênio laterais mais o cabelo apresentará uma forma enrolada. (46)



**Figura 6.** Estágios de crescimento do cabelo humano.

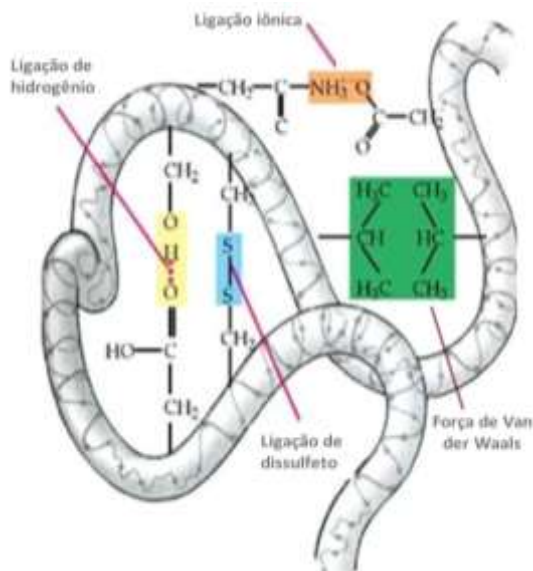
**Fonte:** Imagem adaptada do site “Cabelos e sonhos” (<https://www.cabelossonhos.com/2015/03/quais-as-fases-de-crescimento-do-cabelo.html>). Acessado dia 03/01/2020. (49)



**Figura 7.** Estrutura física do cabelo liso (A) e do cabelo crespo (B).

**Fonte:** Imagem adaptada do site “De Química no cabelo” (<https://dequimicanocabelo.blogspot.com/p/blog-page.html>). Acessado dia 03/01/2020. (50)

Porém, não existem somente ligações de dissulfeto e ligações de hidrogênio nos cabelos. Outros tipos de ligações e interações intra e intermoleculares podem estar presentes e, de certa forma, também contribuem na forma física dos cabelos, como por exemplo ligações iônicas e forças de Van der Waals (46), conforme pode ser observado na Figura 8.



**Figura 8.** Ligações e interações intra e intermoleculares presentes nos fios de cabelos.

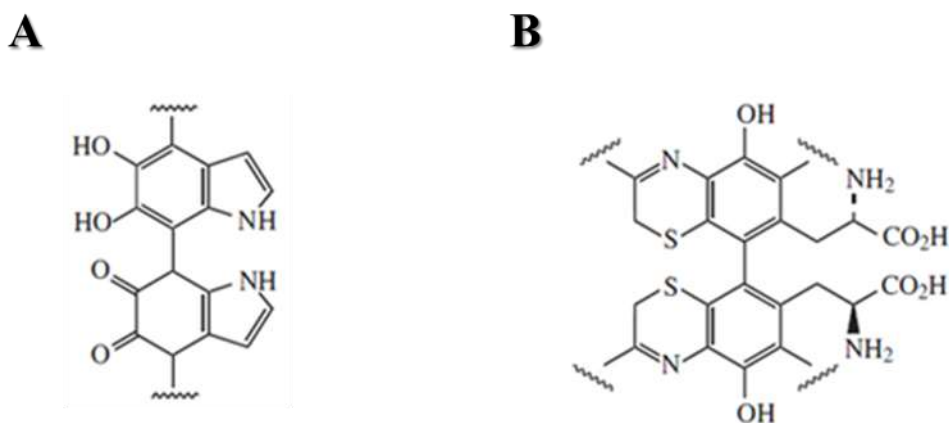
**Fonte:** Imagem adaptada do site “De Química no cabelo” (<http://dequimicanocabelo.blogspot.com/p/blog-page.html>). Acessado dia 03/01/2020. (50)

## 2.2. Coloração do cabelo humano

A coloração natural dos cabelos é controlada geneticamente e em geral está associada aos diferentes grupos raciais existentes. (13,46)

A melanina é uma proteína produzida pelos melanócitos, que estão localizados na parte inferior do bulbo capilar, Figura 1, e é responsável por dar pigmentação aos cabelos. Glânulos de melanina, com 1  $\mu\text{m}$  de comprimento e 0,3  $\mu\text{m}$  de diâmetro, são encontrados e estão distribuídos longitudinalmente em todas as células corticais do córtex capilar e na medula. (7,8,13,17,46)

Basicamente, o melanócito produz dois tipos de melaninas: a eumelanina, Figura 9A, que é responsável por dar pigmentação aos cabelos que variam do castanho ao preto, e a feomelanina, Figura 9B, que é responsável por dar pigmentação aos cabelos que variam do loiro ao ruivo. (7,8,13,17,46)



**Figura 9.** Estruturas moleculares da eumelanina (A) e da feomelanina (B).

**Fonte:** Imagem adaptada de MOREL, O. J. X.; CHRISTIE, R. M. Current trends in the chemistry of permanent hair dyeing. *Chemical Reviews*, v. 111, p. 2537-2561, 2011. (13)

Nos cabelos contém uma mistura dos dois pigmentos, e quanto maior a quantidade eumelanina mais escuro será o cabelo. Uma ampla gama de cores não decorre apenas das concentrações desses dois pigmentos, mas também o tamanho, a forma dos grânulos, os padrões de distribuição e as estruturas interferem na coloração (8,13). As cores naturais dos cabelos existem em um pequeno segmento de espaço de cores CIELAB (51), correspondendo a comprimentos de onda de absorção que variam de 586 a 606 nm, enquanto a luminosidade varia em uma ampla faixa de 2% a 90%. (13)

Embora os dois tipos de pigmentos tenham características distintas, as rotas biossintéticas estão intimamente relacionadas. Eles são formados a partir de uma série de reações enzimáticas, a partir do aminoácido tirosina (Esquema 1) como material de partida. Após a formação da dopaquinona, Esquema 1, há uma separação das vias biossintéticas, levando a formação dos dois tipos de melanina. (13)

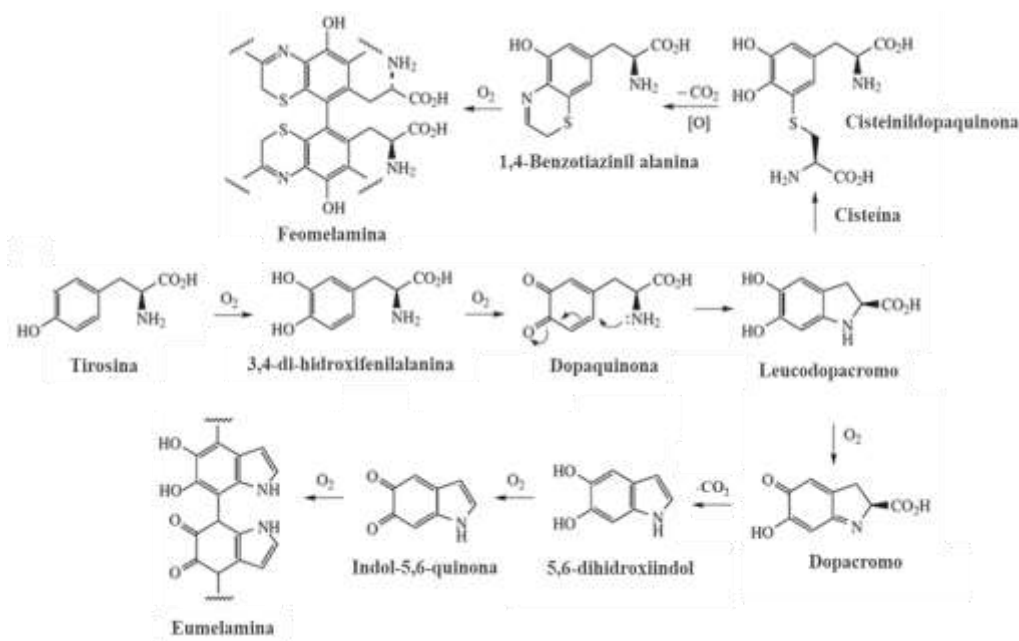
Conforme ilustrado no Esquema 1, a formação da eumelanina é realizada a partir da hidroxilação da tirosina, que é facilitada pela tirosinase. A tirosinase é uma enzima do tipo oxidase que contém quantidades vestigiais de cobre(I). A hidroxilação da tirosina forma o 3,4-dihidroxifenilalanina, que após uma oxidação, pela tirosinase, forma a dopaquinona. Após a formação da dopaquinona, ocorre uma ciclização formando o composto leucodopacromo. A oxidação do leucodopacromo formará o dopacromo, que após uma descarboxilação formará o 5,6-dihidroxiindol. Posteriormente, o 5,6-dihidroxiindol é oxidado e forma o indol-5,6-

quinona, que é um intermediário altamente reativo a partir do qual sucessivas polimerizações oxidativas leva à formação da eumelanina. (13)

A feomelamina também é derivado do leucodopacromo. Resumidamente, o Esquema 1 mostra que o leucodopacromo irá reagir com o aminoácido cisteína, por adição, para formar a cisteinildopaquinona. A cisteinildopaquinona sofre uma descarboxilação seguida de uma oxidação e forma o 1,4-benzotiazinil alanina, que após sucessivas polimerizações oxidativas leva à formação da feomelamina. (13)

Os mecanismos que conduzem as diferentes rotas biossintéticas, em direção à formação da eumelanina ou da feomelamina, são bastante complexos e permanecem ainda desconhecidos. Intermediários como a cisteinildopaquinona e seus metabólitos são encontrados no cabelo tanto de indivíduos eumelânicos, quanto em indivíduos feomelânicos, o que evidencia que o organismo tem a capacidade de produzir os dois tipos de melanina, sugerindo uma interação entre os dois caminhos. (13)

Embora a produção da melanina dos cabelos apresente alta complexidade de produção, o organismo necessita de somente duas espécies de melanina para produzir uma grande variedade de tons e cores aos cabelos, enquanto que para realizar o tingimento dos cabelos com corantes sintéticos, precisa-se de uma infinidade de compostos e corantes para se produzir uma variedade limitada de tons e cores, conforme veremos adiante. (13)



**Esquema 1.** Mecanismo de biossíntese da eumelanina e da feomelamina.

**Fonte:** Esquema adaptado de MOREL, O. J. X.; CHRISTIE, R. M. Current trends in the chemistry of permanent hair dyeing. Chemical Reviews, v. 111, p. 2537-2561, 2011. (13)

### 2.3. Composição química do cabelo humano

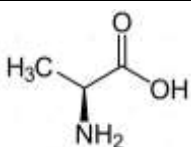
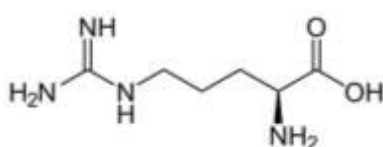
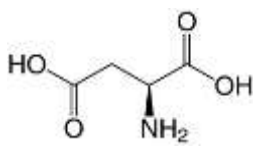
O cabelo humano é uma estrutura bastante complexa, formada por inúmeros componentes morfológicos que integram um sistema onde vários compostos agem simultaneamente. (7,13,46)

A estrutura formadora dos cabelos é composta por diferentes elementos químicos, dentre eles estão: carbono (45%), oxigênio (28%), nitrogênio (15%), hidrogênio (7%) e enxofre (5%). (46)

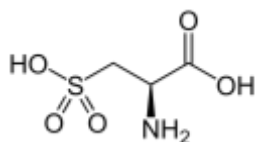
Basicamente, o cabelo humano é composto, dependendo do teor de umidade, em aproximadamente 65% a 95% de proteínas, 6% a 12% de água, 3% de lípidios estruturais e livres (colesterol, ácidos graxos, lípidos polares e ceramidas), pigmentos e oligoelementos (geralmente não livres, mas em combinação com cadeias laterais de proteínas ou com grupos de ácidos graxos ou lipídios). (7,8,46)

Por definição, as proteínas são estruturas poliméricas ou macromoléculas biológicas formadas por condensação de diferentes tipos de aminoácidos (46). O cabelo humano é formado basicamente por 21 tipos de aminoácidos (46). Os aminoácidos encontrados no cabelo humano natural, juntamente com suas estruturas e respectivas quantidades são mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Aminoácidos encontrados no cabelo humano natural.

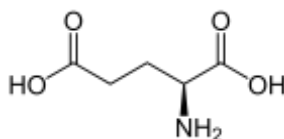
Aminoácido	Estrutura	Quantidade ( $\mu\text{mol g}^{-1}$ )
Alanina		314,0 – 384,0
Arginina		499,0 – 620,0
Ácido Aspártico		292,0 – 578,0

Ácido Cisteico



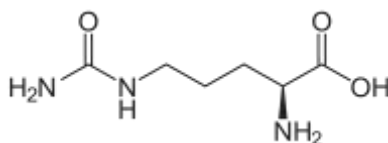
22,0 – 40,0

Ácido Glutâmico



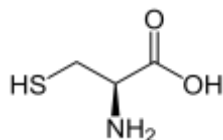
930,0 – 1036,0

Citrulina



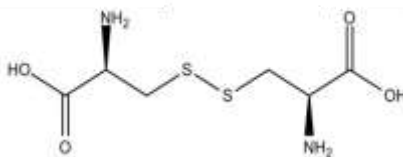
11,0

Cisteína



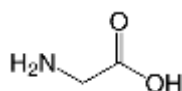
17,0 – 70,0

Cistina



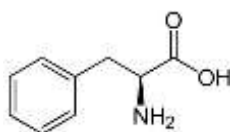
1380,0 – 1512,0

Glicina



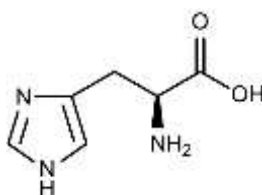
463,0 – 560,0

Fenilalanina

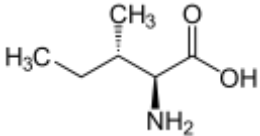
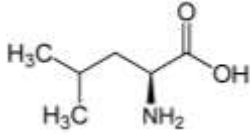
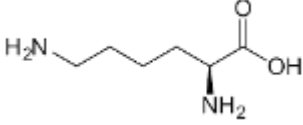
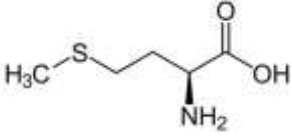
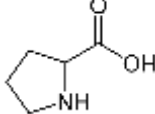
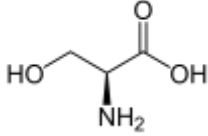
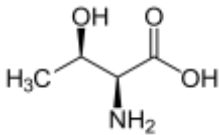
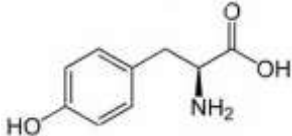
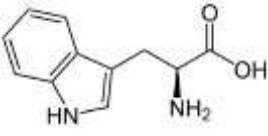


132,0 – 226,0

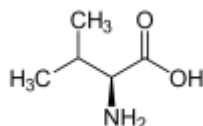
Histidina



40,0 – 86,0

Isoleucina		244,0 – 366,0
Leucina		489,0 – 529,0
Lisina		130,0 – 222,0
Metionina		47,0 – 67,0
Prolina		374,0 – 708,0
Serina		705,0 – 1091,0
Treonina		588,0 – 714,0
Tirosina		121,0 – 195,0
Triptofano		20,0 – 64,0

Valina



470,0 – 513,0

**Fonte:** Tabela adaptada do livro *Chemical and physical behavior of human hair*, 2nd ed., Chap. 2, p. 39-68. (46)

As quantidades desses aminoácidos encontrados nos cabelos humanos podem sofrer variações, conforme pode ser observado na Tabela 1. Vários fatores podem alterar significativamente a quantidade desses compostos nos cabelos, dentre eles podemos destacar: o tipo de cabelo, sexo, idade, raça, genética e alimentação do indivíduo, além de patologias relacionadas aos cabelos, intemperismo (oxigênio atmosférico e radiação solar), coloração dos cabelos, e a modificação química dos cabelos com cosméticos (alisamento e tingimento). (46)

As quantidades dos aminoácidos presentes em toda a fibra capilar variam em cada parte dos cabelos. A cutícula, por exemplo, contém maiores quantidades de cistina, ácido cisteico, prolina, serina, treonina, isoleucina, metionina, leucina, tirosina, fenilalanina e arginina, e menores quantidades de triptofano e histidina em comparação ao restante da fibra capilar. Em geral, esses resultados mostram que as células cuticulares contêm uma porcentagem maior dos aminoácidos, que geralmente não são encontrados em polipeptídeos  $\alpha$ -helicoidais no restante da fibra. Em compensação, pequenas quantidades de citrulina (aproximadamente  $11,0 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) são encontradas na fibra capilar inteira, enquanto que na cutícula é encontrada uma quantidade um pouco maior (cerca de  $45,0 \mu\text{mol g}^{-1}$ ). (46)

O córtex compreende a maior parte da massa da fibra capilar. Portanto a quantidade de aminoácidos encontrados no córtex capilar é bastante próxima à quantidade encontrada em toda a fibra capilar. O córtex médio é bastante rico em cistina (embora exista menos cistina no córtex que na cutícula), aminoácidos diácidos, lisina e histidina em comparação a cutícula. (46)

Os dois principais componentes do córtex, as microfibrilas e a matriz, são muito diferentes em relação à composição química. As microfibrilas são ricas em leucina, ácido glutâmico e aminoácidos ácidos, que geralmente são encontrados em proteínas  $\alpha$ -helicoidais. No entanto, pequenas quantidades de cistina, lisina e tirosina também são encontradas nas microfibrilas. Por outro lado, a matriz é rica em cistina, prolina e em aminoácidos ácidos. (46)

A queratina é a principal proteína que compõem os cabelos, a pele e as unhas. No cabelo humano, a queratina representa cerca de 70 a 85% do total de proteínas da fibra capilar, e apresenta um alto teor de enxofre, devido a presença de resíduos de cistina,

explicando o fato das microfibrilas presentes na matriz serem altamente ricas em cistina. (7,8,13,46,52)

A cistina é um aminoácido formado por duas moléculas de cisteína ligadas por uma ligação de dissulfeto. No entanto, nem todos os aminoácidos presentes na queratina são responsáveis pela formação de toda a cistina presente na matriz dos cabelos, onde somente cerca 10% dos resíduos de aminoácidos presentes na queratina são responsáveis pelas ligações de dissulfeto da cistina, e são essas ligações que conferem estabilidade química e física à queratina. (7,13,46,52)

Como qualquer outra proteína existente no organismo, a queratina também é um polímero formado por cadeias peptídicas oriundas da condensação, de quantidades um pouco menores, de praticamente todos os 20 aminoácidos que compõem a fibra capilar (7,13,46,52,53) (Tabela 1). A Tabela 2 mostra a composição (em porcentagem) dos aminoácidos que compõem a queratina do cabelo humano.

**Tabela 2.** Aminoácidos encontrados na queratina do cabelo humano natural.

Aminoácido	Composição (%)
Ácido Aspartico	3,9
Ácido Glutâmico	13,6
Alanina	2,8
Arginina	8,9
Cistina	18,0
Fenilalanina	2,4
Glicina	4,1
Histidina	1,2
Isoleucina	4,8
Leucina	6,4
Lisina	1,9
Melanina	1,6

---

Metionina	0,7
Prolina	4,3
Serina	10,6
Tirosina	8,5
Treonina	8,5
Triptofano	1,0
Valina	5,5

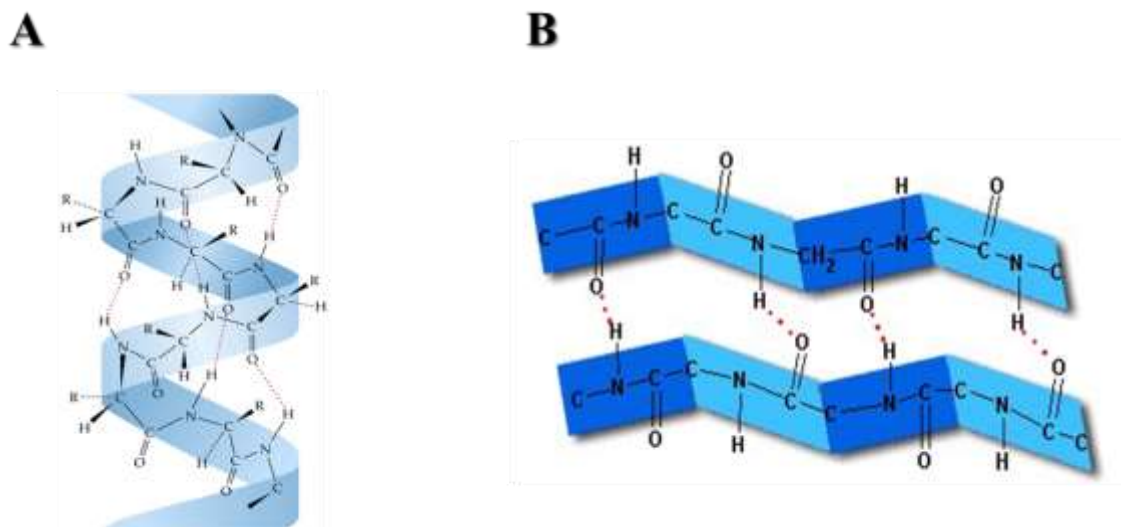
---

**Fonte:** Tabela adaptada de LANG, J. M.; LUCAS, C. C. The analysis of hair keratin: 1. Application of microbiological techniques to hydrolysates of human hair. *Biochemical Journal*, v. 52, n. 1, p. 84-87, 1952. (52)

Diante de todos os aminoácidos que compõem a estrutura da queratina (Tabela 2), apenas cinco tipos de aminoácidos são eletroativos (53-55): cisteína (56,57), tirosina (58-61), histidina (59,62), triptofano (59,60,63) e metionina (56,57).

No cabelo humano, existem dois tipos de queratina: a alfa-queratina ( $\alpha$ -queratina) que tem aparece em maior quantidade e tem a forma de  $\alpha$ -hélice, e a beta-queratina ( $\beta$ -queratina) que se apresenta na forma de folhas  $\beta$ -pregueadas (7). As estruturas da  $\alpha$ -queratina e da  $\beta$ -queratina são mostradas na Figura 10.

A nível molecular, as fibras de  $\alpha$ -queratina, Figura 10A, não são somente uma rede de cadeias polipeptídicas formadas exclusivamente por ligações de dissulfeto, mas também formadas por ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals intra e intercadeias. No entanto, existem ainda interações coulombicas entre cadeias laterais básicas com os resíduos de aminoácidos de lisina, arginina e histidina, e ácidas com resíduos de aminoácidos do ácido aspartico e glutâmico. (7,46)



**Figura 10.** Estruturas moleculares da  $\alpha$ -queratina (A) e da  $\beta$ -queratina (B).

**Fonte:** Imagens adaptadas do site “FCiências” (<https://www.fciencias.com/2014/07/31/queratina-molecula-da-semana/>). Acessado dia 03/01/2020. (64)

Todavia, as fibras da  $\beta$ -queratina são uma rede de cadeias polipeptídicas formadas quase que exclusivamente por ligações de hidrogênio (7,46), conforme pode ser observado na Figura 10B.

As fibras da queratina são formadas basicamente por regiões altamente organizadas (cristalinas) e outras pouco organizadas (amorfas). A região amorfa possui um alto teor de enxofre e conseqüentemente um maior número de ligações de dissulfeto e, é caracterizada pela liberdade de movimentos dos componentes moleculares que compõem a fibra da queratina, fazendo com que essa região tenha mais mobilidade e conseqüentemente menos ordenada, o que facilita a absorção de água e outras substâncias de tamanho molecular pequeno. A região cristalina, ao contrário da região amorfa, contém baixo teor de enxofre, é mais organizada e não permite uma liberdade tão alta de movimentos dos componentes moleculares. (7,46)

Outra característica importante da queratina é sua grande capacidade de absorver água. A forma com que a queratina absorve as moléculas de água ainda é pouco conhecida, no entanto, acredita-se que as moléculas de água são primeiramente ligadas pelos resíduos, principalmente ácidos, dos aminoácidos presentes na cadeia lateral da queratina. A essa camada de água ligada aos resíduos dos aminoácidos da cadeia lateral da queratina, liga-se a uma segunda camada de moléculas de por ligações de hidrogênio. Da mesma maneira, forma-

se a terceira e as demais camadas assim por diante, até que as moléculas de água estejam tão afastadas, da cadeia peptídica lateral da molécula de queratina, que possam ser consideradas como água livre. (7,46)

Em relação à medula, uma análise química completa ainda não foi relatada. Estudos da medula do cabelo humano são muito complicados, em detrimento da baixa solubilidade e da dificuldade em isolar esta parte da fibra capilar, uma vez que a medula está localizada no núcleo da fibra e está protegida pela cutícula e pelo córtex, que apresentam uma lenta taxa de difusão. No entanto, experimentos realizados com fibra de lã mostraram que a medula apresenta um baixo teor de cistina e grandes quantidades de aminoácidos ácidos e básicos em relação ao restante da fibra. (46)

Semelhante à medula, não há dados publicados em relação a composição química da epicutícula. Porém, em análises realizadas em fibra de lã, mostraram que a epicutícula é bastante rica em aminoácidos dicarboxílicos, ácido aspártico e ácido glutâmico. (46)

O complexo de membrana celular humano apresenta uma composição de 20% a 30% de ácidos graxos e 60% a 70% de proteína, sendo muito rico em lisina e com baixo teor de cistina (cerca de 2%). Acredita-se que o complexo da membrana celular seja do tipo lipídico e contenha quantidades significativas de colesterol livre, ácidos graxos livres e triglicérides. (46)

De acordo com a Tabela 1, é possível observar altas quantidades relativas de hidrocarbonetos, hidroxilas, amidas primárias, funções básicas de aminoácidos e de dissulfetos. Possivelmente, a alta quantidade de aminoácidos contendo hidrocarbonetos evidencia que as interações hidrofóbicas terão um papel importante na reatividade dos cabelos com produtos e ingredientes cosméticos, como por exemplo, os corantes de cabelos. (7,46)

Quantidades de lipídios aparecem tanto na parte externa (superfície), quanto na parte interna dos cabelos. Os lipídios internos são em parte lipídios livres e lipídios que compõem a estrutura do complexo de membrana celular. Os lipídios dos cabelos são semelhantes em composição aos lipídios encontrados no couro cabeludo, assim o couro cabeludo serve como um sistema de fornecimento lipídico contínuo para os cabelos, sendo produzidos e controlados hormonalmente por secreções andrógenas oriundas das glândulas sebáceas. (7,13,46)

A composição lipídica presente nos cabelos é derivada do sebo e consiste principalmente de ácidos graxos livres e gorduras neutras (ésteres, ceras, hidrocarbonetos e álcoois). Exames realizados em cabelos de homens adultos foram encontrados 56,1% dos

lipídios na forma de ácidos graxos livres e 41,6% como gorduras neutras. Além disso, ácidos graxos saturados e insaturados com cadeia composta de 5 a 22 átomos de carbono foram encontrados na gordura capilar humana. Todavia, fatores como sexo, raça, idade, tipo de cabelo e utilização de produtos cosméticos podem interferir na quantidade e no tipo de lípidos encontrados nos cabelos. (46)

Os cabelos oleosos diferem dos cabelos secos em relação a composição lipídica. Em indivíduos de cabelos secos, é predominantemente encontrado em sua composição lipídica o ácido octadecenóico (ácido oleico), enquanto que em indivíduos de cabelos oleosos o ácido 8-octadecenóico foi predominante. No entanto, a principal diferença entre os cabelos oleosos e os cabelos secos está nas características reológicas dos lipídios presentes no sebo. Por exemplo, indivíduos de cabelos lisos provavelmente tem uma maior proporção de ácidos graxos insaturados em relação aos saturados nos cabelos, isso faz com que o ponto de fusão do sebo fique menor, tornando-o mais fluido ou mais oleoso em relação aos indivíduos que possuem cabelos secos. (46)

Nos cabelos, o conteúdo mineral é geralmente muito baixo, menor que 1%. Independentemente da origem ou do tipo de cabelo, o principal conteúdo metálico dos cabelos provavelmente existe como parte integrante da estrutura da fibra, na forma de sais ou de complexos de coordenação nas cadeias laterais das proteínas ou dos pigmentos. (46)

O teor total de cinzas do cabelo humano é também relativamente baixo e varia entre 0,55% a 0,94%. Grande parte dos oligoelementos encontrados no cabelo humano veem principalmente do suor liberado pelos poros presentes no couro cabeludo, e os principais oligoelementos encontrados são: cálcio, mágnesio, estrôncio, boro, alumínio, sódio, potássio, zinco, cobre, manganês, ferro, prata, ouro, mercúrio, cromo, chumbo, antimônio, titânio, tungstênio, vanádio, molibidênio, iodo, fósforo e selênio. Porém, a dieta, poluição do ar, irregularidades metabólicas e utilização de produtos cosméticos, como por exemplo shampoo, sabão e corante de cabelos podem interferir na composição e na quantidade desses oligoelementos. (46)

Características como a coloração dos cabelos podem interferir na composição mineral dos cabelos. Cabelos ruivos, por exemplo, apresentam um teor de ferro maior em comparação com cabelos de outras cores. (13,46)

Nos últimos anos, a análise de compostos nos cabelos veem se tornando uma ferramenta muito importante e poderosa em diagnósticos de intoxicação (por exemplo metais

pesados) e indicativos de algumas doenças como diabetes, Kwashiorkor, fibrose cística, fenilcetonúria e dislexia pela deficiência e excesso de alguns minerais. (46)

## **2.4. Tinturas de cabelos**

O ser humano ao longo de sua existência sempre destinou parte de seus cuidados pessoais aos cabelos, o que pode ser comprovado pela grande quantidade de produtos cosméticos e farmacêuticos desenvolvidos. Diante desta vasta variedade de produtos disponíveis, destacam-se os corantes capilares que tem como objetivos devolver e/ou alterar a pigmentação natural dos cabelos. (4,7,43-45,66,67)

A mudança de coloração dos cabelos é um dos adornos mais antigos da história humana, com uma trajetória longínqua com diversas comprovações científico-históricas (8). No Egito foram encontradas múmias, de aproximadamente 4000 mil anos de idade, que tinham os cabelos tingidos com henna. No império romano, os homens utilizavam pentes embebidos em uma solução de sulfeto de chumbo e vinagre. Esta reação ocasionava a formação de acetato de chumbo, que era utilizado com o objetivo de escurecer gradualmente os cabelos grisalhos com uma coloração marrom escura. Outro método também utilizado pelos homens, no escurecimento dos cabelos grisalhos, era expor os cabelos à fumaça sulfurosa. Nesta mesma época, as mulheres utilizavam a lixívia (soda cáustica) para descolorir os cabelos. (8,11,37)

Outras evidências históricas retratam ainda o uso de diversos extratos de plantas no tingimento dos cabelos. A noqueira, por exemplo, era bastante usada para tingir os cabelos com a cor marrom. A camomila era utilizada para o tingimento com a cor amarela, e a henna combinada com índigo para o tingimento com a coloração preto escuro. (8,11,37)

O tingimento oxidativo dos cabelos tem sido praticado por mais de 150 anos e, evoluiu a partir da observação das propriedades da PFD pelo químico Dr. August Wilhelm Von Hofmann em 1863. A PFD é um composto incolor, que quando exposto a um ambiente oxidativo, por exemplo oxigênio atmosférico ou pelo uso de agente oxidante, produz um produto de coloração marrom aos cabelos (8,11,14,37). Mas, somente em 1883, com Monnet, surgiu a primeira patente relacionada à oxidação e o tingimento de cabelos humanos, utilizando novamente da PFD e da PTD como precursores de corantes capilares. Assim, com o conhecimento cada vez maior de sua potencialidade, a PFD passou a ser muito utilizada e fazer parte da composição de praticamente todos os produtos atuais destinados a coloração dos cabelos. (8,11,14-16,37)

Entre 1888 e 1897, os irmãos e químicos Hugo e Ernst Erdmann aumentaram ainda mais a gama de compostos que poderiam ser utilizados na coloração dos cabelos, dentre esses compostos podemos destacar o PAF e seus derivados, N-alkil e N-fenil-*p*-fenilenodiaminas, 4,4'-diaminodifenilamina e 1,5-diamino e 1,5-dihidroxi-naftaleno. Suas patentes também são notáveis em relação as vantagens do uso de peróxido de hidrogênio como agente oxidante no processo de tingimento. (16,17)

No entanto, as tinturas de cabelos sintéticas só ganharam aceitação após a invenção da primeira marca comercial de corante de cabelo sintético, denominada Aureole<sup>®</sup>, em 1909 por Eugène Schueller, químico e fundador da empresa L'Oreal<sup>®</sup>. Seguindo o mesmo caminho, o químico e fundador da empresa Clairol<sup>®</sup>, revolucionou o mercado de corantes capilares, criando em 1931 um shampoo chamado Clairol<sup>®</sup>, que tonalizava instantaneamente os cabelos e que foi utilizado por milhões de mulheres em todo o mundo. Shampoo, que mais tarde, em torno de 1950, passou por um processo de reformulação de sua composição e tornou o processo de tingimento dos cabelos mais eficiente e sem a necessidade do uso de agentes oxidantes. (8,18,19)

As tinturas de cabelos são classificadas de acordo com a origem em tinturas vegetais, minerais e sintéticas. (2,8-10,66)

As tinturas vegetais são obtidas ou extraídas de plantas ou de parte delas (ex. henna, camomila e cinchona). Essas tinturas, na sua grande maioria, não são tóxicas e tem um curto período de duração. (2,8-10)

As tinturas minerais ou corantes metálicos são obtidas de alguns minerais ou sais metálicos (ex. nitrato de prata ou sais de chumbo). No entanto, o procedimento de tingimento dos cabelos, com esses tipos de corantes, exige o uso diário e contínuo desses minerais e tem duração de somente algumas semanas ou até meses. Por serem compostas principalmente de sais de metais pesados, essas tinturas são potencialmente tóxicas e são incompatíveis com peróxido de hidrogênio. (2,8-10)

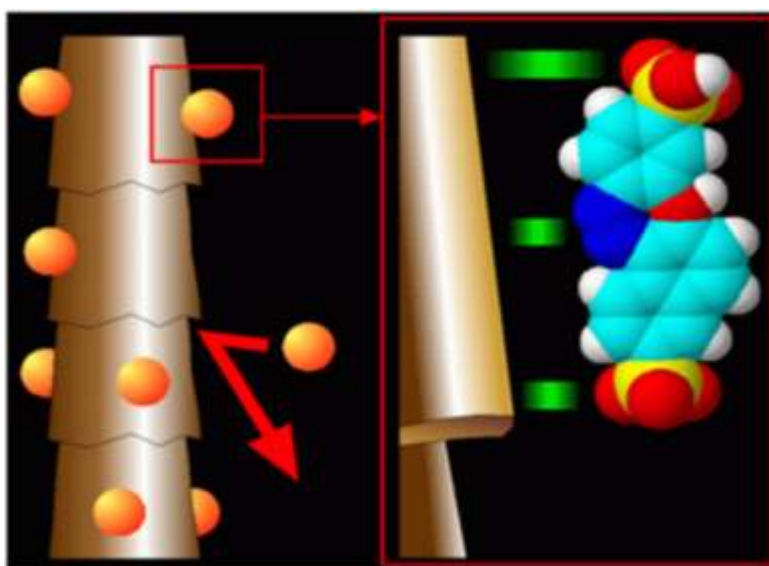
As tinturas capilares sintéticas, como o próprio nome nos diz, são obtidas artificialmente e são classificadas de acordo com a resistência à lavagem e pelo grau de permanência nos cabelos em corantes temporários, semi-permanentes e permanentes. (2,8,11-13,21,44,66)

As tinturas temporárias são bastante utilizadas pela indústria no tingimento de lã, seda, algodão, papel e alimentos. Por apresentarem baixa toxicidade aos seres humanos, algumas dessas tinturas são utilizadas também como corantes capilares. Os corantes temporários são

bastante utilizados pelas mulheres, principalmente com o objetivo de esconder cabelos grisalhos ou para obtenção de cores mais vibrantes aos cabelos. São comercializados na forma de shampoos, condicionadores, loções e géis com diferentes tonalidades de cor. (9,10,68)

Os corantes do tipo temporários são corantes básicos ou ácidos, de alto peso molecular, e altamente solúveis em água. Esse tipo de tintura capilar não necessita da abertura da cutícula, portanto o corante acaba não penetrando e não se difundindo para dentro da estrutura da fibra capilar (cortéx), e por isso não requer o uso de amônia e nem de agentes oxidantes, diferentemente dos corantes do tipo semi-permanente e permanente. Os corantes temporários ficam depositados na parte externa do fio de cabelo, mais precisamente na cutícula, por ligações iônicas ou forças e/ou interações intermoleculares fracas temporárias com os grupos terminais dos resíduos de aminoácidos presentes na fibra capilar, conforme é mostrado na Figura 11. Por esse motivo, sua coloração se mantém nos cabelos por alguns dias e é facilmente removida com uma simples lavagem dos cabelos. (9,10,68)

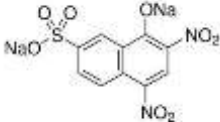
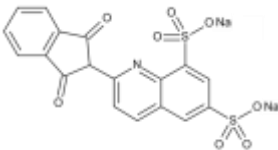
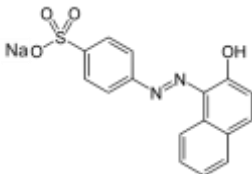
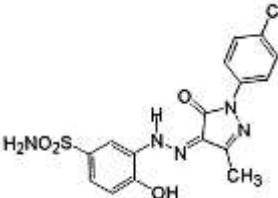
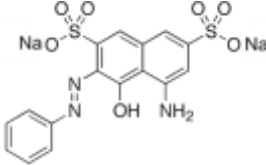
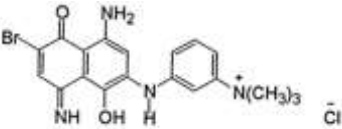
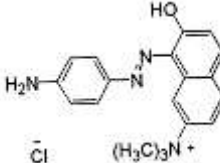
A Tabela 3 mostra a estrutura química de alguns corantes temporários ácidos e básicos utilizados no tingimento dos cabelos.



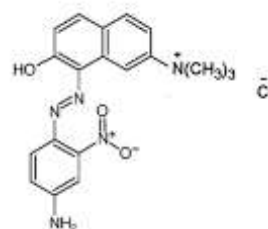
**Figura 11.** Fixação dos corantes capilares temporários na fibra capilar.

**Fonte:** Imagem adaptada do site “A química da beleza” (<https://www.quimicadabeleza.com/a-arte-de-colorir-os-cabelos/>). Acessado dia 22/01/2020. (69)

**Tabela 3.** Corantes temporários ácidos e básicos utilizados no tingimento dos cabelos.

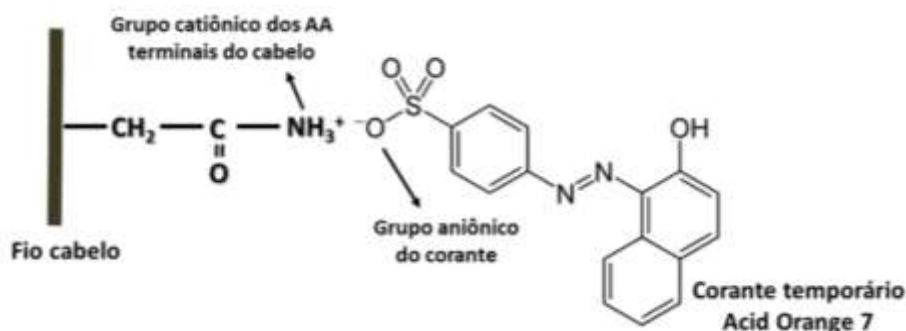
Nome do corante	Estrutura química
Acid Yellow 1	
Acid Yellow 3	
Acid Orange 7	
Acid Orange 87	
Acid Red 33	
Basic Blue 99	
Basic Brown 16	

## Basic Brown 17



**Fonte:** Tabela adaptada de OLIVEIRA, R. A. G.; ZANONI, T. B.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. *Química Nova*, v. 37, n. 6, p. 1037-1046, 2014. (8)

Os corantes ácidos, Tabela 3, são corantes aniônicos e sua fixação na fibra capilar é feita por ligações iônicas entre os grupos aniônicos presentes em sua estrutura e os grupos catiônicos dos resíduos de aminoácidos presentes na cutícula da fibra capilar (9,70). Como exemplo, o Esquema 2 ilustra a fixação do corante temporário ácido Acid Orange 7 na fibra do fio de cabelo.



**Esquema 2.** Mecanismo de fixação do corante temporário Acid Orange 7 na fibra do fio de cabelo.

**Fonte:** Autor.

Os corantes básicos (Tabela 3) são corantes catiônicos e se ligam às fibras do fio de cabelo por interações eletrostáticas dos grupos catiônicos presentes em sua estrutura e os grupos aniônicos dos resíduos de aminoácidos presentes na cutícula da fibra capilar (9,70). O Esquema 3 ilustra a fixação do corante temporário básico Basic Red 76, como exemplo do mecanismo de fixação dos corantes básicos na fibra do fio de cabelo.



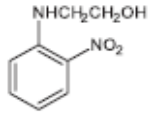
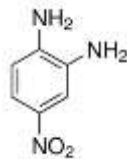
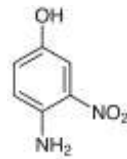
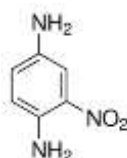
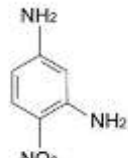
**Esquema 3.** Mecanismo de fixação do corante temporário Basic Red 76 na fibra do fio de cabelo.

**Fonte:** Autor.

Os corantes do tipo semipermanentes ou tonalizantes são os mais populares entre as mulheres, pois esse tipo de corante proporciona uma mudança rápida na tonalidade dos cabelos sem interferir drasticamente na alteração da cor. Como não há a presença de peróxido de hidrogênio em sua formulação, não é possível realizar o clareamento dos cabelos, mas é possível escurecer mais de três tons a cor natural dos cabelos. Responsáveis por uma parcela de 10% do mercado de corantes em todo o mundo, os corantes semipermanentes também são encontrados na forma de shampoos, loções e sprays com diferentes cores e tonalidades. (9,24,71)

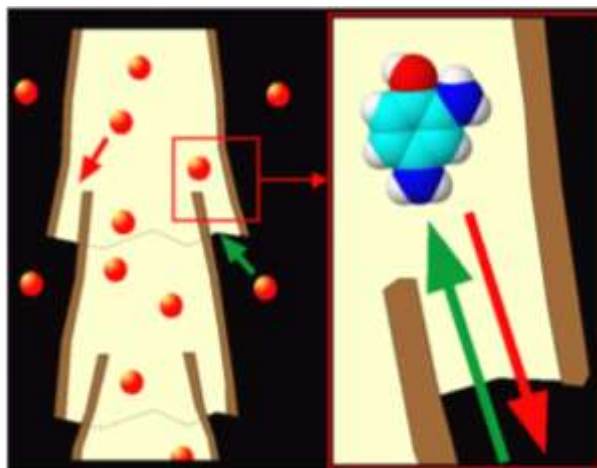
Os corantes semipermanentes são corantes derivados de nitro compostos (principalmente nitrobenzeno), geralmente são caracterizados por nitroanilinas, nitrofenilenodiaminas e nitroaminofenóis (9,24). As tinturas semipermanentes, em sua grande maioria, possuem peso molecular baixo, e contém diferentes grupos auxocrômicos, que acentuam a coloração do grupo nitro (grupo cromóforo) presente na estrutura química do corante (9,24). Para a obtenção da coloração desejada, em algumas formulações são misturados de 10 a 12 corantes diferentes (9,71). No entanto, é possível encontrar em algumas formulações de corantes semipermanentes alguns corantes temporários ácidos e básicos que contêm grupamentos  $-COOH$  ou  $-SO_3H$  em sua estrutura, como por exemplo o Acid Orange 7, Acid Violet 43, Basic Red 22 e o Basic Blue 47 (9,24,68). A Tabela 4 mostra a estrutura química de alguns compostos utilizados como corantes semipermanentes no tingimento dos cabelos.

**Tabela 4.** Compostos utilizados como corantes semipermanentes no tingimento dos cabelos.

Composto	Estrutura química
N-(2-hidroxiethyl)- <i>o</i> -nitroanilina	
4-nitro- <i>o</i> -fenilenodiamina	
4-amino-3-nitrofenol	
2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina	
4-nitro- <i>m</i> -fenilenodiamina	

**Fonte:** Tabela adaptada de OLIVEIRA, R. A. G.; ZANONI, T. B.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. Química Nova, v. 37, n. 6, p. 1037-1046, 2014. (8)

Aplicados sobre os cabelos, os corantes semipermanentes penetram superficialmente no córtex capilar e ficam fixados por interações polares fracas e interações de Van der Waals, conforme é mostrado na Figura 12. Isso faz com que a coloração permaneça por dias ou até semanas, dependendo da frequência em que os cabelos são lavados. Em média, os corantes semipermanentes suportam de 6 a 12 lavagens. (9,71)



**Figura 12.** Fixação dos corantes capilares semipermanentes no interior da fibra capilar.

**Fonte:** Imagem adaptada do site “A química da beleza” (<https://www.quimicadabeleza.com/a-arte-de-colorir-os-cabelos/>). Acessado dia 22/01/2020. (69)

As tinturas de cabelos do tipo permanentes são as mais utilizadas em todo o mundo, representando cerca de 70 a 80% do mercado mundial de corantes. Isso é devido a sua versatilidade, facilidade de aplicação, maior durabilidade e maior opção de cores. (12,13,43,44,66)

O processo de tingimento dos cabelos com corantes permanentes é bastante complexo e envolve múltiplos componentes com diferentes funções. Em um tingimento rotineiro, o processo é norteado por complexas reações oxidativas entre duas substâncias misturadas em um meio alcalino e oxidante. Uma dessas substâncias é o intermediário primário ou precursor, que consiste de aminas aromáticas *orto* e *para*-substituídas com grupos amino e/ou hidroxilas, tais como a PFD, PTD, PAF e seus derivados. No entanto, a quantidade desses precursores nas tinturas de cabelos variam de acordo com a cor pretendida, entre 0,05% para tons mais claros e 1,5% para tons mais escuros. (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72)

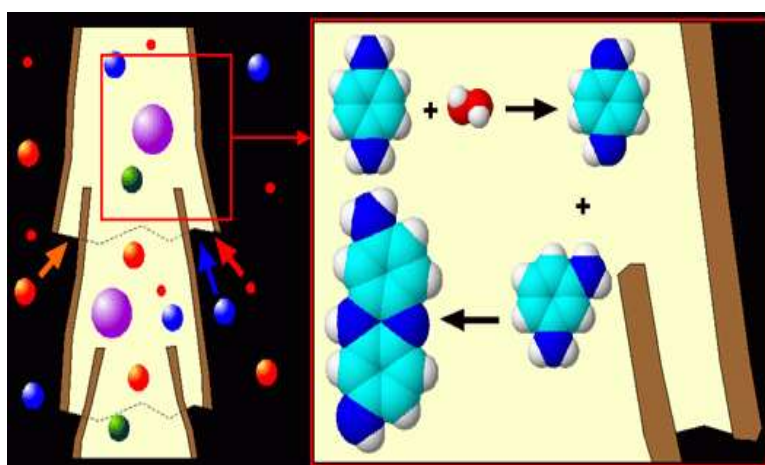
O agente acoplador ou modificador é outro componente utilizado na mistura, e dentre esses compostos destacamos muitos derivados aromáticos *meta*-substituídos, tal como *m*-fenilenodiaminas, *m*-aminofenóis, RSN, naftol e outros. Portanto, os acopladores são substâncias doadoras de elétrons e tem a função de determinar a cor final da tintura, por meio de reação com a forma oxidada dos precursores, em uma proporção molar aproximada de (1:1), seguido por outras reações de acoplamento oxidativo. (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72)

Por fim, outra substância utilizada é o agente oxidante em meio alcalino. Preponderantemente é preferido o uso do peróxido de hidrogênio, porém podem ser utilizados em menor escala o peróxido de uréia, percarbonato de sódio ou perborato de sódio na

presença de amônia. O agente oxidante em meio alcalino tem a função de oxidar o agente precursor e os demais produtos intermediários formados na mistura, com a intenção de adquirir uma coloração específica desejada. Além disso, a presença do agente oxidante na composição das tinturas capilares permanentes tem ainda a função de clarear a melanina do fio de cabelo, fazendo com que os corantes permanentes sejam a única classe de tintura capilar que permite clarear os cabelos. (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72)

A amônia é o agente alcalinizante mais utilizado, por ser um efetivo branqueador da pigmentação natural dos cabelos, por otimizar a velocidade de oxidação dos precursores, além de promover a tumefação e a abertura das cutículas, facilitando a absorção dos corantes e do peróxido de hidrogênio. Entretanto, outros agentes alcalinizantes são utilizados em diferentes formulações, como por exemplo a monoetanolamina e o aminometilpropanol. (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72)

Diante desses componentes, o processo de tintura permanente ocorre com a mistura do precursor e do agente acoplador, em meio alcalino (pH entre 8 e 10), na presença de peróxido de hidrogênio. Essa mistura irá formar um creme, que é aplicado diretamente nos cabelos, fazendo com que os precursores e acopladores juntamente com o peróxido de hidrogênio sejam difundidos para o interior da fibra do fio de cabelo, onde após um período aproximado de 40 minutos, reações químicas específicas formam um composto colorido, de alta massa molar, que será absorvido pelo córtex capilar (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72), conforme ilustrado na Figura 13. Um exemplo dessa reação, entre o precursor PFD e o acoplador RSN, em meio alcalino oxidativo pode observado no Esquema 4.



**Figura 13.** Fixação dos corantes capilares permanentes no interior da fibra capilar.

**Fonte:** Imagem adaptada do site “A química da beleza” (<https://www.quimicadabeleza.com/a-arte-de-colorir-os-cabelos/>). Acessado dia 22/01/2020. (69)

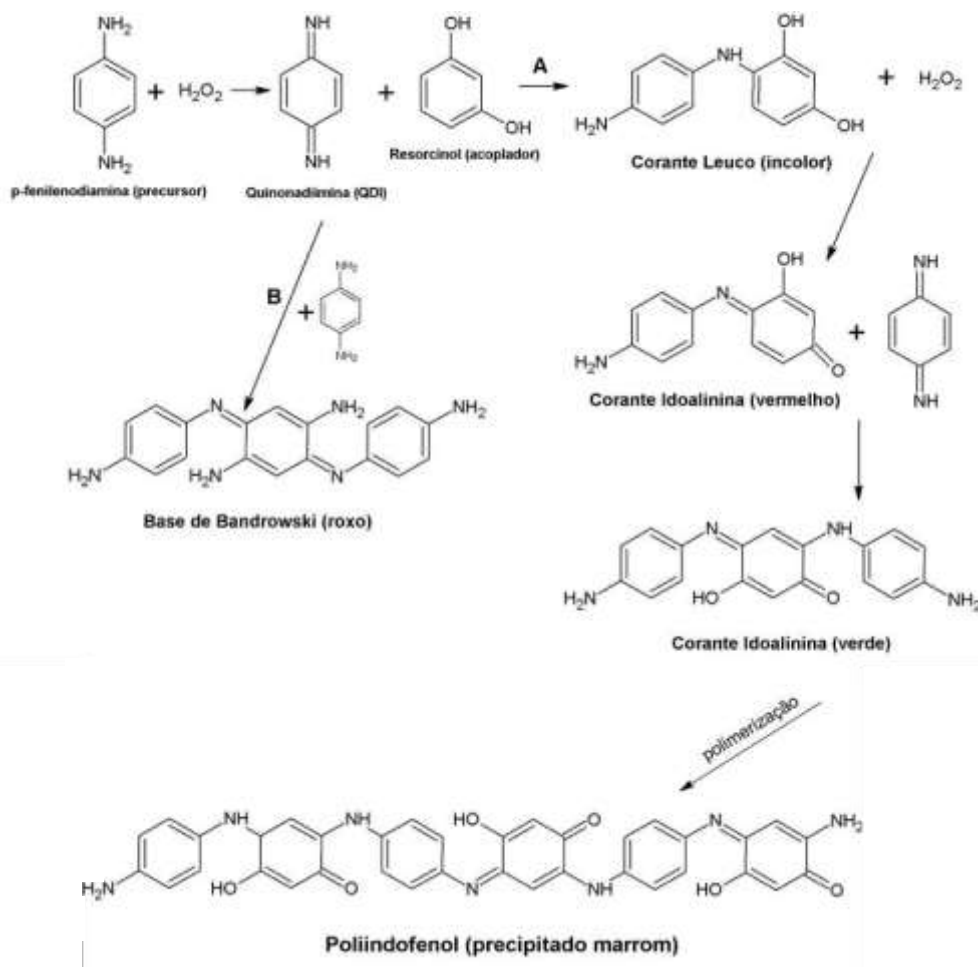
Um exemplo da reação de formação dos corantes permanentes, pelo precursor PFD e acoplador RSN, em meio alcalino oxidativo pode observado no Esquema 4. O Esquema 4 ilustra a reação entre o precursor PFD, oxidado por peróxido de hidrogênio em meio alcalino na presença do RSN como agente acoplador. Essas substâncias incolores reagem entre si formando compostos coloridos após a penetração no córtex capilar, proporcionando uma cor persistente e estável aos cabelos. Na primeira etapa da reação, rota “A” (Esquema 4), há a oxidação da PFD em quinonadiimina (QDI), que posteriormente reage com o acoplador nucleofílico (RSN) para formar o Corante Leuco, que é incolor. Este sofre uma oxidação e é convertido no Corante Idoalinina, que apresenta uma coloração vermelha, dentro do fio de cabelo. O Corante Idoalinina reage com uma molécula do intermediário primário QDI formando o Corante Idoalinina de coloração verde, que por sua vez continua polimerizando até a formação de uma grande cadeia polimérica (Poliindofenol). O Poliindofenol é caracterizado pela formação de um precipitado de coloração marrom, ao qual também propicia coloração idêntica aos cabelos. (8,24,26,27)

A presença dos acopladores na composição das tinturas capilares tem por função orientar a reação no sentido de formar o corante de coloração desejada, e isso faz com que a formação de subprodutos oriundos da oxidação dos precursores seja atenuada. Porém, mesmo nas condições determinadas pelo fabricante, nem todo o precursor reage com o acoplador, de modo que uma certa quantidade desses subprodutos é formada. (2,9,11-13,21,25-27,43,44,66,72)

As aminas utilizadas como precursores nas formulações dos corantes permanentes, podem ser facilmente oxidadas quando expostas a luz, oxigênio dissolvido no meio e a agentes oxidantes (ex. peróxido de hidrogênio), podendo se polimerizar e formar subprodutos de alta toxicidade, como pode ser observado na Rota “B” do Esquema 4, através da autooxidação e polimerização da PFD formando a BB, subproduto de coloração roxa altamente tóxico (8,24,26,27)

De modo geral, o tingimento dos cabelos com corantes permanentes é um processo complexo que envolve sequencialmente a oxidação de um ou mais precursores com um ou vários acopladores presentes nas formulações desses corantes. Neste tipo de coloração, o tempo de reação é de fundamental importância, pois o período de oxidação em um processo de tingimento rotineiro varia de 30 a 50 minutos. Além disso, o tingimento dos cabelos com esse tipo de tintura, deve ser realizada a temperatura ambiente, já que em altas temperaturas outros tecidos podem sofrer tingimento além dos cabelos. (8,11,24-27)

A tonalidade final da coloração depende da composição, quantidade e da natureza de todos os produtos utilizados. Depende ainda do pH, do tempo, temperatura de reação e da velocidade de difusão dos componentes para o interior da fibra do fio de cabelo. Assim, o tingimento dos cabelos com corantes permanentes é uma arte ditada pela cinética química de uma complexa reação e dos mecanismos de difusão envolvidos no processo. (8,27)



**Esquema 4.** Processo químico de tingimento dos cabelos e os principais produtos formados, pela reação química entre a PFD e o RSN, na presença de peróxido de hidrogênio e amônia.

**Fonte:** Esquema adaptado de OLIVEIRA, R. A. G.; ZANONI, T. B.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. *Química Nova*, v. 37, n. 6, p. 1037-1046, 2014. (8)

## 2.5. Toxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade e genotoxicidade das tinturas de cabelos

A contaminação por corantes capilares ocorre principalmente por via de exposição dérmica no procedimento de tintura capilar. No processo de tingimento dos cabelos, os corantes são aplicados nos cabelos e entram em contato direto com o couro cabeludo, e parte das substâncias, intermediários de corantes e corantes propriamente ditos, que compõem as formulações de corantes capilares, podem penetrar na pele do couro cabeludo pelos poros e atingir a corrente sanguínea, contaminando os indivíduos que fazem o uso desses produtos. (27,38-40)

Muitos estudos, sobre a absorção percutânea de corantes capilares oxidativos e diretos em humanos, mostraram uma absorção variando de 0,21 a 1,77% da concentração inicial de corante capilar aplicada (27,40). Para a PTD, na pele humana, foi encontrada uma faixa de absorção percutânea de 2,06 a 3,56%. (27)

Após a absorção percutânea, parte desses compostos é metabolizada, principalmente por acetilação, na pele humana pela enzima N-acetiltransferase 1 (NAT1), que é encontrada predominantemente na pele dos mamíferos, e pela enzima N-acetiltransferase 2 (NAT2) encontrada no fígado (27,73,74). Para a PTD, os principais metabólitos encontrados são a N'-acetil-*p*-toluenodiamina e a N,N'-diacetil-*p*-toluenodiamina (75) e, para o PAF os principais metabólitos encontrados são o paracetamol e a fenacetina, mas é possível encontrar em quantidades menores outros metabólitos, tais como: *p*-aminofenol-*o*-glucuronídeo, sulfato de *p*-aminofenol, sulfato de paracetamol e glucuronídeo de paracetamol (33,76). No entanto, os metabólitos e as formulações dos compostos originais são encontrados no plasma sanguíneo e excretados (cerca de 80%) pela urina e pelas fezes. (27,39,74,75,77).

Diversos estudos mostram que as tinturas capilares podem provocar reações adversas. Os resultados dos testes de toxicidade aguda sugerem que grande parte dos principais ingredientes que compõem as formulações dos corantes permanentes, como os precursores e os acopladores, têm propriedades de toxicidade aguda que variam de moderadas a baixas. (27,31,32,43)

O PAF é um precursor bastante utilizado nas composições de muitas tinturas capilares permanentes comerciais (16,17,27,30-33,44,45,66). Testes toxicológicos realizados em ratos mostraram que o PAF é um agente nefrotóxico, causando necrose e inibição das atividades enzimáticas das microssomas e mitocôndrias dos rins (33,45,66,76,78-82). No mais, o PAF

pode causar metemoglobinemia (33,45,66,76,78-82), que é uma síndrome causada pelo aumento da concentração da metemoglobulina (forma oxidada da hemoglobina), que interfere e diminui a absorção e o transporte normal de oxigênio para as células, podendo acarretar uma asfíxia química e em até 60% dos casos pode levar o indivíduo a óbito (83,84). Provavelmente isso ocorre devido a capacidade do PAF de formar ligações covalentes com os grupos tióis (-SH) reativos da molécula da hemoglobina, transferindo elétrons para o oxigênio que acaba por oxidar a hemoglobina formando a metemoglobulina (83,84). Além disso, o PAF pode causar alergias, dermatites, erupção cutânea, agitação, dores de cabeça, convulsões, perda da consciência, irritação pulmonar, asma brônquica e danos no sangue, fígado, rins e cérebro (33,45,66,76,78-82). Embora os resultados dos testes tenham demonstrado que o PAF não é carcinogênico, ele pode trazer um potencial risco genotóxico, desde que a exposição seja constante. (45,66,85)

Alguns estudos realizados com acoplador RSN o correlacionaram como um desregulador endócrino, afetando principalmente a tireóide. (8,27,33,86)

O principal efeito adverso de doses de PFD, no homem e nos mamíferos superiores, é angioneurótico, ou seja, há a formação de edemas nos pulmões que provocam distúrbios respiratórios agudos. No mais, a PFD pode provocar gastrite, insuficiência renal, vertigem, tremores, convulsões, coma e rabdomiólise, que é a necrose do músculo esquelético, resultando em insuficiência renal aguda, bem como atrofia do nervo óptico (27,31,32). Além disso, outros testes indicam que precursores e acopladores, usados em tinturas permanentes, têm levantado preocupações para a saúde humana devido a riscos associados a alergias e dermatites (8,27,33,78). Em 2006, a PFD foi considerada pela Sociedade Americana de Alergia de Contato como o “alérgeno de contato do ano”. Na Alemanha e na França, por exemplo, a utilização da PFD foi proibida entre os anos de 1906 a 1980, onde posteriormente foi liberada por toda a Europa (27,78). Dados estatísticos descrevem a PFD como o 5º maior alérgeno entre os anos de 1985 e 1990, e como o 15º alérgeno mais frequente durante 1991 a 1996. (27,78)

A PTD, um derivado da PFD, é extremamente utilizado na composição de formulações de corantes capilares sintéticos comerciais, onde não diferentemente da PFD, apresenta também um claro potencial para induzir e desencadear processos alérgicos, segundo numerosos estudos realizados em animais e em humanos. Entre os anos de 1991 a 1996, a PTD foi descrita na Europa como sendo o 16º alérgeno mais frequente (27,78). Além de altamente alérgica, a PTD pode causar dermatites severas, infecções na pele, ematomas,

irritação nos olhos causando a opacidade das córneas, queratoconjuntivite, blefarite e úlceras estomacais. Além disso, pode causar hipoplasia, que é o desenvolvimento defeituoso ou incompleto de tecidos ou órgãos causados pela diminuição do número de células, pode provocar anemia aplásica, que ocorre quando a medula óssea não consegue produzir quantidades suficientes de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas. No mais, a PTD é altamente genotóxica e mutagênica, principalmente após ser oxidada com peróxido de hidrogênio, e bastante tóxica à biota aquática com efeitos longos e duradouros. (27,28,30,44,66,78,87)

Uma alta taxa de alergia foi confirmada por uma análise recente dos relatórios de cosmetovigilância registrados, por quatro dos principais produtores de corantes capilares, em eventos indesejáveis atribuídos aos corantes de cabelos (78,88). No entanto, é cada vez mais reconhecido que a moda de arte corporal da "tatuagem temporária" com henna está cada mais difundida, particularmente entre os jovens de todo o mundo. As tintas usadas para esse tipo de tatuagem contém em sua formulação doses altas de PFD, que podem desempenhar um papel importante na alergia ao contato com corante capilar. (78,89,90)



**Figura 14.** Processo alérgico provocado por corante capilar permanente\* (A), por doses de PFD\*\* (B) e em tatuagem de henna\*\*\* (C).

**Fontes:** \* Imagens adaptadas do site “R7” (<https://recordtv.r7.com/hoje-em-dia/videos/adolescente-quase-fica-cega-apos-passar-tintura-nas-sobrancelhas-14102018>). Acessado 24 janeiro 2020; (91)

\*\* Imagem adaptada de BRANCACCIO, R. R.; BROWN, L. H.; CHANG, Y. T.; FOGELMAN, J. P.; MAFONG, E. A.; COHEN, D. E. Identification and quantification of para-phenylenediamine in a temporary black henna tattoo. *American Journal of Contact Dermatitis*, v. 13, n. 1, p. 15-18, 2002. (92)

\*\*\* Imagens adptadas do site “Yahoo” (<https://br.noticias.yahoo.com/reacao-tatuagem-de-henna-destroi-braco-de-crianca-073859783.html>). Acessado 24 jan. 2020. (93)

Os compostos químicos encontrados nas tinturas capilares sintéticas permanentes, como precursores, acopladores, aditivos e entre outros são considerados, de certa forma, os compostos mais reativos da indústria cosmética, o que torna o processo de tingimento dos cabelos bastante complexo [11,21]. Isso faz com que o potencial toxicológico dessas tinturas não seja só de responsabilidade dos compostos puros utilizados nas composições desses produtos, mas também pelos produtos secundários e subprodutos gerados pela oxidação de precursores e acopladores durante o processo de tingimento dos cabelos.

Um exemplo clássico é a formação da BB pela da oxidação da PFD. Além de ser um subproduto indesejado no processo de tingimento dos cabelos, a formação da BB tem suscitado grande preocupação, uma vez que alguns autores indicam que a BB é forte sensibilizante, potente alergênico e atua na perda dos cabelos, além de ser altamente genotóxica, mutagênica e carcinogênica. (78,79,94,95)

O potencial de carcinogenicidade dos ingredientes utilizados nas formulações de corantes capilar atraiu a atenção de toxicologistas e epidemiologistas por muitas décadas, dado que os ingredientes utilizados na composição desses corantes pertencem a classe das arilaminas, que inclui conhecidos compostos carcinógenos em humanos, como a benzidina, 4-aminobifenilo e a 2-naftilamina. A atividade carcinogênica de algumas arilaminas foi reconhecida já no final do século XIX, produzindo uma incidência aumentada de câncer de bexiga em trabalhadores ocupados na indústria de corantes. (78)

Embora algumas arilaminas sejam conhecidas como cancerígenas em humanos e outros mamíferos, muitas substâncias dessa grande classe química não possuem atividade carcinogênica. No entanto, dado o alto potencial de carcinogenicidade das arilaminas, o potencial cancerígeno das tinturas de cabelos e seus ingredientes tem sido uma grande preocupação e investigado por diversas indústrias do ramo e diversos organismos governamentais como a Agência Internacional para a Pesquisa sobre Câncer (IARC) da Organização Mundial da Saúde (OMS) e por pesquisadores independentes do Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos. (78,96,97)

Nos primeiros testes, realizados em 1975 por Ames e colaboradores (98), para a avaliação da genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade dos corantes capilares e dos ingredientes utilizados nas formulações desses corantes (precursores e acopladores), sugeriram que quase 90% desses ingredientes foram mutagênicos no teste com *Salmonella typhimurium*, e representam um alto risco de carcinogenicidade para os consumidores. (78,98)

Diversos estudos mostraram uma correlação no aumento da incidência de alguns tipos de cânceres e diversas doenças com a utilização de corantes capilares, dentre eles podemos destacar: câncer de pulmão, pâncreas, colo do útero, colorretal, pele, trato digestivo superior, tireóide, bexiga urinária, Doença de Hodgkin e leucemia. (8,22,99,100-103)

Um estudo caso-controle, desenvolvido por Gago-Dominguez e colaboradores (102), relatou um aumento da incidência de câncer de bexiga urinária em mulheres usuárias de tinturas de cabelos. Em uma segunda publicação, os mesmos autores sugeriram que o aumento do risco de câncer de bexiga em usuários de tintura de cabelo estavam principalmente associados à enzima NAT2 (103). A enzima NAT2 é considerada uma enzima chave responsável pela desintoxicação de arilaminas no fígado, diminuindo o fenótipo acetilador exposto ocupacionalmente pelas arilaminas carcinogênicas, e com isso podendo estar associada a um maior risco de desenvolver câncer de bexiga (104). No entanto, dado que as tinturas de cabelos e seus ingredientes têm principalmente contato com a derme, elas podem ser primeiramente acetilados pela enzima NAT1 na pele. Assim, é provável que a NAT2 desempenhe um papel menor, se houver, na desintoxicação, ativação, na mutagenicidade e carcinogenicidade dos corantes capilares e de seus ingredientes quando em contato com a pele. (40)

Nos últimos anos, potenciais problemas reprodutivos, e efeitos adversos devido à exposição ocupacional a corantes capilares e outras substâncias presentes em salões de cabeleireiro foram investigados. A maioria desses estudos investigou parâmetros de reprodução, nascimentos prematuros, prevalência de baixo peso de recém nascidos e de bebês em idade gestacional. Alguns estudos sugeriram um aumento no número de recém nascidos com baixo peso na prole de cabeleireiros da Suécia, Finlândia e Estados Unidos. (105-112)

No entanto, um estudo realizado em cabeleireiros do sexo masculino, entre os anos de 1960 e 1998 na Suécia, registrou uma correlação entre os corantes de cabelos e o aumento da incidência de câncer do trato digestivo superior, pulmão e colorretal. Já com relação a cabeleireiros do sexo feminino, verificou-se um aumento do risco de desenvolver câncer de pulmão, pâncreas, colo do útero e pele, principalmente no couro cabeludo e pescoço, que são locais onde há maior contato das tinturas de cabelo. (8,100)

Em um estudo de caso-controle, Zheng e colaboradores (113) não encontraram qualquer correlação com risco de câncer de mama associado ao uso de corantes capilares. Resultados semelhantes também foram observados por Cook e colaboradores. (114)

Demais estudos foram realizados correlacionando usuários e cabeleireiros que têm contato com corantes capilares com o desenvolvimento de câncer de bexiga. Os resultados obtidos mostraram que pessoas que tingem seus cabelos pelo menos uma vez por mês, por um período de um ano, têm 1,9 vezes mais chances de desenvolverem câncer de bexiga. Usuários que tingem seus cabelos pelo menos uma vez por mês, por um período de quinze anos ou mais, têm 3,3 vezes mais chances de desenvolverem esse tipo de câncer. Na mesma pesquisa foi descoberto que profissionais que tem contato rotineiro com corantes capilares, por dez anos ou mais, têm 5 vezes mais chances de desenvolverem câncer de bexiga. (27)

Pesquisas realizadas no Japão, com relação ao uso de tinturas de cabelos e o desenvolvimento de síndrome mielodisplásica tiveram resultados negativos, e não tiveram detectado nenhum risco aumentado com relação ao uso de tinturas de cabelos. (8,115)

Desta forma, a correlação entre o risco do desenvolvimento de diferentes tipos de cânceres e o uso regular de tinturas capilares ainda não está bem estabelecida, considerando as discrepâncias entre os estudos publicados até o momento (8). Em uma revisão publicada em 2010, Nohynek e colaboradores mostraram, em diferentes estudos realizados, que não houve evidências suficientes que comprovem que a exposição ocupacional ou ocasional à tinturas de cabelos causem algum efeito tóxico na reprodução humana. (78)

Todavia, a literatura ainda é bastante escassa, quanto à toxicidade dos corantes capilares aos seres humanos, devido à dificuldade de associação entre estes e as alterações fisiológicas específicas. Em geral, as pesquisas são realizadas inicialmente em condições muito específicas e na maioria das vezes não retratam as condições reais do uso das tinturas de cabelos. Assim, a maioria dos trabalhos envolve apenas o estudo dos precursores e acopladores separadamente, e não dos corantes formados após reação específica entre ambos, ou dos outros tipos de corantes básicos e ácidos usados nas formulações de tinturas temporárias e dos corantes do tipo semipermanentes.

## **2.6. Métodos analíticos desenvolvidos e utilizados na quantificação e no monitoramento de corantes capilares em diversas matrizes**

A utilização, produção e venda de corantes capilares cresceu vertiginosamente nos últimos anos em virtude da popularização, desenvolvimento tecnológico, criação de novas formulações com maior poder de fixação, durabilidade, diversidade de cores e tonalidades,

segurança e por preços mais acessíveis, o que faz movimentar ainda mais o mercado multimilionário de cosméticos. (8,12,21,44)

O aumento do consumo de corantes de cabelos e a necessidade de controle exigem que o processo de fabricação seja baseado em práticas rigorosamente controladas, para obter um produto padronizado com características físico-químicas satisfatórias, a fim de minimizar os riscos e os efeitos colaterais oferecidos aos usuários por esses produtos. (66)

Os corantes capilares são regulados, por normas bem definidas, por diversas agências reguladoras em todo o mundo. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a responsável pela autorização para a comercialização de produtos cosméticos, fiscalização das empresas que fabricam esses produtos, verificação do processo de produção e das técnicas e métodos empregados para o controle de qualidade desses produtos. De acordo com a ANVISA, antes de um produto ser lançado no mercado, a segurança deve ser avaliada pelo próprio fabricante ou importador por meio de diversos ensaios toxicológicos como: toxicidade sistêmica aguda, corrosividade, irritação dérmica, sensibilização cutânea, absorção e penetração cutânea, mutagenicidade, genotoxicidade, toxicidade subaguda e subcrônica, irritação ocular, irritação de mucosas, efeitos tóxicos induzidos pela radiação ultravioleta (fototoxicidade e fotoalergia), carcinogenicidade, toxicidade do desenvolvimento e reprodução (teratogenicidade), toxicocinética e toxicodinâmica. (8,117)

Para este fim, métodos analíticos capazes de detectar e quantificar corantes de cabelo e seus derivados em diversas matrizes ambientais e de fluídos biológicos são importantes tanto para monitorar contaminação ambiental quanto para a proteção da saúde humana. (8,66)

Nos últimos anos, muitos estudos mostraram a presença de traços de corantes, precursores e acopladores nos ecossistemas aquáticos (44,45,118-125). Em um trabalho recente, Vacchi e colaboradores (123) relataram ter encontrado os corantes Azul Disperso 291, Azul Disperso 373, Laranja Disperso 30, Vermelho Disperso 1, Violeta Disperso 93 e Amarelo Disperso 3, na faixa de concentração de 0,01 a 6,81  $\mu\text{g L}^{-1}$ , oriundos de efluentes de uma estação de tratamento de águas residuais, em amostras a montante e a jusante da água do Rio Piracicaba e no afluente do Rio Quilombo (ambos localizados no estado de São Paulo).

Umbuzeiro e colaboradores (121) relataram que os efluentes do processo de tingimento com corantes, que possuíam aminas aromáticas e compostos nitro-aromáticos em sua composição, foram responsáveis pela atividade mutagênica observada nas águas do Rio Cristal, que está localizado na região metropolitana da cidade de São Paulo.

Para isso, diversas técnicas analíticas têm sido utilizadas. A técnica de cromatografia

líquida de alta eficiência (CLAE) é uma das ferramentas analíticas mais utilizadas para separação, detecção e quantificação de substâncias orgânicas em diferentes matrizes, operando com fase móvel adequada e com métodos de detecção que podem oferecer seletividade, sensibilidade e exatidão de análise. Com o avanço tecnológico, a disponibilidade dos métodos de detecção acoplados a CLAE é enorme, podendo ser utilizados detectores tais como: fotométricos (UV-Vis e arranjo de diodos (DAD)), fluorescência, índice de refração, eletroquímico e espectrometria de massas. A alta detectabilidade e separação dos componentes da amostra dependem principalmente da seleção apropriada do detector e da coluna cromatográfica, respectivamente. (44,45,66,126-128)

Narita e colaboradores (129) determinaram simultaneamente 7 aminofenóis (dentre eles o PAF), RSN e PFD em formulações comerciais de tinturas de cabelo por CLAE com detecção eletroquímica utilizando eletrodo de ouro. Os compostos foram separados em uma coluna de fase reversa C18, por eluição isocrática, com uma fase móvel composta de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,5) : metanol (90 : 10% (v/v)) e vazão de  $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ . Os limites de detecção obtidos foram na faixa de 15 a 40 pg, com um potencial aplicado de  $0,95 \text{ V versus Ag/AgCl}$ . Desvios padrões relativos foram compreendidos na faixa de 2,5% a 6,2%, dependendo do composto.

Rastogi (130) desenvolveu uma metodologia analítica para determinação de diferentes precursores (entre eles a PTD) e acopladores, de corantes capilares permanentes, em formulações comerciais de tinturas de cabelo por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE/DAD). Os compostos foram separados em uma coluna de fase reversa RP-amide C16, com eluição por gradiente, e fase móvel composta de tampão fosfato  $0,025 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,0), contendo 0,1 % (v/v) de sal sódico do ácido heptanossulfônico: acetonitrila, e vazão de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Boas recuperações foram obtidas com a metodologia analítica proposta.

Bessegato e colaboradores (43) determinaram simultaneamente PFD, RSN e BB em amostras de efluente de salão de cabeleireiros, recolhidos após o processo de tingimento dos cabelos com corantes capilares permanentes, por CLAE/DAD. Os compostos foram separados em uma coluna de fase reversa C18, utilizando eluição por gradiente, e uma fase móvel composta de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 5,6):metanol a uma vazão de  $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ . Na amostra avaliada foi encontrada uma concentração de  $0,058 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$  de PFD e  $4,52 \pm 0,17 \text{ mg L}^{-1}$  de RSN.

Mohamed e colaboradores (131) determinaram simultaneamente PFD e seus principais metabolitos (N-acetil-*p*-fenilenodiamina e N,N-diacetil-*p*-fenilenodiamina), em amostras de sangue de cadáveres, por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-MS/MS). Os compostos foram separados em uma coluna de fase reversa C18, utilizando eluição por gradiente, e uma fase móvel composta de ácido fórmico 0,1% (v/v) : acetonitrila a uma vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Nas amostras de sangue avaliadas, quantidades consideráveis tanto de PFD quanto de seus metabólitos foram encontradas.

Métodos eletroquímicos também vêm sendo desenvolvidos no monitoramento de corantes, precursores e acopladores de corantes capilares. Nesse sentido, destaca-se o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados, que são capazes de permitir a identificação e a quantificação de diferentes analitos, simultaneamente ou não, de forma rápida, específica e precisa em baixas concentrações e em matrizes complexas. (12,44,66,132)

As infinitas possibilidades de modificação de eletrodos permitem o desenvolvimento dos mais variados sensores para atender a demanda nas mais diversas áreas, principalmente em aplicações ambientais, onde tanto a indústria quanto os órgãos de vigilância ambiental, necessitam de sensores para análise quantitativa ou diferencial de inúmeros rejeitos industriais e domésticos, tais como precursores de corantes capilares permanentes, que são compostos orgânicos considerados poluentes emergentes (12,44,66,132,133). Estes eletrodos são frequentemente preparados pela modificação de um substrato condutor para produzir um eletrodo adequado para uma determinada função (134), inibindo ou favorecendo alguns processos, levando a maior seletividade e sensibilidade de análise. Isto pode ocorrer devido a alguns processos eletroquímicos, como a aceleração do processo de transferência de elétrons, acumulação preferencial, ou barrar espécies indesejadas por permeação seletiva. (135)

Nessa linha, Hudari e colaboradores (12) determinaram simultaneamente PFD e RSN, em amostras de formulações comerciais de tinturas de cabelo e água de torneira, utilizando um sensor voltamétrico simples e econômico, constituído de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) revestido por compósitos de nanotubos de carbono de múltiplas paredes modificados com quitosana (MWNTs-CHT/GCE). A modificação do eletrodo de carbono vítreo na metodologia proposta aumentou a densidade de corrente em 10% para a PFD e 70% para o RSN em relação ao eletrodo não modificado. A curva de calibração mostrou linearidade entre 0,55 e 21,2 mg L<sup>-1</sup> com limites de detecção de 0,79 e 0,58 mg L<sup>-1</sup> para PPD e RSN, respectivamente, e recuperação nas amostras em torno de 97%.

Yin e colaboradores (132) utilizaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com um filme composto de grafeno e quitosana, para determinar PAF em amostras de água e comprimidos de paracetamol. A modificação do eletrodo de carbono vítreo com grafeno e quitosana aumentou a densidade de corrente, e um limite de detecção de  $5,7 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> foi obtido para o PAF na metodologia proposta.

Outras técnicas analíticas também foram utilizadas para determinação de precursores, acopladores e corantes em diferentes matrizes ambientais e biológicas. Dentre elas podemos destacar a cromatografia gasosa acoplada a diversos detectores (136-138), eletroforese capilar (139) e espectrofotometria UV-Vis (140).

Neste contexto, diante da alta utilização das tinturas capilares permanentes e do escasso relato de investigação sobre a avaliação do mecanismo de reação, ação citotóxica, mutagenicidade e monitoramento de agentes precursores, é altamente pertinente investigar, identificar e monitorar os produtos principais e secundários produzidos pela oxidação da PTD, do PAF e da reação entre ambos com vistas a mimetizar as tinturas permanentes de cabelo em meio alcalino de tampão amônio (pH 8,0), na presença e ausência de peróxido de hidrogênio como agente oxidante. Para isto pretende-se utilizar métodos espectrofotométricos na região do UV-Vis e do infravermelho (IR) médio, espectrometria de massas (MS/MS), espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (<sup>1</sup>H-RMN) e técnicas eletroquímicas.

Além disto, é importante a avaliação da toxicidade/mutagenicidade desses produtos, bem como, desenvolver metodologias analíticas para determinação da PTD e do PAF, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de díodos e utilizando métodos eletroquímicos, para o monitoramento e quantificação em amostras de efluente de salão de cabeleireiros, coletados após o tingimento de cabelos com corantes permanentes, águas superficiais e de estações de tratamento de água e matrizes biológicas. Para isso, é proposto o desenvolvimento de um método cromatográfico, a construção de um sensor eletroquímico utilizando eletrodo de carbono impresso modificado com nanopartículas magnéticas de magnetita funcionalizadas com grupos carboxílicos e L-cisteína. E por fim, entender como os compostos alvos desse estudo, a PTD e o PAF, interagem com a queratina e os aminoácidos presentes nos fios de cabelo humano, pela construção de um biossensor baseado na modificação de um eletrodo de carbono vítreo com queratina de cabelo humano.

## 6. Considerações Finais

Neste trabalho foi investigada a reação de oxidação da PTD, do PAF e da reação entre os dois em tampão amônio a pH 8,0 em atmosfera de oxigênio dissolvido e na presença de peróxido de hidrogênio. A reação de oxidação da PTD apresentou a formação de vários intermediários de reação como os derivados do radical semi-quinonadiimina, quinonadiimina, difenilamina e o produto derivado da BB. A oxidação do PAF apresentou a formação de vários intermediários de reação como os derivados do radical semi-quinonaimina, quinonaimina, além da formação de dímeros, trímeros e tetrâmero. A reação entre a PTD e o PAF apresentou a formação de vários intermediários e produtos finais de reação oriundos da oxidação tanto da PTD quanto do PAF. Além desses produtos, foram identificados ao todo a formação de seis produtos diferentes, sendo que grande parte desses produtos formaram uma mistura de precipitados.

Nos testes de mutagenicidade realizados, o derivado da BB mostrou alta mutagenicidade juntamente com os produtos de reação da PTD e do PAF juntos. Os produtos finais de reação da oxidação do PAF, trímero e tetrâmero não foram mutagênicos. Testes de toxicidade aguda, realizados para os produtos reação entre a PTD e o PAF mostraram alta toxicidade.

Uma metodologia analítica foi desenvolvida para a determinação de PTD e PAF por CLAE/DAD. O método obteve relações boas lineares, bons limites de detecção de quantificação e boa recuperação. O método foi aplicado de maneira satisfatória em amostras de água, bem como em amostra de efluente de salão de cabeleireiros. As concentrações encontradas, de PTD e de PAF, para amostra de água antes do tratamento foi de  $2,48 \pm 0,10 \times 10^{-3}$  e  $1,90 \pm 0,30 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, para a amostra de água após o tratamento foi de  $1,77 \pm 0,10 \times 10^{-3}$  e  $1,90 \pm 0,30 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup>, e para amostra de efluente de salão de cabeleireiros foi de  $2,08 \pm 0,20$  mg L<sup>-1</sup> e  $2,10 \pm 0,50$  mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Na amostra de efluente foram identificados vários produtos da oxidação da PTD, do PAF e da reação entre ambos. Isso mostra que quantidades consideráveis desses produtos estão sendo descartados no esgoto comum diariamente.

O comportamento eletroquímico oxidativo da PTD e do PAF foi investigado. As reações de oxidação da PTD e do PAF mostraram ser reversíveis. A reação foi controlada por difusão, pela transferência de dois elétrons e dois prótons para a PTD, que ocorreu nos átomos de nitrogênio dos grupos amina da molécula. A oxidação do PAF foi controlada por

difusão, e pela transferência de dois elétrons e dois prótons, que ocorreu nos átomos de oxigênio e nitrogênio dos grupos hidroxila e amina da molécula, respectivamente.

Uma metodologia analítica para quantificação desses precursores, em amostras de fluidos biológicos de soro fetal bovino (simulando o plasma sanguíneo humano) e de urina artificial (simulando a urina humana), foi desenvolvida. O método eletroanalítico desenvolvido foi aplicado satisfatoriamente para a determinação de PTD e PAF em amostras de soro fetal bovino e de urina artificial.

O comportamento eletroquímico da queratina capilar humana foi investigado pela construção de um biossensor de queratina. O comportamento eletroquímico da queratina mostrou dois picos de oxidação dependentes do pH. O primeiro pico correspondeu ao primeiro pico de oxidação dos resíduos de aminoácidos cisteína, P1Cis, em EP1 = + 0,53 V, e o segundo pico correspondeu ao terceiro pico de oxidação dos resíduos aminoácidos cisteína e o segundo pico de aminoácidos metionina P2Cis + Met, em EP2 = + 1,28 V.

Os resultados dos experimentos de desnaturação e da interação da queratina com os precursores, a fim de entender o processo de tingimento dos cabelos e a fixação desses compostos no interior da fibra capilar, mostraram que tanto os agentes desnaturantes, quanto os agentes redutores e precursores promoveram um aumento nas correntes de pico dos resíduos de aminoácidos eletroativos, ao longo do tempo de incubação. Provavelmente, esses compostos não induziram dano oxidativo à queratina, mas causaram um desdobramento da estrutura morfológica, e isso proporcionou que resíduos de aminoácidos, que estavam enterrados ou encobertos, ficassem mais expostos à superfície do biossensor, facilitando sua oxidação. Além disso, foi verificado o aparecimento de novos picos de resíduos de outros aminoácidos presentes na estrutura da queratina, que também pelo desdobramento da estrutura da molécula da queratina, estavam enterrados e/ou encobertos.

O eletrodo modificado com as NPM mostrou-se bastante promissor na determinação da PTD e do PAF, com um ganho de corrente de 34,0% para a PTD e de 51,7% vezes para o PAF comparado ao eletrodo impresso sem as NPM. O método foi otimizado quanto ao tempo de deposição dos analitos, concentração e volume de NPM a serem depositadas sobre o eletrodo, e as otimizações apresentaram como condições ótimas um tempo de deposição de 3 minutos, concentração e volume de NPM de 1,0 mg mL<sup>-1</sup> e 50,0 µL, respectivamente.

Diante dos resultados obtidos nas determinações, quantidades de PTD e PAF estão sendo descartadas no esgoto comum das cidades juntamente com o resíduo de lavagem dos cabelos após o procedimento de tingimento dos cabelos com formulações comerciais de

tinturas capilares permanentes. Levando em consideração que nem todo o esgoto das cidades é tratado, devido ainda pela não captação de 100% do esgoto, por ainda existirem ligações clandestinas de descarte e pela ineficiência do processo de tratamento convencional para esse tipo de efluente, parte desse resíduo acaba por ser despejado em rios, lagos, represas e mananciais das cidades, podendo contaminar essas fontes de água com PTD e PAF, que podem sofrer oxidação e formar seus produtos de oxidação com alta mutagenicidade e toxicidade.

Além disso, as cidades utilizam dessas fontes para o abastecimento de água de sua população, e conforme mostrou as análises de PTD e de PAF, as estações de tratamento de água convencionais não conseguem tratar adequadamente, ou eliminar por completo esses compostos e seus produtos de oxidação. Isso leva as pessoas a consumirem diariamente água contaminada com esses produtos que possuem alta toxicidade, de acordo com os testes de realizados.

Deste modo, é importante ressaltar a importância do monitoramento não apenas destes corantes, mas também dos subprodutos provenientes da tintura de cabelos em efluentes, esgotos domésticos, águas naturais e destinadas ao consumo humano, com vistas a obter mais dados sobre a sua persistência, biotransformação, transporte e destino no meio ambiente, contribuindo para uma avaliação dos riscos envolvidos na utilização desses corantes em processos de tintura de cabelo.

## 7. Referências bibliográficas

- (1) HOREV, L. Exogenous factors in hair disorders. **Exogenous Dermatology**, v. 3, p. 237-245, 2004.
- (2) GUERRA-TAPIA, A.; GONZALEZ-GUERRA, E. Hair Cosmetics: Dyes. **Actas Dermo-Sifiligráficas**, v. 105, p. 833-839, 2014.
- (3) SHIEL, S. Hair health and management of common hair disorders. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 6, p. 12-17, 2007.
- (4) TRÜEB, R. M. Aging of hair. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 4, p. 60-72, 2005.
- (5) BOLDUC, C.; SHAPIRO, J. Hair care products: Waving, straightening, conditioning, and coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 19, p. 431-436, 2001.

- (6) SINCLAIR, R. D. Healthy hair: What is it? **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 12, p. 2-5, 2007.
- (7) MOITA, G. C. **Propriedades físico-químicas de cabelo: avaliação de interações com corante e surfactantes**. 1989. 145 f. Dissertação (Mestrado em Química) Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1989.
- (8) OLIVEIRA, R. A. G.; ZANONI, T. B.; OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 1037-1046, 2014.
- (9) NEUSER, F.; SCHATTER, H. Hair dyes. In: DRAELOS, Z. D. (Ed.). **Cosmetic dermatology: products and procedures**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010. Chap. 3, p. 256-310.
- (10) HARRISON, S.; SINCLAIR, R. Hair colouring, permanent styling and hair structure. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 2, p. 180-185, 2003.
- (11) GHOSH, P.; SINHA, A. K. Hair colors: classification, chemistry and a review of chromatographic and electrophoretic methods for analysis. **Analytical Letters**, v. 41, p. 2291–2321, 2008.
- (12) HUDARI, F. F.; ALMEIDA, L. C.; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B. Voltametric sensor for simultaneous determination of p-phenylenediamine and resorcinol in permanente hair dyeing and tap water by composite carbon nanotubes/chitosan modified electrode. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 261-268, 2014.
- (13) MOREL, O. J. X.; CHRISTIE, R. M. Current trends in the chemistry of permanent hair dyeing. **Chemical Reviews**, v. 111, p. 2537-2561, 2011.
- (14) PÜNTENER, A. G.; SCHLESINGER, U. Natural dyes. In: FREEMAN, H. S. F.; PETERS, A. T. (Eds.). **Colorants for non-textile applications**. Amsterdam: Elsevier Science, 2000. Chap. 9, p. 382-455.
- (15) CHARLE, R.; SAG, G. Early synthetic organic hair dyes. **Manufacturing Chemist and Aerosol News**, v. 1, p. 33-37, 1967.

- (16) CORBETT, J. F. An historical review of the use of dye precursors in the formulation of commercial oxidation hair dyes. **Dyes and pigments**, v. 41, p. 127-136, 1999.
- (17) CORBETT, J. F. **Hair colorants: chemistry and toxicology**. 2nd ed. Weymouth: Micelle Press, 1998.
- (18) DRAELOS, Z. D. **Hair Care - An Illustrated Dermatologic**. 1st ed. London: Taylor & Francis, 2005.
- (19) BOUILLON, C.; WILKINSON, J. **The Science of Hair Care**. 2nd ed. London: Francis & Taylor, 2005.
- (20) SOSTED, H.; RASTOGI, S. C.; ANDERSSSEN, K. E.; JOHANSEN, J.D.; MENNE, T. Hair dye contact allergy: quantitative exposure assessment of selected products and clinical cases. **Contact Dermatitis**, v. 50, p. 3444-3448, 2004.
- (21) ZANONI, T. B.; HUDARI, F. F.; MUNNIA, A.; PELUSO, M.; GODSCHALK, R. W.; ZANONI, M. V. B.; DEN HARTOG, G. J. M.; BAST, A.; BARROS, S. B. M.; MARIA-ENGLER, S. S.; HAGEMAN, G. J.; OLIVEIRA, D. P. The oxidation of *p*-phenylenediamine, an ingredient used for permanent hair dyeing purposes, leads to the formation of hydroxyl radicals: oxidative stress and DNA damage in human immortalized keratinocytes. **Toxicology Letters**, v. 239, p. 194-204, 2015.
- (22) ANDREW, A. S.; SCHNED, A. R.; HEANY, J. A.; KARAGAS, M. R. Bladder cancer risk and personal hair dye use. **International Journal of Cancer**, v. 109, p. 581-586, 2004.
- (23) SCARPI, C.; NINCI, F.; CENTINI, M.; ANSELMINI, C. High-performance liquid chromatography determination of direct and temporary dyes in natural hair colourings. **Journal of Chromatography A**, v. 796, n. 2, p. 319-325, 1998.
- (24) CHISVERT, A.; CHÁFER, A.; SALVADOR, A. Hair dye in cosmetics. Regulatory aspects an analytical methods. In: ELSEVIER (Ed.). **Analysis of Cosmetic Products**. Amsterdam: Elsevier Science, 2007. Chap. 4, p.190-209.
- (25) MUKUND, J. S.; TOLGYESI, W. S.; BRITT, A. D. Cooxidation of *p*-phenylenediamine and resorcinol in hair dyes. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 25, p. 853-861, 1972.

- (26) BROWN, K. C.; CORBETT, J. F. The role of meta difunctional benzene derivatives in oxidative hair dyeing. II. Reactions with p-aminophenol. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 30, n. 4, p. 191-211, 1979.
- (27) NOHYNEK, G. J.; FAUTZ, R.; BENECH-KIEFFER, F.; TOUTAIN, H. Toxicity and human health risk of hair dyes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 517-543, 2004.
- (28) MEYER, A.; FISCHER, K. Oxidative transformation processes and products of para-phenylenediamine (PPD) and para-toluenediamine (PTD) – a review. **Environmental Sciences Europe**, v. 27, n. 11, p.1-16, 2015.
- (29) SCHEMAN, A.; CHA, C.; BHINDER, M. Alternative hair dye products for persons allergic to para-phenylenediamine. **Dermatitis**, v. 22, n. 4, p. 189-192, 2011.
- (30) BURNETT, C. L.; BERGFELD, W. F.; BELSITO, D. V.; KLAASSEN, C. D.; MARKS, J. G.; SHANK, R. C.; SLAGA, T. J.; SNYDER, P. W.; ANDERSSON, F. A. Final amended report of the safety assessment of toluene-2,5-diamine, toluene-2,5-diamine sulfate, and toluene-3,4-diamine as used in cosmetics. **International Journal of Toxicology**, v. 29, p. 61-83, 2010.
- (31) YABE, K.; SAITO, K.; MURAI, T.; HARA, M. A.; WATANABE, H. An experimental rhabdomyolysis due to para-phenylenediamine contained in hair dyes. *Research and Practice of Forensic Medicine*, v. 34, p. 109–115, 1991.
- (32) YAGI, H.; EL HENDI, A.M.; DIAB, A.; ELSHIKH, A. A. Paraphenylenediamine induced optic atrophy following hair dye poisoning. **Human and Experimental Toxicology**, v. 15, p. 617–618, 1996.
- (33) NOHYNEK, G. J.; DUCHE, D.; GARRIGUES, A.; MEUNIER, P. A.; TOUTAIN, H.; LECLAIRE, J. Under the skin: biotransformation of para-aminophenol and para-phenylenediamine in reconstructed human epidermis and human hepatocytes. **Toxicology Letters**, v. 158, n. 3, p. 196-212, 2005.
- (34) RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. 2nd ed. New York: Taylor & Francis, 1995.

- (35) CHEN, Y. H.; LIU, Y. Y.; LIN, R. H.; YEN, F. S. Photocatalytic degradation of p-phenylenediamine with TiO<sub>2</sub>-coated magnetic PMMA microspheres in an aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 973–981, 2009.
- (36) COULTER, E. M.; MATHEWS, K. L.; MAGGS, J. L.; PEASE, C. K.; LOCKLEY, D. J.; BASKETTER, D. A.; PARK, B. K.; NAISBITT, D. J. Activation of human dendritic cells by p-phenylenediamine. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 320, p. 885–892, 2007.
- (37) HUEBER-BECKER, F.; NOHYNEK, G. J.; MEULING, W. J. A.; BENECHKIEFFER, F.; TOUTAIN, H. Human systemic exposure after hair dyeing with a [14C]-para-phenylenediamine-containing oxidative hair dye and correlation with in vitro percutaneous absorption in human and pig skin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1227-1236, 2004.
- (38) GOETZ, N.; LASERRE, P.; BORÉ, P.; KALOPISSIS, G. Percutaneous absorption of p-phenylenediamine during an actual hair dyeing procedure. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 10, n. 2, p. 63–73, 1988.
- (39) DRESSLER, W. Hair dye absorption. In: BRONOUGH, R. L.; MAIBACH, H. I. (Eds.). **Percutaneous absorption of drugs and the pharmaceutical sciences**. New York: Marcel Dekker, 1999, p. 685–716.
- (40) KAWAKUBO, Y.; YAMAZOE, Y.; KATO, R.; NISHIKAWA, T. High capacity of human skin for N-acetylation of arylamines. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 3, p. 180–185, 1990.
- (41) KIRKLAND, D. J.; HENDERSON, L.; MARZIN, D.; MÜLLER, L.; PARRY, J. M.; SPEIT, G.; TWEATS, D. J.; WILLIAMS, G. M. Testing strategies in mutagenicity and genetic toxicology: an appraisal of the guidelines of the European Scientific Committee for Cosmetics and Non-Food Products for the evaluation of hair dyes. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 588, n. 2, p. 88-105, 2005.

(42) WATANABE, T.; HIRAYAMA, T.; FUKUI, S. Mutagenicity of commercial hair dyes and detection of 2,7-diaminophenazine. **Mutation Research**, v. 244, p. 303-308, 1990.

(43) BESSEGATO, G. G.; SOUZA, J. C.; CARDOSO, J. C.; ZANONI, M. V. B. Assessment of several advanced oxidation processes applied in the treatment of environmental concern constituents from a real hair dye wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 2794-2802, 2018.

(44) SOUZA, J. C.; SILVA, B. F.; MORALES, D. A.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Assessment of the autoxidation mechanism of p-toluenediamine by air and hydrogen peroxide and determination of mutagenic environmental contaminant in beauty salon effluent. **Science of The Total Environment**, v. 685, p. 911-922, 2019.

(45) SOUZA, J. C.; SILVA, B. F.; MORALES, D. A.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Assessment of p-aminophenol oxidation by simulating the process of hair dyeing and occurrence in hair salon wastewater and drinking water from treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 387, 122000, 2020.

(46) ROBBINS, C. R. **Chemical and physical behavior of human hair**. 2nd ed. New York: Springer Science and Business Media, 1988.

(47) Aula de anatomia.com. **Sistema tegumentar**. <<https://www.auladeanatomia.com/novosite/sistemas/sistema-tegumentar>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

(48) Tricologia. **As características dos cabelos**. <[https://www.tricologia.com.br/sobre\\_cabelos\\_2.asp](https://www.tricologia.com.br/sobre_cabelos_2.asp)>. Acesso em: 03 jan. 2020.

(49) Cabelos e sonhos. **Quais as fases de crescimento do cabelo**. <<https://www.cabelosesonhos.com/2015/03/quais-as-fases-de-crescimento-do-cabelo.html>>. Acesso em: 17 dez. 2019.

(50) De química no cabelo. **Porque existem diferentes tipos de cabelo?** <<https://dequimicanocabelo.blogspot.com/p/blog-page.html>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

- (51) RIGG, B. **Colorimetry and the CIE system**. In: MCDONALD, R. (Ed.). *Colour physics for industry*, 2nd ed. Bradford: Society of Dyers and Colourists, 1997. Chap. 3, p. 81-119.
- (52) LANG, J. M.; LUCAS, C. C. The analysis of hair keratin: 1. Application of microbiological techniques to hydrolysates of human hair. **Biochemical Journal**, v. 52, n. 1, p. 84-87, 1952.
- (53) SOUZA, J. C.; MACHINI, W. B. S.; ZANONI, M. V. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. of Human hair keratin direct electrochemistry and in situ interaction with *p*-toluenediamine and *p*-aminophenol hair dye precursors using a keratin electrochemical biosensor. **ChemElectroChem**, v. 7, p. 1277-1285, 2020.
- (54) MACHINI, W. B. S.; MARQUES, N. V.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Nivolumab anticancer monoclonal antibody native and denatured direct electrochemistry at a glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 851, 113251, 2019.
- (55) CHIORCEA-PAQUIM, A. M.; ENACHE, T. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Electrochemistry of alzheimer disease amyloid beta peptides. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 4066-4083, 2018.
- (56) ENACHE, T. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Boron doped diamond and glassy carbon electrodes comparative study of the oxidation behaviour of cysteine and methionine. **Bioelectrochemistry**, v. 81, p. 46-52, 2011.
- (57) REYNAUD, J. A.; MALFOY, B.; Canesson, P. Electrochemical investigations of amino acids at solid electrodes: Part I. Sulfur components: cystine, cysteine, methionine. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 114, p. 195-211, 1980.
- (58) ENACHE, T. A., OLIVEIRA-BRETT, A. M. Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 655, p. 9-16, 2011.
- (59) MALFOY, B.; REYNAUD, J. A. Electrochemical investigations of amino acids at solid electrodes: Part II. Amino acids containing no sulfur atoms: tryptophan, tyrosine, histidine and derivatives. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 114, p. 213-223, 1980.

- (60) CAI, X.; RIVAS, G.; FARIAS, P. A. M.; SHIRAIISHI, H.; WANG, J.; PALEČEK, E. Potentiometric stripping analysis of bioactive peptides at carbon electrodes down to subnanomolar concentrations, **Analytica Chimica Acta**, v. 332, p. 49-57, 1996.
- (61) DICULESCU, V. C.; ENACHE, T. A. Electrochemical evaluation of Abelson tyrosine-protein kinase 1 activity and inhibition by imatinib mesylate and danusertib. **Analytica Chimica Acta**, v. 845, p. 23-29, 2014.
- (62) ENACHE, T. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Peptide methionine sulfoxide reductase A (MsrA): direct electrochemical oxidation on carbon electrodes. **Bioelectrochemistry**, v. 89, p. 11-18, 2013.
- (63) ENACHE, T. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Pathways of electrochemical oxidation of indolic compounds. **Electroanalysis**, v. 23, p. 1337-1344, 2011.
- (64) FCIências. Queratina – **Molécula da semana**. Disponível em: <<https://www.fciencias.com/2014/07/31/queratina-molecula-da-semana/>>. Acesso em: 03 jan. 2020.
- (66) SOUZA, J. C.; ZANONI, M. V. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Genotoxic permanent hair dye precursors p-aminophenol and p-toluenediamine electrochemical oxidation mechanisms and evaluation in biological fluids. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 857, 113509, 2020.
- (67) TRÜEB, R. M. Dermocosmetic aspects of hair and scalp. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 10, p. 289-292, 2005.
- (68) CORBETT, J. F. Hair coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 93-101, 1988.
- (69) A Química da Beleza. **Cosméticos**. <<https://www.quimicadabeleza.com/a-arte-de-colorir-os-cabelos/>>. Acesso em: 22 jan. 2020.
- (70) GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M. V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71-78, 2000.
- (71) DRAELOS, Z. D. **Hair care: an illustrated dermatologic**. 1st ed. London: Taylor & Francis, 2005.

- (72) FRANÇA, S. A.; DARIO, M. F.; ESTEVES, V. B.; BABY, A. R.; VELASCO, M. V. R. Types of hair dye and their mechanisms of action. **Cosmetics**, v. 2, p. 110-126, 2015.
- (73) KAWAKUBO, Y.; MERK, H. F.; AL MASAOUDI, T.; SIEBEN, S.; BLOEMEKE, B. N-acetylation of paraphenylenediamine in human skin and keratinocytes. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 292, p. 150-155, 2000.
- (74) HOOFF, G. P.; VAN HUIZEN, N. A.; MEESTERS, R. J. W.; ZIJLSTRA, E. E.; ABDELRAHEEM, M.; ABDELRAHEEM, W.; HAMDOK, M.; LINDEMANS, J.; LUIDER, T. M. Analytical investigations of toxic p-phenylenediamine (PPD) levels in clinical urine samples with special focus on MALDI-MS/MS. **PLoS One**, v. 6, p. 1-8, 2011.
- (75) KIESE, M.; RAUSCHER, E. The absorption of p-toluenediamine through human skin in hair dyeing. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 13, p. 325-331, 1968.
- (76) BEIGINEJAD, H.; NEMATOLLAHI, D.; VARMAGHANI, F. Electrochemical oxidation of some aminophenols in various pHs. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 160, p. 41-46, 2013.
- (77) WANG, L-H.; TSAI, S-J. Simultaneous determination of oxidative hair dye p-phenylenediamine and its metabolites in human and rabbit biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 312, p. 201-207, 2003
- (78) NOHYNEK, G. J.; ANTIGNAC, E.; RE, T.; TOUTAIN, H. Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 243, n. 2, p. 239-259, 2010.
- (79) SEO, J. A.; BAE, I. H.; JANG, W. H.; KIM, J. H.; BAK, S.Y.; HAN, S. H.; PARK, Y. H.; LIM, K. M. Hydrogen peroxide and monoethanolamine are the key causative ingredients for hair dye-induced dermatitis and hair loss. **Journal of Dermatological Science**, v. 66, n. 1, p. 12-19, 2012.
- (80) JOSEPHY, P. D.; ELING, T. E., MASON, R. P. Oxidation of p-aminophenol catalyzed by horseradish peroxidase and prostaglandin synthase. **Molecular Pharmacology**, v. 23, p. 461-466, 1983.

- (81) KLOS C.; KOOB, M.; KRAMER, C.; DEKANT, W. P-Aminophenol nephrotoxicity: biosynthesis of toxic glutathione conjugates. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 115, p. 98-106, 1992.
- (82) CROWE, C. A.; YONG, A. C.; CALDER, I. C.; HAM, K. N.; TANGE, J. D. The nephrotoxicity of p-aminophenol: I. The effect on microsomal cytochromes, glutathione, and covalent binding in kidney and liver. **Chemical-Biological Interactions**, v. 27, p. 235-243, 1979.
- (83) NASCIMENTO, T. S.; PEREIRA, R. O. L.; MELLO, H. L. D.; COSTA, J. Metemoglobinemia: do diagnóstico ao tratamento. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 58, n. 6, p. 651-664, 2008.
- (84) CARVALHO, C.; RIBEIRO, N.; ALVES, C. L.; GOMES, H.; SARMENTO, A. Metemoglobinemia: revisão a propósito de um caso. **Arquivos de Medicina**, v. 25, n. 3, p. 100-106, 2011.
- (85) WOLFRAM, L. J.; MAIBACH, H. I. Percutaneous penetration of hair dyes. **Archives of Dermatological Research**, v. 277, p. 235-241, 1985.
- (86) LYNCH, B. S.; DELZELL, E. S.; BECHTEL, D. H. Toxicology review and risk assessment of resorcinol: thyroid effects. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 2, p. 198-210, 2002.
- (87) GRANT, W. M. **Toxicology of the eye**. 3rd ed. Springfield: Charles C. Thomas Publisher, 1986.
- (88) KRASTEVA, M.; BONS, B.; TOZER, S.; RICH, K.; HOTING, E.; HOLLENBERG, D.; FUCHS, A.; FAUTZ, R. Contact allergy to hair colouring products. The cosmetovigilance experience of four companies (2003-2006). **European Journal of Dermatology**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2010.
- (89) REDLICK, F.; DEKOVEN, J. Allergic contact dermatitis to parapàhenylenediamine in hair dye after sensitization from black henna tattoos: a report of 6 cases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 176, n. 4, p. 445-446, 2007.

- (90) DELEO, V. P-phenylenediamine. **Dermatitis**, v. 17, n. 2, p. 53–55, 2006.
- (91) R7. **Adolescente quase fica cega após passar tintura nas sobrancelhas**. <<https://recordtv.r7.com/hoje-em-dia/videos/adolescente-quase-fica-cega-apos-passar-tintura-nas-sobrancelhas-14102018>>. Acesso em: 24 jan. 2020.
- (92) BRANCACCIO, R. R.; BROWN, L. H.; CHANG, Y. T.; FOGELMAN, J. P.; MAFONG, E. A.; COHEN, D. E. Identification and quantification of para-phenylenediamine in a temporary black henna tattoo. **American Journal of Contact Dermatitis**, v. 13, n. 1, p. 15-18, 2002.
- (93) YAHOO. **Reação à tatuagem de henna destrói braço de criança**. <<https://br.noticias.yahoo.com/reacao-tatuagem-de-henna-destroi-braco-de-crianca-073859783.html>>. Acesso em: 24 jan. 2020.
- (94) AEBY, P.; SIEBER, T.; BECK, H.; GERBERICK, G. F.; GOEBEL, C. Skin sensitization to p-phenylenediamine: the diverging roles of oxidation and N-acetylation for dendritic cell activation and the immune response. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 129, n. 1, p. 99-109, 2009.
- (95) WHITE, J. M. L.; BASKETTER, D. A.; PEASE, C. K.; SANDERS, D. A.; MCFADDEN, J. P. Intermittent exposure to low-concentration paraphenylenediamine can be equivalent to single, higher-dose expose. **Contact Dermatitis**, v. 56, n. 5, p. 262–265, 2007.
- (96) BAAN, R.; STRAIF, K.; GROSSE, Y.; SECRETAN, B.; EL GHISSASSI, F.; BOUVARD, V.; BENBRAHIM-TALLAA, L.; COGLIANO, V. Carcinogenicity of some aromatic amines, organic dyes and related exposures. **The Lancet Oncology**, v. 9, p. 322–323, 2008.
- (97) INTERNATIONAL AGENCY FOR THE RESEARCH OF CANCER. **Occupational exposure of hairdressers and barbers and personal use of hair colorants: some hair dyes, cosmetic colorants, industrial dyestuffs and aromatic amines**. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Volume 57. Geneva: World Health Organisation, 1993.

- (98) AMES, B. N.; KAMMEN, H. O.; YAMASAKI, E. Hair dyes are mutagenic: identification of a variety of mutagenic ingredients. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, n. 6, p. 2423-2427, 1975.
- (99) RAUSCHER, G. H.; SHORE, D.; SANDLER, D. P. Hair dye and risk of adult acute leucemia. **American Journal of Epidemiology**, v. 160, n. 1, p. 19-25, 2004.
- (100) CZENE, K.; TIIKKAJA, S.; HEMMINKI, K. Cancer risks in hairdressers: assessment of carcinogenicity of hair dyes and gels. **International Journal of Cancer**, v. 105, n. 1, p. 108-112, 2003.
- (101) ZAHM, S. H.; WEISENBURGER, D. D.; BABBITT, P. A.; SAAL, R. C.; VAUGHT, J. B.; BLAIR, A. Use of hair coloring products and the risk of lymphoma, multiple myeloma, and chronic lymphocytic leukemia. **American Journal of Public Health**, v. 82, n. 7, p. 990-997, 1992.
- (102) GAGO-DOMINGUEZ, M.; CASTELAO, J. E.; YUAN, J. M.; YU, M. C.; ROSS, R.K. Use of permanent hair dyes and bladder cancer risk. **International Journal of Cancer**, v. 91, p. 575-579, 2001.
- (103) GAGO-DOMINGUEZ, M.; BELL, D. A.; WATSON, M. A.; JIAN-MIN, Y.; CASTELAO, J. E.; HEIN, D. W.; CHAN, K. K.; COETZEE, G. A.; ROSS, R. K.; YU, M. C. Permanent hair dyes and bladder cancer: risk modification by cytochrome P450A2 and N-Acetyltransferase 1 and 2. **Carcinogenesis**, v. 24, n. 3, p. 483-489, 2003.
- (104) GOLKA, K., PRIOR, V., BLASZKEWICZ, M., BOLT, H. M. The enhanced bladder cancer susceptibility of NATY2 slow acetylators towards aromatic amines: a review considering ethnic differences. **Toxicology Letters**, v. 128, p. 229-241, 2002.
- (105) RYLANDER, L.; AXMON, A.; TOREN, K.; ALBIN, M. Reproductive outcome among female hairdressers. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 59, p. 517-522, 2002.
- (106) HERDT-LOSAVIO, M. L.; LIN, S.; DRUSCHEL, C. M.; HWANG, S. A.; MAUER, M. P.; CARLSON, G.A. The risk of having a low birth weight or preterm infant among

cosmetologists in New York State. **Maternal and Child Health Journal**, v. 13, p. 90–97, 2009.

(107) HALLIDAY-BELL, J.; GISSLER, M.; JAAKOLA, J. K. Work as hairdresser and cosmetologist and adverse pregnancy outcomes. **Occupational Medicine**, v. 59, p. 180–184, 2009.

(108) AXMON, A, RYLANDER, L. Birth weight and fetal growth in infants born to female hairdressers and their sisters. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 66, n. 3, p. 198–204. 2009.

(109) GALLICCHIO, L.; MILLER, S.; GREENE, T.; ZACUR, H.; FLAWS, J. A. Cosmetologists and reproductive outcomes. **Obstetrics and Gynecology**, v. 113, n. 5, p. 1018–1025, 2009.

(110) GOULET, L.; THÉRIAULT, G. Stillbirth and chemical exposure of pregnant workers. **Scandinavian Journal of Work, Environment and Health**, v. 17, p. 25–31, 1991.

(111) KERSEMAEKERS, W.; ROELEVELD, N.; ZIELHUS, G. Reproductive disorders due to chemical exposure among hairdressers. **Scandinavian Journal of Work, Environment and Health**, v. 21, p. 325–334, 1995.

(112) KERSEMAEKERS, W.; ROELEVELD, N.; ZIELHUS, G. Reproductive disorders among hairdressers. **Epidemiology**, v. 8, n. 4, p. 396–401, 1997.

(113) MCDONALD, A. D.; MCDONALD, J. M. C.; ARMSTRONG, B.; CHERRY, N. M.; NOLIN, A. D.; ROBER, D. Prematurity and work in pregnancy. **British Journal of Industrial Medicine**, v. 45, p. 56–62, 1988.

(114) ZHENG, T.; HOLFORD, T. R.; MAYNE, S. T.; OWENS, P. H.; BOYLE, P.; ZHANG, B.; ZHANG, Y. W.; ZAHM, S. H. Use of hair colouring products and breast cancer risk: a case–control study in Connecticut. **European Journal of Cancer**, v. 38, n. 12, p. 1647–1652, 2002.

- (115) COOK, L. S.; MALONE, K. E.; DALING, J. R.; VOIGT, L. F.; WEISS, N. S. Hair product use and the risk of breast cancer in young women. **Cancer Causes and Control**, v. 10, n. 6, p. 551-559, 1999.
- (116) NAGATA, C.; SHIMIZU, H.; HIRASHIMA, K.; KAKISHITA, E.; FUJIMURA, K.; NIHO, Y.; KARASAWA, M.; OGUMA, S.; YOSHIDA, Y.; MIZOGUCHI, H. Hair dye use and occupational exposure to organic solvents as risk factors for myelodysplastic syndrome. **Leukemia Research**, v. 23, n. 1, p. 57-62, 1999.
- (117) Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC\\_79\\_2000\\_COMP.pdf/e7cc09b7-6804-432c-9b92-b655972e886a](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_79_2000_COMP.pdf/e7cc09b7-6804-432c-9b92-b655972e886a)>. Acesso em: 28/01/2020.
- (118) MAGUIRE, R. J. Occurrence and persistence of dyes in a canadian river. **Water Science and Technology**, v. 25, n. 11, p. 265–270, 1992.
- (119) OHE, T., TAKEUCHI, N., WATANABE, T., TADA, A., NUKAYA, H., TERAQ, Y., SAWANISHI, H., HIRAYAMA, T., SUGIMURA, T., WAKABAYASHI, K. Quantification of two aromatic amine mutagens, PBTA-1 and PBTA-2, in the yodo river system. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 701–704, 1999.
- (120) OLIVEIRA, D. P.; CARNEIRO, P. A.; SAKAGAMI, M. K.; ZANONI, M. V. B.; UMBUZEIRO, G. A. Chemical characterization of a dye processing plant effluent - identification of the mutagenic components. **Mutation Research**, v. 626, p. 135–142, 2007.
- (121) UMBUZEIRO, G. A.; FREEMAN, H. S.; WARREN, S. H.; OLIVEIRA, D. P.; TERAQ, Y.; WATANABE, T.; CLAXTON, L. D. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. **Chemosphere**, v. 60, p. 55–64, 2005.
- (122) VACCHI, F. I.; VENDEMIATTI, J. A. S.; BROSSELIN, V.; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B.; DEMEO, M.; BONY, S.; DEVAUX, A.; UMBUZEIRO, G. A. Combining different assays and chemical analysis to characterize the genotoxicity of waters impacted by textile discharges. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 57, p. 559-571, 2016.
- (123) VACCHI, F. I.; VENDEMIATTI, J. A. S.; SILVA, B. F.; ZANONI, M. V. B.; UMBUZEIRO, G. A. Quantifying the contribution of dyes to the mutagenicity of waters

under the influence of textile activities. **Science of the Total Environment**, v. 601-602, p. 230-236, 2017.

(124) ZOCCOLO, G. J.; SANTOS, G. P.; VENDEMIATTI, J.; VACCHI, F. I.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Using SPE-LC-ESI-MS/MS analysis to assess disperse dyes in environmental water samples. **Journal of Chromatographic Science**, v. 53, p. 1257–1264, 2015.

(125) CARNEIRO, P. A.; UMBUZEIRO, G. A.; OLIVEIRA, D. P.; ZANONI, M. V. B. Assessment of water contamination caused by a mutagenic textile effluent/dye house effluent bearing disperse dyes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 174, p. 694-699, 2010.

(126) SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Practical HPLC method development**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1997.

(127) SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. I. **Introduction to modern liquid chromatography**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979.

(128) SILVA, B. F.; SOUZA, J.C.; ZANONI, M. V. B. Cromatografia aplicada na análise de corantes. In: YAMANAKA, H.; ZANONI, M.V.B. (Eds.). **Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016. Cap. 11, p. 179–197.

(129) NARITA, M.; MURAKAMI, K.; KAUFFMANN, J-M. Determination of dye precursors in hair coloring products by liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 588, p. 316-320, 2007.

(130) RASTOGI, S. C. A method for the analysis of intermediates of oxidative hair dyes in cosmetic products. **Journal of Separation Science**, v. 24, p. 173-178, 2001.

(131) MOHAMED, K. M.; CROMARTY, D.; STEENKAMP, V. Development and validation of na LC-MS/MS method for determination of *p*-phenylenediamine and its metabolites in blood samples. **Journal of Chromatography B**, v. 997, p. 1-6, 2015.

- (132) YIN, H.; MA, Q.; ZHOU, Y.; AI, S.; ZHU, L. Electrochemical behavior and voltammetric determination of 4-aminophenol based on graphene–chitosan composite film modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 7102-7108, 2010.
- (133) PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalítica. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.
- (134) BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd ed. New York: John Wiley, 2001.
- (135) KUMARAVEL, A.; CHANDRASEKARAN, M. A biocompatible nano TiO<sub>2</sub>/nafion composite modified glassy carbon electrode for the detection of fenitrothion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 650, p. 163-170, 2011.
- (136) AKYUZ, M.; ATA, S. Determination of aromatic amines in hair dye and henna samples by ion-pair extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 68–80, 2008.
- (137) TANADA, N.; KAGEURA, M.; HARA, K.; HIEDA, Y.; TAKAMOTO, M.; KASHIMURA, S. Identification of human hair stained with oxidation hair dyes by gas chromatographic-mass spectrometric analysis. **Forensic Science International**, v. 52, p. 5-11, 1991.
- (138) CHOWDHARY, G. Gas liquid chromatographic determination of toxic diamines in permanent hair dyes. **Journal of Chromatography A**, v. 193, p. 277-284, 1980.
- (139) CHU, Q.; JIANG, L.; XIUHUI, T.; JIANNONG, Y. Rapid determination of acetaminophen and *p*-aminophenol in pharmaceutical formulations using miniaturized capillary electrophoresis with amperometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 606, p. 246-251, 2008.
- (140) ZATAR, N. A.; ABU-ZUHRI, A. Z.; ABU-SHAWEESH, A. A. Spectrophotometric determination of some aromatic amines. **Talanta**, v. 47, p. 883–890, 1998.

- (141) ZWARG, J. R. R. M.; MORALES, D. A.; MASELLI, B. S.; BRACK, W.; UMBUZEIRO, G. A. Miniaturization of the microsuspension Salmonella/microsome assay in agar microplates. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 59, p. 488-501, 2018.
- (142) HAGIWARA, Y.; WATANABE, M.; ODA, Y.; SOFUNI, T.; NOHMI, T. Specificity and sensitivity of *Salmonella typhimurium* YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and acetyltransferase activity. **Mutation Research**, v. 291, p. 171-180, 1993.
- (143) MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research**, v. 455, p. 29-60, 2000.
- (144) BERNSTEIN, L.; KALDOR, J.; MCCANN, J.; PIKE, M. C. An empirical approach to the statistical analysis of mutagenesis data from the Salmonella test. **Mutation Research**, v. 97, p. 267-281, 1982.
- (145) ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Test No. 202: Daphnia sp. acute immobilisation test**. OECD guidelines for the testing of chemicals, section 2. Paris: OECD Publishing, 2004.
- (146) AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th ed. Washington, DC: American Water Works Association and Water Environmental Federation, 1998.
- (147) UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Manual for the certification of laboratories analyzing drinking water: criteria and procedures quality assurance**. 50th ed. Cincinnati: United States Environmental Protection Agency, 2005.
- (148) HUDARI, F. F.; SOUZA, J. C.; ZANONI, M. V. B. Adsorptive stripping voltammetry for simultaneous determination of hydrochlorothiazide and triamterene in hemodialysis samples using a multi-walled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode. **Talanta**, v. 179, p. 652-657, 2018.
- (149) WESTERMEIER, R.; NAVEN, T.; HÖPKER, H. R. **Proteomics in practice: a guide to successful experimental design**. Berlin: Wiley-Blackwell, 2008.

- (150) REHANA, D.; HALEEL, A.; RAHIMAN, A. K. Hydroxy, carboxylic and amino acid functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization and in vitro anti-cancer studies. **Journal of Chemical Sciences**, v. 127, n. 7, p. 115-1166, 2015.
- (151) PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**, 4<sup>o</sup> ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.
- (152) GOUX, A.; PRATT, D.; DUNSCH, L. The reaction mechanism of *p*-toluenediamine anodic oxidation: an in situ ESR-UV/Vis/NIR spectroelectrochemical study. **ChemPhysChem**, v. 8, p. 2101-2106, 2007.
- (153) SONG, Y. Theoretical studies on electrochemistry of *p*-aminophenol. **Spectrochimica Acta A**, v. 671, p. 611–618, 2007.
- (154) SNEAD, W. K.; REMICK, A. E. Studies on oxidation-reduction mechanism. II. The anodic oxidation of *p*-aminophenol. **Journal of American Chemical Society**, v. 79, p. 6121-6127, 1957.
- (155) HERAS, A. M.; AVILA, J. L.; RUIZ, J. J.; GARCÍA-BLANCO, F. A contribution to the study of the electrochemical oxidation of *p*-aminophenol on a mercury electrode. **Electrochimica Acta**, v. 29, p. 541-545, 1984.
- (156) CLAXTON, L. D. The integration of bioassay and physiochemical information for complex mixtures. In: WATERS, M. D.; SANDHU, S. S.; LEWTAS, J.; CLAXTON L. D.; CHERNOFF N.; NESNOW, S. (Eds.). **Short-term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures III**. Boston: Springer, 1983, Chap. 1, p. 153–162.
- (157) MCCANN, J. CHOI, E.; YAMASAKI, E.; AMES, B. N. Detection of carcinogen as mutagen in the Samonella/microsome test: assay of 300 chemicals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, p. 5135-5139, 1975.
- (158) MCCANN, J.; SPINGARN, N. E.; KOBORI, J.; AMES, B. N. Detection of carcinogen as mutagens: bacterial tester strains with R factor plasmids. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 72, p. 979-983, 1975.

- (159) GARNER, R. C.; NUTMAN, C. A. Testing of some azo dyes and their reduction products for mutagenicity using Salmonella Typhimurium TA 1538. **Mutation Research**, v. 44, p. 9-19, 1977.
- (160) MILLER, J. A. Carcinogenesis by chemicals; an overview – G. H. A. clowes memorial lecture. **Cancer Research**, v. 30, p. 559-576, 1970.
- (161) BENEDICT, W. F. Morphological transformation and chromosome aberrations produced by two hair-dye components. **Nature**, v. 260, p. 368-369, 1976.
- (162) KIRKLAND, D. J.; VENITT, S. Cytotoxicity of hair colourant constituents: chromosome damage induced by two nitrophenylene-diamines in cultured Chinese hamster cells. **Mutation Research**, v. 40, p. 47-56, 1976.
- (163) SEARLE, C. E.; HARDEN, D. G.; VENITT S.; GYDE, O. H. B. Carcinogenicity and mutagenicity tests of some hair colourants and constituents. **Nature**, v. 255, p. 506-507, 1975.
- (164) AMES, B. N. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. In: HOLLAENDER, A. (Ed.). **Chemical mutagens: principles and methods for their detection**. New York: Plenum Press, 1971, Chap. 9, p. 267-282.
- (165) AMES, B. N.; LEE, F. D.; DURSTON, W. E. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n. 3, p. 782-786, 1973.
- (166) AMES, B. N.; DURSTON, W. E.; YAMASAKI, E.; LEE, F. D. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n. 8, p. 2281-2285, 1973.
- (167) KADO, N. Y.; LANGLEY, D.; EISENSTADT, E. A simple modification of the Salmonella liquid-incubation assay. Increased sensitivity for detecting mutagens in human urine. **Mutation Research**, v. 121, n. 1, p. 25-32, 1983.
- (168) ZAGATTO, A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática - princípios e aplicações**. São Carlos: Editora Rima, 2006.

- (169) RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. São Paulo: Roca Ltda, 1996.
- (170) MAZZO, T. M.; SACZK, A. A.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. Analysis of aromatic amines in surface waters receiving wastewater from a textile industry by liquid chromatographic with electrochemical detection. **Analytical Letters**, v. 39, p. 2671-2685, 2006.
- (171) BRETT, C. M. A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. **Electrochemistry: principles, methods, and applications**. Oxford: Oxford University Press, 1993.
- (172) MACHINI, W. B. S.; ENACHE, T. A.; JORGE, S. M. A.; OLIVEIRA-BRETT A. M. Isotretinoin oxidation and electroanalysis in a pharmaceutical drug using a boron-doped diamond electrode. **Electroanalysis**, v. 28, p. 2709-2712, 2016.
- (173) DICULESCU, V. C.; ENACHE, T. A. Voltammetric and mass spectrometry investigation of methionine oxidation. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 834, p. 124-129, 2019.
- (174) FEUGHELMAN, M. The physical properties of alpha-keratin fibers. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 33, p. 385-406, 1982.
- (175) FEUGHELMAN, M. **Mechanical properties and structure of alpha-keratin fibres: wool, human hair and related fibres**. Sydney: UNSW Press, 1997.
- (176) KYTE, J.; DOOLITTLE, R. F. A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. **Journal of molecular biology**, v. 157, p. 105-132, 1982.
- (177) NEMOTO, E. M.; YONAS, H.; KUWABARA, H.; PINDZOLA, R.; SASHIN, D.; CHANG, Y.; JOVIN, T.; GEBEL, J.; HAMMER, M. D.; WECHSLER, L. Differentiating hemodynamic compromise by the OEF response to acetazolamide in occlusive vascular disease. **Oxygen Transport to Tissue Xxvi**, v. 566 135-141, 2005.
- (178) ISSAAD, F. Z; TOMÉ, L. I. N.; MARQUES, N. V.; MOUATS, C.; DICULESCU, V. C.; OLIVEIRA-BRETT, A. M.. Bevacizumab anticancer monoclonal antibody: native and denatured redox behaviour. **Electrochimica Acta**, v. 206, p. 246-253, 2016.

- (179) OLIVEIRA, S. C. B.; MACHINIRINO, I. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M.. Direct electrochemistry of native and denatured anticancer antibody rituximab at a glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 25, p. 1029-1034, 2013.
- (180) FERNANDES, I. P.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Calcium-induced calmodulin conformational change: electrochemical evaluation. **Bioelectrochemistry**, v. 113, p. 69-78, 2017.
- (181) SANTARINO, I. B.; OLIVEIRA, S. C. B.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Protein reducing agents dithiothreitol and tris(2-carboxyethyl)phosphine anodic oxidation. **Electrochemistry Communications**, v. 23, p. 114-117, 2012.
- (182) K'OWINO, I. O.; SADIK, O. A. Impedance spectroscopy: a powerful tool for rapid biomolecular screening and cell culture monitoring. **Electroanalysis**, v. 17, p. 2101-2113, 2005.
- (183) BROSEL-OLIU, S.; ABRAMOVA, N.; URIA, N.; BRATOV, A. Impedimetric transducers based on interdigitated electrode arrays for bacterial detection - a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1088, p. 1-19, 2019.
- (184) MACHINI, W. B. S.; MARQUES, N. V.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. In situ evaluation of anticancer monoclonal antibody nivolumab-DNA interaction using a DNA-electrochemical biosensor. **ChemElectroChem**, v. 6, p. 4608-4616, 2019.
- (185) RANDVIIR, E. P.; BANKS, C. E. Electrochemical impedance spectroscopy: an overview of bioanalytical applications. **Analytical Methods**, v. 5, p. 1098-1115, 2013.
- (186) ORAZEM, M. E.; TRIBOLLET, B. **Electrochemical impedance spectroscopy**. New Jersey: John Wiley and Sons, 2008.
- (187) KIM, D. K.; ZHANG, Y.; VOIT, W.; RAO, K. V.; MUHAMMED, M. Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 222, n. 1-2, p. 30-36, 2001.

(188) FENG, L.; CAO, M.; ZHU, Y.; HU, C. Superparamagnetic high-surface-area Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as adsorbents for arsenic removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 217-218, n. 30, p. 439-446, 2012.

(189) KARAOGLU, E.; BAYKAL, A.; SENEL, M.; SOZERI, H.; TOPRAK, M. S. Synthesis and characterization of piperidine-4-carboxylic acid functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as a magnetic catalyst for Knoevenagel reaction. **Materials Research Bulletin**, v. 47, n. 9, p. 2480-2486, 2012.