
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)**

**POTENCIAL TÓXICO DE TINTURAS CAPILARES OXIDATIVAS E
NÃO OXIDATIVAS**

MARIA GABRIELA FRANCO DE LIMA

**Rio Claro-SP
2021**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR)**

**POTENCIAL TÓXICO DE TINTURAS CAPILARES OXIDATIVAS E
NÃO OXIDATIVAS**

MARIA GABRIELA FRANCO DE LIMA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Aparecida Marin Morales

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

**Rio Claro-SP
2021**

L732p

Lima, Maria Gabriela Franco de

Potencial tóxico de tinturas capilares oxidativas e não oxidativas / Maria Gabriela Franco de Lima. -- Rio Claro, 2021
118 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Maria Aparecida Marin Morales

1. Toxicologia ambiental. 2. Corantes. 3. Bioensaios. 4. Citotoxicidade. 5. Toxicologia Genética. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

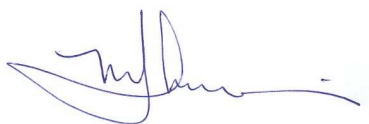
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: POTENCIAL TÓXICO DE TINTURAS CAPILARES OXIDATIVAS E NÃO OXIDATIVAS

AUTORA: MARIA GABRIELA FRANCO DE LIMA

ORIENTADORA: MARIA APARECIDA MARIN MORALES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARIA APARECIDA MARIN MORALES (participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / IB Rio Claro

Profa. Dra. BRUNA DE CAMPOS VENTURA CAMARGO (Participação Virtual)
Centro Universitário Sudoeste Paulista / UniFSP

Prof. Dr. EDSON LUIS MAISTRO (Participação Virtual)
Departamento de Fonoaudiologia / FFC/Marília - Unesp

Rio Claro, 03 de setembro de 2021

*Dedico este trabalho aos meus pais, Clara e Simeão
e ao meu irmão, Evandro,
Por todo amor.*

AGRADECIMENTOS

À minha família, meus pais, Simeão e Clara, meu irmão Evandro, obrigada por me apoiarem em todos os momentos, me incentivarem a seguir meus sonhos e entenderem minha ausência por muitas vezes durante esse tempo. Sem vocês eu não teria conseguido. Amo muito vocês.

À Prof.^a Maria Aparecida Marin Morales, pela orientação, pelos inúmeros ensinamentos, não só para a execução deste trabalho, mas também para a vida. Agradeço pela paciência, pela dedicação e por me acolher em seu grupo. É um privilégio e uma honra poder trabalhar com alguém que era uma inspiração há tanto tempo. Agora, mais ainda. Obrigada por tudo.

Às minhas primeiras orientadoras Prof.^a Larissa e à Gra, por me apresentarem a essa linha de pesquisa, pelo incentivo durante toda a graduação/iniciação científica e pelos ensinamentos. Vocês são uma inspiração.

Aos professores, Dr.^a Bruna de Campos Ventura Camargo e Dr. Edson Luis Maistro, por terem gentilmente aceitado participar da minha banca de defesa, contribuindo imensamente para a melhoria deste trabalho.

À minha irmã de coração, Amandinha, obrigada por me ouvir, animar, me incentivar e acreditar em mim, por se fazer presente em todos os momentos e ter uma música pra cada ocasião. Você é fera demais!

Aos meus amigos da graduação e da vida, Kevin, Lais e Mateus, mesmo que de longe, sei que posso contar com vocês. Obrigada pela amizade, pela torcida e pelos conselhos. Vocês são incríveis. Agradecimento especial ao Mateus, por todas as dicas, conselhos, por seu meu oráculo estatístico e parceiro de inglês.

Ao meu amigo Felipe, o Jan. Obrigada por todos esses anos de amizade, pelos conselhos, pela força e não menos importante, pelas inúmeras consultorias cada vez que meu computador me deixava na mão. Valeu!

Às minhas “girls”, Ana Cris, Lets Rosa, Mari e Paulinha, por todo o companheirismo, desde as ajudas nos experimentos, aos vários coffees, ‘bólos’, vôleis, boxes, yogas, inúmeras conversas, pelos conselhos e pela força. Obrigada por tornarem essa experiência mais leve e, certamente, mais divertida. Vou levar vocês sempre no meu coração.

Aos companheiros de laboratório, os mutagênicos Cleiton, Gabriel, Gaby, Giovanna, Jaqueline, Kemmy, Laís, Lê Gigeck, Lê Gonçalves, Lê Rocha, Matheus

Gonçalves, Nádia, Rafaela e Rodrigo, obrigada por cada ajuda, dica, ensinamento, momentos compartilhados, trocas de conhecimento e risadas.

À Adriana, gratidão por cuidar tão bem do nosso laboratório, sempre estar disposta a nos ajudar e nos ensinar no que precisamos, além de sempre levar os melhores lanchinhos. Obrigada.

Ao Adriano, do laboratório de Bioquímica, gratidão pela paciência, ensinamentos e ajuda com os cálculos e preparo de soluções.

Aos professores e funcionários do Departamento de Biologia Geral e Aplicada, pela aprendizagem, convívio, ajuda e apoio.

Ao Instituto de Biociências da UNESP e ao Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA) por fornecerem toda a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A execução deste trabalho só foi possível graças ao apoio de amigos e profissionais que contribuíram direta ou indiretamente para que ele se tornasse realidade. Sendo assim, deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos a cada um que fez parte dessa caminhada. Obrigada!

"A ciência não é somente compatível com a espiritualidade, ela é uma fonte profunda de espiritualidade."

- Carl Sagan

RESUMO

O cabelo humano, assim como qualquer outro pelo de mamíferos, tem como função a proteção e regulação da temperatura corporal, pela facilitação dos processos de transpiração e evaporação. Contudo, essa estrutura também é um importante elemento estético do indivíduo, pois dá forma ao rosto e contribui para a construção da identidade pessoal. Sabe-se que desde a antiguidade, os povos utilizavam diversos elementos naturais para tingir os cabelos, porém, foi só no início do século XX que a primeira tintura sintética foi produzida. Atualmente, as tinturas capilares sintéticas são amplamente utilizadas por homens e mulheres em todo o mundo. Diante desse contexto, surgiu a necessidade de conhecer os reais efeitos desses produtos sobre a saúde humana e também os possíveis impactos que possam causar ao meio ambiente, pois, esses compostos estão presentes em efluentes industriais e de estações de tratamento de esgoto urbano, podendo, assim, contaminar, inclusive recursos hídricos destinados ao consumo humano. Uma forma de se estudar os possíveis efeitos tóxicos das tinturas capilares é por meio de ensaios com bioindicadores, pois estes permitem entender os mecanismos de ação biológica de compostos químicos. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo estudar o potencial fitotóxico e citogenotóxico da tintura capilar oxidativa (permanente) de coloração castanha média (grupo colorimétrico de número 4), em três diferentes formulações: tinturas em pó e em creme, sendo a em creme testada com e sem associação com peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A avaliação da fitotoxicidade das tinturas foi realizada por meio dos ensaios de germinação com *Lactuca sativa* e *Allium cepa* e crescimento radicular e do hipocótilo com *L. sativa*. A citogenotoxicidade, por sua vez, foi avaliada por meio do ensaio de aberrações cromossômicas e nucleares, realizados com o bioindicador *A. cepa*. Adicionalmente aos ensaios processados com os bioindicadores vegetais, foi também realizada uma ampla revisão sobre os efeitos tóxicos de azocorantes utilizados na formulação de tinturas capilares não oxidativas (do tipo temporárias e semipermanentes), que permitiu a elaboração de um artigo de revisão sobre o assunto. Os ensaios de fitotoxicidade mostraram que a reação da tintura capilar com H_2O_2 induziu diferenças nos parâmetros avaliados, mostrando que a tintura pode se tornar mais tóxica, após oxidação. Tanto a tintura associada com H_2O_2 como a em pó induziram diminuição do índice mitótico. Já a tintura não oxidada (sem H_2O_2) induziu aberrações cromossômicas e nucleares, indicando que os demais

componentes presentes na formulação da tintura, como aminas aromáticas, já possuem potencial citogenotóxico. Os resultados encontrados nos ensaios com modelos vegetais expostos a tinturas oxidativas, bem como o que foi encontrado e reportado na revisão bibliográfica a respeito de tinturas não-oxidativas enfatizam que os componentes das tinturas capilares, seus produtos de oxidação e de metabolização apresentam efeitos nos organismos testados nos mais diversos níveis de toxicidade. Tal fato implica o risco que esses compostos apresentam tanto para seres humanos, que possuem contato direto com os produtos, quanto para o meio ambiente, uma vez que tanto os componentes das tinturas, quanto substâncias derivadas da sua oxidação e metabolização são encontrados em efluentes de indústrias e salões de beleza e podem, por consequência, atingir cursos d'água e contaminar e se bioacumular em outros organismos vivos.

Palavras-chave: *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, azocorantes, tinturas capilares permanentes, citotoxicidade, genotoxicidade.

ABSTRACT

Human hair, like any other hair in mammals, has various functions, such as skin protection and regulation of body temperature, through transpiration and evaporation. However, this structure is also an important aesthetic element, since it frames people's faces and contributes to the building of personal identity. It is known that since ancient times, people used several natural elements to dye their hair, but it was only at the beginning of the 20th century that the first synthetic dye was invented. Currently, synthetic hair dyes are widely used by both men and women all over the world. This gave rise to the need of knowing the real effects of these products on human health and also, the effects that they might cause on the environment since these compounds are present in industrial effluents and urban wastewater treatment plants, and thus, can contaminate water resources destined to human consumption. One method of studying the likely effects of hair dyes, is by bioassays with bioindicators, because they allow the understanding of the biological mechanisms of action of chemical compounds. Thus, this work aimed at studying the phytotoxic and cytogenotoxic potential of a permanent natural dark brown hair dye (colorimetric group n°4) in three different formulations: powder and cream, being the cream formulation tested with and without association with hydrogen peroxide (H₂O₂). The phytotoxic evaluation of the dyes was studied by the germination test, with *Lactuca sativa* and *Allium cepa*, and the root and shoot elongation test with *Lactuca sativa*. The cytogenotoxicity, on the other hand, was evaluated by the chromosomal and nuclear aberration assay, using the bioindicator *A. cepa*. Additionally, to the bioassays done with the vegetable bioindicators, a wide review was done about the toxic effects of azodyes used in the formulation of temporary and semipermanent hair dyes, which allowed the elaboration of a review paper on the subject. The phytotoxicity assays showed that the reaction between the hair dye and H₂O₂ induced differences in the analyzed parameters, demonstrating that the dye can become more toxic after oxidation. The dye associated with H₂O₂, as well as the powder formulation induced a mitodepressive effect. On the other hand, the non-oxidated dye (without H₂O₂) induced chromosomal and nuclear aberrations, indicating that the other components in the dye formulation, such as aromatic amines, also have cytogenotoxic potential. The results found in the plant bioassays with oxidative dyes, as well as what was reported on the review on non-oxidative dyes emphasize that hair dye components, their oxidation and metabolization

products induce several toxic effects in various organisms. This fact shows the risk that these compounds present both to humans, who have them applied directly on their skin, and to the environment since both dye components and substances derived from their oxidation and metabolization are found in industrial and beauty saloons effluents and therefore, can reach watercourses, contaminating and bioaccumulating other living organisms.

Keywords: *Allium cepa*, *Lactuca sativa*, azodyes, permanent hair dyes, cytotoxicity, genotoxicity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Vias químicas da formação da cor, por meio da oxidação da p-fenilenodiamina	26
Figura 2 – Crescimento radicular e de hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> exposta à tintura capilar com H ₂ O ₂	50
Figura 3 – Crescimento radicular e de hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> exposta à tintura capilar sem H ₂ O ₂	51
Figura 4 – Crescimento radicular e de hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> exposta à tintura em pó	52
Figura 5 – Crescimento de radícula e hipocótilo de <i>Lactuca sativa</i> exposta à diferentes formas de tintura capilar, em diferentes concentrações	54
Figura 6 - Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de <i>Allium cepa</i> submetidos ao tratamento com tintura associada ao H ₂ O ₂	55
Figura 7 – Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de <i>Allium cepa</i> submetidos ao tratamento com tintura sem associação ao H ₂ O ₂	56
Figura 8 – Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de <i>Allium cepa</i> submetidos ao tratamento com tinta em pó.....	57
Figura 9 - Aberrações cromossômicas e nucleares observadas nos ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade realizados com células de maristema radicular de <i>A. cepa</i> expostas às tinturas capilares de cor castanha.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> (alface) expostas à diferentes formas de tinturas capilares e diferentes concentrações	47
Tabela 2 – Germinação de sementes de <i>Allium cepa</i> (cebola) expostas à diferentes formas de tinturas capilares e diferentes concentrações	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Relação entre os diferentes bioensaios vegetais utilizados para determinar a toxicidade de substâncias e os <i>endpoints</i> correspondentes	31
Quadro 2 – Principais azocorantes utilizados na composição de tinturas capilares não oxidativas e seus metabólitos.....	73
Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC – Aberrações cromossômicas

a.C. – Antes de Cristo

AN – Aberrações nucleares

ANOVA – Análise de variância

BOD – Demanda bioquímica de oxigênio

CN – Controle negativo

CP – Controle positivo

FDA – U.S. Food and Drug Administration

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

HCA – High Content Analysis

IARC – International Agency on Research on Cancer (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)

IM – Índice mitótico

ISO – International Organization of Standardization

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

µg – Microgramas

M – Molar

mg – Miligramas

mL – Mililitros

mM – Milimolar

MMS – Metil-metanosulfonato

MN – Micronúcleo

NaB – Borato de sódio

pH – Potencial hidrogeniônico

PPD – Paraftenilenodiamina

SCCP - Scientific Committee on Consumer Products

SCCS - Scientific Committee on Consumer Safety

SY – Sunset Yellow

TRIF – Trifluralina

USEPA – U.S. Environmental Protection Agency

ZnSO₄·7H₂O – Sulfato de zinco heptahidratado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	23
3.1 Histórico do uso de corantes capilares.....	23
3.2 Toxicidade de tinturas capilares	26
3.3 Bioensaios e sua importância na determinação do potencial citogenotóxico de substâncias	28
3.3.1 Bioensaios vegetais.....	29
3.4 Bioensaios utilizados no estudo da citogenotoxicidade e fitotoxicidade de compostos	30
3.4.1 Testes de germinação e desenvolvimento	31
3.4.2 Teste de aberrações cromossômicas e nucleares.....	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1 Materiais.....	34
4.1.1 Tinturas e Soluções	34
4.1.2 Material biológico.....	35
4.2 Metodologia.....	35
4.2.1 Teste de germinação com <i>Lactuca sativa</i> e <i>Allium cepa</i> e teste de inibição do crescimento com <i>L. sativa</i>	35
4.2.2 Teste de aberrações cromossômicas e nucleares.....	36
4.2.3 Análises estatísticas	36
4.2.4 Revisão bibliográfica.....	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
Artigo 1: Avaliação do potencial fitotóxico e citogenotóxico de tinturas capilares de coloração castanha	39
Artigo 2: Azocorantes em tinturas capilares – toxicidade dos compostos e de seus metabólitos.....	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	109

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
----------------------------------	-----

1 INTRODUÇÃO GERAL

A mudança na cor dos fios de cabelo é um desejo antigo dos seres humanos, prática esta, associada a cultura, posição social, idade e, principalmente, à busca de uma boa autoimagem. Há, pelo menos 4.000 anos, os seres humanos fazem uso de técnicas de coloração para alterar a cor dos cabelos. Essas técnicas passaram do uso de corantes naturais derivados de extratos vegetais como o da henna (*Lawsonia alba* L.) por egípcios, de pentes de chumbo mergulhados em vinagre por romanos, até chegarem nas tinturas sintéticas modernas, que permitem a mudança temporária, semipermanente ou permanente na coloração capilar, além de possuírem uma maior variabilidade de cores e grande facilidade de aplicação (OLIVEIRA et al., 2014; TRÜEB; LEE, 2014; HANUMANTHAYYA et al., 2018;). De acordo com a Goldstein Market Intelligence (2020), dados de pesquisa de mercado mostram que, na Europa, cerca de 70% das mulheres e 10% dos homens fazem uso de tintura capilar, dados esses similares aos dos Estados Unidos, onde a porcentagem de uso para mulheres chega a 75%. Já no Brasil, cerca de 26% da população adulta, sendo 85% mulheres e 15% homens, utilizam tinturas capilares (Inmetro, 2016). Atualmente as tinturas capilares são classificadas de acordo com o tipo de reação envolvida na formação da cor, capacidade de se difundir ao fio de cabelo e durabilidade da coloração (MADNANI; KHAN, 2013; UTER; LEPOITTEVIN; LIDÉN, 2019).

As tinturas temporárias e semipermanentes são também chamadas de tinturas diretas ou não-oxidativas, pois não requerem a utilização de agentes oxidantes para a impregnação da cor ao fio do cabelo (UTER; LEPOITTEVIN; LIDÉN, 2019). Essas tinturas são compostas por moléculas de alta massa molecular, solúveis em água, como, por exemplo, os corantes do tipo azo. No caso das tinturas temporárias, elas se depositam na camada cuticular do fio (camada mais externa), enquanto que nas semipermanentes se fixam parcialmente no córtex (camada mais interna), sendo ambas facilmente removidas após algumas lavagens (CORBETT, 1988; DRAELOS, 2005). Esses produtos são encontrados na forma de xampu, gel, emulsão e solução (OLIVEIRA et al., 2014; DA FRANÇA et al., 2015).

Por outro lado, as chamadas tinturas permanentes (oxidativas) são os cosméticos mais utilizados no mundo para colorir cabelos, tanto por homens como por mulheres (VENKATESAN et al., 2021). Nesse tipo de tintura, a reação de formação da cor se dá pela interação entre três componentes: o agente precursor, representado por compostos da classe de aminas aromáticas; o agente acoplador, também

caracterizado por compostos aromáticos; e o agente oxidante peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A reação entre esses componentes, forma um composto de alta massa molar que se difunde para o interior do fio do cabelo, de onde não consegue sair. Por essa razão, a tintura é classificada como do tipo permanente (KIM; KABIR; JAHAN, 2016; HEDBERG et al., 2018).

As tinturas capilares apresentam grande risco, devido à toxicidade dos agentes que as compõem (KIM; KABIR; JAHAN, 2016). Os azocorantes, principais corantes utilizados na formulação de tinturas não-oxidativas, são compostos reconhecidamente genotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos, que promoverem alterações celulares, como aberrações cromossômicas e anormalidades nucleares, até aparecimento de cânceres, como os de bexiga e hepatocarcinomas (PUVANESWARI; MUTHUKRISHNAN; GUNASEKARAN, 2006; VENTURA-CAMARGO; MARIN-MORALES, 2013).

A toxicidade destes compostos não está ligada somente ao corante propriamente dito, mas também aos produtos derivadas do seu metabolismo (biotransformação e biodegradação) (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011). A metabolização dos corantes ocorre por ação de enzimas hepáticas, da microbiota intestinal e da pele, além de microrganismos presentes no ambiente (CHUNG; STEVENS; CERNIGLIA, 1992; RAFII; CERNIGLIA, 1995; CHEN, 2006; BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011), produzindo compostos denominados amins aromáticas, que podem ser ainda mais tóxicos que os compostos originais (UMBUZEIRO et al., 2005; CHUNG, 2016; VENTURA-CAMARGO; DE ANGELIS; MARIN-MORALES, 2016). As amins aromáticas são compostos que apresentam um alto potencial citogenotóxico, mutagênico e carcinogênico, o que as tornam uma ameaça para a saúde humana, bem como ao meio ambiente (BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017).

Adicionalmente, a parafenilenodiamina (PPD), uma amina aromática e principal agente precursor responsável pela formação da cor das tinturas permanentes (HE et al., 2019), vem sendo frequentemente associada ao aparecimento de diversos efeitos prejudiciais à saúde humana, que variam desde alergias, como a dermatite de contato, até cânceres, como os de bexiga, mama e pele. (XU et al., 2021). As tinturas capilares e seus principais corantes ainda vêm sendo alvos de diversos estudos de citogenotoxicidade e mutagenicidade.

A avaliação da toxicidade de uma substância pode ser estimada por meio de testes que simulam os efeitos biológicos que esta pode conferir à um organismo, comunidade ou ecossistema. Tais testes, também chamados de bioensaios, permitem a caracterização dos mecanismos de ação de substâncias, bem como seus níveis de toxicidade (BOSCH-OREA; FARRÉ; BARCELÓ, 2017). Além disso, os bioensaios se consagram como uma importante avaliação complementar às caracterizações químicas de do agente estudo, pois com eles é possível inferir o risco real que esses produtos podem oferecer à saúde humana e ao meio ambiente (BADERNA et al., 2011).

Bioensaios realizados com organismos vegetais proporcionam vantagens como simplicidade, fácil execução, baixo custo e altas sensibilidade e poder preditivo (FERNANDES et al., 2007, 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009). Adicionalmente, esses testes não ferem preceitos éticos em pesquisa, uma vez que evitam a utilização e sacrifício de animais (ANDRADE-VIEIRA et al., 2014).

Entre os vegetais mais utilizados em bioensaios de toxicidade, destacam-se as espécies *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L. A espécie *A. cepa* é frequentemente utilizada em testes de aberrações cromossômicas, devido às suas características citogenéticas, como cromossomos grandes e em baixo número, que facilitam a detecção de alterações no ciclo celular (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009). Esse teste ainda apresenta uma boa correlação com bioensaios realizados com outros organismos, inclusive os desenvolvidos com células humanas (FISKESJÖ, 1985; PALMIERI et al., 2016). A espécie *L. sativa* é comumente utilizada em testes que avaliam a fitotoxicidade de substâncias, como a influência de compostos na germinação e desenvolvimento da planta. A espécie apresenta vantagens para esse tipo de análise, por apresentar rápida germinação, sementes em grande quantidade e de tamanho reduzido, o que permite uma maior área de contato com a substância (CAMPOS et al., 2008; LIU; ZHANG; LAL, 2016; WANG et al., 2016; GONÇALVES et al., 2020).

Diante das evidências dos efeitos tóxicos gerados pela ação de compostos presentes em tinturas capilares oxidativas, é imprescindível a realização de estudos, como os bioensaios que melhor avaliem as consequências da utilização desses produtos para a saúde humana, bem como os possíveis comprometimentos promovidos pelos resíduos gerados na prática de tingimento capilar, que são descartados no meio ambiente.

Considerando ainda a importância dos azocorantes para a indústria de tinturas capilares e os perigos que esses compostos e seus metabólitos oferecem para o meio ambiente e a saúde humana, estudos que revisem os componentes utilizados na formulação das tinturas não oxidativas, bem como os derivados do seu metabolismo por meio de uma abordagem dos seus aspectos toxicológicos são também de fundamental importância.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Considerando que as tonalidades capilares castanhas estão entre as mais utilizadas por consumidores brasileiros e que tinturas capilares apresentam potencial risco à saúde humana, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial citotóxico e genotóxico das formas comerciais da tintura capilar de cor castanha, nas suas formas em pó e em creme (com e sem peróxido de hidrogênio (H_2O_2)), por meio de bioensaios com os bioindicadores vegetais *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L. Adicionalmente, o presente trabalho objetivou avaliar e revisar os efeitos tóxicos dos principais azocorantes utilizados na formulação de tinturas capilares temporárias e semipermanentes.

2.2 Objetivos específicos

- Investigar o potencial tóxico da tintura capilar de cor castanha (grupo colorimétrico de número 4), por meio de testes de germinação e de inibição de alongamento radicular e do hipocótilo realizados com o bioindicador *Lactuca sativa*;
- Investigar o potencial citogenotóxico de tinturas capilares de cor castanha (grupo colorimétrico de número 4), por meio de ensaios de germinação e de aberrações cromossômicas com o bioindicador vegetal *Allium cepa*;
- Revisar os estudos de fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, imunotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade, entre outros já realizados com os principais azocorantes utilizados na formulação de tinturas capilares não-oxidativas, dos tipos temporárias e semipermanentes, e de tinturas permanentes;

- Colaborar com a linha de pesquisa Toxicologia e Genotoxicidade, investigando e informando sobre os potenciais efeitos tóxicos das tinturas de cabelo para a saúde humana e para o meio ambiente;
- Trazer informações que possam auxiliar nas tomadas de decisões dos órgãos governamentais, sobre a necessidade de avaliação dos possíveis impactos que as tinturas capilares promovem nos recursos hídricos e, conseqüentemente, à saúde ambiental.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico do uso de corantes capilares

Os cabelos humanos apresentam, naturalmente, diversidade de cor e formas (LOZANO et al., 2017), sendo um dos fenótipos mais notáveis no ser humano. Sua pigmentação varia de preto a ruivo, passando por castanhos escuro, médio e claro, loiro, com os mais diversos subtipos de cada um. A tonalidade dos cabelos está, de maneira geral, relacionada com características de pigmentação, como as da cor da pele e dos olhos (ITO; WAKAMATSU, 2011). A variação da cor dos cabelos se deve ao tipo e quantidade de melanina produzida (eumelanina, que confere tons do marrom ao preto e feomelanina, que confere tons do loiro ao vermelho), o que também caracteriza as diferentes etnias (METTRIE et al., 2007; LOUSSOUARN et al., 2016).

O fio de cabelo é composto de duas estruturas distintas, a primeira, chamada de folículo, localizada logo abaixo da pele. Esta estrutura é responsável pelo crescimento e reposição dos fios pós queda. A segunda, chamada de haste ou eixo, é a parte filamentosa que se prolonga acima da pele. A haste é dividida em três partes: (1) A cutícula, caracterizada por várias camadas de células achatadas e finas, que se sobrepõem dispostas como telhas; (2) O córtex, parte que contém feixes de queratina dispostos como uma haste; (3) A medula, localizada no centro do fio, área esta, desorganizada e aberta (VERMA; SINGH, 2016).

Assim como qualquer outro pelo de mamíferos, os cabelos possuem função termorreguladora, barreira física de proteção contra luz ultravioleta e aumento da superfície de evapotranspiração (RANDALL; BOTCHKAREVA, 2009). No entanto, particularmente para o ser humano, os cabelos têm grande apelo estético, estando envolvidos em sinalização social e sexual e funcionando como um indicativo de identidade cultural, estilo pessoal, saúde e beleza. Nesse sentido, a mudança nos

atributos capilares se tornou parte da cultura da sociedade, popularizando-se entre pessoas em busca desses valores (KIM; KABIR; JAHAN, 2016; KOCH et al., 2020).

Mais especificamente em relação a mudança na cor, alguns registros mostram que os humanos já faziam uso de técnicas de coloração há pelo menos 4.000 anos. Sumérios, há cerca de 2000 a.C. usavam pentes de prata ou de ouro para pintarem seus cabelos esbranquiçados. Os egípcios, romanos e gregos usavam tinturas produzidas a partir de extrato animal e vegetal em seus cabelos. Em 1500 a.C., mulheres egípcias usavam extrato de henna (*Lawsonia alba* L.) para colorir os cabelos. No império romano, 24 a.C., pintar os cabelos se tornou algo muito popular entre mulheres e homens, sendo comum também a utilização de pentes de chumbo mergulhados em vinagre para dar cor (TRÜEB; LEE, 2014; OLIVEIRA et al., 2014; HANUMANTHAYYA et al., 2018).

Contudo, a primeira tintura capilar sintética foi produzida somente em 1907, revolucionando a técnica de coloração. Após a descoberta de August Wilhelm von Hoffman, em 1863, que o composto parafenilenodiamina (PPD) conferia uma coloração castanho escura aos cabelos, após oxidação por peróxido de hidrogênio, o químico e fundador da L'Oreal, Eugene Schuller, em 1907, iniciou a produção comercial da primeira marca de tintura capilar, denominando-a de "Aureole" (DRAELOS, 2005).

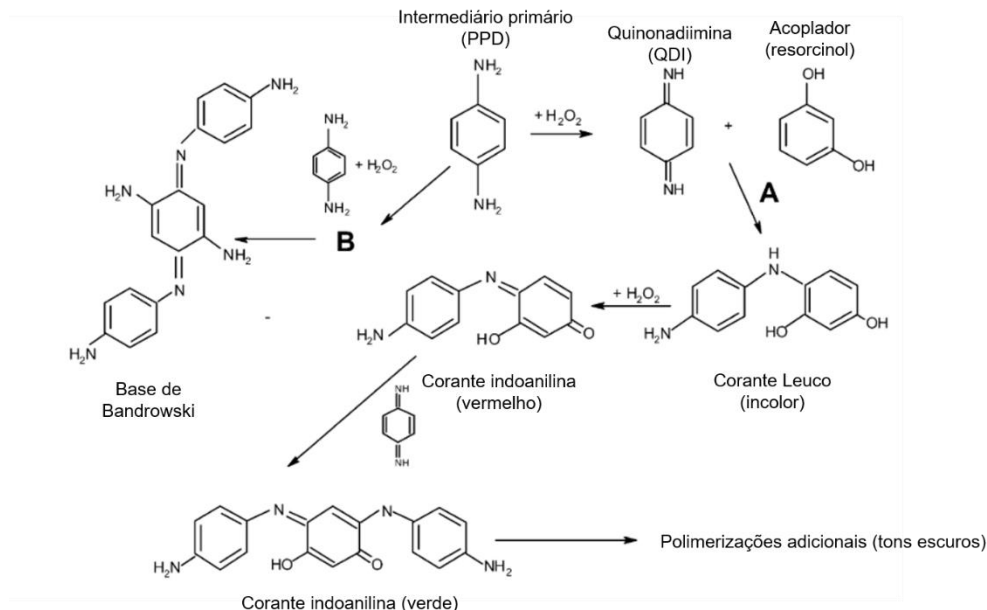
Atualmente, as tinturas capilares são usadas por milhões de pessoas, tanto homens, quanto mulheres. Com a popularização do seu uso, inúmeros produtos e técnicas foram disponibilizados, surgindo muitas variações no processo químico, de acordo com o tipo de coloração utilizada (ARALDI; GUTERRES, 2005).

As tintas capilares podem ser classificadas de acordo com a reação de formação de cor em oxidativas e não-oxidativas e, de acordo com a durabilidade da cor, em temporárias (duram de 8 a 12 lavagens), semipermanentes (duram cerca de 24 lavagens) e permanentes (que se fixam definitivamente à porção exposta do fio) (ARALDI; GUTERRES, 2005; UTER; LEPOITTEVIN; LIDÉN, 2019). As tinturas temporárias são do tipo não-oxidativas. Essas tinturas possuem componentes de alta massa molecular solúveis em água, como os azocorantes, que se depositam na cutícula do cabelo, sem abri-la, não chegando assim ao córtex. Por esse motivo, apresentam pouco tempo de permanência na fibra (CORBETT, 1988). São indicadas apenas para adicionar nuances e não para mudar a cor, sendo facilmente removidas por lavagem. Podem ser encontradas na forma de xampu, gel, emulsão e solução (DA

FRANÇA et al., 2015). As tinturas semipermanentes também são do tipo não-oxidativas e apresentam azocorantes na sua formulação. No entanto, possuem componentes com baixa massa molecular, que se difundem parcialmente no córtex do fio, permitindo que a cor persista por algumas lavagens (DA FRANÇA et al., 2015; MADNANI; KHAN, 2013). Esses compostos proporcionam uma mudança rápida na coloração dos cabelos e são encontrados em diversos produtos, como xampus, sprays e loções (OLIVEIRA et al., 2014).

As tinturas permanentes são as mais utilizadas, devido à sua maior variabilidade de tons, facilidade de aplicação e durabilidade da cor (OLIVEIRA et al., 2014). Neste caso, a coloração se dá pela reação entre dois componentes em meio oxidativo e alcalino, onde a cor é formada no próprio fio. A reação é constituída pela interação de três componentes: (1) agente precursor: compostos aromáticos, como a p-fenilenodiamina (PPD) e p-aminofenol e seus derivados, chamados de intermediários primários; (2) agente acoplador: compostos aromáticos como o m-fenilenodiaminas, resorcinol, naftol e (3) o oxidante em meio alcalino, representado pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A formação da cor se dá quando o agente precursor e o agente acoplador, misturados em meio alcalino, se juntam ao oxidante e são aplicados aos cabelos. Essa mistura se difunde para dentro dos fios, onde, após uma série de reações, forma um composto com alta massa molar. Essa reação forma moléculas maiores que não conseguem sair do córtex, motivo pelo qual a durabilidade da cor é maior. As tinturas permanentes, diferentemente das tinturas temporárias e semipermanentes, não são facilmente removidas por xampus (KIM; KABIR; JAHAN, 2016; HEDBERG et al., 2018). A reação que ocorre pela oxidação da PPD, na ausência do agente acoplador, acarreta na formação de um composto denominado base de Bandrowski, que é conhecidamente genotóxico (UTER; LEPOITTEVIN; LIDÉN, 2019) (FIGURA 1).

Figura 1 – Vias químicas da formação da cor, por meio da oxidação da p-fenilenodiamina



A: na presença do acoplador, ocorre a formação da cor desejada. B: reação de formação da base de Bandrowski, que ocorre na ausência de um agente acoplador. Esse composto é genotóxico. Fonte: adaptado de Nohynek et. al (2004).

3.2 Toxicidade de tinturas capilares

Embora as tinturas capilares sejam usadas indiscriminadamente em todo mundo, estudos mostram que esses compostos são potencialmente tóxicos para usuários e profissionais de salões de beleza. Tinturas do tipo não-oxidativas (temporárias e semipermanentes) apresentam, na sua composição, corantes do tipo azo (ou azocorantes), substâncias estas que possuem potencial citogenotóxico, mutagênico e carcinogênico, seja pela ação do próprio corante (PUVANESWARI; MUTHUKRISHNAN; GUNASEKARAN, 2006), ou pela ação de amins aromáticas derivadas da sua metabolização por biotransformação (por enzimas presentes no fígado, na microbiota intestinal e na pele humanas), ou biodegradação (por bactérias presentes no ambiente) (CHUNG; STEVENS; CERNIGLIA, 1992; RAFII; CERNIGLIA, 1995; CHEN, 2006; BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011). Tais amins também induzem efeitos tóxicos semelhantes ao dos azocorantes, podendo muitas vezes, serem até mais tóxicas que os compostos dos quais se originam (UMBUZEIRO et al., 2005; CHUNG, 2016; VENTURA-CAMARGO; DE ANGELIS; MARIN-MORALES, 2016; BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017).

Já para tinturas permanentes, a toxicidade, de acordo com Nohynek et al. (2004), está relacionada, principalmente, à presença de pigmentos da classe das

aminas, como os carcinógenos humanos benzidina, 4-aminobifenil, 2-naftilamina e parafenilenodiamina, substâncias estas já relacionadas a cânceres de bexiga (YU et al., 2002; KIM; KABIR; JAHAN, 2016). As aminas, por serem biologicamente ativas, são facilmente absorvidas pela pele, podendo chegar nos demais tecidos e causar sérias alterações celulares (BOLT; GOLKA, 2007). Devido a já conhecida toxicidade das aminas, principal classe química presente nos componentes das tinturas permanentes e produto derivado da metabolização de corantes utilizados na formulação de tinturas temporárias e semipermanentes, esse tipo de cosmético tem sido intensamente estudado e regulado. O principal objetivo dessas abordagens está na conciliação da exposição humana às substâncias e o ideal de risco zero (ARALDI; GUTERRES, 2005).

Estudos epidemiológicos relatam efeitos adversos à saúde associados ao uso de tinturas capilares, que variam desde dores de cabeça, irritações e alergias, até a reações mais graves, como doenças respiratórias ocupacionais e neurológicas (PATEL; NARAYANA; KRISHNASWAMY, 2013; KIM; KABIR; JAHAN, 2016; ANDARINI; CAMELIA; LISTIANTI, 2019; CLOFENT et al., 2020; AHMED; GOHER; ALZUBAIDI). Alguns trabalhos relatam que o contato com a parafenilenodiamina é a causa mais comum de dermatite de contato causada por tinturas capilares, e que seu efeito pode ser ainda agravado pela mistura com os agentes acopladores e o peróxido de hidrogênio (MUKKANNA; STONE; INGRAM, 2017; PARK et al., 2018; ZANONI et al., 2018).

Adicionalmente as alergias e irritações, o uso de tinturas capilares ou a exposição a seus componentes também vem sendo associado ao risco a diversos tipos de cânceres. A IARC (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer) classificou a exposição ocupacional a tinturas capilares como possível fator de indução de carcinogênese humana, mas os efeitos do uso pessoal desses produtos não foi classificado (ZHANG et al., 2020). No entanto, estudos correlacionam o uso de tinturas capilares como aumento do risco de cânceres, como de mama (GERA et al., 2018; EBERLE et al., 2020), bexiga (GAGO-DOMINGUEZ et al., 2001, 2003; LETAŠIOVÁ et al., 2012), linfoma não Hodgkin (GUO et al., 2014) e de pele *in situ*, especialmente no couro cabeludo e pescoço (CZENE; TIIKKAJA; HEMMINKI, 2003). Também já foi relatada a toxicidade das tinturas capilares para outros organismos. Alguns estudos demonstram que os azocorantes presentes em tinturas capilares apresentam efeitos

citogenotóxicos e mutagênicos para células humanas em cultura (ZANONI et al., 2014; TAFURT-CARDONA et al., 2015).

Foi demonstrado em queratinócitos humanos, que a parafenilenodiamina, sozinha e em associação com peróxido de hidrogênio, induz danos ao DNA, por indução de estresse oxidativo, caracterizado pelo aumento da formação de espécies reativas (ZANONI et al., 2015). Além disso, Qin et al. (2019) sugerem que a parafenilenodiamina possui efeitos genotóxicos, demonstrados em três testes clássicos de genotoxicidade (ensaio de mutação reversa em bactérias, teste de aberrações cromossômicas em células de mamíferos e teste de micronúcleo em eritrócitos de mamíferos). Adicionalmente, um composto denominado base de Bandrowski, formado pela auto oxidação da PPD em meio alcalino na ausência de um agente acoplador (FIGURA 1), demonstrou atividade genotóxica e mutagênica (BRACHER et al., 1990). Maiti et al. (2016) também corroboraram o potencial citogenotóxico das tinturas permanentes em células humanas e evidenciaram, ainda, potencial mutagênico para outros sistemas biológicos, como micro-organismos e plantas superiores (*Escherichia coli* e *Allium cepa*).

Os efeitos registrados para os compostos presentes nas tinturas capilares e seus subprodutos de degradação têm gerado uma grande preocupação, devido aos diversos modos de exposição da espécie humana a esses produtos, o que leva à necessidade de uma ampla e melhor avaliação, não só das consequências à saúde humana, mas também dos possíveis impactos que possam causar no meio ambiente. Essa preocupação ambiental e com a saúde humana está relacionada com os descartes de efluentes industriais e domésticos contaminados com esses compostos, que acabam comprometendo a qualidade dos recursos hídricos, muitos deles, inclusive, utilizados para consumo humano (OLIVEIRA et al., 2014).

3.3 Bioensaios e sua importância na determinação do potencial citogenotóxico de substâncias

O uso intensificado de cosméticos, como as tinturas capilares, gera preocupações pelos potenciais riscos a que os consumidores e profissionais da cosmetologia estão expostos, devido ao contato direto que eles têm com o produto (KIM; KABIR; JAHAN, 2016). Além disso, existe a ameaça ambiental provocada por tinturas, devido ao descarte indiscriminado dessas substâncias reconhecidamente bioativas, persistentes no meio ambiente e com potencial bioacumulativo,

características estas que as tornam uma ameaça para os organismos vivos (BILAL; MEHMOOD; IQBAL, 2020).

Diante da problemática sanitária e ambiental relacionada às tinturas capilares, é imprescindível a realização de estudos que auxiliem na compreensão de como estes compostos podem interagir com os seres vivos (BADERNA et al., 2011). Para essa avaliação, são usados bioindicadores capazes de determinar, com eficiência, os efeitos provocados por poluentes ambientais (BLAISE; GAGNÉ, 2009).

Ensaio sobre a composição química são muito eficientes e extremamente importantes em avaliações ecotoxicológicas pois, por meio deles é possível caracterizar a natureza dos poluentes (orgânicos e inorgânicos) e prever seus possíveis impactos aos ecossistemas e os consequentes efeitos à biota (EGGEN; SUTER, 2007). Entretanto, para uma análise mais direta dos efeitos de compostos, devem ser realizados ensaios biológicos, ou bioensaios, pois estes permitem uma melhor caracterização dos mecanismos de ação e dos seus níveis de toxicidade do agente investigado. Os bioensaios são definidos como experimentos conduzidos com o objetivo de estimar os efeitos biológicos conferidos por uma substância ou composto químico a um organismo ou ecossistema (BOSCH-OREA; FARRÉ; BARCELÓ, 2017). Baderna et al., (2011) também destacam que os bioensaios complementam as informações fornecidas pelas análises químicas, tornando possível entender o real risco que um dado composto oferece ao ambiente e à saúde humana. No entanto, para se ter uma ampla avaliação dos reais efeitos de um poluente, é essencial a realização de uma bateria de testes que sejam capazes de fornecer a maior quantidade de informações possíveis sobre a toxicidade do agente avaliado (ALTENBURGER et al., 2015; PEDRAZZANI et al., 2018).

3.3.1 Bioensaios vegetais

Os efeitos fitotóxicos e citogenotóxicos de uma substância podem ser avaliados por meio de bioensaios realizados com bioindicadores vegetais, testes estes que se destacam por serem de simples execução, de baixo custo e altamente sensíveis e preditivos. Além disso, bioensaios vegetais evitam a utilização e consequente sacrifício de animais, sendo, portanto, dispensados da aprovação em comitês de ética. Esses testes já se mostraram tão eficientes quanto ensaios realizados com modelos animais para a determinação da citogenotoxicidade de compostos. (FISKESJÖ, 1985; GRANT, 1999; LEME; MARIN-MORALES, 2009; ANDRADE-VIEIRA et al., 2014;

REIS et al., 2017). Adicionalmente, a alta sensibilidade dos bioensaios com vegetais raramente produz resultados falsos, o que torna esses organismos excelentes modelos para monitoramento de genotoxicidade (GRANT, 1994).

Dentre as espécies vegetais mais utilizadas estão *Allium cepa* e *Lactuca sativa*. A primeira, uma representante da família Amaryllidaceae, é mais comumente usada no teste de aberrações cromossômicas, por apresentar cromossomos grandes e pouco numerosos, o que facilita a detecção de alterações no ciclo celular (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009). Outra vantagem da utilização deste modelo, relatada por Leme e Marin-Morales (2009), é que os testes podem ser empregados para o estudo do potencial citogenotóxico de uma variedade de compostos, como metais, pesticidas, resíduos da indústria têxtil, entre outros. Os testes com *Allium cepa* apresentam boa correlação com ensaios realizados em outros sistemas, inclusive células humanas (FISKESJÖ, 1985; PALMIERI et al., 2016), o que possibilita inferir sobre o real risco dos poluentes sobre a saúde.

Já a espécie *L. sativa*, pertencente à família Asteraceae, é um modelo frequentemente utilizado em análises macroscópicas, como por exemplo os testes de fitotoxicidade (germinação e desenvolvimento), devido à sua rápida germinação, sendo, por isso, muito usada para investigar a toxicidade de substâncias (LIU; ZHANG; LAL, 2016), bem como o estudo de interações alelopáticas (WANG et al., 2016). Outra vantagem da utilização do alface, é que a espécie produz sementes em grande quantidade e de pequeno tamanho, permitindo uma maior área de contato com as substâncias a serem estudadas (CAMPOS et al., 2008). Órgãos como a Agência de Proteção Ambiental Norte Americana (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA, 1996) e a ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION, 1995) também consideram a *Lactuca sativa* um modelo adequado para testes de toxicidade de substâncias.

3.4 Bioensaios utilizados no estudo da citogenotoxicidade e fitotoxicidade de compostos

Diferentes bioensaios permitem uma análise de variados *endpoints* de toxicidade que, quando combinados, fornecem informações mais completas sobre o mecanismo de ação de uma substância (QUADRO 1).

Quadro 1 – Relação entre os diferentes bioensaios vegetais utilizados para determinar a toxicidade de substâncias e os *endpoints* correspondentes

Bioensaio	Organismo-teste	Endpoint de toxicidade
Germinação e Crescimento	<i>Lactuca sativa</i> <i>Allium cepa</i>	Fitotoxicidade
Aberrações cromossômicas e nucleares	<i>Allium cepa</i>	Citotoxicidade
Aberrações cromossômicas e nucleares	<i>Allium cepa</i>	Genotoxicidade
Aberrações cromossômicas e nucleares	<i>Allium cepa</i>	Mutagenicidade

Fonte: elaborado pela autora (2021).

3.4.1 Testes de germinação e desenvolvimento

Os testes de germinação e desenvolvimento da planta, realizados em nível macroscópico, que avaliam os efeitos de substâncias tóxicas sobre modelos vegetais, são denominados de testes de fitotoxicidade. Estes ensaios são caracterizados pela exposição do organismo a um composto de interesse de estudo, onde são monitorados tanto a presença ou ausência de germinação, como o crescimento da raiz e do hipocótilo (YANIK; VARDAR, 2015; CAMPAGNA-FERNANDES; MARIN; PENHA, 2016; GONÇALVES et al. 2020). São considerados uns dos testes mais simples para a realização de monitoramento ambiental, além se serem rápidos, simples, baratos, confiáveis e não exigirem o uso de equipamentos caros (CHARLES et al., 2011; LYU et al., 2018).

O crescimento radicular é um parâmetro recomendado para ser usado em testes de toxicidade de compostos, uma vez que a raiz é um órgão vegetal altamente sensível a substâncias, sendo a primeira estrutura do organismo a ser exposta a um agente tóxico presente no ambiente (FISKESJÖ, 1988). A absorção pela raiz, seguida pelo transporte da substância por toda a planta, pode desencadear uma variedade de efeitos que vão desde alterações macroscópicas, representadas pela alteração no comprimento da raiz, até efeitos a nível molecular (SHARMA; DUBEY, 2005).

A realização de testes de germinação e crescimento radicular, quando combinada com testes citogenéticos, permite uma abordagem mais ampla do efeito de substâncias tóxicas em organismos vivos, uma vez que é possível avaliar vários

parâmetros e correlacioná-los entre si (SILVEIRA et al., 2017; VIEIRA; SILVEIRA, 2018).

3.4.2 Teste de aberrações cromossômicas e nucleares

A citogenética, área que tem como foco o estudo dos cromossomos (estrutura, tamanho, número, função e comportamento), é uma importante ferramenta para avaliação do potencial citogenotóxico de diversos compostos. Esse tipo de avaliação é feita pela análise do ciclo celular (SUMNER, 2003). O estudo do ciclo celular realizados em organismos expostos a substâncias tóxicas permite avaliar se o composto foi capaz de induzir alterações na organização e comportamento dos cromossomos nas diferentes fases da divisão celular (GRANT, 1994). A análise permite detectar alterações na taxa de divisão celular (índice mitótico - IM), na estrutura e número dos cromossomos, nucleares e nucleolares, conferindo, assim, importantes *endpoints* de cito, geno e mutagenicidade. (ANDRADE-VIEIRA et al., 2011; ANDRADE-VIEIRA; PALMIERI; DAVIDE, 2017 ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2015).

Alterações cromossômicas (AC), como c-metáfases, poliploidias, anáfases multipolares, cromossomos perdidos ou em atraso, dentre outras, ocorrem em decorrência do mal funcionamento do fuso mitótico (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009; ANDRADE-VIEIRA; DE CAMPOS; DAVIDE, 2012; FREITAS et al., 2016). Essas anomalias acontecem devido a ação de uma substância sobre estruturas citoplasmáticas responsáveis pela segregação dos cromossomos (fusos mitóticos) para os polos opostos das células, durante o processo de divisão celular. Essa ação de xenobiontes sobre estruturas citoplasmáticas é denominada de ação aneugênica. Essas substâncias geralmente provocam falhas na polimerização dos fusos, levando a alterações cromossômicas numéricas (aneuploidias e poliploidias), portanto são substâncias que apresentam efeitos citotóxicos, que levam a alterações no conteúdo genético das células (FENECH, 2000; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; VIEIRA; SILVEIRA, 2018).

A quebra na molécula de DNA, pode levar a alterações cromossômicas estruturais, como pontes e fragmentação dos cromossômicos. Os compostos que agem diretamente na estrutura do DNA, promovendo quebras nesta molécula, são

chamados de compostos clastogênicos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; VIEIRA; SILVEIRA, 2018).

As análises do ciclo celular também permitem a observação de aberrações nucleares (AN), como, por exemplo, as alterações morfológicas do núcleo interfásico. Essas alterações podem surgir como consequência de aberrações cromossômicas (LEME; ANGELIS; MARIN-MORALES, 2008; LEME; MARIN-MORALES, 2009; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009).

O micronúcleo pode ser citado como exemplo de anomalia nuclear derivada de uma aberração cromossômica. Essa estrutura é formada por fragmentos de cromossomos ou por cromossomos inteiros que não se aderiram ao fuso, portanto ficam perdidos durante os eventos de divisão celular. O material genético não incorporado ao núcleo (cromossomos perdidos ou fragmentos cromossômicos), por ser composto por DNA, é reconhecido como um núcleo, sendo, portanto, envolvido por membranas, formando assim um micronúcleo. Os micronúcleos são frequentemente observados em células meristemáticas e em células da geração F1 (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; PALMIERI et al., 2016; VIEIRA; SILVEIRA, 2018). Essas estruturas podem aparecer nas células tanto pela ação de substâncias aneugênicas como clastogênicas, uma vez que os compostos aneugênicos podem induzir perdas de cromossomos inteiros e os clastogênicos quebram cromossômicas, ambos os eventos precursores da formação dos micronúcleos (FENECH, 2000; FENECH; CROTT, 2002; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009). Os micronúcleos, são bastantes estudados, pois consistem em um importante marcador de mutagenicidade, uma vez que surgem nas células-filhas, devido ao não reparo ou reparo incorreto de danos promovidos nas células-mães (HAYASHI, 2016).

Outros exemplos de anomalias nucleares são os brotos nucleares, estruturas estas decorrentes da eliminação de excesso de material genético presente em células poliploides, núcleos lobulados e células multinucleadas, ambos resultantes de anáfases multipolares (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007).

Alterações que persistem e não conseguem ser reparadas pela célula, ativam processos de morte celular. Esse processo é caracterizado pela presença de núcleos altamente condensados durante a intérfase. Essas estruturas apresentam-se muito heterocromatinizadas, bem arredondadas, menores e mais escuras que um núcleo

interfásico de uma célula normal (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; ANDRADE-VIEIRA et al., 2011; ANDRADE-VIEIRA; CAMPOS; DAVIDE, 2012).

A aderência cromossômica também é uma alteração que pode ser observada nas análises do ciclo celular. Esta alteração é caracterizada por mudanças na estrutura físico-química do DNA e/ou de proteínas e é formada por complexos com grupos fosfato do DNA, interações inter e intracromatídicas e condensação do DNA, fazendo com que a molécula perca suas características normais de condensação e forme aglomerados heterocromáticos (BABICH; SEGALL; FOX, 1997; EL-GHAMERY; EL-KHOLY; ABOU EL-YOUSER, 2003; ANDRADE; CAMPOS; DAVIDE, 2008; ANDRADE-VIEIRA; DE CAMPOS; DAVIDE, 2012). A aderência dos cromossomos prejudica a segregação das cromátides e, por consequência, a continuidade da divisão celular. As aderências cromossômicas são indicativas de que a célula foi exposta a um xenobionte de ação muito tóxica (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; ANDRADE-VIEIRA et al., 2011; ANDRADE-VIEIRA; CAMPOS; DAVIDE, 2012).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Tinturas e Soluções

As tinturas capilares utilizadas no presente estudo foram adquiridas no comércio local da cidade de Rio Claro-SP, Brasil. A coloração escolhida foi a castanha média (grupo colorimétrico nº4) do tipo permanente, uma das tonalidades mais comercializadas no país. Para a avaliação da toxicidade dos compostos, foram utilizadas três diferentes formulações da tintura: tintura em pó e tintura em creme, sendo a em creme testada com e sem associação ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Para a avaliação da toxicidade, as tinturas foram, primeiramente, preparadas conforme indicação do fabricante. As soluções obtidas foram usadas no preparo de uma solução mãe (100 mg da solução/mL de água), que foi utilizada para preparar as concentrações a serem testadas (C1: 0,2; C2: 0,4; C3: 0,6; C4: 0,8 e C5: 1,0 mg/mL) (MAITI et al., 2016).

4.1.2 Material biológico

Os bioensaios de toxicidade (fitotoxicidade, citogenotoxicidade e potencial mutagênico) foram desenvolvidos utilizando os modelos vegetais *Lactuca sativa* L. (alface, variedade crespa) e *Allium cepa* L. (cebola, variedade baia periforme).

4.2 Metodologia

4.2.1 Teste de germinação com *Lactuca sativa* e *Allium cepa* e teste de inibição do crescimento com *L. sativa*

Para a realização dos ensaios com os bioindicadores vegetais, 20 sementes de *L. sativa* e 100 sementes de *A. cepa* foram expostas à germinação em placas de Petri embebidas, separadamente, com 5 mL para *A. cepa* e 4mL para *L. sativa* das diferentes concentrações de tintura capilar castanha e das substâncias controle. O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com sulfato de zinco heptahidratado (0,005M- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), agente inibidor de crescimento radicular (LOPES, 2014), para *L. sativa*, Metil Metano Sulfonato (MMS), um agente alquilante de DNA, amplamente utilizado como controle positivo em testes de citogenotoxicidade, pois é capaz de provocar uma série de alterações nucleares de natureza clastogênica (MAURO et al., 2014; TAN et al., 2014) e Trifluralina (TRIF), um herbicida com ação aneugênica, capaz de induzir altas taxas de alterações cromossômicas e nucleares, podendo ser utilizado como controle positivo como sugerido por Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales, (2009) para *A. cepa*.

As sementes foram incubadas em estufa BOD (temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$), por 120h, sem fotoperíodo, para *L. sativa*, e por cinco dias, com fotoperíodo, para *A. cepa*. A toxicidade da tintura capilar foi estimada pela taxa de germinação das sementes das espécies vegetais. O teste de inibição do alongamento foi realizado apenas com o bioindicador *L. sativa*. As placas com as sementes germinadas foram congeladas, para a posterior mensuração, com paquímetro, dos comprimentos dos hipocótilos e das radículas (YANIK; VARDAR, 2015; CAMPAGNA-FERNANDES; MARIN; PENHA, 2016). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

4.2.2 Teste de aberrações cromossômicas e nucleares

Após a germinação das sementes de *A. cepa*, nas diferentes concentrações da tintura capilar, as radículas foram coletadas e fixadas em Carnoy (3 partes de etanol PA: 1 de ácido acético PA – v/v), por 6 horas a temperatura ambiente. Após esse período, as radículas foram transferidas para uma nova solução de Carnoy recém preparada e armazenadas, a 4 °C, até a sua utilização no preparo das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as radículas foram lavadas em água destilada (três banhos de 5 minutos cada) e submetidas, em banho-maria à 60 °C, à hidrólise ácida (em HCl 1M), por um período de 8-11 min. A seguir, o material foi submetido à coloração em reativo de Schiff, por 1h e 30 min. Após esse período, as radículas passaram por banhos sucessivos em água destilada, até a total retirada do excesso de corante. Em seguida, as regiões meristemáticas das raízes foram seccionadas em lâminas contendo uma gota de carmim acético (2%), submetidas à técnica de esmagamento suave, recobertas com lamínulas e flambadas em chama de lamparina. Na sequência, as lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas com resina sintética, para serem, posteriormente, analisadas em microscopia de luz.

Foram confeccionadas 12 lâminas por tratamento. A análise das regiões meristemáticas foi feita pela contagem de 500 células por lâmina (6000 por tratamento), onde foram computadas as diferentes fases da mitose, bem como anomalias em cada uma delas. Ao final, foi obtido o índice mitótico (IM = número de células em divisão/total de células observadas). Por este parâmetro, foi possível caracterizar a citotoxicidade do composto em estudo. Também foi possível determinar a frequência de aberrações cromossômicas (AC) e aberrações nucleares (AN), pela fórmula: AC ou AN = número de células com alterações (AC ou AN) /total de células avaliadas. As aberrações cromossômicas foram consideradas indicadoras da genotoxicidade dos compostos, enquanto que quebras cromossômicas e presença de micronúcleos indicaram o potencial mutagênico da tintura capilar.

4.2.3 Análises estatísticas

A análise dos dados foi feita utilizando os softwares GraphPad Prism 8 (versão 8.4.3) e R (R Development Corel Team, 2020). Os dados foram submetidos ao teste de Mann-Whitney e ANOVA com post-hoc pelo teste de Tukey, para a comparação entre grupos.

4.2.4 Revisão bibliográfica

Além do trabalho experimental com as formulações comerciais de tinturas capilares permanentes, foi também realizado um artigo de revisão, abordando aspectos toxicológicos de azocorantes utilizados em formulações de tinturas capilares do tipo temporárias e semipermanentes. Para isso, foi feito um amplo levantamento bibliográfico por meio das principais bases de dados de artigos científicos, como Google Scholar, PubMed e ScienceDirect. Foi definido como critério de inclusão, artigos de qualquer período que abordassem a toxicidade sob os aspectos citotóxicos, genotóxico, imunotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos de azocorantes utilizados em tinturas capilares, bem como dos produtos derivados da metabolização dos mesmos, conhecidos como aminas aromáticas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da presente pesquisa estão apresentados na forma dos seguintes artigos:

Artigo 1: Avaliação do potencial fitotóxico e citogenotóxico de tinturas capilares de coloração castanha

Artigo 2: Azocorantes em tinturas capilares: toxicidade dos compostos e de seus metabólitos

Artigo 1: Avaliação do potencial fitotóxico e citogenotóxico de tinturas capilares de coloração castanha

RESUMO

Os cabelos apresentam, naturalmente, grande variedade de cores. Além das funções biológicas, possuem apelo estético, o que leva milhares de pessoas a optarem pelo seu uso, para mudarem a cor seus fios. Os seres humanos, há pelo menos 4000 anos fazem uso de tinturas capilares. Existem, atualmente, diversos tipos de tintas e uma vasta gama de tonalidades que permitem mudanças variadas na cor dos fios. Entretanto, alguns componentes das tinturas capilares vêm gerado grande preocupação devido à sua toxicidade. Assim, o presente estudo, teve por objetivo avaliar o potencial fitotóxico e citogenotóxico de tinturas capilares oxidativas de cor castanha médio nos modelos vegetais *Lactuca sativa* e *Allium cepa*. Foram utilizadas três diferentes formulações: tinturas em pó e em creme, sendo a em creme testada com e sem associação com peróxido de hidrogênio. Para os testes, as tinturas foram, primeiramente, preparadas conforme indicação do fabricante e depois diluídas concentrações de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mg/mL. O teste de fitotoxicidade em *L. sativa* mostrou que a tintura associada ao H_2O_2 induziu a uma diminuição no crescimento da plântula. Já em *A. cepa*, houve uma diminuição do índice mitótico nas tintas em pó e sem associação com H_2O_2 . A tintura não oxidada por H_2O_2 induziu a formação de aberrações cromossômicas em três das cinco concentrações testadas. Os resultados mostraram que as tinturas capilares oxidativas foram fitotóxicas e citogenotóxicas em diferentes condições. A oxidação por H_2O_2 pode aumentar a toxicidade da tintura e a oxidação inerente do composto (sem reação com H_2O_2) pode levar a alterações cromossômicas e nucleares, principalmente do tipo brotos nucleares, C-metáfases e micronúcleos, que são indicativas tanto de efeitos aneugênicos como clastogênico do produto estudado. Os resultados sugerem que tinturas capilares em diferentes formas apresentam potencial fitotóxico e genotóxico nas condições testadas, gerando preocupação em relação ao uso desses produtos, que muitas vezes são aplicados diretamente sobre a pele e em concentrações mais altas que as usadas no presente estudo. Além disso, compostos de tinturas capilares podem ser encontrados em efluentes de salões de beleza, e conseqüentemente, podem ser descartados na rede de esgoto, atingindo o meio ambiente, interagindo e acumulando na biota exposta.

Palavras-chave: p-fenilenodiamina, peróxido de hidrogênio, aberrações cromossômicas, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*.

ABSTRACT

Human hair has, naturally, a wide variety of colors. However, in addition to its biological functions, hair has an aesthetic appeal, which leads thousands of people to make use of hair dyes, changing the color of their hair. Human beings have been using hair dyes for at least 4000 years. Currently, there are several types of hair dyes and a wide range of shades that allow people to change the color of their hair. However, some hair dye components have been causing great concern due to their toxicity. Thus, the present work aimed to evaluate the phytotoxic and cytogenotoxic potential of medium brown oxidative hair dyes in plant models *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. Three different formulations of the dye were used: powder and cream dye, being the cream one, tested with and without association with hydrogen peroxide. For the assays, the hair dyes were first prepared according to the manufacturer's protocol and then diluted in the following concentrations: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mg/mL. The phytotoxicity test in *Lactuca sativa* showed that the dye associated with H₂O₂ decreased the seedling growth. In *Allium cepa* however, there was a mitodepressive effect induced by the powder formulation and the dye without association with H₂O₂. The dye without H₂O₂ induced the formation of chromosomal aberrations in three, of the five concentrations tested. The results showed that oxidative hair dyes were phytotoxic and cytogenotoxic in different conditions. Oxidation by H₂O₂ can increase the toxicity of the dye, and the natural oxidation of the dye (without association H₂O₂) can lead to chromosomal and nuclear alterations, like nuclear buds, C-metaphases, and micronuclei, indicating the clastogenic as well as aneugenic effects of the studied products. These results suggest that different forms of hair dyes induce phytotoxic and cytogenotoxic effects under the tested conditions, raising concerns about the use of these products, which are often applied directly to the skin and at higher concentrations than those used in the present study. Additionally, hair dye compounds can be found in effluents from beauty salons, and consequently, can be discarded in the sewage system, reaching the environment, interacting and accumulating in the exposed biota.

Keywords: p-phenylenediamine, hydrogen peroxide, chromosomal aberrations, *Allium cepa*, *Lactuca sativa*.

1 INTRODUÇÃO

O ser humano faz uso de tinturas capilares há pelo menos 4000 anos, portanto desde os primórdios da civilização (OLIVEIRA et al., 2014), seja para cobrir os fios brancos, mudar para uma cor mais desejada ou restaurar a cor original após descoloração (REHMAN et al., 2019). Embora a utilização de formas naturais de tingimento de cabelos seja realizada há séculos (HANUMANTHAYYA et al., 2018), a comercialização das tinturas capilares sintéticas só aconteceu em 1907, por Eugène Schuller, sendo esse tipo de produto um dos cosméticos mais populares e utilizados nos dias atuais (DRAELOS, 2005). Atualmente, sabe-se que na Europa e nos Estados Unidos, 70 a 75% das mulheres e 10% dos homens fazem uso de tinturas capilares (Goldstein Market Intelligence, 2020).

Dentre as tinturas sintéticas mais utilizadas, podemos destacar as do tipo permanentes, ou oxidativas, que possuem uma grande variedade de cores e tons, além de possuírem uma maior durabilidade no fio de cabelo (OLIVEIRA et al., 2014). Esse tipo de tintura é o mais usado, correspondendo a cerca de 70 – 80% das tinturas aplicadas mundialmente nos cabelos (MOREL; CHRISTIE, 2011; BESSEGATO et al., 2018; DE SOUZA; ZANONI; OLIVEIRA-BRETT, 2020) e, quando comparadas às tintas não oxidativas (temporárias ou semipermanentes), contribuem com 80% do comércio das tinturas capilares (MISHRA et al., 2020).

O mecanismo de coloração das tinturas permanentes está diretamente relacionado às suas vantagens de uso, em relação às demais. Nessas, o tom desejado é obtido pela interação de três componentes presentes no produto: o agente precursor, representado pelos compostos aromáticos orto e para-substituídos com grupos amino e/ou hidróxidos (*p*-fenilenodiamina e *p*-aminofenol e seus derivados); o agente acoplador, caracterizado por compostos aromáticos *m*-substituídos com grupos doadores de elétrons (ex: resorcinol, *m*-fenilenodiamina, naftol e seus derivados) e o agente oxidante, representado pelo peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A reação entre esses componentes, em pH alcalino e na presença de amônia, forma um composto de alta massa molar (corante), que se difunde no interior do fio do cabelo, ficando nele retido. Por esse motivo, o corante é classificado como permanente (MOREL; CHRISTIE, 2011; KIM; KABIR; JAHAN, 2016; HEDBERG et al., 2018).

Embora as tinturas permanentes sejam vantajosas e amplamente utilizadas, seus componentes podem apresentar diversos riscos, tanto à saúde humana, quanto ao meio ambiente. A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classifica

a exposição ocupacional a tinturas capilares como fator possivelmente carcinogênico para humanos (ZHANG et al., 2020). O uso de tinturas capilares está relacionado ao aumento do risco de cânceres de pele, especialmente no couro cabeludo e pescoço (CZENE; TIIKKAJA; HEMMINKI, 2003), mama (GERA et al., 2018; EBERLE et al., 2020) e bexiga (GAGO-DOMINGUEZ et al., 2001, 2003; LETAŠIOVÁ et al., 2012).

Estudos realizados por Maiti et al. (2016) mostraram que as tinturas capilares apresentam potencial citogenotóxico e mutagênico para células humanas, bioindicadores vegetais e microrganismos. Alguns autores também observaram que, além dos componentes das tinturas, os produtos da oxidação por H_2O_2 e auto oxidação, encontrados em águas residuais de salões de beleza, também se mostraram mutagênicos (SOUZA et al., 2019, 2021, 2020; ZHOU et al., 2021), evidenciando o risco do descarte desses produtos no ambiente. Esses dados servem de alerta para que mais estudos sejam realizados com esses agentes, para que se possa elucidar melhor a toxicidade desses compostos.

Bioensaios são ferramentas eficientes para se avaliar o potencial tóxico de substâncias que ameaçam a saúde humana e o meio ambiente. Por meio desta abordagem, é possível definir os mecanismos de ação biológica de uma substância (BOSCH-OREA; FARRÉ; BARCELÓ, 2017). Bioensaios com organismos vegetais têm se mostrado eficientes e indicados para aferir efeitos fitotóxico, citogenotóxico e mutagênico de uma substância, além de serem de simples execução, baratos, sensíveis e altamente preditivos (FERNANDES et al. 2007; 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009; GONÇALVES et al. 2020; PAMPLONA-SILVA, et al., 2020). Uma outra vantagem desses ensaios, é que minimizam a utilização de animais (FISKESJÖ, 1985; GRANT, 1999; LEME; MARIN-MORALES, 2009; ANDRADE-VIEIRA et al., 2014) e além disso, são testes que simulam ação do agente estudado em organismos e não em células únicas, mostrando, assim, efeitos também sistêmicos, além dos celulares de um agente tóxico. Grant, (1978) afirma que sistemas vegetais são recomendados para a detecção de possíveis danos genéticos provocados por poluentes ambientais.

Dentre os vegetais mais utilizados em bioensaios, destacam-se as espécies *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, ambas sensíveis e eficientes na avaliação de diversos endpoints de citogenotoxicidade (FERNANDES et al. 2007; 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009; SILVEIRA et al., 2017). *L. sativa* é comumente utilizada em avaliações de fitotoxicidade, em testes de germinação e desenvolvimento com

plântulas (crescimento radicular e do hipocótilo) (CAMPAGNA-FERNANDES; MARIN; PENHA, 2016; LIU; ZHANG; LAL, 2016). Dentre as vantagens do uso desse vegetal estão a sua rápida germinação e a produção de grandes quantidades de sementes de tamanho reduzido, o que permite que o organismo tenha uma maior área de contato com o composto em estudo (CAMPOS et al., 2008). A utilização da alface em ensaios de fitotoxicidade é recomendada por órgãos como USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – USEPA, 1996) e ISO (INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION, 1995).

A espécie *A. cepa* é uma espécie amplamente utilizada em testes de citogenotoxicidade, pois apresenta um cariótipo caracterizado por poucos cromossomos de grande tamanho, fato que torna mais fácil a observação de alterações do ciclo celular, induzida pelos mais diversos agentes (FISKESJÖ, 1985; LEME; MARIN-MORALES, 2009). Alguns autores afirmam que ensaios utilizando *A. cepa* são simples, baratos, confiáveis e eficazes para a detecção de danos cromossômicos provocados por uma grande variedade de compostos (GRANT, 1982; FERNANDES et al., 2007, 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009; GONÇALVES et al., 2020; PALMPLONA-SILVA et al., 2020). Além disso, resultados obtidos em testes realizados com esse sistema teste, se mostraram similares àqueles realizados com diferentes organismos, inclusive com células humanas, quando testados para uma mesma substância (FISKESJÖ, 1988; PALMIERI et al., 2016; REIS et al., 2017).

Diante do exposto sobre os efeitos citogenotóxicos, mutagênicos e carcinogênicos de tinturas capilares e o consequente risco que estes produtos apresentam à saúde humana e ao meio ambiente, o presente estudo teve como proposta avaliar os efeitos fitotóxico e citogenotóxico de tinturas capilares permanentes da cor castanho natural (nº4), nas suas formas comerciais em pó e em creme, sendo a última, com e sem associação com peróxido de hidrogênio (H₂O₂), por meio de bioensaios utilizando as espécies *L. sativa* e *A. cepa*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

2.1.1 Tinturas e Soluções

As tinturas capilares utilizadas no presente estudo foram adquiridas no comércio local da cidade de Rio Claro-SP, Brasil. A coloração escolhida foi a castanha média (grupo colorimétrico nº 4) do tipo permanente. Para a avaliação da toxicidade dos compostos, foram utilizadas três formas diferentes da tintura: tinta em pó e tinta em creme sendo a última, com e sem associação com peróxido de hidrogênio (H₂O₂).

Para a avaliação da toxicidade, primeiramente, as tinturas utilizadas foram preparadas, conforme indicação do fabricante. Na sequência, foi preparada uma solução estoque (100 mg do preparado/mL de água), que foi usada para preparar cinco diferentes concentrações a serem testadas no estudo: C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL e C5: 1,0 mg/mL (MAITI et al., 2016).

2.1.2 Material biológico

Os bioensaios de toxicidade (fitotoxicidade, citogenotoxicidade e potencial mutagênico) foram desenvolvidos com os vegetais *Lactuca sativa* L. (alface, variedade crespa) e *Allium cepa* L. (cebola, variedade baia periforme).

2.1 Metodologia

2.2.1 Teste de germinação com *Lactuca sativa* e *Allium cepa* e teste de inibição do crescimento com *L. sativa*

Para a realização dos ensaios com os bioindicadores vegetais, 20 sementes de *L. sativa* e 100 sementes de *A. cepa* foram expostas à germinação em placas de Petri embebidas, separadamente, com 5 mL das diferentes concentrações de tintura capilar castanha e das substâncias controle. O controle negativo (CN) foi realizado com água de osmose reversa e o controle positivo (CP) com sulfato de zinco heptahidratado (0,005M- ZnSO₄·7H₂O), agente inibidor de crescimento radicular (LOPES, 2014) para *L. sativa*, Metil Metano Sulfonato (MMS), um agente alquilante de DNA, amplamente utilizado como controle positivo em testes de citogenotoxicidade, pois é capaz de provocar uma série de alterações nucleares de natureza clastogênica (MAURO et al., 2014; TAN et al., 2014) e Trifluralina (TRIF), um herbicida com ação aneugênica, capaz de induzir altas taxas de alterações cromossômicas e nucleares, podendo ser utilizado como controle positivo como sugerido por Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales, (2009) para *A. cepa*.

As sementes foram incubadas em estufa BOD (temperatura de 22 ± 2 °C), por 120h, sem fotoperíodo, para *L. sativa*, e por cinco dias, com fotoperíodo, para *A. cepa*. A toxicidade da tintura capilar foi estimada pela taxa de germinação das sementes das espécies vegetais. O teste de inibição do alongamento foi realizado apenas com o bioindicador *L. sativa*. As placas com as sementes germinadas foram congeladas, para a posterior mensuração, com paquímetro, dos comprimentos dos hipocótilos e das radículas (YANIK; VARDAR, 2015; CAMPAGNA-FERNANDES; MARIN; PENHA, 2016). Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

2.2.2 Teste de aberrações cromossômicas e nucleares

Após a germinação das sementes de *A. cepa* nas diferentes concentrações estudadas da tintura capilar, as radículas foram coletadas e fixadas em Carnoy (3 partes de etanol para 1 de ácido acético – v/v), por 6 horas a temperatura ambiente. Após esse período, as radículas foram transferidas para uma nova solução de Carnoy recém preparada e armazenadas, a 4 °C, até a sua utilização no preparo das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as radículas foram lavadas em água destilada (três banhos de 5 minutos cada) e submetidas, em banho-maria à 60 °C, à hidrólise ácida (em HCl 1M), por um período de 8-11 min. A seguir, o material foi submetido à coloração em reativo de Schiff, por 1h e 30 min. Após esse período, as radículas passaram por banhos sucessivos em água destilada, até a total retirada do excesso do corante. Em seguida, as regiões meristemáticas das raízes foram seccionadas em lâminas contendo uma gota de carmim acético (2%), submetidas à técnica de esmagamento suave, recobertas com lamínulas e flambadas em chama de lamparina. Na sequência, as lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido e as lâminas montadas com resina sintética, para serem, posteriormente, analisadas em microscopia de luz.

Foram confeccionadas 12 lâminas por tratamento. A análise das lâminas das regiões meristemáticas foi feita pela contagem de 500 células por lâmina (6000/tratamento), onde foram computadas as diferentes fases da mitose, bem como as anomalias de cada uma delas. Com os resultados das contagens realizadas, foi calculado o índice mitótico ($IM = \text{número de células em divisão} / \text{total de células observadas}$). Por este parâmetro, foi possível caracterizar a citotoxicidade do composto em estudo. Também foi possível determinar a frequência de aberrações cromossômicas (AC) e aberrações nucleares (AN), pela fórmula: AC ou AN = número

de células com alterações (AC ou AN)/total de células avaliadas. As aberrações cromossômicas foram consideradas indicadoras da genotoxicidade dos compostos, enquanto que as quebras cromossômicas e as células micronucleadas indicaram o potencial mutagênico da tintura capilar.

2.3 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada com os softwares GraphPad Prism 8 (versão 8.4.3) e R (R Development Core Team, 2020). Os dados foram submetidos ao teste de Mann-Whitney e Tukey ($p < 0,05$) para a comparação entre grupos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fitotoxicidade: testes de germinação e crescimento

Os resultados do teste de germinação em *L. sativa* (alface) e *A. cepa* (cebola) estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. A espécie *L. sativa* não se mostrou sensível ao teste, uma vez que nenhuma das concentrações avaliadas induziu efeitos significativos sobre a germinação das sementes em relação ao CN (TABELA 1). Banegas et al., (2014) avaliaram a fitotoxicidade de tinturas permanentes pelo ensaio de germinação com *L. sativa* e também não encontraram alterações para este parâmetro. Ensaio realizado por Mishra et al. (2020) com o bioindicador *Vigna mungo* (feijão-da-china, feijão-preto), mostraram que a parafenilenodiamina (PPD) pura, auto oxidada e degradada por bactérias não influenciou a germinação das sementes testadas, se mostrando então não fitotóxica para esse parâmetro de análise. Contudo, a PPD foi fitotóxica, quando considerado os parâmetros de crescimento radicular e aéreo da planta, o que indica uma toxicidade órgão-específica desse composto, que é o principal corante utilizado em tinturas capilares permanentes.

Tabela 1 – Germinação de sementes de *Lactuca sativa* (alface) expostas à diferentes formas de tinturas capilares e diferentes concentrações

Tratamento	Tipo de tintura		
	Com H ₂ O ₂	Sem H ₂ O ₂	Em pó
C1	18 ± 1 a	16,67 ± 0,58 a	16,33 ± 3,06 a
C2	17 ± 1 a	16,33 ± 1,53 a	17,67 ± 2,08 a

C3	16,67 ± 3,51 a	15,67 ± 3,06 a	16 ± 1,73 ab
C4	15,67 ± 1,53 ab	17,33 ± 0,58 a	16,67 ± 1,53 a
C5	16,67 ± 0,58 a	17 ± 1 a	17 ± 1 a
Controles			
CN	17,33 ± 2,08 a		
CP	10,67 ± 2,08 b		

Legenda: Média seguida de desvio padrão. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL e C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, CP: controle positivo (0,005M- ZnSO₄·7H₂O). Valores seguidos de letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste Tukey (p<0,05). Fonte: elaborada pela autora (2021).

Pelas análises realizadas no presente estudo, com o bioindicador *A. cepa*, foi possível observar que as sementes expostas às menores concentrações (C1, C2 e C3) da tintura com H₂O₂ apresentaram diminuição do potencial de germinação, em relação ao CN, enquanto que as sementes submetidas aos tratamentos sem H₂O₂, apresentaram menor germinação, em relação ao CN, quando expostas às maiores concentrações da tintura (C3, C4 e C5) (TABELA 2). A oxidação da tintura pelo peróxido de hidrogênio, pode levar à formação de produtos que influenciaram na germinação, ainda em baixas concentrações. No entanto, a tintura oxidada naturalmente (sem H₂O₂) pode ter formado esses produtos em menor quantidade, só sendo mais fitotóxica para as maiores concentrações testadas.

A tintura na sua forma em pó, por sua vez, não induziu efeitos estatisticamente significativos para o parâmetro de germinação das sementes (TABELA 2). Isso pode ser devido a esse tipo de tintura ser quimicamente menos ativa (MAITI et al., 2016), uma vez que o agente oxidante já é previamente adicionado ao produto contendo o corante, diferentemente da tintura em creme, onde essa mistura e, conseqüentemente a reação, é realizada no momento da aplicação do produto (ANTELMI et al., 2017). Assim, os componentes da tintura, deve não interagir suficientemente com sementes de *A. cepa* para, não levando assim a inibição de sua germinação (TABELA 2).

Tabela 2 – Germinação de sementes de *Allium cepa* (cebola) expostas à diferentes formas de tinturas capilares e diferentes concentrações

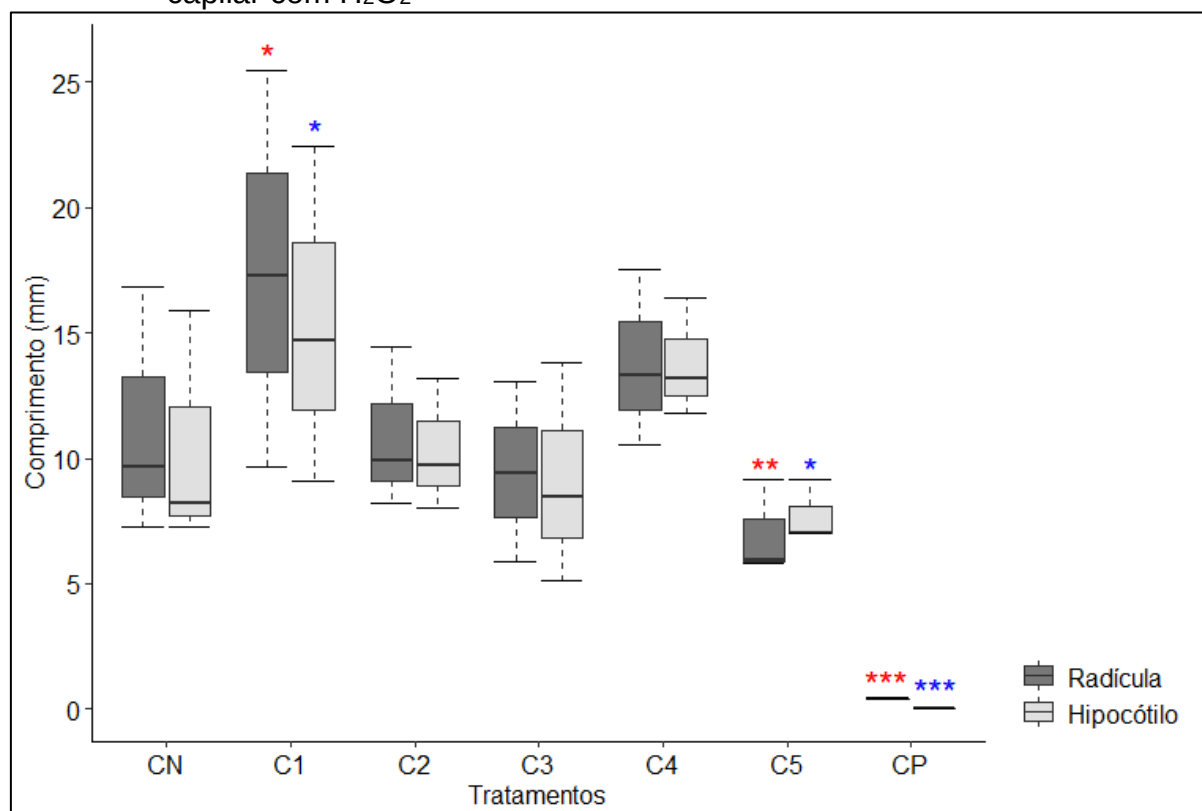
Tratamento	Tipo de tintura		
	Com H ₂ O ₂	Sem H ₂ O ₂	Em pó *
C1	63 ± 2,65 c	74,33 ± 5,03 abc	73 ± 2,65
C2	64,67 ± 8,14 c	73,33 ± 1,53 abc	81,67 ± 2,08

C3	68,67 ± 10,12 bc	63,67 ± 8,08 c	73 ± 12,29
C4	72,67 ± 4,16 abc	66,33 ± 7,77 bc	77 ± 8,72
C5	69,67 ± 2,08 abc	67,67 ± 7,51 bc	74,33 ± 11,59
Controles			
CN	85,33 ± 1,53 a		
MMS	75 ± 4,36 ab		
TRIF	81 ± 5,57 abc		

Legenda: Média seguida de desvio padrão. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL e C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, MMS: metil-metanosulfonato (controle positivo). TRIF: trifluralina (controle positivo). Valores seguidos de letras diferentes indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$). * As médias não foram consideradas diferentes pelo teste F. Fonte: elaborada pela autora (2021).

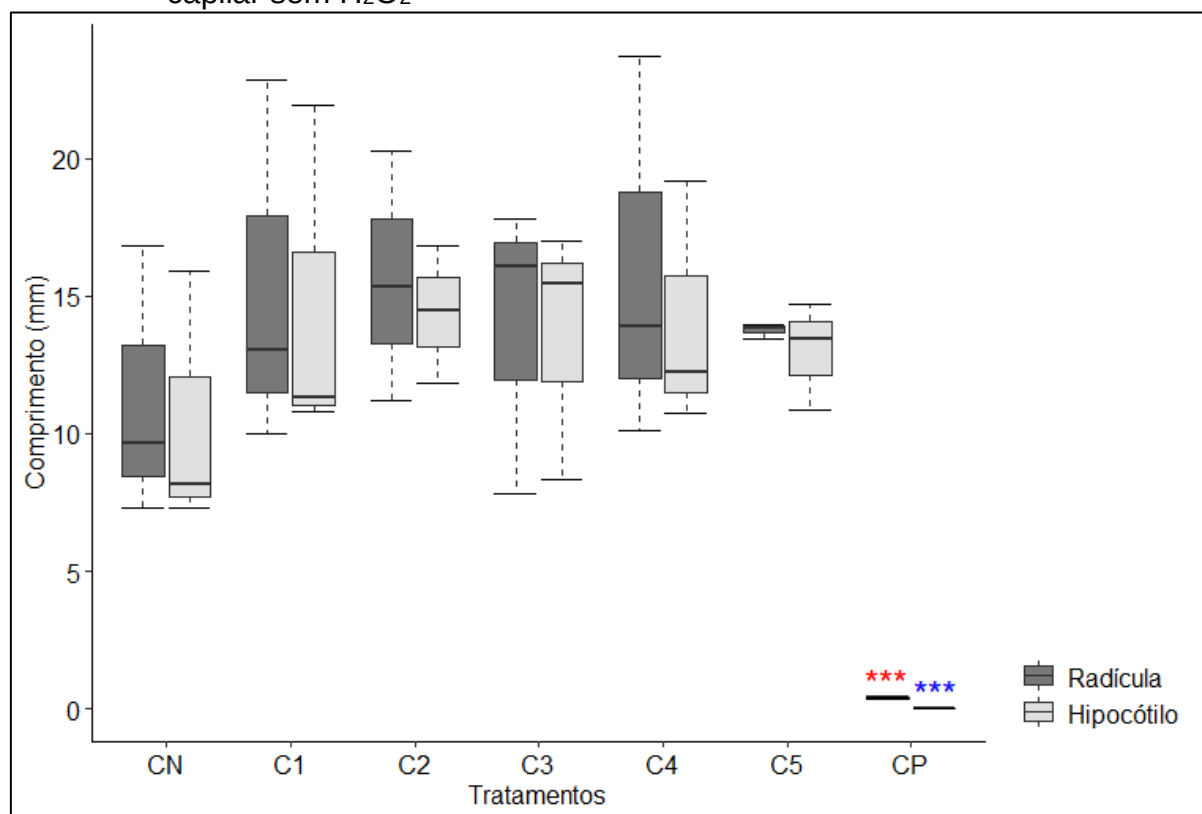
A fitotoxicidade das tinturas capilares também foi avaliada pelo teste de crescimento radicular e de hipocótilo com *Lactuca sativa*. A tintura associada com H_2O_2 induziu, na menor concentração (C1), a um aumento significativo do crescimento, tanto radicular quanto do hipocótilo, em relação do CN. No entanto, pode-se observar que a maior concentração testada (C5) induziu uma diminuição do crescimento em ambos os parâmetros (radícula e hipocótilo, em relação ao controle negativo (FIGURA 2). As formas da tintura sem a mistura com H_2O_2 (FIGURA 3) e em pó (FIGURA 4) não induziram efeito fitotóxico nem para o crescimento da radícula, nem do hipocótilo de *L. sativa*.

Figura 2 – Crescimento radicular e de hipocótilo de *Lactuca sativa* exposta à tintura capilar com H₂O₂



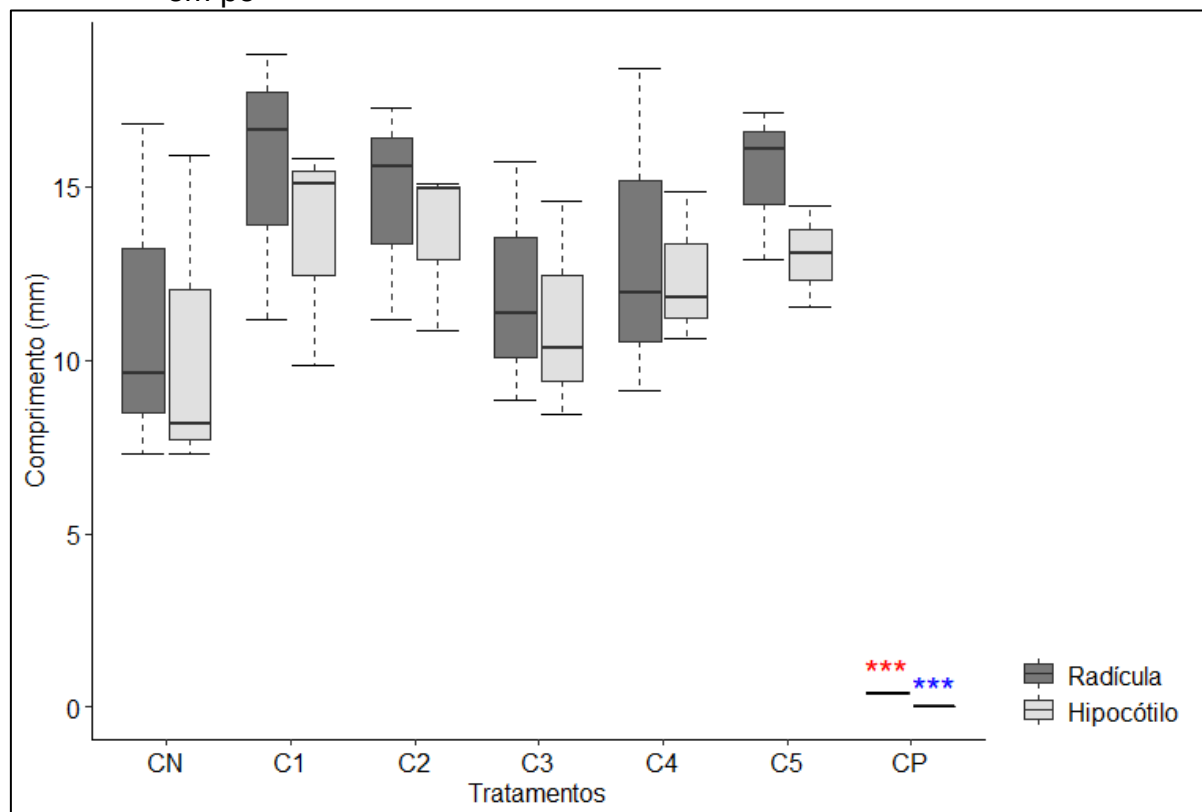
Legenda: C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, CP: controle positivo (0,005M- ZnSO₄·7H₂O). * vermelho: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para radícula e * azul: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para hipocótilo (Mann-Whitney: (*) p<0,05; (**) p<0,01; (***) p<0,001). Fonte: elaborada pela autora (2021).

Figura 3 – Crescimento radicular e de hipocótilo de *Lactuca sativa* exposta à tintura capilar sem H₂O₂



Legenda: C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, CP: controle positivo (0,005M- ZnSO₄7H₂O). * vermelho: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para radícula e * azul: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para hipocótilo (Mann-Whitney: (*) p<0,05; (**) p<0,01; (***) p<0,001). Fonte: elaborada pela autora (2021).

Figura 4 – Crescimento radicular e de hipocótilo de *Lactuca sativa* exposta à tintura em pó



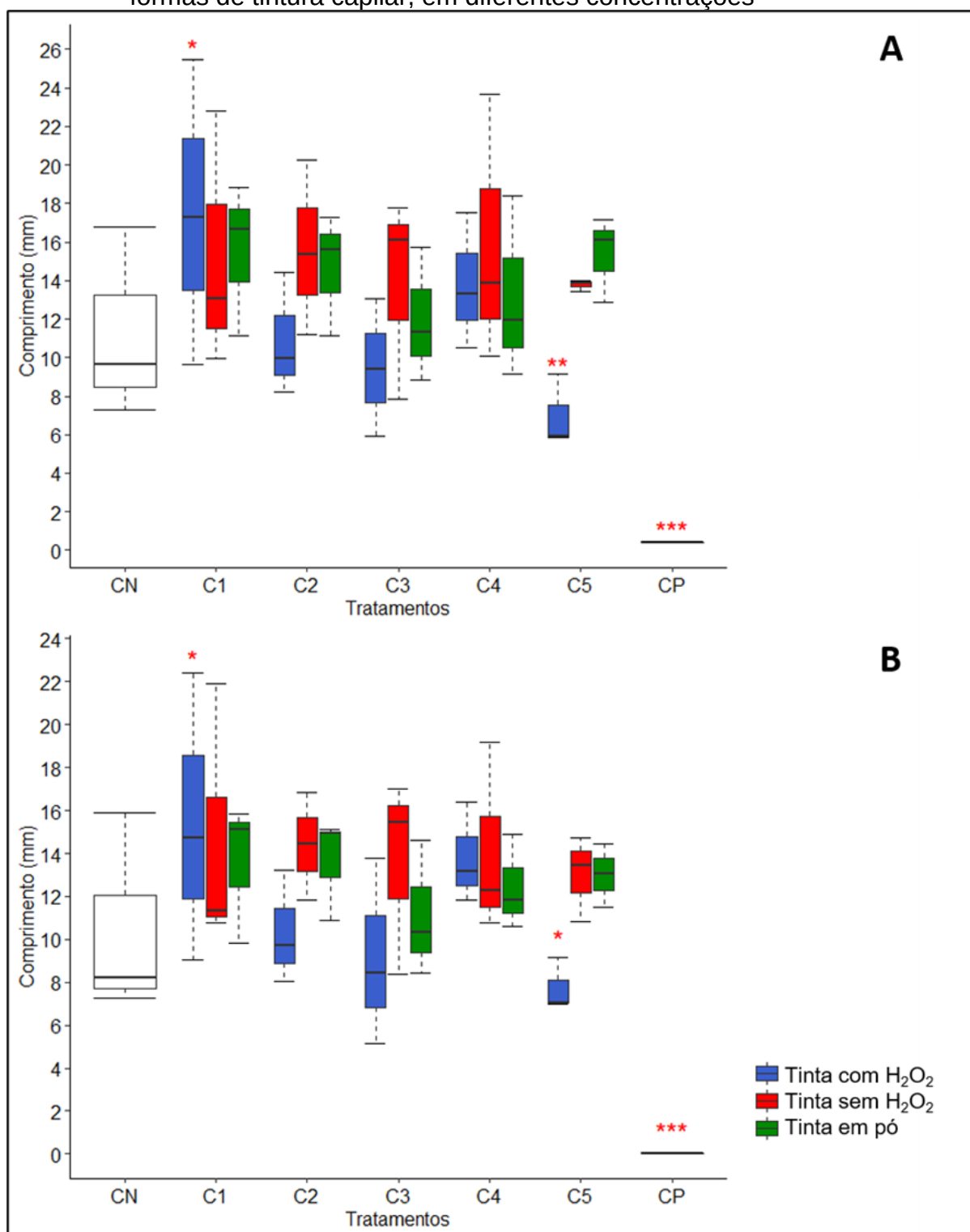
Legenda: C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, CP: controle positivo (0,005M- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). * vermelho: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para radícula e * azul: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para hipocótilo (Mann-Whitney: (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$). Fonte: elaborada pela autora (2021).

A Figura 5 mostra o crescimento da radícula (A) e hipocótilo (B) de *L. sativa*, para as três formas de tinturas utilizadas. Embora a maioria das concentrações testadas com a tintura associada com H_2O_2 tenha apresentado um crescimento menor dessas estruturas, somente a concentração C5 da tinta oxidada (com H_2O_2) apresentou diminuição significativa do crescimento radicular e do hipocótilo, em relação com o CN.

Estudos sobre a toxicidade do PPD, realizados por Pazin et al. (2013), mostraram que esse composto foi fitotóxico para *L. sativa*, de forma dose-dependente. Os autores observaram uma redução na taxa de alongação radicular, além de diminuição significativa nos parâmetros de massa fresca e massa seca. Mishra et al. (2020) também reportaram uma redução do crescimento radicular em *V. mungo* exposta à PPD. A alongação radicular também foi inibida em *A. cepa* exposta à tinturas herbais, que possuem PPD em sua composição (NAWALAGE; PATHIRATNE, 2020).

Alguns, autores afirmam que a PPD pode se tornar mais tóxica, após oxidação por H_2O_2 (LU et al., 1999; ZANONI et al., 2015; PARK et al., 2018; REHMAN et al., 2019), o que justifica a fitotoxicidade observada apenas para a tintura oxidada avaliada no presente estudo (FIGURA 2). A ausência de efeito fitotóxico para as demais tinturas, se deve à composição química menos ativa das mesmas, por estas serem não oxidadas pelo peróxido de hidrogênio ou por estarem na sua forma em pó, cujo agente oxidante foi adicionado previamente à tintura (MAITI et al., 2016; ANTELMÍ et al., 2017), (FIGURAS 3 e 4). Zanoni et al. (2015) mostraram que a oxidação da PPD por H_2O_2 , como acontece no preparo da tintura no momento da aplicação nos cabelos, pode levar a formação de radicais livres, que induzem ao estresse oxidativo. Tal fenômeno pode ser um dos fatores que influenciam no crescimento de plantas, pois, de acordo com Tsukagoshi (2012), os produtos da oxidação do PDD interferem na expressão de genes relacionados ao ciclo celular dos meristemas radiculares, inibindo, assim, o crescimento da planta (TSUKAGOSHI, 2012). O aumento na quantidade de células, a cada ciclo de divisão, é um fator determinante para o crescimento dos órgãos vegetais e, conseqüentemente, da própria planta (ANDRADE-VIEIRA et al., 2014).

Figura 5 – Crescimento de radícula e hipocótilo de *Lactuca sativa* exposta à diferentes formas de tintura capilar, em diferentes concentrações

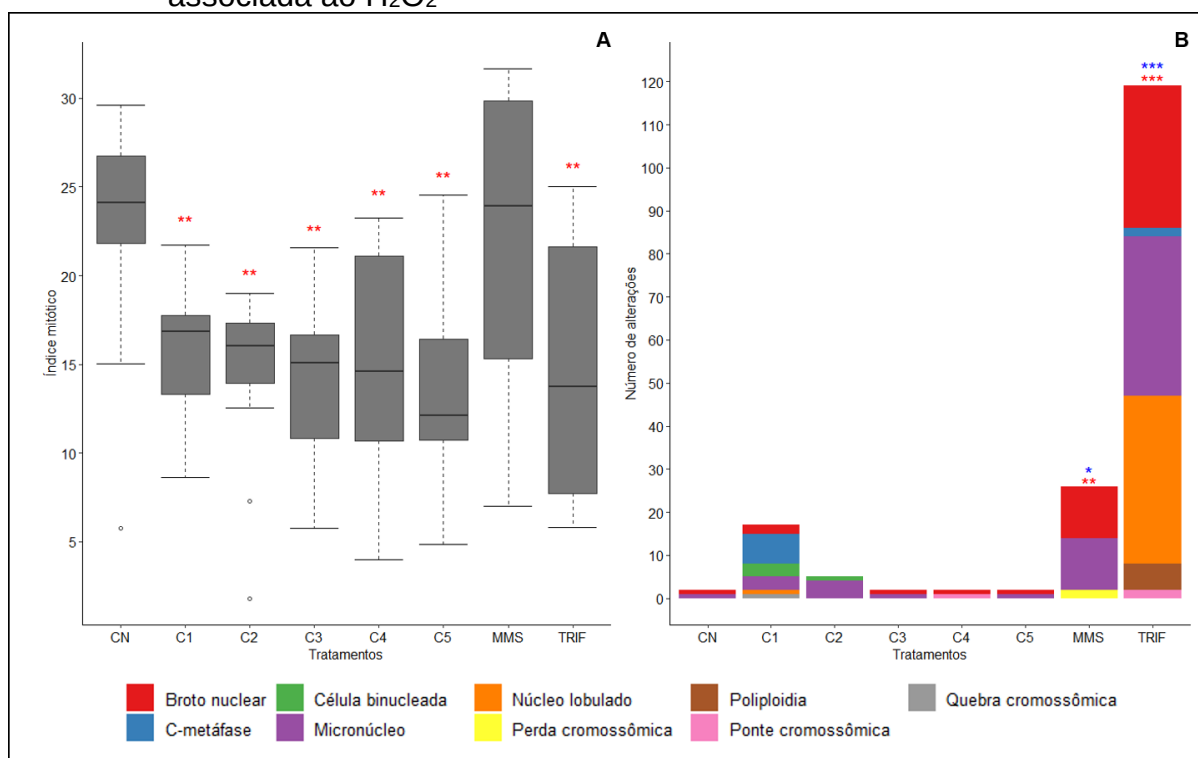


Legenda: A: crescimento radicular, B: crescimento do hipocótilo. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, CP: controle positivo (0,005M- $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$). *: diferença estatisticamente significativa em relação do CN (Mann-Whitney: (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$). Fonte: elaborada pela autora (2021).

3.2 Citogenotoxicidade: índice mitótico e teste de aberrações cromossômicas e nucleares

O índice mitótico e a frequência de aberrações cromossômicas e nucleares, observadas em meristemas radiculares de *A. cepa* submetidos ao tratamento com a tintura oxidada com H_2O_2 , estão apresentadas na Figura 6. Como pode ser observado nesta Figura, embora todas as concentrações testadas no presente estudo tenham induzido diminuição na taxa de divisão celular (IM) (Figura 6A), nenhuma delas se mostrou genotóxica ou mutagênica, em relação aos resultados do CN. A menor concentração (C1: 0,2 mg/mL), induziu uma pequena quantidade de aberrações, ainda que não significativa, em relação ao CN. As alterações mais encontradas neste estudo foram brotos nucleares, C-metáfase, células binucleadas e micronúcleos (FIGURA 6B).

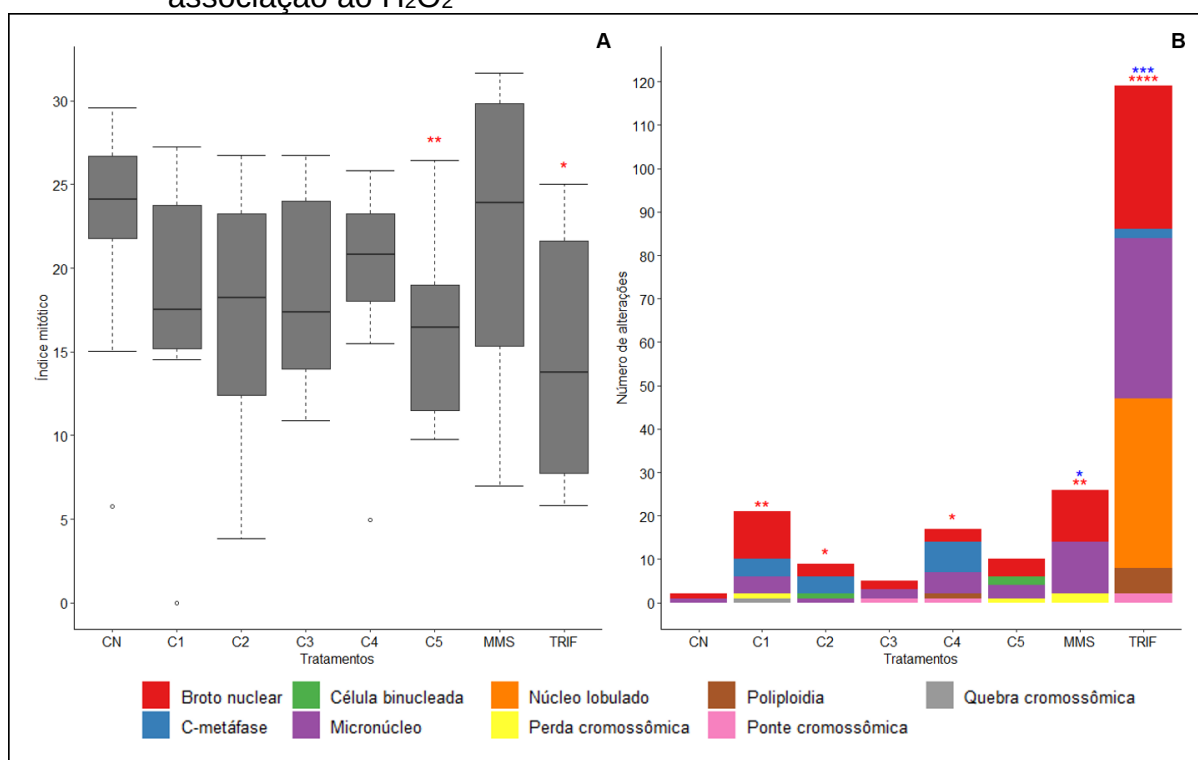
Figura 6 - Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de *Allium cepa* submetidos ao tratamento com tintura associada ao H_2O_2



Legenda: A: Índice mitótico; B: Aberrações cromossômicas e nucleares. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, MMS: metil-metanosulfonato (controle positivo), TRIF: trifluralina (controle positivo). * vermelho em A: diferença estatisticamente significativa em relação do CN (Mann-Whitney: $p < 0,05$). * vermelho em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para genotoxicidade. * azul em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para potencial mutagênico (Mann-Whitney: (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$). Fonte: elaborada pela autora (2021).

A tintura não-oxidada, ou seja, sem a associação com H_2O_2 , causou inibição da divisão celular somente na maior concentração testada (C5: 1,0 mg/mL), quando comparada ao CN (FIGURA 7A). Adicionalmente, essa forma da tintura induziu a formação de aberrações cromossômicas e nucleares em três, nas cinco concentrações testadas (C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL e C4: 0,8 mg/mL), sendo que as alterações mais frequentemente observadas foram brotos nucleares, C-metáfases e micronúcleos (FIGURA 7B). Alterações semelhantes àsquelas encontradas em células expostas à tintura com H_2O_2 , o que indica que, ainda que a oxidação potencialize a toxicidade, inibindo o ciclo celular, os compostos presentes na tintura apresentam efeitos no material genético, dos tipos clastogênicos e aneugênicos.

Figura 7 – Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de *Allium cepa* submetidos ao tratamento com tintura sem associação ao H_2O_2

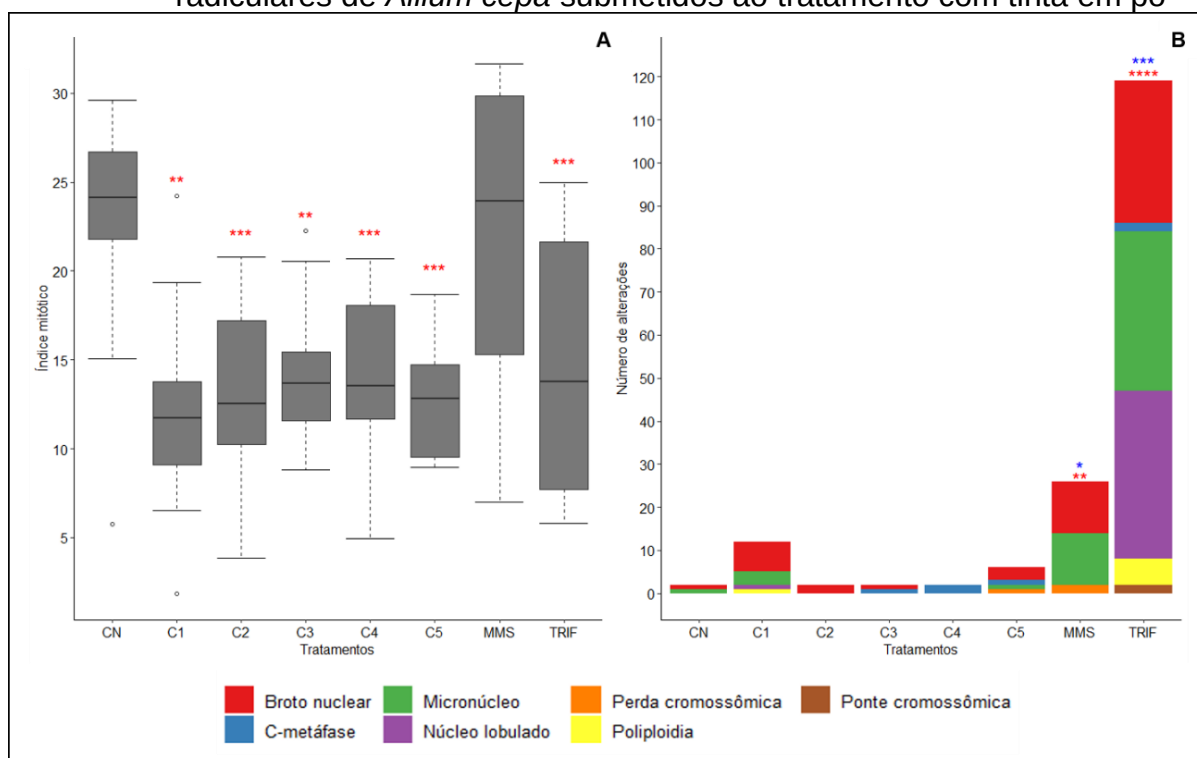


Legenda: A: Índice mitótico; B: Aberrações cromossômicas e nucleares. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, MMS: metil-metanossulfonato (controle positivo), TRIF: trifluralina (controle positivo). * vermelho em A: diferença estatisticamente significativa em relação do CN (Mann-Whitney: $p < 0,05$). * vermelho em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para genotoxicidade. * azul em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para potencial mutagênico (Mann-Whitney: (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$). Fonte: elaborada pela autora (2021).

A tintura em pó, também induziu uma diminuição do IM em todas as concentrações testadas, em relação ao CN (FIGURA 8A). No entanto, os parâmetros

de genotoxicidade e potencial mutagênico não foram estatisticamente significativos em relação ao controle negativo, para nenhuma das concentrações testadas. Para a menor concentração testada (C1: 0,2 mg/mL), podemos observar uma maior quantidade de aberrações do tipo broto nuclear, micronúcleo e núcleo lobulado (FIGURA 8B).

Figura 8 – Índice mitótico e aberrações cromossômicas e nucleares de meristemas radiculares de *Allium cepa* submetidos ao tratamento com tinta em pó



Legenda: A: Índice mitótico; B: Aberrações cromossômicas e nucleares. C1: 0,2 mg/mL, C2: 0,4 mg/mL, C3: 0,6 mg/mL, C4: 0,8 mg/mL, C5: 1,0 mg/mL, CN: controle negativo, MMS: metil-metanosulfonato (controle positivo), TRIF: trifluralina (controle positivo). * vermelho em A: diferença estatisticamente significativa em relação do CN (Mann-Whitney: $p < 0,05$). * vermelho em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para genotoxicidade. * azul em B: diferença estatisticamente significativa em relação do CN para potencial mutagênico (Mann-Whitney: (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$). Fonte: elaborada pela autora (2021).

A diminuição do IM encontrada em todas as concentrações de duas das três formulações das tinturas testadas (com H_2O_2 e em pó) também foi observada em outros estudos utilizando formulações comerciais de tinturas capilares. Maiti et al., (2016) observaram que tinturas associadas com agente oxidante (H_2O_2) e formulação em pó de tintura capilar inibiram a divisão celular na maioria das células do bioindicador *A. cepa*, paralisando-as em interfase. Meristemas de *A. cepa* expostos a tratamentos com tinturas herbais contendo PPD também exibiram uma diminuição do

índice mitótico, devido à interação dos ingredientes presentes na formulação da tintura (NAWALAGE; PATHIRATNE, 2020).

A diminuição do IM é um evento que reflete a ação de compostos citotóxicos (LEME ; MARIN-MORALES, 2009; VIEIRA; SILVEIRA, 2018). Nesse sentido, podemos sugerir que a mistura do agente precursor com o agente oxidante levou a formação de produtos considerados citotóxicos. A diminuição da taxa de divisão celular pode ser consequência da inibição da síntese de DNA, decorrente da diminuição dos níveis de ATP das células (JAIN; SARBHOY, 1988; SUDHAKAR; GOWDA; VENU, 2001). Outros fatores que podem impedir a divisão celular são a não polimerização dos microtúbulos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2009), a inibição da enzima DNA polimerase, responsável pela replicação do material genético, ou ainda o bloqueio da fase G2, que impede a célula de entrar em divisão (DWIVEDI; KUMAR, 2015).

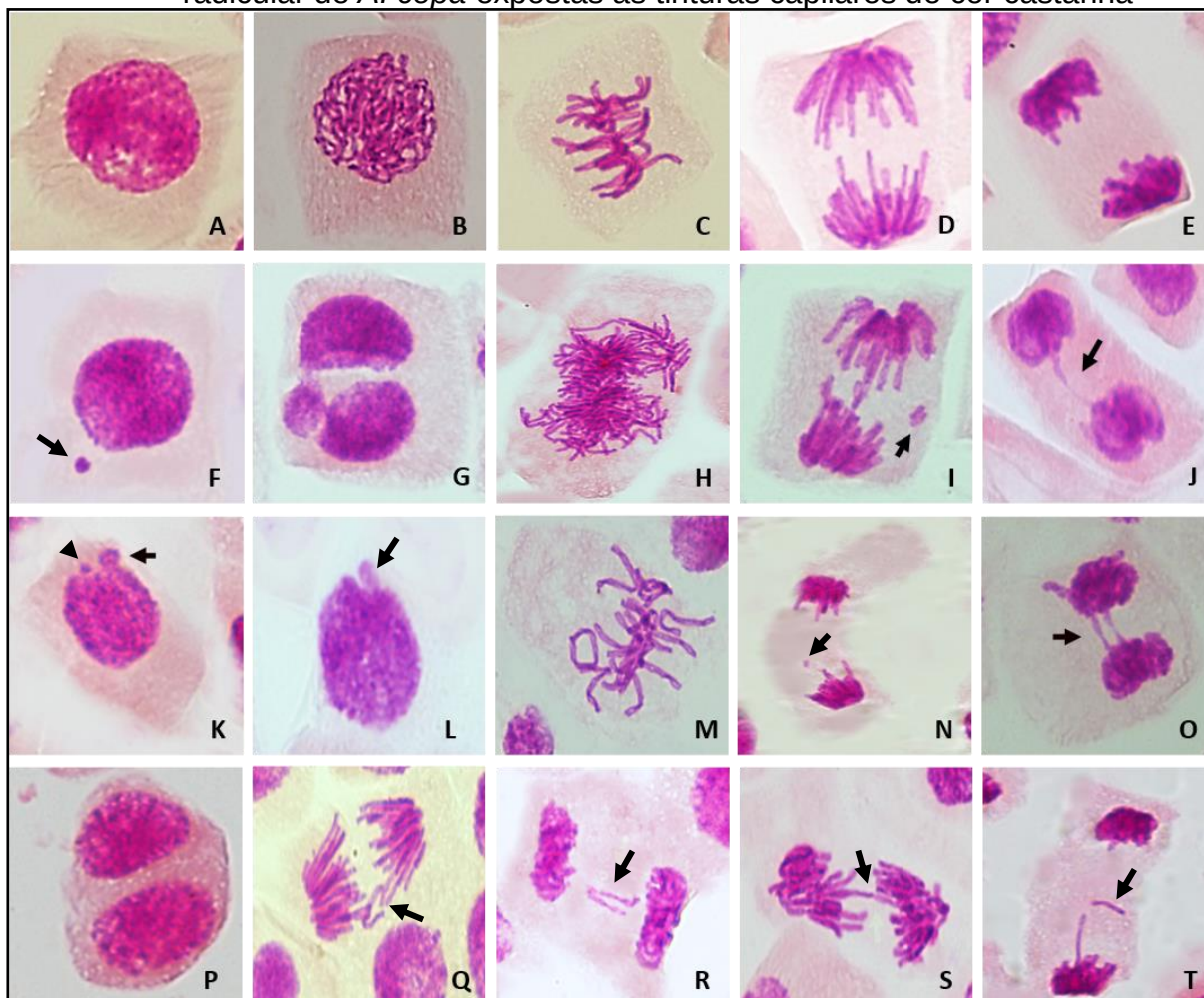
A ausência de células em divisão pode ter mascarado a indução de aberrações cromossômicas, observáveis durante o processo de mitose (FIGURA 9). (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; SAMUEL; OSUALA; ODEIGAH, 2010), pois este fenômeno (aberrações cromossômicas e nucleares) foi observado nas células de *A. cepa* expostas à tintura não oxidada (sem H₂O₂), as quais não sofreram efeitos mito depressivos. Pelos ensaios realizados com esse tipo de tintura, foi possível observar que somente a maior concentração da tintura (C5) levou à diminuição do índice mitótico, enquanto que os outros três tratamentos (C1, C2 e C4) induziram a formação de aberrações cromossômicas. Maiti et al., (2016) afirmam que a presença de aberrações cromossômicas pode ser consequência de uma possível interação entre o DNA negativamente carregado e as tinturas positivamente carregadas. As aberrações mais frequentemente induzidas pela tintura não oxidada por H₂O₂ foram brotos nucleares, C-metáfases e micronúcleos (FIGURA 7B), alterações estas indicativas de ação tanto clastogênica como aneugênica do composto.

Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales, (2007) afirmam que brotos nucleares poder surgir da eliminação de material genético excedente de processos de poliploidização. As C-metáfases, por sua vez, são resultados de processos aneugênicos (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009; LEME; MARIN-MORALES, 2009), que impossibilitam a polimerização adequada dos fusos mitóticos, o que impede, consequentemente, a adesão dos centrômeros aos fusos,

levando à uma interrupção do ciclo celular (VIEIRA; SILVEIRA, 2018). A origem dos micronúcleos pode ser tanto devido a ação clastogênica do composto, cuja efeito se dá na própria molécula de DNA, induzindo quebras, que decorrem em fragmentos cromossômicos, que, por sua vez, não conseguem mais se reincorporarem ao núcleo da célula; quanto por ação aneugênica, cujo alvo do efeito é o fuso mitótico. Neste último caso, os micronúcleos podem acontecer tanto por perdas de cromossomos inteiros que não se ligaram ao fuso, como por ineficiência dos fusos no processo de segregação cromossômica, o que leva formação de células poliploidizadas, cujo material excedente é eliminado do núcleo celular (FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007; 2009).

A presença de aberrações cromossômicas em células de *A. cepa* expostas à tintura não oxidada por H_2O_2 indica que, ainda que a o agente oxidante potencialize a toxicidade da tintura (LU et al., 1999; ZANONI et al., 2015; PARK et al., 2018; REHMAN et al., 2019) , os componentes presentes na própria formulação da mesma também são capazes de induzir danos tanto em estruturas citoplasmáticas (fusos mitóticos) como nucleares (DNA). Esse complexo modo de ação das tinturas capilares leva a uma grande preocupação quanto à saúde humana e também para possíveis contaminação ambiental, uma vez que esses compostos e os produtos de sua reação são encontrados em efluentes de salões de beleza, podendo atingir cursos d'água e se bioacumular nos organismos (QIN et al., 2019; SOUZA et al., 2019, 2021, 2020).

Figura 9 - Aberrações cromossômicas e nucleares observadas nos ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade realizados com células de maristema radicular de *A. cepa* expostas às tinturas capilares de cor castanha



Legenda: A: intérfase normal; B: prófase normal; C: metáfase normal; D: anáfase normal; E: telófase normal; F: célula com micronúcleo; G: célula com núcleo lobulado; H: célula poliploide; I: anáfase com quebra cromossômica; J: ponte cromossômica em telófase; K: célula com micronúcleo (ponta da seta) e broto (seta); L: célula com broto; M: c-metáfase; N: quebra em telófase; O: ponte dupla em telófase; P: célula binucleada; Q: perda cromossômica em anáfase; R: perda cromossômica em telófase; S: ponte em anáfase; T: quebra cromossômica em telófase. Aumento: 1000x.

CONCLUSÃO

O presente trabalho buscou mostrar os efeitos fitotóxicos e citogenotóxicos de tinturas capilares permanentes, bem como averiguar se a oxidação por H_2O_2 poderia ser um fator agravante para o aumento da toxicidade desses produtos. Foi possível observar que a fitotoxicidade, caracterizada por alterações no crescimento de *L. sativa*, foi mais acentuada quando as tinturas capilares foram misturadas com H_2O_2 . A oxidação por H_2O_2 , seja prévia à aplicação (tinta em pó) ou feita no momento da utilização do produto (tinta em creme, com H_2O_2) apresentou efeitos citotóxicos, enquanto que a oxidação do corante na ausência de H_2O_2 induziu a formação de

aberrações cromossômicas de caráter clastogênico e aneugênico. Isso sugere, que diversos tipos de tinturas capilares oxidativas apresentam potencial citogenotóxico e fitotóxico nas condições testadas, o que gera preocupação para o uso desses produtos, que muitas vezes são aplicados, em concentrações mais altas que as testadas neste estudo, diretamente sobre a pele. Adicionalmente, os compostos das tinturas foram encontrados em efluentes de salões de beleza, portanto descartados na rede de esgoto, podendo não serem eliminados pelos tradicionais tratamentos de águas residuais e, assim, atingir o meio ambiente. Uma vez no ambiente, esses produtos podem interagir e se bioacumular à biota exposta, se tornando uma séria ameaça ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE-VIEIRA, L. F. et al. Effects of *Jatropha curcas* oil in *Lactuca sativa* root tip bioassays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 373–382, mar. 2014.

ANTELMI, A. et al. Evaluation of concordance between labelling and content of 52 hair dye products: overview of the market of oxidative hair dye. **European Journal of Dermatology**, v. 27, n. 2, p. 123–131, mar. 2017.

BANEGAS, Elena; HARTMANN, J. **Photocatalytic degradation of a series of commercial hair dyes using immobilized TiO₂**. 2014. Tese de Doutorado. BS thesis, Worcester Polytechnic Institute, Massachusetts United States.

BESSEGATO, G. G. et al. 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. 2, p. 2794–2802, abr. 2018.

BOSCH-OREA, C.; FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Biosensors and bioassays for environmental monitoring. **Past, present and future challenges of biosensors and bioanalytical tools in analytical chemistry: A tribute to Professor Marco Mascini, Comprehen. Anal. Chem**, v. 77, p. 337-373, 2017.

CAMPAGNA-FERNANDES, A. F.; MARIN, E. B.; PENHA, T. H. F. L. Application of root growth endpoint in toxicity tests with lettuce (*Lactuca sativa*). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 11, n. 1, p. 27–32, 12 ago. 2016.

CAMPOS, J. M. S. et al. Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopathy Journal**, v. 22, n. 1, p. 143–151, 2008.

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.

DE 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. 872, p. 114529, set. 2020.

DRAELOS, Z. D. **Hair Care- An Illustrated Dermatologic Handbook**. 1. ed. Abingdon: Taylor & Francis, 2005.

DWIVEDI, K.; KUMAR, G. Genetic damage induced by a food coloring dye (Sunset Yellow) on meristematic cells of *Brassica campestris* L. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2015, p. 1–5, 2015.

EBERLE, C. E. et al. Hair dye and chemical straightener use and breast cancer risk in a large US population of black and white women. **International Journal of Cancer**, v. 147, n. 2, p. 383–391, 2020.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, jul. 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent—Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, set. 2009.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 7 nov. 1985.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 197, n. 2, p. 243–260, fev. 1988.

GAGO-DOMINGUEZ, M. et al. Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk. **International Journal of Cancer**, v. 94, n. 6, p. 903–904, 15 dez. 2001.

GAGO-DOMINGUEZ, M. et al. Permanent hair dyes and bladder cancer: Risk modification by cytochrome P4501A2 and N-acetyltransferases 1 and 2. **Carcinogenesis**, v. 24, n. 3, p. 483–489, 2003.

GERA, R. et al. Does the use of hair dyes increase the risk of developing breast cancer? A meta-analysis and review of the literature. **Anticancer Research**, v. 38, n. 2, p. 707–716, 20 jan. 2018.

Global Hair Color Market Analysis - Edition 2021. Disponível em : <goldsteinresearch.com>. Acesso em: 09/03/2021

GRANT, W. F. Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. **Environmental Health Perspectives**, v. Vol. 27, n. December, p. 37–43, 1978.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 273–291, nov. 1982.

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations—a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 107–112, 1999.

GONÇALVES, M. M. C. et al. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of composted tannery sludge. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 34495–34502, 17 set. 2020.

HANUMANTHAYYA, K. et al. Hair coloring – hair dyeing. **RGUHS J Med Sciences**, v. 8, n. 1, p. 13–17, 2018.

HEDBERG, Y. S. et al. Non-oxidative hair dye products on the European market: What do they contain? **Contact Dermatitis**, v. 79, n. 5, p. 281–287, nov. 2018.

ISO, 1995. Soil quality—determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence of higher plants. International Organization for Standardization, Geneve, Switzerland.

JAIN, A. K.; SARBHOY, R. K. Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides. III. Concluding remarks. **CYTOLOGIA**, v. 53, n. 3, p. 427–436, 1988.

KIM, K.-H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. The use of personal hair dye and its implications for human health. **Environment International**, v. 89–90, p. 222–227, abr. 2016.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, jul. 2009.

LETAŠIOVÁ, S. et al. Bladder cancer, a review of the environmental risk factors. **Environmental Health**, v. 11, n. Suppl 1, p. S11, 2012.

LIU, R.; ZHANG, H.; LAL, R. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients? **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 1, 2016.

LOPES, P. R. M. **Biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactante químico e biosurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* LBI**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp). Rio Claro-SP. 185 p., 2015.

LU, D. M. et al. Study on genotoxicity of oxidative hair-dyes. **J. Environ. Health (China)**, v. 16, p. 13-15, 1999.

MAITI, S. et al. Analysis of cytotoxicity and genotoxicity on *E. coli*, human blood cells and *Allium cepa* suggests a greater toxic potential of hair dye. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 124, p. 248–254, fev. 2016.

MISHRA, V. et al. Fast-changing life-styles and ecotoxicity of hair dyes drive the emergence of hidden toxicants threatening environmental sustainability in Asia. **Environmental Research**, v. 184, n. February, p. 109253, maio 2020.

MOREL, O. J. X.; CHRISTIE, R. M. Current trends in the chemistry of permanent hair dyeing. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 4, p. 2537–2561, 13 abr. 2011.

NAWALAGE, S. K.; PATHIRATNE, A. Application of cytogenetic model *Allium cepa* for screening potential cytogenotoxicity of herbal-based hair dyes. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 55, n. 11, p. 1366–1372, 2020.

OLIVEIRA, R. A. G. DE et al. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 1037–1046, 2014.

PALMIERI, M. J. et al. Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 5, 2016.

PAMPLONA-SILVA, M. T. et al. DNA damages induced by both endotoxin and exotoxin produced by cyanobacteria. **Chemosphere**, v. 254, p. 126716, 2020.

PARK, H. et al. Skin irritation and sensitization potential of oxidative hair dye substances evaluated with *in vitro*, *in chemico* and *in silico* test methods. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, n. September, p. 360–366, nov. 2018.

PAZIN, M. et al. FTOX049 Phytotoxicity of p-phenylenediamine, basic red 51 and basic yellow 57 to *Lactuca sativa* L. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 1, p. 1-1, 2012.

QIN, M. et al. Application of the *in vivo* Pig-a gene mutation assay to test the potential genotoxicity of p-phenylenediamine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, n. October 2018, p. 424–430, jan. 2019.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

REHMAN, S. et al. Health risks of synthetic hair dyes; advantages of natural hair dying agents in unani medicine. **Traditional and Integrative Medicine**, v. 4, n. 1, p. 37–46, 26 out. 2019.

REIS, G. B. DOS et al. Reliability of plant root comet assay in comparison with human leukocyte comet assay for assessment environmental genotoxic agents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, n. April, p. 110–116, ago. 2017.

SAMUEL, O. B.; OSUALA, F. I.; ODEIGAH, P. G. C. Cytogenotoxicity evaluation of two industrial effluents using *Allium cepa* assay. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 21–27, 2010.

SILVEIRA, G. L. et al. Toxic effects of environmental pollutants: comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359–367, jul. 2017.

SOUZA, J. C. DE et al. 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, out. 2019.

SOUZA, J. C. DE et al. Assessment of the compounds formed by oxidative reaction between p-toluenediamine and p-aminophenol in hair dyeing processes: Detection, mutagenic and toxicological properties. **Science of The Total Environment**, v. 795, p. 148806, nov. 2021.

SOUZA, J. C. et al. 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, n. December 2019, p. 122000, abr. 2020.

SUDHAKAR, R.; GOWDA, K. N. N.; VENU, G. Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. **CYTOLOGIA**, v. 66, n. 3, p. 235–239, 2001.

TSUKAGOSHI, H. Defective root growth triggered by oxidative stress is controlled through the expression of cell cycle-related genes. **Plant Science**, v. 197, p. 30–39, dez. 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY (EPA), 712-C-96-154. OPTPS850.4200. 1996. Ecological effects test guidelines. Seed germination/ Root elongation toxicity test. Public Draft, USA.

VIEIRA, A. F. C.; SILVEIRA, G. L. Cyto(geno)toxic endpoints assessed via cell cycle bioassays in plant models. **Cytotoxicity. London: Intech Open**, p. 117-129, 2018.

YANIK, F.; VARDAR, F.. Toxic effects of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles on root growth and development in *Triticum aestivum*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 9, p. 1-13, 2015.

ZANONI, T. B. et al. 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, n. 3, p. 194–204, dez. 2015.

ZHANG, Y. et al. Personal use of permanent hair dyes and cancer risk and mortality in US women: prospective cohort study. **BMJ**, v. 370, p. m2942, 2 set. 2020.

ZHOU, S. et al. Analysis of mutagenic components of oxidative hair dyes with the Ames test. **Human & Experimental Toxicology**, p. 096032712110134, 4 maio 2021.

Artigo 2: Azocorantes em tinturas capilares – toxicidade dos compostos e de seus metabólitos

RESUMO

Os azocorantes apresentam em sua estrutura um ou mais grupamentos -N=N-, chamados “azo”. Esses compostos representam o grupo de corantes sintéticos mais amplamente utilizados pelas indústrias têxteis, de medicamentos e como ingredientes de formulação de tinturas capilares não-oxidativas. Entretanto, estudos toxicológicos realizados com esses compostos revelam alto potencial citogenotóxico, mutagênico e carcinogênico, principalmente devido à formação de aminas aromáticas, substâncias estas produzidas durante o processo de metabolização desses compostos. Os azocorantes têm sido associados a cânceres como de bexiga e hepatocarcinoma, por isso considerados compostos de alto risco para a saúde humana. Também tem sido atribuído a esses corantes um alto potencial poluidor, devido aos severos impactos a que causam ao meio ambiente. Devido aos perigos descritos para os azocorantes, tanto para a saúde como ao ambiente, esta revisão teve por objetivo abordar os principais azocorantes utilizados como ingredientes na formulação de tinturas capilares, seus principais e prováveis metabólitos formados na degradação do produto, bem como os efeitos tóxicos, citogenotóxicos, mutagênicos, imunotóxicos e carcinogênicos dos mesmos. Para isso, foi feito um levantamento bibliográfico utilizando-as principais fontes de busca de artigos científicos (Google Scholar, PubMed e ScienceDirect). Como critério de inclusão, foi definido que seriam utilizados artigos de qualquer período que abordassem a toxicidade dos azocorantes e seus metabólitos sob os aspectos citológicos, genéticos, imunológicos e carcinogênicos. As informações apresentadas enfatizam o risco oferecido por azocorantes à saúde humana, tanto para usuários de tinturas capilares, quanto para profissionais de salões de beleza, uma vez que os compostos são absorvidos pela pele e metabolizados pelo organismo, no qual tanto os compostos, quanto seus metabólitos, podem causar alterações a diferentes níveis. Além dos riscos à saúde humana, estudos apresentados indicam que os azocorantes apresentam uma ameaça ao meio ambiente, uma vez que são frequentemente encontrados em efluentes industriais e de salões de beleza, podendo atingir cursos d'água e consequentemente contaminarem a biota exposta, se tais efluentes não forem tratados corretamente. É

importante ressaltar que estudos a respeito da toxicidade de azocorantes utilizados em tinturas capilares são escassos e contraditórios, dessa forma, este trabalho ressalta a necessidade da realização de mais estudos a respeito da toxicidade desses compostos, para garantir a segurança de usuários e profissionais de cosmetologia.

Palavras-chave: corantes; aminas aromáticas; imunotoxicidade; citotoxicidade; genotoxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade

ABSTRACT

Azodyes have in their chemical structure one or more groups $-N=N-$ called "azo". These compounds represent the most used group of synthetic dyes, widely used by textile and pharmaceutical industries and as an ingredient in the formulation of non-oxidative hair dyes. However, toxicological studies carried out with these compounds show their highly cytogenotoxic, mutagenic, and carcinogenic potential mainly due to the formation of aromatic amines during the processes of metabolization of these azo compounds. Azodyes have been associated with bladder cancer and hepatocarcinoma, which is why they are considered high-risk compounds for human health. A high polluting potential has also been attributed to those dyes due to the severe impacts they cause to the environment. Due to the dangers described by azodyes to human health, as well as the environment, the present review will address the azo dyes used in the formulation of non-oxidative hair dyes, their main and most likely metabolites formed during the dye degradation, as well as their toxic, cytotoxic, genotoxic, mutagenic, immunotoxic and carcinogenic effects. For this, a bibliographic survey was carried out using the main sources of search for scientific articles (Google Scholar, PubMed and ScienceDirect). As an inclusion criterion, it was defined that articles from any period that addressed the toxicity of azodyes and their metabolites under cytological, genetic, immunological and carcinogenic aspects would be used. The information presented emphasizes the risk posed by azodyes to human health, both for hair dye users and for beauty salon professionals, since the compounds are absorbed by the skin and metabolized by the body, in which both the compounds and their metabolites, can cause changes at different levels. In addition to the risks to human health, studies presented indicate that azodyes pose a threat to the environment, since they are often found in industrial and beauty salon effluents, and can reach waterways and consequently contaminate the exposed biota, if such effluents are not properly treated. It is important to emphasize that studies on the toxicity of azodyes used in hair dyes are scarce and contradictory, thus, this work highlights the need for further studies on the toxicity of these compounds, to ensure the safety of users and cosmetology professionals .

Keywords: dyes; aromatic amines; imunotoxicity; cytotoxicity; genotoxicity; mutagenicity; carcinogenicity.

1 INTRODUÇÃO

Corantes são definidos como substâncias coloridas que, sendo solúveis à um substrato, são capazes de conferir cor ao mesmo (GÜRSES et al., 2016). A transferência da cor do corante para o substrato ocorre, pelo menos temporariamente, pela destruição das estruturas cristalinas do substrato (OTHMER, 2004). No processo de coloração, os corantes ficam retidos ao substrato por absorção, dissolução, retenção mecânica, por ligações químicas do tipo iônicas ou covalentes ou, ainda, por ligações de hidrogênio (NWOKONKWO, 2013). A cor apresentada por um corante depende da capacidade do mesmo absorver luz no espectro visível da radiação eletromagnética, que varia entre 400 a 700 nm (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011).

Até metade do século XX, os corantes naturais eram usados em diversas áreas. Esses compostos podem ter diversas origens, como animal (ex: cochonilha, moluscos ou frutos do mar), vegetal (ex: índigo e açafrão) ou mineral (ex: sulfato ferroso, argila ou ocre) (KADOLPH, 2008). Os corantes sintéticos, por sua vez, foram sintetizados, pela primeira vez em 1856, por W. H. Perkin. Essa síntese aconteceu acidentalmente, quando Perkin preparava um remédio para o tratamento de malária (HARTINGS, 2021). No decorrer dos anos, foi havendo uma substituição dos corantes naturais pelos sintéticos, sendo estes cada vez mais utilizados, tendo hoje uma produção que movimenta bilhões de dólares por ano (AFFAT, 2021). Esses compostos orgânicos são amplamente usados nas mais diversas áreas, como nas indústrias têxteis, farmacêuticas, alimentícias, de plásticos, de couros, de papéis, automobilísticas e de cosméticos (ZANONI; YAMANAKA, 2016).

Os corantes podem ser classificados, principalmente, de acordo com sua estrutura química, mais especificamente, pelo seu grupo cromóforo (KIERNAN, 2001). Um cromóforo é um grupamento químico, unido por ligações covalentes insaturadas, responsável pela absorção da luz na região ultravioleta e no espectro visível (ZOLLINGER, 1991; GÜRSES et al., 2016). Nesse contexto, as principais classes de corantes são: azo, antraquinona, metalizado, indigoide, ftalocianinas, metina e polimetinas (polienos e análogos), di- e tri- arilmetanos, nitro e nitrosos, e sulfurosos (ZANONI; YAMANAKA, 2016).

O grupo cromóforo dos corantes azo é representado por dois nitrogênios unidos por ligação dupla ($-N=N-$), chamado de “grupo azo”. O nome azo vem de “azoto”, palavra francesa para Nitrogênio. Sua estrutura química é representada como $R-N=N-$

R', na qual os radicais (R ou R') podem ser do tipo arila ou alquila (KIERNAN, 2001; CHUNG, 2016). De acordo com Zanoni e Yamanaka (2016), os azocorantes fazem parte do grupo de maior importância comercial dentre os corantes sintéticos, representando cerca de 65% dos corantes disponíveis no mercado, tendo mais de três mil tipos para uso. Isso se deve, principalmente, às suas facilidades de síntese e à produção de uma grande variedade de cores (HUNGER, 2003). Esta classe de corantes é amplamente utilizada nas indústrias alimentícias, têxteis, gráficas, de medicamentos e cosméticos (BROWN; DE VITO, 1993). Na indústria de cosméticos, os azocorantes são encontrados principalmente como componentes das chamadas tinturas capilares diretas (não-oxidativas), que são as do tipo temporárias e semipermanentes (CORBETT, 1988; DRAELOS, 2005; OLIVEIRA et al., 2014).

As tinturas temporárias são produtos que conferem cor aos cabelos, mas esta é removida após uma única lavagem. As moléculas dos corantes utilizados na sua formulação, devido ao seu grande tamanho, não conseguem ultrapassar a cutícula do fio de cabelo e se depositar no córtex, razão pela qual são facilmente removidas por xampus. Na composição das tinturas capilares temporárias, estão presentes os mesmos corantes para tingir tecidos de lã (CORBETT, 1988; DRAELOS, 2005). Os corantes das tinturas semipermanentes também são derivados de corantes têxteis, isto porque o cabelo humano possui uma estrutura muito semelhante à uma fibra têxtil (por exemplo, a lã), sendo, então, apropriados para serem utilizados em tinturas capilares (DRAELOS, 2005). As tinturas semipermanentes, embora apresentem moléculas menores que as das tinturas capilares temporárias, conseguem penetrar parcialmente no córtex do fio, sendo então removidas após cerca de 24 lavagens (BOLDUC; SHAPIRO, 2001; ARALDI; GUTERRES, 2005).

Corantes têxteis ou capilares podem também ser classificados de acordo com a maneira como são aplicados à fibra. Dentro dessa classificação, os corantes azo estão, principalmente, na classe dos corantes ácidos e básicos. Os corantes ácidos são a segunda maior classe dos corantes, em termos de produção e consumo, representando 18,5% do total dos corantes produzidos. Os corantes desta classe são aniônicos, solúveis em água e se ligam à fibra por meio de uma troca iônica. Já os corantes básicos (catiônicos), representam apenas 7,1% do total de corantes produzidos. São corantes solúveis em água, apresentam grande variedade de cores e brilho e são fixados à fibra por interações iônicas, de Van der Waals ou pontes de hidrogênio (GUARATINI; ZANONI, 2000; ZANONI; YAMANAKA, 2016).

Apesar das suas vantagens e inúmeras aplicações, os azocorantes e seus metabólitos, como aminas aromáticas, possuem alta toxicidade, mutagenicidade, carcinogenicidade, e alergenicidade, podendo se caracterizar como uma séria ameaça à saúde humana e ao meio ambiente (CHUNG, 2016). Os azocorantes estão ligados ao aumento do risco de cânceres de bexiga, sarcoma esplênico e hepatocarcinoma humanos, além de anormalidades nucleares em modelos experimentais animais e aberrações cromossômicas em cultura de células de mamíferos (PUVANESWARI; MUTHUKRISHNAN; GUNASEKARAN, 2006).

A exposição humana aos azocorantes pode ocorrer por via cutânea, oral ou por inalação. A alta toxicidade desses compostos está relacionada com a formação de aminas aromáticas, que são produzidas por processos de biotransformação e biodegradação (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011). Geralmente, esses metabólitos são ainda mais tóxicos que os compostos originais (UMBUZEIRO et al., 2005; CHUNG, 2016; VENTURA-CAMARGO; DE ANGELIS; MARIN-MORALES, 2016). A degradação do azocorante se dá por quebras das ligações azo, realizadas por enzimas do grupo das azoredutases (MISAL; GAWAI, 2018). Em mamíferos, a conversão de azocorantes em aminas aromáticas ocorre pela ação de azoredutases da flora intestinal, da pele e do fígado (CHUNG; STEVENS; CERNIGLIA, 1992; RAFII; CERNIGLIA, 1995; BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011). Além disso, microrganismos presentes no ambiente também possuem potencial de reduzir os azocorantes em aminas aromáticas (CHEN, 2006). As aminas aromáticas são compostos com alto potencial citogenotóxico, mutagênico e carcinogênico, o que as tornam uma ameaça ao meio ambiente e à saúde humana (BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017).

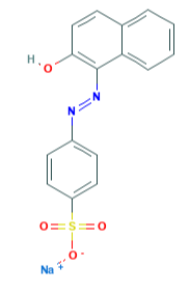
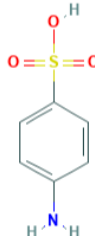
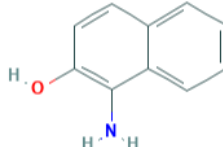
Tanto usuários das tinturas capilares como os profissionais da área de cosmetologia (cabeleireiros e esteticistas) estão expostos a esses azocorantes de forma direta. Essa exposição se dá, principalmente, pela pele, onde estes compostos podem ser metabolizados e absorvidos na forma de aminas aromáticas (KORINTH; SCHALLER; DREXLER, 2013; BRÜSCHWEILER; MERLOT, 2017). A exposição dos profissionais é maior que a dos usuários, uma vez que eles entram em contato com estes compostos em vários momentos, que vão desde a preparação, até a própria aplicação da tintura no cliente e a lavagem dos cabelos já tingidos (LIND et al., 2017). Os riscos da exposição ocupacional ou de usuários de tinturas já foram alvos de estudos epidemiológicos, que indicaram que esses compostos estavam relacionados

ao aumento do risco de cânceres como, por exemplo, o de bexiga (ZEILMAKER et al., 1999; CZENE; TIIKKAJA; HEMMINKI, 2003; NOHYNEK et al., 2004; KIM; KABIR; JAHAN, 2016).

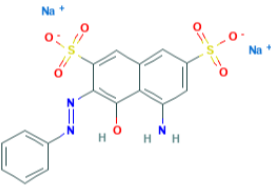
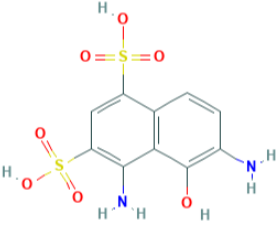
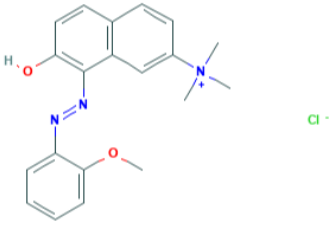
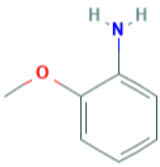
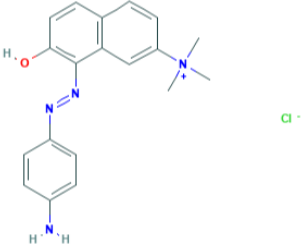
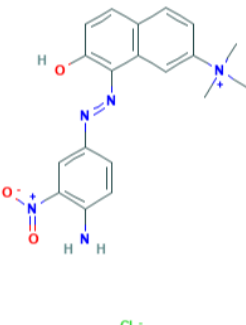
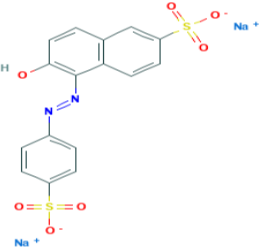
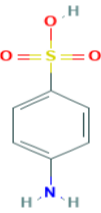
Além disso, a preocupação com a toxicidade de azocorantes e das aminas aromáticas também se estende aos riscos que estes compostos podem oferecer ao meio ambiente, pois estão presentes em efluentes industriais (BAFANA; DEVI; CHAKRABARTI, 2011) e urbanos. Desta forma, existem muitos estudos que buscam por processos que sejam eficientes, aplicáveis e economicamente viáveis para a remoção desses compostos de efluentes (HASSAAN; NEMR, 2017), na tentativa de minimizar os impactos envolvidos com esse tipo de contaminante, uma vez que eles podem se bioacumular e biomagnificar ao longo da cadeia alimentar (WEISBURGER, 2002).

Pela importância que os azocorantes representam para a indústria de cosméticos, principalmente para as tinturas capilares, pela toxicidade desses corantes e seus metabólitos e pelo perigo que representam para o meio ambiente e à saúde humana, serão apresentados nesta revisão os principais azocorantes utilizados como componentes de tinturas capilares; os seus consequentes metabólitos (Quadro 2); bem como a toxicidade desses agentes, sob o ponto de vista sanitário e ambiental. Os resultados deste levantamento bibliográfico estão sumarizados no Quadro 3.

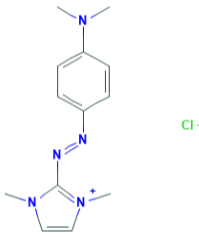
Quadro 2 – Principais azocorantes utilizados na composição de tinturas capilares não oxidativas e seus metabólitos (continua)

Tipo de tintura	Corante	Metabólito
Temporária	Acid Orange 7 	Ácido sulfanílico 
		1-amino-2-naftol 

Quadro 2 – Principais azocorantes utilizados na composição de tinturas capilares não oxidativas e seus metabólitos (continua)

Tipo de tintura	Corante	Metabólito
Temporária	Acid Red 33 	Ácido 2-amino-H 
Temporária	Basic Red 76 	o-anisidina 
Temporária	Basic Brown 16 	*
Temporária	Basic Brown 17 	*
Temporária	Sunset Yellow 	Ácido sulfanílico 

Quadro 2 – Principais azocorantes utilizados na composição de tinturas capilares não oxidativas e seus metabólitos (conclusão)

Semipermanente	Basic Red 51 	1,3-dimetil-imidazol-2-amina
		1,4-diacetoaminobenzeno

Legenda: * - faltam informações na literatura.

Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2014), Zanoni; Yanamaka, (2016) e [PubChem \(nih.gov\)](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

2 TOXICIDADE DOS CORANTES ÁCIDOS UTILIZADOS NA FORMULAÇÃO DE TINTURAS CAPILARES

O azocorante corante Acid Orange 7, também chamado de D&C Orange N°4, Orange 205 e Orange II (4-[(2-hydroxy-1-naphthyl)azo]benzenesulfonate, monosodium salt) é usado em diodos de emissão de luz orgânica (OLEDs), sabões, preservativos de madeira, couro, cosméticos, tintas de tecidos e capilares, etc. (SABNIS, 2008; OLIVEIRA et al., 2014). Estudos sobre a toxicidade desse corante são escassos e antigos.

Avaliações realizadas por Ramchandani, Das e Khanna (1994) mostraram que o corante Acid Orange 7 induziu peroxidação lipídica em células hepáticas de ratos, o que caracteriza danos às membranas plasmáticas desses hepatócitos. Esse dano veio acompanhado de alteração na quantidade de glutatona e de outras enzimas citosólicas. Outros estudos realizados pelo mesmo grupo de pesquisadores também observaram que o corante induziu peroxidação lipídica nas membranas nucleares, mitocondriais e microsomais, o que reforçou a evidência do seu potencial de danos às membranas celulares (RAMCHANDANI; DAS; KHANNA, 1992). Singh e Khanna (1979) demonstraram em seus estudos realizados com ratos, que o Acid Orange 7 reduziu o número de glóbulos vermelhos, o nível de hemoglobina e a quantidade de células/volume de sangue desses organismos. O azocorante também induziu aberrações cromossômicas em ratos expostos por via oral. Foram encontrados quebras, translocações, deleções, aderências, cromossomos em anel e outras configurações disformes (PRASAD; RASTOGI, 1982). O Acid Orange 7 também é

considerado por alguns autores um imunomodulador, por apresentar potencial imunotóxico em esplenócitos de camundongos. A exposição ao corante alterou as proporções relativas de células B e células T, o que pode ser um indicativo de disfunção imunológica (YADAV et al., 2012). Os autores ainda afirmam que o corante diminuiu a produção de citocinas envolvidas no processo de ativação das respostas imunológicas inata e adaptativa. Estudos realizados por Bonser et al. (1956) comprovaram que um metabólito desse azocorante, o 1-amino-2-naftol, apresentou potencial carcinogênico, comprovado pela indução de tumores em bexiga de ratos.

Por outro lado, alguns ensaios (mutagenicidade com *Salmonella typhimurium*, aberrações cromossômicas, micronúcleo e troca de cromátides-irmãs com células de roedores) realizados com extratos de fezes, urina e bile (ácido sulfalínico e 1-amino-2-naftol), mostraram que tanto com o azocorante Acid Orange 7 como com seus derivados de metabolização endógena não apresentaram atividade genotóxica ou mutagênica (WEVER; MÜNZNER; RENNER, 1989). Rafii, Hall e Cerniglia (1997) investigaram a mutagenicidade do mesmo azocorante antes e depois do processo de biodegradação por bactérias *Clostridium* sp., comumente encontradas no trato intestinal humano. Os autores observaram, por meio de ensaios *in vitro*, sob condições anaeróbicas, que essas bactérias são capazes de reduzir azocorantes e produzir aminas aromáticas. Contudo, não encontraram pelo do teste de Ames, atividade mutagênica para o azocorante e nem para os seus metabólitos (RAFII; HALL; CERNIGLIA, 1997). Chung, Fulk e Andrews (1981) também não encontraram, pelo teste de Ames, atividade mutagênica para o azocorante e tampouco para os seus metabólitos. Esses dados foram corroborados por Mansour et al. (2007), que não evidenciaram, pelo teste do SOS-cromoteste em *Escherichia coli*, atividade genotóxica para o metabólito ácido sulfanílico.

O azocorante Acid Red 33 (Disodium 5-amino-4-hydroxy-3-(phenylazo)-naphthalene-2,7-disulfonate), é também conhecido pelos nomes D&C Red N°33, Red 33 e Fuchsia Red (OLIVEIRA et al., 2014; OMPRAKASH et al., 2015). De acordo com o Code of Federal Regulations (2013) do Governo dos Estados Unidos, esse azocorante é um composto utilizado para coloração de medicamentos tanto ingeríveis, como de uso externo, em cosméticos, enxaguantes bucais e dentífricos.

Estudos relacionados à toxicidade deste azocorante e de seus metabólitos são escassos e os descritos na literatura não evidenciaram atividades tóxicas para os mesmos. Prival et al. (1984) avaliaram a mutagenicidade do corante e de seus

metabólitos, por meio de uma modificação do teste de Ames com *Salmonella typhimurium*. Nesta versão, é realizada uma pré-incubação do mononucleotídeo flavina, que facilita a redução das ligações azo, induzindo a formação de aminas aromáticas. Neste estudo, os resultados obtidos mostraram que nem o azocorante Acid Red 33, nem o subproduto da sua redução (ácido 2-amino-H) possuem potencial mutagênico. Outro estudo também mostrou que o azocorante e seus metabólitos apresentaram resultados negativos para testes de carcinogenicidade. Ao contrário de algumas aminas aromáticas, os metabólitos do corante possuem baixa atividade genotóxica e um mínimo potencial tumorigênico (JUNG; STEINLE; ANLIKER, 1992). Rafii, Hall e Cerniglia (1997) também avaliaram o potencial mutagênico (teste de Ames) desse azocorante e dos seus metabólitos, após exposição à ação das bactérias *Clostridium* sp. presentes no trato intestinal humano, e não encontraram evidências de mutagenicidade para nenhum dos compostos.

3 TOXICIDADE DOS CORANTES BÁSICOS UTILIZADOS NA FORMULAÇÃO DE TINTURAS CAPILARES

O corante Basic Red 76, também conhecido pelo nome de Arianor™ Madder Red (nome IUPAC: 7-Hydroxy-8-((2-methoxyphenyl)diazenyl)-N,N,N-trimethylnaphthalen-2-aminium chloride) é um azocorante do tipo básico, catiônico e solúvel em água que, na sua forma pura, se apresenta como um pó avermelhado (Scientific Committee on Consumer Safety – SCCS, 2011). De acordo com dados do FDA Voluntary Cosmetic Registration Program (2019), o Basic Red 76 é utilizado em 48 formulações de tinturas capilares e em duas de esmalte para unhas.

Testes de genotoxicidade e mutagenicidade, realizados com o Basic Red 76 por diferentes autores, apresentaram divergência nos resultados. De acordo com o relatório da *Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics* (2019), o corante Basic Red 76 e seus metabólitos foram avaliados quanto ao potencial mutagênico, tanto pelo teste de Ames, como pelos ensaios de mutação gênica em células de mamíferos, com e sem ativação metabólica. Ensaio com células de linfoma de camundongos expostas ao corante mostraram resultados negativos para a indução de mutações gênicas, dados esses corroborados pelos ensaios de aberrações cromossômicas com células de hamsters chineses, submetidas à concentração de 500 mg/mL do corante. No entanto, para a concentração de 1000 mg/mL, sem ativação metabólica, o corante se mostrou clastogênico.

O relatório ainda apresenta resultados para o teste de micronúcleo *in vitro* com células V79 de hamster chinês. Neste, o Basic Red 76 induziu resultados positivos em concentrações baixas (212,5 µg/mL), com e sem ativação metabólica, mas resultados negativos para concentrações um pouco mais altas (300 µg/mL), para os ensaios com ativação metabólica. Adicionalmente, em concentrações acima de 5000 mg/kg, o azocorante apresentou resultados negativos para o teste de micronúcleo (*in vivo*) com camundongos. O relatório ainda destaca que não foram encontradas informações sobre a carcinogenicidade do corante Acid Red 76, embora um de seus possíveis metabólitos (*o*-anisidina) seja, reconhecidamente, considerado como tumorigênico. Para os ensaios *in vitro* de mutagenicidade com bactérias e de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos, o corante apresentou resultados positivos (WOLFREYS; BASKETTER, 2004).

Estudos realizados com *o*-anisidina, possível amina aromática derivada do Basic Red 76, comprovam potencial carcinogênico para o composto. Esta substância é classificada, pela *International Agency of Research on Cancer*, como sendo do grupo 2B, ou seja, possivelmente carcinogênico para humanos (IARC, 1982, 1999). Em ratos e camundongos (machos e fêmeas), a *o*-anisidina é conhecida como indutora de cânceres de bexiga urinária (ASHBY, 1995). De fato, este órgão parece ser alvo da ação desse composto, como foi demonstrado por Sasaki et al. (1998). Os autores avaliaram a genotoxicidade da *o*-anisidine, pelo ensaio do cometa em células de diversos órgãos de roedores, como fígado, pulmões, rins, cérebro, estômago, intestino e bexiga. Os resultados mostraram que os danos ao DNA só foram significativos para as células de bexiga desses animais.

Um outro estudo realizado por Qi et al. (2020), pela técnica de fosforilação da histona H2AX em linhagem de células uroteliais de humanos, comprovaram a genotoxicidade da *o*-anisidina. De acordo com os autores, a resposta observada no ensaio é indicativa de genotoxicidade, pois infere quebras de dupla-fita no DNA, eventos esses que estão associados a processos carcinogênicos. Brennan e Schiestl (1999) também demonstraram o potencial genotóxico dessa substância, pela presença de deleções em *Saccharomyces cerevisiae*, causadas por recombinações intracromossômicas.

O *Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics* (2019) afirma que, apesar dos resultados positivos obtidos nos testes *in vitro*, realizados com Basic Red 76, deve-se se levar em consideração que as concentrações utilizadas nos ensaios

foram muito mais altas do que as que seriam, de fato, utilizadas em cosméticos. Já os resultados *in vivo* apresentaram-se negativos, o que, de acordo com a mesma agência, reforça que os resultados dos testes *in vitro* não devem ser considerados preocupantes. Em relação à carcinogenicidade do metabólito desse azocorante, o relatório afirma que a preocupação deve ser mínima, pois o corante não é facilmente absorvido e ainda é usado em baixas concentrações. Por essa colocação, o relatório afirma que a exposição às aminas aromáticas, derivadas da metabolização do corante, é insignificante, portanto, o corante Basic Red 76 é seguro para uso em cosméticos.

Um segundo corante básico utilizado em formulações de tinturas capilares não-oxidativas é o Basic Brown 16 ou ArianorTM Mahogany (nome IUPAC: [8-[(4-aminophenyl)diazenyl]-7-hydroxynaphthalen-2-yl]-trimethylazanium;chloride). Esse azocorante é um dos mais utilizados pela indústria têxtil e também como ingrediente de tinturas capilares não-oxidativas e temporárias (OLIVEIRA et al., 2014; GOPALAKRISHNAN et al., 2020).

Dados relacionados à toxicidade desse corante são ainda muito escassos na literatura. Entretanto, o *Scientific Committee on Consumer Products* (SCCP), comitê científico europeu, que presta serviços à Comissão Europeia sobre compostos não alimentares, apresenta em seu relatório de 2008, dados referentes à genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade do composto (SCCP/1165/08, 2008). Pelo relatório desse Comitê, o azocorante Basic Brown 16 foi considerado, pelo teste de Ames, mutagênico na presença de ativação metabólica, para as concentrações 1, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500 e 5000 µg/mL/poço. Pelo teste de mutação gênica, realizado com células de mamíferos (camundongos), expostas por 4h ao azocorante, também foi possível comprovar atividade mutagênica para as concentrações de 27,5; 55, 110, 165 e 220 µg/mL, na ausência de ativação metabólica.

Já em células de pulmão de hamster chinês (V-79), não foi observado efeito mutagênico para as concentrações de 5, 19, 20, 50 e 100 µg/mL do azocorante Basic Brown 16, em testes sem ativação metabólica, quando estas foram expostas, por um período de 20h e para as concentrações de 100, 300, 1000, 3000 e 6000 µg/mL/poço (sem ativação metabólica), por um período de exposição de 2h. Foi também realizado o teste de micronúcleo com células V-79. em duas diferentes condições:(1) sem ativação metabólica, para as concentrações 450, 900, 1800 e 3600 µg/mL, por um período de exposição de 4h; e (2) com ativação metabólica, nas

concentrações 450, 900 e 1800 µg/mL, por 4h de exposição. Esses testes indicaram que o azocorante possui atividade clastogênica e/ou aneugênica, pois as células avaliadas apresentaram-se micronucleadas, após exposição ao Basic Brown 16, independente da condição testada (SCCP/1165/08, 2008).

Este teste também foi realizado em eritrócitos de mamíferos, mas nestas células, não houve indução de micronúcleos, portanto, nas condições testadas, ele não foi considerado clastogênico e/ou aneugênico. O relatório não apresenta dados relacionados à carcinogenicidade do Basic Brown 16, tampouco sobre a citogenotoxicidade das amins aromáticas derivadas da sua metabolização (SCCP/1165/08, 2008).

O Basic Brown 17, nome IUPAC: [8-[(4-amino-3-nitrophenyl)diazenyl]-7-hydroxynaphthalen-2-yl]-trimethylazanium;chloride, também pode ser encontrado pelos nomes Arianor™ Sienna Brown, Jaracol Sienna e Sienna Brown (OLIVEIRA et al., 2014). É um azocorante não-oxidativo direto, utilizado em tinturas capilares temporárias e em outros produtos para coloração de cabelos (SCCS, 2014). De acordo com uma pesquisa do *FDA Voluntary Cosmetic Registration Program* (VCRP) (2021), este corante é utilizado em um total de 20 formulações de produtos capilares, sendo 3 delas utilizadas como produtos não colorantes (xampus e condicionadores) e o restante em produtos colorantes, como tinturas, tonalizantes, xampus colorantes, entre outros.

O *Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics* (2021) relata avaliações *in vitro* e *in vivo* de genotoxicidade e mutagenicidade do azocorante, em diversos organismos modelo. O corante Basic Brown 17 se mostrou mutagênico (teste de Ames) em ensaios com e sem ativação metabólica, com respostas dose-dependente. Entretanto, nos testes realizados com linhagens celulares de linfoma de camundongos (L5178Y), o corante não se mostrou mutagênico nas condições testadas, para os experimentos com e sem ativação metabólica. Para o teste de micronúcleo, realizado com células V79 (hamster chinês), esse azocorante não se mostrou genotóxico, ou seja, não induziu a formação de células micronucleadas. Pelo ensaio do cometa, realizado com tecido reconstruído de pele humana (*Phenion*®), o corante foi considerado não genotóxico. O teste do micronúcleo (*in vivo*), realizado em camundongos, indicou ausência de atividade clastogênica ou aneugênica para o Basic Brown 17.

Adicionalmente, Tafurt-Cardona et al. (2015) demonstraram, por meio do ensaio do cometa e do teste do micronúcleo com bloqueio de citocinese, que o corante induziu efeitos altamente citogenotóxicos em células de hepatocarcinoma humano (HepG2), quando testado em concentrações muito inferiores às aquelas utilizadas em produtos capilares, confirmando o perigo da exposição à esses produtos para a saúde humana. Com esses resultados os autores inferem que a toxicidade do corante pode ser devido aos metabólitos formados, uma vez que essas células são hepáticas, portanto, com potencial metabolizador.

4 TOXICIDADE DO CORANTE SUNSET YELLOW E SEUS METABÓLITOS

O azocorante Sunset Yellow (Amarelo Crepúsculo ou FD&C Yellow N°6, Orange Yellow S), nome IUPAC disodium;6-hydroxy-5-[(2,3,5,6-tetradeuterio-4-sulfonatophenyl)diazenyl]naphthalene-2-sulfonate, é um corante amarelo alaranjado sintético, derivado de hidrocarbonetos aromáticos do petróleo (OLIVEIRA et al., 2014; DWIVEDI; KUMAR, 2015; LYE; CHIEW; SIDDIQUE, 2018; PubChem - CID: 5359810, 2021). Esse azocorante é comumente utilizado em tinturas capilares temporárias, mas também como corante de alimentos em muitos países (OLIVEIRA et al., 2014; RAMAZANOVA; TIKHOMIROVA; APYARI, 2015).

Os estudos de toxicidade realizados com esse azocorante são inconsistentes e contraditórios (HAVERIĆ et al., 2018; KHAYYAT et al., 2018). Em modelos vegetais, como *Allium cepa* (cebola), *Brassica campestris* (nabo) e *Trigonella foenum-graecum* (feno-grego), o Sunset Yellow induziu alterações do tipo diminuição do índice mitótico e aberrações cromossômicas, como aderências cromossômicas, cromossomos atrasados, pontes, micronúcleos, desorientação cromossômica em anáfase e metáfase. Além disso, na maioria dos casos, o aumento da frequência de alterações aconteceu de forma dose-dependente (KUMAR; SRIVASTAVA, 2011; GOMES et al., 2013; DWIVEDI; KUMAR, 2015).

A toxicidade do Sunset Yellow também foi testada por ensaios *in vitro* realizados com modelos animais (culturas de células de camundongos e humanas). Em cultura de linfócitos humanos, a genotoxicidade do azocorante foi testada por meio do teste de micronúcleo com bloqueio de citocinese e do teste de aberrações cromossômicas. Nesse estudo, o composto induziu um aumento na frequência de células com aberrações cromossômicas estruturais e células micronucleadas, comprovando o potencial clastogênico do mesmo (HAVERIĆ et al., 2018).

Células de hepatocarcinoma humano (HepG2), submetidas ao corante Sunset Yellow, mostraram, por teste multiparamétrico que avalia diversas respostas celulares (*High Content Analysis* - HCA), que o corante induziu diminuição da proliferação celular, alteração no potencial da membrana mitocondrial, acúmulo de espécies reativas de oxigênio, aumento na taxa de mortalidade celular, danos ao DNA e aumento da permeabilidade da membrana, de forma dose-dependente (QU et al., 2017). O composto também levou à diminuição da viabilidade celular, acompanhada da superexpressão da Caspase-3, enzima diretamente relacionada ao processo de morte celular. O corante ainda promoveu um acúmulo de lipídios nos hepatócitos, também de forma dose-dependente, efeito esse que pode levar a doenças hepáticas, como a esteatose. Esse fato corrobora a diminuição e supressão da expressão do mRNA Sdc1, que está envolvido com a regulação da lipogênese e, portanto, previne que ocorra o acúmulo de lipídios nas células (LYE; CHIEW; SIDDIQUE, 2018).

Ensaio do cometa, realizados em testes *in vivo* com o corante Sunset Yellow, por Khayyat et al. (2018), mostraram que o referido corante apresenta potencial genotóxico. Sayed et al. (2012) demonstraram, por meio de testes realizados com ratos, que o Sunset Yellow induziu troca de cromátides-irmãs em células de medula óssea e aberrações cromossômicas em células somáticas e germinativas. Por esse estudo, os autores também concluíram que o corante apresenta potencial genotóxico, característica esta corroborada por Ali et al. (2018), tanto para o ensaio do cometa como para o teste de aberrações cromossômicas. Os autores observaram que as aberrações mais frequentemente encontradas foram fragmentação do DNA, quebra cromossômicas e cromatídicas e cromossomos em anel.

Em outro estudo, o composto induziu efeitos imunomodulatórios em esplenócitos de ratos, comprovados pela supressão de respostas de células T e B e diminuição da expressão de genes de interleucinas, que estão relacionadas com a resposta inflamatória (YADAV et al., 2013). Contudo, pelos resultados do teste de Ames, esse azocorante não foi considerado nem mutagênico e nem carcinogênico (GARNER; NUTMAN, 1977). Gaunt et al., (1974) também afirmaram que o corante não é carcinogênico e não induz efeitos tóxicos, em longo-prazo, em camundongos. Estudos realizados com esse mesmo corante e com a amina aromática derivada da sua metabolização (ácido sulfanílico) corroboraram a ausência de genotoxicidade, pelo testes de micronúcleo em células do intestino de ratos, e de mutagenicidade pelo

teste de Ames (Ensaio *Salmonella*-microsoma) (CHUNG; FULK; ANDREWS, 1981; POUL et al., 2009).

5 TOXICIDADE DO AZOCORANTE SEMIPERMANENTE BASIC RED 51 E SEUS METABÓLITOS

Basic Red 51 ou VIBRACOLOR® Ruby Red (nome IUPAC: 4-[(1,3-dimethylimidazol-1-ium-2-yl)diazenyl]-N,N-dimethylaniline;chloride) é um azocorante do tipo básico usado em formulações de tinturas capilares diretas, em uma concentração de até 1%, e em tinturas capilares oxidativas, a uma concentração de 0,5%, após mistura com peróxido de hidrogênio (SCCS/1332/10, 2011). É também utilizada em outros produtos para cabelos, como xampus, gel, creme e loção para cabelos, além de ser um corante comumente utilizado pela indústria têxtil (ABE et al., 2017).

A toxicidade do azocorante Basic Red 51 já foi avaliada em diversos organismos. Pazin et al. (2013) comprovaram que o composto apresentou efeitos fitotóxicos em *Lactuca sativa*, pela inibição da elongação radicular e redução na massa fresca e massa seca, de forma dose-dependente. Em *Danio rerio*, o Basic Red 51 induziu estresse oxidativo. Foi detectado um aumento da atividade de enzimas de fase II, como a glutathione S-transferase, bem como aumento dos níveis de catalase e glutathione total, indicando uma resposta para inibir a produção de espécies reativas de oxigênio e a ocorrência de danos oxidativos (ABE et al., 2017).

Testes *in vitro* utilizando culturas celulares também indicaram efeitos citogenotóxicos para este azocorante. Ensaios realizados por Zanoni et al. (2014) com queratinócitos humanos (HeCaT) em monocamada e com modelos de tecido epitelial 3D demonstram que o Basic Red 51 é citotóxico, capaz de induzir morte celular e supressão da expressão do gene p21, responsável por regular o crescimento celular e a diferenciação de queratinócitos, atraso no ciclo celular e formação de espécies reativas de oxigênio, de forma dose-dependente. Em células de hepatocarcinoma humano (HepG2), o azocorante também apresentou potencial citotóxico observado pelos ensaios de viabilidade celular (MTT e Azul de tripan), genotóxico pelo ensaio do cometa e mutagênico pelo teste do micronúcleo quando testado em concentrações muito inferiores às aquelas utilizadas em formulações comerciais de produtos capilares (TAFURT-CARDONA et al., 2015).

O *Scientific Committee on Consumer Products* (SCCS/1332/10, 2011), apresenta estudos que comprovam a ação mutagênica para o Basic Red 51, como os realizados pelo Teste de Ames (*Salmonella*/microsoma) na presença de ativação metabólica, resultados esses que podem ser consequentes da ação das aminas aromáticas derivadas de processos de metabolização desses corantes (Quadro 2). Entretanto, o relatório afirma que o corante não demonstrou mutagenicidade em células de mamíferos, tampouco atividade clastogênica e/ou aneugênica em células humanas, tanto em testes *in vivo* como *in vitro*. Portanto, o Comitê classifica esse azocorante como seguro a uma máxima concentração de 1% para tinturas não-oxidativas. Contudo, os dados de literatura ainda são escassos e inconsistentes para se poder inferir sobre a toxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade desse azocorante e de seus metabólitos, bem como sobre a segurança de seu uso em tinturas oxidativas.

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Acid Orange 7	80mg/peso corporal 3 dias	Monitoramento da peroxidação lipídica, formação de malondialdeídos, e conteúdo de enzimas metabolizadoras de xenobióticos	Ratos/Hepatócitos, organelas subcelulares	Peroxidação lipídica na membrana plasmática, mitocondrial e de microssomos, alteração de níveis de glutathione	Ramchandani, Das e Khanna (1992, 1994)
Acid Orange 7	0,1, 0,5 e 3,0% (m/m) 90 dias	Exames hematológicos	Ratos/ Células sanguíneas	Redução em glóbulos vermelhos, hemoglobina, células/volume de sangue	Singh e Khanna (1987)
Acid Orange 7	3,0 g/kg de peso corporal 180 dias	Aberrações cromossômicas	Ratos/Cromossomos somáticos e de espermatozoides	Aberrações cromossômicas: quebras, translocações, deleções, aderências	Prasad Rastogi (1982)
Acid Orange 7	10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 µg/mL 24, 48 e 72h 50 µg/mL 72h	Teste do MTT e PI staining Análise imunofenotípica	Camundongos/Esplenócitos	Efeitos citotóxicos (viabilidade celular) Imunotoxicidade: alteração nas proporções de células B e T	Yadav et al. (2012)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Acid Orange 7	Para teste de mutagenicidade: administração de 1g/kg em ratos por 0, 8 e 24h Utilização de extratos de bile, urina e fezes: 0,2, 0,4, 0,6 mL/poço Para teste de genotoxicidade: 1,5g/peso corporal 30h	Mutagenicidade: Teste de Ames Genotoxicidade: Aberrações cromossômicas, micronúcleo e troca de cromátides-irmãs	<i>Salmonella typhimurium</i> / Hamster chinês/Células V79	Não mutagênico ou genotóxico	Wever, Münzner e Renner (1989)
Acid Orange 7	50 e 200 µg/poço	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Rafii, Hall e Cerniglia (1997)
Acid Orange 7	5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 100 µg/poço sem ativação metabólica	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Chung, Fulk e Andrews (1981)
Acid Orange 7	10, 50, 250, 500 µg/ensaio	SOS-cromoteste	<i>Escherichia coli</i>	Não genotóxico	Mansour et al. (2007)
Acid Red 33	0,1, 0,3, e 1,0 µmol/poço	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Prival et al. (1984)
Acid Red 33	50 e 200 µg/poço	Teste de ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Rafii, Hall e Cerniglia (1997)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 76	Experimento 1: 10, 33, 100, 333, 1000, 2500 e 5000 µg/poço 48h Experimento 2: 33, 100, 333, 1000, 2500 e 5000 µg/poço 48h	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics</i> (2019)
Basic Red 76	Experimento 1: 26.6, 53.1, 106.3, 212.5, 318.8 µg/mL 4h Experimento 2: 53.1, 106.3, 212.5, 318.8, 425 µg/mL 24h	Mutação gênica	Camundongos/Células de linfoma	Não mutagênico	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics</i> (2019)
Basic Red 76	Experimento 1 (parte 1): 62.5, 125, 250 mg/mL 18h Experimento 1 (parte 2): 250, 500, 1000 mg/mL 28h Experimento 1 (parte 3): 50, 100, 200 mg/mL	Teste de aberrações cromossômicas	Hamster chinês/Células V79	Não clastogênico nas concentrações: 62.5, 125, 250, and 500 mg/mL Clastogênico a 1000 mg/mL	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics</i> (2019)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 76	18h Experimento 2 (parte 1): 62.5, 125, 250 mg/mL Experimento 2 (parte 2): 31.3, 62.5, 250 mg/mL	Teste de aberrações cromossômicas	Hamster chinês/Células V79	Não clastogênico nas concentrações: 62.5, 125, 250, and 500 mg/mL Clastogênico a 1000 mg/mL	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics (2019)</i>
Basic Red 76	Experimento 1 (parte 1): 53.1, 106.3, 212.5 µg/mL 24h Experimento 1 (parte 2): 150, 200, 300 µg/mL 4h Experimento 2 (parte 1): 106.3, 212.5, 425, 850, 1700 µg/mL 20h Experimento 2 (parte 2): 106.3, 212.5, 425 µg/mL 4h	Teste de micronúcleo	Hamster chinês/Células V79	Experimento 1: não clastogênico Experimento 2: Indução de micronúcleos com e sem ativação metabólica nas concentrações 212.5, 425, 850 µg/ml	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics (2019)</i>

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 76	0, 25, 50, 100 mg/kg de peso corporal (oral); 200 mg/kg de peso corporal (intraperitoneal)	Teste do micronúcleo	Ratos/Células de medula óssea	Não clastogênico	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics (2019)</i>
Basic Red 76	5000 mg/kg 24, 48 e 72h	Teste do micronúcleo	Camundongos/Células de medula óssea	Não clastogênico	<i>Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics (2019)</i>
Basic Red 76	Não informado	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Mutagênico	Wolfeys e Basketter (2004)
Basic Red 76	Não informado	Aberrações cromossômicas	Linfócitos humanos	Induziu a formação de aberrações cromossômicas	Wolfeys e Basketter (2004)
Basic Brown 16	0, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500 and 5000 µg/poço Experimento 1: incubação direta com e sem ativação metabólica Experimento 2: 48h de incubação	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Mutagênico na presença de ativação metabólica, nas cepas TA98 e TA137	<i>Scientific Committee on Consumer Products (SCCP/1165/08 . 2008)</i>

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Brown 16	Experimento 1: 0, 27.5, 55, 110, 165 e 220 µg/mL sem S9-mix Experimento 2: 0, 55, 110, 165, 220 e 330 µg/poço com S9-mix 4h de exposição	Teste de mutação gênica em células de mamíferos (tk-locus)	Camundongos/Células de linfoma	Potencial mutagênico e clastogênico na presença e ausência de ativação metabólica	<i>Scientific Committee on Consumer Products</i> (SCCP/1165/08 . 2008)
Basic Brown 16	0, 5, 19, 20, 50 e 100 µg/mL sem S9-mix. 2h de exposição 0, 100, 300, 1000, 3000 e 6000 µg/poço com S9-mix 20h de exposição	Teste de mutação gênica (<i>hprt</i> -locus)	Hamster chinês/Células V79	Não mutagênico	<i>Scientific Committee on Consumer Products</i> (SCCP/1165/08 . 2008)
Basic Brown 16	0, 450, 900, 1800 e 3600 µg/mL sem S9-mix 2h de exposição 0, 450, 900 e 1800 µg/mL com S9-mix 20h de exposição	Teste de micronúcleo	Hamster chinês/Células V79	Indução de células micronucleadas (potencial clastogênico e/ou aneugênico)	<i>Scientific Committee on Consumer Products</i> (SCCP/1165/08 . 2008)
Basic Brown 16	0, 18.75, 37.5 and 75 mg/kg de peso corporal 24h de exposição	Teste de micronúcleo	Ratos/Eritrócitos	Não induziu a formação de células micronucleadas (não clastogênico e/ou aneugênico)	<i>Scientific Committee on Consumer Products</i> (SCCP/1165/08 . 2008)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Brown 17	3-5000 µg/poço 4-5000 µg/poço	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Mutagênico com e sem ativação metabólica	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics (2021)</i>
Basic Brown 17	Experimento 1: 8.1-97.5 µg/mL sem ativação metabólica e 16.3-198.0 µg/mL com ativação metabólica Experimento 2: 8.0-192.0 µg/mL sem ativação metabólica	Ensaio de mutação gênica (<i>tk</i> locus)	Camundongos/Células de linfoma	Não mutagênico com e sem ativação metabólica	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics (2021)</i>
Basic Brown 17	Experimento 1: 3.1-99.2 µg/mL sem ativação metabólica e 6.2-198.4 µg/mL com ativação metabólica Experimento 2: 3.1-49.6 µg/mL sem ativação metabólica 3.1-99.2 µg/mL com ativação metabólica	Ensaio de mutação gênica (<i>hprt</i> locus)	Camundongos/Células de linfoma	Não mutagênico com e sem ativação metabólica	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics (2021)</i>

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Brown 17	Experimento 1: 31.3-4100.0 µg/mL sem ativação metabólica e 128.1-2050.0 µg/mL com ativação metabólica Experimento 2: 100.0-512.2 µg/mL sem ativação metabólica e 128.1-1025.0 µg/mL com ativação metabólica	Teste de micronúcleo	Hamster chinês/Células V79	Não induziu a formação de células micronucleadas (não genotóxico)	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics</i> (2021)
Basic Brown 17	2000-8000 µg/mL em 70% etanol; pureza = 98.7%	Ensaio do Cometa	Tecido epitelial humano reconstruído	Não genotóxico	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics</i> (2021)
Basic Brown 17	62,5, 31,2, 15,6, 7,8, 3,9 e 1,9 µg/mL 4h	Teste de MTT	Hepatocarcinoma humano/Células HepG2	Diminuição da viabilidade celular em 62,5 e 31,2 µg/mL	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Brown 17	62,5, 31,2, 15,6, 7,8, 3,9 e 1,9 µg/mL 4h	Azul de Tripan	Hepatocarcinoma humano/Células HepG2	Diminuição da viabilidade celular em 62,5 e 31,2 µg/mL	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Brown 17	3.9, 7.8, or 15.6 µg/mL 4h	Ensaio do Cometa	Hepatocarcinoma humano/Células HepG2	Genotóxico	Tafurt-Cardona et al. (2015)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Brown 17	3.9, 7.8, or 15.6 µg/mL 4h	Teste de micronúcleo	Hepatocarcinoma humano/Células HepG2	Induziu a formação de micronúcleos	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Brown 17	0 and 5000 mg/kg de peso corporal em 0.9% de NaCl	Teste do micronúcleo	Camundongos (5 machos e 5 fêmeas) / Eritrócitos	Não induziu a formação de micronúcleos (não clastogênico e/ou aneugênico)	<i>Safety Assessment of Basic Brown 17 as Used in Cosmetics</i> (2021)
Sunset Yellow	<i>Allium cepa</i> : 0.4 e 4.0 mL, 24 e 48h <i>Brassica campestris</i> : 1%, 3%, e 5% 6h <i>Trigonella foenum-graecum</i> : 0.25, 0.50, 0.75 e 1% 3h	Teste de índice mitótico e aberrações cromossômicas	<i>Allium cepa</i> <i>Brassica campestris</i> <i>Trigonella foenum-graecum</i> / Células de meristema radicular	Diminuição do índice mitótico, indução de aberrações cromossômicas	Kumar; Srivastava, (2011); Gomes et al. (2013); Dwivedi e Kumar (2015)
Sunset Yellow	4 e 8 mM	Teste de micronúcleo e teste de aberrações cromossômicas	Linfócitos humanos	Potencial clastogênico: indução de células micronucleadas e aberrações cromossômicas	Haveric et al. (2018)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Sunset Yellow	0,01, 0,05, 0,10, 0,20, 0,30 g/L	High Content Analysis (HCA)	Hepatocarcinoma humano/células HepG2	Diminuição da proliferação celular, estresse oxidativo, aumento da taxa de mortalidade celular, danos ao DNA, acúmulo de lipídios	Qu et al. (2017)
Sunset Yellow	2.5 mg/kg de peso corporal	Ensaio do Cometa	Ratos/células sanguíneas	Potencial genotóxico	Khayyat et al. (2018)
Sunset Yellow	0.325, 0.65 ou 1.3 mg/kg de peso corporal Dose única 0.325 mg/kg Diariamente por 1, 2 ou 3 semanas	Teste de aberrações cromossômicas	Ratos/células de medula óssea, células somáticas e germinativas	Genotóxico: Troca de cromátides-irmãs, aberrações cromossômicas, cromossomos em anel	Sayed et al. (2012)
Sunset Yellow	Grupo 1: água Grupo 2: 5mg/kg de SY + 10mg/kg de NaB Grupo 3: 5mg/kg de SY + 100mg/kg de NaB Grupo 4: 50mg/kg de SY + 100mg/kg de NaB	Ensaio do Cometa e Teste de aberrações cromossômicas	Ratos/células sanguíneas	Genotóxico: fragmentação de DNA, quebras cromossômicas e cromatídicas	Ali et al. (2018)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Sunset Yellow	Grupo 5: 50mg/kg de SY + 10mg/kg de NaB Grupo 6: 200mg/kg de SY + 750mg/kg de NaB Grupo 7: 20mg/kg de SY + 75mg/kg de NaB	Ensaio do Cometa e Teste de aberrações cromossômicas	Ratos/células sanguíneas	Genotóxico: fragmentação de DNA, quebras cromossômicas e cromatídicas	Ali et al. (2018)
Sunset Yellow	250 µg/mL 72h	Imunofenotipagem Análise de citocinas	Ratos/esplenócitos	Efeitos imunomodulatórios: supressão de respostas de células T e B e diminuição da resposta inflamatória	Yadav et al. (2013)
Sunset Yellow	5050 e 100 µg/poço	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico e não carcinogênico	Garner e Nutman (1977)
Sunset Yellow	0,2, 0,4, 0,8 e 1,6% 80 semanas	Análise histológica	Camundongos/Pulmão, ovários, glândula harderiana, tecido mamário, baço, testículos, sistema retículo-endotelial	Não carcinogênico	Gaunt et al. (1974)
Sunset Yellow	Até 2000 mg/kg de peso corporal	Teste de micronúcleo	Ratos/células do intestino	Não genotóxico	Poul et al. (2009)
Sunset Yellow	5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 100 µg/poço sem ativação metabólica	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Chung, Fulk e Andrews (1981)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 51	10, 50, 100, 500 and 1000 mg/L 12h	Teste de crescimento radicular e massa (seca e fresca)	<i>Lactuca sativa</i>	Inibição do crescimento radicular e diminuição da massa seca e fresca	Pazin et al. (2013)
Basic Red 51	1.875, 3.75, 7.5, and 15 mg/L 96h após fertilização	Estresse oxidativo	<i>Danio rerio</i> /células de embriões	Aumento de enzimas de fase II, glutathione-S-transferase e catalase	Abe et al. (2017)
Basic Red 51	2000, 200, 20, 2, 0,2, 0,02 µg/mL	Azul de Tripán	Hepatocarcinoma humano/células HepG2	Diminuição da viabilidade celular em 2000, 200, 20 µg/mL	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Red 51	2000, 200, 20, 2, 0,2, 0,02 µg/mL	Teste do MTT	Hepatocarcinoma humano/células HepG2	Diminuição da viabilidade celular em 2000, 200, 20 µg/mL	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Red 51	0,02, 0,2 e 2 µg/mL	Ensaio do Cometa	Hepatocarcinoma humano/células HepG2	Genotóxico	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Red 51	0,02, 0,2 e 2 µg/mL	Teste do Micronúcleo	Hepatocarcinoma humano/células HepG2	Induziu a formação e micronúcleos	Tafurt-Cardona et al. (2015)
Basic Red 51	2.5, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µg/mL	Azul de Tripán	Queratinócitos humanos/células HeCaT	Citotóxico: induz morte celular de	Zanoni et al. (2014)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 51	1, 6, 18, 24 e 48 h de exposição	Azul de Tripán	Queratinócitos humanos/células HeCaT	forma dose dependente/ atraso no ciclo celular e formação de EROs	
Basic Red 51	0, 10, 13 ou 15 µg/mL 24h de exposição	Western blotting	Queratinócitos humanos/células HeCaT	Supressão da expressão do gene p21	Zanoni et al. (2014)
Basic Red 51	Sem ativação metabólica: 3,33 – 333 µg/poço Com ativação metabólica (fígado de rato): 3,33 – 500 µg/poço Com ativação metabólica (fígado de hamster): 3,33 – 500 µg/poço	Teste de mutação reversa em bactéria	<i>Salmonella typhimurium</i>	Mutagênico com ativação metabólica (S9 de hamster). Nas demais não foi mutagênico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Basic Red 51	Com e sem ativação metabólica 3.33 – 333 µg/poço	Teste de mutação reversa em bactéria	<i>Escherichia coli</i>	Não mutagênico Mutagênico na presença de ativação metabólica (S9 de hamster)	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Basic Red 51	Sem ativação metabólica: 3.33 – 200 µg/poço	Teste de mutação reversa em bactéria	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(continua)

Corante	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
Basic Red 51	Com ativação metabólica (fígado de rato): 3.33 – 333 µg/poço	Teste de mutação reversa em bactéria	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Basic Red 51	Com ativação metabólica (fígado de hamster): 10 – 500 µg/poço	Teste de mutação reversa em bactéria	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Basic Red 51	Sem ativação metabólica: 3 – 300 µg/mL Com ativação metabólica: 3 – 400 µg/mL, 3 – 150 µg/mL, 3 – 200 µg/mL	Teste de mutação gênica (<i>hprt</i> locus)	Hamster chinês/células V79	Não mutagênico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Basic Red 51	125 and 250 mg/kg de peso corporal	Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test	Ratos/hepatócitos	Não genotóxico	<i>Opinion on Basic Red 51</i> (SCCS/1332/10, 2011)
Metabólito	Concentração/Exposição	Teste	Organismo/Células	Resultado	Referência
Ácido sulfanílico	10, 50, 250, 500 µg/ensaio	SOS-cromoteste	<i>Escherichia coli</i>	Não genotóxico	Mansour et al. (2007)
1-amino-2-naftol	25 semanas	Incidência de carcinomas por exames histológicos	Bexiga de ratos	Carcinogênico: indução de tumores	Bonser et al. (1956)
Ácido 2-amino-H	0,1, 0,3, e 1,0 µmol/placa	Teste de Ames	<i>Salmonella typhimurium</i>	Não mutagênico	Prival et al. (1984)

Quadro 3 – Resumo geral de estudos da toxicidade de azocorantes e metabólitos utilizados em tinturas capilares não oxidativas
(conclusão)

Metabólito	Concentração/Exposição	Ensaio realizado	Organismo/ Células	Resultado	Referência
o-anisidina	690 mg/kg 3h e 24h	Ensaio do cometa	Ratos/células de mucosa de bexiga e cólon	Genotóxico	Sasaki et al. (1998)
o-anisidina	A substância teste foi misturada em 1 – 10 mM em em Queratinócito-SFM	Western blotting	Linhagem de células uroteliais humanas	Fosforilação da histona H2AX: indicativo de genotoxicidade	Qi et al. (2020)
o-anisidina	5,0 6,0 6,5, 7,0, 7,5 mg/mL	DEL Recombination assay	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Genotóxico: deleções e recombinações intracromossômicas	Brennan e Schiestl (1999)

Legenda: SY: Sunset Yellow; NaB: Borato de Sódio. Fonte: Elaborado pela autora (2021).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente artigo traz informações que permitem o conhecimento do potencial tóxico de azocorantes utilizados em formulações de tinturas capilares, bem como das possíveis aminas aromáticas derivadas da metabolização desses compostos. Entretanto, os estudos sobre a toxicidade destes corantes são ainda escassos e contraditórios, principalmente quanto aos efeitos de seus metabólitos. Interessantemente, estudos voltados para o tratamento químico desses produtos são vastos e abordam as mais diversas formas de remoção destes dos efluentes industriais. Esses fatores ressaltam que estudos sobre a toxicidade de azocorantes são imprescindíveis por fornecerem informações relevantes sobre o real perigo destes agentes para a saúde humana e ao meio ambiente. As informações apresentadas também podem ser muito interessantes para os estudos de tratamento de efluentes, por fornecerem dados sobre as características químicas e tóxicas desses compostos, importantes para uma maior compreensão dos perigos inerentes à presença destes no ambiente.

É também importante salientar que a exposição à azocorantes presentes em tinturas capilares, tanto por usuários do produto, quanto por profissionais de salões de beleza, pode oferecer sério risco à saúde humana, uma vez que esses compostos podem ser absorvidos e metabolizados pela pele, transportados pela corrente sanguínea, metabolizados também no fígado, e acumulados em órgãos, causando danos citogenotóxicos e carcinogênicos. Assim, o presente artigo forneceu uma melhor compreensão dos mecanismos de toxicidade dos corantes azoicos utilizados em tinturas capilares, bem como forneceu dados que possam auxiliar em tomadas de decisões voltadas à busca de maior segurança para os usuários destes produtos para profissionais da área de cosmetologia.

Um outro ponto importante a ser ressaltado neste artigo é sobre a necessidade da realização de mais estudos com tinturas capilares, para uma melhor certificação de segurança de uso desses produtos. Para isso, fica a sugestão de se realizarem estudos com linhagens de células metabolizadoras humanas, visto que esses ensaios podem trazer informações não só sobre os efeitos dos azocorantes, mas também de seus metabólitos, que muitas vezes apresentam maior toxicidade que o composto original. Uma outra sugestão é de se utilizarem linhagens de células renais e de bexiga, pois estudos já comprovaram que os efeitos desses produtos são mais efetivos nesses órgãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F. R. et al. Biochemical approaches to assess oxidative stress induced by exposure to natural and synthetic dyes in early life stages in zebrafish. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 80, n. 23–24, p. 1259–1268, 2017.

AFFAT, S. S. Classifications, advantages, disadvantages, toxicity effects of natural and synthetic dyes: a review. **University of Thi-Qar Journal of Science**, v. 8, n. 1, p. 130–135, 2021.

ALI, M. Y. et al. *In vivo* genotoxicity assessment of Sunset Yellow and Sodium Benzoate in female rats. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 5, p. 504–5013, 2018.

ARALDI, J.; GUTERRES, S. S. Tinturas capilares : existe risco de câncer relacionado à utilização desses produtos? **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 17, n. 7/9, p. 78–83, 2005.

ASHBY, J. Genetic toxicity in relation to receptor-mediated carcinogenesis. **Mutation Research**, v. 333, p. 209–213, 1995.

BAFANA, A.; DEVI, S. S.; CHAKRABARTI, T. Azo dyes: past, present and the future. **Environmental Reviews**, v. 19, p. 350–370, dez. 2011.

BOLDUC, C.; SHAPIRO, J. Hair care products: waving, straightening, conditioning, and coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 19, p. 431–436, 2001.

BONSER, G. M. et al. A further study of the carcinogenic properties of ortho hydroxy-amines and related compounds by bladder implantatin in the mouse. **British Journal of Cancer**, v. 10, n. 3, p. 539–546, 1956.

BRENNAN, R. J.; SCHIESTL, R. H. The aromatic amine carcinogens o-toluidine and o-anisidine induce free radicals and intrachromosomal recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. **Mutation Research**, v. 430, p. 37–45, 1999.

BROWN, M. A.; DE VITO, S. C. Predicting azo dye toxicity. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 249–324, jan. 1993.

BRÜSCHWEILER, B. J.; MERLOT, C. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 88, p. 214–226, 2017.

CHEN, H. Recent advances in azo dye degrading enzyme research. **Current Protein and Peptide Science**, v. 7, p. 101–111, 2006.

CHUNG, K.-T. Azo dyes and human health: a review. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 34, n. 4, p. 233–261, 2016.

CHUNG, K.-T.; STEVENS, S. E.; CERNIGLIA, C. E. The reduction of azo dyes by the intestinal microflora. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 175–170, 1992.

CHUNG, K. T.; FULK, G. E.; ANDREWS, A. W. Mutagenicity testing of some commonly used dyes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 641–648, 1981.

Code of Federal Regulations. U.S. Government Printing Office, Washington, DC (2013). 21 CFR 74.1333, 74.2333, D&C Red No. 33. Disponível em: CFR - Code of Federal Regulations Title 21 (fda.gov). Acesso em: 10.mai.2021.

CORBETT, J. F. Hair coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 93–101, jul. 1988.

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.

DRAELOS, Z. D. **Hair Care- An Illustrated Dematologic Handbook**. 1. ed. Abingdon: Taylor & Francis, 2005.

DWIVEDI, K.; KUMAR, G. Genetic damage induced by a food coloring dye (Sunset Yellow) on meristematic cells of *Brassica campestris* L. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2015, p. 1–5, 2015.

GARNER, R. C.; NUTMAN, C. A. Testing some azo dyes and their reduction products for mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 1538. **Mutation Research**, v. 44, p. 9–19, 1977.

GAUNT, I. F. et al. Long-term toxicity of Sunset Yellow FCF in mice. **Food and cosmetics toxicology**, v. 12, n. 1, p. 1–9, 1974.

GOMES, K. M. S. et al. Citotoxicity of food dyes Sunset Yellow (E-110), Bordeaux Red (E-123), and Tartrazine Yellow (E-102) on *Allium cepa* L. root meristematic cells. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 218–223, 8 mar. 2013.

GOPALAKRISHNAN, Y. et al. Removal of Basic Brown 16 from aqueous solution using durian shell adsorbent, optimisation and techno-economic analysis. **Sustainability**, v. 12, n. 21, p. 8928, 27 out. 2020.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, V. B. Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78, 2000.

GÜRSES, Ahmet et al. Dyes and pigments: their structure and properties. In: **Dyes and Pigments**. Springer, Cham, 2016. p. 13-29.

HARTINGS, M. R.. Mauvine's unfading history. **Nature Reviews Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 219-219, 2 mar. 2021.

HASSAAN, M. A.; NEMR, A. EL. Health and environmental impacts of dyes : mini review. **American Journal of Environmental Science and Engineering**, v. 1, n. 3, p. 64–67, 2017.

HAVERIĆ, A. et al. Genotoxicity and cytotoxicity analysis of Curcumin and Sunset

Yellow in human lymphocyte culture. **Cellular and Molecular Biology**, v. 64, n. 3, p. 87–91, 2018.

HUNGER, K. **Industrial dyes: chemistry, properties, applications**. Weinheim: Wiley-VCH Publishers, 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER et al. **Some aromatic amines, anthraquinones and nitroso compounds, and inorganic fluorides used in drinking-water and dental preparations**. Lyon, 1982.

JUNG, R.; STEINLE, D.; ANLIKER, R. A compilation of genotoxicity and carcinogenicity data on aromatic aminosulphonic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 30, n. 7, p. 635–660, jul. 1992.

KADOLPH, S. Natural Dyes: A Traditional Craft Experiencing New Attention. **Delta Kappa Gamma Bulletin**, v. 75, n. 1, 2008.

KHAYYAT, L. I. et al. Sunset Yellow and Allura Red modulate Bcl2 and COX2 expression levels and confer oxidative stress-mediated renal and hepatic toxicity in male rats. **PeerJ**, v. 6, p. 1–17, 28 set. 2018.

KIERNAN, J. A. Classification and naming of dyes, stains and fluorochromes. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 76, n. 5–6, p. 261–278, 2001.

KIM, K.-H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. The use of personal hair dye and its implications for human health. **Environment International**, v. 89–90, p. 222–227, abr. 2016.

KORINTH, G.; SCHALLER, K. H.; DREXLER, H. Percutaneous absorption of aromatic amines and the risk assessment resulting from the dermal pathway. **Frontiers in bioscience (Elite edition)**, n. 5, p. 928–938, 2013.

KUMAR, G.; SRIVASTAVA, N. Genotoxic effects of two commonly used food additives of Boric Acid and Sunset Yellow in root meristems of *Trigonella foenum-graecum*. **Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 8, n. 4, p. 361–366, 2011.

LIND, M. L. et al. Hairdressers' skin exposure to hair dyes during different hair dyeing tasks. **Contact Dermatitis**, v. 77, n. 5, p. 303–310, 2017.

LYE, H. M.; CHIEW, J. C.; SIDDIQUE, M. M. Cytotoxic effect of commonly used food dyes on human hepatoma cell line, HepG2. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 4, p. 1457–1463, 2018.

MANSOUR, H. BEN et al. Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of the azo dyes : Acids Yellow 17 , Violet 7 and Orange 52 , and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1670–1677, 2007.

MISAL, S. A.; GAWAI, K. R. Azoreductase : a key player of xenobiotic metabolism. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 5, n. 17, p. 1–9, 2018.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 14535, 1-Amino-2-naphthol. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Amino-2-naphthol>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 135442941, Acid orange 7. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acid-orange-7>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 19116, Azo fuchsine. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azo-fuchsine>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 117785, Basic brown 16. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Basic-brown-16>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 135515517, Basic brown 17. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Basic-brown-17>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 166491, Basic Red 51. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Basic-Red-51>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 110099, Basic red 76. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Basic-red-76>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 7000, O-Anisidine. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/O-Anisidine>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 8479, Sulfanilic acid. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfanilic-acid>>. Acesso em: 14.mai.2021.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 17730, Sunset Yellow FCF. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sunset-Yellow-FCF>>. Acesso: 14/05/2021

NOHYNEK, G. J. et al. Toxicity and human health risk of hair dyes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 517–543, abr. 2004.

NWOKONKWO, D. C. Synthesis of 2-(1,3- dihydro- 3- oxo- 2h- pyridylpyrr- 2- ylidene)- 1, 2-dihydro- 3h- pyridylpyrrol- 3- one. **Journal of Applied Chemistry**, v. 4, n. 6, p. 74–78, 2013.

OLIVEIRA, R. A. G. DE et al. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 1037–1046, 2014.

OMPRAKASH, G. B. et al. Holistic approaches to maintain healthy hairs of human being. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 3, p. 235–253, 2015.

o-anisidine. In: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER et al. Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**, v. 73, p. 131-182, 1999.

OTHMER, K. **Encyclopedia of Chemical Technology**, Vol. 7, 5th Edition. Wiley-Interscience, 2004.

PAZIN, M. et al. FTOX049 Phytotoxicity of p-phenylenediamine, Basic Red 51 and Basic Yellow 57 to *Lactuca sativa* L. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 1, p. 1-1, 2012.

POUL, M. et al. Lack of genotoxic effect of food dyes Amaranth, Sunset Yellow and Tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 2, p. 443–448, 2009.

PRASAD, O.; RASTOGI, P. B. Orange II induced cytogenetical changes in albino mice. **Experientia**, v. 38, p. 1240–1242, 1982.

PRIVAL, M. J.; BELL, S. J.; MITCHELL, V. D.; PEIPERL, M. D.; VAUGHAN, V. L. Mutagenicity of benzidine and benzidine-congener dyes and selected monoazo dyes in a modified *Salmonella* assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 136, n. 1, p. 33–47, abr. 1984.

PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 44, n. August, p. 618–626, 2006.

QI, Y. et al. Comparative γ -H2AX analysis for assessment of the genotoxicity of six aromatic amines implicated in bladder cancer in human urothelial cell line. **Toxicology in Vitro**, v. 66, n. April, p. 104880, 2020.

QU, D. et al. High Content Analysis technology for evaluating the joint toxicity of sunset yellow and sodium sulfite *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 233, p. 135–143, 2017.

RAFII, F.; CERNIGLIA, C. E. Reduction of azo dyes and nitroaromatic compounds by bacterial enzymes from the human intestinal tract. **Environmental Health Perspectives**, n. 7, p. 17–19, 1995.

RAFII, F.; HALL, J. D.; CERNIGLIA, C. E. Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by clostridium species from the human intestinal tract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, n. 9, p. 897–901, 1997.

RAMAZANOVA, G. R.; TIKHOMIROVA, T. I.; APYARI, V. V. Adsorption of Sunset Yellow FCF food dye from aqueous solutions and its determination by diffuse reflectance spectroscopy. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 6, p. 685–690, 2015.

RAMCHANDANI, S.; DAS, M.; KHANNA, S. K. Lipid peroxidation of ultrastructural components of rat liver induced by Metanil Yellow and Orange II: comparison with blend. **Toxicology and Industrial Health**, v. 8, n. 1–2, p. 63–75, 1 jan. 1992.

RAMCHANDANI, S.; DAS, M.; KHANNA, S. K. Effect of Metanil Yellow, Orange II and their blend on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, n. 6, p. 559–563, jun. 1994.

RAMAZANOVA, G. R.; TIKHOMIROVA, T. I.; APYARI, V. V. Adsorption of Sunset Yellow FCF Food Dye from Aqueous Solutions and Its Determination by Diffuse Reflectance Spectroscopy. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 6, p. 685–690, 2015.

SABNIS, R.W. Orange II. Em: **Handbook of Acid–base Indicators**. CRC Press, USA, p. 284, 2008.

Safety Assessment of Basic Brown 16 Used in Cosmetics. Disponível em: Basic Brown 17_0.pdf (cir-safety.org). Acesso em: 15.mai.2021.

Safety Assessment of Basic Red 76 as Used in Cosmetics. Disponível em: Basic Red 76.pdf (cir-safety.org). Acessado em: 14.mai.2021.

SASAKI, Y. F. et al. Organ-specific genotoxicity of the potent rodent bladder carcinogens o-anisidine and p-cresidine. **Mutation Research**, v. 412, p. 155–160, 1998.

SAYED, H. M. et al. The modifying effect of selenium and vitamins A , C , and E on the genotoxicity induced by Sunset Yellow in male mice. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 744, n. 2, p. 145–153, 2012.

SCCP (Scientific Committee on Consumer Products), Opinion on Basic Brown 16, 30 September 2008. Disponível em: <https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_142.pdf>. Acessado em: 14.mai.2021.

SCCP (Scientific Committee on Consumer Products), Opinion on Basic Red 51, 22 March 2011. Disponível em: Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety on Basic Red 51 (B116) (europa.eu). Acessado em: 17.mai.2021.

SCCS/1436/11, 2011. Opinion of the Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) opinion on Basic Red 51. Colipa nº B116. Disponível em:< https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_067.pdf>. Acesso em: 16.mai.2021.

SCHWULST, S. J.; MUENZER, J. T.; CHANG, K. C.; BRAHMBHATT, T. S.; COOPERSMITH, C. M.; HOTCHKISS, R. S. Lymphocyte Phenotyping to Distinguish Septic from Nonseptic Critical Illness. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 206, n. 2, p. 335–342, 2008.

Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Opinion on Basic Brown 17 (COLIPA no. B007). 2014. SCCS/1531/14. Disponível em: <https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_152.pdf>. Acesso em: 16.mai.2021.

SINGH, G.B., KHANNA, S.K. Toxicity of in rats fed orange II. Ind. **J. Exp. Biol.** 17, 1100–1102, 1979.

Some aromatic amines, anthraquinones and nitroso compounds, and inorganic fluorides used in drinking-water and dental preparations. In: **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans**. Apr; 27:1-341. PMID: 6955259., 1982.

TAFURT-CARDONA, Y. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of two hair dyes used in the formulation of black color. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 9–15, dez. 2015.

UMBUZEIRO, G. D. A. et al. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. **Chemosphere**, v. 60, n. 1, p. 55–64, 2005.

U.S. Food and Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN). Voluntary Cosmetic Registration Program - Frequency of Use of Cosmetic Ingredients. College Park, MD: 2019. Obtained under the Freedom of Information Act from CFSAN; requested as "Frequency of Use Data" January 3, 2019; received February 13, 2019).

US Food and Drug Administration (FDA) Center for Food Safety & Applied Nutrition (CFSAN). 2021. Voluntary Cosmetic Registration Program (VCRP) - Frequency of Use of Cosmetic Ingredients. College Park, MD.

VENTURA-CAMARGO, B. DE C.; DE ANGELIS, D. DE F.; MARIN-MORALES, M. A. Assessment of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of the commercial black dye in *Allium cepa* cells before and after bacterial biodegradation treatment. **Chemosphere**, v. 161, p. 325–332, out. 2016.

WEISBURGER, J. H. Comments on the history and importance of aromatic and

heterocyclic amines in public health. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 506, p. 9-20, 2002.

WEVER, J.; MÜNZNER, R.; RENNER, H. W. Testing of Sunset Yellow and Orange II for genotoxicity in different laboratory animal species. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 13, n. 3, p. 271–276, 1989.

WOLFREYS, A. M.; BASKETTER, D. A. Mutagens and sensitizers - An unequal relationship? **Journal of Toxicology - Cutaneous and Ocular Toxicology**, v. 23, n. 3, p. 197–205, 2004.

YADAV, A. et al. *In vitro* studies on immunotoxic potential of Orange II in splenocytes. **Toxicology Letters**, v. 208, n. 3, p. 239–245, 2012.

YADAV, A. et al. Sunset Yellow FCF , a permitted food dye , alters functional responses of splenocytes at non-cytotoxic dose. **Toxicology Letters**, v. 217, n. 3, p. 197–204, 2013.

ZANONI, M. V. B.; YAMANAKA, H. **Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. 1. ed. São Paulo-SP: Editora Cultura Acadêmica, 2016.

ZANONI, T. B. et al. Basic Red 51 , a permitted semi-permanent hair dye , is cytotoxic to human skin cells: Studies in monolayer and 3D skin model using human keratinocytes (HaCaT). **Toxicology Letters**, v. 227, n. 2, p. 139–149, 2014.

ZEILMAKER, M. J. et al. Cancer risk assessment of azo dyes and aromatic amines from garment and footwear. 1999.

ZOLLINGER, H. **Color chemistry: syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments**. 2.ed. New York: V.C.H, 1991.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que as tinturas capilares são usadas por milhões de pessoas tanto homens, quanto mulheres, portanto são amplamente popularizadas em seu uso; que existem inúmeros produtos e técnicas disponíveis para serem utilizadas para alterar a cor dos cabelos; que as tinturas capilares apresentam uma grande variabilidade de cor, conferida por diferentes elementos químicos, muitos deles reconhecidamente tóxicos e que muitas vezes requerem o uso de produtos adicionais que conferem uma melhor fixação da cor aos cabelos; e a possibilidade de produção de novos compostos derivados da metabolização das tinturas, muitas vezes mais tóxicos que o próprio produto original, existe, atualmente, uma necessidade preeminente de se conhecer melhor os efeitos desses produtos, uma vez que o homem pode se expor a eles tanto de forma direta (aplicação das tinturas nos cabelos) ou indireta (contato ou consumo de organismos expostos a ambientes contaminados com resíduos de tinturas).

As tinturas capilares podem atravessar a barreira epitelial e se acumular em diversos órgãos, causando alterações moleculares, celulares e sistêmicas. Além disso, os componentes das tinturas, bem como os produtos derivados da sua metabolização, já foram encontrados em efluentes de salões de beleza, de indústrias e, conseqüentemente, em recursos hídricos. Assim, esses compostos podem afetar a biota aquática exposta e também atingir corpos d'água utilizados em abastecimento público, caracterizando-se em uma segunda via de contaminação para humanos.

Pelos dados de fitotoxicidade e citogenotoxicidade de tinturas capilares permanentes obtidos no presente estudo, foi possível observar que tinturas capilares, como as de coloração castanho médio, podem alterar a fisiologia celular, inibindo seus índices de divisão. Tais dados alertam para possível comprometimento no desenvolvimento de organismos expostos a esses compostos e também para a saúde humana, como diminuição na eficiência de reposição normal de células ou de regeneração de tecidos.

Os resultados dos ensaios de citogenotoxicidade mostraram que as tinturas e/ou seus subprodutos podem induzir aberrações cromossômicas e nucleares, denotando assim o seu potencial genotóxico e mutagênico. Esses dados corroboram estudos que atribuem a esses compostos um potencial carcinogênico, causando principalmente cânceres de fígado, de pele e de bexiga.

A toxicidade das tinturas pode estar associada aos seus componentes, como os azocorantes utilizados em tinturas capilares temporárias e semipermanentes. A literatura científica traz importantes artigos que abordam os aspectos toxicológicos de corantes azo, dados estes que enfatizam toda a preocupação quanto à utilização e exposição humana a esses produtos. O alerta ainda se estende aos possíveis comprometimentos ambientais e, conseqüentemente, seus efeitos sobre a biota eventualmente exposta.

Diante dos dados e fatos apresentados, reforça-se a importância e necessidade de serem realizados mais estudos que abordem aspectos toxicológicos de tinturas capilares, de seus componentes isolados e de seus produtos de reação e metabólitos. Esses estudos poderão orientar melhor a população sobre a utilização desses produtos, bem como embasar a adoção de políticas ambientais, para assegurar um descarte mais adequado e responsável dos resíduos gerados pela indústria e pelas atividades humanas, visando uma melhor qualidade de vida e segurança ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, H. A. M.; GOHER, A. S.; ALZUBAIDI, A. A. A. M. Risk assessment of heavy metals content in different hair dyes and their users' urine samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 101, n. 8, p. 1116-1125, 2021.

ALTENBURGER, R. et al. Future water quality monitoring – adapting tools to deal with mixtures of pollutants in water resource management. **The Science of the total environment**, v. 512–513, p. 540–551, 15 abr. 2015.

ANDARINI, D.; CAMELIA, A.; LISTIANTI, A. N. Occupational respiratory symptoms caused by chemical hazard on hairdresser workers in Palembang. **KEMAS: Jurnal Kesehatan Masyarakat**, v. 15, n. 1, p. 6-14, 2019.

ANDRADE, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C. Cytogenetic alterations induced by SPL (spent potliners) in meristematic cells of plant bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 3, p. 706–710, nov. 2008.

ANDRADE-VIEIRA, L. F. et al. Spent Pot Liner (SPL) induced DNA damage and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* as a consequence of programmed cell death. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 4, p. 882–888, maio 2011.

ANDRADE-VIEIRA, L. F.; DE CAMPOS, J. M. S.; DAVIDE, L. C. Effects of Spent Pot Liner on mitotic activity and nuclear DNA content in meristematic cells of *Allium cepa*. **Journal of Environmental Management**, v. 107, p. 140–146, 2012.

ANDRADE-VIEIRA, L. F. et al. Effects of *Jatropha curcas* oil in *Lactuca sativa* root tip bioassays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 373–382, mar. 2014.

ANDRADE-VIEIRA, L. F.; PALMIERI, M. J.; DAVIDE, L. C. Effects of long exposure to spent potliner on seeds, root tips, and meristematic cells of *Allium cepa* L. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 10, p. 489, 7 out. 2017.

ARALDI, J.; GUTERRES, S. S. Tinturas capilares : existe risco de câncer relacionado à utilização desses produtos? **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 17, n. 7/9, p. 78–83, 2005.

BABICH, H.; SEGALL, M. A.; FOX, K. D. *Allium* test eukaryote genotoxicity assay. **The American Biology Teacher**, v. 59, n. 9, p. 580–583, 1997.

BADERNA, D. et al. A combined approach to investigate the toxicity of an industrial landfill's leachate: Chemical analyses, risk assessment and *in vitro* assays. **Environmental Research**, v. 111, n. 4, p. 603–613, maio 2011.

BAFANA, A.; DEVI, S. S.; CHAKRABARTI, T. Azo dyes: past, present and the future. **Environmental Reviews**, v. 19, p. 350–370, dez. 2011.

BILAL, M.; MEHMOOD, S.; IQBAL, H. M. N. The beast of beauty: Environmental and health concerns of toxic components in cosmetics. **Cosmetics**, v. 7, n. 1, p. 1–18,

2020.

BLAISE, C.; GAGNÉ, F. Bioassays and biomarkers, two pillars of ecotoxicology: Past, present and prospective uses. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 18, n. 2, p. 135–139, 2009.

BOLT, H. M.; GOLKA, K. The debate on carcinogenicity of permanent hair dyes: new insights. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 37, n. 6, p. 521–536, 10 jan. 2007.

BOSCH-OREA, C.; FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Biosensors and bioassays for environmental monitoring. **Past, present and future challenges of biosensors and bioanalytical tools in analytical chemistry: A tribute to Professor Marco Mascini, Comprehens. Anal. Chem**, v. 77, p. 337–373, 2017.

BRACHER, M. et al. Studies on the potential mutagenicity of p-phenylenediamine in oxidative hair dye mixtures. **Mutation Research**, v. 241, p. 313–323, 1990.

BRÜSCHWEILER, B. J.; MERLOT, C. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 88, p. 214–226, 2017.

CAMPAGNA-FERNANDES, A. F.; MARIN, E. B.; PENHA, T. H. F. L. Application of root growth endpoint in toxicity tests with lettuce (*Lactuca sativa*). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 11, n. 1, p. 27–32, 12 ago. 2016.

CAMPOS, J. M. S. et al. Mutagenic effects due to allelopathic action of fern (Gleicheniaceae) extracts. **Allelopathy Journal**, v. 22, n. 1, p. 143–151, 2008.

CHARLES, J. et al. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 7, p. 2057–2064, out. 2011.

CHEN, H. Recent advances in azo dye degrading enzyme research. **Current Protein and Peptide Science**, v. 7, p. 101–111, 2006.

CHUNG, K.-T.; STEVENS, S. E.; CERNIGLIA, C. E. The reduction of azo dyes by the intestinal microflora. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 175–170, 1992.

CHUNG, K.-T. Azo dyes and human health: a review. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 34, n. 4, p. 233–261, 2016.

CLOFENT, D. et al. Sudan red dye: a new agent causing type-2 occupational asthma. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 16, n. 1, p. 1–3, 2020.

CORBETT, J. F. Hair coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 6, n. 3, p. 93–101, jul. 1988.

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.

DA FRANÇA, S. et al. Types of hair dye and their mechanisms of action. **Cosmetics**, v. 2, n. 2, p. 110–126, 22 abr. 2015.

DRAELOS, Z. D. **Hair Care- An Illustrated Dermatologic Handbook**. 1. ed. Abingdon: Taylor & Francis, 2005.

EBERLE, C. E. et al. Hair dye and chemical straightener use and breast cancer risk in a large US population of black and white women. **International Journal of Cancer**, v. 147, n. 2, p. 383–391, 2020.

EGGEN, R. I. L.; SUTER, M. J. F. Analytical chemistry and ecotoxicology - Tasks, needs and trends. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 70, n. 9, p. 724–726, 2007.

EL-GHAMERY, A. A.; EL-KHOLY, M. A.; ABOU EL-YOUSER, M. A. Evaluation of cytological effects of Zn^{2+} in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 537, n. 1, p. 29–41, 2003.

FENECH, M. The *in vitro* micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, n. 1–2, p. 81–95, nov. 2000.

FENECH, M.; CROTT, J. W. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes—evidence for breakage–fusion–bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 504, n. 1–2, p. 131–136, jul. 2002.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252–259, jul. 2007.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent—Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 6, p. 1680–1686, set. 2009.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99–112, 7 nov. 1985.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 197, n. 2, p. 243–260, fev. 1988.

FREITAS, A. S. et al. Effect of SPL (Spent Pot Liner) and its main components on root growth, mitotic activity and phosphorylation of Histone H3 in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 124, p. 426–434, fev. 2016.

GAGO-DOMINGUEZ, M. et al. Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk. **International Journal of Cancer**, v. 91, p. 575–579, 15 dez. 2001.

GAGO-DOMINGUEZ, M. et al. Permanent hair dyes and bladder cancer: Risk modification by cytochrome P4501A2 and N-acetyltransferases 1 and 2. **Carcinogenesis**, v. 24, n. 3, p. 483–489, 2003.

GERA, R. et al. Does the use of hair dyes increase the risk of developing breast cancer? A meta-analysis and review of the literature. **Anticancer Research**, v. 38, n. 2, p. 707–716, 20 jan. 2018.

Global Hair Color Market Analysis - Edition 2021. Disponível em : <goldsteinresearch.com>. Acesso em: 09/03/2021.

GONÇALVES, M. M. C. et al. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of composted tannery sludge. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 27, p. 34495–34502, 17 set. 2020.

GraphPad Prism version 8.0.0 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com”.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 310, n. 2, p. 175–185, out. 1994.

GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 426, n. 2, p. 107–112, 1999.

GUO, H. et al. Polymorphisms in DNA repair genes, hair dye use, and the risk of non-Hodgkin lymphoma. **Cancer Causes & Control**, v. 25, n. 10, p. 1261–1270, 2 out. 2014.

HANUMANTHAYYA, K. et al. Hair Coloring – Hair Dyeing. **RGUHS J Med Sciences**, v. 8, n. 1, p. 13–17, 2018.

HAYASHI, M. The micronucleus test—most widely used *in vivo* genotoxicity test—. **Genes and Environment**, v. 38, n. 1, p. 18, 1 dez. 2016.

HE, J. et al. A highly sensitive perovskite oxide sensor for detection of p-phenylenediamine in hair dyes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 369, n. February, p. 699–706, maio 2019.

HEDBERG, Y. S. et al. Non-oxidative hair dye products on the European market: What do they contain? **Contact Dermatitis**, v. 79, n. 5, p. 281–287, nov. 2018.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. Tinturas para cabelo. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/tintura_cabelo.asp2013>. Acesso em: 05 out. 2021.

ITO, S.; WAKAMATSU, K. Diversity of human hair pigmentation as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 25, n. 12, p. 1369–1380, dez. 2011.

ISO, 1995. Soil quality—determination of the effects of pollutants on soil flora. Part 2: Effects of chemicals on the emergence of higher plants. International Organization for Standardization, Geneve, Switzerland.

KIM, K.-H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. The use of personal hair dye and its implications for human health. **Environment International**, v. 89–90, p. 222–227, abr. 2016.

KOCH, S. L. et al. The biology of human hair: a multidisciplinary review. **American Journal of Human Biology**, v. 32, n. 2, p. 1–17, 3 mar. 2020.

LEME, D. M.; ANGELIS, D. DE F. DE; MARIN-MORALES, M. A. Action mechanisms of petroleum hydrocarbons present in waters impacted by an oil spill on the genetic material of *Allium cepa* root cells. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 214–219, jul. 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71–81, jul. 2009.

LETAŠIOVÁ, S. et al. Bladder cancer, a review of the environmental risk factors. **Environmental Health**, v. 11, n. Suppl 1, p. S11, 2012.

LIU, R.; ZHANG, H.; LAL, R. Effects of stabilized nanoparticles of copper, zinc, manganese, and iron oxides in low concentrations on lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination: nanotoxicants or nanonutrients? **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 1, p. 42, 6 jan. 2016.

LOPES, P. R. M. **Biorremediação de solo contaminado com óleo lubrificante pela aplicação de diferentes soluções de surfactante químico e biosurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* LBI**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp). Rio Claro-SP. 185 p., 2015.

LOUSSOUARN, G. et al. Diversity in human hair growth, diameter, colour and shape. An *in vivo* study on young adults from 24 different ethnic groups observed in the five continents. **European Journal of Dermatology**, v. 26, n. 2, p. 144–154, mar. 2016.

LOZANO, I. et al. The diversity of the human hair colour assessed by visual scales and instrumental measurements. A worldwide survey. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 39, n. 1, p. 101–107, 14 fev. 2017.

LYU, J. et al. Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 149, n. December 2017, p. 225–232, mar. 2018.

MADNANI, N.; KHAN, K. Hair cosmetics. **Indian Journal of Dermatology**,

Venereology, and Leprology, v. 79, n. 5, p. 654, 2013.

MAITI, S. et al. Analysis of cytotoxicity and genotoxicity on *E. coli*, human blood cells and *Allium cepa* suggests a greater toxic potential of hair dye. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 124, p. 248–254, fev. 2016.

MAURO, M. O. et al. Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. **Genetics and Molecular Research**. Ribeirão Preto, p. 4808-4819, 2014.

MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity evaluation of environmental pollutants using analysis of nucleolar alterations. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 9796–9806, 3 jul. 2015.

METTRIE, R. DE LA. et al. Shape variability and classification of human hair: a worldwide approach. **Human Biology**, v. 79, n. 3, p. 265–281, 2007.

MUKKANNA, K. S.; STONE, N. M.; INGRAM, J. R. Para-phenylenediamine allergy: current perspectives on diagnosis and management. **Journal of Asthma and Allergy**, v. Volume10, p. 9–15, jan. 2017.

NOHYNEK, G. J. et al. Toxicity and human health risk of hair dyes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 517–543, abr. 2004.

OLIVEIRA, R. A. G. DE et al. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 6, p. 1037–1046, 2014.

PALMIERI, M. J. et al. Cytogenotoxic effects of spent pot liner (SPL) and its main components on human leukocytes and meristematic cells of *Allium cepa*. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, n. 5, 2016.

PARK, H. et al. Skin irritation and sensitization potential of oxidative hair dye substances evaluated with *in vitro*, *in chemico* and *in silico* test methods. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, n. September, p. 360–366, nov. 2018.

PATEL, D.; NARAYANA, S.; KRISHNASWAMY, B. Trends in use of hair dye: a cross-sectional study. **International Journal of Trichology**, v. 5, n. 3, p. 140, 2013.

PEDRAZZANI, R. et al. The role of bioassays in the evaluation of ecotoxicological aspects within the PEF/OEF protocols: The case of WWTPs. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 147, n. October 2017, p. 742–748, jan. 2018.

PUVANESWARI, N.; MUTHUKRISHNAN, J.; GUNASEKARAN, P. Toxicity assessment and microbial degradation of azo dyes. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 44, n. August, p. 618–626, 2006.

QIN, M. et al. Application of the *in vivo* Pig-a gene mutation assay to test the potential genotoxicity of p-phenylenediamine. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, n. October 2018, p. 424–430, jan. 2019.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RAFII, F.; CERNIGLIA, C. E. Reduction of azo dyes and nitroaromatic compounds by bacterial enzymes from the human intestinal Tract. **Environmental Health Perspectives**, n. 7, p. 17–19, 1995.

RANDALL, V. A.; BOTCHKAREVA, Natalia V. The biology of hair growth. **Cosmetics Applications of Laser & Light-Based Systems**, p. 3-35, 2009.

REIS, G. B. et al. Reliability of plant root comet assay in comparison with human leukocyte comet assay for assessment environmental genotoxic agents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, n. April, p. 110–116, ago. 2017.

SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Lead toxicity in plants. **Brazilian journal of plant physiology**, v. 17, n. 1, p. 35–52, 2005.

SILVEIRA, G. L. et al. Toxic effects of environmental pollutants: comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359–367, jul. 2017.

SUMNER, A. T. **Chromosomes Organization and Function**. North Berwick, Reino Unido Blackwell Publishing Ltd, , 2003.

TAFURT-CARDONA, Y. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of two hair dyes used in the formulation of black color. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 9–15, 2015.

TAN, D. et al. Rhodamine B induces long nucleoplasmic bridges and other nuclear anomalies in *Allium cepa* root tip cells. **Environ Sci Pollut Res** 21: 3363–3370, 2014.

TRÜEB, R. M.; LEE, W.-S. Hair care and cosmetics. In: **Male Alopecia**. Cham: Springer International Publishing, 2014a. p. 239–261.

UMBUZEIRO, G. D. A. et al. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. **Chemosphere**, v. 60, n. 1, p. 55–64, 2005.

UNITED STATES ENVIRONMENT PROTECTION AGENCY (EPA), 712-C-96-154. OPTPS850.4200. 1996. Ecological effects test guidelines. Seed germination/ Root elongation toxicity test. Public Draft, USA.

UTER, W.; LEPOITTEVIN, J.-P.; LIDÉN, C. Hair Dyes. **Contact Dermatitis**, p. 1–13, 2019.

VENKATESAN, G. et al. Development of novel alternative hair dyes to hazardous para-phenylenediamine. **Journal of Hazardous Materials**, v. 402, n. August 2020, p. 123712, 2021.

VENTURA-CAMARGO, B. D. C.; MARIN-MORALES, M. A. Azo dyes: characterization and toxicity – a review. **Textiles and Light Industrial Science and Technology**, v. 2,

n. 2, p. 85–103, 2013.

VENTURA-CAMARGO, B. C.; DE ANGELIS, D. F.; MARIN-MORALES, M. A. Assessment of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of the commercial black dye in *Allium cepa* cells before and after bacterial biodegradation treatment. **Chemosphere**, v. 161, p. 325-332, 2016.

VERMA, A.; SINGH, V. K. Human hair: a biodegradable composite fiber—a review. **International Journal of Waste Resources**, v. 6, n. 2, 2016.

VIEIRA, A. F. C.; SILVEIRA, G. L. Cyto(geno)toxic endpoints assessed via cell cycle bioassays in plant models. **Cytotoxicity. London: Intech Open**, p. 117-129, 2018.

WANG, C. et al. The allelopathic effects of invasive plant *Solidago canadensis* on seed germination and growth of *Lactuca sativa* enhanced by different types of acid deposition. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 3, p. 555–562, 29 abr. 2016.

XU, S. et al. Hair chemicals may increase breast cancer risk: a meta-analysis of 210319 subjects from 14 studies. **PLOS ONE**, v. 16, n. 2, p. 1–17, 2021.

YANIK, F.; VARDAR, F. Toxic effects of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles on root growth and development in *Triticum aestivum*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, n. 9, p. 296, 13 set. 2015.

YU, M. C. et al. Arylamine exposures and bladder cancer risk. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 506–507, p. 21–28, set. 2002.

ZANONI, T. B. et al. Basic Red 51, a permitted semi-permanent hair dye, is cytotoxic to human skin cells: studies in monolayer and 3D skin model using human keratinocytes (HaCaT). **Toxicology Letters**, v. 227, n. 2, p. 139–149, 5 jun. 2014.

ZANONI, T. B. et al. 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, n. 3, p. 194–204, dez. 2015.

ZANONI, T. B. et al. Allergens of permanent hair dyes induces epidermal damage, skin barrier loss and IL-1 α increase in epidermal *in vitro* model. **Food and Chemical Toxicology**, v. 112, n. September 2017, p. 265–272, fev. 2018.

ZHANG, Y. et al. Personal use of permanent hair dyes and cancer risk and mortality in US women: prospective cohort study. **BMJ**, v. 370, p. m2942, 2 set. 2020.