

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA COLORAÇÃO
CAPILAR A BASE DE EXTRATO DO FRUTO *Genipa americana* L.**

ANDRÉA VASCONCELOS MACHADO

Aracaju
Janeiro – 2019

UNIVERSIDADE TIRADENTES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA COLORAÇÃO
CAPILAR A BASE DE EXTRATO DO FRUTO *Genipa americana* L.**

Tese de doutorado submetida à banca
examinadora para a obtenção do título de
Doutora em Saúde e Ambiente, na área de
concentração Biodiversidade e Saúde.

ANDRÉA VASCONCELOS MACHADO

Orientadores:

Prof^a. Dr^a. Juliana Cordeiro Cardoso

Prof^a. Dr^a. Francine Ferreira Padilha

Aracaju

Janeiro – 2019

Machado, Andréa Vasconcelos

Desenvolvimento e caracterização de uma coloração capilar a base de extrato do fruto *Genipa americana* L. / Andréa Vasconcelos Machado; Orientação [de] Profª. Drª. Juliana Cordeiro Cardoso, Profª. Drª. Francine Ferreira Padilha. – Aracaju: UNIT, 2018. 185 p.; il.

Tese (Doutorado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes, 2018.

Inclui bibliografia.

1. *Genipa*. 2. Cabelo. 3. Coloração. I. Cardoso, Juliana Cordeiro. (orient.). II. Padilha, Francine Ferreira. (orient.) III. Universidade Tiradentes. IV. Título
-

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA COLORAÇÃO CAPILAR A
BASE DE EXTRATO DO FRUTO *Genipa americana* L.**

Andréa Vasconcelos Machado

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA À BANCA EXAMINADORA PARA A OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE DOUTORA EM SAÚDE E AMBIENTE, NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
BIODIVERSIDADE E SAÚDE.

Aprovada por:

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Juliana Cordeiro Cardoso

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Francine Ferreira Padilha

Prof^a. Dr^a. Maria Nogueira Marques
Universidade Tiradentes

Prof^a. Dr^a. Margarete Zanardo Gomes
Universidade Tiradentes

Universidade Tiradentes

Prof^a. Dr^a. Patrícia Severino

Prof^a. Dr^a. Juliana Faccin de Conto Borges
Instituto de Tecnologia e Pesquisa

Universidade Tiradentes (Suplente)

Prof. Dr. Álvaro Silva Lima

Prof^a. Dr^a. Edna Aragão Farias Cândido
Universidade Tiradentes (Suplente)

Aracaju

Janeiro – 2019

Dedico esta tese aos meus alunos,
para que busquem na ciência a resposta
dos seus questionamentos profissionais.

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

Carl Jung

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão...

A Deus por ser tão generoso comigo, presenteando-me através do Seu amor, a ter uma vida maravilhosa, sempre iluminada.

Aos meus pais Marcos e Vânia e Marieta, irmã por todo apoio, auxílio e ajuda necessários para trilhar o meu caminho.

Ao meu querido esposo Carlos Waldemar por toda cumplicidade e apoio, incentivando-me a ir adiante em busca dos meus sonhos, mesmo sabendo que precisaria estar ausente para alcançá-los.

Ao meu filho querido Carlos Neto, por sempre me proporcionar grandes alegrias. Mesmo não tendo mais a convivência física diária, carrego você no meu coração.

A minha orientadora, Prof^a Juliana Cordeiro Cardoso, pois sem ela esta fase da minha carreira profissional e acadêmica jamais teria se iniciado. Seu amor e dedicação pelo ensino e pela pesquisa são inspiradores. Dedico minha admiração e respeito.

A minha segunda orientadora, Prof^a Francine Padilha, que sempre foi extremamente solícita nos momentos em que precisei.

Aos membros das bancas de seminários e qualificação pela colaboração na correção e nas valiosas sugestões.

A todos os docentes do Programa em Saúde e Ambiente com os quais aprimorei minha formação científica e acadêmica.

A todos os meus familiares e amigos que me motivaram carinhosamente com suas mensagens e palavras de incentivo.

Aos colegas docentes e equipe técnico administrativo do curso de Estética e Cosmética por todo apoio.

Aos meus alunos de iniciação científica, especialmente, Lúcia, Luana, Allef fundamentais no processo experimental da tese, compartilhamos muitas experiências.

Aos funcionários, professores e alunos da Universidade Tiradentes com quem trabalho, ensino e principalmente, aprendo muito.

Ao ITP, NUESC e Universidade Tiradentes que me proporcionaram a oportunidade de desenvolver a tese com todo suporte técnico, enriquecendo meu conhecimento.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vii
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATÓES	xvii
RESUMO	18
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
OBJETIVOS	21
Objetivo geral	21
Objetivos específicos	21
CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA	22
2.1 Cabelo	22
2.2 Estrutura morfológica do cabelo	24
2.3 Componentes químicos do cabelo	26
2.4 Pigmentação do cabelo	29
2.5 Estratégias estéticas para coloração capilar	33
2.6 Tinturas	33
2.7 Agentes naturais de coloração	36
2.7.1 Hena	36
2.7.2. Jenipapo	37
2.8 Segurança dos produtos capilares	40
2.9 Avaliação das características físicas e químicas do cabelo	42
2.9.1 Cor do cabelo	42

2.9.2 Propriedades mecânicas do cabelo	43
2.9.3 Análise térmica das fibras capilares	45
2. 10 Avaliação morfológica da fibra capilar	46
2.10.1 Microscopia de força atômica (AFM)	46
2.10.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	46
3 REFERÊNCIAS	47
CAPÍTULO 2: EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS IRIDÓIDES COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DA <i>GENIPA AMERICANA</i> L.	56
RESUMO	57
ABSTRACT	57
1 INTRODUÇÃO	58
2 MATERIAL E MÉTODO	59
2.1 Material botânico	59
2.2 Extração	60
2.3 Caracterização química por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD-MS)	60
2.4 Avaliação antioxidante pelo método DPPH	61
2.5 Análise estatística	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4 CONCLUSÃO	68
5 REFERÊNCIAS	69
CAPÍTULO 3: ANÁLISE ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DO CABELO VIRGEM BRANCO E PRETO	72
RESUMO	73
ABSTRACT	73
1 INTRODUÇÃO	74

2 MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1 Padronização das amostras de cabelo	75
2.2 Determinação dos diâmetros dos fios	76
2.3 Propriedades mecânicas	76
2.4 Microscopia de força atômica (AFM)	76
2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	76
2.6 Análise Térmica	77
2.7 Espectroscopia de refletância total atenuada na região do infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR)	77
2.8 Análise estatística	77
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
4 CONCLUSÃO	90
5 REFERÊNCIAS	90
CAPÍTULO 4: MODIFICAÇÃO DA COR DO CABELO UTILIZANDO <i>GENIPA AMERICANA</i> L.: UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA COLORAÇÃO CAPILAR	92
RESUMO	93
ABSTRACT	93
1 INTRODUÇÃO	94
2 MATERIAIS E MÉTODOS	96
2.1 Extrato da <i>Genipa americana</i> L.	96
2.2 Coleta e preparo dos fios de cabelo	97
2.3 Coloração de cabelo	97
2.4 Caracterização da cor do cabelo	97
2.4.1 Influência da lavagem na cor do cabelo após tratamento	98
2.5 Propriedades mecânicas do fio após tratamento	99
2.6 Microscopia de força atômica (AFM)	99

2.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	99
2.8 Espectroscopia de refletância total atenuada na região do infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR)	100
2.9 Análise estatísticas	100
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
3.1 Caracterização do cabelo após reação com o extrato	100
3.2 Propriedades mecânicas do cabelo preto e do cabelo branco sem e com tratamento	98
3.3 Microscopia de força atômica / AFM	117
3.4 Microscopia eletrônica de varredura - MEV	118
3.5 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	128
4 CONCLUSÃO GERAL	131
5 PERSPECTIVAS FUTURAS	132
6 REFERÊNCIAS	133
CAPÍTULO 5: PATENTE: OBTENÇÃO DE EXTRATO CONTENDO IRIDÓIDES E PROCESSO PARA COLORAÇÃO CAPILAR	138

LISTA DE TABELAS

CAPITULO III

Tabela 1. Resultados de TG/DTG (temperatura de maior velocidade de perda de massa – T_{pico} - e o respectivo percentual perdido) de amostras de cabelo branco e preto em cada etapa das curvas termoanalíticas. (razão de aquecimento 5°C/min). 70

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da reação de termodecomposição dos cabelos brancos e pretos pelo modelo Ozawa. 70

CAPITULO IV

Tabela 1. Parâmetros para análise da cor. 82

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Ilustração de um folículo piloso.	07
Figura 2. Desenho esquemático da estrutura hierárquica em uma fibra de cabelo humano.	09
Figura 3. Estrutura da α -queratina.	11
Figura 4. Células-tronco de melanócitos e sua progênie durante o ciclo do cabelo.	14
Figura 5. Esquema representativo da biossíntese de melanina.	15
Figura 6. Estruturas químicas propostas para as melaninas presentes no cabelo (A) eumelanina e (B) feomelanina.	16
Figura 7: (A) Fruto do jenipapo; (B) fórmula estrutural da genipina; (C) fórmula estrutural do geniposídeo.	23
Figura 8. Possibilidades de reações entre a genipina e grupos amina.	24

CAPITULO II

Figura 1. Principais iridóides encontrados no fruto da <i>Genipa americana</i> L.: (A) genipina e (B) geniposídeo.	42
Figura 2. Variáveis de rendimento com soluções de metanol e metanol:água nos métodos (A) Maceração, (B) Soxhlet e (C) Ultrassom.	47
Figura 3. Cromatograma para amostras sobrepostas de extrato de jenipapo (detecção em 242nm).	48
Figura 4. (A) Cromatograma da amostra do extrato de jenipapo, (B) extrato de jenipapo com adição do padrão e (C) padrão da genipina.	49
Figura 5. Espectro de massas da substância eluída em provavelmente 12,7 minutos (provável geniposídeo) – (A) modo positivo e (B) negativo.	50

Figura 6. Concentração relativa das moléculas eluídas por cromatografia líquida de alta eficiência. (A) substância eluída em 5 minutos e (B) geniposídeo eluído em 12,7 minutos.	51
---	----

CAPITULO III

Figura 1. Fotomicrografias da topografia (modo altura) do cabelo preto (A) e cabelo branco (B) obtidas em microscópio de força atômica.	64
Figura 2. (A) Altura média da escama das amostras de cabelo preto e branco (* $p=0,0145$) e (B) Rugosidade (* $p=0,0498$).	65
Figura 3. Fotomicrografia eletrônica de varredura de amostra de cabelo preto (A) e branco (B).	66
Figura 4. Espessura do cabelo preto e branco. Teste T $p<0.05$; ** $p = 0.0064$.	67
Figura 5. Valores médios das propriedades mecânicas - deformação (A), tensão máxima (B) e módulo de Young (C). Teste T (** $p<0,01$).	68
Figura 6. Curvas termogravimétricas (linha sólida) e suas respectivas derivadas (linhas tracejadas) de amostras de cabelo preto (linha preta) e cabelo branco (linha vermelha).	69
Figura 7. Resultados dos parâmetros cinéticos amostras de cabelo preto e branco obtidas sob diferentes razões de aquecimento.	72
Figura 8. Espectroscopia do cabelo preto e branco.	73

CAPITULO IV

Figura 1. Parâmetros colorimétricos (ΔE , ΔL , Δa e Δb) atribuídos aos cabelos pretos (CP) e brancos (CB) submetidos ao tratamento em pH 10,0 ou temperatura 80°C sem a presença do extrato.	86
---	----

Figura 2. Resultado macroscópico da cor das amostras de cabelos pretos e brancos antes do tratamento e após o tratamento a 25 °C observando a influência do pH e concentrações do extrato.	88
Figura 3. Diferença de cor (ΔE) das mechas de cabelo preto e branco tratadas em diferentes condições de pH e concentração de extrato, após 3 dias de lavagens consecutivas.	89
Figura 4. Variações dos valores do eixo acromático (ΔL) e dos eixos cromáticos (Δa e Δb) das amostras de cabelos pretos e brancos tratados com diferentes concentrações do extrato em diferentes pHs a 25°C, antes e após 3 lavagens diárias.	90
Figura 5. Parâmetros colorimétricos absolutos dos diferentes tratamentos com variação de pH e concentração de extrato. ST = amostra sem tratamento.	92
Figura 6. Resultado macroscópico da cor das amostras de cabelos pretos e brancos antes do tratamento e após o tratamento com pH 5,5 observando a influência da temperatura e concentrações do extrato.	93
Figura 7. Diferença de cor (ΔE) das mechas de cabelo preto e branco tratadas em diferentes condições de temperatura e concentração de extrato, após 3 dias de lavagens consecutivas.	94
Figura 8. Variações dos valores do eixo acromático (ΔL) e dos eixos cromáticos (Δa e Δb) para amostras de cabelos pretos e brancos tratados com diferentes concentrações do extrato em diferentes temperaturas e pH 5,5, antes e após 3 lavagens diárias.	96
Figura 9. Parâmetros colorimétricos absolutos dos diferentes tratamentos com variação de temperatura e concentração de extrato. ST = amostra sem tratamento.	97
Figura 10. Determinação da espessura em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80°C respectivamente.	98
Figura 11. Determinação da deformação em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80°C respectivamente.	99

Figura 12. Determinação da tensão em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80 °C respectivamente.	100
Figura 13. Determinação do Módulo de Young (A) condições reacionais pH, (B) condições reacionais temperatura.	101
Figura 14. Imagens topográficas obtida por AFM de amostras de cabelo preto com e sem tratamento e suas respectivas alturas e rugosidade.	102
Figura 15. Imagens topográficas obtida por AFM de amostras de cabelo branco com e sem tratamento e suas respectivas alturas e rugosidade.	103
Figura 16: Imagens de MEV das amostras de cabelo preto. Na coluna 1 as imagens foram obtidas com um aumento de 650 vezes, na coluna 2 com um aumento de 2500 vezes e na coluna 3 com um aumento de 10000 vezes.	106
Figura 17. Imagens de MEV das amostras de cabelo branco. Na coluna 1 as imagens foram obtidas com um aumento de 650 vezes, na coluna 2 com um aumento de 2500 vezes e na coluna 3 com um aumento de 10000 vezes.	108
Figura 18: Imagens de MEV de amostras de cabelo preto virgem caucasiano sem e com tratamento com extrato de jenipapo. Nos detalhes visualiza-se as camadas da cutícula e sua espessura.	110
Figura 19: : Imagens de MEV de amostras de cabelo branco virgem caucasiano sem e com tratamento com extrato de jenipapo. Nos detalhes visualiza-se as camadas da cutícula e sua espessura.	111
Figura 20: Espectro de FT-IR de cabelos pretos e brancos sob influência do pH.	112
Figura 21: Espectro de FT-IR de cabelos pretos e brancos sob influência da temperatura.	113

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATÖES

a.a – Ao ano

ABIHPEC - Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

AFM- Microscopia de força atômica

APM - músculo eretor do pelo

Ap-BMe - Melanócitos do bulbo capilar apoptótico

CIE - Commision International de L'éclairg

CMC - membrana celular cuticular

ERD - Refletância difusa

DSC – Calorimetria exploratória diferencial

DTG – Termogravimetria derivada

Eq - Equação

FT-IR – Espectroscopia na região de infravermelho com Transformada de Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy)

HPPC – Higiene pessoal, perfumaria e cosméticos

IRS - Esqueleto interno

MEV- Microscopia eletrônica de varredura

ORS-AMC - Melanócitos apoptóticos da raiz externa

Pt - Platina

PPD - p-fenilenodiamina

PIB – Produto Interno Bruto

P.BMe - Melanócitos do bulbo de cabelo pigmentado

SG - Glândula Sebacea

TGA – Análise termogravimétrica

TG - Termogravimetria

UV - Ultravioleta

ΔL – Diferença na coordenada luminosidade

Δa - Diferença de cor na coordenada vermelho-verde

Δb - Diferença de cor na coordenada amarelo-azul

ΔE - Diferença de cor total

RESUMO

A modificação da coloração do cabelo com o objetivo de cobrir os fios de cabelos brancos tem sido observada em todo o mundo. Com isso, diferentes produtos cosméticos vêm sendo lançados no mercado, principalmente com foco na inovação de nuances e tonalidades do fio capilar. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato de jenipapo na coloração de fios de cabelo humano. Trata-se de uma reação química estável do geniposídeo com a molécula de queratina do cabelo que irá alterar a coloração capilar. Inicialmente foi avaliado o melhor método de extração do geniposídeo do jenipapo, variando o tempo e solvente extrator. Para avaliar o potencial de alteração de cor da reação, fios capilares caucasianos brancos e pretos, sem tratamento químico, foram submetidos à reação com uma solução contendo extrato de jenipapo em diferentes condições de temperatura, pH e concentração. Esta etapa visou estabelecer as melhores condições reacionais e a gradação de tonalidade de cor obtida pela reação. Após a reação, os fios de cabelos que apresentaram maior modificação de cor foram submetidos a testes mecânicos, térmicos, avaliação de cor e aspectos de superfície por microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura para investigar os possíveis danos à fibra capilar.

PALAVRAS-CHAVE: coloração, cabelo, *Genipa americana* L.

ABSTRACT

The modification of the heart of the hair to cover the wires of white wires has been observed all over the world. With this, different cosmetic products have been launched in the market, mainly focusing on the innovation of nuances and tonalities of hair. The main objective of this study was to evaluate the influence of genipap extract on human hair coloration. It is a stable chemical reaction of a geniposid with a hair consultation molecule with a capillary heart. Initially, the best extraction method of genipap was evaluated, as well as time and solvent extraction. To evaluate the potential of reaction change, white and black Caucasian capillary wires, without chemical treatment, are submitted to a solution with genipap extract under different conditions of temperature, pH and concentration. This stage aimed to establish as better reaction conditions and a gradation of color tonality obtained by the reaction. After a reaction, hair strands that showed the greatest color change were subjected to mechanical, thermal, color and surface surface evaluation by atomic force microscopy and scanning electron microscopy to investigate possible damage to the hair fiber.

KEYWORDS: coloring, hair, *Genipa americana* L.

1 INTRODUÇÃO

A mudança na cor do cabelo sempre despertou interesse aos povos desde a antiguidade. O uso das tinturas de cabelo remonta, no mínimo 40 séculos e existem diversas evidências históricas sobre a arte do tingimento de cabelo com corantes naturais, vegetais e minerais(CHUA; LEVELL, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O uso de colorações no cabelo é uma prática comum e estima-se que 50 a 80 % das mulheres e uma considerável parte dos homens nos Estados Unidos, Europa e Japão utilizem algum produto para esta finalidade. Dentre as principais razões existentes para o consumo deste tipo de produto, destacam-se as tendências da moda, já que a cor dos cabelos tem um importante impacto nas interações sociais e pode despertar respostas emocionais e a tentativa de alterar a aparência visando a diminuição dos impactos físico-cronológico que ocorrem com o envelhecimento (NOHYNEK *et al.*, 2015;KIM; KABIR; JARAN, 2016).

O setor de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC) indica dados que demonstra a preocupação dos brasileiros com a aparência. Conforme dados demonstrados pela Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC), apesar da situação econômica do Brasil, o setor de HPPC apresentou crescimento mais intenso no período de 2011 a 2015 do que o restante da indústria brasileira (7,0 % a.a de crescimento médio neste setor contra 0,4 % a.a. do produto interno bruto (PIB) total e -1,9 % da indústria em geral). Em 2016, o Brasil ocupou o quarto lugar global no mercado consumidor de itens de HPPC, representando 7,1 do consumo mundial e o terceiro lugar global no consumo de produtos para cabelo (FREIRE, 2015).

Os produtos capilares disponíveis no mercado possuem algumas limitações, dentre as quais a alteração do pH do cabelo, composição química contendo metais, entre outras. A alteração do pH capilarprovoca um dano na fibra capilar, pois envolvem reações químicas que alteram a sua estrutura. Outro fator limitante nos produtos comercializados são as concentrações de metais pesados que fazem parte da composição dos vários tipos colorações, que podem causar riscos à saúde, bem como impactos negativospara o meio ambiente. Segundo a Resolução 79 de 28 de agosto de 2000 (ANVISA, 2000), os índices de metais pesados, como o chumbo, permitidos pela legislação, não devem ultrapassar em 20 ppm¹ (partes por milhão) em tinturas capilares, assim como o limite máximo para outros metais pesados é de 100 ppm (MONTEIRO, 2009).

A busca por produtos naturais que causem menores danos ao cabelo vem sendo intensivamente pesquisada, visto que os produtos naturais também apresentam algumas limitações, como a hena que por ter um peso molecular elevado possuem uma fraca

afinidade pela queratina do cabelo, além de oferecer uma faixa de cores limitadas (ARALDI; GUTERRES, 2005; MOREL; CHRISTIE, 2011).

O jenipapo, fruto do jenipapeiro (*Genipa americana* L.), possui como principais componentes o geniposídeo e o ácido geniposídico (INAO *et al.*, 2004). Estes compostos são precursores da genipina, um iridóide capaz de reagir com moléculas protéicas gerando um produto de coloração escura, variando do marrom ao preto. Por ser uma substância natural e biodegradável com baixa citotoxicidade, estes iridóides tornam-se candidatos promissores como agente reticulante da queratina capilar, podendo gerar diferentes tonalidades, sem necessitar da alteração do pH e com risco mínimo de efeitos colaterais. Além disso, o uso de produtos naturais também possui relevância sócio econômica, pois pode agregar valor aos produtos oriundos da agricultura familiar (RENHE *et al.*, 2009).

A utilização desta matéria-prima regional, que possui potencialidade para colorir o cabelo sem alterações bruscas de pH torna-se, uma estratégia inovadora para este segmento de mercado, aprofundando o conhecimento técnico-científico. O produto desenvolvido a base desta matéria-prima pode ser aproveitado pelo setor produtivo, gerando um produto comercializável com forte apelo ao marketing verde e diminuição de efeitos críticos ao usuário, causados pelas tinturas convencionais.

Neste contexto, o presente trabalho traz a proposta do uso de produtos naturais a base de jenipapo para colocação do cabelo, sem o uso de formulações que contenham metais pesados ou que necessitem de alteração de pH.

Desta forma, o presente trabalho será dividido em 5 capítulos, nos quais o capítulo 1 apresenta uma revisão da literatura abordando colorações capilares, o capítulo 2 traz um artigo sobre métodos de extração de iridóides presentes no jenipapo, o terceiro capítulo apresenta um artigo sobre a caracterização físico-química e morfológica de fios capilares brancos, o quarto capítulo apresenta a utilização do extrato de jenipapo para coloração do fio capilar, finalizando com o quinto capítulo que apresenta a patente depositada sobre obtenção de extratos contendo iridóide e processo para coloração capilar sob número do processo BR 10 2017 007829 9.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência do extrato de jenipapo na coloração de fios de cabelo humano branco e preto.

Objetivos específicos:

- Avaliar os métodos de extração, de jenipapo maduro e verde, por maceração, Soxhlet e ultrassom com relação a solvente, tempo de contato e rendimento;
- Caracterizar os extratos por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Caracterizar as fibras capilares de cabelos humanos preto e branco virgens por AFM, MEV, colorimetria, FT-IR;
- Estudar a influência de condições reacionais (concentração do extrato, tempo, temperatura e pH) na coloração da queratina capilar de fibras brancas e pretas utilizando extrato da *Genipa americana* L.;
- Caracterizar as fibras capilares quanto a cor, MEV, AFM, FT-IR e propriedades mecânicas após tratamento com extrato de jenipapo.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Cabelo

O cabelo tem importância que envolve não somente a estética, mas também aspectos psicológicos. Comprimentos longos podem ter um significado religioso ou, como em alguns povos da antiguidade, ser símbolo de poder e força. Em certas comunidades religiosas, raspar a cabeça é um sinal de renúncia às coisas materiais e vaidades do mundo. Também podem estar relacionados ao sucesso, a vaidade e a autoestima do indivíduo. Através dos tempos, a importância e o significado social dos cabelos têm se mantido inalterado (STREHIAU; CLARO; LABAN NETO, 2015).

Apesar de não ter uma função biológica vital nos seres humanos, seu significado psicológico é considerável, devido ao papel fundamental que desempenha no desenvolvimento da imagem corporal e na auto identificação em homens e mulheres. Trata-se de uma característica importante e distintiva que desempenha um papel relevante na auto percepção. É uma das poucas características físicas que pode facilmente mudar: comprimento, cor e forma podem ser modificados para criar um modelo totalmente diferente (BOLDUC; SHAPIRO, 2001, GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

O cabelo faz parte dos anexos cutâneos da pele e está inserido no tecido epitelial e mesenquimal complexo que compreende várias camadas da epiderme estratificada. Existem outras estruturas (Figura 1) que estão associadas com a fibra de cabelo como o músculo eretor, as terminações nervosas e os vasos sanguíneos que nutrem a divisão e crescimento celular do cabelo e se localizam próximo ao bulbo (ROBBINS, 2012).

Os humanos apresentam entre 90 e 150 mil fios de cabelo no couro cabeludo, com diâmetro do fio que varia de 17 a 180µm, dependendo da raça. Possui receptores nervosos que funcionam como sensores, os quais levam a aumentar a proteção da cabeça quando se faz necessário (YU, YANG, MEYERS, 2017).

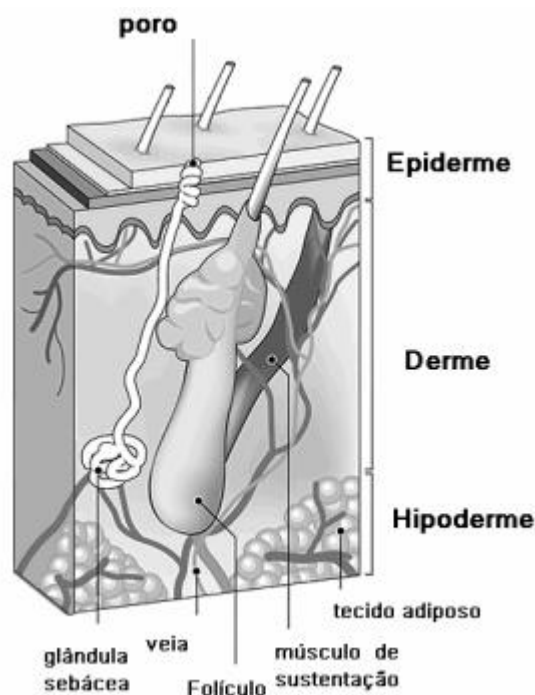


Figura 1. Ilustração de um folículo piloso (adaptado - HARRIS, 2016).

Os folículos pilosos são invaginações da epiderme para dentro da derme e são estruturas responsáveis pelo crescimento do cabelo ou pelo. Na base de cada folículo, existe a proliferação de células, ocorrem processos de síntese proteica, alinhamento estrutural e a queratinização que deixa o citoplasma com a presença de material fibroso que é conhecido como cabelo. O crescimento do cabelo é um processo dinâmico, cíclico no qual a duração dos ciclos de crescimento depende não apenas de onde o cabelo está localizado, mas também em questões tais como a idade do indivíduo, hábitos nutricionais e fatores hormonais (PANTELEYEV; JAHODA; CHRISTIANO, 2001; LESZEK, 2003).

Os tratamentos de beleza capilar não afetam o folículo, mas sim o eixo capilar, sendo este último também chamado de fibra capilar. A haste do cabelo pode trazer evidências sobre o histórico de cuidados com o cabelo de uma pessoa, e pode apresentar sinais de desgaste, desde a raiz até a ponta (BOLDUC; SHAPIRO, 2001). A extremidade que se projeta da superfície da pele é considerada como mais velha, e exibe o dano do cabelo, enquanto a raiz, provém do folículo piloso, é menos porosa e tem propriedades químicas diferentes que influencia nos efeitos cosméticos de tratamentos aplicados a esta região (JAMART *et al.*, 2015).

2.2 Estrutura Morfológica do Cabelo

O fio de cabelo é uma estrutura cilíndrica, altamente organizada, formada por células inertes e de nanocompósitos (basicamente proteínas), cuja propriedades físicas de resistência, aparência, mecânica e química são reguladas por uma variedade de fatores tais como: etnia, limpeza, tratamentos químicos e meio ambiente (SESHADRI; BHUSHAN, 2008).

O cabelo é composto por células mortas da pele que passam por um processo de queratinização (FRANÇA *et al.*, 2015). Sua fibra pode ser dividida em três componentes: uma camada de células externas que é a cutícula, o córtex que é uma estrutura interna e uma medula central (Figura 2).

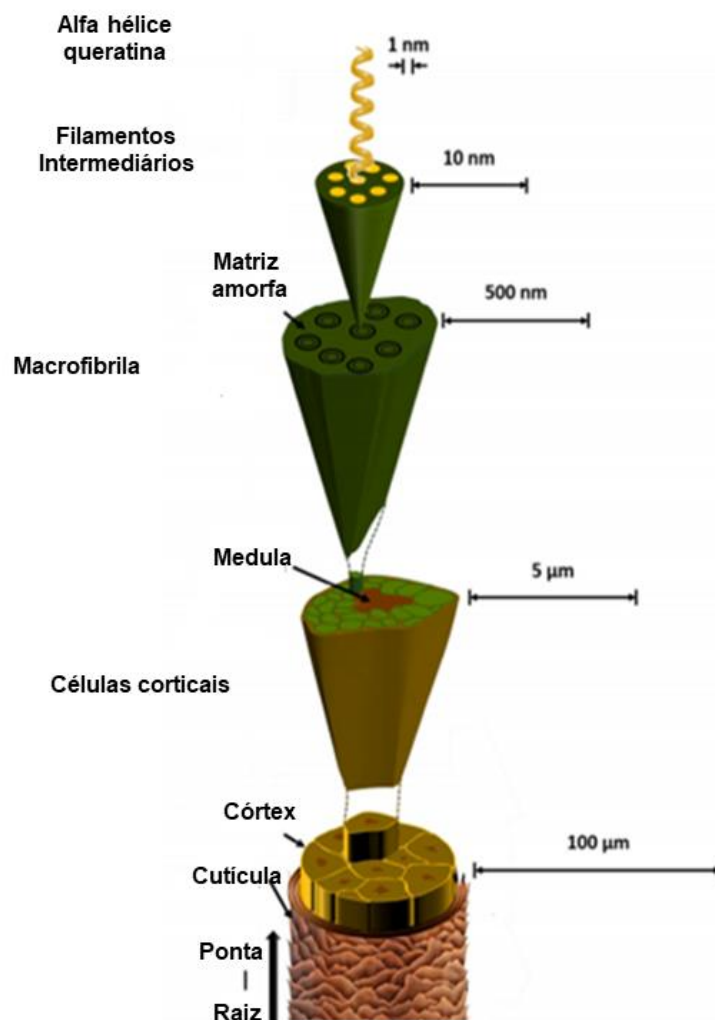


Figura 2. Desenho esquemático da estrutura hierárquica em uma fibra de cabelo humano (YU, YANG, MEYERS, 2017).

A cutícula é o revestimento externo do cabelo e é constituída por células sobrepostas planas que rodeiam o fio e o protege de danos externos (WEI; BHUSHAN, 2005). Tem a função de regular a quantidade de água na estrutura do cabelo e manter suas propriedades físicas. Esta característica explica o caráter hidrofóbico da fibra do cabelo (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Subdivide-se em três camadas: a mais externa, epicutícula que é uma membrana de lipoproteína, sob ela está a camada A com alto teor de cisteína e altamente reticulada, bioquimicamente estável; a exocutícula, também rica em cisteína e ocupa cerca de metade da área cuticular e são densamente reticuladas por ligações dissulfeto; e a endocutícula, uma camada com baixo teor de cisteína e relativamente alta concentração de lisina, arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico (YANG; ZANG; RHEINSTÄDTER, 2014; FRANÇA *et al.*, 2015).

Entre as células cuticulares, encontra-se o complexo de membrana celular cuticular (CMC), que é composto por camadas de lipídios e tem a função de unir as camadas do cabelo. Existem três tipos de CMC no fio capilar: entre as cutículas, entre as células do córtex e entre as células da cutículas e do córtex (ROBBINS, 2009). A estrutura geral do CMC é formada por duas camadas: a camada δ (15 nm), composta principalmente por proteínas e polissacarídeos, e as camadas β (2,5–5,0 nm de espessura cada), formadas por lipídeos. A camada δ está intercalada entre as duas camadas β , uma mais interna e outra mais externa. Sendo que a camada β mais interna se situa mais perto da região central do fio e a camada β mais externa encontra-se mais próxima da superfície (ROBBINS, 2012; SMITH *et al.*, 2013).

O córtex é a maior parte do fio capilar, confere resistência ao eixo do cabelo, sendo preenchido principalmente pela queratina. Este componente forma uma forte rede compacta e complexa de proteínas ligadas por interações intra e intermoleculares, tais como ligações dissulfeto de cisteína, ligações de hidrogênio e ligações amida. Esta variedade de ligações internas é essencial para conferir rigidez à estrutura do cabelo e torná-lo resistente a fatores ambientais, tais como exposição aos raios ultravioletas, poluentes ou tratamentos químicos. O córtex é o responsável pelas propriedades físicas e mecânicas dos cabelos relacionadas à textura e resistência à tração, além de se encontrar também os pigmentos que determinam a coloração natural do cabelo (BARTHÉLEMY *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A cor e o brilho são propriedades importantes para a aparência dos cabelos. A cor do cabelo é dada pela melanina, que está presente no córtex. Encontra-se aleatoriamente distribuída dentro dos queratinócitos sob forma de grânulos ovais ou esféricos com cerca de 0,2 a 0,8 μm de comprimento e cerca de 0,1 a 0,5 μm de espessura, que são os chamados

melanossomos, os quais vão originar a melanina e posteriormente este pigmento segue para a haste capilar (WAGNER, 2006).

A medula é a área central do cabelo, nem sempre está presente na fibra capilar, apresentando-se apenas nos fios grossos e ásperos. É tipicamente um eixo oco no interior do cabelo, formado por fibras de queratina arranjadas na forma de pequenas cavidades onde são armazenados os pigmentos de melanina (LAI-CHEONG; MCGRATH, 2013).

2.3 Componentes químicos do cabelo

O cabelo humano é composto por proteínas, água, lipídios, pigmento e oligoelementos. As proteínas são compostas de longas cadeias com cerca de 20 ou 50 aminoácidos variados. Cada cadeia ocupa uma forma helicoidal ou em espiral. Entre os vários aminoácidos encontrados no cabelo humano, a cistina é o mais importante. Cada unidade de cistina contém dois aminoácidos de cisteína em diferentes cadeias que se encontram próximos um do outro e estão ligados entre si por dois átomos de enxofre, formando uma ligação muito forte conhecida como uma ligação dissulfeto (Figura 3) (BHUSHAN, 2008; NOGUEIRA *et al.*, 2007; DIAS, 2015).

A cistina é um aminoácido com alto teor de enxofre tem a capacidade de reticular proteínas por meio de suas ligações dissulfeto (Figura 3). O alto conteúdo de cistina corresponde a uma rica reticulação nas pontes de dissulfeto, o que leva a altas propriedades mecânicas. Outras ligações como ligações iônicas, pontes de hidrogênio também existem entre as proteínas do cabelo. A força destas pontes são fortemente afetados pelo teor de água no cabelo, portanto, as propriedades mecânicas do cabelo serão significativamente afetada pelo ambiente (BHUSHAN; CHEN, 2006; MATSUNAGA *et al.*, 2013).

A queratina é uma proteína fibrosa produzida no queratinócito do tecido epitelial de invaginações da epiderme para a derme. Estas células se multiplicam em uma velocidade muito maior que as da pele e se diferenciam para formar as diferentes estruturas do cabelo. A queratinização consiste na produção e no armazenamento da queratina, levando ao endurecimento destas células e consequente desintegração (RICHTER; GUZMAN; DYKE, 2012).

As queratinas se diferenciam de acordo com a sequência de aminoácidos sendo classificadas em: ácidas, neutras ou básicas. Dividem-se em estruturas de α -hélice (α -queratina) e folhas β -pregueadas (β -queratinas) constituídas por aproximadamente 20 (vinte) aminoácidos, sendo o principal deles o aminoácido sulfurado, também denominado cisteína (BARTHÉLEMY *et al.*, 2012; KUZUHARA, 2013).

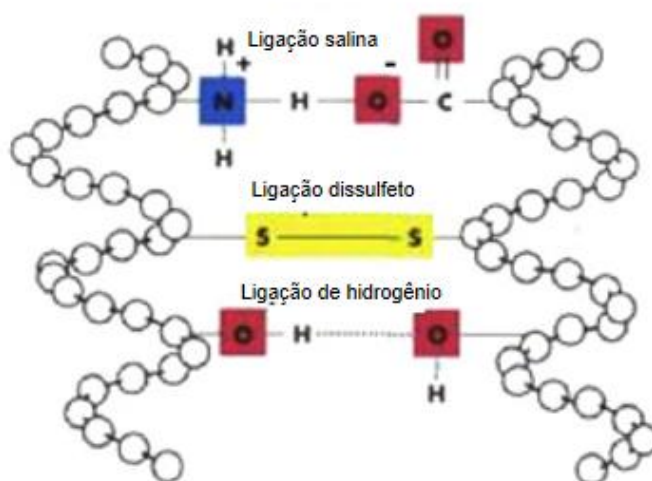


Figura 3. Estrutura da α -queratina (adaptado – BHUSHAN, 2008).

As interações químicas responsáveis pela estrutura da queratina podem ser: ligação iônica, ligação de hidrogênio, força de Van Der Waals, ligação peptídica ou éster e ligação dissulfeto. A estabilidade da queratina é derivada de uma variedade de interações intracadeia e intercadeia que prendem as cadeias de proteínas em conjunto (RIEGER; BRECHNER, 1998; ROBBINS, 2012). As ligações de hidrogênio são as mais numerosas, e ocorrem intercadeias por meio dos grupos amida ao longo da cadeia polipeptídica, sendo um elemento essencial para a estabilidade da estrutura α -helicoidal. O alto teor de cadeias laterais ácidas e básicas dão origem a interações iônicas que são relativamente estáveis em ambientes aquosos, mas são prontamente desfeitas na presença de ácidos e álcalis. A ligação dissulfeto de cisteína estabiliza a estrutura da queratina. A elevada porcentagem destas ligações cruzadas, torna a queratina uma molécula relativamente inerte ou com reatividade seletiva. Estas reticulações são a chave para a maior parte das modificações químicas do cabelo (LESZEK, 2003).

A medula capilar possui alto conteúdo de lipídeos, quando comparada ao restante da fibra capilar e é pobre em cisteína. Porém possui grande quantidade do aminoácido citrulina, de modo que as pontes de enxofre são substituídas por ligações peptídicas que mantêm a estrutura da medula coesa. Por causa dessa reticulação, a medula é insolúvel em solventes para proteínas, mesmo em condições utilizadas para solubilizar as queratinas (BHUSHAN, 2008; DIAS, 2015).

O crescimento do cabelo é dinâmico e depende da localização do folículo piloso, idade e sexo. Crescem em torno de 1,0 a 1,5 cm por mês sendo composto por três de fases: anágena (crescimento ativo), catágena (queda) e telógena (repouso). Em humanos, estas três fases ocorrem simultaneamente em diferentes cabelos (LAI-CHEON; MCGRATH, 2013). Os mecanismos que regem o crescimento do folículo piloso no adulto, ou seja, os ciclos do cabelo ainda não foram completamente elucidados (PANTELEYEV; JAHODA; CHRISTIANO; 2001).

No couro cabeludo, cada cabelo cresce continuamente por 3 a 5 anos, na chamada fase anágena que corresponde a fase do desenvolvimento e crescimento do cabelo. As células-troncos produzem ativamente novas células no folículo capilar. Durante parte do ciclo, as células capilares são produzidas em ritmo acelerado, pois o folículo está em íntimo contato com os vasos sanguíneos (POZEBON; DRESSLER; CURTIUS, 1999).

O crescimento então para e é seguido por uma fase transitória, breve, chamada catágena em que o fio de cabelo encolhe até um terço de seu comprimento, deixando a derme papilar bem abaixo, perdendo contato com a irrigação sanguínea. As células também param de produzir melanina e a raiz fica com aparência esbranquiçada. Durante esta fase o folículo está preparando novo crescimento, produzindo células germinativas. A duração desta fase é de aproximadamente duas a três semanas (LAI-CHEONG; MCGRATH, 2013).

Em seguida ocorre o estágio de repouso. Geralmente, o eixo do cabelo envelhecido cai durante este ciclo. O folículo fica em repouso nesta fase de três a seis meses (PANTELEYEV; JAHODA; CHRISTIANO, 2001). Normalmente, de aproximadamente 150.000 cabelos no couro cabeludo, 90% estão na fase anágena, e os 10% restantes estão nas fases catágena e telógena, com 50 a 100 cabelos caindo diariamente (LESZEK, 2003). As fases de crescimento do cabelo são controladas por hormônios androgênicos, que de acordo com a concentração destes hormônios, podem estimular a atividade das glândulas sexuais masculinas e/ou características femininas (ROBBINS, 2012).

Os hormônios androgênicos constituem a principal influência hormonal no crescimento do cabelo humano. O efeito desse hormônio nos folículos pilosos é geralmente gradual e muito específico do local. Além disso, também participam do controle do crescimento do cabelo, acredita-se que os andrógenos atuam no processo de pigmentação do cabelo. Segundo Oliveira e Almeida Júnior (2003) os melanócitos genitais humanos são alvo para a ação dos hormônios andrógenos. Contudo, nenhuma demonstração da presença de receptores de hormônios andrógenos tem sido observada nos melanócitos do folículo piloso.

2.4 Pigmentação do cabelo

O pigmento do cabelo é sintetizado pelos melanócitos que são células dendríticas localizadas na junção das camadas da epiderme com a derme. Esta síntese de melanina ocorre através de reações enzimáticas que convertem a tirosina em melanina através da enzima tirosinase. Durante o desenvolvimento embrionário, os melanoblastos, que são as células precursoras da melanina, migram para os folículos capilares e área dos olhos para caracterizar a cor do indivíduo. A síntese de pigmento ocorre dentro do melanócito no bulbo capilar, é um processo cíclico e a melanogênese ocorre simultaneamente ao ciclo de crescimento do cabelo (PANTELEYEV, 2001; ROCHA; MOREIRA, 2007).

Os grânulos de melanina são depositados pelos melanócitos (Figura 4) na base do folículo do cabelo, ou seja, na papila dérmica. Na fase anágena, os melanossomas são transferidos para as células do córtex e para medula, mas não chegam até a cutícula. Os grânulos de melanina estão espalhados por todo o córtex, mais densamente na sua parte externa. Portanto, para alterar a cor do cabelo natural efetivamente, os cosméticos capilares precisam ir além da cutícula, na parte interna da haste capilar (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

A biossíntese da melanina e a sua transferência dos melanócitos para os queratinócitos do bulbo capilar depende da disponibilidade dos precursores da melanina e de uma série de vias de transdução de sinais altamente complexas. Essas vias podem ser dependentes e independentes de receptores e podem ser modificados por meio de sinais hormonais (TOBIN, 2008). A quantidade, tamanho e o tipo de melanina formada nos melanócitos dependem de fatores que são geneticamente determinados, mas podem ser influenciados por fatores hormonais e ambientais, incluindo inflamações, gênero, idade e exposição solar (LIN; FISHER, 2007; NOGUEIRA *et al.*, 2007).

A melanina faz proteção fotoquímica às proteínas do cabelo. Os pigmentos atuam absorvendo e filtrando a energia recebida, e subsequentemente dissipando esta energia na forma de calor. A melanina dissipa mais de 99,9% da energia UV absorvida como calor, atuando como um desativador químico de radicais livres o que mantém estes no mínimo, e previne o transporte de espécies deletérias para a matriz da queratina. No entanto, ao proteger as proteínas do cabelo da luz, os pigmentos são degradados ou oxidados (FERNÁNDEZ *et al.*, 2012; KUZUHARA, 2013).

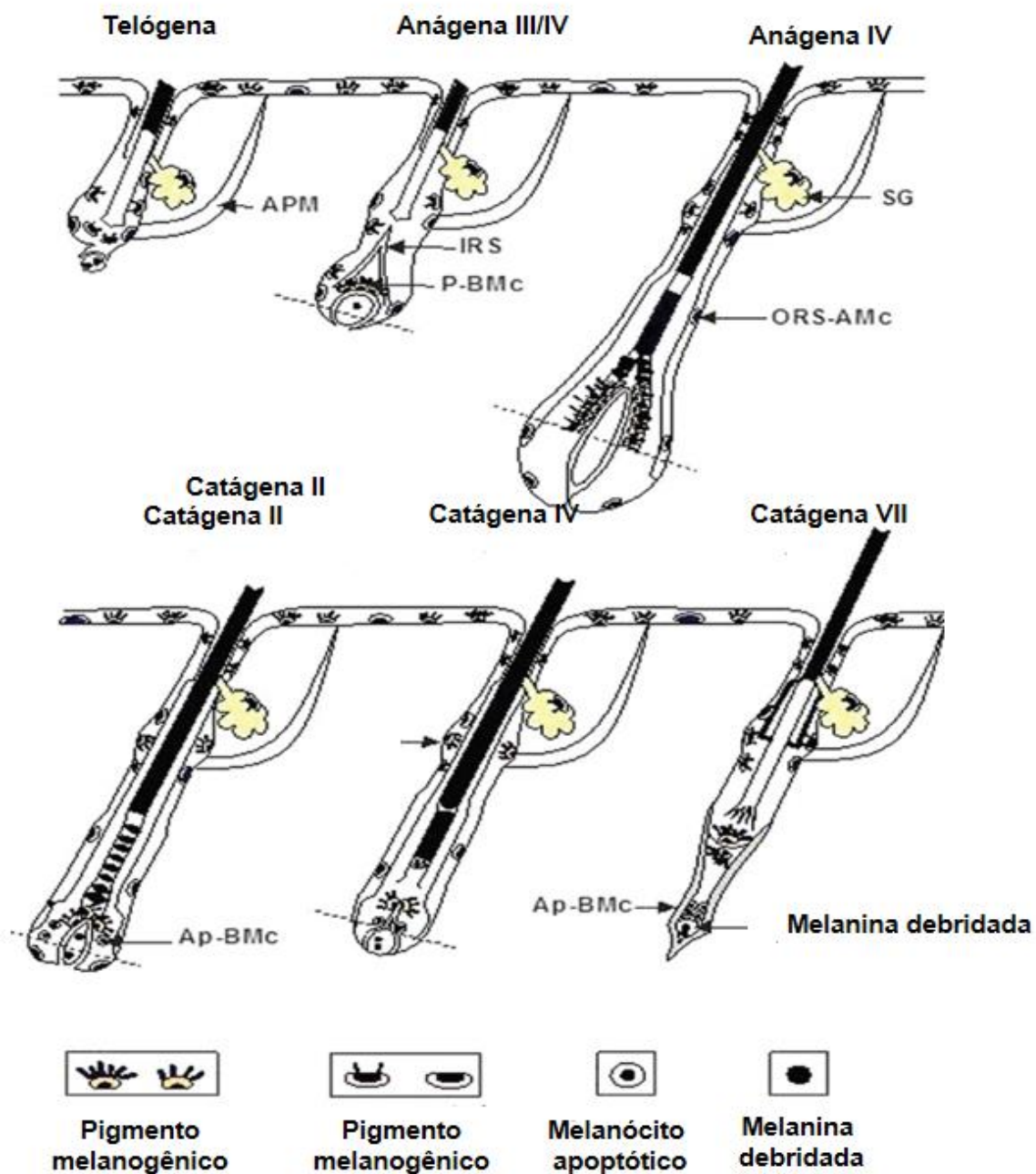


Figura 4. Células-tronco de melanócitos e sua progênie durante o ciclo do cabelo (APM: músculo eretor do pelo, SG: Glândula Sebácea, IRS: Esqueleto interno, P.BMc: Melanócitos do bulbo de cabelo pigmentado, ORS-AMc: Melanócitos apoptóticos da raiz externa, Ap-BMc: Melanócitos do bulbo capilar apoptótico)(PANDHI; KHANNA, 2013).

A fotossensibilidade a luz e a cor escura no cabelo estão geralmente correlacionados com o tipo melanina, mas também a cor dos tipos de cabelo pode variar devido a outros fatores, e não apenas na composição de melanina do mesmo, sendo que os aminoácidos mais suscetíveis a fotodegradação são triptofano, cistina, tirosina e histidina (OLIVEIRA; ALMEIDA JÚNIOR, 2003).

A síntese de melanina inicia-se com a tirosina (Figura 5), aminoácido produzido no citossol. A tirosina é transportada para dentro dos melanossomas, iniciando a melanogênese. A enzima tirosinase converte a tirosina em DOPA, em seguida esta é convertida a dopaquinona que pode ocorrer tanto pela ação da tirosinase quanto pela oxidação não enzimática. A partir da dopaquinona pode existir a condensação com cisteína, formando a dopacisteína e produzindo a feomelanina, ou pode haver a ciclização, que forma o dopacromo, que levará à produção das eumelaninas (PANDHI; KHANNA, 2013).

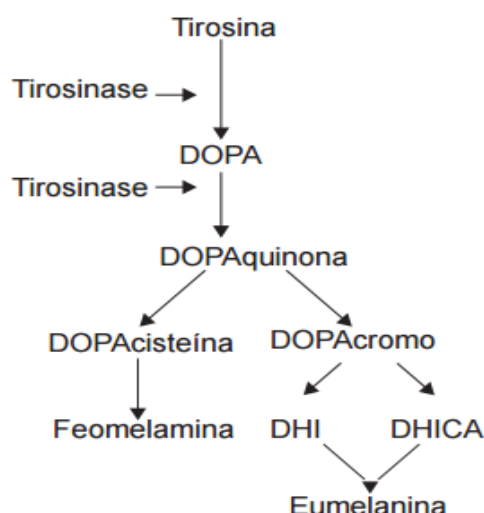


Figura 5. Esquema representativo da biossíntese de melanina (ROCHA; MOREIRA, 2007).

A quantidade relativa de cada um destes dois tipos de pigmentos, a quantidade total de melanina, e o tamanho dos grânulos em cada cabelo, juntos determinam a cor dos pelos. É importante ressaltar que a eumelanina é o pigmento predominante no cabelo escuro ou preto, já feomelanina prevalece em cabelos loiros ou ruivos, e teor de melanina global é menor (Figura 6) (NOGUEIRA *et al.*, 2007).

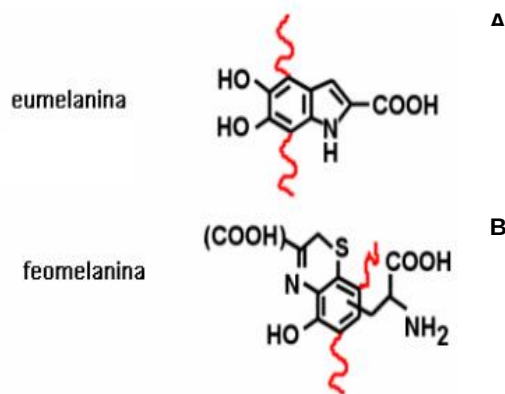


Figura 6. Estruturas químicas propostas para as melaninas presentes no cabelo (A) eumelanina e (B) feomelanina (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A alteração no cabelo mais perceptível com a idade é a despigmentação do fio, resultando no aparecimento dos fios brancos. O cabelo grisalho consiste em uma mistura de fibras capilares totalmente brancas, fibras totalmente pretas e fibras que são parcialmente pretas e brancas. A principal diferença entre o cabelo branco e o grisalho está na quantidade de melanina encontrada nas fibras e não na espessura das fibras (RICHENA *et al.*, 2014). Isto ocorre devido a perda da atividade do melanócito na fase anágena do fio no bulbo capilar, bem como a diminuição do tamanho e a distribuição dos grânulos de melanina (COMMO; GAILLARD; BERNARD, 2004; SINGH, 2014).

O cabelo branco, segundo Pandhi e Khanna (2013) pode refletir uma exaustão precoce geneticamente regulada pelo potencial de geração de melanócitos ou algum defeito na ativação ou migração celular, sendo agravado por fatores ambientais, inflamação ou estresse psicológico. Nishimura, Granter e Fisher (2005) sugeriram que existe uma perda de células-tronco de melanócitos que precede temporariamente a perda de melanócitos diferenciados na matriz do cabelo. Esta manutenção incompleta de células-tronco de melanócitos parece causar cabelos acinzentados. A progressão da cor cinza vai se agravando pelo fato de que, com o avanço da idade, mais folículos capilares permanecem por mais tempo na fase de repouso.

Algumas formas de cabelo grisalho têm relação com fatores nutricionais e podem prontamente ser revertidas pela mudança dietética; mas a calvície natural que ocorre com a idade, parece estar, de alguma forma, relacionada com a exaustão irreversível da enzima formadora de melanina, a tirosinase. Embora algumas pessoas comecem a ficar com

cabelos grisalhos já aos 20 anos, na maior parte dos casos, isso acontece mais tarde e geralmente é determinado geneticamente (NISHIMURA; GRANTER; FISHER, 2005).

2.5 Estratégias estéticas para coloração capilar

No mercado de cosmético são lançados todos os anos novas tinturas de cabelo, tornando seu uso uma prática comum. Estes produtos são utilizados muitas vezes por indivíduos que buscam de maneira natural uma forma de recuperar a cor perdida do cabelo. Devido a sua utilização generalizada, o impacto do uso de tinturas de cabelo na saúde humana tem sido um tema de estudo intensivo e discussão por anos (NOHYNEK *et al.*, 2015).

2.6. Tinturas

As tinturas disponíveis no mercado agem removendo parte do pigmento existente no cabelo e/ou adicionando novo pigmento por períodos temporários de duração mais longa, ou permanentemente. Podem ser classificadas de acordo com o tempo de fixação no cabelo e pelo mecanismo de reação com o fio de cabelo sendo corantes oxidativos ou não oxidativos (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

Os corantes e os precursores da cor diferenciam-se em suas características cromóforas, na afinidade pelo cabelo, na solubilidade em água e na fotoestabilidade. Para a obtenção de um resultado uniforme de coloração deve ser realizado um balanceamento entre as moléculas corantes e respeitar os parâmetros de aplicação (FRANCA; CARAMÊS, 2008). De acordo com a sua origem, as tinturas podem ser classificadas em vegetais, tintura mineral e/ou metálicas ou tinturas sintéticas.

As tinturas naturais agem através de processo de deposição com poder de fixação sobre a cutícula proporcionando aos cabelos um reflexo natural. Mudam a cor da matriz do cabelo, não são tóxicas e duram apenas um curto período de tempo. Pode-se citar como exemplo a hena (*Lawsonia inermis*), a camomila (*Matricaria chamomilla*) e a cinchona (*Cinchona calisaya* Wedd) (KIRKLAND; MARZIN, 2003).

A tintura mineral possui em sua composição nitrato de prata ou de sais de chumbo. Exigem o uso diário, escurecem ou clareiam o cabelo gradualmente. São potencialmente tóxicas e são incompatíveis com peróxido de hidrogênio. Podem durar semanas ou até meses. As tinturas sintéticas são classificadas, de acordo com o tempo que a

cor vai permanecer no cabelo, podendo ser temporária, semipermanente ou permanente (BOLDUC; SHAPIRO, 2001).

Quando se faz uso de tinturas temporárias, a cor permanece no local por alguns dias. Estas colorações contêm corantes básicos ou ácidos de alto peso molecular, permanecendo na superfície da cutícula, sem a capacidade de penetrar no córtex. Não requerem amônia ou qualquer outro agente oxidante. São também conhecidas como lavagens de cor ou esmaltes de cores e são tipicamente usados para adicionar destaques de cores, remover tons amarelados de cabelos brancos, ou encobrir pequenas quantidades (<15%) de cabelos grisalhos. O corante é fracamente ligado ao cabelo, de modo que normalmente permanece no lugar durante uma semana, sendo facilmente removido por lavagem (BABY; VELASCO, 2015).

Os produtos temporários contêm geralmente uma combinação de 2 a 5 ingredientes de coloração para conseguir a tonalidade desejada. Estes corantes são altamente solúveis em meio aquoso e capazes de reagir preferencialmente com as fibras proteicas que estão presentes na cutícula do fio de cabelo. Os corantes ácidos são corantes aniônicos solúveis em água e os básicos, por serem catiônicos, se ligam às fibras a serem tingidas por interação eletrostática com sítios aniônicos. O complexo resultante é disperso numa base usando tensoativos para fazer o produto final, o que pode ser comercializado como um spray, loção, espuma ou shampoo. Estes produtos mancham facilmente o cabelo e couro cabeludo. São aplicados no cabelo limpo e em seguida lavados com água (DOS SANTOS *et al.*, 2016).

A coloração temporária pode ser de aplicação contínua ou única. A primeira apresenta uma baixa concentração de corante e tem a finalidade de promover um depósito gradual sobre os fios. A aplicação é realizada diariamente ou todas as vezes que os cabelos forem lavados, com tempo de aplicação de cinco minutos. Resistem de uma a duas lavagens após descontinuar a uso (FRANÇA *et al.*, 2015). Já as de aplicação única apresentam uma maior concentração de corante e possuem a finalidade de promover um efeito de coloração mais acentuado. A aplicação dura em média trinta minutos e resulta em um efeito imediato. Resistem de três a seis lavagens quando aplicada em cabelos descoloridos, comportando-se como uma coloração semipermanente (FRANÇA; CARAMES, 2008).

Já no uso de tintura semipermanente, a cor persiste por semanas. Estes corantes básico ou catiônico têm um peso molecular baixo e atingem a parte superficial do córtex, (FRANÇA *et al.*, 2015). Podem ser oxidativas ou não oxidativas. As tinturas oxidativas podem conter cerca de 2% de peróxido de hidrogênio e baixos níveis de agentes alcalinizantes, geralmente utiliza-se a monoetanolamina em substituição a amônia, de modo

que a penetração no cabelo é mais eficiente do que com corantes semipermanentes não oxidativos, mas menos do que com os corantes permanentes. Devido a seu maior poder de coloração, estes corantes são utilizados para realçar a cor natural ou cobrir até 50% dos cabelos brancos, mas têm pouco potencial de clareamento do cabelo. São aplicados como um shampoo, deixado por 20 a 30 minutos, e, em seguida, eliminados com água. As tinturas não oxidativas são usadas para realçar a cor e modificar ou suavizar o efeito de cabelos brancos. Não pode clarear a cor do cabelo, porque não há agentes clareadores incluídos. Por possuírem baixo peso molecular, estes produtos difundem para as camadas médias da cutícula, porém sem forte ligação com a proteína do cabelo (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

A maioria dos corantes utilizados nesse tipo de tintura são derivados de compostos nitro, principalmente de nitrobenzeno, contendo diferentes grupos auxocrômicos que acentuam a cor do grupo nitro presente como cromóforo. Estes produtos são caracterizados principalmente por nitroanilinas, nitrofenilenodiaminas e nitroaminofenóis. A aplicação do corante semipermanente sobre o fio de cabelo ocorre por interação polar fraca e ligações de Van Der Waals. Geralmente, são misturados de 10 a 12 corantes diferentes para obtenção da cor desejada. Não é possível clarear os fios de cabelo com corantes semipermanentes, já que a formulação não contém peróxido de hidrogênio, mas é possível escurecer mais de três tons a cor natural do cabelo (FRANÇA *et al.*, 2015).

Os corantes semipermanentes são particularmente populares entre as mulheres que querem mudar a tonalidade do cabelo sem interferir drasticamente na alteração da cor natural e sem utilização de peróxido de hidrogênio, resultando em menores danos permanentes ao cabelo. Estes corantes proporcionam uma mudança rápida na cor do cabelo e são encontrados em diversos produtos, tais como shampoo, sprays, loções, etc (BHUSHAN, 2008).

Com o uso de tinturas permanentes, a cor persiste indefinidamente. São as mais utilizadas devido a sua versatilidade, facilidade de aplicação e durabilidade da cor. Tem em sua composição corantes de baixo peso molecular que penetram até as regiões mais profundas do córtex. Os corantes são os mais versáteis, passando mais tempo, oferecem a mais ampla gama de matizes e arcam com o mais alto nível de cobertura dos cabelos cinza, cobrindo quase a totalidade dos brancos. Estas colorações podem escurecer ou clarear a cor do cabelo natural (BOLDUC; SHAPIRO, 2001).

O mecanismo envolvido na tintura permanente é baseado na reação entre dois componentes que são misturados antes do uso em meio oxidativo e pH alcalino. O corante propriamente dito é formado no próprio cabelo, por meio de reações químicas. A tintura permanente requer basicamente 3 componentes: o agente precursor, que consiste de

aminas aromáticas, orto e para-aminofenóis com grupos amino e/ou hidróxidos, tais como fenilenodiamina e p-aminofenol e seus derivados denominados intermediários primários; o agente acoplador que é formado por compostos aromáticos substituídos com grupos doadores de elétrons, tais como fenilenodiaminas, resorcinol, naftol e outros derivados; e agente oxidante em meio alcalino, sendo o mais utilizado o peróxido de hidrogênio na presença de amônia (FRANÇA *et al.*, 2015).

De modo geral, a formação da cor permanente é um processo complexo que envolve sequencialmente a oxidação do intermediário primário com vários acopladores. A tonalidade final da coloração depende da composição, quantidade e natureza de ambos os produtos. Além disso, ainda depende do pH, do tempo e temperatura de reação, e da velocidade de difusão dos componentes para o interior do fio de cabelo. Assim, a tintura permanente depende da cinética química de uma complexa reação e mecanismos de difusão. Este tipo de produto é controlado por legislação específica pois possui potencial de toxicidade e alergênico (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

2.7 Agentes naturais de coloração

2.7.1 Hena

A hena tem sido usada por mais de 4000 anos, não só como uma tintura de cabelo, mas também como uma pintura de corpo e corante para tatuagem. Historicamente foi aplicada nas mãos e nos pés para proteger contra patógenos fúngicos e no cabelo para combater os piolhos e caspa. Outras utilizações tradicionais incluem o tratamento de doenças hepáticas e doenças digestivas, a redução de perda de tecido em lepra, distúrbios do pé diabético e úlceras (SEMWAL *et al.*, 2014).

A hena é considerada o corante natural mais utilizado, deixa o cabelo com um tom de laranja-avermelhado. A hena é uma planta importante composta por quase 70 compostos fenólicos. Farmacologicamente, apresenta várias atividades biológicas, como atividade antioxidante e antimicrobiana. Alguns incidentes de reações adversas após a aplicação na pele têm sido relatados, mas estas estão relacionadas principalmente, aos casos de indivíduos com deficiência de glucose-6-fosfato e reações a adulterantes adicionados aos produtos de hena (KIRKLAND; MARZIN, 2003).

Trata-se de um corante vegetal natural, semipermanente, porém vem sendo substituída pela hena sintética, que são compostos de corantes de alcatrão de baixo peso molecular e pode conter corantes derivados das diaminas, aminofenóis ou fenóis. Portanto,

eles podem causar dermatite de contato alérgica. O baixo peso molecular permite que o produto difunda livremente para dentro e para fora do córtex. Isto explica porque o seu efeito permanece por mais tempo do que o corante temporário, embora possa ser eliminado depois de 4 a 6 semanas. Apesar da sua penetração no córtex, estes corantes são minimamente prejudiciais para a haste do cabelo. O efeito pode ser prolongado e um tanto imprevisível no cabelo previamente processado quimicamente (BOLDUC; SHAPIRO, 2001; DIAS, 2015).

Outros corantes vegetais, como camomila, também são utilizados, porém em menor proporção, o pau-brasil é usado em alguns países asiáticos para escurecer o cabelo grisalho. Porém, a coloração natural oferece uma gama de cores limitada sendo difícil prever a intensidade da cor (BOLDUC; SHAPIRO, 2001).

2.7.2 Jenipapo

O jenipapo é o fruto do jenipapeiro, uma árvore da família das Rubiáceas, chamado cientificamente de *Genipa americana* L. (Figura 7 A). É uma espécie comum em praticamente todo o Brasil, pertence à mesma família do café, de fácil adaptação em ambientes quentes. Considera-se uma espécie de importância econômica, tanto pela sua essência florestal, quanto pela produção de alimentos. Sua distribuição geográfica no Brasil abrange desde a Guiana e Marajó até São Paulo e Mato Grosso. Fora do Brasil, sua distribuição também é vasta, estendendo-se do México às Antilhas (SILVA; LIMA; VIEITES, 1998).

Os jenipapeiros são de médio porte e podem apresentar de 6 a 8 m de altura por 4 a 6 m de diâmetro, com flores brancas ou amareladas. Seus frutos são do tipo baga subglobosa, e quando maduros, medem de 6 a 10 cm de diâmetro longitudinal por 4 a 7 cm de diâmetro transversal, pesam entre 90 e 180 g. A cavidade central contém de 220 a 372 sementes envolvidas por uma membrana. O período de floração ocorre de outubro a janeiro e a frutificação de novembro a fevereiro, na qual cada planta é capaz de produzir de 200 a 1000 frutos (CARVALHO; NASCIMENTO; MÜLLER, 1998; SILVA *et al.*, 2001).

Historicamente, o primeiro produto extraído do jenipapo seria uma tintura azul-escuro à base de tanino, que, para os ameríndios pré-colombianos, apresentava propriedades mágicas e medicinais. Utilizado de forma artesanal como matéria-prima para produção de compotas cristalizadas, sorvetes, refrescos, vinhos e licores, é constituído por uma casca mole, parda ou pardacenta – amarela, membranosa, fina e enrugada, que representa 9,65% do total do fruto; 73,81% de polpa com odor característico, muito forte, sabor doce

acidulado, envolvendo numerosas sementes achatadas e raramente este fruto é consumido *in natura* (ANDRADE *et al.*, 2000; ANDRADE *et al.*, 2003).

A casca e os frutos verdes contêm substância corante violeta ou azul-escuro, denominada genipina, isolada pela primeira vez em 1960. Essa matéria corante é solúvel na água e no álcool, mas torna-se azul escuro em contato com o oxigênio. Antigamente era usada pelos índios para se pintarem de negro, tingir tecidos, cerâmicas, acessórios e para pintar o corpo em cerimônias religiosas e batalhas e, ainda continua sendo empregado na marcação de peças de roupas, pintura de tecidos de palha e outros utensílios domésticos (RENHE *et al.*, 2009).

A genipina é um iridóide, oriundo do geniposídeo, e se apresenta originalmente incolor, mas também se torna azul através da reação com fontes de aminas primárias (PORTO *et al.*, 2014). Este geniposídeo é um dos principais iridóides glicosilados do fruto da *Gardenia jasminoides* Ellise da *Genipa americana* L. e constitui cerca de 4 a 6% do fruto seco (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003; KOO *et al.*, 2004).

A genipina é obtida a partir de seu composto original, o geniposídeo, via hidrólise enzimática com a β -glucosidase. A estrutura química da genipina (Figura 7 B) e do geniposídeo (Figura 7 C) apresentam sítios reativos disponíveis em sua cadeia que permitem inúmeras modificações, dentre elas a reticulação. Esse tipo de modificação proporciona a formação de redes quimicamente mais estáveis. Os pesquisadores têm voltado seus estudos para a descoberta de agentes de reticulação menos citotóxicos e, dessa forma, a genipina e o geniposídeo foram introduzidos como agentes de origem natural eficaz (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003; GONSALVES *et al.*, 2011).

A reticulação é um processo também conhecido como reação de entrecruzamento, é um tipo de modificação química que visa unir cadeias poliméricas, ou até mesmo ligar cadeias as de outros polímeros gerando redes poliméricas híbridas. Esse processo ocorre por meio da reação entre sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais da genipina e em alguns agentes reticulantes. Estes agentes reticulantes são moléculas de baixa massa molar com pelo menos dois grupos funcionais reativos que permitem a formação de pontes entre as cadeias poliméricas. No caso da genipina, os sítios que irão reagir com ele, serão os grupos amina e hidroxila. Porém, sua extração apresenta alto custo, o que acaba limitando sua aplicação (BERGER *et al.*, 2004).

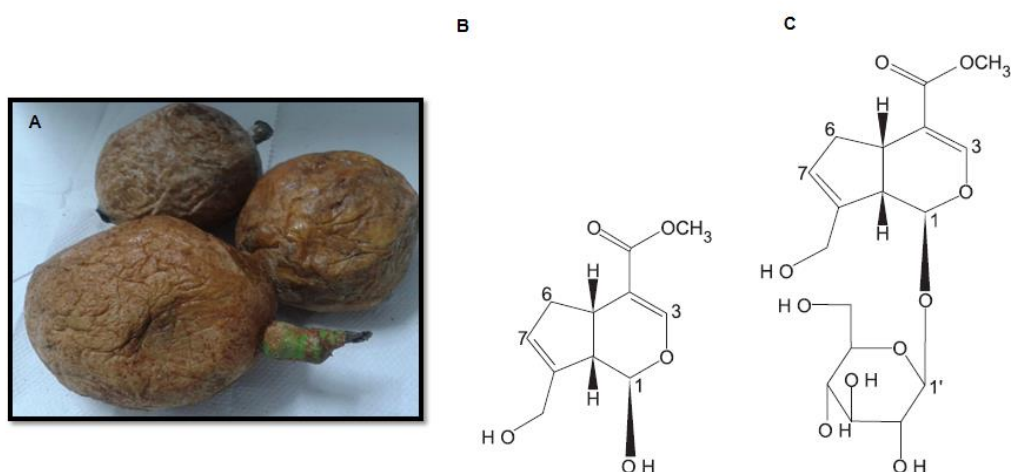


Figura 7: (A) Fruto jenipapo; (B) fórmula estrutural da genipina; (C) fórmula estrutural do geniposídeo (BENTES *et al.*, 2014).

O mecanismo de reticulação da genipina com moléculas que contém aminas primárias ainda não foi bem esclarecido. Sabe-se que a genipina apresenta uma forte tendência a estabelecer ligações cruzadas com aminas, com isso, a literatura propõe dois mecanismos para explicar esta reação conforme a Figura 8. Na primeira reação, figura 8 A, ocorre primeiramente uma substituição nucleofílica que evolui para uma amina primária gerando uma amida e liberando metanol (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003; KUO; LIN, 2006).

Uma outra possibilidade, conforme figura 8 B, é que ao mesmo tempo em que ocorre uma substituição do éster, pode também acontecer um ataque nucleofílico da amina primária ao carbono 3 da genipina para formar um aldeído intermediário, seguido da abertura de um anel heterocíclico da genipina, em que ocorre um ataque a amina secundária formada no primeiro passo da reação sobre o grupo aldeído resultante. A partir daí surge um composto heterocíclico ligado ao grupo amina devido às reações entre o grupo amina e a genipina (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003; RAMOS-DE-LA-PEÑA *et al.*, 2014).

Quando em contato com esta reação com o grupo aminoácido, a genipina torna-se azul sendo que o resultado deste pigmento azul é mais estável em meio alcalino (pH 9,0) do que em meio neutro (pH 7,0) ou ácido (pH 5,0) e permanece estável depois de 10 h em 60 a 90 °C (FUJIKAWA; NAKAMURA; KOGA, 1988; LEE *et al.*, 2003).

As reações entre compostos da genipina com grupos amina possuem como resposta a mudança de cor. A genipina depois de ser atacada pelo reagente nucleofílico, no caso a amina, forma os intermediários que reagem e formam um dímero, podendo também formar

oligômeros. A oxidação destes compostos faz com que o corante na forma de oligômeros a polímeros passe de uma cor marrom avermelhada para tons de azul e violeta(GONSALVES *et al.*, 2011).

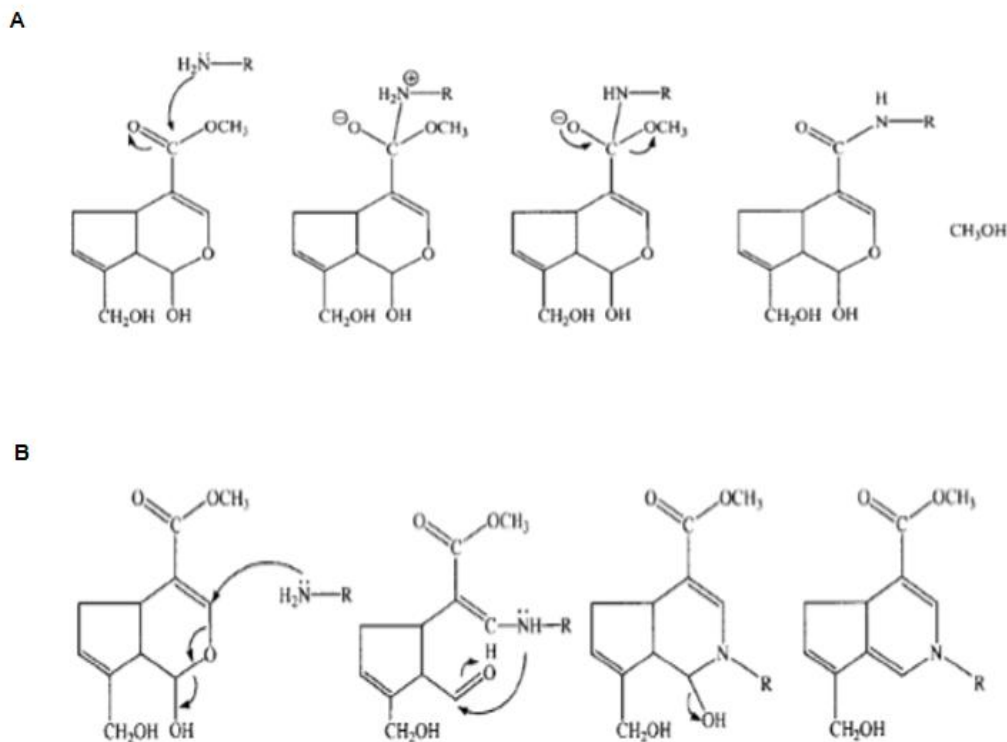


Figura 8. Possibilidades de reações entre a genipina e grupos amina (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003).

2.8 Segurança dos produtos capilares

O desenvolvimento de colorações capilares envolve o conhecimento de várias áreas, incluindo a avaliação de segurança e eficácia, além da padronização de diversos fatores que podem influenciar a coloração da fibra capilar como: proporção dos corantes e do peróxido de hidrogênio na tintura, temperatura de aplicação, valor de pH da formulação, diluição adequada e tempo de contato com o cabelo.

As colorações capilares evoluíram muito desde sua introdução na sociedade no final do século XIX. As principais mudanças ocorreram no meio do final da década de 1970, com a descoberta de testes de mutagenicidade e a consequente eliminação de corantes

mutagênicos. Com isso aumentou a importância de estudar os aspectos relacionados ao tempo de exposição a corantes capilares pelo fato de que as formulações utilizadas até este período, provavelmente, eram mais cancerígenas do que as produzidas mais recentemente (TUTARI *et al.*, 2014).

Os amoníacos utilizados durante o processo da coloração causam danos às estruturas dos fios de cabelo, deixando-o seco, sem brilho e quebradiço. Os indivíduos desconhecem a quantidade de danos causados com esses procedimentos, mas todos acreditam que um procedimento cosmético simples irá restaurar a situação e resultará assim, em um cabelo "saudável" após a aplicação (VAN NESTE; TOBIN, 2004).

Devido a sua grande utilização, o impacto do uso das colorações capilares sobre a saúde humana vem causando a sensibilização de contato tanto pelo consumidor como pelo profissional que está aplicando, e tem sido um tema de estudo intenso (GERHARD *et al.*, 2015).

Os principais alérgenos responsáveis pela dermatite de contato induzida por cosméticos são metilisotiazolinona, p-fenilenodiamina (PPD) e as misturas de fragrâncias. Os principais agentes de dermatite de contato alérgica em tinturas de cabelo é o PPD e seus derivados p-fenilenodiamina e paratoluenodiamina que são compostos altamente sensibilizantes. Pode ocorrer eczema no local da aplicação e em áreas próximas sensíveis, como as pálpebras, e apenas em casos excepcionais pode causar sintomas graves e extensos, tais como edema facial ou dermatite disseminada (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

As colorações de cabelo constituem como um fator de risco importante para vários tipos de câncer, pois contém em sua composição substâncias que tem chamado a atenção de toxicologistas e epidemiologistas. Os corantes capilares oxidativos são formulados a partir de compostos que pertencem à grande família química de arilaminas, que inclui vários agentes cancerígenos humanos como benzdina, 4-aminobifenil e 2-naftilamina (ARALDI; GUTERRES, 2005).

Os descolorantes de cabelo que contêm sais de persulfato como por exemplo o persulfato de amônia ou persulfato de potássio podem desencadear reações imediatas como rinite, asma, urticária de contato e até choque anafilático.

A quebra das pontes de dissulfeto causam os seguintes efeitos sobre o cabelo: o aumento da porosidade da cutícula; aumento da hidrofília do eixo; aumento da fragilidade devido à porosidade e inchaço. Os efeitos prejudiciais de tinturas de cabelo podem ser

minimizados por meio de outros cosméticos para os cabelos como os de manutenção, que melhoram o fio e protegem a cutícula (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

2.9 Avaliação das características físicas e químicas do cabelo

2.9.1 Cor do cabelo

A cor e o brilho são as propriedades mais importantes para a aparência externa do cabelo. Um dos métodos mais utilizados para avaliar diferenças de cor dos cabelos é a espectrofotometria de refletância difusa (ERD), que utiliza o sistema de cor CIE (Commision International de L'éclairg) de 1931, e fornece parâmetros de cor pela reflexão difusa, simulando a percepção da cor do olho humano (SANTANA *et al.*, 2006).

Os sistemas de cores fornecem uma maneira de comunicação efetiva sobre a cor, organizando graficamente todas as percepções de cores possíveis e observando as relações dessas cores de forma quantitativa (COCHRANE, 2014).

Em 1672, Newton enunciou o princípio fundamental da colorimetria em que afirmou que qualquer cor pode ser igualada pela soma das três cores primárias (azul, vermelho e amarelo) convenientemente escolhidas. Como existem diversas opções de nuances das cores primárias, torna-se necessário especificar em cada caso a cor. Esta ciência se baseia na suposição de que existe na visão um sistema tri receptor. Independentemente da composição espectral que chega na retina ocular sua resposta será analisada em três parâmetros: claridade, saturação e tonalidade (KONICA MINOLTA, 2015).

A tonalidade é caracterizada pela qualidade da cor, permitindo que as cores sejam diferenciadas e está associada a determinado comprimento de onda do espectro visível. Já a saturação também conhecida como pureza ou intensidade da cor, relaciona-se com a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indica a proporção que a cor está misturada com o preto, branco ou cinza e permite-nos distinguir cores fortes de cores fracas. Enquanto que a luminosidade é a qualidade que caracteriza o grau de claridade da cor e está relacionada à sensação produzida por uma superfície com essa cor, indicando se as cores são claras ou escuras e variando preto ao branco (SCANAVEZ; SILVEIRA; JOEKES, 2003).

A colorimetria é utilizada para quantificar e descrever a cor. Quando uma cor é medida por um observador é permitido compará-la utilizando um aparelho adequado e desenvolvendo fórmulas para calcular os valores tri-estímulos (XYZ) em que X está relacionado com a cor vermelha, Y com a luminosidade e a cor verde e Z com a cor azul. Em 1976, a CIE limitou o espaço CIELAB (em termos de coordenadas colorimétricas L, a e b) e o espaço CIELUV (em termos de coordenadas colorimétricas L, u e v), sendo assim o método mais utilizado para análise da cor. Na superfície psicométrica CIELAB, as cores são

representadas por luminosidade (L), parâmetro que descreve o espectro que vai do branco (+L) ao preto (-L); a coordenada (a) que corresponde a cromaticidade que varia do vermelho (+a) ao verde (-a); e coordenada (b), que descreve a aromaticidade que varia do amarelo (+b) ao azul (-b) (CAPITLA; ARTIGAS, 2002).

HunterLab (1996) relatou que as medições de cores utilizando o colorímetro não pode ser considerada como valores absolutos mas deve, preferencialmente, ser expressa em termos de diferença de cor, isto é, ΔL , Δa e Δb valores, que indicam o quanto um padrão e uma amostra diferem uma da outra em L, a e b. Um valor de ΔL é positivo se a amostra é mais clara do que o padrão, quando negativa é mais escura; Δa é positivo se a amostra é mais vermelha do que o padrão, negativo se for mais verde; Δb é positivo se a amostra é mais amarelo do que o padrão, negativo se for mais azul (CRUZ-ROMERO; KELLY; KERRY, 2007).

Sendo assim, os valores de diferença nos parâmetros de cor correspondem a subtração entre os valores obtidos para uma amostra e uma referência, mas devem, preferencialmente, ser expressas em termos de diferenças de cor (ΔE). Para calcular a diferença absoluta de cor (parâmetro que quantifica a diferença de cor geral de uma dada amostra em comparação com uma amostra de referência) é necessário fazer a diferença de cor total conforme a Equação 1. Quanto maior o valor de ΔE , mais próxima são as cores entre as amostras (WAGNER, 2006).

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \text{(Equação 1)}$$

No caso do cabelo que possui cor natural, os valores de a e b serão sempre positivos devido à reflexão da melanina e variam nesse eixo para mais ou menos vermelho e para mais ou menos amarelo. A própria mecha de cabelo virgem é utilizada como padrão para a obtenção da diferença de cor após o tratamento, sendo considerado o padrão de referência interna (SANTANA *et al.*, 2006).

2.9.2 Propriedades mecânicas do cabelo

A avaliação das propriedades mecânicas do cabelo está diretamente relacionada a geometria e ao estado de conservação dos fios. Para estudar o comportamento mecânico do fio capilar deve-se aplicar uma força tensora na fibra capilar e mensurar sua deformação (HARRIS, 2016).

A resistência mecânica da fibra capilar pode ser mensurada por equipamentos adequados para medir as propriedades de resistência ou elasticidade da fibra capilar em função da tensão, força ou carga (VELASCO *et al.*, 2009).

A estrutura capilar responsável pelas propriedades mecânicas do cabelo é o córtex, pois é nele onde está a maior massa fibrosa do cabelo humano, lá encontram-se as α -queratinas. Já a medula não tem nenhuma influência na resistência mecânica, portanto não afeta estas propriedades. Estas propriedades mecânicas do cabelo também são afetadas por diversos fatores como a temperatura, umidade relativa, diâmetro da fibra, estrutura e composição proteica (ROBBINS; CRAWFORD, 1991).

A fibra do cabelo tem característica elástica, e pode sofrer um alongamento moderado, estando molhado ou seco, isto é, quando o cabelo é tensionado sob a ação de uma força distal, o mesmo retorna ao seu comprimento original quando essa força deixa de atuar. As propriedades físicas do cabelo envolvem: resistência ao alongamento, elasticidade e poder hidrófilo. Quando uma determinada carga é aplicada sobre um cabelo e seu alongamento é medido, obtém-se características específicas de várias regiões, tais como:

- **Região de Hookean ou pré-recuperação:** o estresse e a tensão são proporcionais à carga aplicada e um módulo de elasticidade pode ser encontrado. Esta região é a resposta homogênea da queratina alfa ao alongamento. A resistência é proporcionada por ligações de hidrogênio que estão presentes entre as hélices que estabilizam a estrutura tridimensional da queratina.
- **Região de recuperação:** o alongamento aumenta consideravelmente sem relação com a carga aplicada. Neste ponto, tem-se a fase de transição da queratina da forma alfa para a forma beta, as cadeias se desdobram sem resistência e, portanto, o estresse não varia com a tensão.
- **Região pós-recuperação:** o estresse aumenta novamente com a tensão, até que a fibra se quebre (WANG *et al.*, 2016).

A fricção é a força que resiste ao movimento quando um corpo desliza sobre outro. A superfície da cutícula tem alto coeficiente de atrito devido à sua forma de escala e depende da geometria da cutícula e do estado físico-químico do cabelo. O atrito contínuo de um fio sobre outro prejudica a cutícula. O coeficiente de fricção difere na linha de cabelos secos e molhados, e é suficiente pentear para danificar o cabelo. Vários fatores influenciam o atrito, como: umidade relativa, ou seja, o atrito é maior nos cabelos molhados do que nos cabelos secos; adescoloração do cabelo aumenta o atrito entre os fios; ondulação permanente e alisamento, devido à composição química e ao alto pH dos ingredientes, o atrito é

aumentado quanto maior o poder de detergente. A adição de substâncias condicionadoras promove um menor coeficiente de atrito do que o shampoo, sem essas substâncias. A carga de ruptura de uma linha de cabelo saudável varia de 50 a 100 g (VESLASCO *et al.*, 2009).

2.9.3 Análise térmica das fibras capilares

Pode-se definir a análise térmica como sendo um grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura e/ou tempo, enquanto essa substância é submetida a um programa controlado de temperatura e sob uma atmosfera específica (DA SILVA; DE PAOLA; MATOS, 2007).

As principais técnicas de análise térmica utilizada para análise das propriedades físicas e químicas de uma substância são a termogravimetria (TGA), análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) (SOUZA, 2011).

A TGA é uma técnica termoanalítica que acompanha a perda e/ou ganho de massa de uma amostra em função do tempo. Já a DTA é uma técnica que determina continuamente a diferença entre as temperaturas da amostra e de um material de referência termicamente inerte, à medida que ambos vão sendo aquecidos em um forno. A DSC é uma técnica na qual as variações de entalpia da amostra são monitoradas em relação a um material de referência termicamente inerte enquanto ambas são submetidas a uma programação controlada de temperatura (GIOLITO, 2004).

Istrate, Papescu e Möller (2009) realizaram medições de DSC para realizar análise cinética do processo endotérmico atribuído à desnaturação do material helicoidal do cabelo humano com excesso de água. Neste trabalho, descobriu-se que o mecanismo cinético é autocatalítico e que o valor da energia de ativação está próximo da cisão de ligação dissulfeto em vez da desnaturação de proteínas. Com isso, foi proposto um mecanismo de múltiplos passos para a desnaturação térmica da α -queratina.

Já Monteiro e Longo (2005) realizaram análises para avaliar alterações na desnaturação da queratina de cabelo humano submetido a tratamento de clareamento e cloração do cabelo. Os cabelos que foram clareados e os cabelos que estavam em uma solução clorida apresentaram uma entalpia de desnaturação mais baixa e uma maior temperatura de desnaturação em comparação com a amostra de cabelo controle. As análises TG e DSC permitiram quantificar o nível de degradação das fibras do cabelo após os tratamentos químicos.

2.10 Avaliação morfológica da fibra capilar

2.10.1 Microscopia de força atômica (AFM)

A AFM tem sido utilizada para estudar a estrutura da superfície do cabelo sendo um importante instrumento para analisar a estrutura celular e molecular do mesmo, determina várias propriedades do cabelo como por exemplo o módulo de elasticidade e as propriedades visco elásticas, além de investigar o comportamento físico de diferentes estruturas celulares do cabelo em ambientes diferentes (BHUSHAN; CHEN, 2006).

É uma técnica não invasiva, capaz de avaliar o efeito de diferentes tipos de tratamento no cabelo e pode ser operacionalizada em condições ambientais com a finalidade de estudar a influência do ambiente em várias propriedades físicas como a medição topográfica da superfície, avaliação do atrito, aderência e desgaste do fio capilar. (MONTEIRO; LONGO, 2002; LA TORRE; BHUSHAN, 2006).

As variáveis utilizadas neste equipamento são rugosidade que é medida para comparar mudanças devido a processos químicos prejudiciais ao cabelo; a força de atrito que avalia os danos ou a distribuição do produto e seu efeito sobre a tricologia do cabelo; a força adesiva que também é utilizada para observar a distribuição do produto e a carga elétrica da superfície do cabelo humano que tem um importante significado sobre a capacidade de comportamento, a sensação e aparência do fio capilar (LA TORRE; BHUSHAN, 2006).

A técnica de AFM também foi utilizada por Monteiro e Longo (2005) para caracterizar as alterações morfológicas nas superfícies das fibras capilares causadas pelos tratamentos de cloração e clareamento do cabelo.

Wei e Bhushan (2006) utilizaram AFM e MEV para estudar as áreas de desgaste do cabelo caucasiano asiático e virgem, danificado quimicamente e mecanicamente através do coeficiente de atrito e da resistência mecânica. Estas técnicas permite desenvolver melhores produtos cosméticos e avançar os estudos da ciências biológica e cosmética.

2.10.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A MEV é muito utilizada para avaliar as condições morfológicas da superfície do cabelo a partir de umagrande ampliação da amostra. Esta amostra é revestida com uma película de carbono / ouro para conduzir a corrente elétrica; então, sob alto vácuo, um feixe de elétrons é direcionado sobre ele e a dispersão é avaliada por um detector que processa a informação gerada e transforma em uma imagem (VESLASCO *et al.*, 2009).

Esta ferramenta permite a obtenção de informações estruturais e química de diversos tipos de amostras, inclusive pode ser utilizada para avaliar as propriedades do fio de cabelo tais como: aparência geral, deposição de partículas sobre a superfície e afinidade por substâncias incorporadas em produtos de aplicação capilar e alterações estruturais e morfológicas (TOMES *et al.*, 2007).

Boonsong, Laohakunjit e Kerdchoechuen (2012) utilizaram o MEV para avaliar a superfície do cabelo após coloração com o extrato de seis plantas tailandesas e verificaram que o cabelo tingido possuía uma boa durabilidade da cor, uma superfície de cabelo lisamorfologicamente, além de alta afinidade e durabilidade da cor até quinze lavagens com shampoo.

3REFERÊNCIAS

ABIHPEC – Associação Brasileira das Indústrias de Higiene, Perfumaria e Cosméticos. Anuário 2016. Disponível em: <https://www.abihpec.org.br/novo/wp-content/uploads/2016-PANORAMA-DO-SETOR-PORTUGU%C3%8AS-14jun2016.pdf>. Acesso em 20/02/2018.

ANDRADE, S.A.C.; METRI, J.C.; NETO, B.B.; GUERRA, N.B. Desidratação Osmótica do Jenipapo (*Genipa americana* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas – SP, v. 23, n. 2, p. 276-281, 2003.

ANDRADE, A.C.S.; SOUZA, A.F.; RAMOS, F.N.; PEREIRA, T.S.; CRUZ, A.P.M. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 609-615, 2000.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União de 31 de agosto de 2000. Resolução RDC nº 79, de 28 de agosto de 2000. Estabelece a definição e Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes e outros com abrangência neste contexto, 2000.

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

BABY, A.R.; VELASCO, M.V.R. Types of hair dye and their mechanisms of action. **Cosmetics**, n. 2, p. 110-126, 2015.

BARTHÉLEMY, N.R., BEDNARCZYK, SCHAEFFER-REIS, C., Dominique JULLIEN, D., DORSSELAER, A.V.; CAVUSOGLU, N. Proteomic tools for the investigation of human hair structural proteins and evidence of weakness sites on hair keratin coil segments. **Analytical Biochemistry**, n. 421, p. 43-55, 2012.

BENTES, A.S., DE SOUZA, H.A.L., AMAYA-FARFAN, J., LOPES, A.S., DE FARIA, L.J.G. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. **Journal of Food Science and Technology**, 2014.

BERGER, J., REISTT, M., MAYER, J.M., FELTT, O.; GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, 2004.

BHUSHAN, B. Nanoescale characterization of human hair and hair conditioners. **Progress in Materials Science**, v. 53, p. 585-710, 2008.

BHUSHAN, B., CHEN, N. AFM studies of environmental effects on nanomechanical properties and cellular structure of human hair. **Ultramicroscopy**, n. 106, p. 755-764, 2006.

BOLDUC, C.; SHAPIRO, J. Hair Care Products: Waving, Straightening, Conditioning, and Coloring. **Clinics in Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 431-436, 2001.

BOONSOONG, P.; LAOHAKUNJIT, N.; KERDCHOECHUEN, O. Natural pigments from six species of Thai plants extracted by water for hair dyeing product application, **Journal of Cleaner Production**, n.37, p. 93-106, 2012.

BUTLER, M.F.; NG, Y.; PUDNEY, P.D.A. Mechanism and kinetics of the crosslinking reaction between biopolymers containing primary amine groups. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 41, p. 3941-3953, 2003.

CAPITLA, P.; ARTIGAS, J.M. **Fundamentos de Colorimetria**. Espanha: Editora Universitat Valencia, 2002.

CARVALHO, J.E.U.; NASCIMENTO, W.M.O.; MÜLLER, C.H. Características físicas e de germinação de sementes de espécies frutíferas nativas da Amazônia. **Embrapa-CPATU. Boletim de Pesquisa**, n. 203, 1998.

COCHRANE, S. The Munsell Color System: A scientific compromise from the world of art. **Studies in History and Philosophy of Science Part A**, v. 47, p. 26-41, 2014.

CHUA, S.L.; LEVELL, N. The art of hair coloring – a history. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 52, n. 53, suppl. 1, p. 35, 2005.

COMMO, S.; GAILLARD, O.; BERNARD, B.A. Human hair is linked to a specific depletion of hair follicle melanocytes affecting both the bulb and the outer root sheath. **British Journal of Dermatology**, v.150, p. 435-443, 2004.

CRUZ-ROMERO, M.; KELLY, A.L.; KERRY, J.P. Effects of high-pressure and heat treatments on physical and biochemical characteristics of oysters (*Crassostrea gigas*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 8, p. 30-38, 2007.

DA SILVA, E.C.; DE PAOLA, M.V.R.V.; MATOS, J.R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 347-356, 2007.

DIAS, M.F.R.G. Hair Cosmetics: An Overview. **International Journal of Trichology**, n. 7, v. 1, p. 2-15, 2015.

DOS SANTOS, A.E.; DE SOUSA, M.F., PEREIRA, S.M., DE ANDRADE, N.S., DE OLIVEIRA, J.R., DE ALMEIDA JUNIOR, J.M. Coloração capilar: os efeitos das tinturas na saúde e na fibra capilar. **Educação, Gestão e Sociedade: revista da Faculdade Eça de Queirós**, n. 22, p. 1-11, 2016.

FRANÇA, S. A.; CARAMÊS, M. G. **Revista Química e Derivados**, ano XLIV, n. 479, p. 32-46, 2008.

FRANÇA, S.A., DARIO, M.F., ESTEVES, V.B., BABY, A.R., VELASCO, M.V.R. Types of hair dye and their mechanisms of action. **Cosmetics**, n. 2, p.110-126, 2015.

FREIRE, S.O.M. Benefícios da pesquisa biotecnológica cosmética com ênfase na área de terapia capilar. **Revista Uningá**, v. 23, n. 3, p. 13-19, 2015.

FUJIKAWA, S.; NAKAMURA, S.; KOGA, K. Genipin, a new type of protein crosslinking reagent from Gardenia fruits. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 869-870, 1988.

GERHARD, J.N.; SKARE, J.A.; MEULING, W.J.A.; WEHMEYER, K.R.; DE BIE, A.T.H.J.; VAES, W.H.J.; DUFOUR, E.K.; FAUTZ, R.; STEILING, W.; BRAMANTE, M.; TOUTAIN, H. Human systemic exposure to [14C]-paraphenylenediamine-containing oxidative hair dyes: Absorption, kinetics, metabolism, excretion and safety assessment. **Food and Chemical Toxicology**, 2015.

GIOLITO, M.I. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz Editorial, 2004.

GONSALVES, A.A.; ARAÚJO, C.R.M.; SOARES, N.A.; GOULART, M.O.F.; ABREU, F.C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, n. 07, v. 34, p. 1215-1223, 2011.

GUERRA-TAPIA, A.; GONZALEZ-GUERRA, E. Hair Cosmetics: Dyes. **Acta Dermosifiliográficas**, n. 105, v. 9, p. 833-839, 2014.

HARRIS, M.I.N.C. **Pele: do nascimento à maturidade**. São Paulo: Editora Senac, 2016.

HunterLab. (1996) Insight on color. Application note, vol. 8, nº 7. USA: HunterLab.

INAO, M.; MOCHIDA, S.; MATSUI, A.; EGUCHI, Y.; YULUTUZ, Y.; WANG, Y.; NAIKI, K.; KAKINUMA, T.; FUJIMORI, K.; NAGOSHI, S.; FUJIWARA, K. Japanese herbal medicine Ichin-ko-to as a therapeutic drug for liver fibrosis. **Journal Hepatology**, v.41, p. 584-591, 2004.

ISTRATE, D.; POPESCU, C.; MÖLLER, M. Non-isothermal kinetics of Hard α -keratin thermal denaturation. **Macromolecular Bioscience**, v. 9, p. 805-812, 2009.

JAMART, J.; DJAGHLOUL, M.; BERGHEAU, J.M.; ZAHOUANI, H. Effect of water desorption on the rheology and dynamic response of human hair to a non-contact impact. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, n. 46, p. 176-183, 2015.

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

KIRKLAND, D.; MARZIN, D. An assessment of the genotoxicity of 2-hydroxy-1, 4 naphthoquinone, the natural dye ingredient of Henna. **Mutation Research**, n. 537, p. 183-199, 2003.

KONICA MINOLTA. Precise color communication. Color terms. Disponível em: <http://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/part4/01.html>. Acesso em: 08. Jun. 2015.

KOO, H.J.; SONG, Y.S.; KIN, H.J.; LEE, Y.H.; HONG, S.M.; KIM, S.J.; KIM, B.C.; JIN, C.; LIN, C. J.; PARK, E.H. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. **European Journal of Pharmacology**, v. 495, p. 201-208, 2004.

KUO, Y.C.; LIN, C.Y. Effect of genipin-crosslinked chitin-chitosan scaffolds with hydroxyapatite modifications on the cultivation of bovine knee chondrocytes. **Biotechnology Bioengineering**, v. 95, n. 1, p. 132-144, 2006.

- KUZUHARA, A. Analysis of internal structure changes in black human hair keratin fibers resulting from bleaching treatments using Raman spectroscopy. **Journal of Molecular Structure**, v. 1047, p.186-198, 2013.
- LA TORRE, C., BHUSHAN, B. Investigation of scale effects and directionality dependence on friction and adhesion of human hair using AFM and macroscale friction test apparatus. **Ultramicroscopy**, v. 106, p. 720-734, 2006.
- LAI-CHEONG, J.E.; MCGRATH, J.A. Structure and function of skin, hair and nails. **Medicine**, n. 41, v. 6, p. 223-226, 2013.
- LEE, S.W., LIM, J.M., BHOO, S.H.; PAIK, Y.S.; HAHN, T.R. Colorimetric determination of amino acids using genipin from *Gardenia jasminoides*. **Analytica Chimica Acta**, n. 480, p. 267-274, 2003.
- LESZEK, J.W. Human hair: a unique physicochemical composite. **Journal of the American Academy Dermatology**, n. 48, p. S106-S114, 2003.
- LIN, J.Y.; FISHER, D.E. Melanocyte biology and skin pigmentation, **Insight Review**, v. 445, p. 843-850, 2007.
- MATSUNAGA, R., ABE, R., ISHII, D., WATANABE, S., KIYOSHIA, M., NÖCKER, B., TSUCHIYA, M., TSUMOTO, K. Bidirectional binding property of high glycine–tyrosine keratin-associated protein contributes to the mechanical strength and shape of hair. **Journal of Structural Biology**, n. 183, p. 484-494, 2013.
- MOREL, O.J.X.; CHRISTIE, R.M. Current Trends in the Chemistry of Permanent Hair Dyeing. **Chemical Reviews**, v.111, p. 2537-2561, 2011.
- MONTEIRO, J.H.P. (2009). *Manual de Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos*/IBAM, Rio de Janeiro. 200 p.
- MONTEIRO, V.F.; LONGO. E. Análise morfológica de polímeros utilizando MEV e MFA. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, Rio Grande do Norte, 2002.
- MONTEIRO, V. F.; LONGO. Thermal analysis of caucasian human hair, **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 79, p. 289–293, 2005.
- NISHIMURA, E.K., GRANTER, S.R., FISHER, D.E. Mechanisms of hair graying: Incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. **Science**, v. 307, p. 720-724, 2005.

NOGUEIRA, A.C.S.; RICHENA, M.; DICELIO, L.E.; JOEKES, I. Photo yellowing of human hair. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, n. 88, p.119-125, 2007.

NOHYNEK, G.J.; SKARE, J. A.; MEULING, W.J.A.; WEHMEYER, K.R.; BIE A.T.H.J.; VAES, W.H.J.; DUFOUR, E.K.; FAUZ, R.; STEILING, W.; BRAMANTE, M.; TOUTAIN, H. Human systemic exposure to [14C]-paraphenylenediamine-containing oxidative hair dyes: Absorption, kinetics, metabolism, excretion and safety assessment. **Food and Chemical Toxicology**, n. 81, p. 71-80, 2015.

OLIVEIRA, I.O., ALMEIDA JÚNIOR, H.L. Current knowledge on the biology of melanocytes in the human hair follicle. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, Rio de Janeiro, n. 78, v. 3, p. 331-343, 2003.

OLIVEIRA, R.A.G.; ZANONI, T.B.; BESSEGATO, G.G.; OLIVEIRA, D.P.; UMBUZEIROS, G.A.; ZANONI, M.V.B. A química e a toxicidade dos corantes de cabelo. **Química Nova**, v. 37, n. 06, p.1037-1046, 2014.

PANDHI, D.; KHANNA, D. Premature graying of hair. **Symposium-hair disorders**, v. 79, n. 5, p.641-653, 2013.

PANTELEYEV, A.A.; JAHODA, C.A.B.; CHRISTIANO, A. M. Hair follicle predetermination. **Journal of Cell Science**, n. 114, p. 3419 – 3431, 2001.

PINTO, A.C.; COSTA, A.M.; SILVA, J.C.R.; CAMPOS, A.R.; RAO, V.S.N.; MACIEL, M.A.M.; **Phytotherapy Research**, n.13, v.1, 1999.

PORTO, R.G.C.L., CARDOSO, B. V. S., BARROS, N. V. A., ARAÚJO, M. A. M., MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Genipa Americana L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**, v. 3, n. 4, p. 51-61, 2014.

POZEBON, D.; DRESSLER, V.L.; CURTIUS, A.J. Análise de cabelo: uma revisão dos procedimentos para a determinação de elementos traço e aplicações. **Química Nova**, n. 22, v. 6, 1999.

RAMOS-DE-LA-PEÑA, A.M.; RENARD, C.M.G.C.; WICKER, L.; MONTAÑEZ, J.C.; GARCIA-CERDA, L.A.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C. Environmental friendly cold-mechanical/sonic enzymatic assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana*). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 43-49, 2014.

RENHE, I.R.T., STRINGHETA, P.C., SILVA, F.F., DE OLIVEIRA, T.V. Obtenção de corante natural azul extraído de frutos de jenipapo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 6, p. 649-652, 2009.

RICHENA, M.; SILVEIRA, M.; REZENDE, C. A.; JOEKES, I. Yellowing and bleaching of grey hair caused by photo and thermal degradation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, n. 138, p.172-181, 2014.

RICHTER, J.R., GUZMAN, O.K.G., DYKE, M.V. Structure-property relationships of meta-kerateine biomaterials derived from human hair. **Acta Biomaterialia**, n. 8, p. 274-281, 2012.

RIEGER, M.M.; BRECHNER, S. Depilatories. In: DE NAVARRE, M.G. **The chemistry and manufacture of cosmetics**. 2 ed. Wheaton: Allured Publishing, 1998, cap. 61, v. 4, p. 1229-1273.

ROBBINS, C.R.; CRAWFORD, R.J. Cuticle damage and the tensile properties of human hair. **Journal of the Society of Cosmetic Chemists**, v. 42, p. 59-60, 1991.

ROBBINS, C.R. The cell membrane complex: Three related but different cellular cohesion components of mammalian hair fibers. **International Journal of Cosmetic Science**, n.60, p. 437-465, 2009.

ROBBINS, C.R. **Chemical and physical behavior of human hair**. 4 ed. New York: Springer-Verlag, 2012.

ROCHA, L.M.; MOREIRA, L.M.A.; Diagnóstico do albinismo oculocutâneo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 1, p. 25-30, 2007.

SANTANA, C.F., OIWA, N.N., COSTA, M.F., TIEDEMANN, K.B., SILVEIRA, L.C.L., VENTURA, D.F. Espaço de Cores. **Revista Psicologia USP**, v.17, n.4, p. 35-62, 2006.

SCANAVEZ, C.; SILVEIRA, M.; JOEKES, I. Human hair: color changes caused by daily care damages on ultra-structure. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n. 28, p. 39-52, 2003.

SESHADRI, I.P.; BHUSHAN, B.; **In situ tensile deformation characterization of human hair with atomic force microscopy**, v. 56, n. 4, p. 774-781, 2008.

SEMWAL, R.B; SEMWAL, D.K.; COMBRINCK, S.; CARTWRIGHT-JONES, C.; VILJOEN, A. *Lawsoniainermis*L. (henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 155, v. 1, p. 80-103, 2014.

SILVA, A.P.; LIMA, C.L.C.; VIEITES R.L. Caracterização química e física do jenipapo (*Genipa americana* L.) armazenado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n.1, v. 55, Piracicaba Jan./Apr. 1998.

SILVA, D.B. da; SILVA, J.A. da; JUNQUEIRA, N.T.V.; ANDRADE, L.R.M. Frutas do cerrado. EMBRAPA CERRADOS. EMBRAPA informações tecnológicas. Brasília, DF, 2001, p. 179.

SINGH, I. Human Hair Perforation: An Additional Tool in Forensic Biology. **Journal of Forensic Review**, v. 5, n. 6, p. 1-4, 2014.

SMITH, J.R., TSIBOUKLIS, J., NEVELL, T.G., BREAKSPEAR, S. AFM friction and adhesion mapping of the substructures of human hair cuticles. **Applied Surface Science**, v. 285, p. 638-644, 2013.

SOUZA, S.P.M.C. de., 2011. **Determinação do teor de cálcio através da termogravimetria em medicamentos utilizados no tratamento da osteoporose: um estudo comparativo**. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Terra, Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

STREHIAU, V.I.; CLARO, D.P.; LABAN NETO, S.A. A vaidade impulsiona o consumo de cosméticos e de procedimentos estéticos cirúrgicos nas mulheres? Uma investigação exploratória. **Revista de Administração**, v.50, n.1, p.73-88, 2015.

TOBIN, D.J. Human hair pigmentation – biological aspects. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 30, p. 233-257, 2008.

TOMES, C.; JONES, J.T.; CARR, C.M.; JONES, D. Three-dimensional imaging and analysis of the surface of hair fibers using scanning electron microscopy. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 29, n. 3, p. 293–299, 2007.

TUTARI, F.; PELUCCHI, C.; GALEONE, C.; DECARLI, A.; VECCHIA, C.L. Personal hair dye use and bladder cancer: a meta-analysis. **Annals of Epidemiology**, v. 24, p. 151-159, 2014.

VAN NESTE, D.; TOBIN, D.J. Hair cycle and hair pigmentation: dynamic interactions and changes associated with aging. **Micron**, v. 35, p. 193-200, 2004.

VELASCO, M.V.R., DIAS, T.C. de S., FREITAS, A.Z., JÚNIOR, N.D.V., PINTO, C.A.S. de O., KANEKO, T.M., BABY, A.R.; Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, 2009.

WAGNER, R.C.C., 2006. **A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor dos cabelos**. São Paulo. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

WANG, B.; YANG, W.; MCKITTRICK, J.; MEYERS, M.A. Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. **Progress in Materials Science**, v.76, p. 229-318, 2016.

WEI, G., BHUSHAN, B. Nanotribological and nonomechanical characterization of human hair using a nanoscratch technique. **Ultramicroscopy**, n. 106, p. 742-754, 2006.

YANG, F; ZHANG, Y.; RHEINSTÄDTER, M. C. The structure of people's hair. **Peer Journal**, v. 2, n.619, p. 1-19, 2014.

YU, Y., YANG, W., MEYERS, M.A. Viscoelastic properties of α -keratin fibers in hair. **Acta Biomaterialia**, v. 64, p.15-28, 2017.

CAPÍTULO II

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS IRIDÓIDES COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS DE *GENIPA AMERICANA* L.

Andréa Vasconcelos Machado, Adriana Karla de Lima, Fernanda Menezes Pereira, Luana Renyelle de Oliveira Menezes, Maria Nogueira Marques, Francine Ferreira Padilha, Juliana Cordeiro Cardoso.

Artigo em preparação para ser submetido à revista Food Chemistry.

Extração de compostos iridóides com atividade antioxidante dos frutos de *Genipa americana* L.

RESUMO

O jenipapo, fruto da árvore *Genipa americana* L., é rico em iridóides que possuem alto valor comercial, pois é muito utilizado pela indústria de alimentos, cosméticos e de medicamentos. Geralmente, a extração destes iridóides requer etapa enzimática que encarece o processo extrativo. No presente estudo foram utilizados métodos convencionais de maceração, soxhlet e banho de ultrassom para obtenção dos iridóides antioxidantes, a partir de frutos verdes e maduros da *Genipa americana* L. utilizando metanol e metanol/água 1:1 como solventes extratores em dois tempos de extração diferentes. Os extratos foram caracterizados por cromatografia líquida de alta performance acoplada ao espectrômetro de massas (HPLC-DAD-MS) e pelo seu potencial antioxidante pelo método do DPPH. O fruto maduro do jenipapo foi o que apresentou maior rendimento. Foi possível identificar nos frutos maduros da *Genipa americana* L. a presença do geniposídeo e não da genipina em todas as diferentes condições testadas. A extração pelo método Soxhlet apresentou maior rendimento, maior concentração relativa de geniposídeo e melhor desempenho antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antioxidante, geniposídeo; genipina, métodos de extração.

ABSTRACT

Genipap, the fruit of the *Genipa americana* L. tree, is rich in iridoids that have high commercial value, as it is widely used by the food, cosmetics and medicine industry. Generally the extraction of these iridoids requires an enzymatic step that increases the extraction process. In the present study, conventional methods of maceration, soxhlet and ultrasound bath were used to obtain the antioxidant iridoids, from green and mature fruits of *Genipa americana* L. using methanol and methanol / water 1: 1 as extraction solvents in two extraction times many different. The extracts were characterized by high performance liquid chromatography coupled to the mass spectrometer (HPLC-DAD-MS) and its antioxidant potential by the DPPH method. The mature fruit of genipap was the one with the highest yield. It was possible to identify the presence of the geniposide and not genipine in all the different tested conditions in the mature fruits of *Genipa americana* L. The extraction by the Soxhlet method showed higher yield, higher relative concentration of geniposide and better antioxidant performance.

KEYWORDS: antioxidant activity, geniposide; genipine, extraction methods.

1 INTRODUÇÃO

Genipa americana L. ou jenipapeiro pertence à família das *Rubiaceae* e se destaca pela sua ampla distribuição geográfica que compreende as regiões tropical e subtropical da América Central e América do Sul incluindo o Caribe (UNCTAD, 2005; ZAPPI, 2018). Todas as suas partes são utilizadas e empregadas na medicina popular (ASSIS, 2015) e são caracterizadas pela presença de iridóides (LORENZI, 2008).

Geniposídeo e a genipina são os principais iridóides encontrados no jenipapo (INAO *et al.*, 2004). O fruto possui ação farmacológica antiinflamatória que se deve a presença da genipina gerada a partir da hidrólise do geniposídeo, podendo ocorrer no intestino com a ação das bactérias da flora intestinal ou durante o amadurecimento do fruto (UEDA; IWAHASHI, 1991; INAO *et al.*, 2004). A genipina, também encontrada nos frutos de jenipapo tanto verde quanto maduro, é usada como agente reticulador em nanoformulações (LI *et al.*, 2015) e descrita exercendo efeitos de supressão do crescimento das células de câncer de bexiga (LI *et al.*, 2018). Além disso, os iridóides geniposídeo e genipina reduzem infecções por *H. pylori* em testes *in vivo*, interferindo no crescimento e a virulência desta bactéria (CHANG *et al.*, 2017).

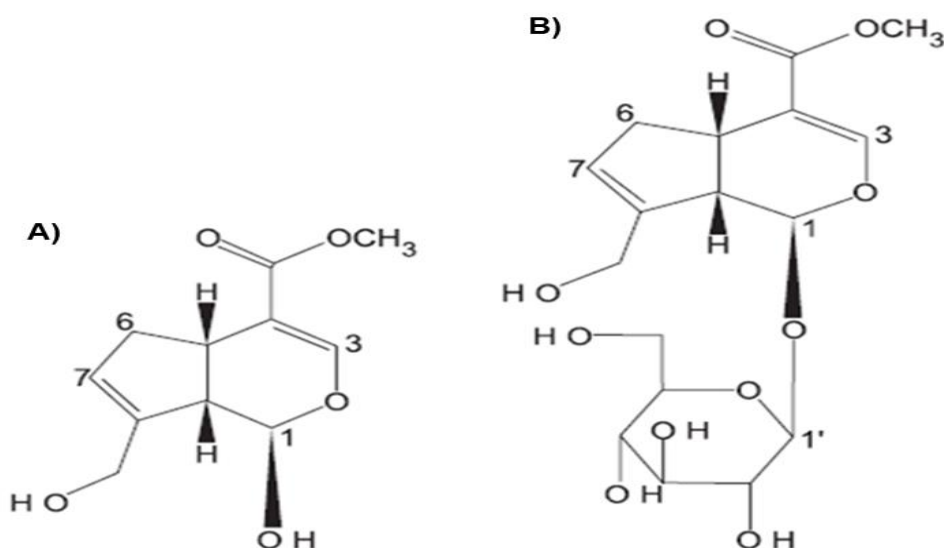


Figura 1. Principais iridóides encontrados no fruto da *Genipa americana* L.: (A) genipina e (B) geniposídeo (BENTES *et al.*, 2014).

Tais iridóides também são encontrados nos frutos da *Gardenia jasminoides*, e tem sido a principal fonte de obtenção destas moléculas. Estudos comparando a quantidade de

iridóides presentes na *Gardenia jasminoides* e na *Genipa americana* L. identificou nos frutos verdes do jenipapeiro uma concentração maior de geniposídeo do que na *Gardenia* (BENTES; MERCADANTE, 2014).

Os iridóides presentes no jenipapo possuem interesse industrial, principalmente para indústria de alimentos, pois tais moléculas reagem com proteínas produzindo pigmentos que podem ser usados com segurança em produtos alimentares (BENTES; MERCADANTE, 2014). O jenipapo é empregado nas indústrias de alimentos e de cosméticos por fornecer principalmente corantes azul e preto agregando assim, valor econômico aos seus derivados (UNCTAD, 2005).

Para extração destes iridóides do jenipapo, com foco na obtenção da genipina, a literatura descreve principalmente métodos em que o geniposídeo é hidrolisado através da enzima β -glucosidase para produzir genipina, tornando-se um pigmento azul ao reagir com grupos aminas (LEE *et al.*, 2003; KOO *et al.*, 2004). Este processo gera custos e possui limitações, pois as moléculas de genipina e geniposídeo podem reagir com os grupamentos amino das enzimas, inviabilizando a purificação das moléculas alvo (LIEN; LI; HUANG, 2008).

A otimização do processo de extração de biomoléculas a partir de plantas naturais torna-se imprescindível para viabilizar o desenvolvimento de produtos com maior qualidade e melhor custo benefício (MUKHERJEE, 2011). Desta forma, este trabalho teve como objetivo, avaliar três métodos de obtenção de extrato seco do fruto do jenipapeiro (*Genipa americana* L.) em busca de identificar o método mais simples e eficiente e que seja capaz de extrair o geniposídeo presente no jenipapo.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Material botânico

Os frutos do jenipapeiro, o jenipapo (*Genipa americana* L.), foram obtidos no município de Estância/SE (11°8'54" S / 37°21'3" O) e selecionados de acordo com o grau de maturação dos mesmos. A exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Tiradentes sob número de registro AJU870. Os frutos foram colhidos no mês de agosto de 2014 e mantidos em freezer até a realização da pesquisa. Os jenipapos coletados foram divididos em dois grupos: maduro e verde. A caracterização do estágio de maturação dos frutos se deu por avaliação macroscópica levando em conta o tamanho, rigidez, textura e coloração.

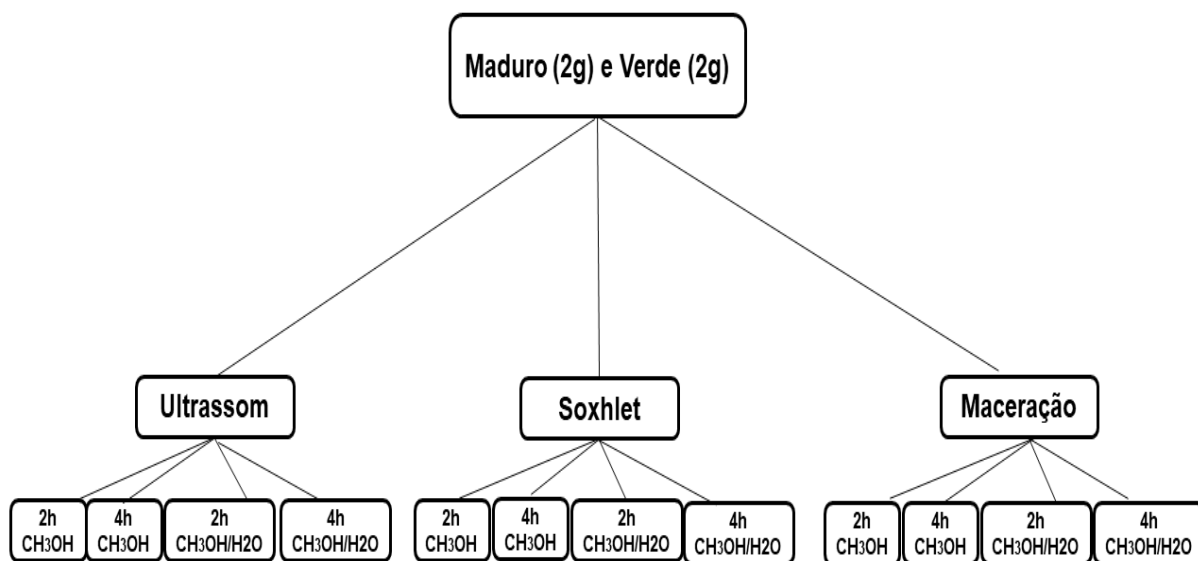
Os frutos foram lavados em água corrente, secos e retirada as cascas e sementes. A polpa foi seca em estufa a 55°C durante 72 h, após foi armazenado em dessecador por 24 h. A polpa seca foi pulverizada em moinho de facas e passada em peneira de 32 mesh (0,5 mm) para a obtenção do pó.

2.2 Extração

As amostras do material vegetal seco, tanto verde, quanto maduro (2 g) foram utilizadas para extração através dos métodos de maceração, Soxhlet e ultrassom, utilizando como sistema de solvente extrator 200 mL de metanol ou 200 mL de metanol:água (1:1 (v/v)) e tempo de contato entre solvente e material de 2 ou 4 h, conforme fluxograma 1.

Após as extrações foram separados os resíduos insolúveis no solvente por filtração a vácuo, e o solvente eliminado em temperatura máxima de 50°C±5°C. O material obtido foi pesado e o rendimento das extrações calculado em relação à massa inicial do material botânico utilizado.

As extrações foram realizadas utilizando a polpa do jenipapo maduro e verde.



Fluxograma 1. Condições experimentais utilizadas na extração do jenipapo maduro e verde pelos métodos de maceração, Soxhlet e ultrassom.

2.3 Caracterização química por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD-MS)

Utilizou-se o cromatógrafo líquido de alta eficiência (UFLC20A Shimadzu) equipado com um amostrador automático (modelo SIL-20AHT UFLC) com um loop de injeção de 100

μL, um desgaseificador (modelo DGU-20A3R), bomba binária (modelo LC-20ADx), forno (modelo CTO-20A), detector espectrofotométrico com arranjo de diodos (modelo SPD-M20A) e módulo de comunicação (modelo CBM-20A) acoplado a um espectrômetro de massa (modelo MicrOTOF II, Bruker). Como fase móvel foi utilizada água ultrapura e acetonitrila como solventes grau LC-MS. As amostras passaram pelo CLAE-DAD e somente uma amostra do geniposídeo foi injetado no espectrômetro de massas.

Os extratos obtidos por maceração, extração Soxhlet e ultrassom foram previamente avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A fase móvel utilizada foi constituída de uma mistura acetonitrila e água (15:85) na presença de 0,1% de ácido fórmico, utilizando um fluxo de 0,7 mL/min e detecção por absorção no UV em 240 nm para a genipina padrão e 242 nm para as amostras de extrato de jenipapo. A concentração dos extratos injetados foi de 20 mg/mL solubilizados em uma mistura de metanol/água (1:1), com volume de injeção de 10μL.

A genipina, principal componente presente nos extratos de jenipapo, foi utilizada como padrão nas concentrações de 0,25, 0,5, 0,75 e 1,0 mg/L, foi solubilizada em mistura de metanol/água (1:1) e injetada no cromatógrafo nas mesmas condições anteriores (DJERASSI; GRAY; KINCL, 1960).

2.4 Avaliação antioxidante pelo método do DPPH(2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

O potencial antioxidante dos extratos dos frutos da *Genipa americana* L. foi investigado pelo método DPPH na busca de novos compostos bioativos a partir de recursos naturais (MAHDI-POUR *et al.*, 2012).

A determinação da atividade antioxidante foi realizada através do modelo de sequestro do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) na presença de antioxidantes conforme descrito por SOUZA *et al.* (2007) com modificações.

O extrato seco de jenipapo maduro foi redissolvido no mesmo solvente de obtenção do extrato (metanol:água (1:1) ou metanol) na concentração de 300 mg/mL. A partir desta solução mãe foram obtidas soluções de diferentes concentrações (entre 0,1 mg/mL e 15 mg/mL) utilizando mesmo solvente. Foram utilizados 3 mL de cada solução e adicionados 750 μL da solução de DPPH 200 mM. A mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 15 minutos à temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi realizado utilizando os solventes, o qual foi denominado controle. Após o período de repouso, foi realizada leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm utilizando os respectivos solventes para zerar o equipamento. O experimento foi realizado em triplicata.

O cálculo da % de inibição do radical livre foi feito utilizando a equação 1:

$$\%I = (AC - AA) \times 100 / AC$$

Na qual:

%I é a porcentagem de inibição do radical livre DPPH pela amostra em relação ao controle;

AC é a absorvância determinada no controle;

AA é a absorvância determinada na amostra na respectiva concentração.

A concentração do extrato capaz de inibir 50% das moléculas de DPPH (IC50) foi determinada a partir dos resultados de %I nas diferentes concentrações por regressão não linear utilizando o programa computacional Prisma 5.0.

2.5 Análise Estatística

Os resultados foram comparados utilizando o programa Statistic 8.0, sendo aplicado análise de variância (ANOVA) seguido de teste Tukey. Foram considerados valores com diferença significativa aqueles que apresentaram $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento dos diferentes métodos de extração em tempos, sistemas solventes variados e em relação a maturação do jenipapo, verde e maduro estão apresentados na Figura 2. As amostras que apresentaram maior rendimento, independente do solvente utilizado e do método de extração foram as do jenipapo maduro. A extração do jenipapo verde obteve rendimento semelhante entre si independentemente do método ou solvente utilizado (cerca de 40%).

A extração do jenipapo maduro pelo método de maceração obteve rendimento próximo a 80%, obtendo melhor resultado com o tempo de 2h tanto para o solvente metanol quanto para o sistema solvente metanol:água (Figura 2A).

Na extração por Soxhlet, o rendimento foi melhor também com as amostras maduras, obtendo resultados similares ao da maceração e o melhor rendimento para o metanol:água no tempo 4h (Figura 2B).

O método de ultrassom apresentou menor rendimento em função do tempo e do solvente quando comparado aos demais métodos. Pode-se observar que apenas para o

tempo 2h metanol:água o rendimento foi próximo a 80% (Figura 2C). Neste método, o fruto maduro também apresentou maior rendimento.

Obteve-se o melhor rendimento no tempo de 2h para quase todos os testes no resultado de rendimento da extração. O tempo necessário para atingir o equilíbrio de solubilização das substâncias polares do fruto deve ser inferior a 2h, o que torna o processo de extração passível de posterior otimização para a variável tempo. Em relação aos sistemas solventes utilizados, os dois solventes utilizados possuem polaridades semelhantes e por esta razão acabam por apresentar solubilidade dos solutos e cinética de extração semelhantes (VAZQUEZ-ROIG; PICÓ, 2015).

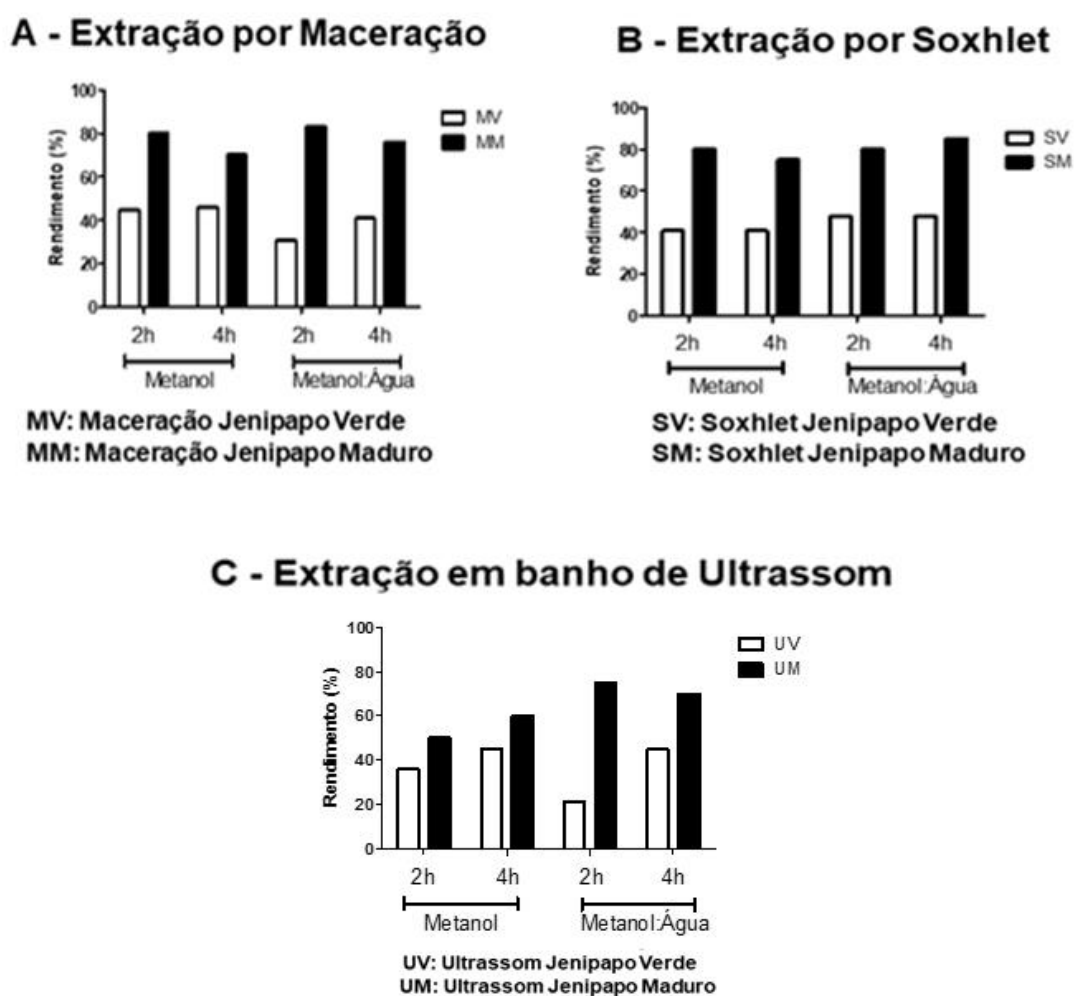


Figura 2. Variáveis de rendimento com soluções de metanol e metanol:água nos métodos (A)Maceração, (B) Soxhlet e(C) Ultrassom.

A escolha do método de extração e solvente adequado é fundamental para que se padronize esta etapa de produção. Estudos comparativos para a seleção do solvente adequado são necessários, tendo como objetivo selecionar o solvente menos oneroso/poluinte e que produza o melhor rendimento/efetividade biológica (ANDREO; JORGE, 2006). Sendo assim, para se definir o melhor método, a identificação e a comparação do teor de iridóides nas amostras foram determinados.

Quando estas amostras foram submetidas ao ensaio cromatográfico, observou-se que todas apresentaram perfis semelhantes com um pico em 5 minutos e outro em 12,7 minutos. A Figura 3 apresenta o cromatograma de todas as amostras sobrepostas.

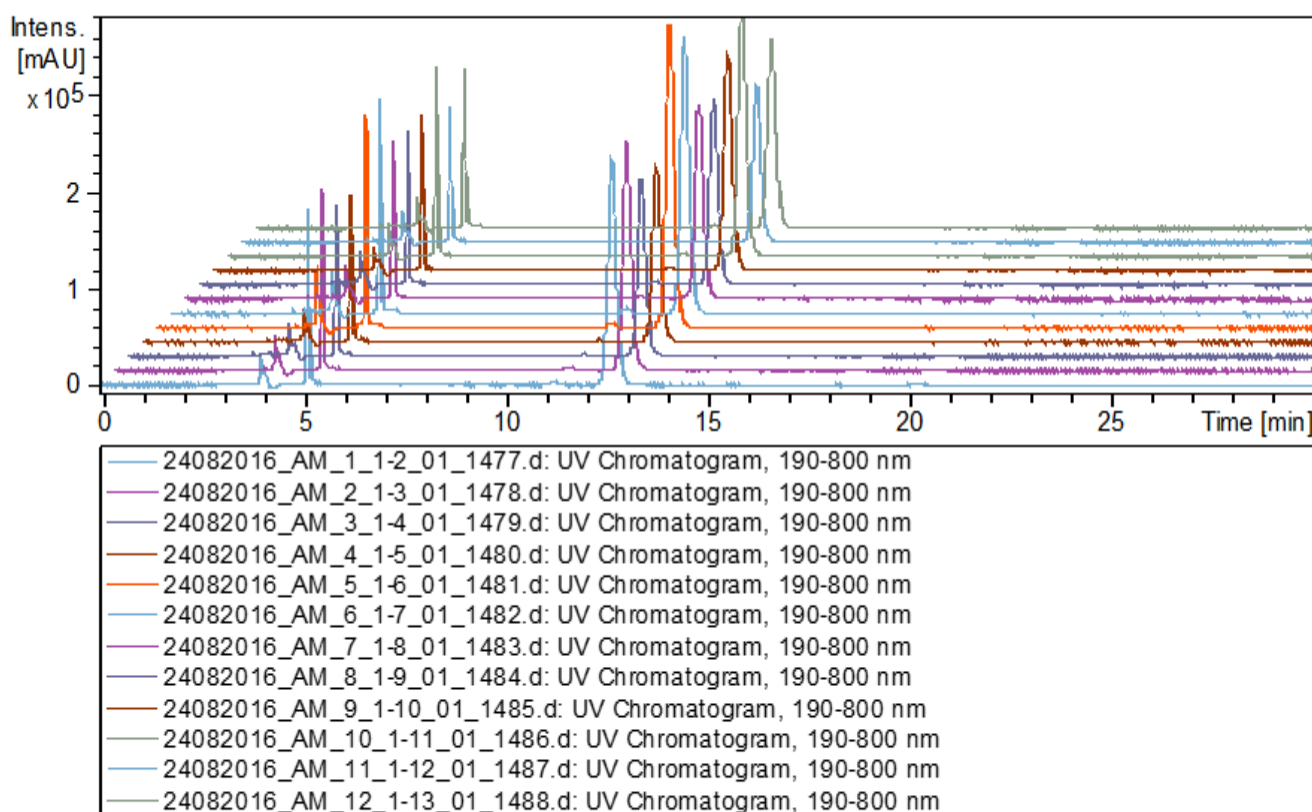


Figura 3 - Cromatograma para amostras sobrepostas de extrato de jenipapo (detecção em 242 nm).

A Figura 4 apresenta o perfil cromatográfico da amostra 11 do extrato de jenipapo (A), do extrato de jenipapo com adição do padrão de genipina (B) e do padrão de genipina (C). O padrão de genipina apresentou um pequeno pico em 5 minutos e outro maior em 25 minutos. Na amostra, não foi observado o pico em 25 minutos, porém apresenta dois picos bem evidentes em 5 minutos e outro em 12,7 minutos que, provavelmente, podem ser moléculas precursoras da genipina, tais como moléculas de geniposídeo.

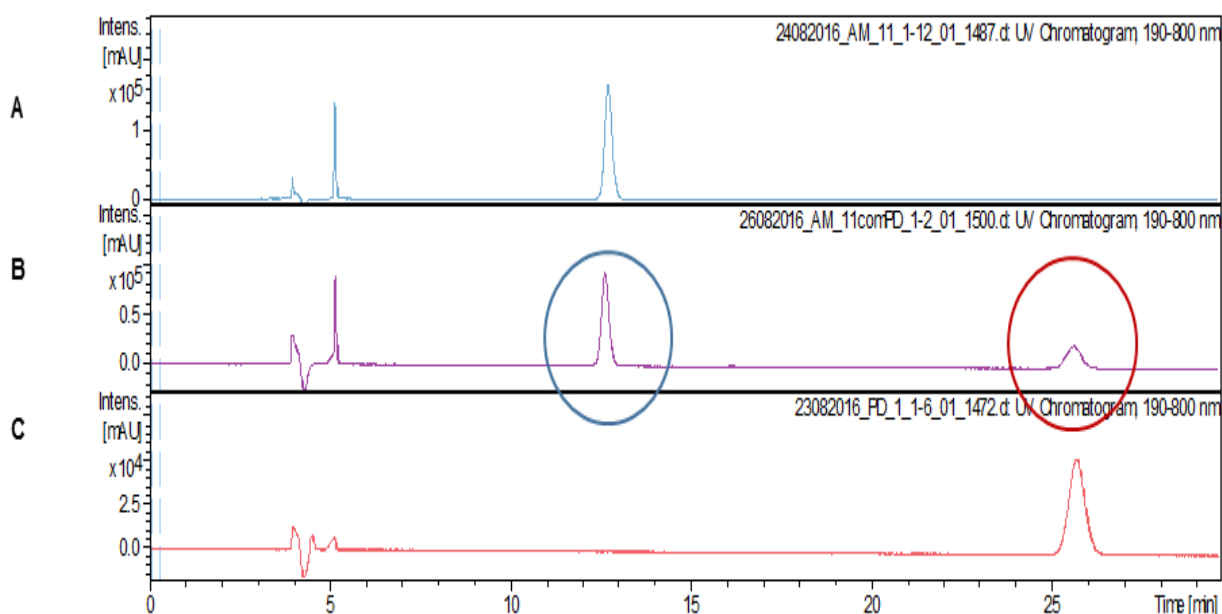


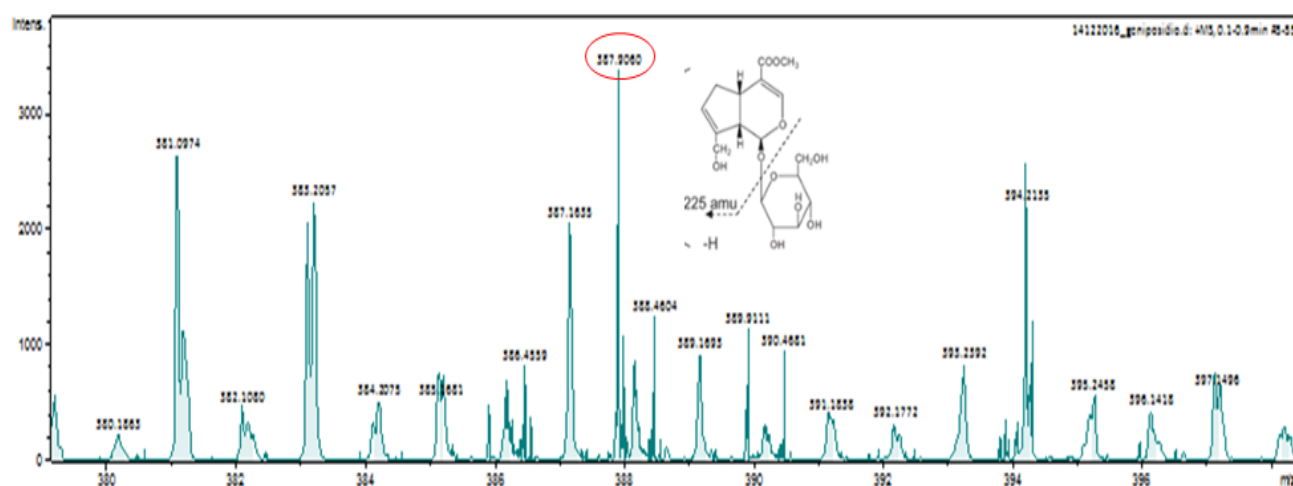
Figura 4. (A) Cromatograma da amostra 11 do extrato de jenipapo, (B) extrato de jenipapo com adição do padrão de genipina e (C) padrão da genipina.

Bentes e Mercadante (2014), utilizando polpa de jenipapo maduro e verde, identificaram geniposídeo em ambos os frutos sendo que, as concentrações maiores foram encontradas no fruto verde, observaram também que os frutos maduros do jenipapo apresentaram uma redução de 90% nos conteúdos de iridóides, especialmente geniposídeo, em relação aos frutos verdes, o que explica a não formação de pigmento azul nos frutos maduros.

Como as amostras não apresentaram o pico em 25 min referente ao padrão empregado, as amostras foram submetidas a espectrometria de massa para conhecer a massa molecular da substância eluída em 12,7 minutos (Figura 5). Os resultados do espectro

de massa corroboram aos valores encontrados para o geniposídeo em estudos realizados por Wang; Huang; Tsai (2007). Foi observado no modo positivo o íon molecular 387.9 m/z nas amostras de extrato de jenipapo que corresponde ao pico do geniposídeo com íon molecular 389.14 m/z, descritos pelos autores. O espectro de geniposídeo no modo negativo apresenta um fragmento em 387.90 m/z para as amostras, semelhante ao encontrado por Wang; Huang; Tsai (2007) de 387.12 m/z.

A



B

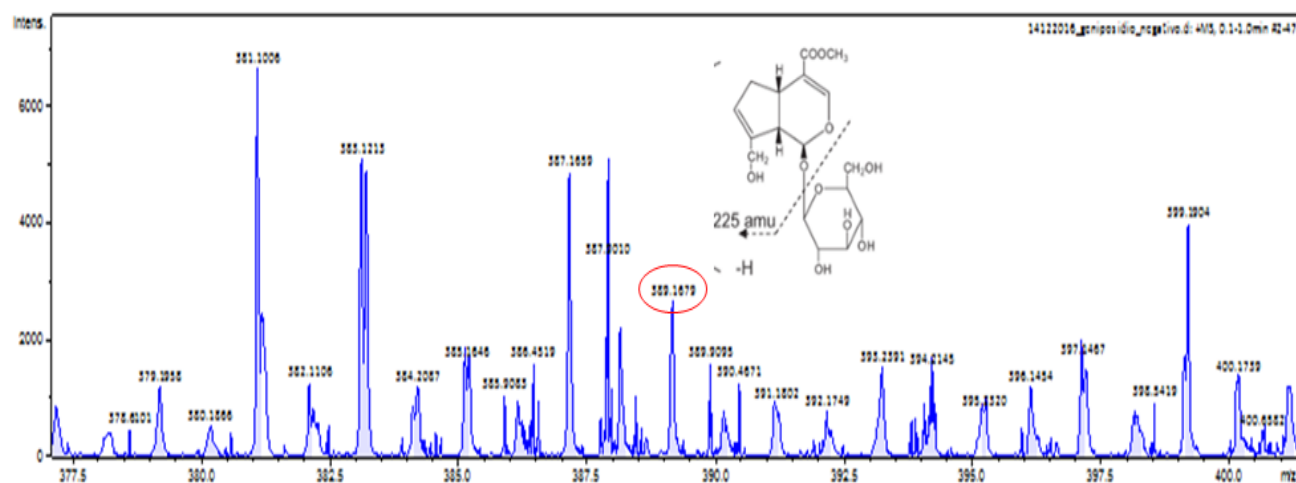


Figura 5. Espectro de massas da substância eluída QUAL?? em provavelmente 12,7 minutos (provável geniposídeo) - (A) modo positivo e (B) negativo.

Considerando as áreas relativas dos picos cromatográficos, foi observado que utilizando o pico do geniposídeo (12,7 minutos) e a molécula eluída em 5 minutos, o método que obteve maior concentração para ambas moléculas foi a extração por Soxhlet utilizando o metanol como solvente extrator (Figura 6).

A substância eluída em 5 minutos não foi identificada, porém também está presente em pequenas concentrações no padrão de genipina. Foi observado que, diferentemente do geniposídeo, esta molécula apresenta concentração relativa semelhante em todas as condições de extração.

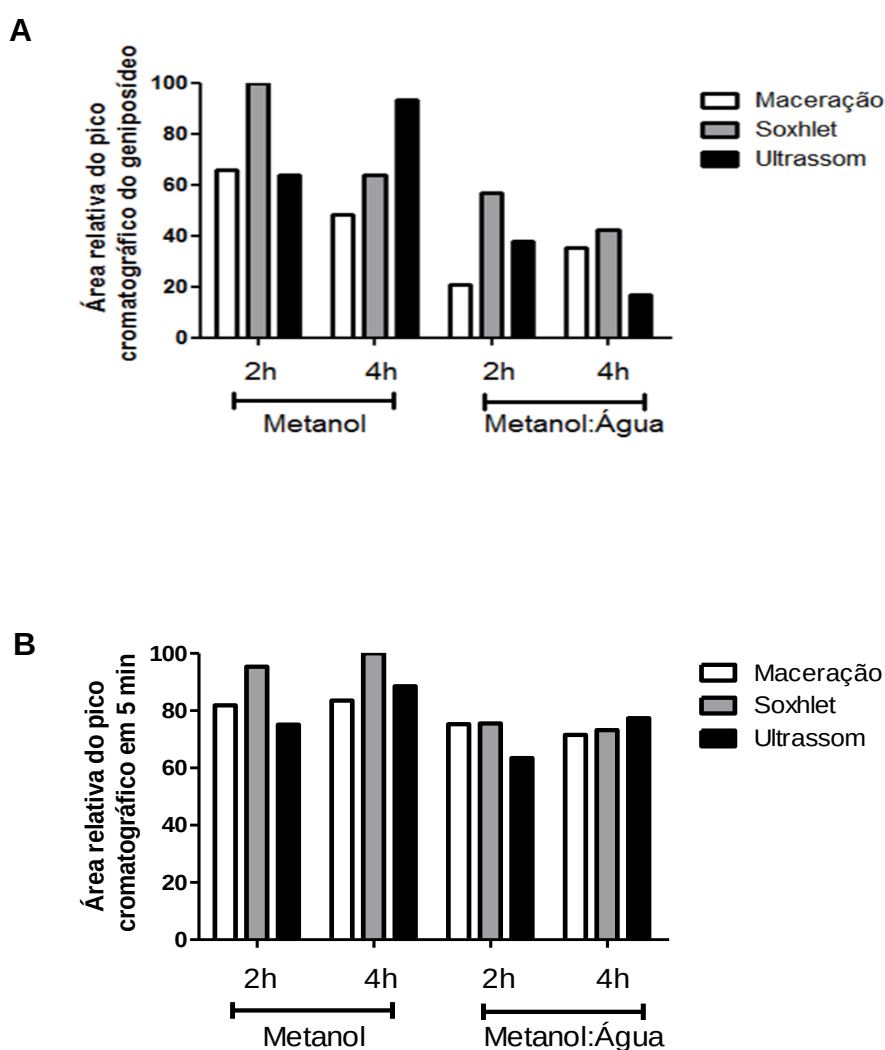


Figura 6. Concentração relativa das moléculas eluídas por cromatografia líquida de alta eficiência. (A) substância eluída QUAL???em 5 minutos e (B) geniposídeo eluído em 12,7 minutos.

A análise antioxidante foi realizada utilizando os extratos de jenipapo maduro por meio do método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Pode-se observar na Figura 7 que as moléculas extraídas pelo método Soxhlet apresentaram maior potencial antioxidante quando comparadas as moléculas extraídas por maceração e ultrassom. As amostras obtidas por extrator Soxhlet, com concentração em torno de 2 a 3 mg/mL foram capazes de sequestrar 50% das moléculas de DPPH, independente do solvente. As amostras obtidas por maceração utilizando metanol como solvente, apresentaram IC₅₀ em torno de 4,0 mg/mL. Quando o sistema solvente é trocado por metanol:água o IC₅₀ sobe em torno de 7,0 mg/mL.

Nas extrações por ultrassom observa-se diferença significativa no IC₅₀ quando comparada aos demais extratos ($p < 0,05$). Este método apresentou o pior desempenho na extração de substâncias antioxidantes, pois nas amostras obtidas com metanol como solvente no tempo de 2 h somente foi necessário 3,1 mg/mL da amostra, no tempo de 4 h essa concentração subiu para 8,2 mg/mL da amostra.

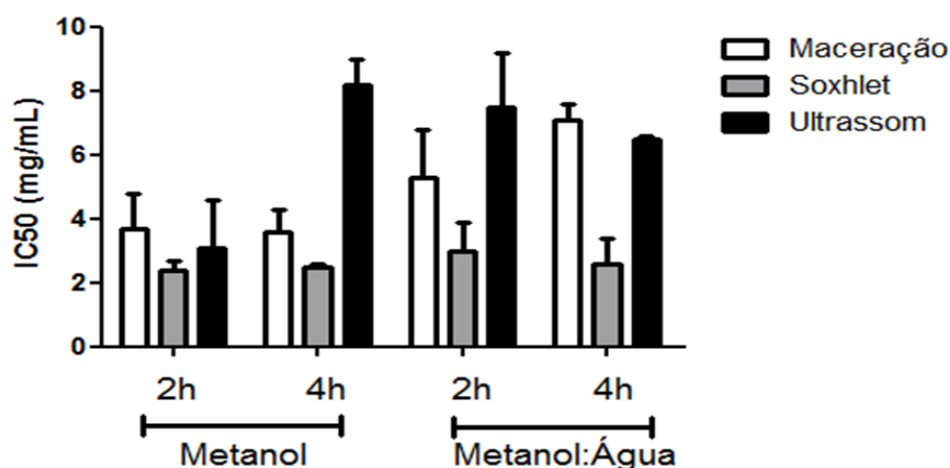


Figura 7. Análise antioxidante através do método DPPH. DISCUTIR

Com base nestes, pode-se sugerir que o geniposídeo extraído pode ser responsável pela ação antioxidante.

4 CONCLUSÃO

O fruto maduro do jenipapo é o que proporciona maior rendimento quando comparado com o fruto verde. O melhor método de extração foi o Soxhlet, pois obteve maior rendimento em relação aos outros dois métodos, melhor extração de moléculas com atividade antioxidante e maior concentração relativa das moléculas de geniposídeo (com exceção metanol 4h). Em relação às condições de extração, o melhor solvente foi o metanol, porém a utilização do sistema solvente metanol:água não prejudicou a resposta da atividade antioxidante, podendo também ser o solvente de escolha, sendo justificado também pelo menor custo e menor dano ambiental.

De acordo com a análise da CLAE-DAD-MS, a provável molécula presente na amostra do jenipapo extraída pelos diferentes métodos é o geniposídeo e não a genipina.

5 REFERÊNCIAS

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: Técnicas de extração. B.CEPPA, Curitiba, v. 24, n. 2. 2006.

ASSIS, C.S. Avaliação dos efeitos tóxicos *in vitro* e *in vivo* do extrato metanólico dos frutos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em camundongos Swiss, 2015. [Dissertação]. Rio Grande do Norte: Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

BENTES, A.S.; DE SOUZA, H.A.L.; AMAYA-FARFAN, J.; LOPES, A. S.; DE FARIA, L.J.G. Influence of the composition of unripe genipap (*Genipa americana* L.) fruit on the formation of blue pigment. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 6, p. 3919–3924, 2014.

BENTES, A.S.; MERCADANTE, A.Z. Influence of the Stage of Ripeness on the Composition of Iridoids and Phenolic Compounds in Genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 62, p. 10800–10808, 2014.

CHANG, C.; WU, J.; YANG, J.; LAI, Y.; SU, C.; LU, C.; HSU, Y. The Suppressive Effects of Geniposide and Genipin on *Helicobacter pylori* Infections In Vitro and In Vivo. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 12, p. 3021-3029, 2017.

DJERASSI, C.; GRAY, J.D.; KINCL, F.A. Naturally occurring oxygen heterocyclics. IX. Isolation characterization os genipina. **Journal Organic Chemistry**, n. 26, p. 1192-1206, 1960.

INAO, M.; MOCHIDA, S.; MATSUI, A.; EGUCHI, Y.; YULUTUZ, Y.; WANG, Y.; NAIKI, K.; KAKINUMA, T.; FUJIMORI, K.; NAGOSHI, S.; FUJIWARA, K. Japaneseherbal medicine Ichinko-to as a therapeutic drug for liver fibrosis. **Journal of Hepatology**, n. 41, p. 584-591, 2004.

KOO H-J.; YUN S. S.; HEE-JEONG, K.; YONG-HÁ, L.; SUNG-MIN, H.; SU-JUNG K.; BYUNG-CHUL, K.; CHANGBAE, J.; CHANG-JIN, L.; EUN-HEE, P. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of gardenia. **European Journal of Pharmacology**, n. 495, p. 201 – 208, 2004.

LI, Q.; WANG, X.; LOU, X.; YUAN, H.; TU, H.; LI, B.; ZHANG, Y.; Genipin-crosslinked electrospun chitosan nanofibers: determination of crosslinking conditions and evaluation of cytocompatibility. **Carbohydr. Polym.**, n. 130, p. 166-174, 2015.

LI, Z.; ZHANG, T-B.; JIA, D-H.; SUN, W-Q.; WANG, C-L.; GU, A-Z.; YANG, X-M. Genipin inhibits the growth of human bladder cancer cells via inactivation of PI3K/Akt signaling. **Oncology Letters**, n. 15, p. 2619-2624, 2018.

LIEN, S.; LI, W.; HUANG, T. Genipin-crosslinked gelatina scaffolds for articular cartilage tissue engineering with a novel crosslinking method. **Materials Science and Engineering**, n. 28, p. 36-43, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ed. São Paulo: Nova Odessa, 2008.

MAHDI-POUR, B.; JOTHY, S. L.; LATHA, L. Y.; CHEN, Y.; SASIDHARAN, S., Antioxidant activity of methanol extracts of different parts of *Lantana camara*. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**, n. 12, v. 12, p. 960–965, 2012.

MUKHERJEE, P. K; MAITY N.; NEMA, N. K; SARKAR, B. K. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. **Phytomedicine**, n. 19, p. 64-73, 2011.

SOUZA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, n. 2, v. 30, p. 351-355, 2007.

UEDA, S.; IWAHASHI, Y. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa Americana* and its cell cultures. **Journal of Natural Products**, n. 54, p.1677-1680, 1991.

UNCTAD, Market brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Genipa americana* L. United Nations Conference on Trade and Development /BioTradeFacilitation Programme: 2005.
<http://www.biotrade.org/ResourcesPublications/biotradebrief-genipaamericana.pdf>

VAZQUEZ-ROIG, P.; PICÓ, Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples, Trends in Analytical Chemistry., n. 71, p. 55-64,2015.

WANG, S.; HUANG, C.; TSAI, T. Determinations of geniposide using LC/MS/MS methods via forming ammonium and acetate adducts. **Microchemical Journal**, v. 86, p. 174-182, 2007.

ZAPPI, D. Genipa in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro,2018.<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB14045> (Acessado em 04/01/2018).

CAPÍTULO III

ANÁLISE ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICA DO CABELO VIRGEM BRANCO E PRETO.

Andréa Vasconcelos Machado, Juliana F de Conto, Daviane M C Vergne, Luiz Pereira Costa, Francine Ferreira Padilha, Juliana Cordeiro Cardoso.

Artigo em preparação para ser submetido à revista Colloids and Surfaces.

Fator de impacto = 3,887

Análise estrutural e físico-química do cabelo virgem branco e preto

RESUMO

A caracterização de amostras de cabelo tem sido realizada levando-se em consideração diferentes tratamentos e etnia dos doadores. Este trabalho teve como objetivo a caracterização morfológica e físico química de cabelos caucasianos brancos e pretos de um mesmo doador. As amostras foram caracterizadas por meio de análise mecânica, análise térmica, microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura. As propriedades mecânicas das amostras foram semelhantes, porém o fio de cabelo branco apresentou-se com maior espessura que o preto. As escamas da exocutícula do cabelo branco mostraram-se adensadas e as do cabelo preto mais delgadas e bem definidas. O cabelo branco apresentou menor altura de escama, assim como menor rugosidade. O perfil de termodegradação das amostras foi semelhante, porém no estudo da cinética de degradação, foi observado uma menor energia de ativação para amostra de cabelos branco, sugerindo maior estabilidade térmica para o cabelo pigmentado.

PALAVRAS-CHAVE: cabelo; propriedade térmica; propriedade mecânica; queratina

ABSTRACT

The characterization of hair samples has been carried out taking account different treatments and ethnicity of the donors. The goal of this work was to perform the morphological and physical chemical characterization of white and black Caucasian hair from the same donor. The samples were characterized by mechanical analysis, thermal analysis, atomic force microscopy and scanning electron microscopy. The mechanical properties of the samples were similar, but the white hair was thicker than black. The scales of the white hair exocuticle presented thicker and the black hair scales more slender and well defined. The white hair presented smaller scale height, as well as lower roughness. The thermodegradation profiles of the samples were similar, but in the study of degradation kinetics, we observed a lower activation energy for the white hair sample, suggesting greater thermal stability for the pigmented hair.

PALAVRAS-CHAVE: hair; thermal properties; mechanical properties; keratin.

1 INTRODUÇÃO

O cabelo é uma estrutura cilíndrica, altamente organizada, formada por células inertes e de nanocompósitos (basicamente proteínas), cujas propriedades físicas de resistência, aparência, mecânica e química são reguladas por uma variedade de fatores tais como: etnia, limpeza, tratamentos químicos e meio ambiente (SESHADRI; BHUSHAN, 2008).

Cerca de 65 a 95% da massa do cabelo humano é constituída de proteína, sendo a principal a queratina, caracterizada por um alto conteúdo de enxofre. Esta proteína forma uma rede de ligações cruzadas através de pontes dissulfídicas que confere ao cabelo resistência química e mecânica. Os demais constituintes do cabelo são distribuídos em água, pigmentos e outros componentes lipídicos conferindo ao fio capilar a sua rigidez e propriedades mecânicas (VELASCO *et al*, 2009).

A cor e o brilho são propriedades importantes para a aparência dos cabelos. A cor do cabelo é dada pela melanina, que está presente no córtex, já que a queratina é transparente. A melanina se encontra aleatoriamente distribuída no córtex na forma de grânulos ovais ou esféricos com cerca de 0,2 a 0,8 μm de comprimento e cerca de 0,1 a 0,5 μm de espessura e posteriormente este pigmento segue para a haste capilar (WAGNER, 2006).

Os tons naturais do cabelo são criados por dois tipos de melanina: eumelanina e feomelanina. A quantidade relativa de cada um destes dois tipos, a quantidade total de melanina, e o tamanho dos grânulos em cada cabelo, juntos determinam a cor dos pelos. É importante ressaltar que a eumelanina é o pigmento predominante no cabelo escuro ou preto, já feomelanina prevalece em cabelos loiros ou ruivos, e teor de melanina global é menor (NOGUEIRA *et al.*, 2007).

A alteração no cabelo mais perceptível com a idade é a despigmentação do fio, resultando no aparecimento dos fios brancos. O cabelo grisalho consiste em uma mistura de fibras capilares totalmente brancas, fibras totalmente pretas e fibras que são parcialmente pretas e brancas. A principal diferença entre o cabelo branco e o grisalho está na quantidade de melanina nas fibras e não na espessura das fibras. Isto ocorre devido à perda da atividade do melanócito na fase anágena do fio no bulbo capilar (RICHENA *et al.*, 2014).

O cabelo grisalho está intimamente relacionado com o envelhecimento cronológico e diversos estudos têm confirmado que a perda de pigmentos em folículos pilosos grisalhos se dá através de uma acentuada redução da atividade de melanócitos. Esta perda de pigmentação do cabelo não está somente relacionada à idade, mas também por inúmeros

fatores, incluindo o metabolismo, o estado nutricional, o ciclo de mudanças do cabelo, as diferenças de gênero, a variação hormonal e a genética (VAN NESTE; TOBIN, 2004).

Algumas formas de cabelo grisalho têm relação com fatores nutricionais e podem prontamente ser revertidas pela mudança dietética, mas a canície natural que ocorre com a idade, parece estar de alguma forma relacionada com a exaustão irreversível da enzima formadora de melanina, a tirosinase. Embora algumas pessoas comecem a ficar com cabelos grisalhos já aos 20 anos, na maior parte dos casos, isso acontece mais tarde e geralmente é determinado geneticamente. A vontade de mascarar as mudanças de cor que acompanham o envelhecimento é uma das razões pelas quais as pessoas de todas as idades mudam a cor dos cabelos (TOBIN; PAUS, 2001).

Para o desenvolvimento de formulações para colorir o cabelo é necessário um conhecimento da estrutura e dos aspectos físico-químicos do fio capilar, tais como resistência mecânica, influência da temperatura na degradação da fibra capilar, aspectos da cutícula como sua topografia, bordas e porosidade. Assim, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar a estrutura da superfície do cabelo humano preto e branco virgem, bem como suas propriedades físico-químicas e estruturais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Padronização das amostras de cabelo

O cabelo caucasiano, sem histórico de tratamento cosmético agressivo (coloração, alisamentos e/ou permanentes) de coloração castanha escura e de cor branca, foi obtido de um único doador. A amostra foi submetida previamente a análises macroscópicas evidenciando a uniformidade da cor e a ausência de danos nos fios (pontas duplas).

Os fios foram separados de acordo com a coloração branco e preto e armazenados em sacos plásticos. A fim de eliminar a gordura natural, resíduos de produtos cosméticos, poeiras, sujeiras e micro-organismos, as mechas selecionadas de cabelo foram lavadas com solução aquosa de dodecil sulfato de sódio a 2% (SDS 2% grau analítico), através da fricção suave com as mãos para a formação de espuma e em seguida enxaguadas em água corrente a temperatura ambiente. O excesso de água foi retirado com um jato de ar frio, utilizando um secador de cabelos profissional. As amostras de cabelo foram armazenadas em ambiente controlado a 50% de umidade relativa por no mínimo 24 h antes do início das análises.

2.2 Microscopia de Força Atômica (AFM)

A técnica de microscopia de força atômica foi aplicada para caracterização topográfica da estrutura da fibra capilar das amostras sem e após o tratamento. O microscópio utilizado foi o modelo SPM-9700 (SHIMADZU) com um scanner de 30 μm . O modo de varredura adotado foi o contato e as pontes utilizadas foram do tipo SiNi com uma frequência de ressonância igual de 10 kHz e constante de elasticidade de 0,06 N/m, fornecidas pela Nano World. Para obtenção das imagens topográficas, as varreduras foram padronizadas em 10x 10 μm em todos os experimentos.

2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises das amostras de fibras capilares pretas e brancas foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura, (Nova Nano SEM 200, The Netherlands), com em voltagem de 10 kV operando em pressão reduzida. As amostras foram coladas em suporte específico para MEV utilizando-se fita adesiva de cobre. Os fios foram afixados com o auxílio de uma pinça de modo que as amostras ficassem na posição horizontal e vertical.

2.4 Determinação dos diâmetros dos fios

O diâmetro foi determinado em uma amostra de 10 fios de cabelo preto e 10 fios brancos utilizando um micrômetro Mitutoyo (modelo Jomarca, Japão). O diâmetro do cabelo foi medido em 3 posições: raiz, porção média e ponta, sendo utilizado o valor médio das três medidas.

2.5 Propriedades mecânicas

A análise da resistência à ruptura do fio foi realizada em um texturômetro modelo TAXT2 Analyzer®, operando a uma velocidade de tração de 5 mm/s, distância de 50 mm, 20,0 kg de carga e sensibilidade de 0,5 N. O aparelho aplicou uma força ou carga até ocorrer o rompimento das fibras, sendo registrada em um *software*, convertendo as informações em um gráfico de carga em função do alongamento. As amostras utilizadas foram organizadas em mechas de 10 cm contendo 5 fios de cabelo cada. O módulo de Young (E) foi calculado a partir da região linear da curva de tensão x deformação, entre 0,00

e 1,00% de alongamento. Já a resistência do material foi calculada através da área abaixo da curva de tensão x deformação.

2.6 Análise Térmica

O comportamento térmico das amostras de cabelo foi avaliado a partir da termobalança modelo TGA-50 da marca Shimadzu. As curvas TG/DTG das amostras de cabelo preto e branco foram obtidas na faixa de temperatura de 30 a 900°C empregando razão de aquecimento (β) de 5, 7,5, 15, 20°C/min, atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL/min) utilizando 15 mg de amostra em cadinho de Pt. Para o estudo cinético dinâmico foram obtidas curvas TG dinâmicas na faixa de temperatura entre 25 e 900°C. Os parâmetros cinéticos foram calculados na faixa de perda de massa entre 65 a 77%. As curvas obtidas foram tratadas a partir de programa específico TA50, utilizando modelo de Ozawa.

2.7 Espectroscopia de refletância total atenuada na região do infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).

As análises de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier- (FTIR) por transmitância foram realizadas utilizando espectroscópio equipado com diamante/cristal de seleneto de zinco (ZnSe) e dispositivo ATR (Reflexão total atenuada), marca AGILENT CARY 630 FTIR (Agilent Technologies, USA) para analisar a presença de grupos químicos, em amostras de cabelos pretos e brancos tratados e não tratados com extrato de jenipapo. Os fios foram depositados na superfície do cristal ATR em escala espectral ZnSe 4000-6000 cm^{-1} e resolução de $< 2 \text{ cm}^{-1}$ e processada para aquisição automática dos dados pelo software Agilent Micro Lab PC.

2.8 Análise Estatística

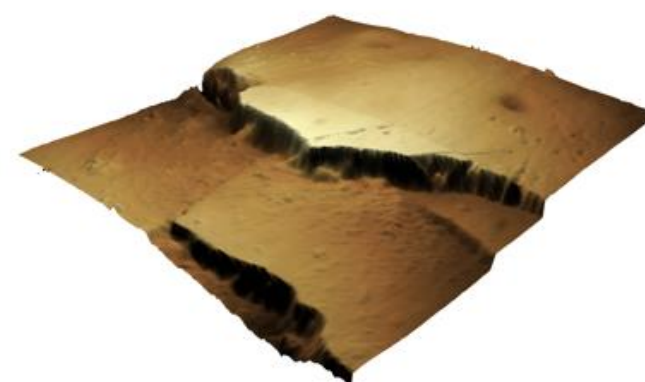
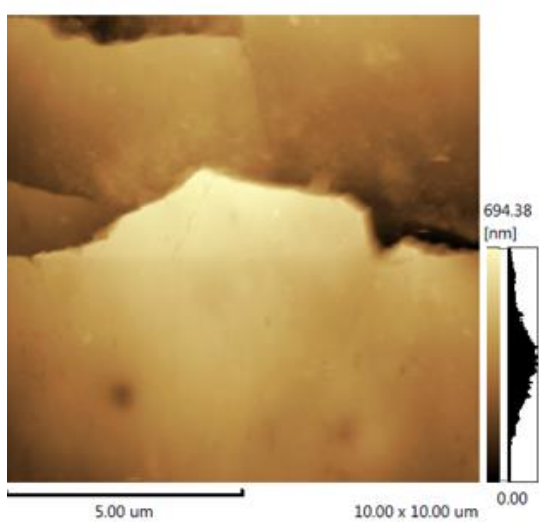
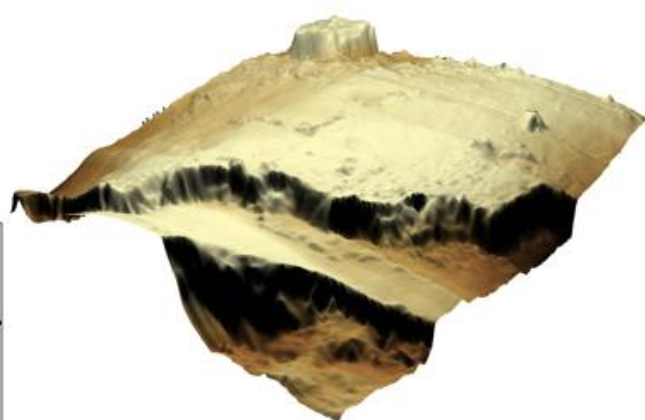
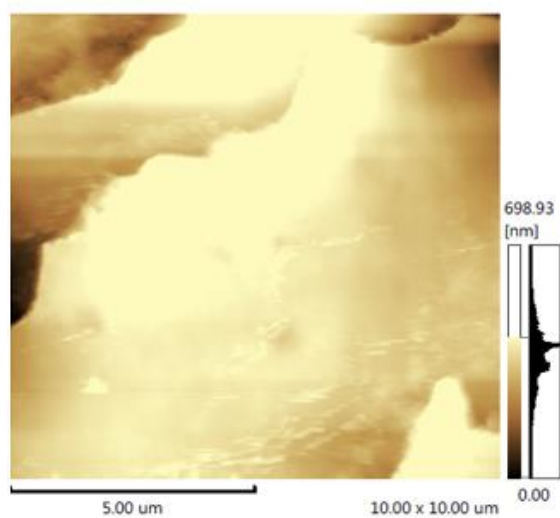
Após verificação da distribuição dos dados por meio de teste de normalidade (teste de Kolmogorov – Smirnov), os resultados foram submetidos ao teste paramétrico T com $\alpha = 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A e 1 B apresentam as fotomicrografias das amostras de cabelo branco e preto, destacando a altura da cutícula. Pode-se observar que a cutícula do cabelo branco se apresenta mais espessa, o que pode explicar o aumento da espessura do fio capilar. Além disso, foi observado adsorção de material, que deve encontrar dificuldade de difusão para dentro das escamas, uma vez que a cutícula se encontra mais espessa, bloqueando a entrada de substâncias de baixo peso molecular. Em contraposição, a cutícula do cabelo preto é mais delgada e livre de substâncias adsorvidas, porém foi verificado que a escama do cabelo preto possui uma altura maior que a do cabelo branco ($p=0,026$). A intensidade da cor na fotomicrografias representa a profundidade em relação à superfície do fio capilar, na qual as áreas mais claras indicam menores distâncias entre o cantilever e amostra durante a varredura.

A superfície exterior do cabelo humano é composta por numerosas escamas da cutícula, as quais se apresentam ao longo do eixo da fibra, geralmente empilhadas umas sobre as outras (BHUSHAN; LA TORRE, 2006). Segundo Seshadri e Bhushan (2008), o cabelo quando alongado é submetido às forças de cisalhamento e próximo aos 20% de sua deformação ocorre a deslaminiação (YU *et al.*, 2017). Com isso as camadas de cutículas interiores são separadas das exteriores.

A – Cabelo preto



B – Cabelo branco

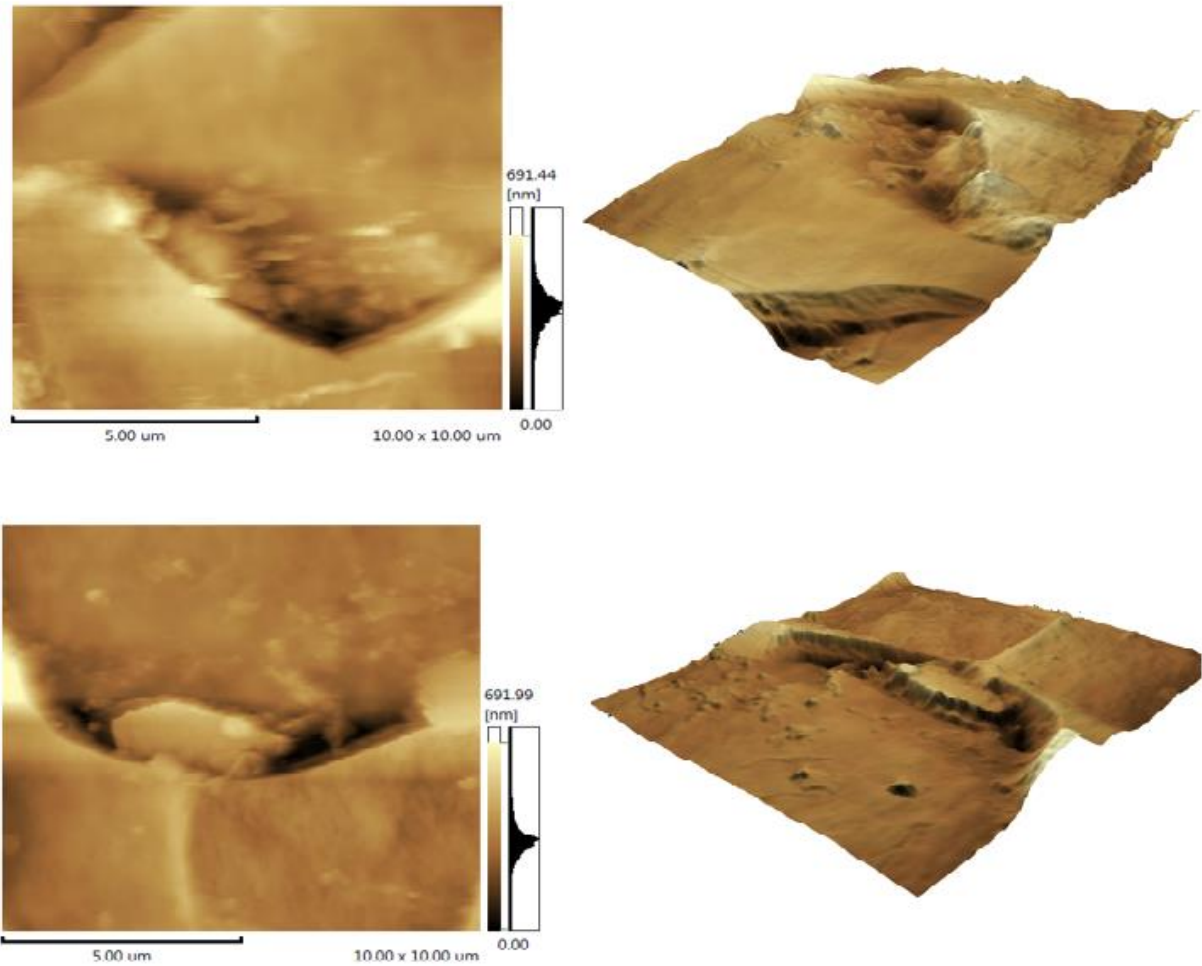


Figura 1. Fotomicrografias da topografia (modo altura) do cabelo preto (A) e cabelo branco (B) obtidas em microscópio de força atômica.

Em média, a amostra do cabelo preto apresentou uma altura de $477,59 \pm 32,65$ nm e a amostra do cabelo branco possui altura de $362,87 \pm 91,68$, apresentando diferença estatística ($p=0,0145$). A morfologia da superfície do cabelo pode mudar com a idade, pois ocorre uma diminuição do tamanho da escala cuticular (RICHENA *et al.*; 2014). Segundo Yu *et al.* (2017), a cutícula consiste em escamas com comprimento médio de $60 \mu\text{m}$ e uma espessura de cerca de 500 nm , dados que corroboram aos encontrados para os fios de cabelos pretos (Figura 2 A). Da mesma forma, a rugosidade do cabelo preto apresentou diferença significativa em relação ao cabelo branco (Figura 2 B). A morfologia das bordas da cutícula pode ser afetada durante atrito no ato de pentear e escovar o cabelo, com dano mais severo observada em fibras de cabelo compridas (YU *et al.*, 2017).

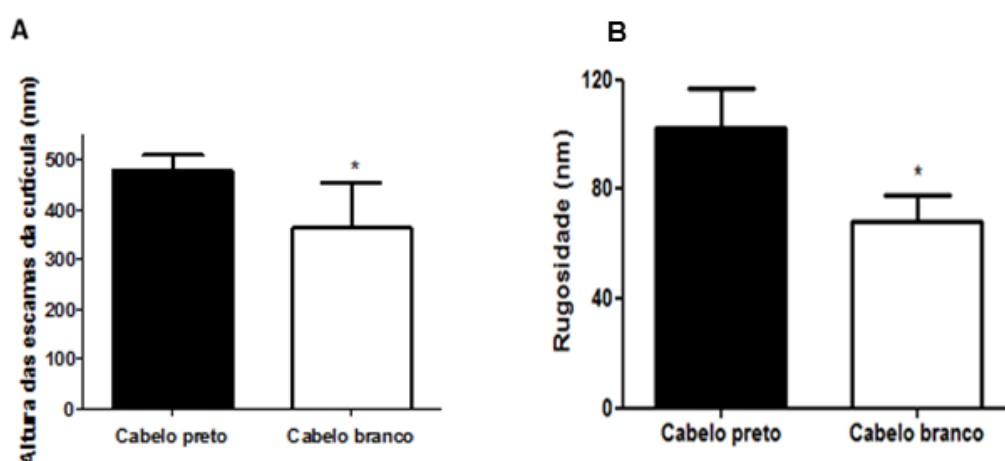


Figura 2. (A) Altura média da escama das amostras de cabelo preto e branco (* $p=0,0145$) e (B) Rugosidade (* $p=0,0498$).

As imagens de MEV da amostra de cabelos pretos e brancos em corte seccional (Figura 3) ilustram as camadas da cutícula e do córtex.

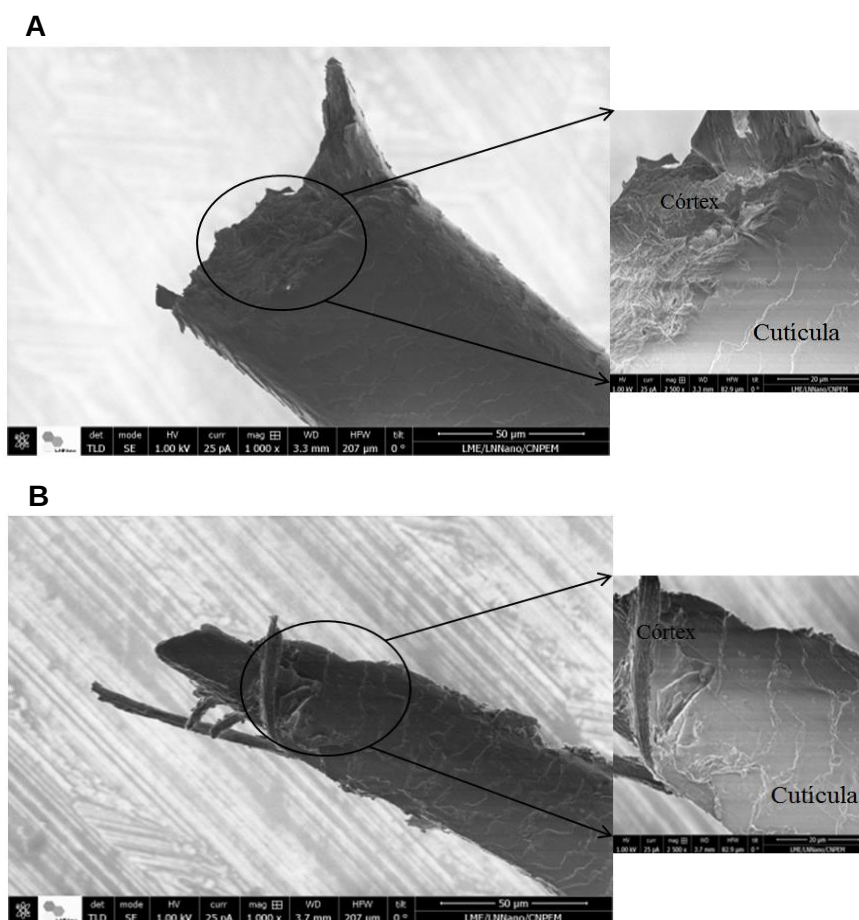


Figura 3. Fotomicrografia eletrônica de varredura de amostra de cabelo preto (A) e branco (B).

Pode ser observado que o fio de cabelo preto possui cutículas mais bem definidas e organizadas, ao passo que o cabelo branco, as escamas se mostraram com bordas mais espessas e menos organizadas. A cutícula é responsável pelo aspecto saudável do cabelo e os produtos capilares e os danos do dia a dia afetam principalmente a esta camada (SESHADRI; BHUSNAN, 2007). Em ambas amostras (A e B) verifica-se a borda da escama irregular, sendo indicativo de uma fibra que apesar de não passado por processo químico, encontra-se danificada.

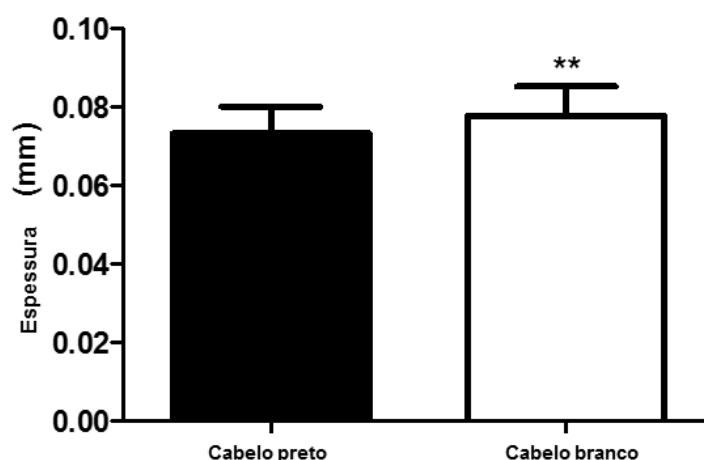


Figura 4. Espessura do cabelo preto e branco. Teste T $p < 0.05$; $**p = 0.0064$.

A Figura 4 mostra a espessura de fibras de cabelo preto e branco. O cabelo branco é mais grosso ($77,7 \mu\text{m}$) do que o cabelo preto ($72,2 \mu\text{m}$) ($p = 0.0064$), corroborado aos resultados encontrados por Leszek (2003), que afirma que o fio de cabelo possui cerca de 60 a $80 \mu\text{m}$ de diâmetro.

A Figura 5 apresenta os resultados obtidos no ensaio para caracterização das propriedades mecânicas das amostras de fios de cabelo preto e branco. A deformação, tensão máxima e módulo de Young não apresentaram diferença significativa, sugerindo que os fios de cabelos brancos possuem o mesmo perfil mecânico que os fios de cabelos pretos.

A ruptura da fibra se dá em resposta a aplicação de uma carga. Com a aplicação de uma carga constante, a distensão pode chegar até 30% do comprimento até que ocorra a ruptura (VELASCO *et al.*, 2009). As amostras de cabelo branco e preto apresentaram deformação máxima de 26,4 e 27,7% respectivamente, dentro dos padrões definidos na literatura. O módulo de Young também conhecido como módulo de elasticidade, relaciona a força de tensão e a deformação que o cabelo sofre até ser rompido.

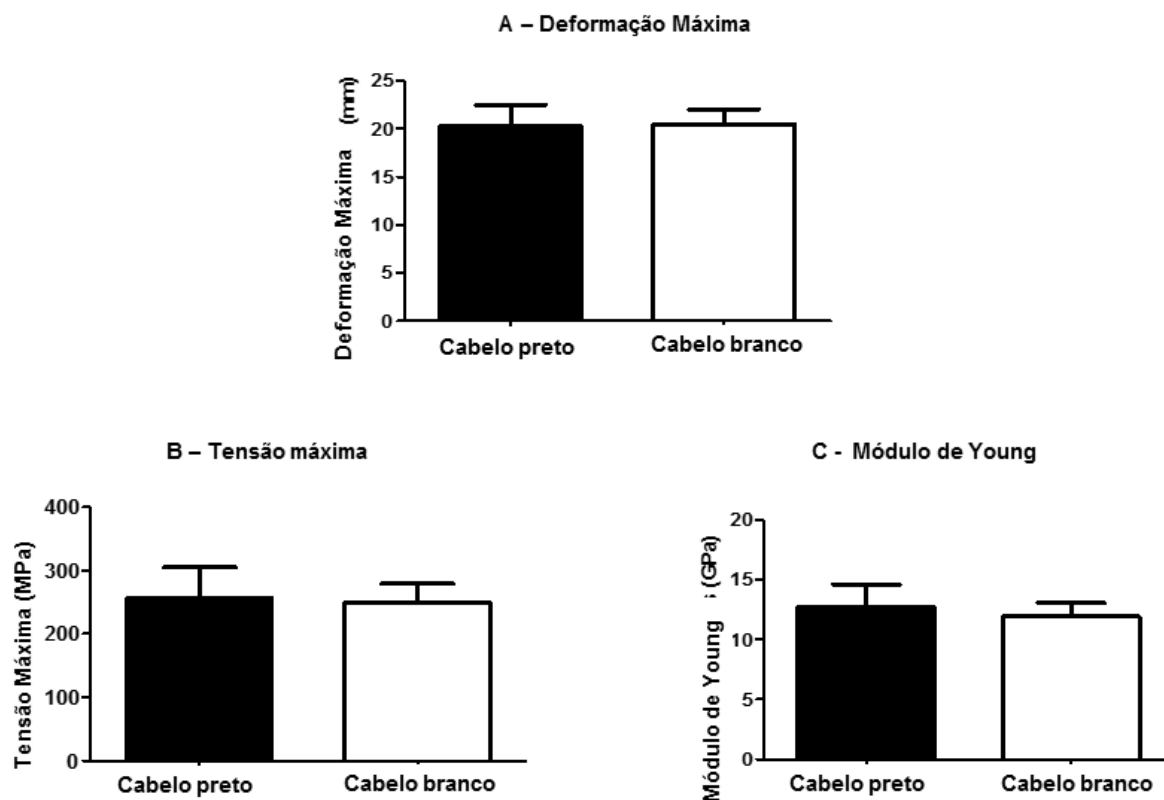


Figura 5. Valores médios das propriedades mecânicas - deformação (A), tensão máxima (B) e módulo de Young (C). Teste T (** $p < 0,01$).

Na análise do comportamento térmico do cabelo branco e preto, foi observado nas curvas termogravimétricas (TG/DTG) (Figura 6) que a etapa de desidratação dos fios ocorre em temperaturas menores que 100°C para ambas as amostras, com velocidade máxima de desidratação em que ocorre perda de massa entre 52 e 55 % (Tabela 1). As amostras apresentaram perda de água semelhante, com cerca de 10% de perda de massa nesta etapa. Lima *et al.* (2016) também observaram a etapa de desidratação com perda de massa entre 10 e 13%, a depender do perfil étnico do doador da amostra.

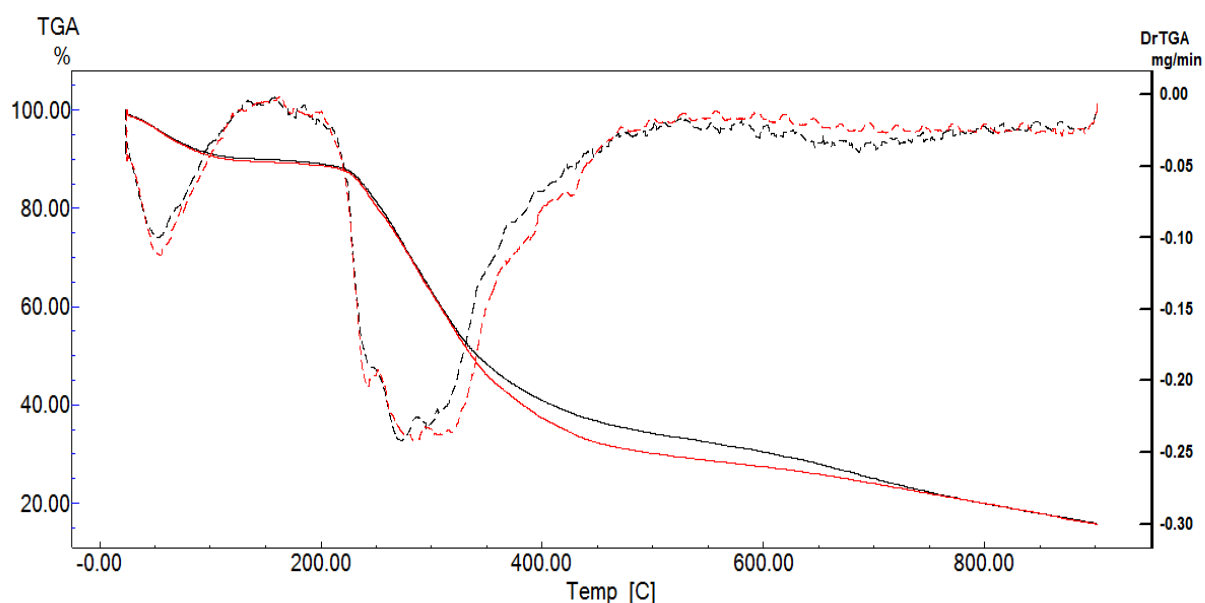


Figura 6. Curvas termogravimétricas (linha sólida) e suas respectivas derivadas (linhas tracejadas) de amostras de cabelo preto (linha preta) e cabelo branco (linha vermelha).

Entre as temperaturas de 130 e 450°C foi observado outra etapa, em que foi iniciado o processo de termodecomposição. Nesta etapa, as amostras apresentam perda de massa entre 53 e 57%, que corresponde a etapa de desnaturação da α -queratina, seguida de termodecomposição da molécula. A velocidade máxima de decomposição para o cabelo preto ocorreu em temperatura menor (272,3°C) que para o cabelo branco (284,5°C). Segundo a literatura (SPEI; HOLZEM, 1989; WORTMANN; STAPELS; CHANDRA, 2009; LIMA *et al.*, 2016), a temperatura de denaturação da queratina varia entre 235 e 244°C. Nesta faixa de temperatura ocorre a sobreposição de eventos de fusão da forma cristalina (sem perda de massa) e a termodegradação de outros componentes histológicos (CAO *et al.*, 1997).

Tabela 1. Resultados de TG/DTG (temperatura de maior velocidade de perda de massa – Tpico - e o respectivo percentual perdido) de amostras de cabelo branco e preto em cada etapa das curvas termoanalíticas. (razão de aquecimento 5°C/min).

Amostras	(25 - 130°C)		(130 – 450°C)		(450 – 900°C)		Δm total até 900°C (%)
	Tpico (°C)	Δm (%)	Tpico (°C)	Δm (%)	Tpico (°C)	Δm (%)	
Cabelo Preto	52,7	10,0	272,3	53,4	686,7	20,7	84,1
Cabelo Branco	54,5	10,4	284,5	57,3	869,7	16,5	84,2

Δm : variação percentual de perda de massa, em relação à massa inicial

A Tabela 2 apresenta os parâmetros cinéticos da termodecomposição das amostras estudadas.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos da reação de termodecomposição dos cabelos brancos e pretos pelo modelo Ozawa.

Amostra	Ea (KJ/mol)	A (min ⁻¹)	Ordem da reação	α
Cabelo preto	207,78 ± 17,31	3,35 x 10 ¹⁸	5	0.65-0.77
Cabelo branco	142,97 ± 4,24	5,95 x 10 ¹²	5	

Apesar das duas amostras apresentarem perfis de termodegradação similares (Figura 5), as energias de ativação (Ea) envolvidas no processo de termodecomposição do fio capilar preto e branco foram diferentes. O cabelo preto apresentou energia de ativação de 207,78±17,31 KJ/mol, enquanto o cabelo branco apresentou Ea 142,97 ± 4,24 KJ/mol. A energia de ativação é a barreira energética necessária para que a reação ocorra (CIDES *et al.*, 2006). Estes resultados sugerem que o cabelo branco possui menor estabilidade térmica

que o cabelo preto. Lima *et al.* (2016), obtiveram E_a entre 147 e 162 KJ/mol estudando cabelos de diferentes etnias.

O estudo da cinética de reações por termogravimetria determina parâmetros cinéticos de termodecomposição de sólidos, tais como, energia de ativação (E_a), fator de frequência (A) e ordem de reação. Baseado nestes parâmetros pode-se quantificar a variação de uma propriedade de amostra quando aquecida (estudo cinético não isotérmico) (Marian *et al.*, 2013).

A ordem de reação pode ser definida como a variação da velocidade da reação em relação à concentração de reagentes (CIDES *et al.*, 2006). A ordem de reação foi a mesma para as duas amostras (ordem 5), sugerindo um processo complexo que envolve uma sequência de reações paralelas (LIMA *et al.*, 2016). Os fatores pré-exponenciais da equação de Arrhenius foram diferentes ($5,95 \times 10^{12} \text{ min}^{-1}$ para o branco e $3,35 \times 10^{18} \text{ min}^{-1}$ para o preto), sendo possível sugerir que as amostras de cabelo preto necessitam de uma maior energia na decomposição térmica quando comparadas às amostras de cabelo branco. Desse modo, estes resultados indicam que o cabelo preto possui maior estabilidade térmica do que as amostras de cabelo branco.

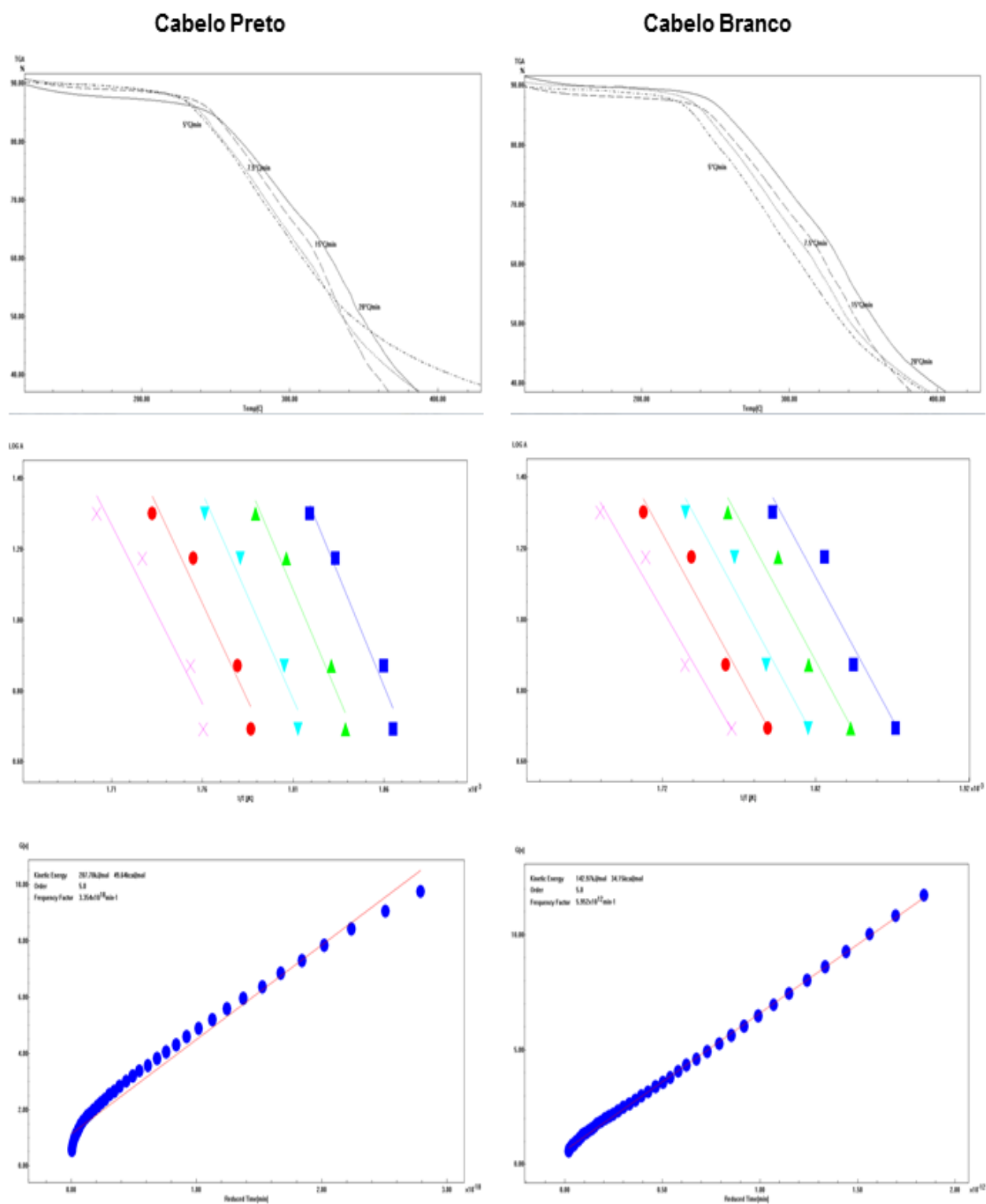


Figura 7. Resultados dos parâmetros cinéticos amostras de cabelo preto e branco obtidas sob diferentes razões de aquecimento.

No estudo cinético não isotérmico ou dinâmico, determina-se o comportamento de uma amostra sólida quando é submetida a diferentes razões de aquecimento constantes (β) e produzem resultados dependentes de temperatura (T) sendo esta uma função do tempo (t). O método descrito por Ozawa, 1965, propõe um modelo cinético a partir das curvas de TG dinâmicas em diferentes razões de aquecimento (Figura 7), demonstrando a possibilidade de medir experimentalmente a temperatura necessária para que determinada parte da amostra se decomponha. O gráfico representativo deve ser linear e paralelo, indicando uma melhor dispersão dos valores de energia de ativação e sendo então possível estimar a E_a , A e t (KOGA, 2013).

A análise de FTIR mostrou os principais grupos de moléculas de queratina em ambas as amostras (Figura 8). Os espectros mostram o pico da amida A (alongamento de N-H) a $3,274\text{ cm}^{-1}$ o estiramento de CH_2 a $1,420\text{ cm}^{-1}$, pico de amida III a $1,231\text{ cm}^{-1}$, dióxido de cisteína entre $1,116$ a $1,125\text{ cm}^{-1}$ e o referente de pico de ácido cisteico a $1,042\text{ cm}^{-1}$.

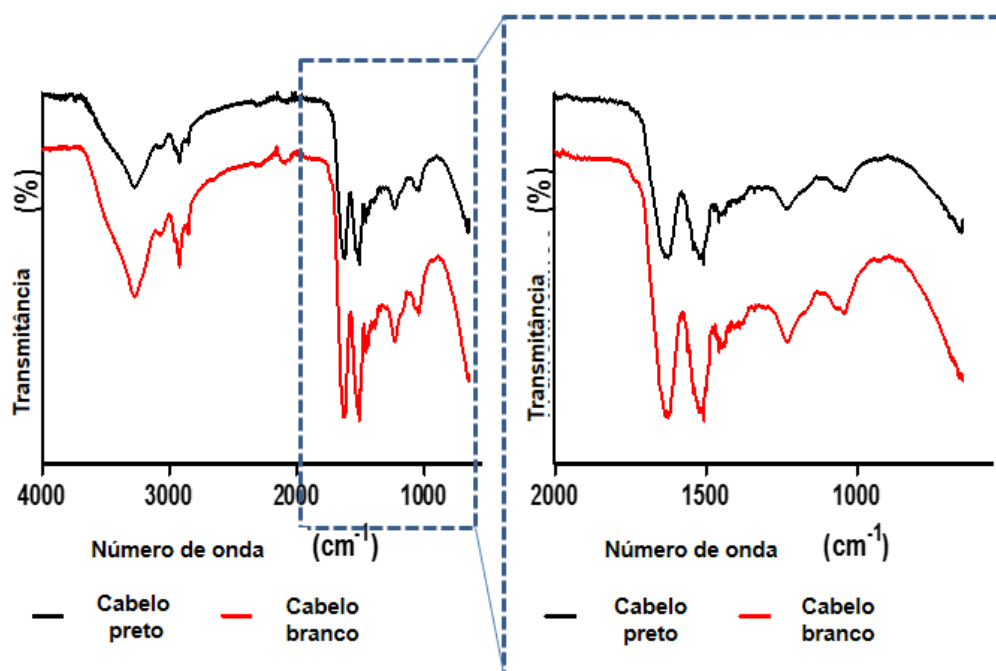


Figura 8. Espectroscopia do cabelo preto e branco.

Não há pico relativo ao monóxido de cistina ($1,071\text{ cm}^{-1}$) e ao tiosulfato de cisteína ($1,022\text{ cm}^{-1}$) (YU *et al.*, 2017). O espectro de cabelo branco mostrou picos mais intensos em comparação com o espectro do cabelo preto.

4 CONCLUSÃO

A fibra capilar branca difere da fibra capilar preta em termos de espessura as brancas possuem maior, porém perfil mecânico é semelhante. A análise da estrutura morfológica mostra que o cabelo preto é mais alto que o branco, já a cutícula deste último é mais espessa e por fim, a cutícula do preto é melhor definida e organizada. Na análise térmica observou-se que o cabelo preto necessita de uma energia de ativação maior que o cabelo branco, o que indica que este tem uma menor estabilidade térmica. O FT-IR apresentou picos mais intensos no cabelo branco, ou seja, possui mais danos.

5 REFERÊNCIAS

- BHUSHAN, B.; CHEN, N. AFM studies of environmental effects on nanomechanical properties and cellular structure of human hair. **Ultramicroscopy**, v. 106, p. 755–764, 2006.
- CAO J., JOKO K., COOK, J.R. DSC studies of the melting behavior of α -form crystallites in wool keratin. **Textile Research Journal**, v. 67, p. 117–123, 1997.
- CIDES, L.C.S; ARAÚJO, A.A.S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal behaviour, compatibility study and decomposition kinetics of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal Thermal Analysis Calorimetry**, v.84, n.2., p.441-445, 2006.
- KOGA, N. Ozawa's kinetic method for analyzing thermoanalytical curves. **Journal Thermal Analysis Calorimetry**, v.113, p.1527-1541, 2013.
- LA TORRE, C.; BHUSHAN, B. Investigation of scale effects and directionality dependence on friction and adhesion of human hair using AFM and macroscale friction test apparatus. **Ultramicroscopy**, n.106, p. 720-734, 2006.
- LESZEK, J.W. Human hair: a unique physicochemical composite. **Journal of the American Academy Dermatology**, n. 48, p. S106 - S114, 2003.

LIMA, C.R.R.C.; ALMEIDA, M.M.; VELASCO, M.V.R.; MATOS, J.R. Thermoanalytical characterization study of hair from different ethnicities. **Journal Thermal Analysis Calorimetry**, v.123, p.2321-2328, 2016.

MARIAN, E.; TITA, B; JURCA, T.; FULIAS, A.; VICAS, L.; TITA, D. Thermal behavior of erythromycin-active substance and tablets. Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.111, p.1025-1031, 2013.

NOGUEIRA, A.C.S.; RICHENA, M.; DICELIO, L.E.; JOEKES, I. Photo yellowing of human hair. **Journal Photochemistry and Photobiology B: Biology**, n. 88, p.119-125, 2007.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 38, n. 11, p. 1881-1886, 1965.

SESHADRI, I. P.; BHUSHAN, B.; **In situ tensile deformation characterization of human hair with atomic force microscopy**, v. 56, n. 4, p. 774-781, 2008.

SPEI, M.; HOLZEM, R. Thermoanalytical determination of the relative helix content of keratins. **Colloid Polymer Science**, n. 257, p. 549–5, 1989.

TOBIS, D.J; PAUS, R. Graying: gerontobiology of the hair follicle pigmentary unit. **Experimental Gerontology**, n. 36, p. 29-54, 2001.

VAN NESTE, D.; TOBIN, D.J. Hair cycle and hair pigmentation: dynamic interactions and changes associated with aging. **Micron Journal**, v.35, p. 193-200, 2004.

VELASCO, M.V.R.; SÁ-DIAS, T.C.S.; FREITAS, A.Z.; VIEIRA JUNIOR, N.D.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair physical and mechanical properties. **Brazilian Journal Pharmaceutical Science**, n. 2, v. 45, p.153–162, 2009.

WAGNER, R.C.C., 2006. A estrutura da medula e sua influência nas propriedades mecânicas e de cor dos cabelos. São Paulo. Tese [Doutorado em Ciências]. Universidade Estadual de Campinas.

YU, Y.; YANG, W.; WANG, B.; MEYERS, M.A. Structure and mechanical behavior of human hair. **Material Science and Engineering: C**, v. 73, p. 152-163, 2017.

WORTMANN F.J., STAPELS M., CHANDRA L. Humidity-dependent bending recovery and relaxation of human hair. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, p. 3336–3344, 2009.

CAPÍTULO IV

MODIFICAÇÃO DA COR DO CABELO UTILIZANDO *GENIPA AMERICANA* L.: UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA COLORAÇÃO CAPILAR

Andréa Vasconcelos Machado, Luana Renyelle de Oliveira Menezes, Adilson Allef Moraes Santana; Juliana F de Conto, Luiz Pereira Costa, Francine Ferreira Padilha, Juliana Cordeiro Cardoso.

Artigo em preparação para ser submetido à revista Dyes and Pigments.

Fator de impacto = 3,473

RESUMO

O geniposídeo extraído do fruto do jenipapo foi utilizado para colorir o cabelo, por meio da reação com o grupo amina da queratina capilar. O objetivo deste trabalho foi estudar a influência das condições reacionais utilizadas na coloração da queratina capilar de fibras brancas e pretas, caracterizando estas fibras quanto a cor, morfologia, propriedades térmicas e mecânicas após tratamento com extrato de jenipapo. Para avaliar o potencial de alteração de cor da reação, fios capilares brancos e pretos, sem tratamento químico, foram submetidos à reação com uma solução contendo extrato de jenipapo em diferentes condições de temperatura, pH e concentração de extrato. Após a reação, os fios de cabelos foram submetidos a testes mecânicos, avaliação de cor e aspectos de superfície por microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura. Considerando todos os ensaios realizados, o extrato de jenipapo apresentou maior alteração da cor ($\Delta E=53,99$) na condição reacional para as amostras de cabelos brancos com concentração de extrato de 20 mg/mL, temperatura de 80°C e pH 5,5. Quando comparadas apenas amostras em função da variável pH, foi evidenciado maior alteração de cor cabelos brancos ($\Delta E=10,23$) quando utilizado concentração de extrato de 20 mg/mL, temperatura de 25°C e pH 10,0. As amostras após coloração alteram as mecânicas, morfológicas e térmicas. Conclui-se que houve modificação da cor do cabelo utilizando *Genipa americana* L. Sendo a temperatura e a concentração do extrato as variáveis que influenciam tom e dano capilar. Desta forma estabelece-se neste trabalho uma nova proposta para coloração capilar.

PALAVRAS-CHAVE: cabelo, coloração, geniposídeo, dano capilar.

ABSTRACT

The geniposid extracted from the genipap fruit was used to color the hair, through the reaction with the amine group of capillary keratin. The objective of this work was to study the influence of the reactional conditions used in capillary keratin staining of white and black fibers, characterizing these fibers as color, morphology, thermal and mechanical properties after treatment with genipap. To evaluate the potential for color change in the reaction, white and black capillary wires, without chemical treatment, were submitted to reaction with a solution containing genipap extract under different conditions of temperature, pH and extract concentration. After the reaction, the hair strands were submitted to mechanical tests, color evaluation and surface aspects by atomic force microscopy and scanning electron microscopy. Considering all the tests performed, genipap extract presented a greater color change ($\Delta E = 53.99$) in the reaction condition for the samples of white hair with extract concentration of 20 mg / mL, temperature of 80 ° C and pH 5 , 5. When comparing only samples as a function of the pH variable, it was evidenced a greater alteration of white hair color ($\Delta E = 10.23$) when using extract concentration of 20 mg / mL, temperature of 25 ° C and pH 10.0. The samples after staining change the mechanical, morphological and thermal. It was concluded that hair color was modified using *Genipa americana* L. The temperature and concentration of the extract were the variables that influence tone and capillary damage. In this way, a new proposal for hair dyeing is established.

KEYWORDS: hair, coloring, geniposide.

1 INTRODUÇÃO

Os produtos de coloração para cabelo representam amplo mercado para as indústrias de beleza e higiene pessoal. Este tipo cosmético está entre os que mais crescem, tanto para o mercado consumidor feminino com também para o masculino. Geralmente, a busca pela mudança da cor do cabelo visa melhorar a aparência ou acompanhar as tendências da moda. Observa-se que independentemente do status econômico e educacional as pessoas coloreem seus cabelos, o que enfatiza a importância dada à aparência, podendo ser considerado um aspecto cultural já consolidado no mundo todo (FREIRE, 2015; KIM; KABIR; JARAN, 2016). Além disso, com o envelhecimento populacional, já referenciado em vários países, inclusive no Brasil, este tipo de produto terá uma tendência de ampliação no mercado.

As formulações para modificar a cor do cabelo podem ser classificadas como temporárias, semipermanentes e permanentes. Os corantes temporários são pigmentos de alta massa molar solúveis em água. Os corantes para cabelo semipermanente são soluções de compostos derivados do coaltar (alcatração da hulha) que se depositam e aderem a fibra capilar. Estas formulações contém derivados da nitroanilina, nitrofenilenediaminas e nitroaminosfenóis. São capazes de intensificar tons naturais e cobrir os fios de cabelos brancos.(BOGA *et al.*, 2013; GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

Já as tinturas permanentes, podem ser classificadas em oxidativas ou progressivas. As oxidativas consistem em componentes que são misturados, antes do uso, e que geram a cor por reações químicas sobre e dentro da fibra capilar. Os três maiores componentes das tinturas permanentes são os intermediários primários, geralmente p-diaminas ou p-aminofenóis, os acopladores, que podem ser m-diaminas ou m-aminofenóis, e os oxidantes, usualmente o peróxido de hidrogênio. Enquanto que as progressivas utilizam tinturas metálicas como sais de chumbo, bismuto ou prata. As partículas metálicas interagem com os resíduos de cisteína presentes na queratina e acumulam-se nos fios de cabelo, mudando gradualmente a cor (DA FRANÇA, 2015).

Atualmente, os produtos disponíveis no mercado utilizam como estratégia para conseguir a coloração do cabelo a modificação do pH da fibra capilar, situação em que a estrutura proteica expõe a parte interna da fibra e facilita a entrada das substâncias responsáveis em colorir o cabelo. É observado um intumescimento significativo do fio do cabelo. Este procedimento apresenta um potencial de dano da fibra capilar, envolvendo as reações químicas acima descritas, que alteram a sua estrutura, diminuindo a maciez, o brilho e aumentando o esforço para pentear, atributos indispensáveis e desejados em um cabelo saudável (MOREL; CHRISTIE, 2011).

Além disso, os metais pesados das colorações sintéticas são mutagênicos, cancerígenos, alérgicos e tóxicos, causando impactos negativos para o meio ambiente e, em especial, à saúde do homem (MONTEIRO, 2009; BOONSONG; LAOHAKUNJIT; KERDCHOECHUEN, 2012). Este tipo de formulação pode causar sensibilização de contato tanto no consumidor como no profissional que está aplicando e tem sido um tema de estudo e discussão intensa nos últimos anos (GOEBEL *et al.*, 2012; GERHARD *et al.*, 2015).

Em contraposição às estratégias de coloração já citadas, tem-se os corantes naturais. Como vantagens pode-se destacar: são ecológicos, biodegradáveis e dificilmente causam alergias ou reações tóxicas (BOONSONG; LAOHAKUNJIT; KERDCHOECHUEN, 2012). A produção, o uso de produtos seguros e que não tragam prejuízo ao meio ambiente vem sendo objeto de estudo de várias áreas da ciência, existindo um interesse por produtos naturais. Historicamente as plantas são utilizadas com a finalidade de tingimento e na atualidade vem desempenhando um papel fundamental na alimentação, na produção de tintas, na indústria têxtil e na cosmetologia. Nesse contexto, o interesse pelo desenvolvimento de formulações não tóxicas para modificar a cor do cabelo vem ganhando destaque. Ahenna (*Lawsonia inermis* L.) é o mais comumente utilizado para este fim, porém possui uma quantidade de cores reduzidas, além de deixar o cabelo mais espesso (KIRKLAND; MARZIN, 2003; BOGA *et al.*, 2013).

No presente estudo, apresenta-se o extrato de jenipapo como agente para modificar a cor do cabelo. No passado, as substâncias presentes no fruto foram utilizadas pelos índios para tingirem tecidos, fabricar cerâmicas e para pintar o corpo nas cerimônias religiosas e durante as batalhas (SILVA; LIMA; VIEITES, 1998; BENTES; MERCADANTES, 2014). O jenipapo é o fruto do jenipapeiro, uma árvore da família das Rubiáceas, chamado cientificamente de *Genipa americana* L., é uma espécie comum em praticamente todo o Brasil. Vários iridóides como a genipina e o geniposídeo já foram identificados no jenipapo. Estes iridóides são monoterpenos que apresentam como característica a capacidade de reagir com aminoácidos e proteínas e formar compostos coloridos (TOUYAMA *et al.*, 1994; FRANCIS, 2002). No fruto, originalmente apresentam-se incolores, mas se tornam azuis (fruto verde) e amarelo cristalino (fruto maduro) quando em contato com grupos aminas de moléculas presentes no fruto (PORTO, 2014).

A estrutura química do geniposídeo e da genipina apresenta sítios reativos disponíveis que permitem inúmeras modificações na molécula de proteína, dentre elas a reticulação com uma citotoxicidade muito baixa no caso da genipina. Esse tipo de modificação proporciona a formação de redes quimicamente mais estáveis e a melhoria das propriedades mecânicas da proteína. Na reação de reticulação, ocorre uma substituição

bimolecular, que inclui a substituição de um grupo éster na molécula de genipinapor uma amida secundária. A segunda reação ocorre um ataque nucleófilo com a substituição do agrupamento de ésteres. As reações de reticulação permitem a formação de pigmentos azuis que incluem outras reações com maior nível de complexidade (BERGER *et al.*, 2004; GONSALVES *et al.*, 2011; RAMOS-DE-LA-PEÑA *et al.*, 2014).

Assim, com base na composição química do extrato de jenipapo e nas potenciais propriedades de coloração da fibra capilar, o objetivo desta pesquisa foi estudar a influência de condições reacionais (concentração do extrato, temperatura e pH) na coloração da queratina capilar de fibras brancas e pretas utilizando extrato da *Genipa americana* L. e avaliando as fibras capilares quanto a cor, morfologia, propriedades térmicas e mecânicas após tratamento com extrato de jenipapo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Extrato da *Genipa americana* L.

Os frutos do jenipapeiro (*Genipa americana* L.) foram obtidos em um sítio no município de Estância/SE (11°8'54"S/37°21'3"O) e selecionados de acordo com o grau de maturação dos mesmos. A exsiccata da planta foi depositada no Herbarium da Universidade Tiradentes sob número de registro AJU870. Foram selecionados frutos maduros com tamanho 9 cm de comprimento e 7 cm de diâmetro, textura de casca mole e rugosa e coloração amarelo-pardacento.

Após os frutos serem lavados em água corrente foram retiradas as cascas e sementes. A polpa foi desidratada em estufa a 55°C durante 72 h e em seguida armazenada em dessecador por mais 24 h. A polpa desidratada foi pulverizada em moinho de facas e o material foi tamisado para utilização do pó com granulometria entre 32 mesh.

O material pulverizado (2 g) foi utilizado para extração por maceração utilizando como sistema de solvente extrator 200 mL de água:metanol, 1:1 (v/v) durante 2 h sob refluxo. Ao final da extração, o material foi filtrado e o solvente foi eliminado através do rotaevaporador e o extrato obtido utilizado para a preparação das soluções de coloração do fio capilar.

2.2 Coleta e preparo dos fios de cabelo

Amostras de cabelo caucasiano, sem histórico de tratamento cosmético agressivo (coloração, alisamentos e permanentes) de coloração preta, identificadas aqui como cabelo preto, e de cor branca, foram obtidas de um único doador. As amostras foram submetidas previamente a análises macroscópicas evidenciando a uniformidade da cor e a ausência de danos nos fios (pontas duplas).

Os fios foram separados em escuro e branco e armazenados em sacos plásticos para posterior lavagem. A fim de eliminar elementos lipofílicos naturalmente presentes e resíduos de produtos cosméticos, poeiras, sujeiras e micro-organismos, os fios foram lavados com solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) grau analítico 2% (m/v), através da fricção suave com as mãos para a formação de espuma e em seguida enxaguadas em água corrente a temperatura ambiente. O excesso de água foi retirado com um jato de ar frio, utilizando um secador de cabelos profissional. Após a secagem e antes de realizar as análises, as amostras foram armazenadas em ambiente controlado a 50% de umidade por 24 h.

Posteriormente, os fios de cabelo foram agrupados em mechas contendo 10 fios cada com 7 cm de comprimento, para cada tratamento da coloração foram utilizadas 7 mechas.

2.3 Coloração do cabelo

O tratamento de coloração dos fios de cabelo foi realizado com a imersão das mechas em um bequer contendo a solução com extrato de jenipapo (200 mL), nas concentrações de 5, 10 e 20 mg.mL⁻¹, por 24 h. A influência do pH no processo de coloração foi verificada utilizando soluções com pH de 5,5 (pH água da torneira), 7 e 10, as quais foram obtidas utilizando solução de tampão fosfato 0,05 M (pH 7) ou solução de tampão NaHCO₃ 0,05 M (pH 10). Para a avaliação da influência da temperatura foi utilizado um banho-maria para aquecer as amostras a 37 e 80°C e a temperatura de 25°C foi considerada a temperatura ambiente.

2.4 Caracterização da cor do cabelo

As medições de cores para as coordenadas de cor CIELAB L, a e b foram obtidas utilizando o colorímetro CR-10 Color Reader (Konica Minolta). Uma placa de cerâmica branca foi utilizada como padrão. Os parâmetros ΔL , Δa e Δb foram calculados pela diferença entre o valor do respectivo parâmetro encontrado para a amostra do cabelo sem o

tratamento e o valor após o tratamento. A diferença de cor (ΔE) foi calculada usando a Eq. 1.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2} \text{Eq 1}$$

Na qual:

$\Delta L = L_{\text{sem tratamento}} - L_{\text{após o tratamento}}$; $\Delta a = a_{\text{sem tratamento}} - a_{\text{após o tratamento}}$; $\Delta b = b_{\text{sem tratamento}} - b_{\text{após o tratamento}}$

A medição foi realizada em cinco repetições, usando a porção média do cabelo. O equipamento fornece os parâmetros de cores com base em três parâmetros: o parâmetro ΔL representa a diferença de brilho (com valores positivos que representam valores mais claros e negativos, o que significa mais escuro), Δa que define a coordenado de cor em diferença entre verde-vermelho (sendo positivo se o cabelo mostra vermelhidão e negativo para o verde) e Δb que define a coordenado de cor em azul-amarelo (com tons de amarelo apresentados por números positivos e azuis por negativo). Todos esses parâmetros de cores podem ser resumidos em ΔE que indica a diferença total de cores. A Tabela 1 foi utilizada para classificar a coloração sem tratamento e após os tratamentos.

Tabela 1: Parâmetros para análise da cor

ΔE	Classificação
0 - 0,2	Imperceptível
0,2 - 0,5	Diferença muito pequena
0,5 - 1,5	Pequena diferença
1,5 - 3,0	Diferença visível
3,0 - 6,0	Muita diferença
6,0 - 12,0	Grande diferença
>12	Diferença muito grande

Fonte: CRUZ-ROMERO; KELLY; KERRY, 2007.

2.4.1 Influência da lavagem na cor do cabelo após tratamento

As amostras de cabelo após tratamento com o extrato de jenipapo foram lavadas com 100 mL de solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) grau analítico a 2% (m/v) (pH 6) e enxaguadas com água corrente à temperatura ambiente durante 2 min. O excesso de água foi retirado com jato de ar frio, utilizando secador profissional, diariamente por 3 dias consecutivos. As mudanças de cor das amostras de cabelo foram medidas em termos de

coordenadas L, a e b CIELAB após cada lavagem. A diferença de cor (ΔE) foi calculada usando a equação 1.

2.5 Propriedades mecânicas do fio capilar após tratamento

A análise da resistência à ruptura do fio foi realizada em um texturômetro (TA-TX2, Stable Micro Systems, England), operando a uma velocidade de tração de 5 mm/s, distância de 50 mm, 20 kg de carga e sensibilidade de 0,49 N. As amostras foram fixadas nas garras pela parte superior e inferior sendo posteriormente aplicada uma força até ocorrer o rompimento das fibras, os valores foram registrados em um *software*, convertendo as informações em um gráfico de carga em função do alongamento. Foram utilizadas mechas contendo cinco fibras de cada tratamento medindo 7 cm. Os diâmetros de cada fio foram medidos com micrometro Mitutoyo®, em três posições (raiz, porção média e de ponta), e o valor médio foi utilizado para calcular a área da secção transversal da fibra capilar. O módulo de Young (E) foi calculado pela relação entre a tensão aplicada e a deformação da amostra.

2.6 Microscopia de força atômica – AFM

A técnica de microscopia de força atômica foi aplicada para caracterização topográfica da estrutura da fibra capilar das amostras sem e após o tratamento. O microscópio utilizado foi o modelo SPM-9700 (SHIMADZU) com um scanner de 30 μm . O modo de varredura adotado foi o contato e as pontes utilizadas foram do tipo SiNi com uma frequência de ressonância igual de 10 kHz e constante de elasticidade de 0,06 N/m, fornecidas pela Nano World. Para obtenção das imagens topográficas, as varreduras foram padronizadas em 10x 10 μm em todos os experimentos.

2.7 Microscopia eletrônica de varredura – MEV

O estudo da superfície e secção transversal das amostras foi realizado por microscopia eletrônica de varredura utilizando um microscópio eletrônico de varredura Joel Modelo JSM-6360-LV. As amostras foram recobertas com ouro e foi aplicada voltagem de 20 kV.

2.8 Espectroscopia de refletância total atenuada na região do infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).

As análises de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas utilizando espectroscópio equipado com diamante/cristal de seleneto de zinco (ZnSe) e dispositivo ATR (reflexão total atenuada), marca AGILENT CARY 630 FTIR (Agilent Technologies, USA) para analisar a presença de grupos químicos, em amostras de cabelos pretos e brancos tratados e não tratados com extrato de jenipapo. Fios de cabelos foram cortados em pequenas porções e depositados na superfície do cristal ATR em escala espectral ZnSe 4000-1000 cm^{-1} resolução de $< 2 \text{ cm}^{-1}$ e processada para aquisição automática dos dados pelo software Agilent Micro Lab PC.

2.9 Análises estatísticas

As possíveis diferenças significativas nos resultados foram analisadas após verificação do tipo distribuição dos dados pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os dados, que apresentaram distribuição normal, foram avaliados utilizando ANOVA e as diferenças entre tratamentos foram identificadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Nos dados referentes a análise de cor do cabelo após lavagens múltiplas foi utilizado ANOVA em duas vias, seguida de teste de Bonferroni ($\alpha = 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do cabelo após reação com extrato

Inicialmente foi analisada a influência dos tratamentos de pH e térmicos sem a utilização do extrato para se avaliar a influência das condições experimentais na modificação da cor do cabelo. Na análise de colorimetria foram avaliados a variação do brilho com dados referentes às variações do eixo acromático (L), que indica a luminosidade do fio capilar, além das mudanças de cor referentes às variações dos eixos cromáticos a (verde/vermelho) e b (azul/amarelo). Também foi calculado o valor de ΔE , que representa a modificação de cor total, levando-se em conta ΔL , Δa e Δb (DARIO *et al.*, 2013).

A Figura 1 apresenta os parâmetros colorimétricos (ΔE , ΔL , Δa e Δb) das amostras de cabelo preto e branco sem qualquer tratamento (CP e CB respectivamente) e após serem

submetidas às condições de pH 10 (CP0/10 e CB0/10) e temperatura 80°C (CP0/80 e CB0/80).

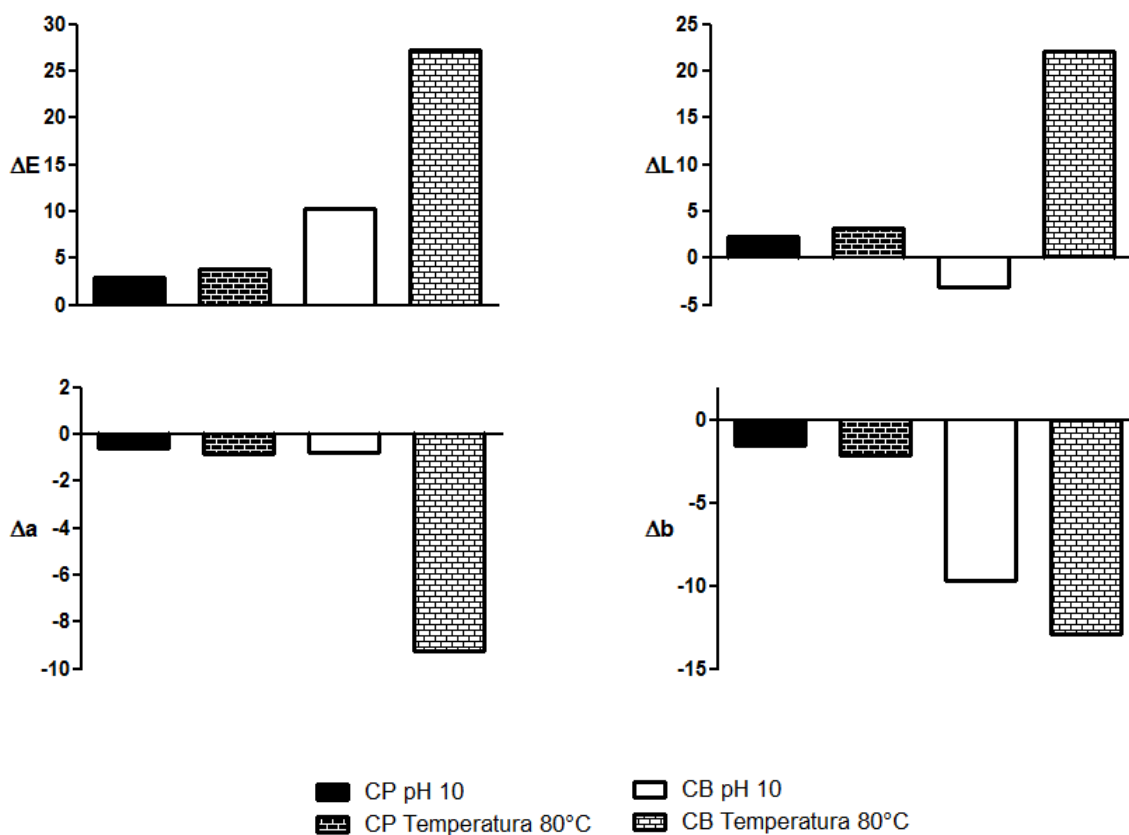


Figura 1. Parâmetros colorimétricos (ΔE , ΔL , Δa e Δb) atribuídos aos cabelos pretos (CP) e brancos (CB) submetidos ao tratamento em pH 10,0 ou temperatura 80°C sem a presença do extrato.

Pode ser observado que para o cabelo preto, todos os parâmetros não sofreram modificação significativa ($p > 0,05$) em relação a amostra não tratada, independente do tratamento (pH ou temperatura). Após os tratamentos, as amostras se apresentaram mais claras (ΔL maiores), com o eixo cromático Δa tendendo ao verde e Δb tendendo ao azul (Figura 1). Os valores de modificação de cor (ΔE) para o cabelo preto foram 2,9 e 3,9 para os tratamentos pH 10 e temperatura 80°C respectivamente.

O cabelo branco apresentou comportamento diferente. O tratamento das amostras em pH 10 não alterou os parâmetros de cor (ΔL e Δa) significativamente ($p > 0,05$), com exceção ao eixo cromático Δb , que se apresentou maior em relação ao cabelo branco submetido a esta condição de pH ($p < 0,01$), tendendo ao azul. Mesmo com menor variação dos

parâmetros, as condições de pH e temperatura influenciaram significativamente na alteração da cor, apresentando ΔE de 10,2 para amostras de cabelo branco submetidas a pH 10 e ΔE de 27,2 para amostras tratadas na temperatura de 80°C (Figura 1). A temperatura influenciou em todos os parâmetros colorimétricos, mostrando-se potencial agente modificador de cor.

Pode-se observar, portanto, que as condições reacionais drásticas, sem adição de qualquer substância responsável em colorir o cabelo, pode influenciar a cor do cabelo branco. Assim, foram realizadas duas diferentes avaliações. A primeira pretendeu-se evidenciar a influência do extrato na modificação da cor do cabelo. Para tanto, o cálculo do parâmetro foi realizado pela diferença entre a amostra tratada com extrato e sem extrato nas mesmas condições reacionais. A segunda avaliação foi a comparação dos diferentes tratamentos, utilizando os parâmetros colorimétricos obtidos diretamente do colorímetro, apenas calibrando o aparelho em placa branca de porcelana. Neste caso, objetivou-se identificar as diferenças entre os tratamentos, levando em conta os efeitos sinérgicos de alteração de cor do extrato e das condições reacionais.

A alteração da cor do cabelo pelo tratamento com o extrato de jenipapo se baseia na reação entre o geniposídeo, molécula precursora de genipina, encontrado no extrato de jenipapo, e os grupamentos amina presentes na queratina (YAN *et al.*, 2010; GORCZYCA *et al.*, 2014). Vários autores têm estudado a reação com a genipina com diferentes proteínas e aminoácidos e relatam a produção de compostos coloridos (FUJIKAWA; NAKAMURA; KOGA, 1988; CHO *et al.*, 2006; YANG *et al.* 2012, RAMOS-DE-LA-PEÑA *et al.*, 2014). Porém, a literatura ainda é escassa sobre a produção de compostos coloridos a partir da reação do grupo amino da queratina e a molécula de geniposídeo.

No presente estudo foi utilizado extrato de jenipapo, com presença de geniposídeo confirmada, como estratégia para a modificação da cor do cabelo, em condições mais agressivas à fibra capilar, como pH 10,0 e temperatura 80°C e em condições usuais (pH 5,5 e 7,0 e temperatura ambiente e corporal).

A Figura 2 mostra o aspecto macroscópico da modificação da cor dos fios capilares após serem submetidos a diferentes condições de pH e concentração do extrato de jenipapo, mantendo a temperatura a 25°C.

A Figura 3 apresenta os valores dos parâmetros colorimétricos que se referem a modificação da cor produzidas pelo extrato. Todas as amostras apresentaram ΔE entre 2,0 e 15,0 em relação ao cabelo sem o tratamento com o extrato, sugerindo que o extrato gera modificação de cor perceptível.

Para o cabelo preto, as amostras tratadas, os valores de ΔE maiores que 6,0, apresentam grande alteração de cor total, conforme classificação proposta por Cruz-Romero, Kelly e Kerry (2007). A amostra tratada em pH 5,5 e 5 mg/mL de extrato apresentou ΔE em torno de 3,0, mostrando que condições mais amenas e concentrações menores possuem menor influência na alteração da cor. Após lavagens, não houve variações de cor ($p > 0,05$) (Figura 4). O eixo cromático Δa foi o parâmetro de menor contribuição para a modificação do cabelo. A maioria das amostras apresentou diminuição na luminosidade (ΔL negativo).

Já o cabelo branco, as amostras tratadas em pHs maiores (10 e 7) apresentaram uma maior variação de ΔE , perdendo significativamente cor após as lavagens ($p < 0,05$). A concentração do extrato influenciou a modificação da cor, uma vez que em pH 5,5, a amostra tratada com 20 mg/mL apresentou ΔE em torno de 11,0 e a tratada com 5 mg/mL o ΔE ficou próximo a 6,0 (Figura 3).

Sem Tratamento

pH = 5,5

[] = 0,0 mg/mL



pH = 7,0

[] = 10,0 mg/mL



pH = 10,0

[] = 20,0 mg/mL



pH = 5,5

[] = 20,0 mg/mL



pH = 10,0

[] = 5,0 mg/mL



pH = 5,5

[] = 5,0 mg/mL



Figura 2. Resultado macroscópico da cor das amostras de cabelos pretos e brancos antes do tratamento e após o tratamento a 25 °C observando a influência do pH e concentrações do extrato.

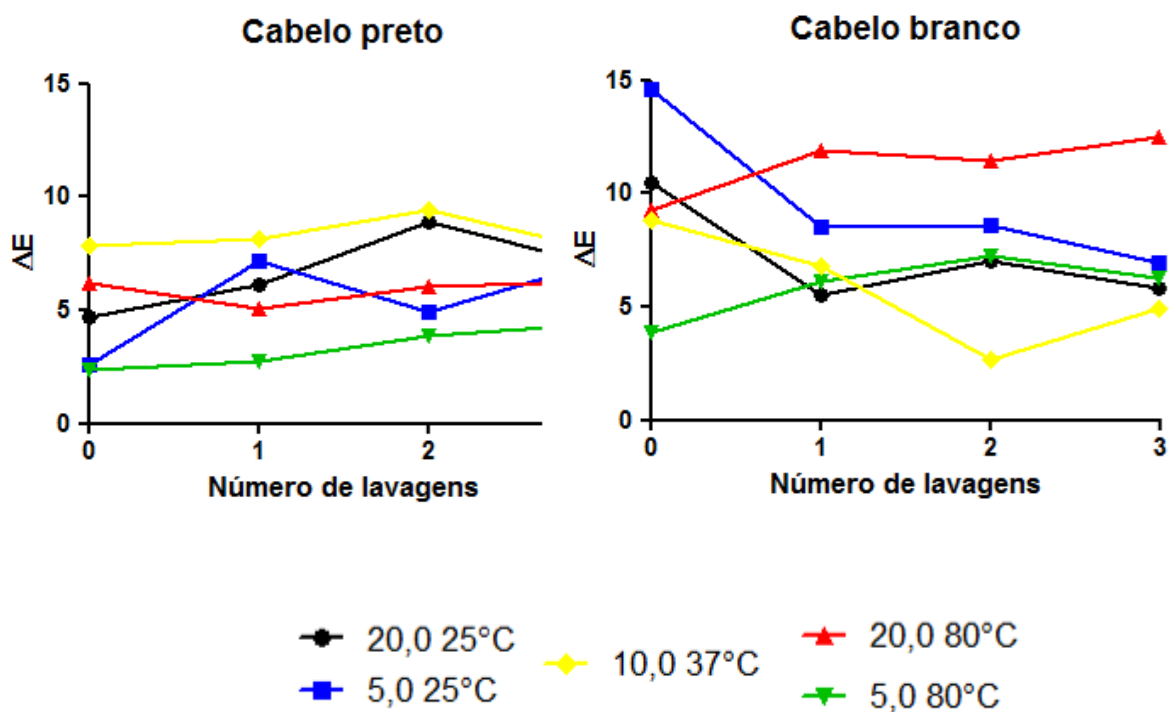


Figura 3. Diferença de cor (ΔE) das mechas de cabelo preto e branco tratadas em diferentes condições de pH e concentração de extrato, após 3 dias de lavagens consecutivas.

A modificação da cor do cabelo branco também pouco foi influenciada por Δa , sendo os parâmetros mais relevantes ΔL e Δb . As maiores concentrações do extrato, assim como o pH 10,0 influenciaram para a mudança da luminosidade. Porém observou-se que o extrato apresentou resultados diferentes com 20 mg/mL em diferentes pHs para Δb . Em pH 5,5, o cabelo branco tende a cor azul, enquanto em pH tendeu ao amarelo, mesmo em menores concentrações do extrato.

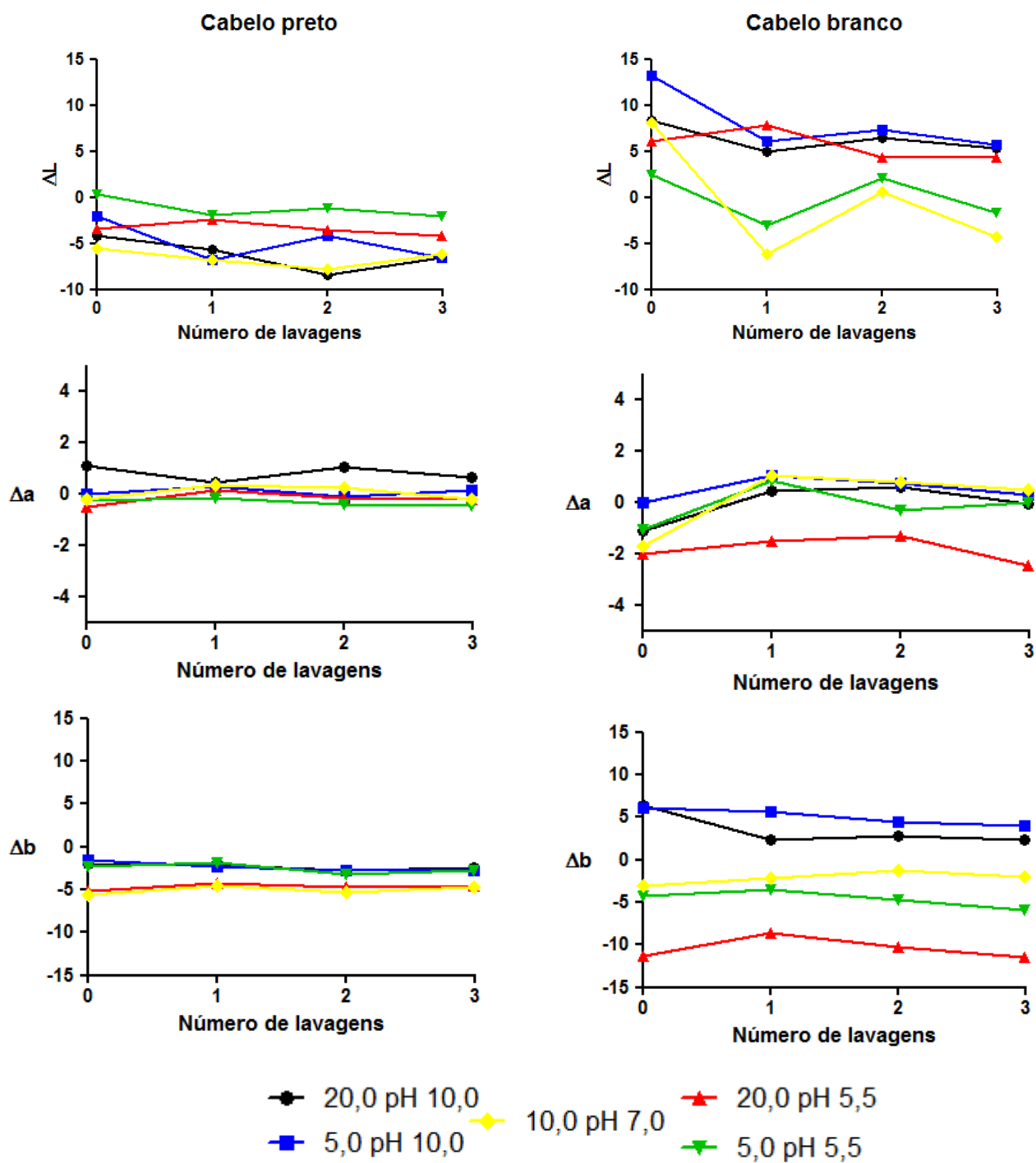


Figura 4. Variações dos valores do eixo acromático (ΔL) e dos eixos cromáticos (Δa e Δb) das amostras de cabelos pretos e brancos tratados com diferentes concentrações do extrato em diferentes pHs a 25°C, antes e após 3 lavagens diárias.

Yang *et al.* (2012) estudaram a reação de genipina e proteínas para a produção de pigmentos. Os autores apresentaram produtos com diferentes colorações a depender do pH utilizado. Os autores observaram que em pH mais altos as tonalidades seguiam para cores magenta (pH 9) a vermelho escuro (pH 12). Em pH neutro ou levemente ácido as cores variaram de marrom (pH 5,0) e azul (pH 7,0). A reatividade e consequentemente a cor obtida irá depender da concentração de geniposídeo e também da disponibilidade dos grupamentos amino desprotonados da queratina (CHO *et al.*, 2006). Em pH mais alto (pH 10,0), os grupamentos amino da queratina ($pK_a=4,5$) se apresentam desprotonados, favorecendo a reação. Segundo Da França *et al.* (2015), vários fatores podem afetar a formação de cor no processo de modificação da cor do cabelo, dentre eles o pH. Além disso, o pH influencia diretamente na taxa de reação, pois um pH alcalino favorece a reação e a abertura da cutícula do cabelo, permitindo que a reação ocorra também no córtex.

A Figura 5 apresenta os parâmetros colorimétricos absolutos e permite a comparação da cor final após o tratamento, comparando-os.

Foi observado que os diferentes tratamentos diminuíram a luminosidade do cabelobranco e influenciou pouco a luminosidade dos cabelos pretos. Em relação ao eixo cromático “a”, apesar da pequena variação (máxima de 1,0), todos os tratamentos, com exceção em pH 10,0 e 20 mg/mL do extrato, apresentaram tendência mais amarelada que a amostra sem tratamento. Nesta referida amostra, “a” diminuiu em relação à amostra não tratada. No cabelo branco todas as amostras se mostraram nos “azuis” que a amostra não tratada. Para o parâmetro cromático “b”, as amostras de cabelo preto apresentaram ligeiro aumento em relação ao cabelo sem tratamento, apresentando valores tendendo ao vermelho. O mesmo ocorreu para o cabelo branco para a amostra tratada em pH 5,5 com 20 mg/mL do extrato.

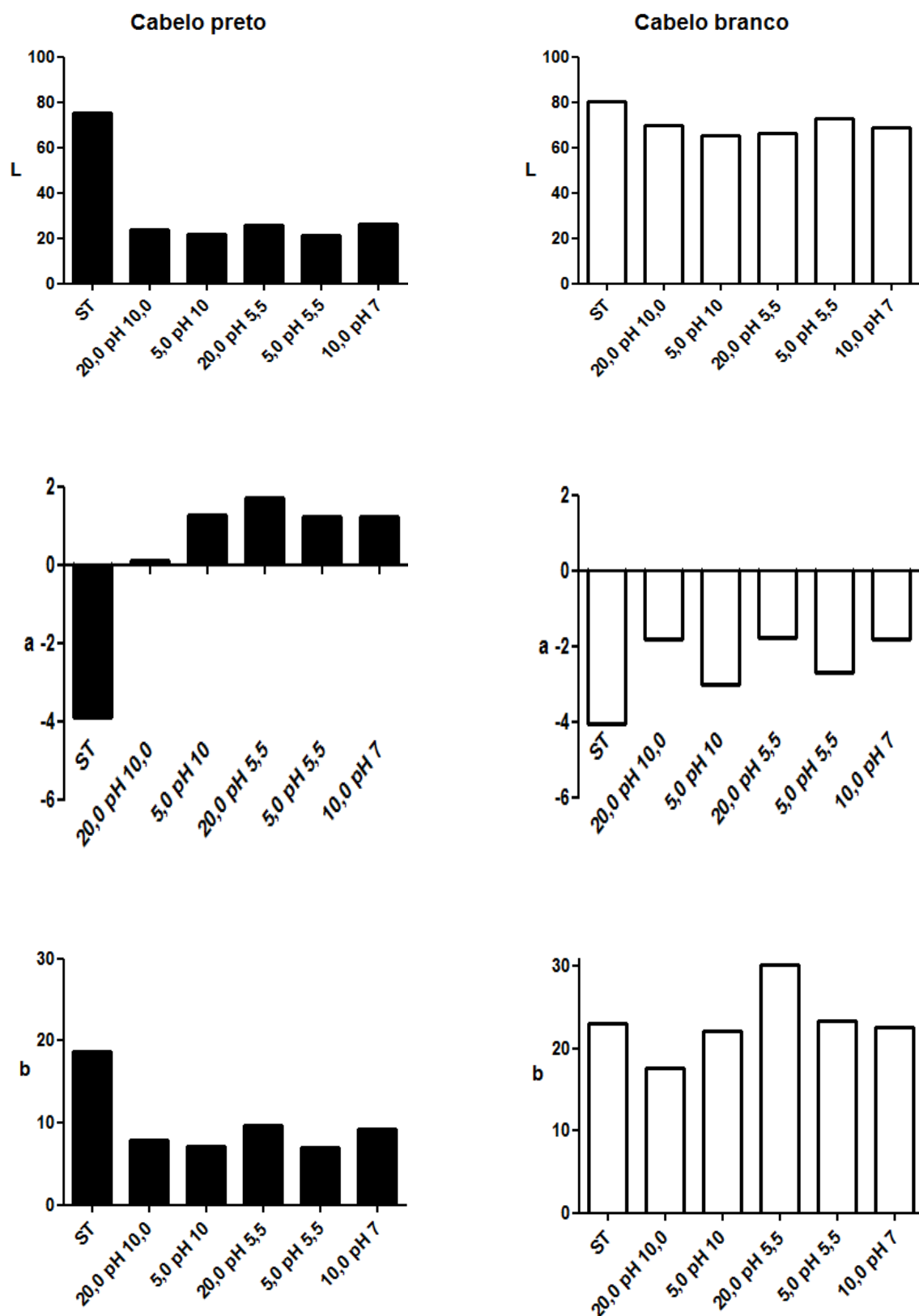


Figura 5. Parâmetros colorimétricos absolutos dos diferentes tratamentos com variação de pH e concentração de extrato. ST = amostra sem tratamento.

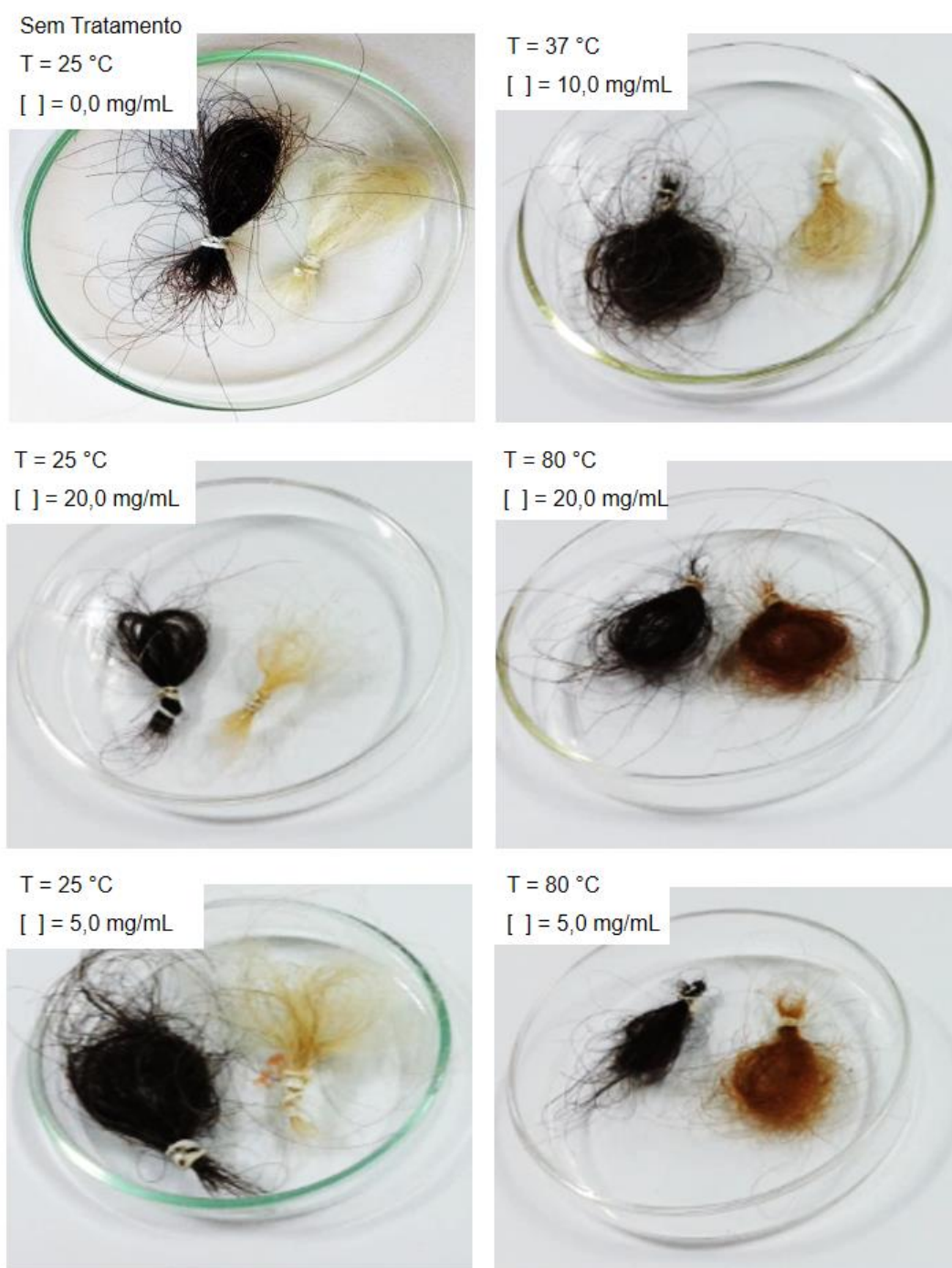


Figura 6. Resultado macroscópico da cor das amostras de cabelos pretos e brancos antes do tratamento e após o tratamento com pH 5,5 observando a influência da temperatura e concentrações do extrato.

A Figura 6 apresenta o resultado macroscópico da influência da temperatura e da concentração do extrato de jenipapo sobre a modificação da cor dos fios capilares, mantendo o pH 5,5. Observou-se macroscopicamente que as amostras coloriram, com tons diferentes. Nas amostras de cabelo branco, nas condições reacionais utilizando a maior temperatura (80°C) foi encontrada a maior variação de cor.

Confirmando os achados macroscópicos, as amostras de cabelo preto apresentaram ΔE menores que 6,0, com manutenção da cor após as lavagens e sem diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Nas amostras de cabelo branco, o tratamento em temperatura mais alta (80°C) e maior concentração do extrato (20 mg/mL) apresentou maior ΔE (próximo a 17), sendo estatisticamente diferente de todas as demais amostras ($p < 0,001$) (Figura 7). Este resultado é classificado, conforme descrito por Cruz-Romero, Kelly e Kerry, 2007, como uma diferença muito grande de cor.

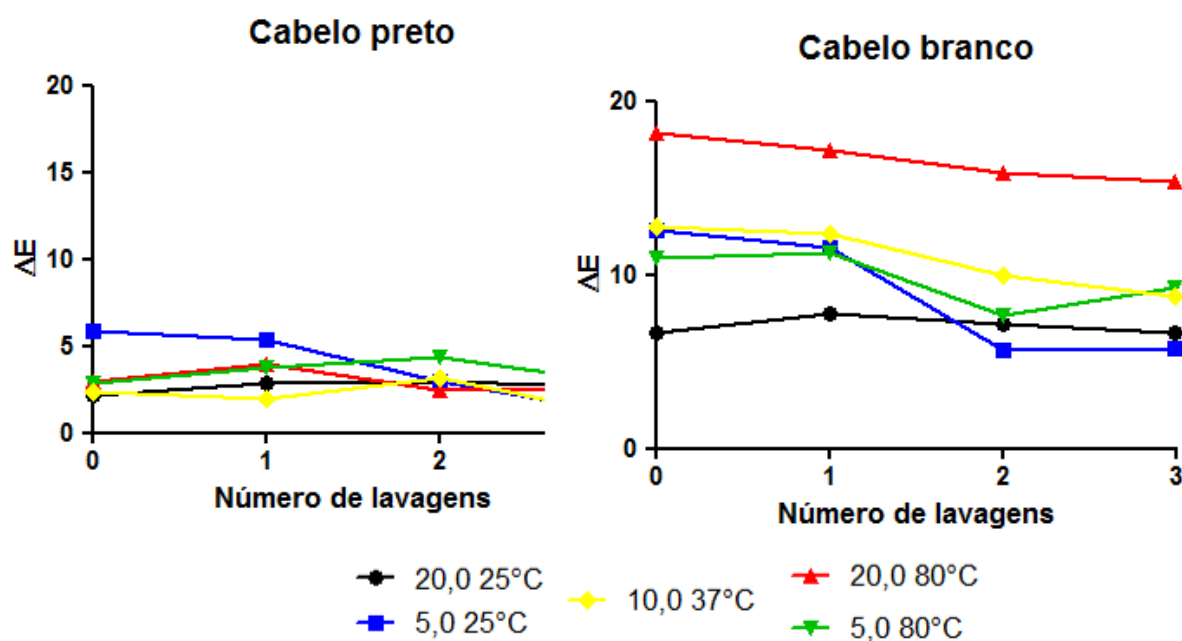


Figura 7. Diferença de cor (ΔE) das mechas de cabelo preto e branco tratadas em diferentes condições de temperatura e concentração de extrato, após 3 dias de lavagens consecutivas.

A amostra tratada com 5 mg/mL de extrato nesta mesma temperatura (80°C) apresentou ΔE próximo a 11,0, semelhante a tratada com a mesma concentração de extrato (5 mg/mL), porém na temperatura de 25°C ($p > 0,05$). Entretanto destaca-se que as amostras tratadas com a menor concentração de extrato, independente da temperatura, não mantiveram a coloração após as lavagens ($p < 0,05$).

O aumento de temperatura parece favorecer a reação entre os iridóides e a queratina, que é considerada estável. O aumento da temperatura favorece a transição das cadeias de α -queratina, promovendo a formação de redes termoestáveis, associando a estrutura em hélice da queratina a junção com o geniposídeo através de ligações de hidrogênio e ligações covalentes (BIGI *et al.*, 2002).

O parâmetro de cor que mais contribuiu para o resultado de alteração da cor das amostras de cabelo branco foi ΔL , apresentando todas as amostras com maior luminosidade que a amostra tratada sem o extrato. A amostra tratada em temperatura a 80°C e 20 mg/mL apresentou a maior luminosidade e foi a única que apresentou variação no eixo cromático Δa (Figura 8).

Os parâmetros que se apresentaram próximos a zero indicam pouca ou nenhuma contribuição para a alteração da cor. A medida que se afastam zero (com valores positivos ou negativos) geram maior contribuição para a modificação.

Os resultados sugerem que o geniposídeo está reagindo com o grupo amina da queratina do cabelo. Porém a condição reacional pode favorecer ou dificultar esta reação, mudando a cor do cabelo para diferentes faixas no eixo cromático (MI; SHUY; PEG, 2005; BOONSOONG; LAOHAKUNJIT; KERDCHOECHUEN, 2012).

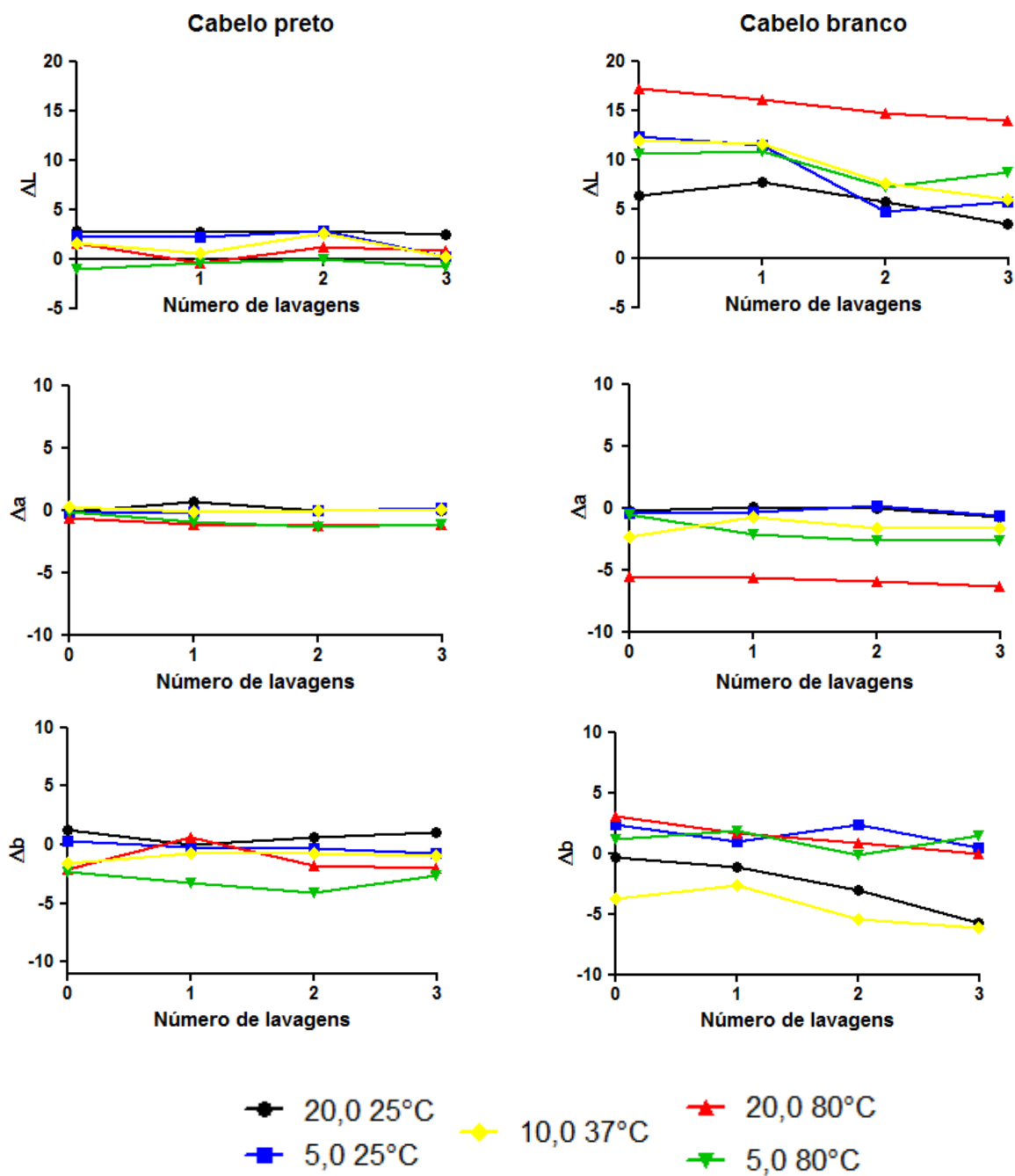


Figura 8. Variações dos valores do eixo acromático (ΔL) e dos eixos cromáticos (Δa e Δb) para amostras de cabelos pretos e brancos tratados com diferentes concentrações do extrato em diferentes temperaturas e pH 5,5, antes e após 3 lavagens diárias.

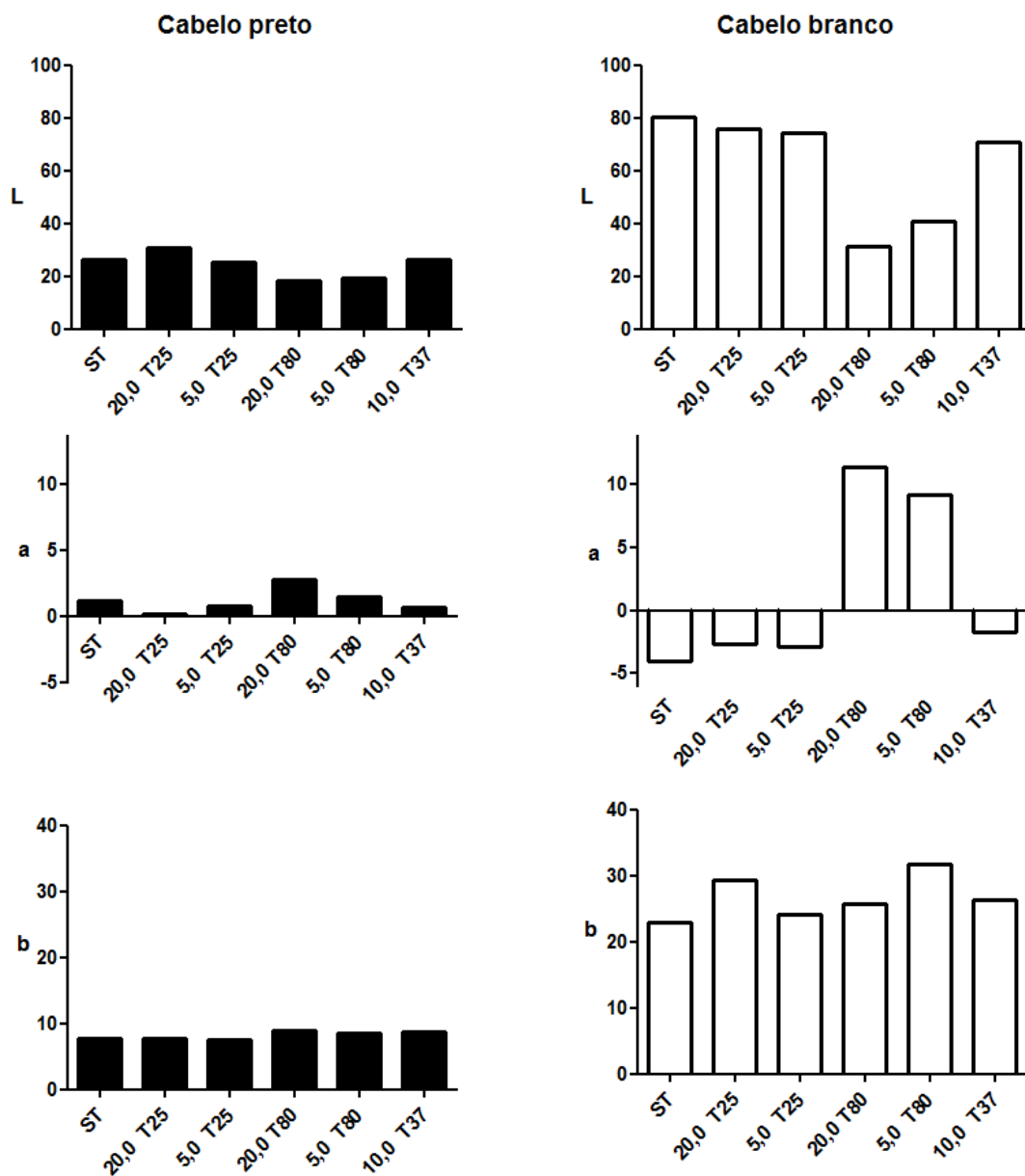


Figura 9. Parâmetros colorimétricos absolutos dos diferentes tratamentos com variação de temperatura e concentração de extrato. ST = amostra sem tratamento.

Após análise dos resultados em relação a modificação da cor, as demais caracterizações do fio capilar por meio de microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica e análise mecânica foram realizadas utilizando condições reacionais extremas (80°C ou pH 10,0), buscando evidenciar possíveis danos ao cabelo. A concentração de extrato escolhida para esta etapa do trabalho foi 20 mg/mL, que em geral apresentou os melhores resultados.

3.2. Propriedades mecânicas do cabelo preto e do cabelo branco sem e com tratamento

O estudo das propriedades mecânicas como deformação, tensão e módulo de Young do cabelo é fundamental para o desenvolvimento de novos produtos. O presente estudo teve o objetivo investigar o processo de deformação da fibra capilar e a resistência mecânica da fibra capilar no cabelo preto e branco com e sem tratamento para coloração.

A Figura 10 mostra a variação dos diâmetros médio dos fios nas três porções da fibra (raiz, porção média e de ponta), antes e após serem submetidos às diferentes condições experimentais de tratamento.

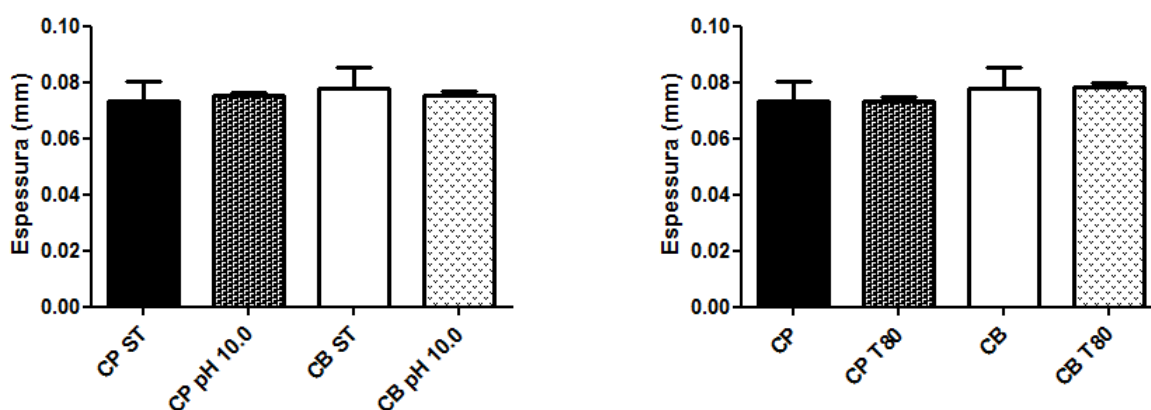


Figura 10. Determinação da espessura em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80°C respectivamente.

A espessura não apresentou diferença significativa independente do tratamento aplicado ($p > 0,05$), sugerindo que o aumento do pH ou de temperatura não altera a dimensão do fio capilar.

A Figura 11 apresenta os resultados de deformação das amostras. Não houve diferença entre todas as amostras estudadas ($p = 0,8185$).

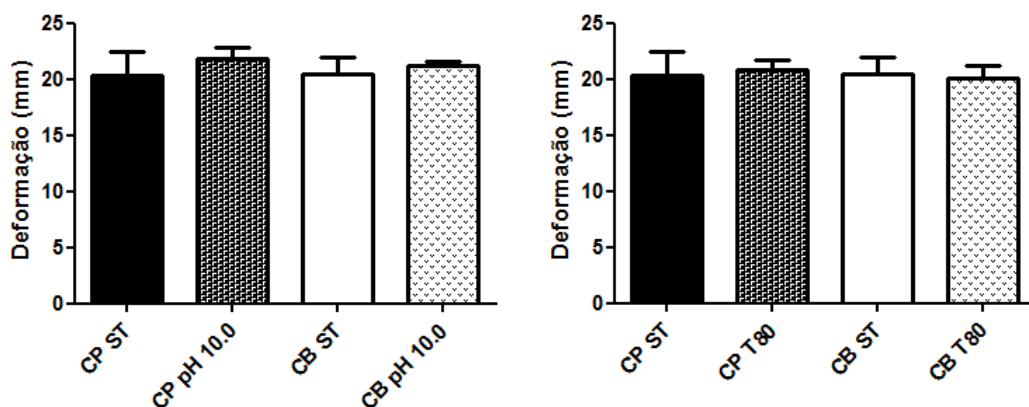


Figura 11. Determinação da deformação em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80°C respectivamente.

A hidratação do cabelo é favorecida pelo aumento da temperatura que quebra as ligações de hidrogênio, podendo alterar a elasticidade da fibra capilar. A queratina possui afinidade especial pela água. Esta absorção depende da taxa de umidade relativa do ar e interfere em todas as propriedades dos cabelos, como: capacidade de alongamento, diâmetro e viscosidade interna das fibras (VELASCO *et al.*, 2009).

Segundo Dario *et al.*, 2013, a ruptura da fibra se dá em resposta a aplicação de uma carga, a fibra capilar é esticada cerca de 2% do seu comprimento inicial, o que é conhecido como propriedade elástica. Com uma carga moderada, a distensão é cerca de 25 a 30% do comprimento, chamada, de propriedade plástica. Aplicando a força de forma constante, as fibras irão esticar em proporção à carga até que ocorra a ruptura. (VELASCO *et al.*, 2009; DIAS *et al.*, 2008). No presente trabalho, as fibras capilares se deformaram cerca de 40% até a sua ruptura. Segundo Seshadri e Bhushan (2008) o cabelo humano mostra uma curva tensão-deformação típica das fibras queratínicas. Os danos químicos e mecânicos pode não ter efeito direto na curva tensão-deformação ou nas propriedades de tração, pois os mesmos causam enfraquecimento da cutícula externa. O desprendimento da cutícula externa, expõe as camadas endocuticulares. Desta forma, a ruptura ocorre mais precocemente nos cabelos mecanicamente danificados (10%) do que nos cabelos quimicamente danificados (20%).

Quando seco, a fibra do cabelo pode alongar cerca de 20-30% em relação ao seu comprimento inicial. Em contato com a água, isso pode atingir até 50%. Em contato com amônia, torna-se mais elástico. Os tratamentos químicos e físicos, a exposição ao sol e o uso de secadores elétricos e placas aquecidas afetam esta propriedade. A resistência à

quebra é uma função do diâmetro da fibra, da condição do córtex, e é afetada negativamente pelos tratamentos químicos (DIAS *et al.*, 2008; ROBBINS, 2002).

A Figura 12 apresenta os resultados de tensão observando a influência de pH e temperatura respectivamente. O aumento de temperatura diminuiu a tensão necessária para a ruptura de fibra ($p < 0,001$), demonstrando que o tratamento deixou o cabelo mais frágil. De maneira semelhante, o pH também diminuiu a tensão máxima para ruptura da fibra ($p < 0,001$).

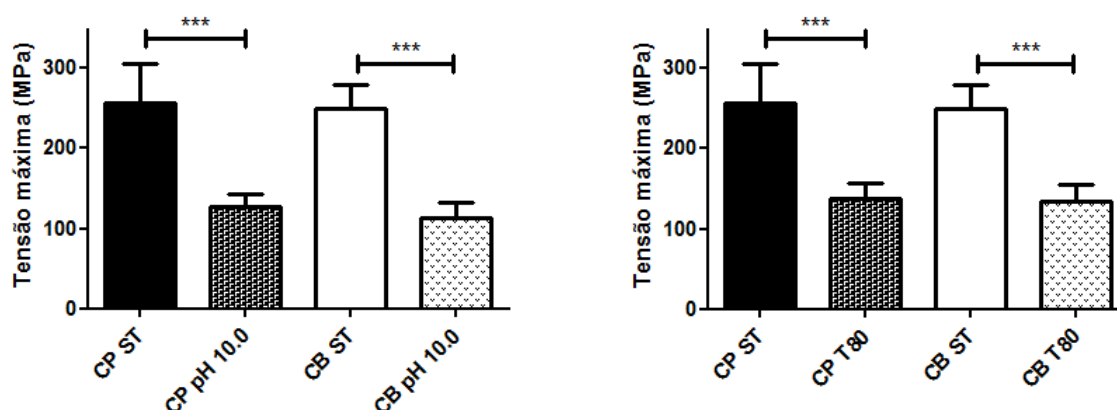


Figura 12. Determinação da tensão em diferentes condições reacionais: pH = 10 e temperatura = 80°C respectivamente.

O Módulo de Young também conhecido como módulo de elasticidade, relaciona a força de tensão e deformação que o cabelo sofre até ser rompido. Quando foi comparado o cabelo preto e branco sem e com coloração, conforme figura 13, verificou-se que os cabelos pretos e brancos sem coloração possuem o Módulo de Young maior do que o cabelo colorido tanto sob influência do pH quanto da temperatura ($P < 0,001$), ou seja, houve perda de elasticidade. As amostras sem tratamento se deformam irreversivelmente com uma tensão maior que o cabelo tratado.

Segundo Leszek (2003) o aminoácido cistina possui a capacidade de reticular proteínas através de suas ligações dissulfetos intermoleculares. Uma alta concentração deste aminoácido indica existência de ligações cruzadas, como ocorre na região cortical do fio capilar, que é responsável pelas propriedades mecânicas do cabelo. No caso de danos químicos ao cabelo, além do dano físico provocado na cutícula, ocorre oxidação da cistina na queratina a resíduos de ácido cisteico e, portanto, a interrupção das ligações cruzadas de dissulfeto nesta região do cabelo. No entanto, a ligação dissulfeto não influencia nas propriedades de tração das fibras de queratina, o que justifica os resultados em relação a deformação do fio (SESHADRI; BHUSHAN, 2008). A diminuição da tensão a ruptura e do

módulo de elasticidade sugerem o dano a região cutilar do cabelo, que protege o córtex. Ao mesmo tempo, os resultados sugerem que o córtex capilar foi preservado, uma vez que a deformação não foi alterada.

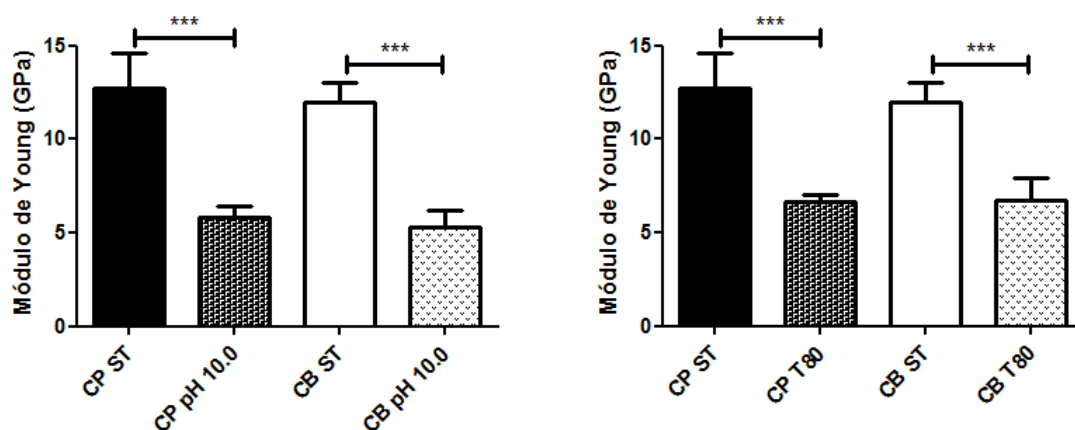


Figura 13. Determinação do Módulo de Young (A) condições reacionais pH, (B) condições reacionais temperatura.

O cabelo, quando alongado, é submetido à forças de cisalhamento devido a diferença de extensibilidade e aos 20% de sua deformação ocorre a deslaminagem, com isso as camadas de cutículas interiores são separadas dos exteriores, ocorrendo mudanças na altura e inclinação que são visualizados na AFM (SESHADRI; BHUSHAN, 2008).

3.3 Microscopia de Força Atômica – AFM

As imagens analisadas demonstram para todas as amostras uma fibra com diferenças na estrutura cuticular, apresentam o padrão típico de sobreposição das cutículas, demonstrando uma ligeira degradação das bordas. O levantamento da cutícula externa e, portanto, a mudança de altura e inclinação são observadas nas imagens AFM tanto para o cabelo branco quanto preto, com ou sem tratamento com extrato de jenipapo, conforme apresentado nas Figuras 14 e 15.

Houve um aumento da altura média da cutícula dos fios capilares após tratamento com o extrato de jenipapo, independentemente da condição de pH e temperatura e da cor do cabelo. A temperatura, assim como a mudança do pH favorece a abertura da cutícula.

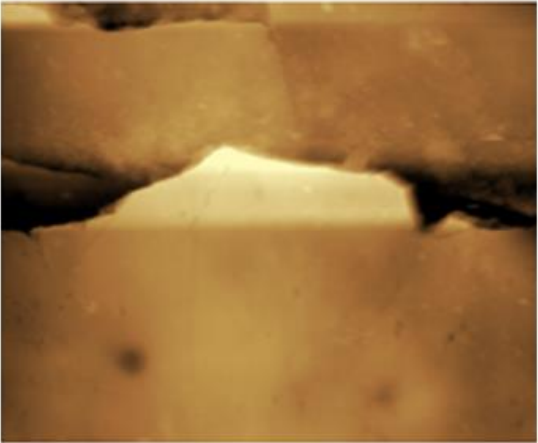
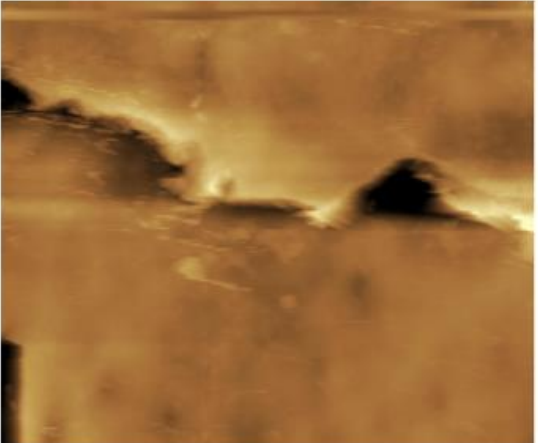
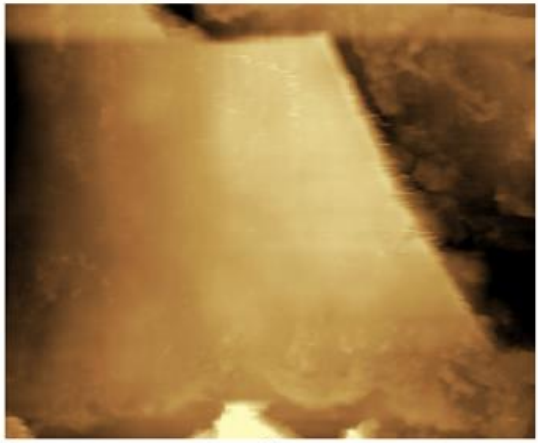
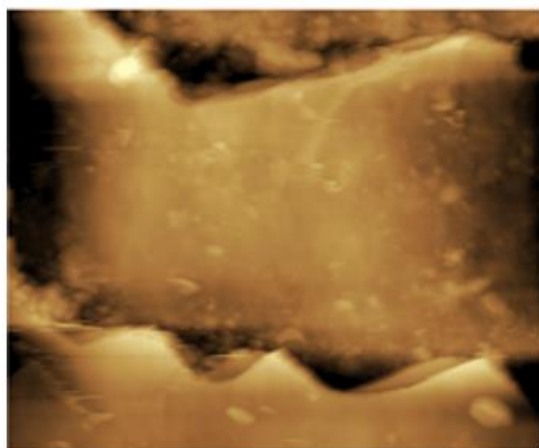
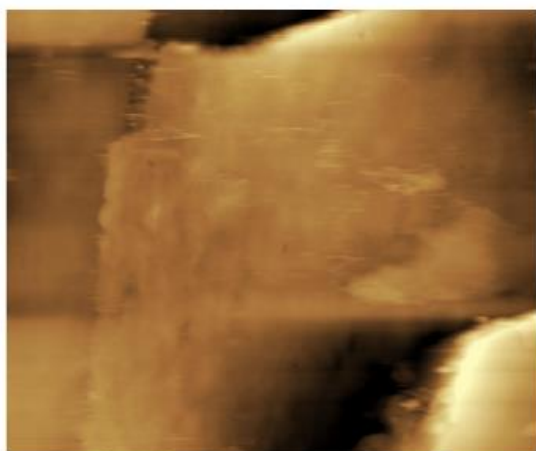
	Amostra	Altura da Escama (nm)	Rugosidade (nm)
	Cabelo preto sem tratamento	594,57	107,53
	Cabelo preto 80°C pH 5,5	879,58	59,617
	Cabelo preto 25°C pH 10,0	677,73	124,180

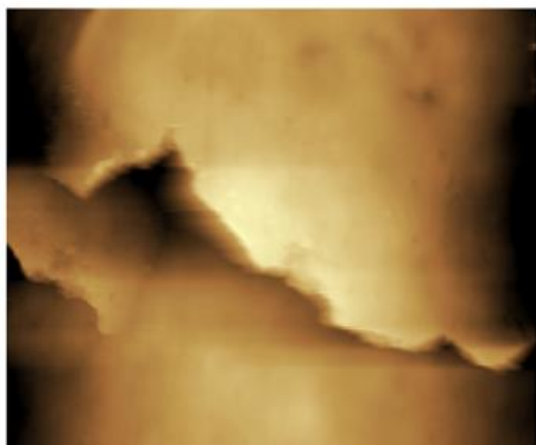
Figura 14. Imagens topográficas obtida por AFM de amostras de cabelo preto com e sem tratamento e suas respectivas alturas e rugosidade.



Amostra	Altura da Escama (nm)	Rugosidade (nm)
Cabelo branco sem tratamento	500,66	141,45



Cabelo branco 80°C pH 5,5	673,55	84,357
---------------------------	--------	--------



Cabelo branco 25°C pH 10,0	694,78	137,428
----------------------------	--------	---------

Figura 15. Imagens topográficas obtida por AFM de amostras de cabelo branco com e sem tratamento e suas respectivas alturas e rugosidade.

Nas amostras pesquisadas, verificou-se que as superfícies cuticulares das amostras tratadas com o extrato de jenipapo na temperatura de 80°C apresentaram valores para a rugosidade menores que as demais amostras (Figuras 14 e 15). Essa característica da fibra favorece ao realinhamento das cutículas e consequentemente uma melhora da maleabilidade, brilho e arranjo dos cabelos. Temperaturas acima de 80 °C alteram a superfície morfológica das cutículas, fundindo o material de sua superfície (YU; YANG; MEYERS, 2017).

Segundo Kuzuhara (2013), os tratamentos para as fibras de queratina capilar são amplamente utilizados na indústria de cosméticos para modificar a cor do cabelo humano, mas causam degradação significativa do mesmo. O tratamento com extrato de jenipapo parece contribuir para a melhoria das condições cuticulares.

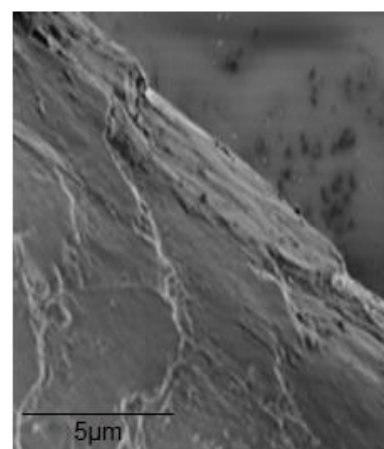
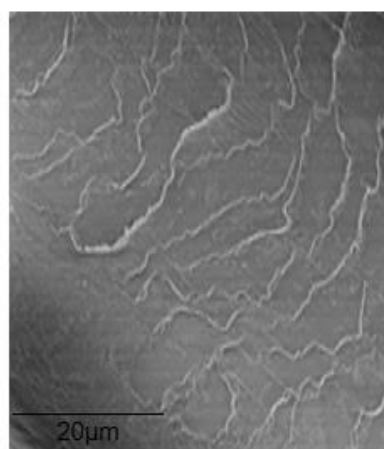
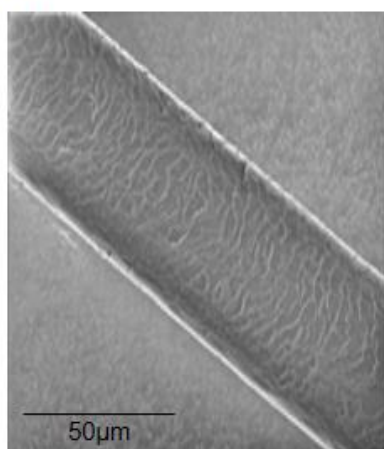
3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

Nas imagens de MEV estudadas foram observadas fraturas na região da cutícula externa para todas as amostras, o que expõe o interior da cutícula. A superfície externa do cabelo humano é composta por numerosas escamas de cutícula que correm ao longo do eixo da fibra, geralmente empilhados em cima uma das outras, porém no cabelo danificado as falhas tornam-se evidentes bem como as delaminações na região da endocutícula (LA TORRE; BHUSHAN, 2006; SESHADRI; BHUSHAN, 2008).

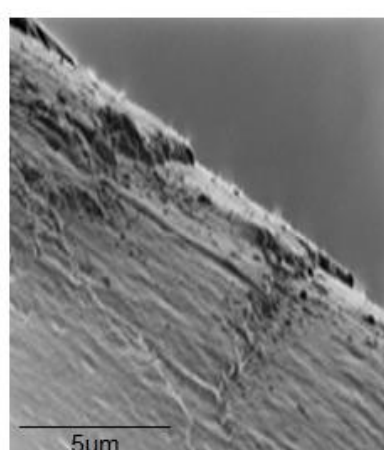
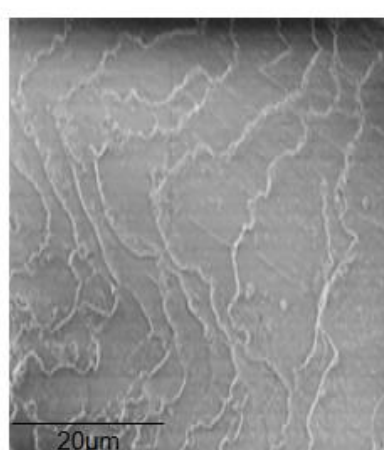
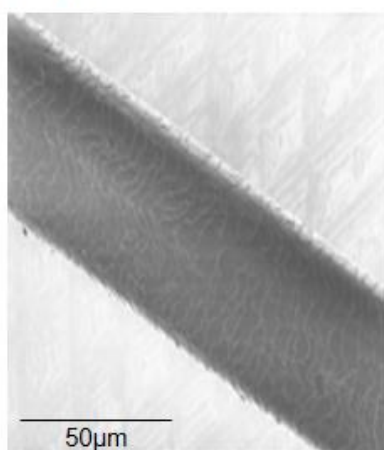
Estas alterações morfológicas na superfície do cabelo podem mudar com a idade, pois ocorre uma diminuição do tamanho da escala cuticular. As amostras utilizadas foram doadas por indivíduo idoso. Além disso, o cabelo está exposto a vários tipos de intempéries, causados por exposição ao sol, ar e água. Existem ainda os danos mecânicos como pentear, lavar e escovar e danos térmicos causados por secadores e chapinhas que também danificam tanto quanto o envelhecimento cronológico (RICHENA *et al.*, 2014).

Concordando com os resultados de espessura já discutidos anteriormente, nas Figuras 16 e 17 percebeu-se uma uniformidade no diâmetro dos fios para todas as amostras envolvidas. Além disso, a reação do extrato com a queratina parece aplanar e fechar a cutícula do cabelo, como pode ser observado nestas imagens. Foi possível observar que, em geral, os fios não apresentaram o córtex exposto, exceto na amostra de cabelo branco sem tratamento. Os cabelos pretos submetidos a variação de pH e temperatura sem extrato sofreram danos maiores a cutícula quando comparado ao branco na mesma situação. Quando tratados com o extrato de jenipapo, ambos passam a apresentar uma diminuição da rugosidade na superfície da fibra do cabelo, sendo esse aspecto muito mais evidente no cabelo preto submetido a variação de temperatura.

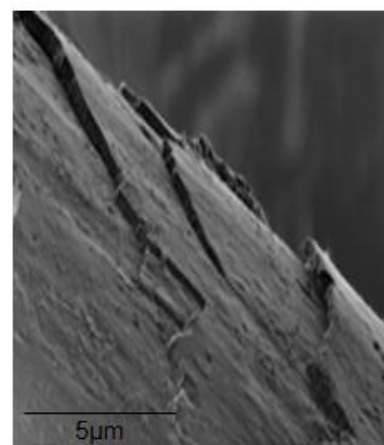
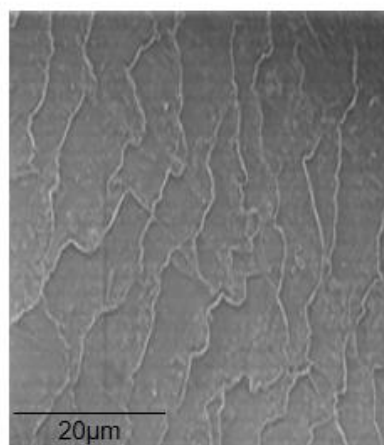
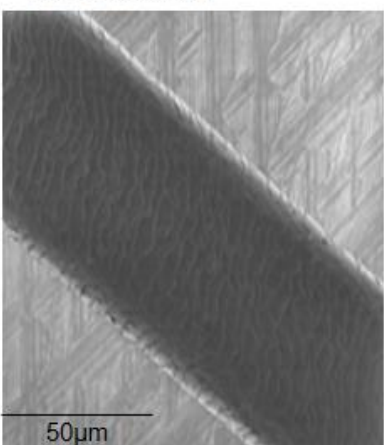
Pct



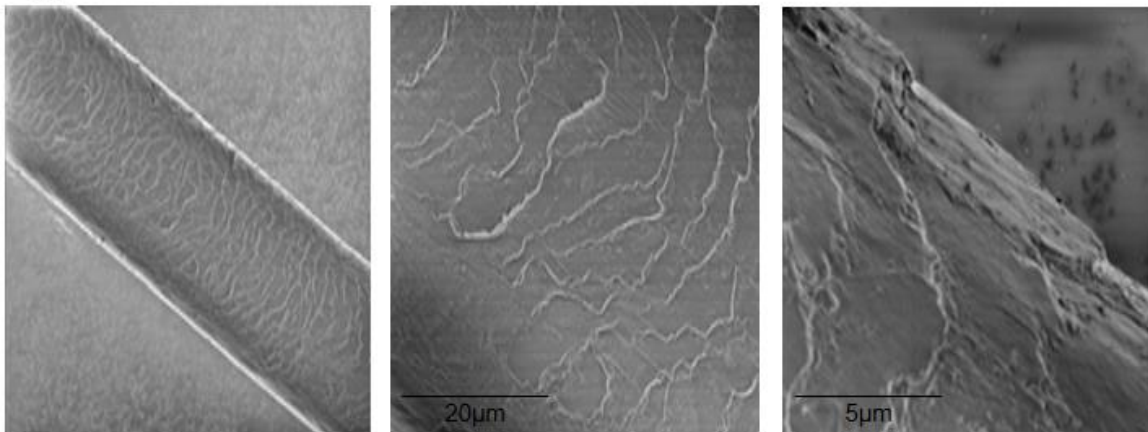
CP pH



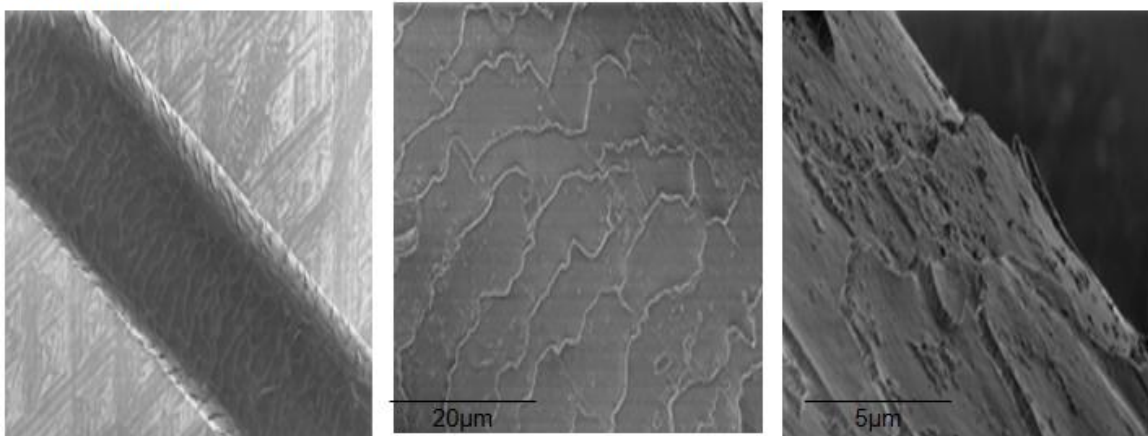
CP 25/10 extrato



Pct



CP temperatura



CP 80/5,5 T80 extrato

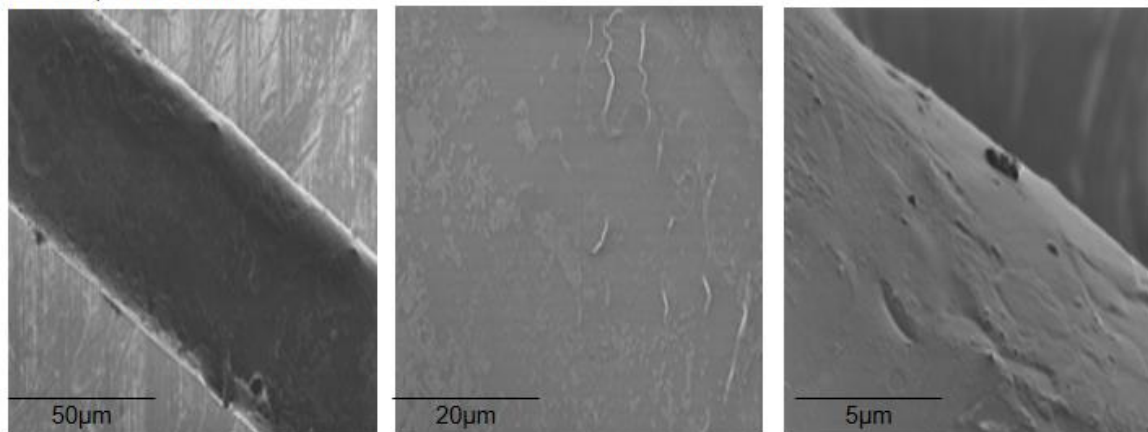
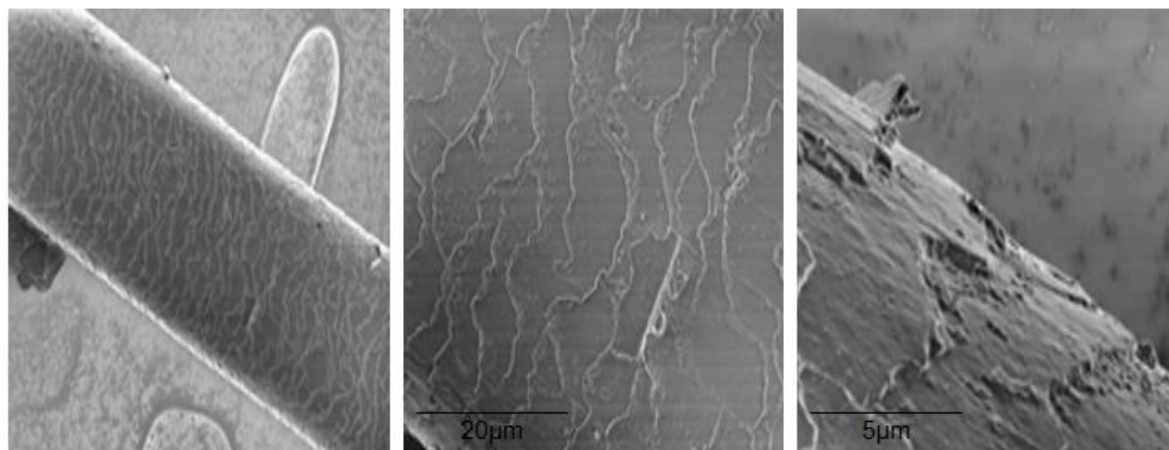
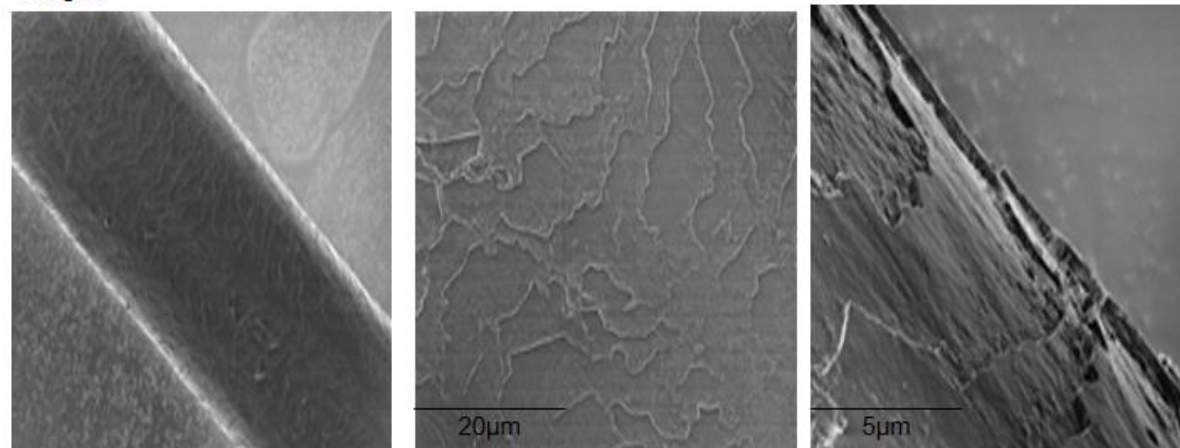


Figura 16: Imagens de MEV das amostras de cabelo preto. Na coluna 1 as imagens foram obtidas com um aumento de 650 vezes, na coluna 2 com um aumento de 2500 vezes e na coluna 3 com um aumento de 10000 vezes.

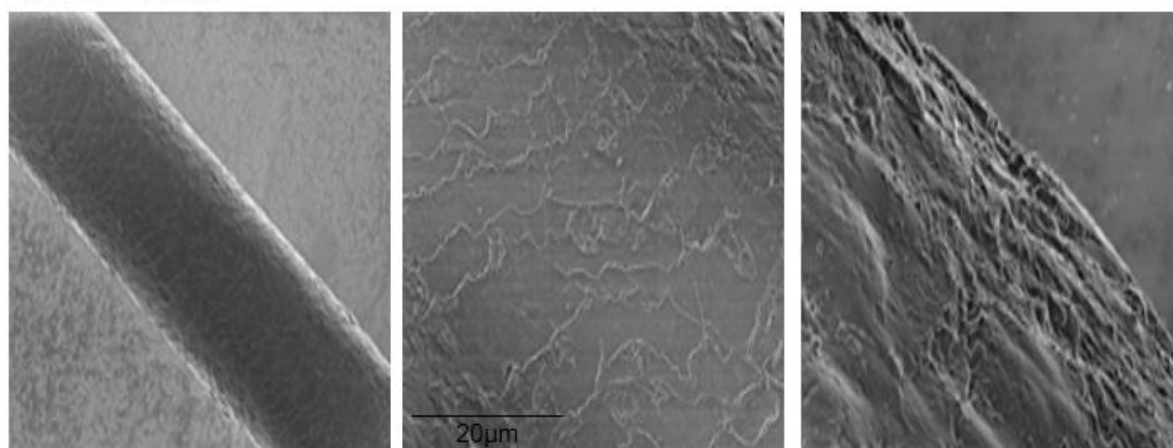
Bct



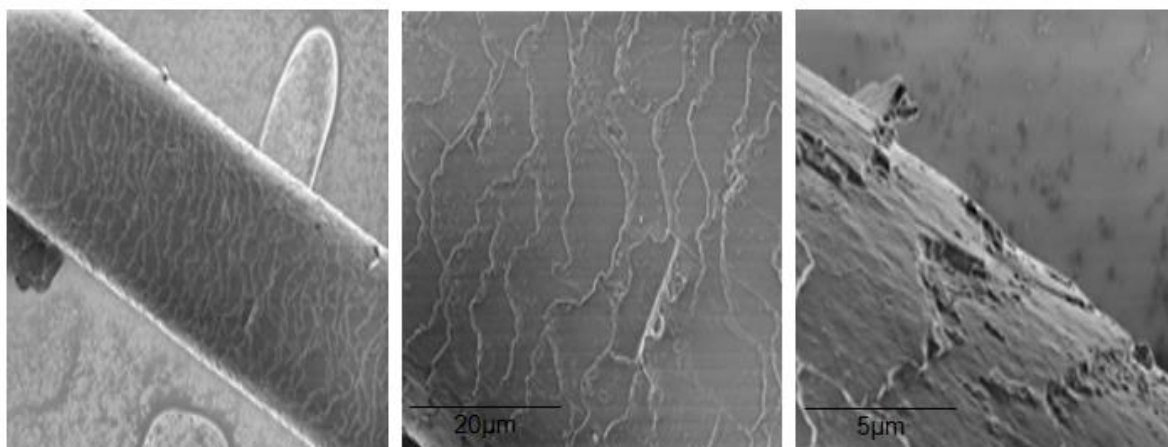
CB pH



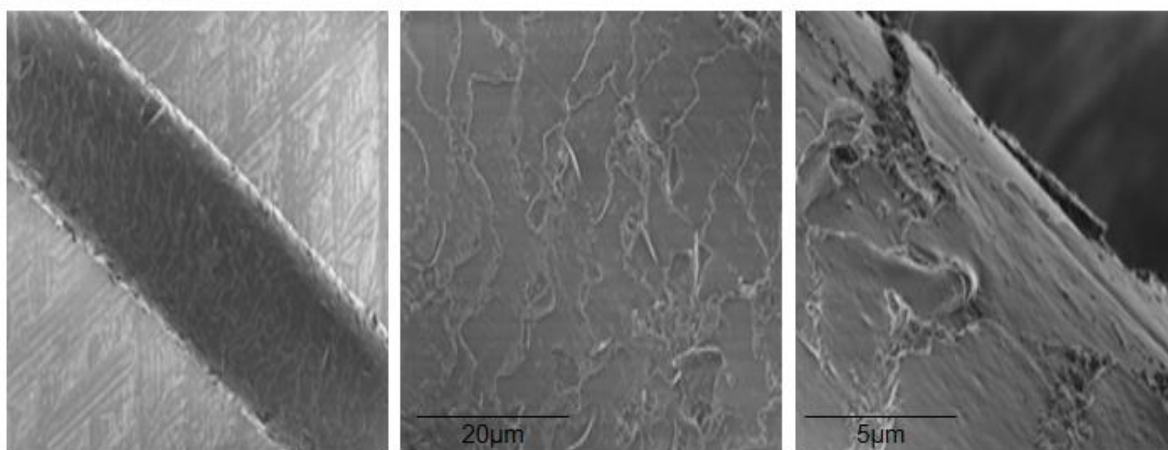
CB 25/10 extrato



Bct



CB temperatura



CB 80/5,5 extrato

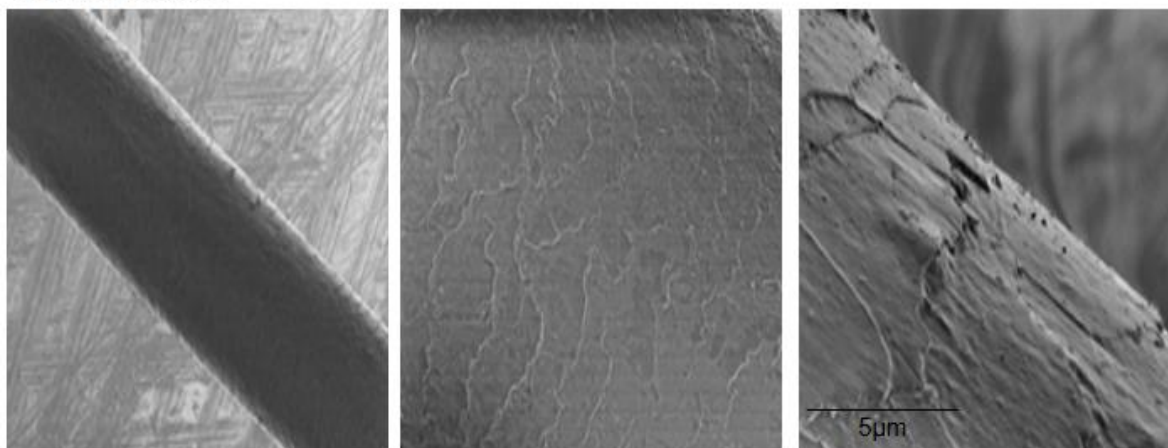


Figura 17.Imagens de MEV das amostras de cabelo branco. Na coluna 1 as imagens foram obtidas com um aumento de 650 vezes, na coluna 2 com um aumento de 2500 vezes e na coluna 3 com um aumento de 10000 vezes.

Foi observado que os danos causados pela variação de pH nos cabelos pretos e brancos são maiores que os danos causados pela variação de temperatura tanto para o cabelo preto quanto branco tratado ou não como nas amostras tratadas com extrato de jenipapo.

As amostras de cabelos preto e branco com temperatura de 80°C apresentaram as bordas das cutículas seladas e uniformes, sendo um indicativo de que o cabelo foi tratado, além de ter sido colorido. Provavelmente, a reação entre geniposídeo presente no extrato de jenipapo e os amino grupos da queratina pode ter contribuído para a diminuição da rugosidade, selando as escamas pela reticulação intracadeia (BUTLER; NG; PUDNEY, 2003).

Estas amostras são de cabelos naturais, sem nenhuma química, no entanto as bordas cuticulares tanto dos cabelos pretos quanto brancos, apresentaram-se danificadas. Esperava-se encontrar uma cutícula uniforme e contínua na amostra não submetidas as condições de agressão, no entanto as imagens não revelam este fato. Segundo Leszek (2003), com o processo de envelhecimento, os cabelos se tornam mais frágeis já que a absorção de nutrientes através dos alimentos ingeridos ficam mais restritos devido a alterações no metabolismo humano.

Nos cabelos preto e branco tratados com o extrato de jenipapo observou-se que a cutícula está selada sem tratamento quando comparado ao cabelo branco sem tratamento nas amostras estudadas possuem as extremidades cuticulares menos danificadas. Foi observado também que no cabelo branco existem várias áreas ao longo da fibra capilar em que a cutícula se apresenta levantada e quebrada, além de alguns fragmentos. Como estas amostras são de cabelos virgens, era esperada a presença de fibras capilares com aspecto saudável, com bordas cuticulares arredondadas e perfeitas. Tal fato pode estar relacionado, segundo Nogueira *et al.* (2007) ao processo de envelhecimento da fibra capilar que a torna mais frágil já que ficam mais susceptíveis a uma diminuição na absorção de nutrientes com também a alterações metabólicas do organismo do indivíduo e danos ambientais.

Nas imagens de MEV das figuras 18 e 19, as amostras são apresentadas em corte transversal mostrando as camadas da cutícula e do córtex. Pode-se observar a medula do fio capilar, que fica no centro do córtex.

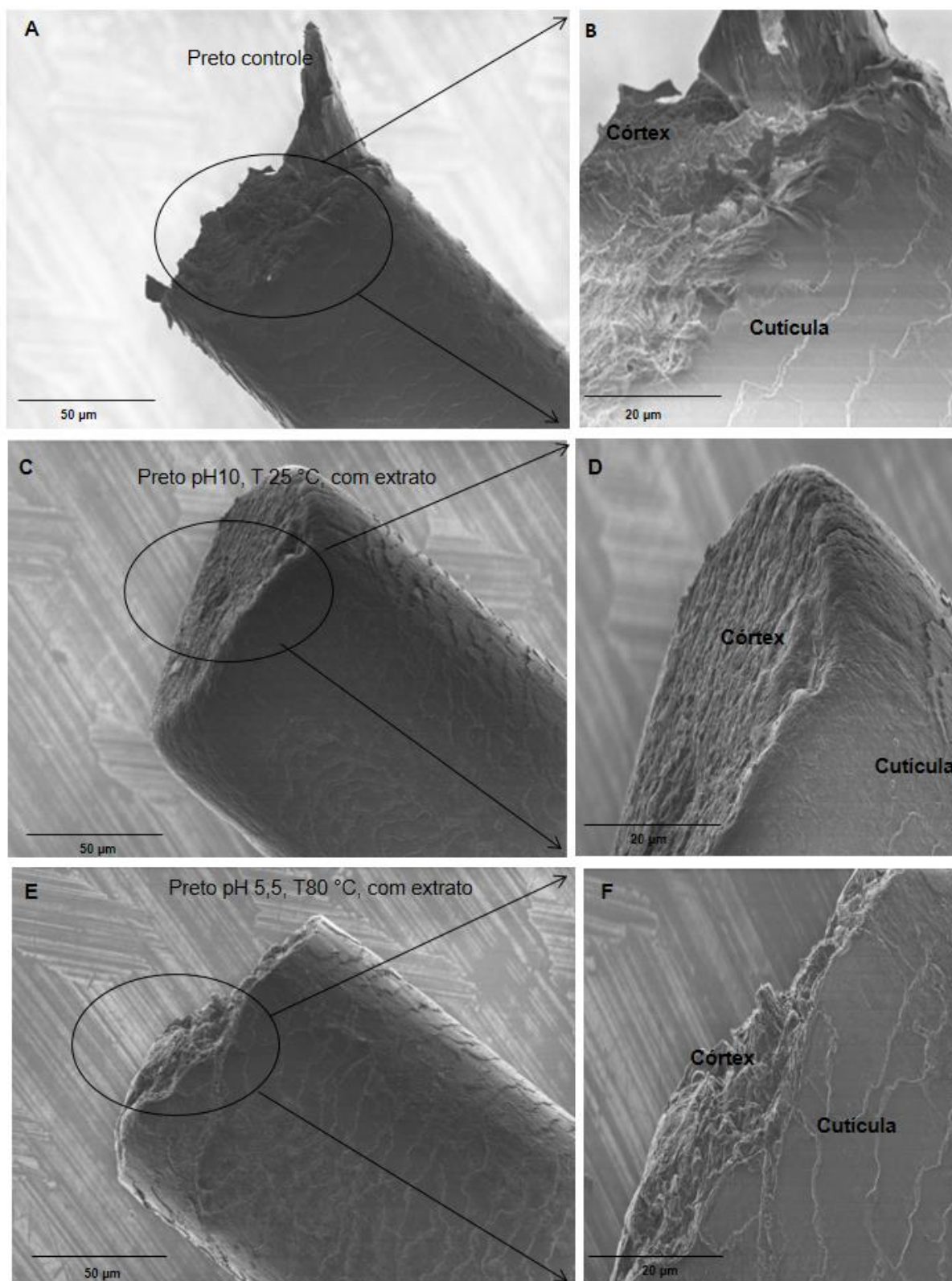


Figura 18. Imagens de MEV de amostras de cabelo preto virgem caucasiano sem e com tratamento com extrato de jenipapo. Nos detalhes visualiza-se as camadas da cutícula e sua espessura.

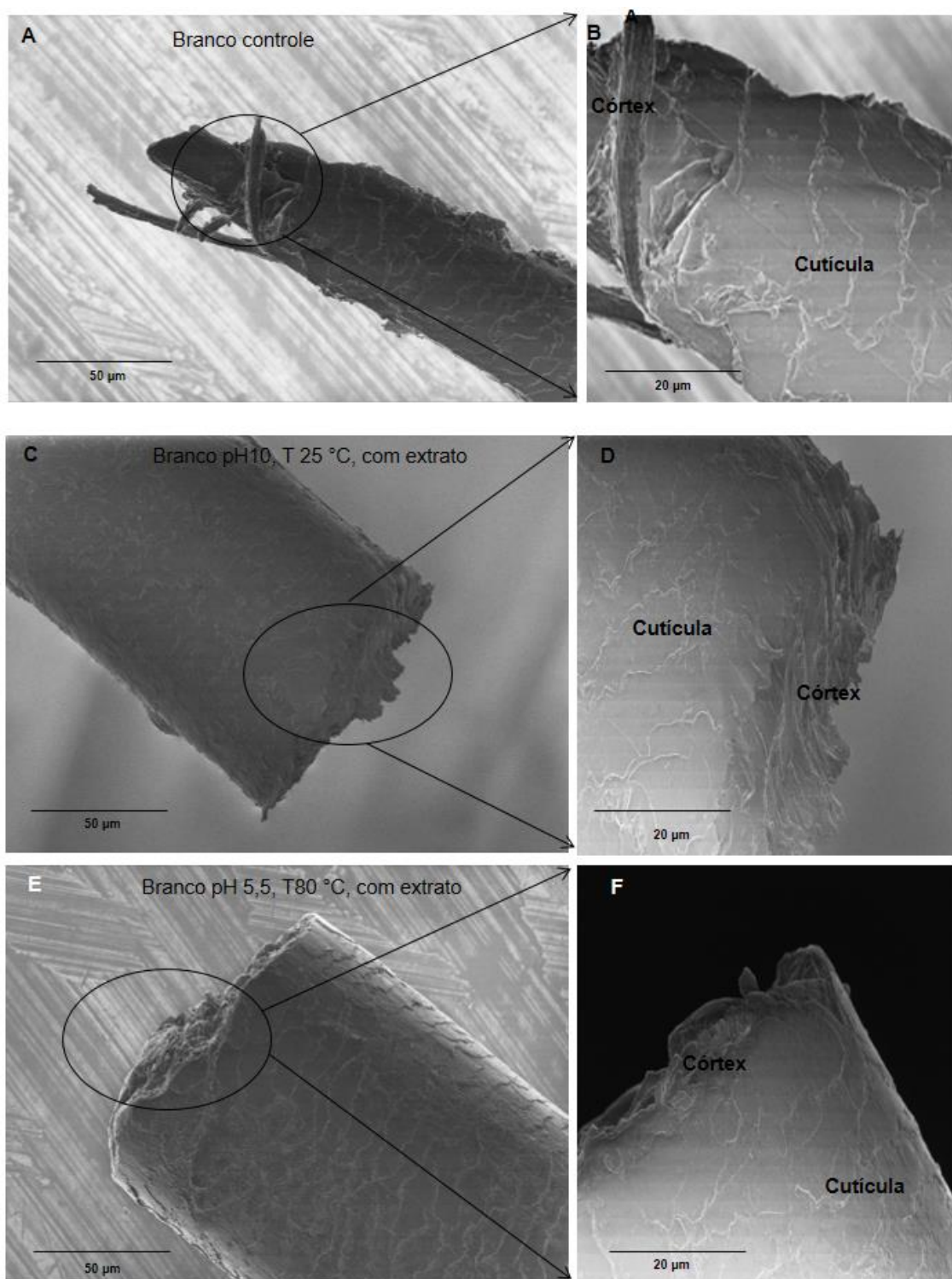


Figura 19. Imagens de MEV de amostras de cabelo branco virgem caucasiano sem e com tratamento com extrato de jenipapo. Nos detalhes visualiza-se as camadas da cutícula e sua espessura.

3.5 Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise FTIR é muito útil para avaliar as mudanças estruturais nas proteínas. Pode ser observado na os espectros referentes a amostras dos cabelos brancos e pretos tratados com o extrato em pH 10(Figura 20) ou temperatura de 80°C(Figura 21).

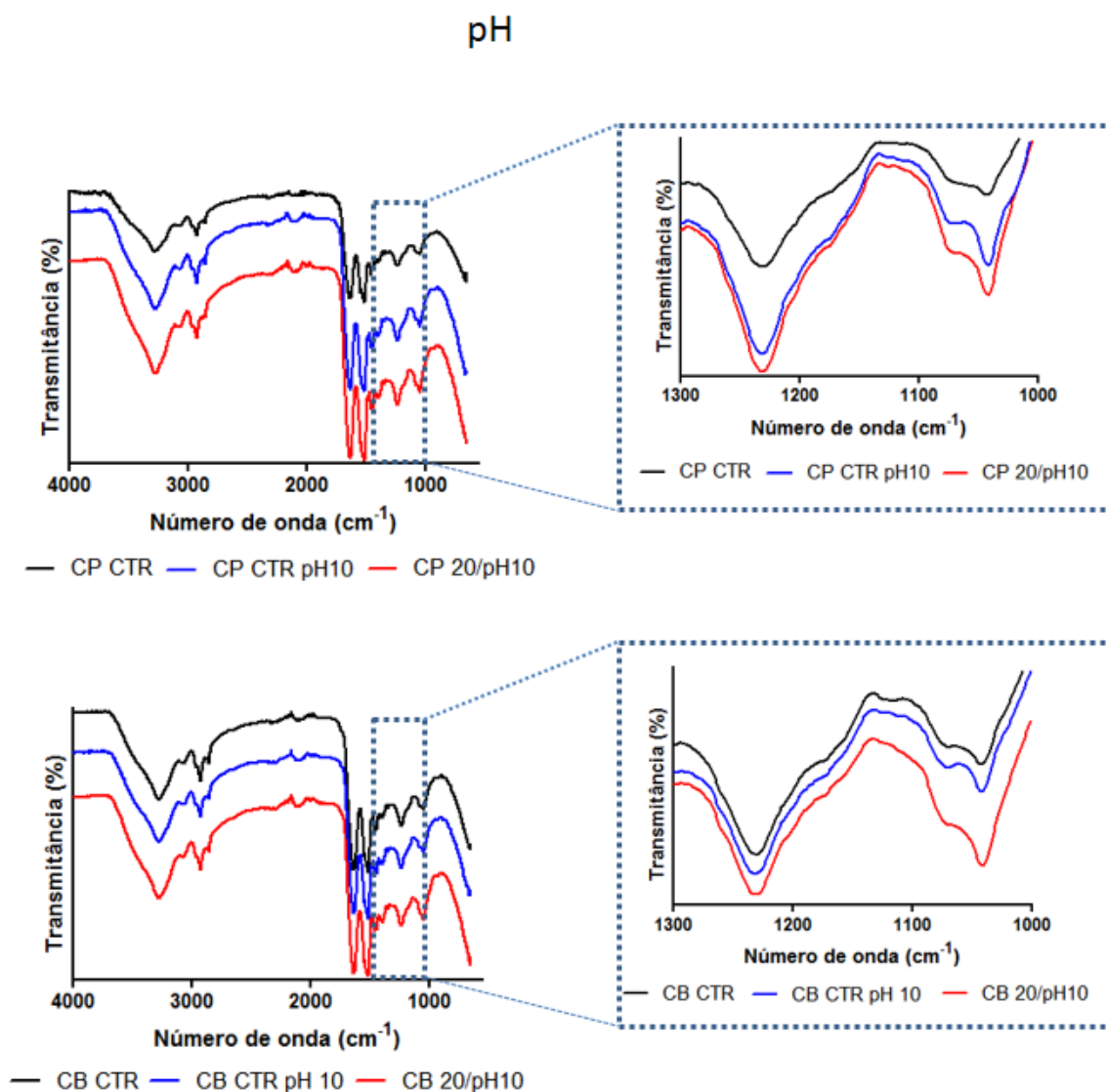


Figura 20: Espectro de FT-IR de cabelos pretos e brancos sob influência do pH.

Temperatura

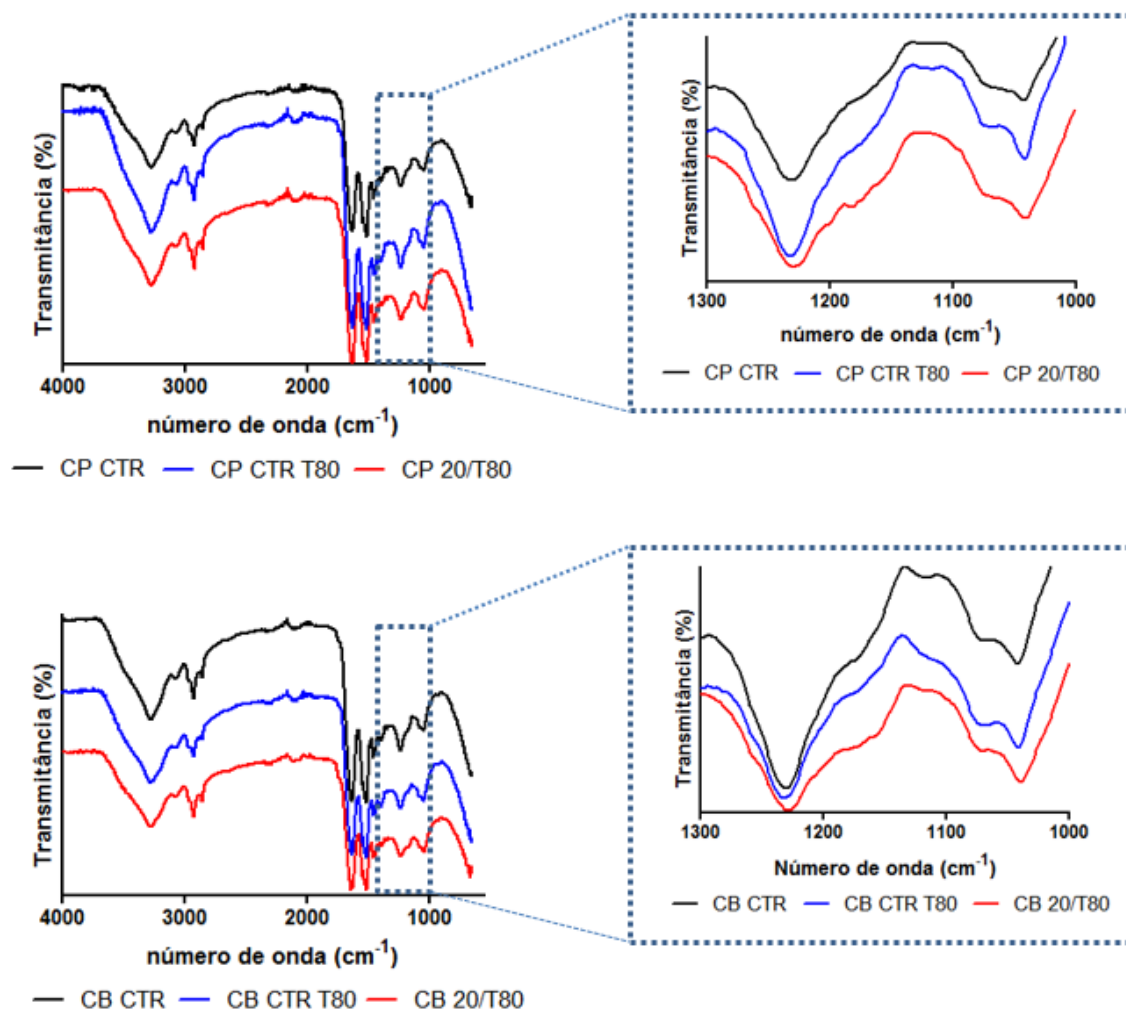


Figura 21: Espectro de FT-IR de cabelos pretos e brancos sob influência da temperatura.

Podem ser observadas bandas próximas entre 3259-3287 cm^{-1} em todas as amostras, são relativas ao estiramento de N-H que é sensível às ligações de hidrogênio, sendo esta importante para estruturar a água (KIM; PARK, 2013).

Em 1451 cm^{-1} correspondente ao alongamento CH_2 , e o aumento na intensidade da banda entre 1220-1237 cm^{-1} relacionada a amida III, indica danos causados aos cabelos, evidenciado pelo aumento da vibração das ligações em C-H. Este fato provavelmente está relacionado a mudanças configuração tridimensional da proteínas do cabelo de α -hélice para β folhas. Este dano, faz com que a proteína se desdobre e se converta em uma estrutura estendida ou em folha (ZHOU et al., 2011; SAIKIA, 2013).

Os resultados mostram que duas das diferenças mais proeminentes na intensidade da banda são as do ácido cisteico e a do monóxido de cistina. Estas bandas foram observadas em 1121 cm^{-1} (dióxido de cistina), em 1071 cm^{-1} (monóxido de cistina), em 1042 cm^{-1} (ácido cisteico) e em 1022 cm^{-1} (cisteína-S-tiosulfato). Esses grupos atraem maior interesse devido ao seu envolvimento na formação das pontes de sulfeto (YU; YANG; MEYERS, 2017).

Observou-se semelhança entre os espectros, sendo que todas as amostras tratadas com extrato de jenipapo em mais condições agressivas (pH e temperatura) apresentaram aumento nas bandas entre 1034-1051 cm^{-1} e 1064-1084 cm^{-1} correspondem aos diferentes produtos da oxidação da cisteína. Este resultado corrobora ao dano capilar com maior intensidade evidenciado nas imagens de MEV (Figuras 16 a 19). Este resultado foi observado com maior intensidade nas amostras de cabelo branco e são sugestivos de que o cabelo sofreu transformações químicas (SIGNOVI; LEWIS, 1997; SAIKIA, 2013).

A banda entre 1030 e 1080 cm^{-1} refere-se ao estiramento assimétrico da ligação $\text{S}=\text{O}$, dos grupos $-\text{SO}_3$ e $-\text{S}-\text{SO}_2$, que são componentes da oxidação da cistina. Esta característica é típica de cabelos que foram submetidos a processos químicos, sendo observado maior intensidade nestas bandas nas amostras que passaram por tratamento alterando o pH, a temperatura, associada ou não a utilização do extrato. Nos cabelos pretos e brancos sem tratamento também foi encontrado esta banda, porém em menor intensidade. Este resultado é justificado por se tratar de um cabelo envelhecido, no qual a cistina sofreu processo de oxidação, possivelmente por fator ambiental, como radiação UV, que promove a clivagem oxidativa das ligações dissulfídicas na queratina do cabelo para grupos sulfônicos (SIGNOVI; LEWIS, 1997).

4 CONCLUSÃO GERAL

- Quando comparado o fruto do jenipapo maduro e verde, o primeiro obteve um maior rendimento.
- O melhor método de extração foi o Soxhlet, quando comparado ao ultrassom e maceração, obtendo também melhor extração de moléculas com atividade antioxidante e maior concentração relativa das moléculas de geniposídeo (com exceção metanol 4h).
- Em relação às condições de extração, o melhor solvente foi o metanol, porém a utilização do sistema solvente metanol:água não prejudicou a resposta da atividade antioxidante, podendo também ser o solvente de escolha, sendo justificado também pelo menor custo e menor dano ambiental.
- Na análise da CLAE-DAD-MS, a provável molécula presente na amostra do jenipapo extraída pelos diferentes métodos é o geniposídeo e não a genipina.
- A fibra capilar branca difere da fibra capilar preta em termos de espessura as brancas possuem maior, porém perfil mecânico é semelhante.
- A análise da estrutura morfológica mostra que o cabelo preto possui a cutícula mais alta, melhor definida e organizada que o branco, porém a cutícula deste último é mais espessa.
- Na análise térmica observou-se que o cabelo preto necessita de uma energia de ativação maior que o cabelo branco, o que indica que este tem uma maior estabilidade térmica.
- O FT-IR apresentou picos mais intensos no cabelo branco, ou seja, possui danos mais intensos.
- O extrato da *Genipa americana* L. reagiu com a queratina capilar gerando modificações na cor do cabelo sob influência do pH e temperatura.
- Os tratamentos a 80°C e pH 10,0 alteram as propriedades mecânicas do cabelo assim como as propriedades morfológicas. O tratamento com extrato de jenipapo parece proteger os cabelos dos danos térmicos e químicos.
- A melhor condição reacional para a tonalidade loiro de acordo com a colorimetria foram as amostras de pH 5,5 temperatura 25 °C, 20 mg/mL do extrato e a amostra de pH 5,5, temperatura de 80 °C, 20 mg/mL do extrato para tons mais escuros.

5 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Diante do exposto, sugere-se que a pesquisa tenha continuidade com o desenvolvimento da formulação para colorir o cabelo.
- Teste de toxicidade já estão em andamento para a aplicação da formulação em humano.
- Outro aspecto a ser estudado é a correlação entre tons e concentração do extrato e a reação da genipina e geniposídeos puros.
- A aplicação múltipla do produto em tempos menores de contato com o cabelo também deve ser objeto de investigação.
- Como a cutícula nas amostras de cabelos tratados com extrato apresentaram-se seladas, é necessário investigar a permeação de ativos cosméticos através da fibra capilar ou até mesmo a hipótese do extrato também promover um alisamento na fibra.

6REFERÊNCIAS

- BENTES, A. S.; MERCADANTE, A. Z. Influence of the Stage of Ripeness on the Composition of Iridoids and Phenolic Compounds in Genipap (*Genipa americana* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 62, p. 10800–10808, 2014.
- BERGER, J., REISTT, M., MAYER, J.M., FELTT, O.; GURNY, R. Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 57, p. 35-52, 2004.
- BIGI, A.; COJAZZI, G.; PANZAVOLTA, S.; ROVERI, N.; RUBINI, K. Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. **Biomaterials**, v. 23, p. 4827-4832, 2002.
- BOGA, C.; DELPIVO, C.; BALLARIN, B.; MORIGI, M.; GALLI, S.; MICHELETTI, G. Investigation on the dyeing power of some organic natural compounds for a green approach to hair dyeing. *Dyes and Pigments*, v. 97, p.9-18, 2013.
- BOONSOONG, P.; LAOHAKUNJIT, N.; KERDCHOECHUEN, O. Natural pigments from six species of Thai plants extracted by water for hair dyeing product application, **Journal of Cleaner Production**, n.37, p. 93-106, 2012.
- BUTLER, M.F.; NG, Y.; NG; PUDNEY, P.D.A. Mechanism and kinetics of the crosslinking reaction between biopolymers containing primary amine groups. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 41, p. 3941-3953, 2003.
- CHO, Y.J.; KIM, S.Y.; KIM, J.; CHOE, E.K.; KIM, S.I.; SHIN, H.J. One-step enzymatic synthesis of blue pigments from geniposide for fabric dyeing. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, n. 11, v. 3, p. 230-234, 2006.
- CRUZ-ROMERO, M.; KELLY, A. L.; KERRY, J. P. Effects of high-pressure and heat treatments on physical and biochemical characteristics of oysters (*Crassostrea gigas*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, n. 8, p. 30-38, 2007.
- DARIO, F.D., PAHL, R., CASTRO, J.R., LIMA, F.S., KANEKO, T.M., PINTO, C.A.S.O., BABY, A.R., VELASCO, M.V.R. Efficacy of *Punica granatum* L. hydroalcoholic extract on properties of dyed hair exposed to UVA radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 120, p. 142-147, 2013.
- DA FRANÇA, S.A., DARIO, M.F., ESTEVES, V.B., BABY, A.R., VELASCO, M.V.R. Types of hair dye and their mechanisms of action. **Cosmetics**, n. 2, p.110-126, 2015.

DIAS, T.C.S.; BABY, A.R.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Protective effect of conditioning agents on afro-ethnic hair chemical treated with thioglycolate-based straightening emulsion. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 7, n. 2, p. 120-126, 2008.

FRANCIS, F. J., Food colorings. **In Colour in Food: Improving Quality**, MacDougall, D. B., Ed. CRC Press: Boca Raton, 2002; p. 297-330.

FREIRE, S.O.M. Benefícios da pesquisa biotecnológica cosmética com ênfase na área de terapia capilar. **Revista Uningá**, v. 23, n. 3, p. 13-19, 2015.

FUJIKAWA, S.; NAKAMURA, S.; KOGA, K. Genipin, a new type of protein crosslinking reagent from Gardenia fruits. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 52, n. 3, p. 869-870, 1988.

GERHARD, J.N.; SKARE, J.A.; MEULING, W.J.A.; WEHMEYER, K.R.; DE BIE, A.T.H. J.; VAES, W.H.J.; DUFOUR, E.K.; FAUTZ, R.; STEILING W.; BRAMANTE, M.; TOUTAIN, H. Human systemic exposure to [14C]-paraphenylenediamine-containing oxidative hair dyes: Absorption, kinetics, metabolism, excretion and safety assessment. **Food and Chemical Toxicology**, 2015.

GOEBEL, C.; DIEPGEN, T.L.; KRASTEVA, M.; SCHLATTER, H.; NICOLAS, J.F.; BLÖMEKE, B.; COENRAADS, P.J.; SCHNUCH, A.; TAYLOR, J.S.; PUNGIER, J.; FAUTZ, R.; FUCHS, A.; SCHUH, W.; GERBERICK, G.F.; KIMBER, I. Quantitative risk assessment for skin sensitisation: Consideration of a simplified approach for hair dye ingredients. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, n.64, p.459-465, 2012.

GONSALVES, A.A.; ARAÚJO, C.R.M.; SOARES, N.A.; GOULART, M.O.F.; ABREU, F.C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, n. 07, v. 34, p. 1215-1223, 2011.

GORCZYCA, G.; TYLINGO, R.; SZWEDA, P.; AUGUSTIN, E.; SADOWSKA, M.; MILEWSKI, S. Preparation and characterization of genipin cross-linked porous chitosan–collagen–gelatin scaffolds using chitosan–CO₂ solution. **Carbohydrate Polymers**, n.102, p. 901– 911, 2014.

GUERRA-TAPIA, A.; GONZALEZ-GUERRA, E. Hair Cosmetics: Dyes. **Acta Dermosifiliográficas**, n. 105, v. 9, p. 833-839, 2014.

KIM, K.S.; PARK, H.K. Analysis of aging effects on chemical property oh human hair by Fourier transform infrared spectroscopy. **Skin Research and Tecnology**, v.19, n. 1, p. 325-331, 2013.

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

KIRKLAND, D.; MARZIN, D. An assessment of the genotoxicity of 2-hydroxy-1, 4 naphthoquinone, the natural dye ingredient of Henna. **Mutation Research**, n. 537, p. 183-199, 2003.

KUZUHARA, A. Analysis of internal structure changes in black human hair keratin fibers resulting from bleaching treatments using Raman spectroscopy. **Journal of Molecular Structure**, v. 1047, p.186-198, 2013.

LA TORRE, C., BHUSHAN, B. Investigation of scale effects and directionality dependence on friction and adhesion of human hair using AFM and macroscale friction test apparatus. **Ultramicroscopy**, v. 106, p. 720-734, 2006.

LESZEK, J.W. Human hair: a unique physicochemical composite. **Journal of the American Academy Dermatology**, n. 48, p. S106 - S114, 2003.

MI, F.L.; SHUY, S.S.; PENG, C.K. Characterization of ring opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 43, n. 10, p. 1985-2000, 2005.

MONTEIRO, J.H.P. (2009). *Manual de Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos/IBAM*, Rio de Janeiro. 200 p.

MOREL, O.J.X.; CHRISTIER, M. Current Trends in the Chemistry of Permanent Hair Dyeing. **Chemical Reviews**, v. 111, p. 2537-2561, 2011.

NOGUEIRA, A.C.S.; RICHENA, M.; DICELIO, L.E.; JOEKES, I. Photo yellowing of human hair. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, n. 88, p.119-125, 2007.

PORTO, R.G.C.L., CARDOSO, B.V.S., BARROS, N.V.A., ARAÚJO, M.A.M., MOREIRA-ARAÚJO, R.S.R. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Genipa americana* L. (Jenipapo) of the Brazilian Cerrado. **Journal of Agriculture and Environmental Sciences**, v. 3, n. 4, p. 51-61, 2014.

RAMOS-DE-LA-PEÑA, A.M.; RENARD, C.M.G.C.; WICKER, L.; MONTAÑEZ, J.C.; GARCIA-CERDA, L.A.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C. Environmental friendly cold-

mechanical/sonic enzymatic assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana*). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 43-49, 2014.

RICHENA, M.; SILVEIRA, M.; REZENDE, C.A.; JOEKES, I. Yellowing and bleaching of grey hair caused by photo and thermal degradation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, n. 138, p.172-181, 2014.

ROBBINS, C.R. **Chemical and physical behavior of human hair**. 4 ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

SAIKIA, J. P. Hair waving natural product: *Dillenia indica* seed sap. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 102, p. 905-907, 2013.

SESHADRI, I. P.; BHUSHAN, B.; **In situ tensile deformation characterization of human hair with atomic force microscopy**, v. 56, n. 4, p. 774-781, 2008.

SIGNORI, L.; LEWIS, D.M. FTIR investigation of the damage produced on human hair with atomic force microscopy. **Acta Materialia**, v. 56, p. 774-781, 2008.

SILVA, A.P.; LIMA, C.L.C.; VIEITES R.L. Caracterização química e física do jenipapo (*Genipa americana* L.) armazenado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n. 1 v. 55, Piracicaba Jan./Apr. 1998.

TOUYAMA, R.; TAKEDA, Y.; INOUE, K.; KAWAMURA, I.; YATSUZUKA, M.; IKUMOTO, T.; SHINGU, T.; YOKOI, T. INOUE, H. Studies on the blue pigments produced from genipin and methylamine. I. Structures of the brownish-red pigments, intermediates leading to the blue pigments. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 3, p. 668-673, 1994.

YAN, L.; YING-JUN, W.; REN, L.; WU, G.; CARIDADE, S.G.; FAN, J. WANG, L.; JI, P.; OLIVEIRA, J.M.; OLIVEIRA, J.T.; MANO, J.F. REIS, R.L. Genipin-cross-linked collagen/chitosan biomimetic scaffolds for articular cartilage tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 95A, n. 2, p. 465-475, 2010.

YU, Y., YANG, W., MEYERS, M. A. Viscoelastic properties of α -keratin fibers in hair. **Acta Biomaterialia**, v. 64, p.15-28, 2017.

VELASCO, M.V.R., DIAS, T.C. de S., FREITAS, A.Z., JÚNIOR, N.D.V., PINTO, C.A.S. de O., KANEKO, T.M., BABY, A.R.; Hair fiber characteristics and methods to evaluate hair

physical and mechanical properties. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 1, 2009.

ZHOU, Y., RIGOLETTO, R., KOELMEL, D., ZHANG, G. GILLECE, T.W., FOLTIS, L., MOORE, D.J., QU, Y., SUN, C. The effect of various cosmetic pretreatments on protecting hair from thermal damage by hot flat ironing. **Journal Cosmetic Scienc**, v. 62, p. 265-282, 2011.

CAPÍTULO V

PATENTE: OBTENÇÃO DE EXTRATO CONTENDO IRIDÓIDES E PROCESSO PARA COLORAÇÃO CAPILAR