

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**DESENVOLVIMENTO DE TINTURA CAPILAR CONTENDO OS
MARCADORES QUÍMICOS GENIPINA E GENIPOSIDEO,
PRESENTES NO FRUTO DE *Genipa americana* L.**

ADILSON ALLEF MORAES SANTANA

Aracaju
Abril – 2021

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**DESENVOLVIMENTO DE TINTURA CAPILAR CONTENDO OS
MARCADORES QUÍMICOS GENIPINA E GENIPOSIDEO,
PRESENTES NO FRUTO DE *Genipa americana* L.**

Dissertação de Mestrado submetida ao
Programa de pós-graduação em Saúde e
Ambiente como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do título de
Mestre em Saúde e Ambiente na área de
concentração em Saúde e Ambiente.

ADILSON ALLEF MORAES SANTANA

Orientadoras
Maria Nogueira Marques, PhD.
Juliana Cordeiro Cardoso, PhD.

Aracaju
Abril – 2021

- S232d Santana, Adilson Allef Moraes
Desenvolvimento de tintura capilar contendo os marcadores químicos genipina e geniposídeo, presentes no fruto *Genipa americana* L. / Adilson Allef Moraes Santana ; orientação [de] PhD. Maria Nogueira Marques, PhD. Juliana Cordeiro Cardoso. – Aracaju : UNIT, 2021.

64 f. ; il.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente na área de concentração em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes.

Inclui bibliografia.

1. Coloração. 2. Cabelo descolorido. 3. Iridóides. 4. *Genipa americana* L.. I. Marques, Maria Nogueira (orient.). II. Cardoso, Juliana Cordeiro (orient.). III. Universidade Tiradentes. IV. Título.

CDU: 665.585.3:582.936.1

**DESENVOLVIMENTO DE TINTURA CAPILAR CONTENDO OS
MARCADORES QUÍMICOS GENIPINA E GENIPOSIDEO,
PRESENTES NO FRUTO DE *Genipa americana* L.**

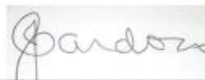
Adilson Allef Moraes Santana

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDO À BANCA EXAMINADORA
PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM SAÚDE E AMBIENTE, NA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO SAÚDE E AMBIENTE.

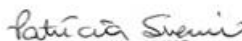
Aprovado por:



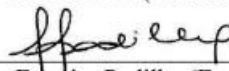
Dra. Maria Nogueira Marques (Orientadora)



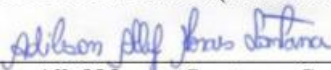
Dra. Juliana Cordeiro Cardoso (Orientadora)



Dra. Patrícia Severino (Examinadora Externa)



Dra. Francine Ferreira Padilha (Examinadora Interna)



Adilson Allef Moraes Santana - Candidato

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES	7
LISTA DE QUADROS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
AGRADECIMENTOS	12
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos	18
3 REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Anatomia e composição química da fibra capilar	19
3.2 Cor do cabelo	22
3.3 Descoloração capilar	24
3.4 Coloração capilar	25
3.4.1 Coloração permanente	26
3.4.2 Coloração semipermanente	27
3.4.3 Coloração Temporária	29
3.4.4 Coloração capilar de origem natural	29
3.4.4.1 Henna (<i>Lawsonia inermis</i>)	30
3.4.4.2 Urucum (<i>Bixa orellana</i> L.)	31
3.5 Jenipapo (<i>Genipa americana</i>)	31
3.5.1 Genipina e geniposídeo	32
3.6 Colorimetria	35
4 MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1. Formulação	37
4.1.1 Desenvolvimento das formulações	37
4.1.2 Estabilidade Preliminar	37
4.1.2.1 Estabilidade física (teste de centrifugação)	37
4.1.2.2 Estabilidade sob variação térmica	38
4.1.2.3 Estabilidade sob diferentes condições de armazenamento	38
4.2.2. Descoloração das Mechas	38
4.3 Caracterização da haste capilar	40

4.3.1 Análise Colorimétrica (AC)	40
4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
4.3.3 Análise Estatística	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Estabilidade das formulações	42
5.2 Precisão das medições colorimétricas	43
5.3 Padronização do processo de descoloração do cabelo	44
5.4 Processo de coloração utilizando os marcadores genipina e geniposideo	48
5.5 Análise morfológica da fibra capilar descolorida e tratada com formulação contendo Genipina e Geniposideo	54
5.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	54
6 CONCLUSÃO	57
7 REFERÊNCIAS	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

- *a- Cromaticidade entre verde e vermelho
- *b- Cromaticidade entre amarelo e azul
- *L- Determinação da luminosidade entre preto e branco
- 18-MEA- Ácido 18-metil-eicosanoico
- AC- Análise Colorimétrica
- ANOVA- Análise de Variância
- CC- Cabelo colorido
- CD- Cabelo descolorido
- CIE- Comissão Internacional dos Illuminati
- CN- Cabelo natural
- DT- Descoloração em temperatura
- DT21-C- Descoloração em temperatura controlada a 21 °C
- DT60-C- Descoloração em temperatura controlada a 60 °C
- F.A.- Fonte de aquecimento
- G- Genipina
- Genipa L- Genipa americana L.*
- GGs- Genipina + Geniposideo
- GS- Geniposideo
- LC- Leitura colorimétrica
- MEV- Microscopia Eletrônica de Varredura
- P- Piastra
- S- Secador
- SDS- Dodecil sulfato de sódio
- ΔE - Diferença de cor

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Parâmetros para análise de cor.....	41
Quadro 2 – Características das formulações após realização de testes de estabilidade preliminar.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração de genipina e/ou geniposídeo nas formulações.....	37
Tabela 2: Avaliação da influência da temperatura no processo de descoloração..	37
Tabela 3: Valores dos parâmetros L, a e b do cabelo antes e após processo de descoloração em diferentes temperaturas (média $\pm$ desvio padrão).....	45
Tabela 4: Precisão do processo de descoloração de mechas de cabelo natural e descolorido para os parâmetros *L, *a, *b e diferença de cor (ΔE) das amostras submetidas a processos de descoloração padronizada (T=28 °C, 3 x 40 minutos, peróxido de hidrogênio 12%).....	47
Tabela 5: Análise colorimétrica de protocolo de coloração utilizando T=80°C (secador).....	50
Tabela 6: Análise colorimétrica de protocolo de coloração utilizando T=212°C (piastra).....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomia da fibra capilar.....	19
Figura 2: Estrutura química do ácido 18-metil-icosanóico (18-MEA).....	20
Figura 3: Diagrama da fibra capilar, onde apresenta as moléculas proteicas que originam e estruturam a fibra capilar.....	21
Figura 4: Representação das principais interações moleculares da queratina capilar. A- ligação dissulfeto; B- ligação de hidrogênio.....	21
Figura 5: Estrutura do aminoácido sulfurado, principal componente na formação da cisteína da queratina.....	22
Figura 6: 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)...	23
Figura 7: Biossíntese de eumelanina e feomelanina. TIR– tirosinase; TRP-1– Proteína relacionada à tirosinase 1; DCT – DOPAcromo tautomerase; DHI–5,6-Dihidroxiindol; DHICA–5,6-Dihidroxiindol-2-Carboxílico. A- Eumelanina e B- Feomelanina.....	24
Figura 8: Fórmula estrutural do peróxido de hidrogênio (A); Fórmula estrutural do persulfato de amônio (B).....	25
Figura 9: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo permanente, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam.....	26
Figura 10. Estrutura molecular da m-diamina (A), p-aminofenol (B), p-diamina (C) e m-aminofenol (D).....	27
Figura 11: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo semipermanente, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam	28
Figura 12: Estrutura química dos corantes nitroanilina e nitrofenilenediaminas que fazem parte das colorações semipermanentes.....	28
Figura 13: Estrutura química dos corantes semipermanentes. Acid Orange 7 (A), Acid Violet 43 (B), Basic Red 22(C) e Basic Blue 47 (D).....	28
Figura 14: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo temporária, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam.....	29
Figura 15: Pó de Henna (A); pasta feita com pó de Henna e água (B); naftaquinona Lawsons (C); design de sobrancelha feita com pasta de Henna (D); pintura na pele com pasta de Henna (E).....	30
Figura 16: Fruto Urucum (A); sementes do fruto (B); semente pulverizada (C) estrutura da molécula de bixina (D); cabelo pintado com tinta feita através do pó de Urucum (E); tatuagem feita com pigmentos extraídos do Urucum (F).....	31
Figura 17: Jenipapeiro (<i>Genipa americana</i> L.) (A) e fruta oriunda do jenipapeiro....	32
Figura 18: Jenipapo verde (A); jenipapo maduro (B); estrutura molecular da genipina (C); estrutura molecular de geniposídeo (D).....	33
Figura 19: Reação de ligação cruzada de genipina e grupos amino primários.....	34
Figura 20: Cores do espectro visível, comprimento de ondas (nm) e frequência (THz).....	35

Figura 21: Representação das coordenadas cromáticas utilizadas pelo sistema CIELab de detecção e transformação numérica da cor.....	36
Figura 22: Protocolo de descoloração das mechas de cabelo natural, e momentos em que a leitura colorimétrica foi realizada. Leitura colorimétrica (LC).....	39
Figura 23: Protocolo do tratamento para avaliação das formulações colorantes submetidas às diferentes fontes de aquecimento. Abreviações: mechas descoloridas (M.D.), fontes de aquecimento (F.A.) e temperatura ambiente (T.A.). Tempo de permanência do produto: tempo de secagem (3 min) e ou secagem/prancha (5 passadas)	40
Figura 24: Esquema de padronização das análises de Caracterização Morfológica da Fibra Capilar antes e após cada experimento. Legenda: (AC) Análise colorimétrica; (MEV) Microscopia eletrônica de varredura; (CN) Cabelo natural; (CD) Cabelo descolorido (CC) cabelo colorido.....	40
Figura 25: Formulações submetidas ao teste de estabilidade física (centrífuga). A- G8; B- GS8; C- G4:GS4.....	42
Figura 26: Formulações submetidas ao teste de variação térmica (banho-maria). Sendo: A - G8; B- GS8; C- G4:GS4 submetidas a temperaturas de 80°C.....	43
Figura 27: Determinação da precisão das medições dos parâmetros *L, *a e *b.....	44
Figura 28: Influência da temperatura no processo de descoloração. CN - cabelo natural; DT21-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 21°C; DT60-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 60°C.....	45
Figura 29: Influência da temperatura no processo de descoloração da fibra capilar. Valores médios de $\Delta E \pm DP$. Valores de ΔE calculados em relação ao CN (cabelo natural)	46
Figura 30: Mecha de cabelo natural (CN) e após processo de descoloração padronizado (DT28, T=28 °C, 3 x 40 minutos, peróxido de hidrogênio 12%).....	47
Figura 31: Cores reveladas com sua respectiva diferença de cor (ΔE) entre os tratamentos com secador (foto à esquerda) e piastra (foto à direita) após aplicação de genipina (G) (A), geniposídeo (GS) (B) ou ambos (GGS) (C) nas concentrações totais de 0,5, ou ambos (GGS) nas concentrações totais de 0,5, 1, 2 e 4 mg/mL (parte inferior da figura)	49
Figura 32- Resultados dos ΔE após as lavagens das mechas tratadas com loções contendo diferentes concentrações isoladas ou combinadas de G e GS.....	53
Figura 33- fotomicrografia obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras: cabelo natural (CN); cabelo descolorido (CD); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador (CDG8S); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador + piastra (CDG8SP); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador (CDGS8S); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador + piastra (CDGS8SP).....	55
Figura 34- Análise estatística das fotomicrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras: cabelo natural (CN); cabelo descolorido (CD); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador (G8S); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador + piastra (G8SP); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador (GS8S); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador + piastra (GS8SP).....	56

AGRADECIMENTOS

A Olorum pela graça da vida e a minha mãe e rainha Oxum (Yê Yê Ô) pela proteção, por sempre se fazer presente em meus caminhos e principalmente pela energia acolhedora que se faz presente em todos os momentos (bons e/ou ruins). Awêto.

A minha avó Maria por tudo que fez por mim, independente das circunstâncias da vida, sempre me incentivou estudar para um dia “ser gente”, e chegar até aqui (além do que ela almejou).

A minha irmã Keylinne e a minha sobrinha Maria Clara, muito obrigado e ao mesmo peço desculpa pela ausência em momentos importantes na vida de vocês.

A minha tia Adriana, todo meu agradecimento por incentivo e vibrar pelas minhas conquistas. Muito obrigado por tudo.

Á minha amiga/irmã Débora, pessoa muito importante presente em todos os momentos da vida. Muito obrigado por tudo, você é muito especial.

A meu amigo Bruno Matos, grande inspiração na vida, muito obrigado pelo melhor bordão incentivacional “no final dá tudo certo”, verdade, deu tudo certo.

Meu profundo agradecimento a minha família de Axé, que é meu alicerce e porto seguro. A Casa Iemanjá em especial a minha madrinha Marlene, e no Ilê Oyá Kélèbájósí em especial ao meu pai Humberto (pai Binho) por todo apoio e direcionamento na vida e no campo espiritual.

Aos meus irmãos de santo, em especial: Breno, Gilvan, Daiane, Paula e Mariele, Edilma e Edilene muito obrigado pelo incentivo e amizade de sempre.

Aos colegas de mestrado, em especial as amizades firmadas para vida: Agenor, Ana Maria, Ana Luiza, Cindy, Larissa Marrocos e Isabela, muito obrigado por tudo. Sem vocês não teria sido tão especial e parcialmente confortável passar por certos momentos de tensão e também os de descontração. Torço pelo sucesso de todos.

As minhas professoras da graduação em Estética e Cosmética da Unit, em especial a Indira, Ketheelen, Lícia e Maria Júlia pelos ensinamentos e incentivo para ingressar no mestrado.

A Professora Dra. Andréa Vasconcelos, minha orientadora de Iniciação Científica, é um prazer ter a senhora como inspiração na vida profissional e acadêmica. Grato por tudo.

A Cecília sempre está torcendo e me incentivando na vida acadêmica. Grato.

A Luana Menezes pela amizade firmada na ciência, na vida profissional e que se tornou uma amiga para vida. Grato por tudo.

A Reinara aluna de Iniciação Científica que trabalhou arduamente mesmo em tempos difíceis devido à pandemia. Minha eterna gratidão e sucesso como futura farmacêutica.

Aos colaboradores e professores do Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Tiradentes, meus singelos agradecimentos pelos ensinamentos e desafios propostos para o enriquecimento técnico-científico.

Aos colegas de laboratório do LBMAT e LBPN muito obrigado pelo companheirismo de sempre. Grato a parceria firmada com LNMED.

Grato às professoras Dra. Patrícia Severino e Dra. Francine Padilha por toda contribuição e avaliação do trabalho desde a qualificação até a defesa.

A minha orientadora, a professora Dra. Maria Nogueira por ter aceitado minha proposta de pesquisa para ingressar no mestrado, mas que por circunstância da pandemia mudamos a proposta de pesquisa. Muito obrigado por todo ensinamento.

A professora Dra. Juliana Cordeiro pela orientação e por dispor de sua linha de pesquisa para que eu pudesse migrar de projeto em parceria com a professora Maria. Sou imensamente grato pelos ensinamentos, paciência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo e financiamento de bolsas.

A Universidade Tiradentes-Unit, e ao Instituto de Tecnologia e Pesquisa pelo apoio para o desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

Colorações capilares a base de extrato de jenipapo tem sido proposta como estratégia para gerar cor ao cabelo branco, buscando substituir colorações do mercado, apresentando a segurança ao usuário e em concordância com os objetivos de desenvolvimento sustentável 9 (Indústria, inovação e infraestrutura) e 17 (Parceria em prol de metas da ONU). O presente estudo teve como objetivo desenvolver formulações contendo os marcadores genipina (G) e/ou geniposideo (GS) para colorir fibras capilares descoloridas. Para tanto, foram obtidas formulações com concentrações entre 0,5 – 8,0 mg/mL dos marcadores químicos G e/ou GS e submetidas a ensaios de estabilidade preliminar. Amostras de cabelos naturais (CN) escuros foram utilizadas na padronização do processo de descoloração, observando a influência da temperatura. As mechas de cabelo foram analisadas por método colorimétrico antes e após cada processo de descoloração e posteriormente ao tratamento de coloração da fibra. A efetividade de coloração dos produtos obtidos foi avaliada em CN descoloridos, sendo os produtos aplicados em diferentes temperaturas (80 e 210°C). Observou-se que as formulações se mantiveram estáveis quando armazenadas em temperaturas até 60°C. O processo de descoloração apresentou influência da temperatura. Desta forma, todas as amostras foram descoloridas em um único dia, evitando a variação das condições do processo e consequentemente padronizando a cor das amostras do cabelo descolorido (CD). Quanto à coloração das fibras capilares, observou-se que as mechas tratadas com loções com concentrações de até 2 mg/mL dos iridóides apresentaram cores mais claras (G, GS e GGS ΔE médio de 3,92 e desvio padrão de 5,59), independente do iridóide usado e da temperatura de aplicação. Loções contendo concentrações maiores ou igual a 4 mg/mL resultaram em cores mais escuras, tendendo para o loiro intenso (GS8 $\Delta E=9,57$) ou preto (G8 $\Delta E=2,65$). Formulações contendo apenas geniposideo ou com os dois iridóides produziram cores mais claras (GS4, GGS4 $\Delta E=51,21$) e com a genipina, as fibras apresentaram-se mais escuras (G8 $\Delta E=55,66$). Verificou-se que a utilização da piastra (210°C) alterou o padrão e a intensidade das cores obtidas ($\Delta E=4,08$ entre G8S e G8P). Em relação a fixação da cor, as mechas coloridas apresentaram variação de cor na primeira lavagem (ex. G8 $\Delta E=2$), mas mantiveram a cor resultante por nove lavagens subsequentes ($\Delta E=7$ em relação à primeira lavagem). A temperatura apresentou-se com parâmetro importante no desenvolvimento da cor, porém a piastra modificou a fibra capilar (diâmetro e forma) em todas as amostras tratadas, indicando possível dano à fibra capilar. Neste trabalho foram evidenciados os potenciais de coloração dos iridóides presentes no fruto da *Genipa americana*, separadamente e em conjunto, apresentando formulações estáveis que colorem de maneira permanente a fibra capilar previamente descolorida.

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

ABSTRACT

Hair dyes based on genipap extract have been proposed as a strategy to generate white hair color, seeking to replace market dyes, presenting user safety and in accordance with the goals of sustainable development 9- Industry, innovation and infrastructure and 17- Partnership for UNO goals. The present study aimed to develop formulations containing the markers genipin (G) and/or geniposide (GS) to color discolored hair fibers. Therefore, formulations with concentrations between 0.5 – 8.0 mg/mL of chemical markers G and/or GS were obtained and submitted to preliminary stability tests. Natural dark hair (HN) samples were used to standardize the bleaching process, observing the influence of temperature. The locks of hair were analyzed by colorimetric method before and after each bleaching process and after the fiber coloring treatment. The coloring effectiveness of the obtained products was evaluated in discolored CN, with the products being applied at different temperatures (80 and 210°C). It was observed that the formulations were stable when stored at temperatures up to 60°C. The discoloration process was influenced by temperature. In this way, all samples were bleached in a single day, avoiding the variation of process conditions and consequently standardizing the color of bleached hair samples (BH). As for the color of hair fibers, it was observed that locks treated with lotions with concentrations of up to 2 mg/mL of iridoids showed lighter colors (G, GS and GGS ΔE mean of 3.92 and standard deviation of 5.59), regardless of the iridoid used and the temperature of application. Lotions containing concentrations greater than or equal to 4 mg/mL resulted in darker colors, tending towards intense blonde (GS8 $\Delta E=9.57$) or black (G8= $\Delta E2.65$). Formulations containing only geniposide or with both iridoids produced lighter colors (GS4, GGS4 $\Delta E=51.21$) and with genipin, the fibers were darker (G8 $\Delta E=55.66$). It was found that the use of piastra (210°C) changed the pattern and intensity of the colors obtained (G8S and G8P $\Delta=4.08$). Regarding color fixation, the colored locks showed color variation in the first wash (eg. G8 $\Delta E=2$), but maintained the resulting color for nine subsequent washes ($\Delta E=7$ in relation to the first wash). Temperature was an important parameter in color development, but piastra modified the hair fiber (diameter and shape) in all treated samples, indicating possible damage to the hair fiber. In this work, the coloring potentials of the iridoids present in the fruit of *Genipa americana*, separately and together, were evidenced, presenting stable formulations that permanently color the previously discolored hair fiber.

Keywords: coloring, bleached hair, *Genipa americana* L.

1 INTRODUÇÃO

Entre os produtos relacionados aos cuidados com os cabelos destacam-se os que descolorem, colore ou acentuam a cor dos cabelos. Desta forma o aumento na demanda no mercado por estes produtos cresce gradualmente, gerando uma gama de produtos colorantes com distintas finalidades, seja para fins temporários, permanentes ou semipermanentes (FMI, 2020).

O processo de tingimento geralmente danifica os fios, principalmente quando se faz uso das tinturas de ação permanente, que atuam em uma faixa de pH entre 9 e 10. É observado que as colorações neste pH causam intumescimento significativo do fio que favorecem danos ao mesmo. Ainda estas colorações também podem contemplar em sua composição alguns metais pesados, destacando o chumbo (Pb), arsênio (Ar) e níquel (Ni), que desempenham a função de pigmentação através da reação oxidativa ou de conservante. Estes metais apresentam riscos à saúde humana, pois são relacionados ao aparecimento de doenças degenerativas, além de apresentarem limitações do ponto de vista ambiental, poluindo solos e águas (MOREL & CHRISTIE, 2011; SEBRAE, 2015).

Diante dos possíveis malefícios causados pelos produtos colorantes disponíveis para utilização humana, o mercado busca por inovações utilizando substâncias derivadas de produtos de origem natural que venham minimizar os riscos de toxicidade biológica e ambiental (FMI, 2020).

Neste contexto, Machado (2017) propôs uma coloração capilar à base do extrato hidrometanólico do fruto verde e maduro de *Genipa americana* L. (jenipapo) para colorir cabelos brancos e pretos. O autor utilizou soluções do extrato em diferentes concentrações, em diferentes pHs e temperaturas de aplicação por período de 24h. Onde foi observado que as amostras submetidas em temperatura igual ou superior a 80°C apresentou uma nova cor nos fios brancos e acentuou a cor do cabelo preto (MACHADO, 2018).

Menezes (2019) testou uma formulação cosmética com 20 e 40% do extrato aquoso do fruto maduro de *Genipa* L., submetendo as amostras de cabelos tratadas a jato de calor (80°C) durante 5 minutos, obtendo-se a pigmentação dos cabelos brancos. Este autor também avaliou a toxicidade do extrato e comprovou que o mesmo não apresentou toxicidade ocular para nenhuma das concentrações estudadas (10, 25 e 50%).

Desta forma, estudos comprovaram que o extrato de *Genipa* L. é uma alternativa para devolver pigmentos aos fios por meio da interação dos iridóides que reagem com a queratina, onde a reação é ativada pelo calor (MACHADO, 2018; NATHIA-NEVES, 2019; MENEZES, 2019).

Sendo assim, este estudo propôs pigmentar fibras capilares descoloridas com uma formulação contendo os marcadores químicos isolados ou combinados (genipina e geniposídeo) em diferentes concentrações e ativadas sob diferentes fontes de aquecimento. Inicialmente foi avaliada a efetividade dos marcadores incorporados na formulação cosmética, além de verificar a estabilidade da formulação e eficácia dos protocolos.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Analisar o potencial de coloração de formulações contendo genipina e/ou geniposideo em fibras capilares descoloridas.

2.2 Específicos

- Avaliar a estabilidade preliminar das formulações com diferentes concentrações dos marcadores químicos da *Genipa americana* separados ou em conjunto;
- Estudar a aplicação do método de colorimetria para análise da cor do cabelo;
- Padronizar o método de descoloração do cabelo natural;
- Avaliar diferentes protocolos de tratamentos de cabelos descoloridos utilizando as formulações desenvolvidas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Anatomia e composição química da fibra capilar

A fibra capilar é uma estrutura delgada, cilíndrica, constituída de células queratinizadas, que se desenvolve a partir de uma invaginação da epiderme. A cor, o tamanho e disposição variam de acordo com a raça e região do corpo. As fibras capilares estão presentes em todas as regiões do corpo, com exceção de algumas regiões bem delimitadas (PANTELEYEV, 2018).

Os seres humanos têm em média mais de 150 mil fios capilares, sendo que esses fios crescem em média 1 cm por mês, esses fios podem se apresentar de diversas formas, classificados em grupos étnicos distintos, sendo: afro (crespos), asiáticos (lisos) e caucasianos (ondulados) (CARNEIRO *et al.*, 2002; SVERSULT *et al.*, 2017). Vários estudos foram realizados sobre a morfologia do cabelo, caracterizando a forma e diâmetro da fibra, cor e respostas a estímulos externos, além de suas propriedades mecânicas (SYED *et al.*, 1995; CODERCH *et al.*, 2008).

Anatomicamente a fibra capilar é formada por três estruturas principais: cutícula, córtex e medula (figura 1) (ROBINS *et al.*, 2012; ALAITI *et al.*, 2017). Takahashi e Yoshida (2016) identificaram uma quarta estrutura do cabelo localizada entre a cutícula e o córtex do cabelo, formada de glicosaminas que segundo os autores, assume um papel de barreira contra produtos químicos, protegendo assim, o córtex dos danos externos.

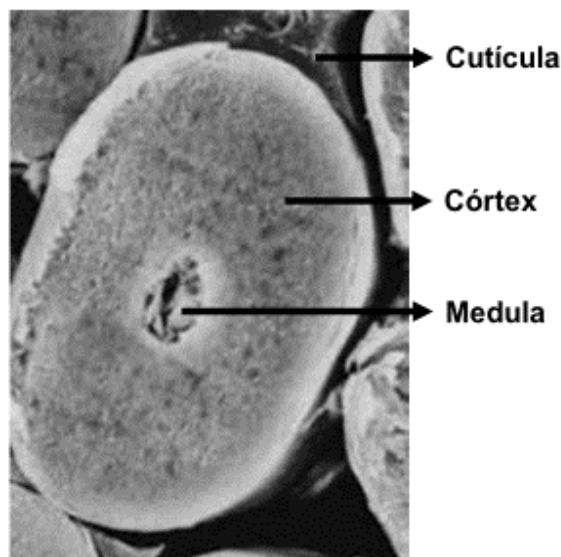


Figura 1. Anatomia da fibra capilar. Fonte: (OLIVEIRA *et al.*, 2014; PINHEIRO *et al.*, 2013).

A cutícula é a parte externa da fibra capilar, composta por diversas camadas de queratina sobrepostas uma das outras, responsável pela proteção das células corticais, e principal barreira a permitir a permeação de agentes químicos para o interior

da fibra capilar e também a função de regular a quantidade de água na estrutura capilar e manter suas propriedades físicas (OLIVEIRA *et al.*, 2014; PAUS *et al.*, 2016).

A cutícula está subdividida em três camadas: epicutícula, exocutícula e endocutícula. A epicutícula, camada mais externa, é formada de uma membrana de lipoproteína. Sob ela está a “camada α ” com alto teor de cisteína e altamente reticulada. É formada, basicamente, de ácido 18-metil-eicosanoico (18-MEA) (figura 2) ligado a uma membrana proteolipídica que também é rica em cistina de alto caráter hidrofóbico. Esta característica explica o caráter hidrofóbico da fibra do cabelo (SANTOS, 2017).



Figura 2: Estrutura química do ácido 18-metil-icosanóico (18-MEA). Fonte: (TOKUNAGA *et al.*, 2019).

A endocutícula é feita de material não queratinoso oriundo da compressão ou do achatamento do núcleo e de organelas citoplasmáticas. Isso faz que ela seja rica em proteínas, enzimas, vitaminas, íons, ácidos nucleicos, açúcares, carboidratos e ácidos graxos, os quais, em sua maioria, são solúveis em água. Essa composição proporciona à endocutícula, caráter hidrofílico e menor resistência a ataques químicos, se esta for comparada às outras estruturas do cabelo, pois tem cerca de 3% de cistina. A exocutícula, também rica em cisteína, ocupa cerca de metade da área cuticular e são densamente reticuladas por ligações dissulfeto (YANG; ZANG; RHEINSTÄDTER, 2014; FRANÇA *et al.*, 2015; HARLAND; PLOWMAN, 2018).

A quarta camada descoberta por Takahashi e Yoshida (2016), complexo de membrana celular (CMC) também conhecida como cimento intercelular, é composta 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 das cutículas e do córtex (ROBBINS, 2009). A esqueleto geral do CMC é formada por duas camadas: a camada δ (15 nm), mesclada especialmente por proteínas e polissacarídeos, e as camadas β (2,5–5,0 nm de espessura cada), formadas por lipídios. A camada δ está intercalada entre as duas camadas β , uma mais interna e outra mais externa. 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; HARLAND; PLOWMAN, 2018).

Os lipídios do cabelo são considerados protetores e hidratantes naturais sendo os mais importantes o sulfato de colesterol, ceramidas, colesterol, ácidos graxos livres e ésteres de colesterol. Tais lipídeos são divididos em endógenos e exógenos de acordo

com sua origem, sendo secretados pelas células da matriz do cabelo ou por glândulas sebáceas (CODERCH *et al.*, 2008; TOKUNAGA *et al.*, 2019).

O córtex é constituído por células com estrutura fibrilar interna muito bem organizada e separadas da medula por uma camada de CMC (WAGNER *et al.*, 2007). As células corticais responsáveis por aproximadamente 90% do volume da fibra capilar. Possui proteínas associadas à queratina com estruturas alongadas e paralelas à fibra. Estas são compostas por macrofibrilas de 0,1-0,4 μm de diâmetro, que por sua vez são constituídas de filamentos denominados microfibrilas e por uma matriz amorfa que as envolve. As microfibrilas são formadas por protofibrilas, compostas por cadeias polipeptídicas de conformação α -hélice, onde sua estrutura é mantida por ligações e interações químicas (figura 3) (KELCH *et al.*, 2000; TAKAHASHI; YOSHIDA, 2016).

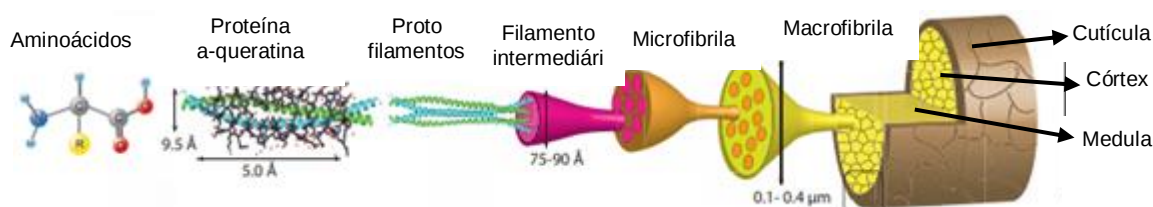


Figura 3: Diagrama da fibra capilar, onde apresenta as moléculas proteicas que originam e estruturam a fibra capilar. Fonte: (ZHANG *et al.*, 2015).

No córtex encontram-se as interações químicas que são responsáveis pela estruturação da queratina, que podem ser: ligação iônica, ligação de hidrogênio, força de Van Der Waals, ligação peptídica ou éster e ligação dissulfeto (figura 4). A estabilidade da queratina é derivada de uma variedade de interações intracadeia e intercadeia que prendem as cadeias de proteínas em conjunto (ROBBINS, 2012).

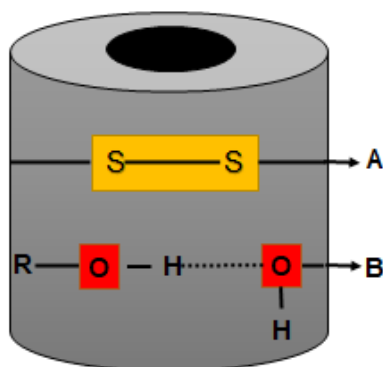


Figura 4: Representação das principais interações moleculares da queratina capilar. A- ligação dissulfeto; B- ligação de hidrogênio. Fonte: (adaptado – BHUSHAN, 2008).

A medula é a parte mais interna do fio de cabelo e nem sempre se faz presente em todos os fios. É constituída de lipídios e proteínas, localizando-se na estrutura mais interna da fibra capilar separada por uma camada do CMC, de forma contínua ou

fragmentada. A presença da medula geralmente aparece em fios com maior diâmetro. Sua estrutura é porosa e composta por queratina onde um dos principais componentes é a proteína trichialina (MORGAN, 2014; WAGNER *et al.*, 2007; HARLAND; PLOWMAN, 2018).

Na fibra capilar encontra os aminoácidos que formam a queratina, destacam o aminoácido sulfurado, conhecido por cisteína (figura 5), que por intermédio de interações conhecidas como ligações de dissulfeto ou pontes de enxofre são responsáveis pela resistência máxima da fibra capilar. Essa ligação une os átomos de enxofre de dois aminoácidos de cisteínas vizinhos para formar a cistina (figura 5).

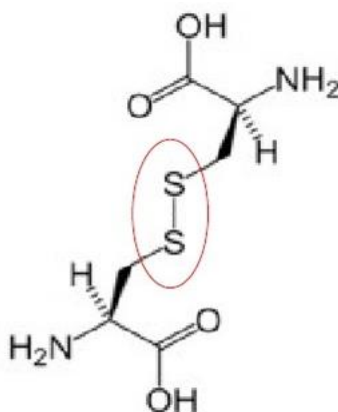


Figura 5: Estrutura do aminoácido sulfurado, principal componente na formação da cisteína da queratina. Fonte: (adaptado – BHUSHAN, 2008).

3.2 Cor do cabelo

A cor natural do cabelo é controlada geneticamente, e em geral está associada aos diferentes grupos raciais (DE OLIVEIRA *et al.*, 2014). Sabe-se que a substância que dá cor ao cabelo humano é o pigmento chamado melanina. Os grânulos de melanina se ligam aos grupos de células em espaços intercelulares ao longo do eixo da fibra capilar, onde podem ser encontrados espalhados por todo o córtex e a medula (figura 6) (MONTEIRO, 2005; MANSILLA *et al.*, 2011).

O processo de síntese da melanina denominado melanogênese ocorre nas melanossomas (organelas). Sendo os eventos iniciais deste processo catalisados pela enzima tirosinase que possui característica multifuncional. Há outras proteínas reguladoras conhecidas como proteína 1 relacionada à tirosinase (TRP I), e proteína 2 relacionada à tirosinase (TRP II) (DUARTE, 2009).

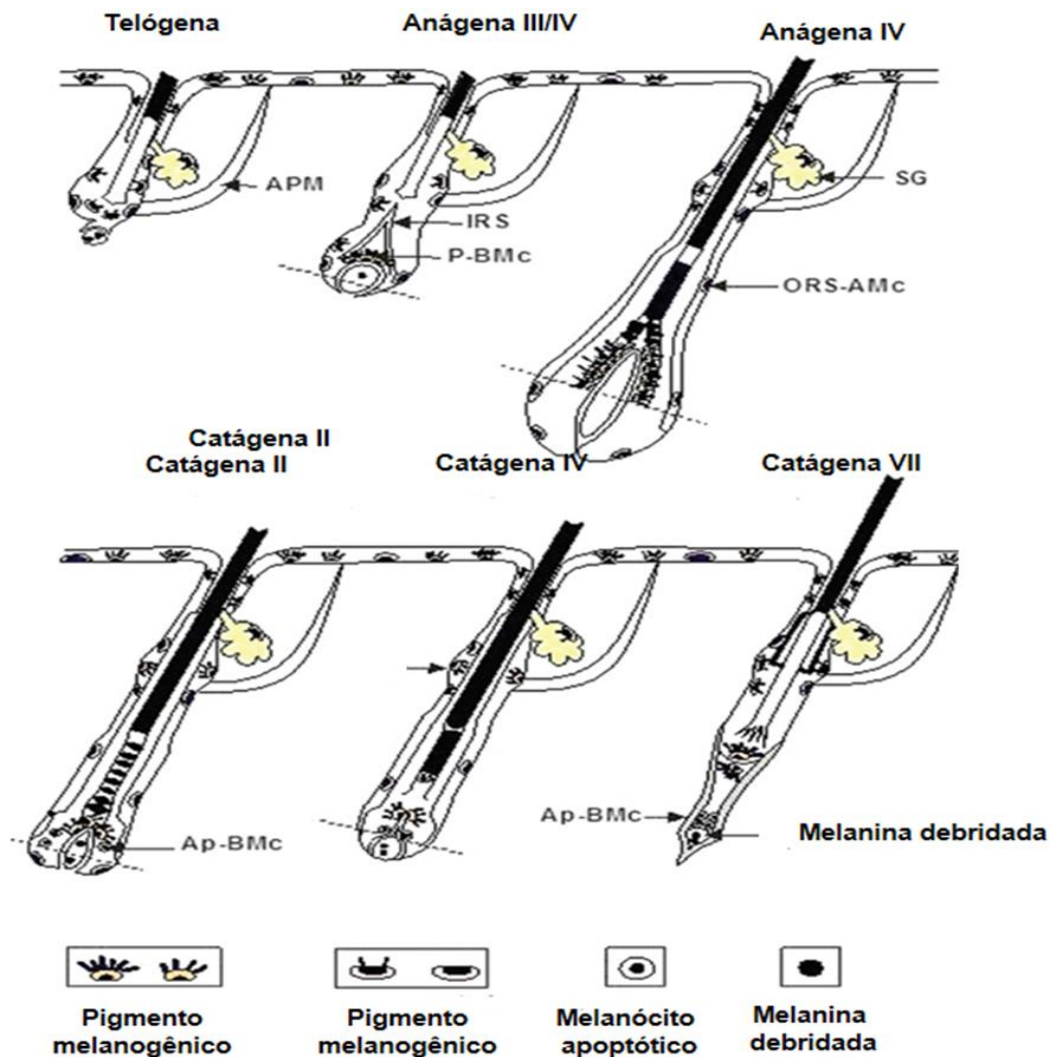


Figura 6: Células-tronco de melanócitos e sua progênie durante o ciclo do cabelo (APM: músculo eretor do pelo, SG: Glândula Sebácea, IRS: Esqueleto interno, P.BMc: Melanócitos do bulbo de cabelo pigmentado, ORS-AMc: Melanócitos apoptóticos da raiz externa, Ap-BMc: Melanócitos do bulbo capilar apoptótico). Fonte: (PANDHI; KHANNA, 2013; MACHADO, 2018).

A síntese da melanina é iniciada com oxidação enzimática de L-tirosina à L-Dopa e oxidação de L-Dopa à dopaquinona (figura 7) (DUARTE, 2009). Causando a modificação espontânea da dopaquinona em leucodopacromo e dopacromo onde bioquimicamente inicia-se uma cascata de reações, a qual termina com a formação de pigmento castanho-preto chamado eumelanina (figura 7-A). A conjugação de dopaquinona com cisteína e glutathione resulta em cisteinildopa e glutathionildopa. Ambos passam por uma série de transformações, gerando finalmente um pigmento vermelho-amarelo chamado feomelanina (figura 7-B) (OLIVEIRA; ALMEIDA-JUNIOR, 2003; NOAKES, 2015; YUAN; JIN, 2018).

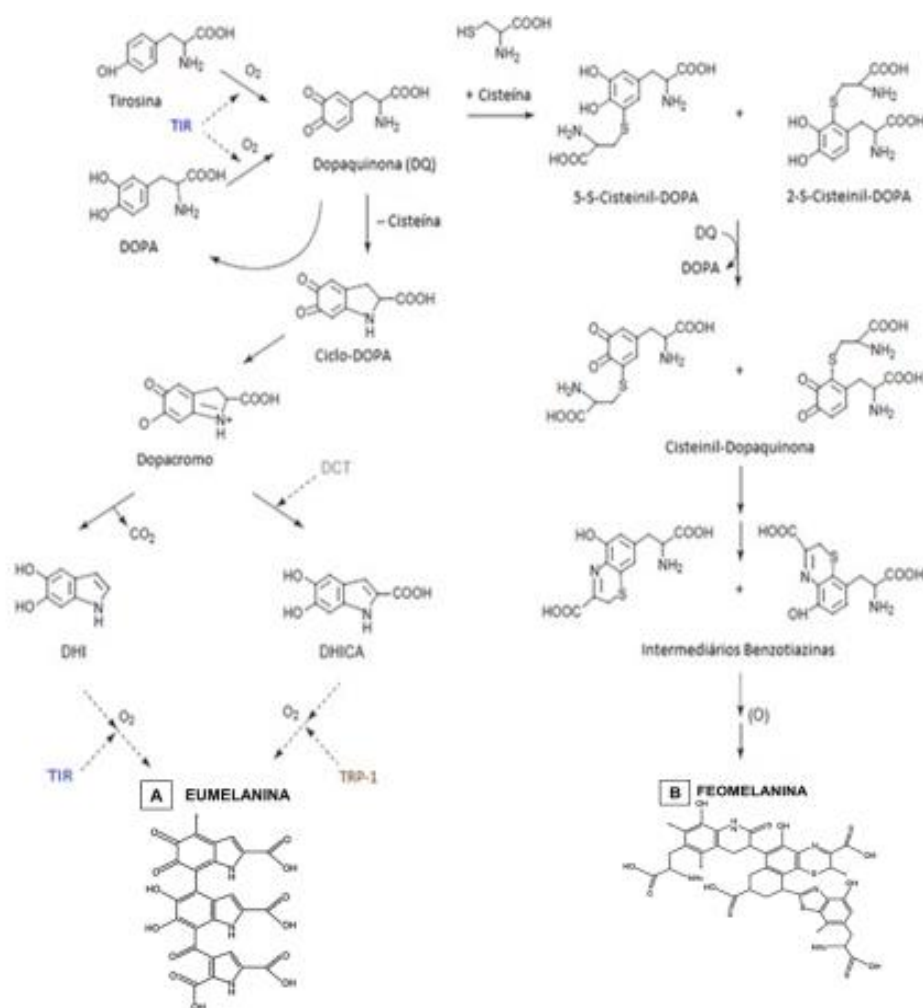


Figura 7: Biossíntese de eumelanina e feomelanina. TIR– tirosinase; TRP-1– Proteína relacionada à tirosinase 1; DCT – DOPAcromo tautomerase; DHI – 5,6-Dihidroxiindol; DHICA– 5,6-Dihidroxiindol-2-Carboxílico. A- Eumelanina e B- Feomelanina. Fonte: Adaptado de: ITO; WAKAMATSU, 2011; VIRMOND *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2014.

3.3 Descoloração capilar

Os grânulos de melanina são depositados pelos melanócitos 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 a medula. Portanto, para efetivamente alterar a cor do cabelo natural, os cosméticos capilares precisam ir além da cutícula, na parte interna da haste capilar (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

Quando ocorre um procedimento estético em que se busca uma coloração mais clara que a cor do cabelo original, é preciso realizar uma descoloração. O oxidante utilizado é o peróxido de hidrogênio, conhecido popularmente como água oxigenada. Entretanto o clareamento pode ser intensificado pelo íon persulfato, presente em pós descolorantes (SOUZA; AZEVEDO; FONSECA, 2007).

O processo de descoloração ocorre por meio da oxidação dos grânulos de melanina presentes no córtex. Como resultado da oxidação da melanina observa-se o

clareamento dos fios. Esta destruição dos grânulos de melanina pode ser parcial ou total por ocorrerem reações secundárias envolvendo as proteínas. A degradação das proteínas capilares também ocorre durante o processo de descoloração devido a fibra conter grande porcentagem de estruturas oxidáveis (por exemplo, ligações dissulfeto), (VELASCO *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2019).

O pH para descoloração dos cabelos varia na faixa de 9 a 11 (máximo 11,7) (ROBBINS, 2002). O peróxido de hidrogênio (figura 8-A) e o persulfato de amônio (figura 8-B) geram reações de redução em solução ácida e alcalina, mas o valor de pH para a espécie reativa predominante do peróxido é o ânion HO_2^- .

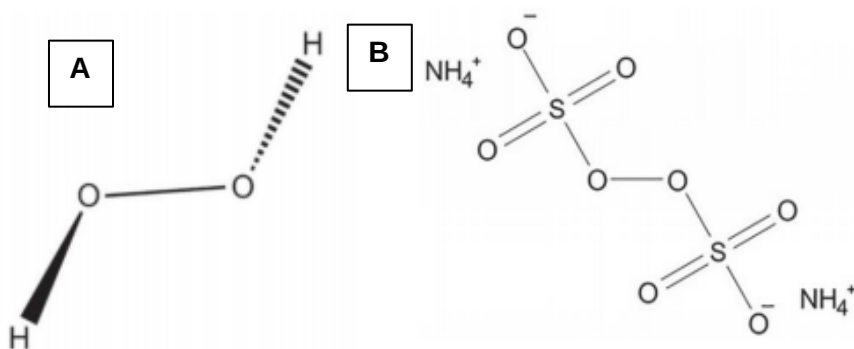


Figura 8 Fórmula estrutural do peróxido de hidrogênio (A); Fórmula estrutural do persulfato de amônio. (B). Fonte: Borges; Borges; Pinheiro, 2018.

O peróxido de hidrogênio ajuda os persulfatos durante o procedimento de oxidação promovido por estas formulações, dissolvendo os grânulos de melanina por completo ou parcialmente deixando um pequeno espaço no córtex capilar. O clareamento é intensificado pelos íons persulfatos presente nos pós descolorantes. Esse processo pode levar a formação de vários produtos de degradação. A feomelanina é mais resistente ao processo de clareamento físico e químico (fotocclareamento) do que a eumelanina. Para a descoloração ficar mais rápida, em geral são utilizados persulfatos de potássio ou amônia e meio básico (entre pH 9 e pH 11) ajustado com hidróxidos de sódio ou amônio (WARTHA; SILVA; BEJARANO, 2013; BORGES, 2017).

3.4 Coloração capilar

Diante da demanda de produtos para fins capilares para colorações, é comum o surgimento de problemas relacionados com a segurança e toxicidade das formulações. As agências reguladoras de cada país são responsáveis pela avaliação de segurança e eficácia do produto (YANG *et al.*, 2017).

A coloração ou tingimento capilar é o processo pelo qual se troca ou se restabelece a cor natural do cabelo utilizando corantes por simples finalidade estética.

Segundo a ANVISA, em 2000, de acordo com a RDC nº 79, estabelece que a autorização e comercialização no mercado depende muito da variedade disponível de produtos de colorações, as mesmas se destinam com funções parecidas, mas com fixações e termos diferentes, sendo classificadas em: tinturas permanentes, tinturas semipermanentes e tinturas temporárias de acordo com seu mecanismo de ação e fixação do tom em relação ao tempo de fixação na fibra capilar. As formulações também podem ser classificadas em relação a sua origem, sendo consideradas naturais ou sintéticas (CARRARO, 2018).

3.4.1 Coloração permanente

São classificadas em oxidativas ou progressivas por consistirem em componentes que são misturados, antes do uso, e que originam a cor por meio de reações químicas sobre e dentro da fibra capilar (figura 9). Estas colorações agem removendo parte do pigmento existente no cabelo e/ou adicionando novo pigmento por períodos de duração mais longa, ou permanentemente (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

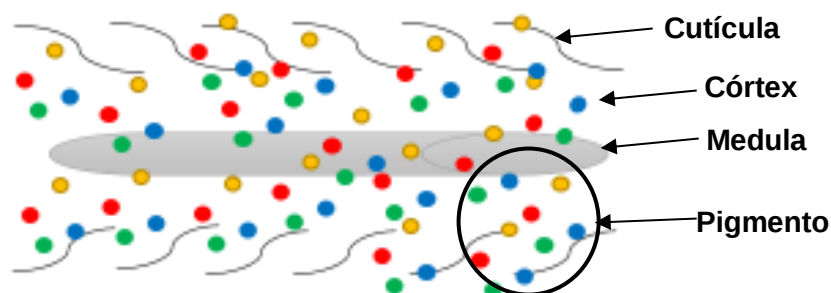


Figura 9: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo permanente, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam. Fonte: Autoria própria.

O processo de tingimento permanente requer três etapas: primário intermediários, acopladores e oxidantes. Na primeira etapa são formados os intermediários que são os para-corantes, como aminofenóis e fenilenodiaminas (PPD) (figura 10) que formam cor na oxidação por peróxido de hidrogênio (HARRISON; SINCLAIR, 2003). Os produtos da oxidação dos intermediários primários reagem então com acopladores para formar corantes incolores. Os acopladores comumente usados são fenóis, meta-aminofenóis e meta-diaminobenzenos (DE OLIVEIRA, 2014). Este processo depende do desenvolvimento de grandes complexos coloridos formados no córtex e na cutícula. As tinturas de cabelo permanentes são soluções altamente alcalinas permitindo que a cutícula se dilate e promova a penetração das moléculas de corante no córtex (DA FRANÇA, 2015; TAFURT-CARDONA *et al.*, 2015).

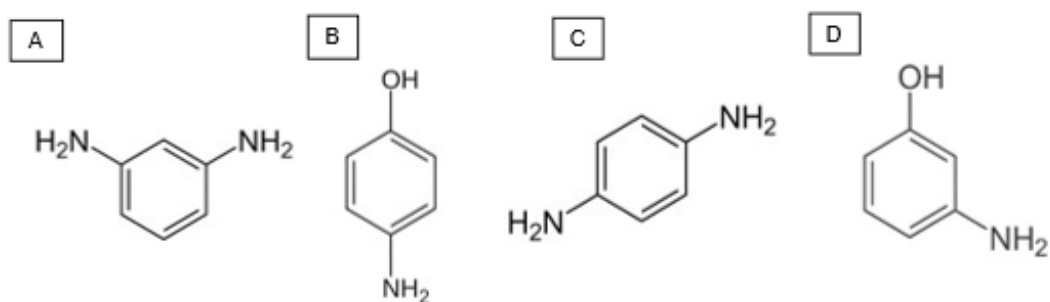


Figura 10. Estrutura molecular da m-diamina (A), p-aminofenol (B), p-diamina (C) e m-aminofenol (D). Fonte: (DE OLIVEIRA, 2014).

As tinturas permanentes apresentam um potencial de dano da fibra capilar, envolvendo as reações químicas agressivas ao fio, que alteram a sua estrutura, diminuindo a maciez, o brilho e aumentando o esforço para pentear, sendo considerados atributos indispensáveis e desejáveis em um cabelo saudável (MOREL; CHRISTIE, 2011). Entre os mais diversos produtos cosméticos, a tintura de cabelo é um dos produtos que contém metais em sua composição. Os produtos podem ser absorvidos por diferentes vias, tal como a pele e, portanto, a composição da tintura deve garantir segurança nas condições de uso normal e devem ser cuidadosamente avaliados antes da comercialização (IARQ, 1993; HUSSEIN, 2015).

Outro ponto relevante sobre a presença de metais nestas formulações é a liberação destes elementos no meio ambiente (AKTAS *et al.*, 2017). Os metais estão entre os poluentes ambientais mais importantes, mesmo quando presentes em baixas concentrações podem ser considerados perigosos para a saúde humana (DJAHED *et al.*, 2018). Na maioria dos países, o uso de metais como ingredientes em produtos cosméticos é proibido devido presença desses metais quando em altas concentrações e/ou usado continuamente em baixas concentrações podem ser prejudiciais por se acumularem no organismo humano e também por gerar acumulação no meio ambiente (IWEGBUE *et al.*, 2016; ULLAH *et al.*, 2017).

3.4.2 Coloração semipermanente

As colorações semipermanentes ao serem depositadas sobre a fibra capilar se aderem às cutículas (figura 11). Estas formulações contêm derivados da nitroanilina e nitrofenilenediaminas (figura 12), sendo estas capazes de intensificar tons naturais e cobrir os fios de cabelos brancos (BOGA *et al.*, 2013; GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014). Por isso, na formulação encontra-se corantes ácidos e básicos classificados como temporários, como por exemplo, o Acid Orange 7, Acid Violet 43, Basic Red 22 ou Basic Blue 47 (figura 13) que se ligam ao grupo -COOH ou -SO₃H qual

se desprendem com facilidade do cabelo (GUERRA-TAPIA; GONZALEZ-GUERRA, 2014).

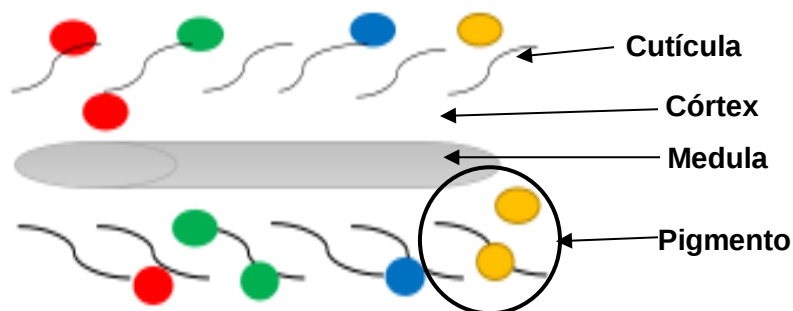


Figura 11: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo semipermanente, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam. Fonte: Autoria própria.

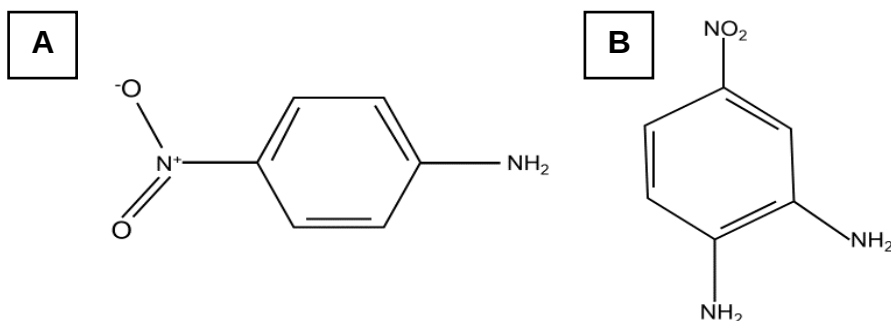


Figura 12: Estrutura química dos corantes nitroanilina e nitrofenilenediaminas que fazem parte das colorações semipermanentes. Fonte: DE OLIVEIRA, 2014.

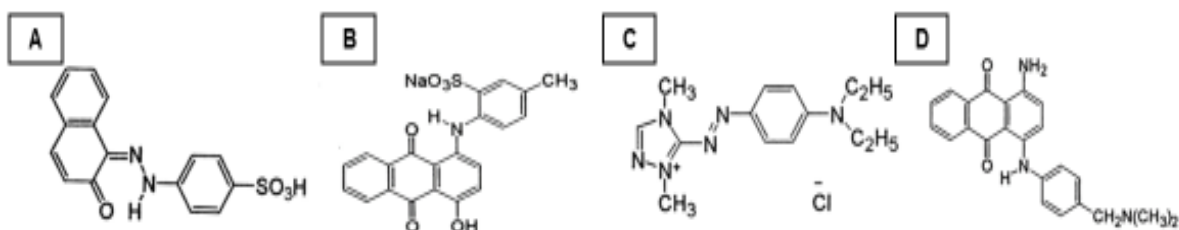


Figura 13: Estrutura química dos corantes semipermanentes. Acid Orange 7 (A), Acid Violet 43 (B), Basic Red 22(C) e Basic Blue 47 (D). Fonte: DE OLIVEIRA, 2014.

A aplicação sobre o fio de cabelo ocorre por interação polar fraca e interação de Van der Waals. Normalmente mistura-se cerca de 10 a 12 diferentes tipos de corantes para chegar à cor ou tom desejado. Com este tipo de formulação não é possível chegar a um tom mais claro que o natural, e sim, acentuar e/ou até mesmo escurecer os fios (ENGWA *et al.*, 2019)

Para as colorações semipermanentes não se utiliza o peróxido de hidrogênio para acelerar o processo de pigmentação, já que o pigmento não adentra para o córtex. o que ocorre é uma interação dos pigmentos com a cutícula capilar. As colorações

semipermanentes tem curto tempo de pigmentação da fibra capilar, sendo que a coloração se mantém em torno de 6 a 12 lavagens. Estas colorações proporcionam uma mudança de cor rápida e estão disponíveis no mercado em formas de xampus, sprays, loções e cremes (SINGH *et al.*, 2019).

3.4.3 Coloração Temporária

As colorações classificadas como temporárias têm curto tempo de duração, permanecendo até 3 lavagens. Essas colorações são compostas por corantes básicos ou ácidos (corantes iônicos altamente solúveis em água) de alta massa molecular, sendo os corantes solúveis em meios aquosos e capazes de reagir com as fibras proteicas das cutículas da fibra capilar (HARRISON; SINCLAIR, 2004). A fixação dos pigmentos é devida à formação das ligações iônicas entre grupos aniônicos do corante e grupos catiônicos da fibra, ou vice e versa (figura 14). Estes corantes não são capazes de tingir as fibras celulósicas, no entanto, alguns corantes são usados nas distintas formulações para fins de coloração temporária.

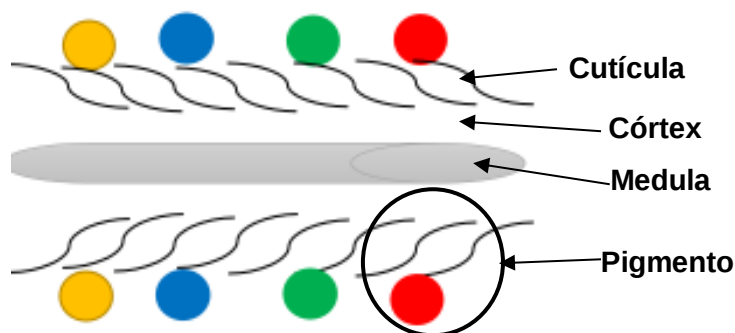


Figura 14: Distribuição dos corantes presentes na coloração do tipo temporária, bem como as estruturas às quais os corantes se alojam. Fonte: Autoria própria.

Os pigmentos presentes nas formulações temporárias não adentram o fio (córtex) e por isso não utilizam o peróxido de hidrogênio e nem agentes oxidantes, uma vez que não é preciso dilatar as cutículas da fibra capilar (PINHEIRO *et al.*, 2002). Os pigmentos são depositados temporariamente na estrutura externa do fio por interação fraca envolvendo os grupos químicos do corante e das proteínas constituintes da fibra capilar. Estes responsáveis por proporcionar brilho aos fios opacos, por apresentarem diferentes tonalidades e são facilmente removíveis, por serem solúveis em água (GAMA, 2010; ADEEL *et al.*, 2019).

3.4.4 Coloração capilar de origem natural

Entre as colorações capilares disponíveis no mercado destacam-se as de origem natural chamadas de colorações vegetais que são derivadas de plantas,

exemplo a henna (ABRAHAM *et al.*, 2009). Além da henna que é mais popular e ainda muito utilizada como alternativa de tingir os cabelos por ser considerada um produto que possa propiciar menos danos à saúde, o ecossistema dispõe também de outras fontes naturais capaz de produzir corantes vegetais com esta finalidade (CAMPOS e LEÃO, 2018).

3.4.4.1 Henna (*Lawsonia inermis*)

Diante das propriedades estéticas, a henna é composta por quase 70 compostos isolados de várias partes da planta. As naftaquinonas (figura 15-C) são responsáveis pelo tingimento (SEMWAL *et al.*, 2014; REHMAT *et al.*, 2020). O pó da henna (figura 15-A) quando misturado com água é bastante utilizado esteticamente para adornar a pele, com desenhos ornamentais culturalmente usados na Índia (SAKSENA, 1979). A pasta da henna (Figura 15-B) é utilizada para o desenho das sobrancelhas (Figura 18-D), adicionada em tintas de tatuagem (Figura 15-E), e como coloração capilar. Apresenta tons que tendem para marrom escuro e laranja-avermelhado (REHMAT *et al.*, 2020).

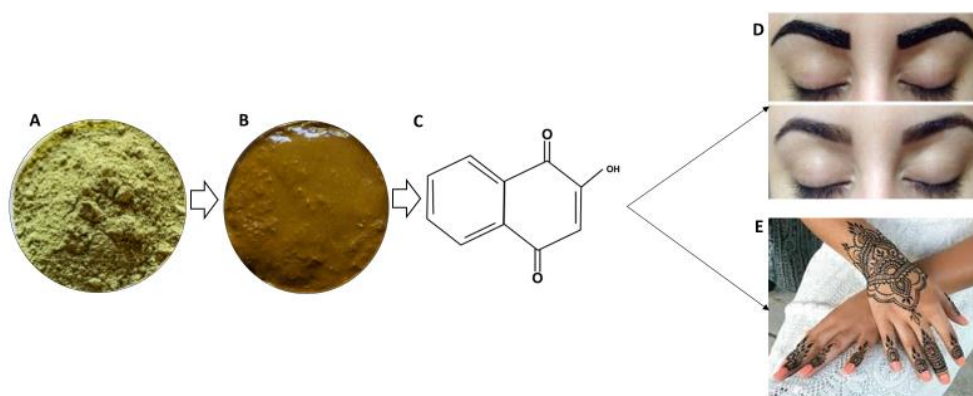


Figura 15: Pó de Henna (A); pasta feita com pó de Henna e água (B); naftaquinona Lawsone (C); design de sobrancelha feita com pasta de Henna (D); pintura na pele com pasta de Henna (E). Fonte: (SEMWAL *et al.*, 2014; REHMAT *et al.*, 2020).

Para fins capilares o corante vegetal natural tem efeitos de semipermanente, porém, no mercado estão disponíveis produtos com henna, conhecida como henna sintética. Estas formulações são constituídas por corantes de alcatrão que tem baixo peso molecular e podem também conter corantes derivados das diaminas, aminofenóis ou fenóis. Assim, são caracterizados como citotóxicos e não naturais, podendo causar dermatite de contato alérgica (FERREIRA *et al.*, 2019).

O baixo peso molecular permite que o produto se 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 (DIAS, 2015; LEE *et al.*, 2019).

3.4.4.2 Urucum (*Bixa orellana* L.)

O urucum produz pigmentos em tons vermelhos a amarelo-alaranjado, considerados de baixa eficiência por se desprender da fibra capilar após a primeira lavagem (MEDEIROS e ENRICONE, 2015). Assim, formulações contendo urucum são classificadas como coloração temporária (QUEIROZ *et al.* 2019). A extração dos pigmentos é feita a partir das sementes, dentre os quais destaca-se a bixina (Figura 16-D), que representa mais de 80% dos carotenóides presentes no fruto da semente extrai os pigmentos para fins estéticos, como tatuagens e tintura de cabelo (figura 16) (PINTO, 2020; GAUDÊNCIO *et al.* 2020).

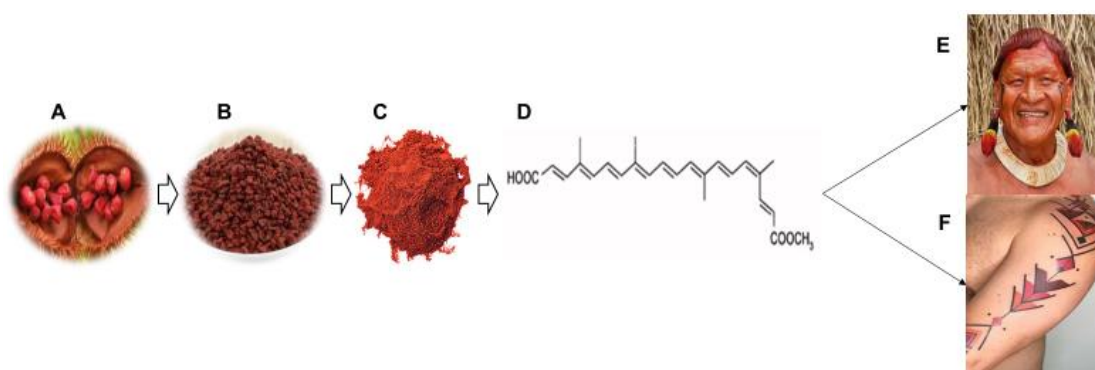


Figura 16: Fruto Urucum (A); sementes do fruto (B); semente pulverizada (C) estrutura da molécula de bixina (D); cabelo pintado com tinta feita através do pó de Urucum (E); tatuagem feita com pigmentos extraídos do Urucum (F). Fonte: Google imagens: www.google.com/search?q=Bixa+orellana

3.5 Jenipapo (*Genipa americana*)

A *Genipa americana* pertence à família Rubiaceae originária da Amazônia, o seu 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. Esta planta é amplamente distribuída em todas as áreas tropicais e subtropicais da América Latina. Suas folhas e frutos (jenipapo) (figura 18-B) são usados na medicina popular e são consumidos *in natura*, na forma de doces, sucos, compostas e vinhos (SILVA, LIMA e VIEITES, 1998).

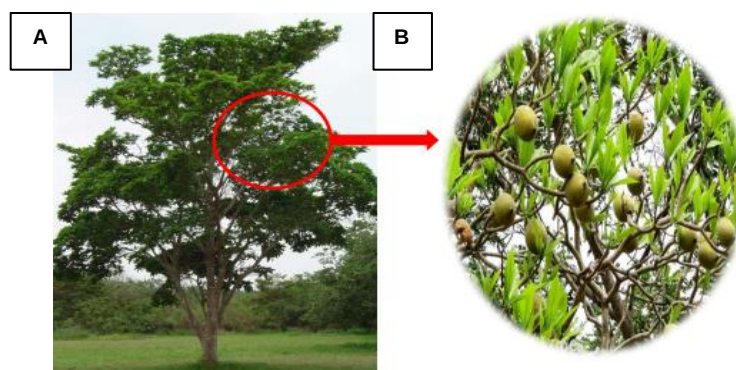


Figura 17: Jenipapeiro (*Genipa americana* L.) (A) e fruta oriunda do jenipapeiro (jenipapo) (B).
Fonte: <https://www.google.com/search?q=genipa+americana>.

A polpa do jenipapo possui composição de ácidos graxos saturados (25,63%), monoinsaturados (3,67%), poli-insaturados (61,19%) e a razão n-6/n-3 (2,01%), considerada desejável, assim, a inclusão na dieta humana pode contribuir para a segurança alimentar e nutricional da população (PACHECO *et al.*, 2014).

Substâncias com atividades biológicas também são encontradas no fruto derivado da *Genipa americana* (ALVES, 2014). O perfil fitoquímico das folhas e frutos são relatados, identificando a presença de iridóides, monoterpenóides, ácidos graxos, esteróides, ácidos carboxílicos e compostos fenólicos. Algumas destas substâncias são caracterizadas como compostos bioativos (COSTA, 2018), sendo identificados no óleo essencial de folhas jovens e maduras o naftaleno, (E)- β -ocimeno, (2E)-decenal, (2E,4E)-decadienal, (E)-cariofileno, (E)- β -ionona, (E,E)- α -farnesene, benzoato de hexila, pentadecanal e o ácido linoleico. Nas folhas jovens houve predominância de monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos e ácidos graxos. Nas folhas maduras, os mesmos compostos estavam presentes, incluindo alguns diterpenos (JESUS, 2019b).

O endocarpo e o fruto inteiro possuem o maior conteúdo do iridóide genipina, enquanto o mesocarpo e a casca possuem o maior conteúdo de geniposídeo (NÁTHIA-NEVES *et al.*, 2017). Sendo o geniposídeo e genipina incolores, mas que produz cor escura depois de reagir com grupos proteicos (MERCADANTE, 2014; NERI-NUMA *et al.*, 2020).

3.5.1 Genipina e geniposídeo

A genipina (figura 18-A) é um iridóide, oriundo do geniposídeo (figura 18-B), e se apresenta originalmente incolor, mas também se torna azul através da reação com fontes de aminas primárias. O geniposídeo é um dos principais iridóides glicosilados do fruto da *Gardenia jasminoides* e da *Genipa americana* e constitui cerca de 4 a 6% do fruto (SHAN *et al.*, 2019).

Os pigmentos produzidos pelo fruto são utilizados como corantes naturais para fins alimentares, além das atividades nutraceuticas (NÁTHIA-NEVES *et al.*, 2019). Os corantes azuis obtidos a partir da genipina têm algumas peculiaridades, como estabilidade com calor, luz ou pH, sendo considerado mais estável do que outros corantes azuis de origem natural disponíveis no mercado (BRAUCH, 2016, RAMOS-DE-LA-PEÑA *et al.*, 2016; NERI-NUMA *et al.*, 2017; BELLÉ *et al.*, 2018).

A obtenção de genipina a partir de seu composto original, o geniposídeo, ocorre via hidrólise na presença de enzimas como a β -glucosidase. A estrutura química da genipina (figura 18-C) e do geniposídeo (figura 18-D) apresentam sítios reativos disponíveis em sua cadeia que permitem inúmeras modificações, dentre elas a reticulação. Esse tipo de modificação proporciona formação de redes quimicamente estáveis (RAMOS-DE-LA-PEÑA *et al.*, 2016).

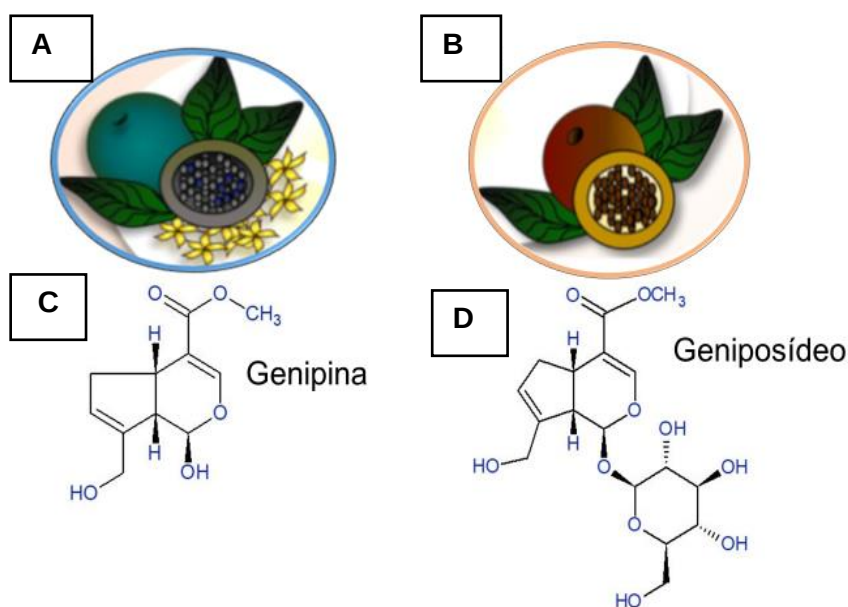


Figura 18: Jenipapo verde (A); jenipapo maduro (B); estrutura molecular da genipina (C); estrutura molecular de geniposídeo (D).

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 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 (BERGER *et al.*, 2004).

O mecanismo de reticulação da genipina com moléculas que contêm aminas primárias ainda não foi bem esclarecido. Compreende-se que a genipina apresenta forte tendência a estabelecer ligações cruzadas com as aminas, com isso, a literatura propõe dois mecanismos para explicar esta reação conforme a figura 19. Na primeira reação, figura 19-A, ocorre primeiramente uma substituição nucleofílica que evolui para uma amina primária gerando uma amida e liberando metanol (KUO; LIN, 2006; ROESLER *et al.*, 2012).

Uma outra possibilidade, conforme figura 19-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 atacam 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).

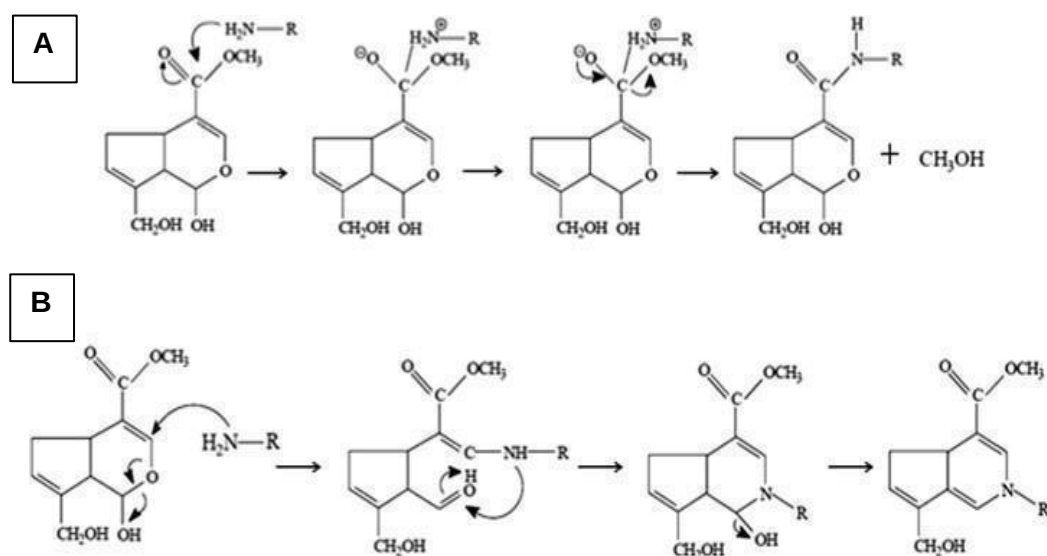


Figura 19: Reação de ligação cruzada de genipina e grupos amino primários (RENHE *et al.* 2009).

A genipina torna-se azul quando ocorre a reação em contato com o grupo dos aminoácidos, 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 (BENTES *et al.*, 2014; BUCHWEITZ *et al.*, 2016).

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 passe a polímeros de uma cor marrom avermelhada para tons de azul e violeta (GONSALVES *et al.*, 2011; BENTES; MARCADANTE, 2014).

3.6 Colorimetria

A palavra cor é comumente relacionada a três sentidos diferentes. A química a emprega como termo genérico ligado a corantes, pigmentos e materiais similares. A física a utiliza para referir-se a determinados fenômenos no campo da ótica. Fisiologistas e psicólogos interessam-se em entender a natureza do processo visual e a usam para denotar sensações da consciência de um observador humano (BYRNE; HILBERT, 1997).

A cor pode ser definida como a propriedade dos corpos em absorver e refletir luz, e tem como atributos principais o matiz, a luminosidade e a saturação. É o aspecto gerado pelas percepções do órgão visual em radiação eletromagnética visível de comprimento de onda entre 380-400 a 740-750 nm, determinado basicamente pela fonte de luz e a superfície refletora (figura 20). A percepção humana sobre as cores possui caráter altamente subjetivo e pessoal, fazendo com que a sensação da cor seja única após complexas operações de recebimento registrado pela retina e processamento de estímulos recebidos pelo cérebro (CAMARGOS; GONÇALEZ, 2001).



Figura 20: Cores do espectro visível, comprimento de ondas (nm) e frequência (THz). Fonte: <https://www.if.ufrj.br/~bertu/fis2/temperatura/universo/tmp.html>

A cor é uma das características mais importantes para a identificação, classificação e indicação de uso de superfícies onde pode ser alterada pelo teor de umidade, temperatura, degradações ou, ainda, pelas reações oxidativas (CAMARGOS; GONÇALEZ, 2001). A colorimetria sendo um método quantitativo é uma metodologia objetiva e eficaz para a medição da cor, descrevendo numericamente cada elemento da composição de uma cor por meio de aparelho apropriado (GONÇALEZ *et al.*, 2001; MORI *et al.*, 2005).

Um dos sistemas mais utilizados para a medição de cores é o padronizado pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE – *Comission Internationale de l'Eclairage*) desenvolvido em 1976 que fornece uma diferenciação de cores mais precisa em relação à percepção humana. Esse sistema é baseado em três elementos: a luminosidade ou

claridade, a tonalidade ou matiz e a saturação ou cromaticidade (ABBOTT, 1999; PATHARE; OPARA; AL-SAID, 2013).

A tonalidade é o termo usado no mundo da cor para a classificação das cores que é percebida visualmente devido a absorbância e refletância codificada e processada opticamente pelos seres vivos. A luminosidade das cores muda verticalmente (L^*) e essa posição mostra que a luminosidade pode ser medida independentemente da tonalidade que aumenta em direção ao topo e diminui em direção ao fundo e são classificadas em claras e escuras quando comparada a sua luminosidade (figura 21). A saturação são cores intensas e opacas que mudam a partir do centro, sendo esse atributo totalmente independente da tonalidade e da luminosidade da superfície (a^* e b^*) (LOPES, 2009; CIE, 2021).

Esses elementos são obtidos por meio dos parâmetros colorimétricos L^* , $+a^*$, $-a^*$, $+b^*$, $-b^*$ onde cada coordenada se refere à variação e quantidade de cores existentes. A coordenada L^* é referente a luminosidade presente na amostra, a coordenada a^* é referente a variação entre vermelho (+) e verde (-), a coordenada b^* é referente a variação de azul (-) e amarelo (+) (Figura 21) (MICHOT, 1994; CASTRO *et al.*, 2020).

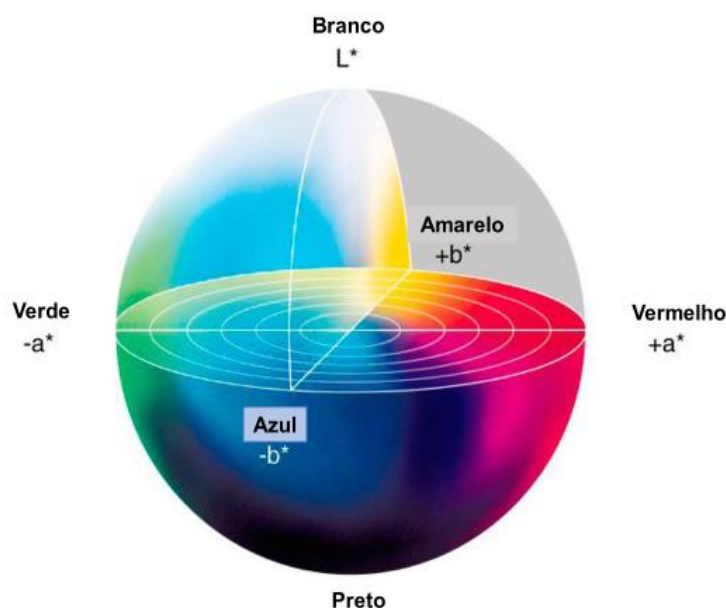


Figura 21: Representação das coordenadas cromáticas utilizadas pelo sistema CIE Lab de detecção e transformação numérica da cor. Fonte: <https://www.google.com/colorimetro>

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Formulação

4.1.1 Desenvolvimento das formulações

Foram preparadas formulações utilizando loção base cosmética Vitalgreen Cristal Hair® (L) contendo diferentes concentrações de genipina (G) e/ou geniposídeo (GS) (tabela1).

Tabela 1. Concentração de genipina e/ou geniposídeo nas formulações.

Formulação	Genipina ([] mg/mL)	Geniposídeo ([] mg/mL)
Loção base	-	-
G0.5	0,5	-
GS0.5	-	0,5
G0.5GS0.5	0,5	0,5
G1	1	-
GS1	-	1
G1GS1	1	1
G2	2	-
GS2	-	2
G2GS2	1,5	0,5
G2GS2	0,5	1,5
G4	4	-
GS4	-	4
G4GS4	2,0	2,0
G8	8	-
GS8	-	8

As formulações foram submetidas às avaliações de estabilidade preliminar e controle de qualidade estabelecido pela ANVISA (2004), ANVISA (2007), onde foram avaliadas as características organolépticas da formulação (aspecto, cor e odor), pH e condições de armazenamento. Os testes de estabilidades foram realizados em triplicata.

4.1.2 Estabilidade Preliminar

As formulações que se mostraram estáveis após 24h foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar. As formulações foram avaliadas nos tempos “zero”, após 24 h, 7, 15 e 30 dias. Sendo observadas as características organolépticas (aspecto, odor e cor), classificando-as como N (normal), LM (levemente modificada), M (modificada) ou IM (intensamente modificada) (ANVISA, 2004).

4.1.2.1 Estabilidade física (teste de centrifugação)

As formulações (3 mL; n=3) foram submetidas ao processo de centrifugação (rotação de 3000 rpm) por 30 min e temperatura ambiente (20±2°C) (ANVISA, 2004).

4.1.2.2 Estabilidade sob variação térmica

Foram adicionados (3 mL; n=3) das amostras em tubos de plásticos vedados, sendo estes submersos em banho-maria em uma temperatura de 40°C. Após 30 minutos foi realizada a avaliação das formulações e posteriormente a temperatura do banho foi aumentada 50°C. Este processo foi repetido aumentando 10°C em cada ciclo até atingir a temperatura de 80°C (FERRARI *et al.*, 2014).

4.1.2.3 Estabilidade sob diferentes condições de armazenamento

As formulações (3 mL; n=3) foram armazenadas durante 0, 24h, 7, 15 e 30 dias em diferentes condições de armazenamento (5±2°C; 25±2°C) (ANVISA (2004). Além da avaliação das características organolépticas, foram avaliadas as alterações de pH, por meio diluição das formulações em água destilada na proporção 1:10 (ANVISA, 2007).

4.2 Protocolo de aplicação do produto

4.2.1 Obtenção e Higienização do Cabelo

O cabelo humano (doador caucasiano, ton 3.0 - castanho médio), liso e livre de procedimentos químicos (relaxamento, tinturas e redutores de volume) foi adquirido em loja especializada. Estes passaram pelo processo de higienização, sendo lavados com solução de Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) grau analítico 2% (m/v), e friccionados suavemente com as mãos até a formação de espuma e em seguida enxaguados 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, o cabelo foi armazenado em ambiente livre de umidade e luminosidade até o momento do uso. Foram confeccionadas mechas contendo 5 g de cabelo unidas com fita de silicone.

4.2.2. Descoloração das Mechas

A descoloração foi realizada utilizando formulação descolorante comercial (pó Descolorante Ultra Rápido Active/ peróxido de hidrogênio a 12% - Yamá®). A formulação descolorante foi obtida misturando 10 g de pó descolorante (persulfato de amônia e potássio) em 15 mL de peróxido de hidrogênio (1:1,5).

O protocolo de descoloração seguiu as etapas: 1. Análise colorimétrica do cabelo natural; 2. Aplicação da formulação descolorante com permanência por 40 min; 3. Lavagem das mechas em água corrente; 4. Secagem com auxílio de um secador com jato frio; 5. Análise colorimétrica do cabelo descolorido (figura 22). Após este procedimento, as mechas foram armazenadas em local livre de radiação solar e em umidade controlada.

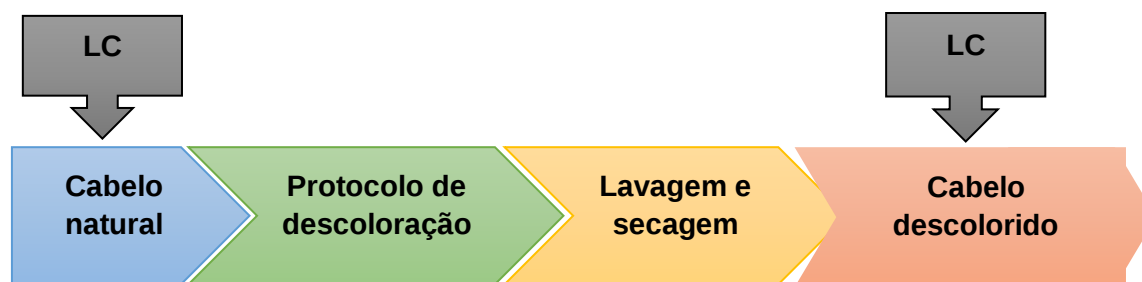


Figura 22: Protocolo de descoloração das mechas de cabelo natural, e momentos em que a leitura colorimétrica foi realizada. Leitura colorimétrica (LC).

O protocolo de descoloração foi realizado em diferentes condições de temperatura conforme descrito na tabela 2.

Tabela 2: Avaliação da influência da temperatura no processo de descoloração

GRUPO	TEMPERATURA (°C)	NÚMERO DE MECHAS (N)	DATA DO PROCEDIMENTO
DT29	29±2°C	5	11/05/2020
DT23	23±2°C	5	24/05/2020
DT21 - C	21±2°C	3	16/06/2020
DT60 - C	60±2°C	3	16/06/2020
DT28	28±2°C	35	23/08/2020

Para todas as mechas e grupos foram realizadas as análises colorimétricas (*L*a*b) e calculado o ΔE (conforme descrito no item análise colorimétrica). Também foi verificado manualmente a resistência do fio de cabelo após o processo de descoloração.

Para avaliação da repetibilidade dos resultados da cor após processo de descoloração, amostras de cabelo natural (n=35, 5 grupos de 7 mechas) foram descoloridas conforme protocolo DT28. As mechas de cabelo natural foram todas processadas em um mesmo dia (temperatura ambiente = 28 °C) até a obtenção da cor definida como fundo de clareamento (3 aplicações de 40 minutos cada). Os dados dos 5 diferentes grupos submetidos ao mesmo processo de descoloração (DT-28) foram submetidos à análise de variância (ANOVA, $\alpha = 0,05$).

4.2.3. Protocolos de coloração do cabelo

Para avaliação dos protocolos de coloração, foram utilizadas mechas provenientes do protocolo de descoloração após padronização (DT28). As mechas descoloridas foram tratadas utilizando as formulações descritas na tabela 5, sob influência de diferentes níveis de temperatura conforme descrito na figura 23.

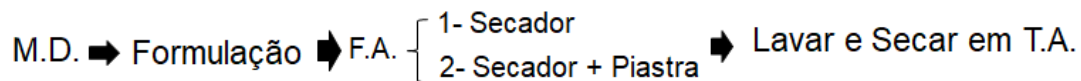


Figura 23: Protocolo do tratamento para avaliação das formulações colorantes submetidas às diferentes fontes de aquecimento. Abreviações: mechas descoloridas (M.D.), fontes de aquecimento (F.A.) e temperatura ambiente (T.A.). Tempo de permanência do produto: tempo de secagem (3 min) e ou secagem/prancha (5 passadas).

Logo após aplicação do produto, o procedimento de secagem utilizando o secador foi realizado em temperatura máxima do aparelho (80°C) até o cabelo secar completamente. A etapa utilizando a piastra (prancha) foi realizada a 215°C passando o instrumento 5 vezes em cada mecha.

4.3 Caracterização da haste capilar

As amostras dos cabelos antes e após a etapa de descoloração e após processo de coloração foram submetidas à caracterização colorimétrica, estrutural (microscopia eletrônica de varredura) (figura 24).

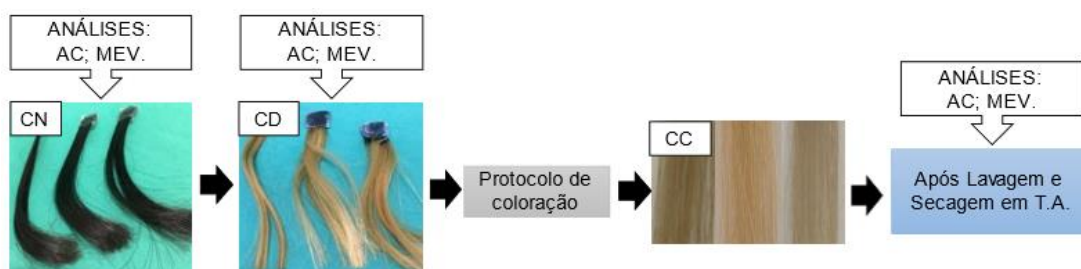


Figura 24: Esquema de padronização das análises de Caracterização Morfológica da Fibra Capilar antes e após cada experimento. Legenda: (AC) Análise colorimétrica; (MEV) Microscopia eletrônica de varredura; (CN) Cabelo natural; (CD) Cabelo descolorido (CC) cabelo colorido.

Após a primeira lavagem depois do protocolo todas as mechas foram lavadas 9 vezes apenas com loção higienizante à base de SDS e enxaguadas em água corrente e colocadas para secar em T.A., bem como foi realizada análise colorimétrica das mechas.

4.3.1 Análise Colorimétrica (AC)

Para análise colorimétrica das mechas de cabelo foi utilizado o colorímetro CR-10 Color Reader (Konica Minolta), sendo todas as análises colorimétricas realizadas em triplicata. Os parâmetros medidos foram *a, *b e *L, além do cálculo da diferença da cor, determinada pela equação 2.

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

Na qual:

$\Delta L = L \text{ padrão} - L \text{ amostra}$

$\Delta a = a \text{ padrão} - a \text{ amostra}$

$\Delta b = b \text{ padrão} - b \text{ amostra}$

O padrão foi selecionado de acordo com a avaliação que foi realizada e sinalizado na apresentação de cada resultado. O padrão e a amostra referem-se aos valores determinados antes e após os procedimentos estudados, respectivamente. Para análise da diferença de cor, foi utilizada a classificação de Cruz-Romero *et al.* (2007) (quadro 1).

Este método é muito utilizado para análise colorimétrica de superfícies planas (GIL-GIRALDO *et al.*, 2019). Como as fibras capilares possuem formato cilíndrico, fez-se necessário a avaliação da precisão do método colorimétrico para análise das mechas de fibras capilares. Foram determinados os valores de *L, *a e *b para mechas sintéticas provenientes de tabelas de cores comercial (tabela de cores do Maxiline®).

A determinação dos parâmetros *L, *a e *b foi realizada em três pontos de cada mecha. A precisão do método para estas amostras foi determinada pelo cálculo de coeficiente de variação dos dados obtidos.

Quadro 1- Parâmetros para análise de cor

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

Fonte: (CRUZ-ROMERO *et al.*, 2007).

4.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O estudo da superfície e secção transversal das amostras foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura utilizando um microscópio eletrônico de varredura (Joel Modelo JSM-6360-LV scanning electron microscope) em voltagem de 20 Kv, sendo as amostras tratadas previamente com banho de ouro e as medições do diâmetro da fibra capilar foram feitas utilizando o Software ImageJ.

4.3.3 Análise Estatística

Os resultados foram analisados 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 ($\alpha = 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Estabilidade das formulações

As condições dos estudos de estabilidade preliminar não se destinam a estimar a vida útil do produto, mas auxiliam e orientam a escolha dos componentes da formulação em desenvolvimento. No presente estudo, as formulações foram submetidas aos testes de estabilidade preliminar onde foi possível observar que no teste de estabilidade física (centrífuga) todas as amostras apresentaram-se sem modificações, sendo classificadas como normais (quadro 3, figura 25). Estes resultados demonstram que os iridóides possuem fácil incorporação na base cosmética, mesmo nas concentrações mais altas. As características anfifílicas de bases cosméticas facilitam a incorporação de substâncias polares e apolares.

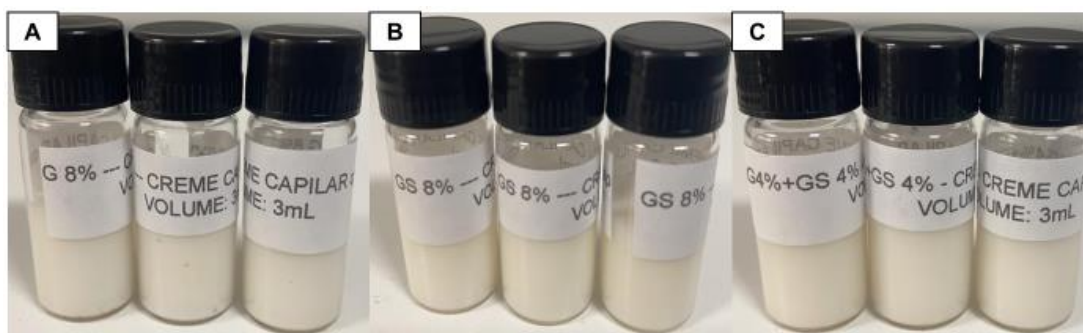


Figura 25: Formulações submetidas ao teste de estabilidade física (centrífuga). A- G8; B- GS8; C- G4:GS4.

Após o teste de estabilidade sob variação térmica (banho-maria), todas as formulações apresentaram-se com odor normal. Houve alteração moderada no aspecto das formulações. G8 apresentou separação de fases nas temperaturas 70°C. GS8 e G4:GS4 apresentaram formação de “creaming”, indicando instabilidade física em temperaturas maiores que 80°C. As formulações G8 e G4:GS4 apresentaram alteração na cor em temperaturas a partir de 70°C e a GS8 a partir de 80°C (quadro 2, figura 26).

É conhecido que o aumento de temperatura favorece a desestabilização das emulsões (Nooshkam & Varidi, 2020). Além disso, a base cosmética utilizada para incorporação dos ativos (VitalGreen® Cristal) pode possuir substâncias nitrogenadas capazes de reagir com os iridóides em temperaturas mais altas gerando composto coloridos (HENRÍQUEZ, 2009; KHAN *et al.*, 2011).

O escurecimento das formulações indica a instabilidade térmica das substâncias ativas e da própria formulação. Observa-se que o escurecimento se dá nas formulações que contêm Genipina que na presença de compostos nitrogenados revelam substâncias que escurecem a formulação (PAIK *et al.*, 2001; JAE, *et al.*, 2011).

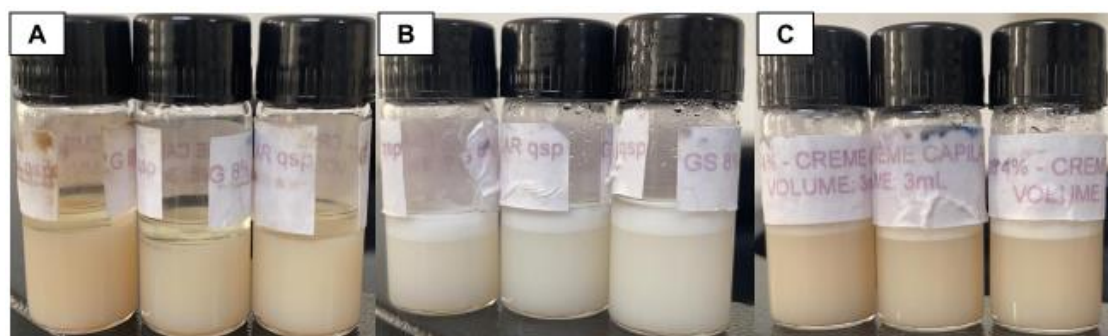


Figura 26: Formulações submetidas ao teste de variação térmica (banho-maria). Sendo: A - G8; B- GS8; C- G4:GS4 submetidas a temperaturas de 80°C.

As formulações quando submetidas ao teste de estabilidade sob diferentes condições de armazenamento (temperatura ambiente - $25\pm 2^{\circ}\text{C}$) apresentaram-se com suas características normais até o 15^a dia, mostrando-se leve modificação de cor e manteve essas características até o 30^a dia, e para baixa temperatura ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$) se apresentaram normais até o 20^o dia e posteriormente apresentou-se com a coloração levemente alterada permanecendo até o 30^a dia.

Quadro 2 – Características das formulações após realização de testes de estabilidade preliminar.

TESTES	CARACTERÍSTICAS	G8	GS8	G4:GS4
ESTABILIDADE FÍSICA (centrífuga)	Aspecto	N	N	N
	Cor	N	N	N
	Odor	N	N	N
ESTABILIDADE TÉRMICA (alteração temperatura até 80°C)	Aspecto	M	M	M
	Cor	LM 70°C	LM 80°C	LM 70°C
	Odor	N	N	N
pH		5,6 80°C	5 80°C	5,6 80°C

N – Normal, LM – Levemente Moderada, M – Moderada.

5.2 Precisão das medições colorimétricas

A avaliação da precisão do método, neste caso também chamada de limite de erro do instrumento, foi realizada devido a técnica aplicada não ser comumente utilizada para a medição de superfícies cilíndricas, como o fio capilar. Este tipo de instrumento geralmente é utilizado para realizar medidas em superfícies planas (GIL-GIRALDO *et al.*, 2019). Superfícies cilíndricas justapostas como os fios da mecha capilar podem formar sombras e, como consequência, alterar a precisão e exatidão da medição.

A figura 27 apresenta os dados do coeficiente de variação das medições de *L, *a e *b utilizando mechas sintéticas provenientes de tabelas de cores comercial (Maxiline®) em função dos valores médios obtidos. O parâmetro *L refere-se à luminosidade da fibra, variando entre 0 (preto) e 100 (branco). O parâmetro *a revela cores que vão do verde (-50 a zero) ao vermelho (zero a +50), enquanto *b varia do azul

(-50 a zero) ao amarelo (zero ao +50) (BARROS *et al.*, 2013). Para as cores de cabelo avaliadas observou-se que a faixa de trabalho *L ficou entre 15 e 70, de *a entre 0 e 30 e de *b entre 5 e 35. Valores próximos a zero apresentaram medições com maior coeficiente de variação, gerando resultados menos precisos. Este resultado foi evidenciado principalmente para análise do parâmetro *a. Como a maioria dos valores de *a obtidos em fibras capilares apresentaram valores menores que 5, optou-se por aumentar o limite de precisão deste parâmetro para 20%, enquanto que *b e *L foi determinado 10 e 5% respectivamente.

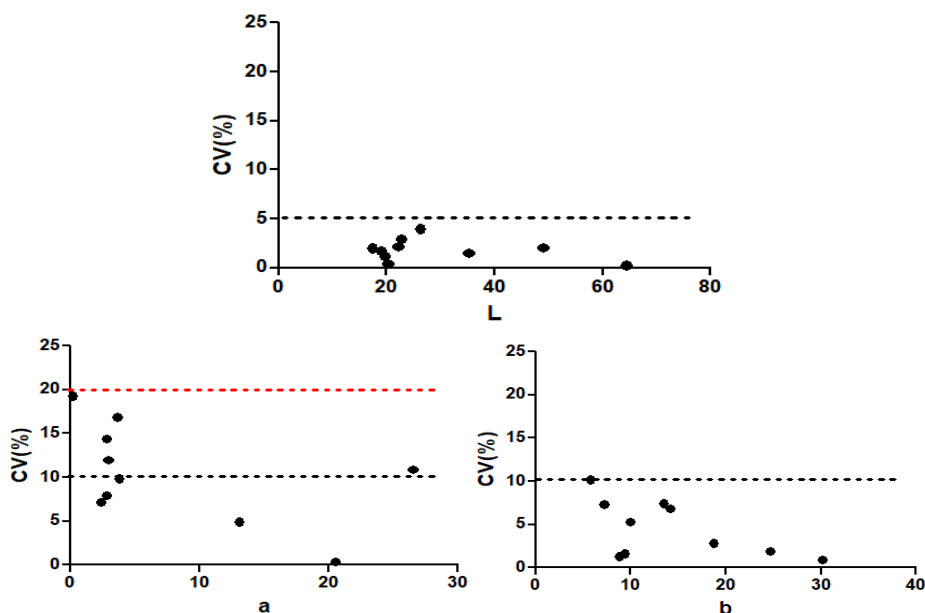


Figura 27: Determinação da precisão das medições dos parâmetros *L, *a e *b.

5.3 Padronização do processo de descoloração do cabelo

O cabelo natural (CN) apresentou valores médios de *L, *a e *b de $18,75 \pm 0,60$, $0,22 \pm 0,13$ e $5,66 \pm 0,30$ respectivamente (tabela 3). Para o cabelo de cor natural utilizado neste trabalho, os valores de *a e *b foram positivos devido à reflexo da eumelanina que varia no eixo *a com valores referentes a cor vermelha e no eixo *b com valores referentes ao amarelo (SANTANA *et al.*, 2006).

Observou-se que a descoloração de mechas realizadas nas mesmas condições de processo (tempo de 40 minutos e mesmo reagente) em dias diferentes (sem a padronização da temperatura do processo, 29°C e 23°C), apresentaram resultados de ΔE significativamente diferentes ($p < 0,05$, tabela 3). Esta diferença se deu provavelmente devido à temperatura ambiente no momento da descoloração (29°C e 23°C). A partir destes resultados, verificou-se a necessidade de padronização do processo, controlando a temperatura.

Tabela 3: Valores dos parâmetros L, a e b do cabelo antes e após o processo de descoloração em diferentes temperaturas (média $\pm$ desvio padrão)

PARÂMETROS	*L	*a	*b
CN	18,75 $\pm$ 0,60	0,22 $\pm$ 0,13	5,66 $\pm$ 0,30
DT29	71,49 $\pm$ 1,45 a	0,51 $\pm$ 0,18 a	31,91 $\pm$ 1,03 a,c
DT23	60,09 $\pm$ 1,63 b	2,67 $\pm$ 0,40 b	23,21 $\pm$ 0,63 b
DT21-C	49,19 $\pm$ 1,75 c	8,87 $\pm$ 0,54 c	31,07 $\pm$ 1,25 a
DT60-C	75,62 $\pm$ 2,31 d	1,36 $\pm$ 1,15 d	32,53 $\pm$ 0,53 c
DT28 (n=35)	64,18 $\pm$ 1,61 e	0,42 $\pm$ 0,21 a	26,95 $\pm$ 0,54 d

CN - cabelo natural; DT29: protocolo realizado em temperatura igual a 29°C; DT23: protocolo realizado em temperatura igual a 23°C; DT21-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 21°C; DT60-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 60°C; DT28: protocolo realizado em temperatura igual a 28°C. *Anova seguida de Tukey, $\alpha = 0,05$; Letras iguais em uma mesma coluna representam valores estatisticamente semelhantes.

Para confirmar a hipótese de que a temperatura ambiente influenciou no processo de descoloração, foram realizados novos experimentos em temperaturas controladas (21°C - ar condicionado e 60°C - touca térmica). Macroscopicamente pode ser observado que a mecha descolorida em ambiente climatizado em 21 $\pm$ 2°C apresentou-se mais escura que a mecha descolorida na temperatura mais alta (figura 30). A oxidação da eumelanina (cabelo escuro) foi mais intensa em temperaturas maiores (DT60-C), apresentando aumento nos parâmetros *L e *b e diminuição de *a em relação a DT21-C.



Figura 28: Influência da temperatura no processo de descoloração. CN - cabelo natural; DT21-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 21°C; DT60-C: protocolo realizado em temperatura controlada de 60°C.

Para DT21-C, o parâmetro *L foi de $49,19 \pm 1,75$, demonstrou menor luminosidade que a amostra DT60-C que apresentou $*L = 75,62 \pm 2,31$. Em relação ao parâmetro *a DT21-C obteve valor igual a $8,87 \pm 0,54$ (referentes ao espectro no vermelho) enquanto DT60-C manteve valores menores que 5 ($*a = 1,36 \pm 1,15$). Para o parâmetro *b, referente ao espectro amarelo, os valores foram de $31,07 \pm 0,87$ e $32,53 \pm 0,57$ para DT21-C e DT60-C, respectivamente (tabela 6).

A figura 31 apresenta a influência da temperatura no processo de descoloração capilar, onde observou-se que a alteração da cor do fio (ΔE) em relação a cor do cabelo natural após serem submetidos a processos realizados em diferentes temperaturas foi maior em função do aumento da temperatura. Desta forma, foi confirmado que o processo de descoloração sofre influência em função da temperatura.

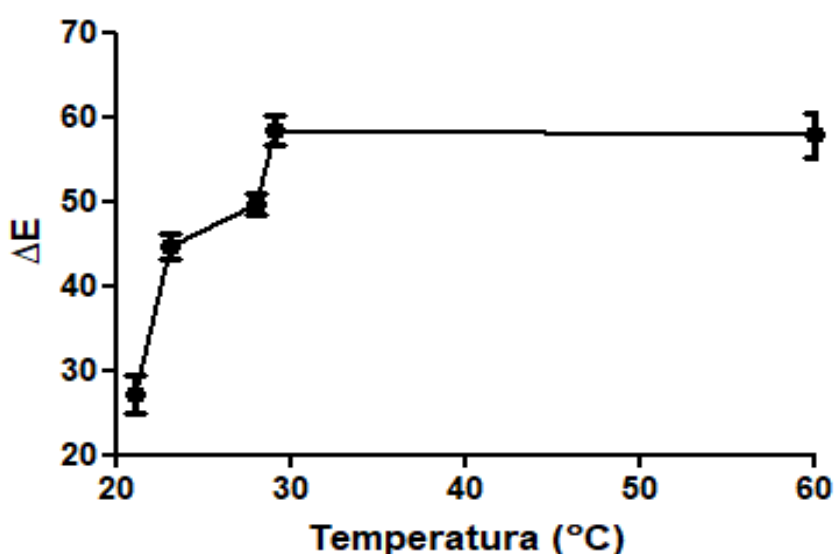


Figura 29: Influência da temperatura no processo de descoloração da fibra capilar. Valores médios de $\Delta E \pm DP$. Valores de ΔE calculados em relação ao CN (cabelo natural).

Desta forma, nos experimentos posteriores de coloração das mechas, padronizou-se a temperatura do processo descolorindo todas as mechas em um único dia ($n=35$, DT28) para garantir a uniformidade da cor do cabelo a ser colorido. Nesta temperatura (28°C) foram necessários a aplicação do oxidante em três processos consecutivos de 40 minutos até atingir o fundo de clareamento (maior descoloração possível) sem que existisse dano mecânico à fibra capilar. A repetibilidade do processo de descoloração nestas condições de temperatura ($n=5$, com 7 mechas, totalizando 35 medições) foi analisada. Foi observado que a precisão das medidas se mantém no processo de descoloração com a padronização da temperatura (tabela 4). Não foi verificada diferença significativa entre os valores obtidos nos diferentes processos ($p > 0,05$).

A repetibilidade do processo foi confirmada pelo cálculo do coeficiente de variação dos valores médios de ΔE de cada processo. O coeficiente de variação foi menor que

5% (CV%=1,83%), demonstrando a repetibilidade do processo nas condições padronizadas.

Tabela 4: Precisão do processo de descoloração de mechas de cabelo natural e descolorido para os parâmetros *L, *a, *b e diferença de cor (ΔE) das amostras submetidas a processos de descoloração padronizada (T=28°C, 3 x 40 minutos, peróxido de hidrogênio 12%)

PROCESSO	CABELO NATURAL			CABELO DESCOLORIDO			ΔE
	*L	*a	*b	*L	*a	*b	
1	18,62± 0,63	0,14± 0,10	5,46± 0,20	63,64 ±0,16	0,33± 0,19	26,94± 0,54	49,59±1, 41
2	18,72± 0,72	0,27± 0,14	5,78± 0,33	64,40 ± 1,63	0,45± 0,23	26,86± 0,59	51,11±1, 49
3	18,68± 0,78	0,30± 0,12	5,86± 0,21	65,39 ± 1,37	0,48± 0,28	26,95± 0,67	51,25±1, 53
4	18,88± 0,65	0,20± 0,14	5,66± 0,41	63,61 ± 1,45	0,47± 0,13	26,80± 0,59	49,48±1, 11
5	18,80± 0,52	0,14± 0,11	5,49± 0,16	63,35 ±1,05	0,34± 0,17	27,00± 0,56	49,47±1, 23
valor de p*	0,6848	0,6532	0,0517	0,5760	0,4174	0,5157	>0,05

*ANOVA seguida de Tukey

As mechas de cabelo natural (CN) possuem classificação comercial de 4.0 (castanho médio da tabela de cores L'Oréal), sendo relacionada no sistema CIELab com *L=18,75, *a=0,22 e *b=5,66. Após descoloração utilizando condições padronizadas (DT28) estes parâmetros apresentaram valores de 64,18 (*L), 0,42 (*a) e 26,97 (*b), apresentando um aumento na luminosidade (*L) e revelando cor amarela (*b) (Figura 32).



Figura 30: Mecha de cabelo natural (CN) e após processo de descoloração padronizado (DT28, T=28°C, 3 x 40 minutos, peróxido de hidrogênio 12%)

5.4 Processo de coloração utilizando os marcadores genipina e geniposídeo

Machado (2018) e Menezes (2019) utilizaram extrato de jenipapo para colorir mechas de cabelos brancos. Tais extratos possuem como marcadores químicos as moléculas de genipina e/ou geniposídeo. Estes autores demonstraram o potencial de coloração destas substâncias em diferentes protocolos de aplicação. Machado (2018) demonstrou que o aumento da temperatura durante aplicação do extrato hidrometanólico de jenipapo intensificou a alteração da cor, gerando valores mais altos de ΔE na temperatura de 80°C, que seria a temperatura do secador de cabelo. Entretanto, no protocolo de Machado (2018), as amostras foram submersas na solução do extrato por 24h, condição esta inviável para aplicação de um produto. Menezes (2019) utilizou extratos aquosos do fruto de jenipapo e aplicou sobre a mecha do cabelo, secando a mesma na temperatura de 80°C por 5 minutos, havendo alteração da cor, porém em intensidade menor que a observada por Machado (2018).

No presente trabalho foi avaliado a influência de cada marcador químico separadamente ou em conjunto em diferentes concentrações e protocolos de aplicação. As cores reveladas utilizando o protocolo de aplicação de loções contendo genipina (G) e geniposídeo (GS) em diferentes concentrações submetidos à temperatura de 80°C (secador) por 03 minutos e à 210°C instantaneamente (piastra), estão apresentadas na figura 33.

Foi observado que macroscopicamente, os cabelos tratados com concentrações de até 2 mg/mL dos marcadores isolados e combinados (figura 33), apresentam cores mais claras, revelando a cor amarela predominantemente. Nas concentrações de 4 e 8 mg/mL, a cor se apresenta mais escura, tendendo para o castanho.

Em relação às condições de temperatura para aplicação do produto, a maior diferença entre cores foi para G1 ($\Delta E = 15,68$), G4 ($\Delta E = 46,28$), G8 ($\Delta E = 40,15$), GS4 ($\Delta E = 18,87$) G1,5:GS0,5 ($\Delta E = 13,17$) G2:GS2 ($\Delta E = 39,73$) e G4,5:GS4 ($\Delta E = 47,74$). GS1 foi o que apresentou menor diferença entre os tratamentos ($\Delta E = 1,79$). Entretanto, apesar da diferença total entre as cores de GS1 ser menor que 3,0, o protocolo utilizando a piastra apresentou resultado com *a negativo, indicando alteração no espectro da cor (vermelho para o verde) (tabelas 3 e 4). Não houve alteração de cor perceptível ($\Delta E = 0,33$) em

relação ao cabelo descolorido, quando a loção GS1 foi aplicada no protocolo utilizando o secador (tabela 7).

	G 0,5 mg/mL	G 1 mg/mL	G 2 mg/mL	G 4 mg/mL	G 8 mg/mL	
(A)	$\Delta E= 3,61$	$\Delta E= 15,68$	$\Delta E= 6,69$	$\Delta E= 46,28$	$\Delta E= 40,15$	
	GS 0,5 mg/mL	GS 1 mg/mL	GS 2 mg/mL	GS 4 mg/mL	GS 8 mg/mL	
(B)	$\Delta E= 5,87$	$\Delta E= 1,79$	$\Delta E= 3,85$	$\Delta E= 18,87$	$\Delta E= 4,08$	
	G 0,5 mg/mL + GS 0,5 mg/mL	G 1,5 mg/mL + GS 0,5 mg/mL	G 0,5 mg/mL + GS 1,5 mg/mL	G 1 mg/mL + GS 1 mg/mL	G 2 mg/mL + GS 2 mg/mL	G 4 mg/mL + GS 4 mg/mL
(C)	$\Delta E= 9,22$	$\Delta E= 13,17$	$\Delta E= 6,86$	$\Delta E= 3,21$	$\Delta E= 39,73$	$\Delta E= 47,74$

Figura 31: Cores reveladas com sua respectiva diferença de cor (ΔE) entre os tratamentos com secador (foto à esquerda) e piastra (foto à direita) após aplicação de genipina (G) (A), geniposídeo (GS) (B) ou ambos (GGS) (C) nas concentrações totais de 0,5, ou ambos (GGS) nas concentrações totais de 0,5, 1, 2 e 4 mg/mL (parte inferior da figura).

Foi observado macroscopicamente, que os cabelos tratados com concentrações de até 2 mg/mL dos marcadores (figura 33), apresentam cores mais claras, revelando a cor amarela predominantemente. Nas concentrações a partir de 4 mg/mL, a cor se apresenta mais escura, tendendo para o castanho.

Tabela 5: Análise colorimétrica de protocolo de coloração utilizando T=80°C (secador).

SUBSTÂNCIA ATIVA	[ativo] (mg/mL)	*L	*a	*b	ΔE
Genipina	0,5	67,99±2,87	0,89±0,12	29,78±0,41	1,97
	1	67,85±1,16	0,40±0,50	29,30±0,83	1,98
	2	64,04±0,68	-2,45±0,36	22,53±0,51	7,91
	4	66,64±1,64	2,42±0,58	30,82±1,66	2,44
	8	50,42±2,34	12,80±0,07	33,32±1,39	20,94
Geniposideo	0,5	69,49±0,59	-0,73±0,02	26,74±0,07	2,49
	1	68,60±0,41	0,21±0,31	28,75±0,45	0,33
	2	65,19±1,14	-2,03±0,16	24,31±0,70	5,92
	4	62,59±1,63	3,56±0,43	31,06±1,46	4,38
	8	70,50±4,62	2,31±1,70	31,35±1,05	6,14
Genipina:Geniposideo	0,5:0,5	66,77±0,88	0,85±0,15	29,84±0,72	1,93
	0,5:1,5	61,01±1,34	-0,75±0,39	27,93±0,06	5,98
	1,5:0,5	61,95±0,59	-2,36±0,20	22,62±0,11	7,65
	1:1	57,81±1,20	-0,65±0,16	22,72±0,90	10,92
	2:2	62,59±1,63	3,56±0,43	31,06±1,46	4,38
	4:4	55,63±1,74	9,57±1,74	9,57±0,64	16,50

ΔE^* calculado utilizando valores do cabelo descolorido como padrão

No protocolo usando o secador, loções com as menores concentrações de G (G0,5 e G1), assim com GS1 e G1GS1 apresentaram ΔE entre 1,5 e 3,0, indicando uma alteração perceptível, segundo critério de classificação de CRUZ-ROMERO (2007). Na maior concentração de GS (GS2 e G0,5:GS1,5) o ΔE ficou entre 3,0 e 6,0, considerado

“muita diferença” de cor em relação ao cabelo descolorido. As loções que propiciaram “grande diferença” de cor (ΔE entre 6,0 e 12,0) foram as que continham maior concentração de G1,5:GS0,5, G2, G0,5:GS1,5, G2:GS2 e G4:GS4, sendo observado efeito sinérgico maior na ação conjunta dos marcadores na proporção G1:GS1 (tabela 5).

Para o protocolo de aplicação do produto utilizando temperatura mais alta (piastra) nenhuma amostra apresentou $\Delta E < 1,5$ (tabela 6), demonstrando que as alterações de cores foram mais perceptíveis que aquelas obtidas no protocolo utilizando apenas a temperatura do secador.

No protocolo utilizando a piastra, foi observado a influência da concentração de genipina, sendo a maior modificação de cor ($\Delta E = 51,21$) evidenciada na concentração máxima (8 mg/mL). Nestas amostras, o efeito da luminosidade do cabelo (parâmetro *L) na formulação contendo 0,5 mg/mL de genipina apresentou valores maiores ($67,19 \pm 0,63$), sendo diminuído com o aumento da concentração da genipina ($26,48 \pm 0,76$ e $20,56 \pm 2,41$ para 4 e 8 mg/mL respectivamente). Para o parâmetro que avalia os resultados que variam entre verde e vermelho (*a), observou-se valores próximos a zero (entre 0,14 a 2,58), porém positivos (referente a cor vermelha). O parâmetro *b (referente à coordenada que varia entre azul de amarelo) para todas as amostras tratadas com genipina foi positivo (amarelo), porém com valores maiores ($33,3 \pm 1,12$) para a amostra tratada com a menor concentração (G0,5) (tabela 5 e figura 31).

Na análise das amostras submetidas às formulações contendo geniposideo utilizando o protocolo com alta temperatura, o maior valor de ΔE foi 18,10 (GS4), demonstrando diferença de cor “muito grande”, segundo critério estabelecido por CRUZ-ROMERO, 2007. O parâmetro *L sofreu pouca influência do tratamento com o geniposideo. Entretanto observou-se resultados com valores negativos para o parâmetro

*a, indicando o deslocamento para o espectro da cor verde, apesar de ainda apresentar valores bem próximos a zero para as concentrações de 0,5 a 2 mg/mL, enquanto as concentrações de 4 e 8 mg/mL apresentou valores positivos, referindo ao espectro de cor amarelo. O parâmetro *b apresentou aumento quando comparado ao cabelo descolorido para a amostra tratada com 4 mg/mL, enquanto as concentrações de 0,5, 1, 2 e 8 mg/mL apresentaram valores inferiores que a de 4 mg/mL (Tabela 6, figura 32).

Tabela 6: Análise colorimétrica de protocolo de coloração utilizando T=212°C (piastra)

SUBSTÂNCIA ATIVA	[ativo] (mg/mL)	*L	*a	*b	ΔE
Genipina	0,5	67,19±0,63	0,75±0,54	33,3±1,12	2,82
	1	52,77±1,88	2,58±0,35	25,57±0,79	16,78
	2	58,63±0,51	0,14±0,40	26,07±0,71	9,57
	4	26,48±0,76	6,40±0,16	10,82±1,63	43,19
	8	20,56±2,41	5,03±0,09	7,63±0,27	51,21
Geniposideo	0,5	69,10±0,52	-0,36±0,50	32,59±1,10	5,31
	1	69,18±0,2	-0,11±0,12	30,41±0,43	2,10
	2	64,13±0,87	-1,04±0,21	27,88±0,63	4,56
	4	61,69±0,97	7,66±0,37	13,23±0,69	18,10

	8	67,20±6,84	2,73±1,73	28,97±0,81	2,65
Genipina:Geniposideo	0,5:0,5	57,93±0,92	2,58±0,37	28,62±0,25	7,29
	0,5:1,5	54,62±0,37	1,7±0,34	25,58±0,52	10,95
	1,5:0,5	49,41±0,52	1,68±0,52	22,79±0,55	17,94
	1:1	54,88±0,68	0,28±0,19	23,65±0,92	12,93
	2:2	29,97±0,43	5,01±0,27	8,42±1,13	41,18
	4:4	17,90±0,26	6,91±0,33	11,55±0,47	55,66

Δ E* calculado utilizando valores do cabelo descolorido como padrão

Observou-se que as formulações contendo G apresentou tonalidades de cinza claro a preto e GS revelou tons na faixa de amarelo mais claro a amarelo mais intenso, ambas substâncias relacionadas a concentração de G e/ou GS. Essas tonalidades aqui reveladas corroboram com Li *et al.*, 2016 e Náthia-Neves *et al.*, 2018, onde essas substâncias (Geniposideo e a Genipina) ao reagirem com aminoácidos, peptídeos ou proteínas originam cores na faixa de espectros aqui identificados (Genipina- tons de azul a preto; Geniposideo- tons de amarelo a marrom).

Náthia-Neves *et al.*, (2017) evidenciaram que temperatura igual ou superior a 80°C é responsável pela reação que gera mudança de cor com a presença de Genipina e Geniposideo. No presente estudo a mudança de cor ocorreu devido a concentração dos iridoides e temperatura utilizada nos protocolos, principalmente as formulações de 8 e 4% de iridoides as quais revelam cores mais fortes apenas com secador (80°C). Estas mesmas amostras mudaram a faixa espectral de cor quando se utilizou temperaturas maiores (piastra-210°C) para cores mais escuras. Isso pode ter ocorrido porque as moléculas de G e GS reagem com os compostos nitrogenados da queratina gerando substâncias com diferentes cromóforos (DJERASSI *et al.*, 1960; NÁTHIA-NEVES *et al.*, 2018).

Os resultados referentes a alteração da cor (Δ E) após a primeira lavagem e uma sequência de 9 lavagens das mechas tratadas com os marcadores químicos são apresentados na figura 32. Observou-se que as formulações obtiveram uma alteração da cor (ΔE cerca de 2) nas concentrações mais baixas e intermediárias (G: 0,5, 1 e 2 mg/mL; GS: 0,5, 1 e 2 mg/mL; G0,5:GS0,5 mg/mL; G0,5:GS1,5 mg/mL; G1,5:GS0,5 mg/mL). As concentrações mais altas (G: 4 e 8 mg/mL; GS: 4 e 8 mg/mL; G1:GS1 mg/mL; G2:GS2

mg/mL; G4:G4 mg/mL) demonstraram perda intensa de cor após 1ª lavagem mantendo-se relativamente constante até a 9ª lavagem (figura 32).

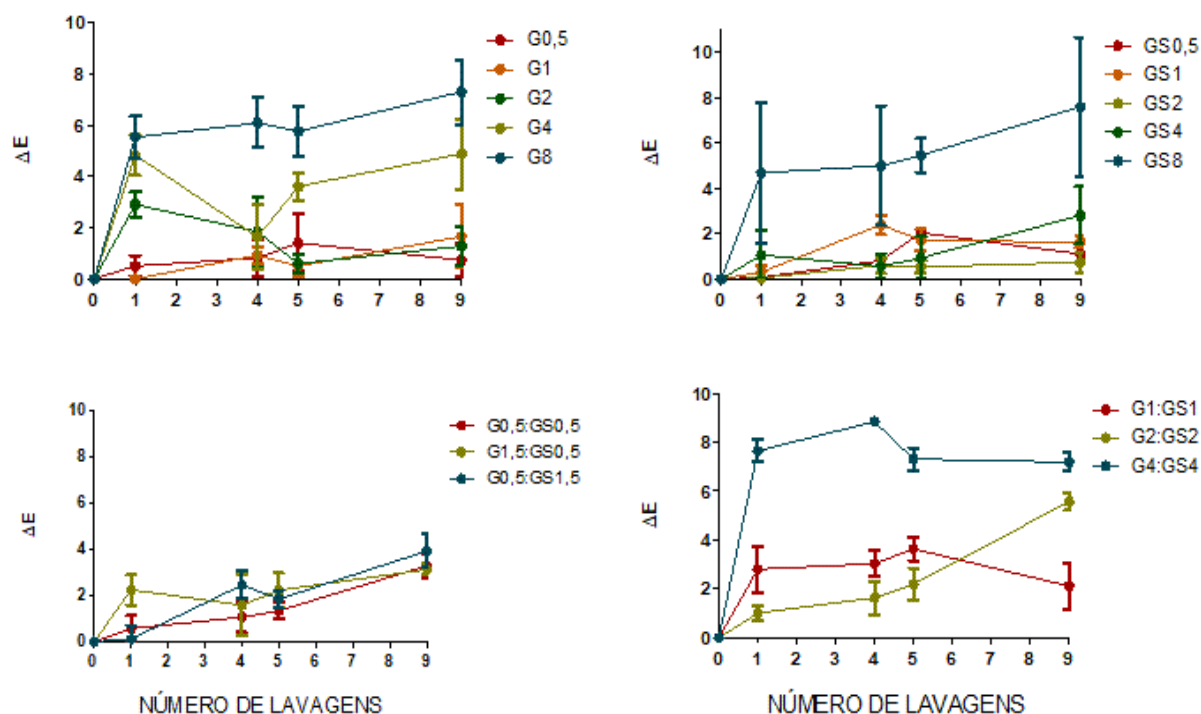


Figura 32- Resultados dos ΔE após as lavagens das mechas tratadas com loções contendo diferentes concentrações isoladas ou combinadas de G e GS.

Essa alteração de cor na primeira lavagem pode ser devido a eliminação dos cromóforos por ligações mais fracas como pontes de hidrogênio (DJERASSI *et al.*, 1960; NÁTHIA-NEVES *et al.*, 2018).

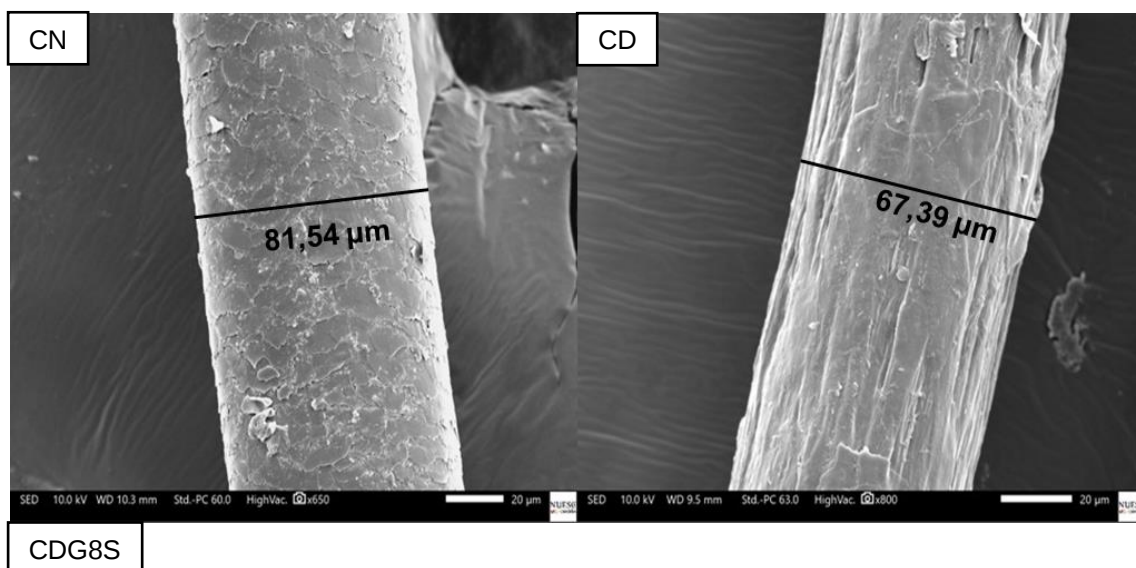
5.5 Análise morfológica da fibra capilar descolorida e tratada com formulação contendo Genipina e Geniposídeo

5.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

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). Na amostra CN (figura 33) verificou-se o acomodamento regular das cutículas, enquanto a amostra CD (figura 33) demonstrou irregularidades na fibra com as bordas cuticulares mais espessas e alguns locais com ausência das cutículas. O desaparecimento das bordas cuticulares indica que o processo oxidativo da cisteína e cistina formam ácido cisteico (SIGNORI; LEWIS, 1997). Como consequência da

degradação da queratina cuticular observou-se a diminuição do diâmetro da fibra capilar de CD (67,39 μm) em relação CN (81,54 μm) (ZHOU; LIU; DU, 2015; LIMA *et al.*, 2019).

As amostras de fibras descoloridas, quando tratadas com suas respectivas formulações e tratamento térmico mais brando (secador T= 80°C) apresentaram as cutículas paralelas ao fio capilar e formato cilíndrico. Entretanto, após o tratamento térmico mais agressivo (piastra T= 210°C), foi evidenciado um achatamento na fibra capilar com consequente aumento do diâmetro nas amostras G8SP (101,84 μm) e GS8SP (96,57 μm) (figura 35). Sendo assim possível comprovar estatisticamente que houve diferença significativa entre todas as amostras, enquanto a influência de temperatura da amostra GS8S (87,33 μm) e GS8SP (96,57 μm) não apresentou diferença estatística (figura 34).



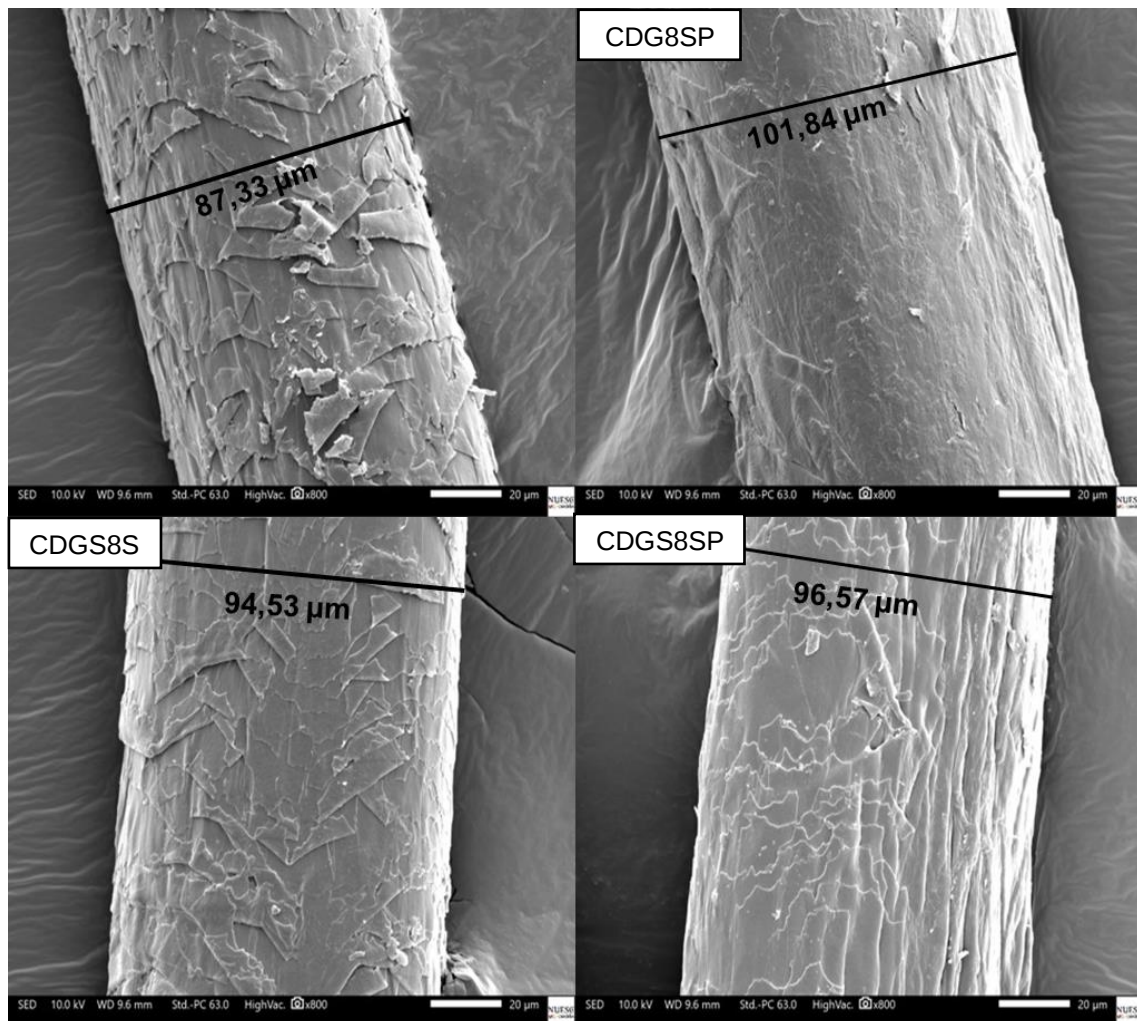


Figura 33- Fotomicrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura das amostras: cabelo natural (CN); cabelo descolorido (CD); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador (CDG8S); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador + piastra (CDG8SP); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador (CDGS8_S); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador + piastra (CDGS8SP).

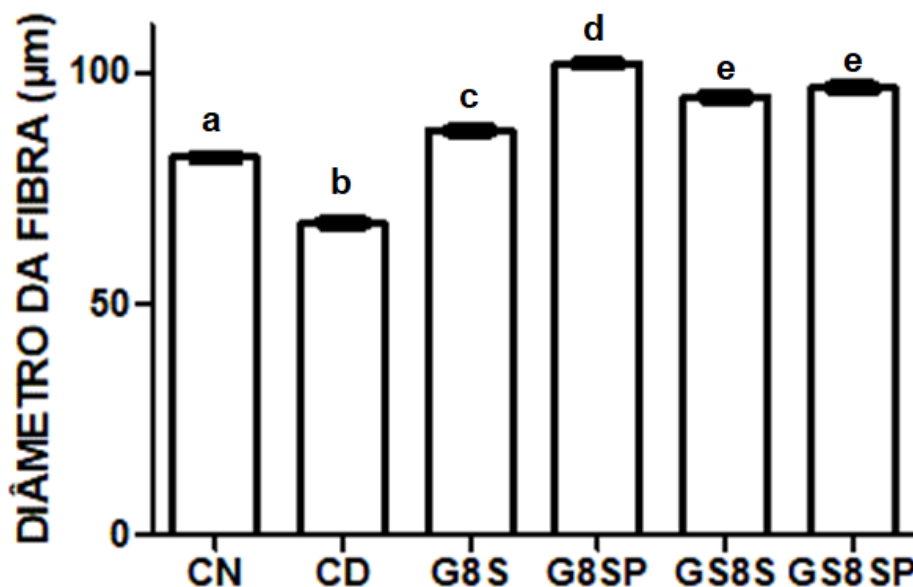


Figura 34- Diâmetros das fibras capilares obtidas a partir das fotomicrografias das amostras: cabelo natural (CN); cabelo descolorido (CD); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador (G8S); cabelo descolorido tratado com formulação [G8 mg/mL] + secador + piastra (G8SP); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador (GS8S); cabelo descolorido tratado com formulação [GS8 mg/mL] + secador + piastra (GS8SP).

6 CONCLUSÃO

- As formulações aqui estudadas devem ser armazenadas em temperaturas menores que 60 °C para garantia de sua estabilidade.

- Existe uma imprecisão dos resultados obtidos pelo método colorimétrico para o parâmetro ΔE devido os valores medidos se aproximarem de “zero”. Porém, tais valores não impactam para o cálculo da alteração da cor (ΔE), tornando a metodologia viável para análise.
- Diferentes concentrações dos iridóides nas formulações, bem como, os diferentes protocolos térmicos de aplicação foram capazes de modificar a cor do fio capilar descolorido em um amplo espectro de cor que vai do amarelo ($\Delta E=56,66$) ao preto amarelo ($\Delta E=2,65$).
- A cor da fibra capilar tratada com a loção contendo os iridóides manteve-se constante após nove lavagens consecutivas, podendo a tintura ser classificada como permanente.

7 REFERÊNCIAS

ABIHPEC- Associação Brasileira de Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e cosméticos. Panorama do Setor de HPPC. Acesso em: 15 de maio, de 2020. Disponível em: <https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2017/>.

ABRAHAM, L.S.; MOREIRA, A.M.; MOURA, L.H.; REIS, M.F.; DIAS, G. Tratamentos estéticos e cuidados dos cabelos: uma visão médica (parte 1). *Surgical & Cosmetic Dermatology*, 2009; vol. 1, núm. 3, pp. 130-136.

ADEEL, S.; REHMAN, F.U.; RAFI, S.; ZIA, K.M. ZUBER, M. Environmentally Friendly Plant-Based Natural Dyes: Extraction Methodology and Applications. *Rev.: Plant and Human Health* 2019; Volume 2, 383–415.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: Anvisa, v.1, 47p, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília: Anvisa, v.1, 130p, 2007.

AKTAS, S.A.; BATTAL, D.; BURGAZ, S. Monitoring of Lawsone, p-phenylenediamine and heavy metals in commercial temporary black henna tattoos sold in Turkey. *Rev.: Contact Dermatitis* 2017; 76(2): 89–95.

ALVES, J.S.F. Estudo químico e biológico de *Genipa americana* L. (Jenipapo). [Dissertação]. Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2014.

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.

ANVISA. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Anvisa. 2ª Edição. Brasília. 2012. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/html/pag02.htm>.

BELLÉ, A. S.; HACKENHAAR, C. R.; SPOLIDORO, L. S.; RODRIGUES, E.; KLEIN. M. P.; HERTZ, P. F. Efficient enzyme-assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana* L.) and its application as a crosslinker for chitosan gels. *Revista Food Chemistry* 2018; Volume 246, Pages 266-274.

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.). *Revista J. Agric. Food Chem.* 2014; Volume 62, pag 10800– 10808.

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; v. 52, n. 6, p. 3919–3924.

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

b-JESUS, A.S.D.; JOSE, G.D.S.; ADENIR, V.T.; MILENA, N.C.; NASCIMENTO, A.L.S.N.; SILVA, A.V.C. Conservation, Utilization, Genetic and Chemodiversity of Germplasm of Genipap (*Genipa Americana* L.) in Brazil. *Curr Trends Biomedical Eng & Biosci.* 2019; 18(4).

BUCHWEITZ, M. Natural Solutions for Blue Colors in Food. Rev.: Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages 2016; pag.: 355-384.

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 2003; v. 41, p. 3941-3953.

CAMPOS, D. D.; LEÃO, M. F. Utilização do urucum pelos indígenas Terena do Mato Grosso e do Mato Grosso do Sul: divulgação de saberes tradicionais e científicos. Exatas Online 2018; v. 9, nº 1, p. 12 – 30.

CARNEIRO, M.T.W.D.; SILVEIRA, C.L.P.; MIEKELEY, N.; CARVALHO, L.M.F. Intervalos de referência para elementos menores e traço em cabelo humano para a população da cidade do Rio de Janeiro - Brasil. Rev Bras Química Nova 2002; v. 25, n. 1.

CARRARO, L.C. A Ciência do Cabelo. São Paulo: Editora Red Publicações, 2018.

CODERCH L, MÉNDEZ SS, BARBA C, PONS R, MARTÍ M, PARRA JL. Lamellar rearrangement of internal lipids from human hair. Chem Phys Lipids. 2008; 155(1):1-6.

COSTA, R.B.; GOMES, F. S.; OLIVA, M. L. V.; PEREIRA, H. J. V; PAIVA, P. M. G. Purificação, caracterização e avaliação de atividade antifúngica e citotóxica da lectina de casca de *Genipa americana* L. (Jenipapo). 2018.

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 2007; n. 8, p. 30-38.

DE OLIVEIRA, L. O.; ALMEIDA-JUNIOR, H. L. Conhecimentos atuais sobre a biologia dos melanócitos no folículo piloso humano/ Current knowledge on the biology of melanocytes in the human hair follicle. REV.: An bras Dermatol. , maio/jun. 2003; VOLUME: 78, ED: (3): PAG: 331-343.

DIAS, L. L.; MAIMON. D. OS BENEFÍCIOS DA ECONOMIA COMPARTILHADA PARA OS GRANDES GRUPOS DE BELEZA E COSMÉTICOS VAREJISTAS BRASILEIROS. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Dezembro. 2017.

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

Disponível em: <https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2017/>.

DJAHED, B.; TAGHAVI, M.; FARZADKIA, M.; NORZAEI, S.; MIRI, M. Stochastic exposure and health risk assessment of rice contamination to the heavy metals in the market of Iranshahr, Iran. Food Chem Toxicol, 2018; 115: 405–412.

DUARTE, L.T. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE DE TIROSINASE NO EXTRATO BRUTO DE *Pycnopus sanguineus* CCT-4518. [Dissertação]. GOIÂNIA: UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. 2009.

ENGWA, G.A.; FERDINAND, P.U.; NWALO, F.N.; UNACHUKWU, M.N. Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans. Rev.: Poisoning in the Modern World New Tricks for an Old. (2019).

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5ª ed. Segundo suplemento, Brasília: Copyright ,2017.

FERRARI, M.; DAHER, C. C.; FONTES, I. S.; RODRIGUES, R. O.; DAMASCENO, G. A. B.; SOARES, D.S. ARAGÃO, C. F. S.; GOMES, A. P. B. Development of O/W emulsions containing Euterpe oleracea extract and evaluation of photoprotective efficacy. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences 2014; v. 50, n. 3.

FERREIRA, C.; GUILHERME, A.; LOPES, I. Angioedema, An Unusual Reaction to Hair Dye. Clin Case Rep Open Access. 2019; 2(3): 131.

FMI- Future Market Insights. Professional hair care products market: Global industry analysis and opportunity assessment 2014-2020. Acesso em: 19 de maio de 2020. Disponível em: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/globalprofessional-hair-care-products-market>.

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

GAMA, R. M. Avaliação do dano à haste capilar ocasionado por tintura oxidativa aditivada ou não de substâncias condicionadoras. [Dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2010.

GAUDÊNCIO, J. S., RODRIGUES, S. P. J., MARTINS, D. R. "Indígenas brasileiros e o uso das plantas: saber tradicional, cultura e etnociência". Khronos, Revista de História da Ciência 2020; nº 9, pp. 163-182.

GIL-GIRALDO, E.J.; CIFUENTES, A.L.D.; CASTAÑO, V.D.Q. EFECTO DEL BAÑO QUÍMICO SOBRE LA CONSERVACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE FRESA. Rev.: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2019. Vol.: 17. n. 2. Pag.: 36-45.

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

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

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

HENRÍQUEZ, C. J. M. Caracas – Venezuela, 2009, 121p. W/O Emulsions: Formulation, Characterization and Destabilization. [Theses and Dissertations - Brandenburgischen Technischen Universität Cottbus].

HUSSEIN, H.J. Evaluation of the Concentration of some heavy metals in hair dyes in Baghdad. Int J Sci Res, 2015; 4(2): 687–691.

KHAN, B. A.; AKHTAR, N.; KHAN, H. M. S.; WASEEM, K.; MAHMOOD, T.; RASUL, A.; IQBAL, M.; KHAN, H. Basics of pharmaceutical emulsions: A review. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, v.5, p.2715-2725, 2011.

IWEGBUE, C. M. A.; BASSEY, F. I.; OBI, G. Concentrations and exposure risks of some metals in facial cosmetics in Nigeria. Rev.: Toxicol. 2016; Rep, 3(2): 464–472.

LEE, E.J.; HEE, J.; JAE-NAM LEE. Effect of Permanent Wave on Hair Damage and Morphological Changes after Natural Henna Treatment. Rev.: Journal of the Korean Applied Science and Technology 2019; Volume 36 Issue 3 / Pages.915-929.

LIMA, C.R.R.; COUTO, R.A.A.; FREIRE, T.B.; GOSHIYAMA, A.M.; BABY, A.R.; VELASCO, M.V.R.; MATOS, J.R. Avaliação de cabelos virgens danificados pelo calor. Journal of Cosmetic Dermatology. doi: 10.1111 / jocd.12892 (2019).

MACHADO, A. V. Desenvolvimento e caracterização de uma coloração capilar a base de extrato do fruto Genipa americana L. Aracaju, Universidade Tiradentes; 2017.

MANSILLA, J.; BOSCH, P.; MENÉNDEZ, M.T. PIJOAN, C.; FLORES, C.; LÓPEZ, M.C.; LIMA, E.; LEBOREIRO, I. Archaeological and contemporary human hair composition and morphology./ COMPOSICIÓN y MORFOLOGÍA DE CABELLO HUMANO ARQUEOLÓGICO Y CONTEMPORÁNEO. REV: Revista de Antropología Chilena 2011; Volumen 43, No 2. Páginas 293-302.

MEDEIROS, J.G.; ENRICONI, A. USO DO PIGMENTO NATURAL URUCUM (Bixa orellana L.) PARA FINS DE COLORAÇÃO CAPILAR. REVISTA DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO IFAM 2015; Vol. 05; pagina: 45-49.

MONTEIRO, V.F.; MACIEL, A.P.; LONGO, E. Thermal analysis of Caucasian human hair. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 79:289-293. 2005.

MOREL, O. J. X.; CHRISTIE, R.M. Current Trends in the Chemistry of Permanent Hair Dyeing. Chem. Rev. 2011; v.111, p. 2537–2561.

NÁTHIA-NEVES, G.; NOGUEIRA, G. C.; VARDANEGA, R.; MEIRELES, M. A. A. Identification and quantification of genipin and geniposide from Genipa americana L. by HPLC-DAD using a fused-core column. Revista Food Sci. Technol, Campinas, Dec. 2018; Volume 38, Pag 116-122.

NÁTHIA-NEVES, G.; NOGUEIRA, G. C.; VARDANEGA, R.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of natural blue colorant from Genipa americana L. using green technologies: Techno-economic evaluation. Revista Food and Bioproducts Processing 2019; Volume 114, Pag 132–143.

NÁTHIA-NEVES, G.; NOGUEIRA, G.C.; VARDANEGA, R.; MEIRELES, M.A.A. Identification and quantification of genipin and geniposide from Genipa americana L. by HPLC-DAD using a fused-core column. Rev. Food Science and Technology 2018; vol. 38.

NÁTHIA-NEVES, G.; TARONE, A. G.; TOSI, M. M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of bioactive compounds from genipap (Genipa americana L.) by pressurized ethanol: Iridoids, phenolic content and antioxidant activity. Rev.: Food Research International 2017; v. 102, p. 595-604.

NERI-NUMA, I. A.; ANGOLINI, C. F. F.; BICAS, J. L.; RUIZ, A. L. T. G.; PASTORE, G. M. Iridoid blue-based pigments of Genipa americana L. (Rubiaceae) extract: influence of pH and temperature on color stability and antioxidant capacity during in vitro simulated digestion. Revista Food Chemistry 2018; Volume 263 p 300-306.

NERI-NUMA, I. A.; PESSÔA, M. G.; ARRUDA, H. S.; PEREIRA, G. A.; PAULINOC, B. N.; ANGOLINI, C. F. F.; RUIZ, A. L. T. G.; PASTORE, G. M. Genipap (Genipa americana

L.) fruit extract as a source of antioxidant and antiproliferative iridoids. *Revista Food Research International* 2020; Volume 134.

NOAKES, R. The Aryl Hydrocarbon Receptor: A Review of Its Role in the Physiology and Pathology of the Integument and Its Relationship to the Tryptophan Metabolism. *REV: International Journal of Tryptophan Research* 2015; Volume: 8, PAG: 7-12.

NOGUEIRA, A.C.S.; JOEKES, I. Hair color changes and protein damage caused by ultraviolet radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2004; v.74, p. 109-117.

OLIVEIRA, R. A. G., ZANONI, T. B., BESSEGATO G. G., OLIVEIRA, D. P.; UMBUZEIRO, G. A.; ZANONI, M. V. B. A química e toxicidade dos corantes de cabelo. *Quim. Nova*, 2014; Vol. 37, No. 6, 1037-1046.

OZBEK, N.; AKMAN, S. Determination of lead, cadmium and nickel in hennas and other hair dyes sold in Turkey. *Rev.: Regul Toxicol Pharmacol*, 2016; 79(1): 49–53.

PACHECO, P.; DA PAZ, J. G.; DA SILVA, C. O.; PASCOAL, G. B. Composição centesimal, compostos bioativos e parâmetros físico-químicos do jenipapo (*Genipa americana* L.) in natura. *Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde*, 2014; v. 9, n. 4, p. 1041- 1054.

PANTELEYEV, A. Functional anatomy of the hair follicle: The Secondary Hair Germ. *Rev: Experimental Dermatology* 2018; Ed.: 27; pag: 701–720.

PATHAK, K., & AKHTAR, N. Hair Care Cosmetics Regulation in Different Countries – A Comparative Study. *Applied Clinical Research, Clinical Trials and Regulatory Affairs*, 2019; 6(1), 34–45.

PAUS, R.; BURGOA, I.; PLATT, C.I.; GRIFFITHS, T.; POBLET, E.; IZETA, A. Biologia do folículo piloso dos cílios: um enigma à vista de todos. *British Journal of Dermatology* 2016; 174 (4), 741–752.

PINHEIRO, A. S. et al. Mecanismo de degradação da cor de cabelos tingidos: um novo modelo de proteção. *Revista Cosmetics & Toiletries*, 2002; v. 14, p. 68-77.

PINHEIRO, A.S.; TERCI, D.; PICON, F.; ALBARICI, V. Fisiologia dos Cabelos (Série Fundamentos da Cosmetologia). *Rev.: Cosmetics & Toiletries Brasil*. 2013; Vol. 25 Nº 3. Pag: 34 a 45.

PINTO, Â. C. Corantes naturais e culturas indígenas. *Revista Química Nova na Escola* 2001; v. 49, Fonte: Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc13/v13a11.pdf>. Acessado em 25 de setembro de 2020.

RAMOS-DE-LA-PEÑA, A. M.; RENARD, C. M. G. C.; MONTAÑEZ, J.; REYES-VEGA, M. D. L. L.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J.C. A review through recovery, purification and identification of genipin. *Phytochemistry Reviews* 2016; v. 15, n. 1, 37–49.

RAMOS-DE-LA-PENA, A. M.; RENARD, C. M. G. C.; WICKERC, L.; MONTANEZA, J. C.; GARCÍA-CERDA, L. A.; CONTRERAS-ESQUIVELAE, J. C. Environmental friendly cold-mechanical/sonic enzymatic assisted extraction of genipin from genipap (*Genipa americana*). *Revista Ultrasonics Sonochemistry*, January 2014; Volume 21, Issue 1, Pages 43-49.

REHMAT, S., KHERA, RA, HANIF, MA, AYUB, MA E HUSSAIN, AI. *Henna. Medicinal Plants of South Asia*, 355-368. doi: 10.1016 / b978-0-08-102659-5.00027-6. 2020.

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

ROBBINS, C.R., *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012.

ROESLER, R.; FERRARI, C.R.; DE SOUZA, C.F. A process for obtaining insoluble substances from genipap-extract precipitates and their uses. Patent EP 2408319 A1. 2012.

SANTOS, J.D. Caracterização de fios de cabelo antes e após tratamentos químicos e físicos por espectroscopias Raman e no infravermelho e microscopia eletrônica. Juiz de Fora. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2017.

SANTOS, J.D.; EDWARDS, H.G.M.; OLIVEIRA, L.F.C. Raman spectroscopy and electronic microscopy structural studies of Caucasian and Afro human hair. May 2019; Volume 5.

SEBRAE. Sustentabilidade no Salão de Beleza: Desafios e Vantagens – Brasília: Sebrae, 2015. Acesso em: 15 de maio de 2020. Disponível em: https://bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS.pdf.

SEMWAL, R.B.; COMBRINCK, S.; CARTWRIGHT-JONES, C.; VILJOEN, A. *Lawsonia inermis* L.(henna): Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *Rev.: Journal of Ethnopharmacology* 2014; Vol.155, ed. 1, pag. 80 a 103.

SHAN, M.Q.; WANG, T.J.; JIANG, Y.L.; YU, S.; YAN, H.; ZHANG, L.; XIAO, W. Comparative analysis of sixteen active compounds and antioxidant and antiinfluenza properties of *Gardenia jasminoides* fruits at different times and application to the determination of the appropriate harvest period with hierarchical cluster analysis. *Journal of Ethnopharmacology* 2019; 233, 169–178.

SILVA, A.P.; LIMA, C.L.C.; VIEITTES, L.R. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA DO JENIPAPO (*Genipa americana* L.) ARMAZENADO. *Sci. agric. Piracicaba* Jan./Apr. 1998; vol. 55 n. 1.

SINGH, P.; TIWARI, D.; MISHRA, M.; KUMAR, D. Molecular Mechanisms of Heavy Metal Toxicity in Cancer Progression. *Rev.:Networking of Mutagens in Environmental Toxicology* 2019, p.49-79.

SYED A, KUHAJDA A, AYOUB H, AHMAD K, FRANK EM. African-American hair: its physical properties and difference relative to Caucasian hair. *Cosmet Toil.* 1995; Vol110, Pag39-48.

TAFURT-CARDONA, Y., SUARES, R. P.; FERNANDES, T. C.; MARIN, M. A. CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF TWO HAIR DYES USED IN THE FORMULATION OF BLACK COLOR. *REV. Food and Chemical Toxicology* 2015; 86, 9-15.

TAKAHASHI, T.; YOSHIDA, S.; A highly-resistant structure between cuticle and cortex of human hair. *International Journal of Cosmetic Science* , 2017; Vol. 39, p327-336.

TEO, J.; GOH, K.; AHUJA, A.N.G.H. POON, W. Intracranial vascular calcifications, glioblastoma multiforme, and lead poisoning. *Rev.: American Journal of Neuroradiology* 1997; 18:576-579.

TOKUNAGA, S; TANAMACHI, H.; ISHIKAWA, K. Degradation of Hair Surface: Importance of 18-MEA and Epicuticle. *Cosmetics* 2019, 6, 31.

ULLAH, H.; NOREEN, S.; FOZIA, R.A.; WASEEM, A.; ZUBAIR, S.; AHMAD, I. Comparative study of heavy metals content in cosmetic products of different countries marketed in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Rev. Arabian Journal of Chemistry* 2017; 10(1), 10–18.

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* 2009; v. 45, n. 1.

YANG, J.; SAKAMOTO, K.; LOCHHEAD, R.Y.; MAIBACH, H.I.; YAMASHITA, Y. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications* 1st Edition. Japan: Elsevier Inc. 2017; p. 601-15.

YUAN, X.H.; JIN, Z.H. Paracrine regulation of melanogenesis. *Revis.:British Journal of Dermatology*, 2018; 178(3), 632–639.

ZHANG, L.; ALSOP, R.; SOOMRO, A.; YANG, F.C.; RHEINSTÄDTER, M. Effect of shampoo, conditioner and permanent waving on the molecular structure of human hair. *PeerJ* 2015; V 3: 1296.

ZHOU, A.J.; LIU, H.L.; DU, Z.Q. Secondary structure estimation and properties analysis of stretched Asian and Caucasian hair. *Skin Res Technol.* 2015;21:119-128.