

A QUÍMICA E TOXICIDADE DOS CORANTES DE CABELO

Ricardo A. G. de Oliveira^a, Thalita B. Zanoni^b, Guilherme G. Bessegato^a, Danielle P. Oliveira^b, Gisela A. Umbuzeiro^c e Maria Valnice B. Zanoni^{a,*}

^aDepartamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, 14801-970 Araraquara – SP, Brasil

^bDepartamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 14040-903 Ribeirão Preto – SP, Brasil

^cFaculdade de Tecnologia – Universidade Estadual de Campinas, 13484-332 Limeira – SP, Brasil

Recebido em 07/08/2013; aceito em 10/02/2014; publicado na web em 08/05/2014

THE CHEMISTRY AND TOXICITY OF HAIR DYES. The market for hair dye involves a growing range of products, which requires greater understanding of hair properties, mechanisms of action and color development. In this work, we present a critical analysis of the classification, physical and chemical characteristics, chemical analysis and toxicological/mutagenic potential of dyes used in the hair dyeing process. A compilation of some studies was carried out, focusing on the available knowledge about these dyes and their effects on the environment and human health.

Keywords: hair dyes; chemical analysis of hair dyes; toxicity of hair dyes.

INTRODUÇÃO

A mudança na cor do cabelo é um desejo inerente dos seres humanos e um dos adornos mais antigos da história humana. O uso das tinturas de cabelo remonta, no mínimo há 4000 anos. Existem diversas evidências históricas sobre a arte do tingimento de cabelo com corantes naturais, vegetais e minerais, desde os primórdios da civilização. No Egito, por exemplo, foram encontrados cabelos de múmias tingidos com hena.¹ No Império Romano, há evidências do uso de pentes embebidos em sulfeto de chumbo que na presença de vinagre produziam gradualmente uma cor marrom escuro (acetato de chumbo), cor esta também desenvolvida pela exposição à fumaças sulfurosas e usadas rotineiramente para escurecer os cabelos grisalhos. Evidências bibliográficas indicam ainda o uso de extratos de plantas, principalmente nogueira (cor marrom), camomila (amarelo), hena com índigo (preto escuro) como cosméticos.^{1,2}

Em 1863, o químico Dr. August Wilhelm Von Hofmann reportou pela primeira vez as propriedades do composto *para*-fenilenodiamina (PFD)³ em conferir tons de marrom aos cabelos após exposição a um agente oxidante, incluindo o ar. Em 1867, E. H. Thiellay e o cabeleireiro parisiense Leon Hugot demonstraram as vantagens do uso do peróxido de hidrogênio no clareamento de cabelo em relação às soluções alcalinas usadas na época.⁴ Mas foi somente em 1907 que Eugene Schueller, químico e fundador da L'Oreal, desenvolveu uma tintura sintética denominada "Aureole", dando início à comercialização da primeira marca comercial de tintura de cabelo.⁵ Também é importante destacar a contribuição de Lawrence M. Gelb, fundador da Clairol, que em 1931 lançou o primeiro shampoo tonalizante instantâneo chamado "Clairol", usado por milhões de mulheres. Em 1950, a Clairol otimizou estes produtos, o que levou a um tingimento mais eficiente sem a necessidade do uso de agentes oxidantes.⁶

Hoje, milhões de pessoas utilizam tinturas capilares, tornando esta uma importante área da indústria mundial de cosméticos. Nos Estados Unidos e na Europa, cerca de 33% das mulheres acima de 18 anos e mais de 10% dos homens acima dos 40 anos colorem seus cabelos.⁷⁻⁹ No Brasil, um estudo do Target Group Index, mostrou que 26% da população adulta utiliza tintura para o cabelo, das quais

85% são mulheres e 15% são homens.² Para atender essa demanda, as indústrias enfrentam o desafio de oferecer produtos cada vez mais versáteis e eficientes na fixação, oferta de tonalidades e duração da cor (frente aos efeitos do sol, lavagens, cloração e etc), além de seguros para os usuários e o ambiente.^{6,10}

A estrutura do cabelo humano

O cabelo consiste basicamente em um fio cravado em um folículo sob a pele (bulbo capilar ou raiz) onde as células se multiplicam continuamente, sendo esta a parte biologicamente ativa do cabelo, e o fio propriamente dito como a parte externa à pele (Figura 1). O fio é formado por quatro unidades principais: a cutícula, córtex, medula e um complexo de membrana celular. A cutícula é a camada externa, composta por escamas planas sobrepostas que rodeiam o fio e o protegem de danos.¹⁰ Esta camada apresenta uma fina membrana externa medindo 5-10 nm, denominada epicutícula, que é composta por ácidos graxos unidos por material adesivo composto por uma camada fibrosa de proteína subjacente, conectada por ligações tio-éster de cisteína. Esta característica explica o caráter hidrofóbico aparente da fibra do cabelo e é muito importante nos mecanismos de coloração. Por baixo desta membrana exterior, existe uma camada altamente reticulada com elevado conteúdo de cistina, a exocutícula, e ainda a endocutícula, formada por aminoácidos, especialmente, lisina, arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico. A cutícula é ainda envolvida por células incolores sobrepostas. No interior da cutícula encontra-se a parte mais volumosa do fio, denominado córtex, rico em proteínas organizadas na forma de espiral com aproximadamente 1 nm de diâmetro denominadas de -queratina. Estas cadeias de proteínas são interligadas por pontes de dissulfetos e contribuem significativamente para a maleabilidade do fio.^{3,11} No córtex encontramos ainda quantidades variáveis de pigmentos que determinam a coloração natural do cabelo. Também é o córtex o responsável pelas propriedades físicas e mecânicas dos cabelos relacionadas à textura e resistência à tração.

A medula é tipicamente um eixo oco no interior do cabelo,⁵ formada por fibras de queratina arranjadas na forma de pequenas cavidades onde são armazenados os pigmentos. Deste modo, o cabelo humano é composto por aproximadamente 95% de proteínas, das quais a principal é a queratina. Os componentes restantes são água, lipídios

*e-mail: boldrinv@iq.unesp.br

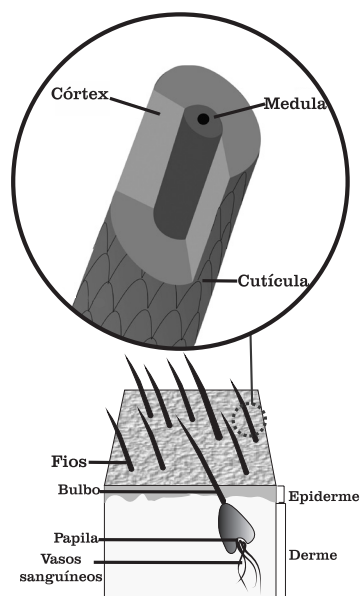


Figura 1. (A) Estrutura do folículo capilar sob a pele; (B) Estrutura e principais partes do fio de cabelo externo à pele

(estruturais e livre), pigmentos e elementos traços que geralmente são combinados quimicamente por meio de cadeias laterais de proteínas ou com grupos de ácidos graxos.¹²

A cor natural do cabelo é controlada geneticamente e em geral está associada aos diferentes grupos raciais. Entretanto, sabe-se que a substância que dá cor ao cabelo humano é o pigmento melanina presente no córtex e medula. A melanina é formada por células produtoras de pigmentos denominadas melanócitos, as quais produzem particularmente dois tipos de melanina: eumelanina e feomelanina (Figura 2).

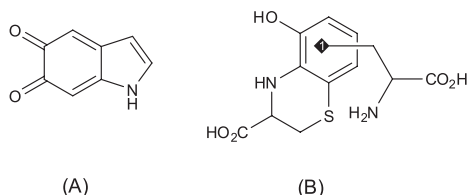


Figura 2. Estruturas químicas das moléculas de (A) eumelanina e (B) feomelanina

A eumelanina produz as cores de marrom para preto enquanto a feomelanina é responsável pela cor de loiro para vermelho. De modo geral, o cabelo possui diferentes misturas dos dois pigmentos o que gera uma variedade de cores e tonalidades. Embora os dois pigmentos tenham estruturas distintas, ambos são formados por uma rota biossintética similar.^{4,10}

Classificação dos corantes de cabelo

De modo geral, as tinturas de cabelo são classificadas em naturais e sintéticas. As naturais são em geral a base de hena e apresentam um mercado crescente. Essas tinturas ou são extraídas das folhas de um arbusto norte africano (*Lawsonia inermis*), ou manufaturadas com produto purificado, a 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.^{1,13}

Os corantes à base de sais metálicos, em geral acetato de chumbo, são utilizados para cobrir os fios brancos ou cinza. No entanto, devido à toxicidade deste metal, a concentração máxima de chumbo nos produtos de uso pessoal é restrita a 0,6% nos E.U.A..¹⁴ No Brasil,

a utilização do acetato de chumbo estava proibida desde 2006, no entanto, seu uso foi recentemente liberado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para uso em tinturas capilares, obedecendo aos mesmos critérios de aplicação nos E.U.A..¹⁵

Quanto aos corantes sintéticos, estes, podem ser classificados de acordo com o tempo de fixação no cabelo: temporário, semi-permanente e permanente, e pelo mecanismo de reação com o fio de cabelo: corantes oxidativos (tinturas permanentes) e corantes diretos (tinturas temporárias e semi-permanentes).^{4,14}

Corantes temporários

A tintura de cabelo temporária contém corantes básicos ou ácidos de alta massa molecular. Estes corantes são altamente solúveis em meio aquoso e capazes de reagir preferencialmente com as fibras protéicas que estão presentes na cutícula do fio de cabelo. Esses produtos não se difundem na estrutura interna do cabelo, não requerem amônia nem agentes oxidantes e não atingem o córtex, uma vez que não requerem abertura da cutícula. São depositados temporariamente na estrutura externa do cabelo por interação fraca envolvendo grupos químicos do corante e das proteínas do cabelo. Eles produzem maior brilho, se apresentam em várias tonalidades e são facilmente removidos por lavagem.^{16,17}

Os corantes ácidos são corantes aniônicos solúveis em água e usados preferencialmente na tintura de seda, lã, nylon e couro. A fixação é atribuída, em grande parte, à formação de ligações iônicas entre grupos aniônicos no corante e grupos catiônicos da fibra. Corantes ácidos não são capazes de tingir fibras celulósicas, mas são amplamente usados para fins alimentícios.¹⁸ No entanto, alguns deles são usados na tintura de cabelo (Tabela 1), principalmente por serem considerados não nocivos ao uso humano. Esses corantes se depositam no fio de cabelo devido à interação com grupos catiônicos do mesmo.

Os corantes básicos, por serem catiônicos, se ligam às fibras a serem tingidas por interação eletrostática com sítios aniônicos. Estes corantes usualmente contêm grupos cromóforos carregados positivamente e são preferencialmente aplicados na tintura de lã, seda, algodão e papel. Embora esses corantes sejam prioritariamente sintetizados para uso na indústria têxtil e alimentícia, algumas das suas propriedades químicas e baixa toxicidade para seres humanos os fazem potenciais candidatos ao uso em cosméticos, incluindo tintura de cabelo. Na Tabela 1 observa-se a estrutura química de alguns dos cromóforos presentes nos corantes básicos usados em tinturas de cabelo. Os corantes para uso em cosmético são certificados pelo *United States Certified Colors*.

De modo geral, as tinturas temporárias são aplicadas via formulações comerciais de shampoo, loções, gel e produtos condicionadores. Este tipo de tintura é muito utilizado por mulheres que querem mascarar os cabelos brancos ou até para obtenção de tons vibrantes de violeta, rosa, azul e lilás.

Corantes semipermanentes

As tinturas do tipo semipermanentes são responsáveis por apenas 10% do mercado.⁵ A maioria destes dos corantes utilizados nesse processo possuem baixa massa molar e na grande maioria são corantes derivados de nitro compostos, principalmente de nitrobenzeno (Figura 3), contendo diferentes grupos auxocromícos que acentuam a cor do grupo nitro presente como cromóforo.¹³ Estes produtos são caracterizados principalmente por nitroanilinas, nitrofenilendiaminas e nitroaminofenóis (Tabela 2).

A aplicação do corante semipermanente sobre o fio de cabelo ocorre por interação polar fraca e interação de Van der Waals. Geralmente, são misturados de 10 a 12 corantes diferentes para obtenção da cor desejada. Não é possível clarear os fios de cabelo com corantes semipermanentes, já que a formulação não contém peróxido

Tabela 1. Estruturas típicas de corantes usados em corantes temporários de cabelo

Nome do corante no <i>Colour Index</i>	Outros nomes	Estrutura química
<i>Acid Yellow 1</i> CI 10316	<i>D&C Yellow N° 7</i> <i>Citronin A</i> <i>Ext. D&C Yellow N°7</i> <i>Naphthol Yellow S</i>	
<i>Acid Yellow 3</i> CI 10316	<i>D&C Yellow N°10</i> <i>Quinoline Yellow</i> <i>Food Yellow 13</i>	
<i>Acid Orange 7</i> CI 15510	<i>D&C Orange N°4</i> <i>Orange 205</i> <i>Orange II</i>	
<i>Acid Orange 87</i>	<i>Neutral Dark Yellow 5GL</i>	
<i>Acid Red 33</i> CI 17200	<i>D&C Red N°33</i> <i>Red 33</i> <i>Fuchsia Red</i>	
<i>Acid Red 211</i>	<i>Irgalan Red 2GL</i> <i>Lanyl Red GG</i> <i>Neutral red 2GL</i> <i>Acid Complex red 2GL</i> <i>Neutral red 2GL</i>	
<i>Acid Violet 43</i> CI 60730	<i>Ext. D&C Violet N°2 Jarocol Violet 43</i>	
<i>Acid Blue 9</i> CI 42090	<i>FD&C Blue N°1</i> <i>Erioglaucine</i> <i>Brilliant Blue FCF</i> <i>Food Blue 2</i>	
<i>Acid Green 25</i> CI 61570	<i>D&C Green N°5</i> <i>Acid Green Anthraquinone</i> <i>Alizarin Cyanine Green F</i> <i>Japan Green 201</i>	
<i>Basic Yellow 57</i> CI 12719	<i>Arianor™ Straw Yellow</i> <i>Jarocol Straw Yellow</i>	
<i>Basic Red 76</i> CI 12245	<i>Arianor™ Madder Red</i>	

Tabela 1. continuação

Nome do corante no <i>Colour Index</i>	Outros nomes	Estrutura química
<i>Basic Blue 99</i> CI 56059	<i>Arianor™ Steel Blue</i>	
<i>Basic Brown 16</i> CI 12250	<i>Arianor™ Mahogany</i>	
<i>Basic Brown 17</i> CI 12251	<i>Arianor™ Sienna Brown</i> <i>Jaracol Sienna</i> <i>Sienna Brown</i>	
<i>Sunset Yellow</i> CI 15985	<i>FD&C Yellow N°6</i> <i>Orange Yellow S</i>	

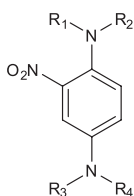
CI: *Colour Index*.

Figura 3. Estrutura química básica do 2-nitro-1,4-diaminobenzeno, onde os substituintes R1, R2, R3 e R4 usualmente são combinações de: H, NH₂, OH, OCH₃

de hidrogênio, mas é possível escurecer mais de três tons a cor natural do cabelo.⁵ Em geral, estes corantes semipermanentes produzem um efeito com duração de 6 a 12 lavagens. Os corantes semipermanentes são particularmente populares entre as mulheres que querem mudar a tonalidade do cabelo sem interferir drasticamente na alteração perene da cor e sem utilização de peróxido de hidrogênio, resultando em menores danos permanentes ao cabelo. Estes corantes proporcionam uma mudança rápida na cor do cabelo e são encontrados em diversos produtos, tais como xampus, sprays, loções, etc.

Embora pouco frequente, alguns corantes ácidos e básicos temporários que contêm o grupo -COOH ou -SO₃H em sua estrutura como por exemplo o *Acid Orange 7*, *Acid Violet 43*, *Basic Red 22* ou *Basic Blue 47*, são utilizados na tintura semipermanente.^{7,13,16}

Corantes permanentes

As tinturas contendo corantes permanentes são as mais utilizadas mundialmente devido à sua versatilidade, facilidade de aplicação e durabilidade da cor. Estes corantes possuem alto valor econômico agregado, pois são responsáveis por 80% do mercado mundial.^{1,2,7} A química destes corantes é baseada nos processos tecnológicos desenvolvidos há mais de 150 anos.¹⁹ Os produtos usados na tintura permanente são baseados na reação entre dois componentes que são misturados antes do uso, em meio oxidativo e pH alcalino. O corante propriamente dito é formado no próprio cabelo, por meio de reações químicas.

A tintura permanente requer basicamente 3 componentes: o agente precursor, que consiste de aminas aromáticas *orto* e *para*-substituídas com grupos amino e/ou hidróxidos, tais como *p*-fenilenodiamina (Figura 4) e *p*-aminofenol e seus derivados denominados intermediários primários; o agente acoplador que é formado por compostos aromáticos *m*-substituídos com grupos doadores de elétrons, tais como *m*-fenilenodiaminas, resorcinol (Figura 4), naftol e outros derivados; e o terceiro componente é o oxidante em meio alcalino, preponderantemente peróxido de hidrogênio na presença de amônia.

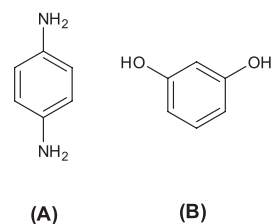


Figura 4. Estruturas químicas (A) do agente precursor *p*-fenilenodiamina (PFD) e (B) do agente acoplador resorcinol

Durante o processo de tintura permanente a mistura contendo o intermediário primário (ex. *p*-fenilenodiamina) e o agente acoplador (ex. resorcinol) em meio alcalino (amônia) é misturado a uma solução de peróxido de hidrogênio formando uma pasta com pH 9,5. A mistura é aplicada no cabelo e os precursores e peróxido de hidrogênio difundem para dentro do fio de cabelo, onde após reações químicas específicas forma-se um composto colorido com alta massa molar,⁴ cujo exemplo de reação é mostrado na Figura 5. A oxidação dessas substâncias e o acoplamento com outros modificadores permite a alteração da coloração final do produto.^{1,7}

O agente oxidante em meio alcalino tem a função de oxidar o agente precursor gerando o intermediário diimina, um composto altamente reativo. Na ausência de um acoplador a oxidação do intermediário pode formar compostos coloridos polinucleares gerados pela reação entre a diimina e a amina original formando a chamada

Tabela 2. Corantes usualmente presentes em corantes de cabelo semipermanentes

Nome do composto	Estrutura Química	Nome do composto	Estrutura Química
<i>N</i> -(2-hidroxietil)- <i>o</i> -nitroanilina <i>HC Yellow N°1</i>		<i>N</i> ¹ -(2-hidroxietil)-2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina	
4-nitro- <i>o</i> -fenilenodiamina		<i>N</i> ¹ -(2-hidroxietil)-2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina	
<i>N</i> ¹ -(2-hidroxietil)-4-nitro- <i>o</i> -fenilenodiamina <i>HC Yellow N°5</i>		<i>N</i> ¹ -metil-2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina	
<i>O,N</i> -bis(2-hidroxietil)-2-amino-5-nitrofenol <i>HC Yellow N°4</i>		<i>N</i> ¹ , <i>N</i> ⁴ , <i>N</i> ⁴ -tris(2-hidroxietil)-2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina	
4-amino-3-nitrofenol		4-nitro- <i>m</i> -fenilenodiamina	
<i>N</i> -(2-hidroxietil)-4-amino-3-nitrofenol		4-amino-2-nitrodifenilamina	
1-(3-metilamino-4-nitrofenoxi)propano-2,3-diol		2-hidróxi-2'-nitrodifenilamina <i>HC Orange N°1</i>	
3-metilamino-4-nitrofenoxietanol		4-(<i>p</i> -aminofenilazo)- <i>N,N</i> -bis(2-hidroxietil)anilina	
2-nitro- <i>p</i> -fenilenodiamina			

base de Bandrowski. Nesta etapa, o oxidante tem ainda a função de clarear a melanina do fio de cabelo, sendo, portanto, a única tintura que permite clarear o cabelo. A Figura 5 ilustra a reação de um intermediário primário, *p*-fenilenodiamina (I), oxidado por peróxido de hidrogênio em meio alcalino na presença de resorcinol como agente acoplador. O mecanismo (A) (Figura 5) ocorre na presença de um agente oxidante (peróxido de hidrogênio). Na primeira etapa tem-se a oxidação do intermediário primário que reage com o acoplador nucleofílico (resorcinol) pra formar o corante leuco (incolor). Este é convertido no corante indoanilina dentro do fio de cabelo. Na via B (Figura 5), pode ocorrer a reação de oxidação do precursor na ausência de um acoplador, gerando a base de Bandrowski.¹⁴

Os acopladores ou modificadores usados na tintura permanente englobam derivados aromáticos meta-substituídos e determinam o tom final da coloração após reação com a forma oxidada do intermediário primário. Atualmente as tinturas permanentes são baseadas em diversos tipos de acopladores e intermediários primários presentes na formulação comercial em razão molar de aproximadamente 1:1.¹⁴ e protegidas por patentes sigilosas. A adição de porções diferentes destes compostos e a mudança de substituintes amino ou hidroxil no anel benzênico do precursor ou acoplador desempenham um papel

crucial na natureza e intensidade da cor desenvolvida.¹³

A cinética das reações de oxidação do agente intermediário, bem como reação com os agentes acopladores são também altamente influenciados pelo pH do meio, pois as reações envolvidas envolvem diferentes equilíbrios químicos e ionização das espécies, bem como dos aminoácidos e proteínas presentes no fio de cabelo. De modo geral, embora pH 9,5 seja o mais utilizado algumas composições utilizam intervalo de pH entre 8 a 10. Nesta etapa a amônia é o meio mais utilizado por ser um efetivo branqueador dos pigmentos naturais do cabelo e por otimizar a velocidade de oxidação dos intermediários primários.

De modo geral, a formação da cor permanente é um processo complexo que envolve sequencialmente a oxidação do intermediário primário com vários acopladores. A tonalidade final da coloração depende da composição, quantidade e natureza de ambos os produtos. Além disso, ainda depende do pH, do tempo e temperatura de reação, e da velocidade de difusão dos componentes para o interior do fio de cabelo. Assim, a tintura de cabelo é uma arte ditada pela cinética química de uma complexa reação e mecanismos de difusão, cujo produto é controlado por uma exigente fiscalização quanto ao seu potencial de toxicidade e alergênico aos seres humanos.

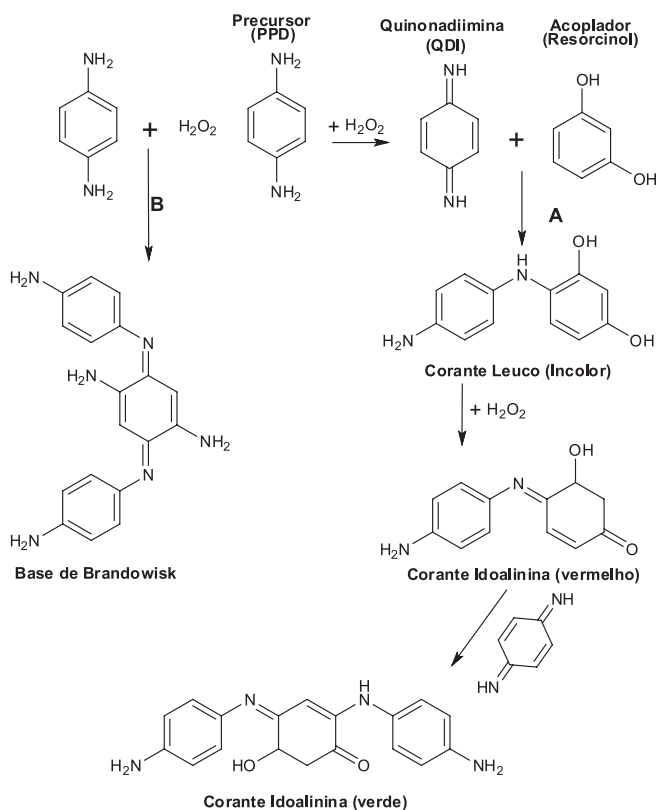


Figura 5. Reação usando o intermediário primário PPD. Mecanismo de reação A na presença do acoplador (resorcinol) resultando no corante desejado. Mecanismo de reação B pode ocorrer na ausência de acoplador, resultando na formação da base de Bandrowski, um produto genotóxico¹⁴

Recentemente, grande esforço tem sido dedicado à procura de corantes adaptáveis a uma tintura permanente mais diversificada e nesse contexto muito dos mecanismos envolvidos na tintura de produtos têxteis tem também sido estudados. É importante ressaltar que a tintura de algodão, lã e couro, por exemplo, são processos baseados na interação entre moléculas dos corantes e grupos, -OH, -NH₂ presentes na celulose, aminoácidos e proteínas presentes nestes materiais, que também estão presentes no fio de cabelo.

A formação de corantes insolúveis do tipo azo dentro do fio de cabelo tem sido explorada por alguns pesquisadores.^{20,21} A reação entre sais de diazônio com componentes acopladores tem sido proposta. Outro exemplo é a exploração dos corantes do tipo VAT, extensamente usados na tintura de fibras celulósicas, para tintura de cabelo.²²⁻²⁴ Estes corantes são pouco solúveis em água, entretanto quando reduzidos reversivelmente à sua forma leuco tornam-se solúveis em pH alcalino. Após aplicação podem ser reoxidados a sua forma original na forma de corante pouco solúvel na presença de um agente oxidante ou até mesmo ar. Também tem sido descrito na literatura o uso de corantes do tipo reativo. Estes corantes são usados para se ligar covalentemente à fibras de algodão ou seda (contendo grupos hidroxilas, amino ou tióis). Os trabalhos reportados na literatura usam o conceito de ligação covalente entre o grupo reativo do corante e os aminoácidos do fio de cabelo.²⁵⁻²⁸ Do mesmo modo, grandes esforços tem sido despendidos para a síntese da melanina dentro do fio de cabelo usando processos miméticos àqueles que ocorrem naturalmente.

Entretanto, considerando a complexidade desses processos, o desafio é imenso uma vez que a cor desenvolvida depende não apenas da melanina, mas também do tamanho das partículas, densidade e distribuição ao longo do fio. Os resultados mais promissores encontram-se na biossíntese da eumelanina e feomelanina por processos

oxidativos.²⁸⁻³¹ No entanto, embora promissor, muita investigação ainda é necessária para uso comercial de qualquer um destes processos, que encontra-se ainda em fase de pesquisa científica.

Toxicidade dos corantes

A partir da segunda metade do século XX, a segurança/toxicidade dos produtos de uso pessoal e/ou cosméticos tem recebido atenção da comunidade científica internacional. Até a década de 1960, acreditava-se que os produtos de uso pessoal permaneciam apenas na pele e, desta forma, apenas efeitos locais eram considerados antes da liberação para o mercado consumidor. No entanto, nas últimas décadas, estudos mostraram que os produtos aplicados topicamente podem ser absorvidos, levando a efeitos sistêmicos nos organismos expostos.^{4,14} Por isso, os possíveis efeitos tóxicos decorrentes da exposição da população a produtos cosméticos vêm sendo reavaliados por diversos autores, utilizando ensaios toxicológicos mais modernos.¹⁴ No entanto, em termos globais, até mesmo a classificação de produtos cosméticos é discutida. Por exemplo, na Comunidade Europeia, os protetores solares são considerados como cosméticos, enquanto nos E.U.A. esses produtos são classificados como OTC drugs (*Over-the-counter*), ou seja, são considerados medicamentos de venda livre. As tinturas capilares são consideradas cosméticos na Europa e Brasil, mas no Japão são classificadas como “quase-drogas”, termo utilizado apenas pelos japoneses para definir substâncias que possuem de baixa a moderada ação farmacológica e que são utilizadas para fins específicos.¹⁴ Desta forma, a regulamentação e avaliação toxicológica dos produtos utilizados em tinturas capilares dependem do país onde são comercializados.

No Brasil, a ANVISA é responsável pela autorização de comercialização de produtos cosméticos por meio de notificação e registros, além de fiscalizar as empresas fabricantes, verificando o processo de produção, as técnicas e os métodos empregados até o consumo final.³² De acordo com a agência, antes de um produto ser lançado no mercado, a segurança deve ser avaliada pelo próprio fabricante ou importador por meio de diversos ensaios toxicológicos como: toxicidade sistêmica aguda; corrosividade e irritação dérmica; sensibilização cutânea; absorção/penetração cutânea; mutagenicidade/genotoxicidade; toxicidade subaguda e subcrônica; irritação ocular; irritação de mucosas; efeitos tóxicos induzidos pela radiação UV (fototoxicidade, genotoxicidade, fotoalergia); carcinogenicidade; toxicidade do desenvolvimento e reprodutiva (teratogenicidade) e toxicocinética e toxicodinâmica.³³

Os compostos químicos presentes nas tinturas capilares como corantes, precursores, acopladores, aditivos entre outros são considerados os ingredientes mais reativos da indústria cosmética, o que torna o processo de tintura de cabelos bastante complexo. Deste modo, após um processo rotineiro de tintura, pode-se encontrar no efluente diferentes produtos químicos imprescindíveis para desenvolvimento da cor, persistência e estabilidade,⁶ além de grande profusão de corantes com as mais diversas características.

A maioria dos estudos com foco nos riscos ao ambiente e à saúde humana por estes corantes, precursores e outros aditivos são baseados nos corantes permanentes e estudos com p-fenilamina e aminofenóis. Esta preocupação é justificada, pois sabe-se que algumas aminas aromáticas usadas na preparação, ou formadas por degradação parcial dos corantes usados, são substâncias biologicamente ativas e podem ser absorvidas percutaneamente,^{1,34} o que poderia produzir efeitos mutagênicos ou carcinogênicos.^{1,35-37} No entanto, a toxicidade de corantes de cabelo e alguns ingredientes usados na composição é pouco investigada e os dados ainda são conflitantes, principalmente em relação ao real risco aos consumidores. Alguns autores têm correlacionado alguns precursores tais como resorcinol, usado

como ingrediente na formulação de corantes, como desreguladores endócrinos, que afetam a tireoide.³⁸ Outros estudos indicam que precursores usados em tinturas permanentes, tais como aminofenóis e p-fenilamina, têm levantado preocupações para a saúde humana devido a riscos associados a alergias, dermatites e nefrotoxicidade.³⁹ Em 2006, a p-fenilenodiamina (PFD) foi classificada pela Sociedade Americana de Alergia de contato como o “alérgeno de contato do ano”. Na Alemanha e França essa substância foi banida entre 1906 e 1980, e novamente liberada na Europa posteriormente, sendo um dos precursores mais utilizados nas tinturas permanentes.⁴⁰ Esse efeito é causado pela geração de produtos da PFD oxidados pelo ar (Aeby *et al.*, 2009; Nohynek *et al.*, 2010).^{14,41} Hoje é conhecido que a exposição aguda à PFD pode causar graves tipos de dermatites, irritação nos olhos e asma principalmente em profissionais que aplicam as tinturas e, em casos de ingestão acidental, pode levar a quadros graves de intoxicação, induzindo a gastrite, a insuficiência renal, a vertigem, os tremores, as convulsões e o coma em seres humanos⁴⁰ e que por isso ela merece especial atenção.

É importante salientar que a incidência de alergias induzidas pela utilização de tinturas, principalmente devido à presença de PPD, tem sido gradativamente reduzida devido à utilização de luvas durante o processo de tingimento e às advertências nos rótulos dos produtos sobre a necessidade de realização do teste de sensibilidade antes da aplicação.¹⁴

Alguns autores associaram o uso da PPD à incidência de câncer. No entanto, os estudos epidemiológicos que investigam a associação entre exposição a corantes de cabelo e câncer de bexiga levam a resultados ainda inconclusivos.⁴² Andrew e colaboradores⁹ mostraram a associação entre uso de tinturas permanentes com um aumento discreto do risco de câncer de bexiga em mulheres que utilizam tinturas permanentes de modo frequente e por longos períodos. Os autores detectaram a presença dos componentes de corantes capilares ou seus derivados na urina de usuários, indicando que os compostos cancerígenos, de fato, alcançam o órgão alvo.⁹ Entretanto, um estudo caso-controle realizado em um hospital na Espanha com mais de 300 mulheres não mostrou risco aumentado no desenvolvimento de câncer de bexiga relacionado ao uso regular de corantes de cabelo.⁴³

Rauscher e colaboradores⁴⁴ realizaram um estudo envolvendo 769 adultos com leucemia aguda, no Canadá e Estados Unidos, mostrando que o uso de tinturas permanentes pode ter um impacto relevante sobre o risco de desenvolvimento de leucemia aguda em adultos.

Um estudo mais completo foi realizado na Suécia envolvendo cabeleireiros do sexo feminino (38.866) e masculino (6.824), no período de 1960-1998, buscando investigar a relação entre corantes de cabelo e 28 tipos de câncer. Neste período foram registrados 1.043 casos de câncer em cabeleireiros do sexo masculino. Observando-se o aumento dos riscos de cânceres do trato digestivo superior, de pulmão e colorretal. Já com relação às mulheres, um total de 2858 cânceres foram registrados, e um aumento do risco para os cânceres de pulmão, pâncreas, colo do útero e câncer de pele, principalmente no couro cabeludo e pescoço, locais de maior contato das tinturas de cabelo.⁴⁵ Ainda de acordo com os autores, os casos de câncer de pulmão diagnosticados tanto nos homens quanto nas mulheres podem ser devido também ao hábito de fumar. Neste estudo, não foi detectado aumento na incidência no câncer de bexiga.²³

Zheng e colaboradores,⁴⁶ em um estudo de caso-controle, não encontrou aumento do risco de câncer de mama associado com o uso exclusivo de produtos de coloração escura ou clara de cabelo, ou mesmo na utilização misturas de cores e produtos de coloração capilar. Cook e colaboradores⁴⁷ também mostraram a falta de associação entre o uso de produtos para colorir cabelo e o risco de câncer de mama.

Em 1992, Zahm e colaboradores, a partir de entrevistas telefônicas com 385 pacientes diagnosticados com linfoma não-Hodgkin, 70

portadores de doença de Hodgkin e 72 casos de mieloma múltiplo, mostraram correlação entre essas patologias e o uso de tinturas capilares. O risco foi maior para produtos de coloração permanente em relação ao uso de tinturas semi-ou não-permanente, especialmente para cores escuras.⁴⁸ Entretanto, Zheng e colaboradores não observaram correlação positiva entre o uso prolongado de tinturas permanentes escuras e taxas de mortalidade por linfoma não-Hodgkin e mieloma múltiplo.⁴⁹

Ainda foi investigada a relação entre tintura de cabelo e a síndrome mielodisplásica em um estudo de caso-controle no Japão e também não foi detectado risco aumentado em relação ao uso tintura de cabelo.⁵⁰ Desta forma, o risco do desenvolvimento de diferentes tipos de câncer após o uso regular de tinturas capilares ainda não está bem estabelecido, considerando a discrepância entre os estudos publicados até o momento. Em uma revisão publicada em 2010, Nohynek e colaboradores afirmaram que não há evidências que a exposição ocupacional ou ocasional à tinturas de cabelo cause algum efeito tóxico na reprodução humana.¹⁴

Assim, embora o uso de corantes destinados à tintura de cabelo seja altamente relevante no mundo moderno gerando uma grande quantidade de resíduos, os estudos focando os riscos ao ambiente e à saúde por estes corantes, precursores e outros aditivos ainda são poucos. De modo geral, a maioria dos trabalhos envolve apenas o estudo dos precursores, acopladores e não dos corantes formados após reação específica ou dos outros tipos de corantes básicos e ácidos usados nas formulações em tintura temporária e outros de corantes semipermanentes. Em adição, não são encontrados na literatura estudos direcionados para sua contaminação ambiental ou potencialidade mutagênica, quando presentes em efluentes, resíduos de salões de beleza e esgotos domésticos.

Métodos analíticos para determinação de corantes

Em virtude da importância econômica dos corantes de cabelo e alguns riscos oferecidos pelo uso de tinturas de cabelo aos usuários, estes produtos são regulados por normas definidas por diversas agências reguladoras.⁷ Para este fim, métodos analíticos capazes de detectar e quantificar corantes de cabelo e seus derivados em matrizes ambientais e fluidos biológicos são importantes tanto para monitorar contaminação ambiental⁵¹ quanto para proteção da saúde humana.

Dentre os métodos analíticos, a cromatografia em papel (CP) é um dos métodos cromatográficos mais antigos utilizados para a separação e determinação dos componentes de corantes destinados a tintura de cabelo,⁵² mas é raramente utilizado hoje devido a suas limitações. O método cromatográfico de camada delgada é a versão mais moderna e tem merecido destaque na identificação de para-fenilenodiamina, resorcinóis e aminofenóis em formulações comerciais, tal como descrito na literatura.⁵² No entanto são métodos pouco sensíveis e com baixa seletividade.

A separação e identificação de corantes e derivados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) têm mostrado elevada sensibilidade, precisão, e especificidade. Métodos de CLAE com várias estratégias tais como diferentes tipos de fase estacionária, composição de vários tipos de fases móveis e uma vasta gama de detectores seletivos tornam o método apropriado para a análise de compostos em materiais vegetais tais como hena.⁵³

Um método simples e confiável baseado em cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos foi descrito por Scarpi e colaboradores.⁸ Neste, divulga-se a determinação simultânea de nove corantes de cabelo semipermanentes e temporários em 13 formulações de tintura comercial temporária de cabelo. O método não requer extração prévia, é suficientemente rápido e se mostrou preciso para análises de rotina.

Dowle e Malyan⁵⁴ reportaram o uso do método de CLAE de fase normal e reversa com detector UV para separação e identificação de isômeros de aminofenóis em amostras de corantes de cabelo. O método de fase normal foi realizado no modo isocrático em uma coluna Hichrom S-5 NH a uma vazão de 2 mL min⁻¹. A solução de tetraetilenepentano em metanol-diclorometano-hexano foi utilizada como fase móvel. O método de fase reversa foi realizado no modo isocrático a uma vazão de 1 mL min⁻¹ e coluna utilizada foi a PLRP-S e a fase móvel água/acetoneitrila.

Mariani e colaboradores⁵⁵ empregaram o método de CLAE-UV de fase reversa e coluna RP-18 para análise de 11 nitroderivados, 2 antraquinonas, 5 corantes Arianor e 8 corantes de cabelo comerciais da marca ArianorTM. As amostras foram preparadas pela técnica de extração por sonificação com 1:1 ACN/água por 10 min e separados pelo modo gradiente usando ACN/tampão fosfato (pH 3 com ácido fosfórico) e detecção no modo UV em comprimentos de onda de 210, 254 e 500 nm. A partir dessas análises foi realizada a quantificação de 1-*-*hidroxietilamino-2-nitro-4-bis-(-hidroxietil)-aminobenzeno, 1-metilamino-2-nitro-4-bis-(-hidroxietil) aminobenzeno, *Disperse Blue 3*, 1-*-*hidroxietoxi-3-metilamino-4-nitrobenzeno e 1-metoxi-2-*-*hidroxietilamino-3-nitrobenzeno em amostras de corantes usadas para tintura de cabelo preto.

Meyer e colaboradores⁵⁶ desenvolveram e validaram um método sensível e seletivo para determinação de *para*-fenilenodiamina e seus metabólitos acetilados acetil-*para*-fenilenodiamina e diacetil-*para*-fenilenodiamina, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detectores de arranjo de diodos e detector eletroquímico em série. O método alcança limite de detecção de 0,5 mol L⁻¹ para fenilenodiamina. Esse método foi aplicado em estudos ecotoxicológicos e cinética de degradação desses compostos.

Narita e colaboradores⁵⁷ determinaram simultaneamente 7 aminofenóis, resorcinol e *para*-fenilenodiamina em tinturas de cabelo usando CLAE com detecção eletroquímica. O método permite um limite de detecção na faixa de 15 a 40 mg sob potencial de 0,95 V. Wang e Tsai⁵⁸ também desenvolveram um método de cromatografia líquida com detector eletroquímico para determinação de três derivados de diaminas (*p*-fenilenodiamina, *N,N'*-*p*-fenilenobisacetamida, e 4-aminoacetanilida) provenientes de tintura de cabelo na urina humana e no sangue, e em urina e fezes de coelhos. Lizier e Zanon⁵⁹ também descrevem um método cromatográfico acoplado a um detector eletroquímico, usando líquido iônico 1-butil-3-metilimidazólio *bis*-(trifluorometanosulfonil) imida BMI_{im} para separação e quantificação de 6 aminas aromáticas presentes como contaminantes em corantes de cabelo.

A utilização de cromatografia líquida acoplada a detector de fluorescência vem sendo discutido na literatura⁶⁰ para a determinação de intermediários tais como *para*-fenilenodiamina (PPD), *orto*-fenilenodiamina (OPDA), *para*-aminofenol (PAP), *orto*-aminofenol (OAP), resorcinol (RE) e hidroquinona (HQ) em tinturas comerciais de cabelo permanentes e de águas residuais de lavagem após os cabelos serem tingidos usando SPE para pré-tratamento da amostra.⁶¹

Goldstein⁶² e colaboradores usaram um método de cromatografia a gás para determinação de diaminas aromáticas em corantes de cabelo, em que era utilizado um padrão interno para determinar *para*-fenilenodiamina e *para*-toluenodiamina na faixa de mg mL⁻¹.

Choudhary⁶³ propôs método analítico rápido, simples e sensível para a determinação simultânea de 1,4-*-*diaminobenzeno, 2,5-*-*diaminotolueno e 2,4-*-*diaminoanisol em corantes de cabelo permanentes usando cromatografia gasosa acoplado com um detector de ionização de chama. O limite de detecção foi de 5 ng µL⁻¹ para 1,4-*-*diaminobenzeno e 20 ng µL⁻¹ para 2,4-*-*diaminoanisol e 2,5-*-*diaminotolueno. Uma recuperação de 85% foi obtida para diaminas em tintura comercial permanente. Procedimentos analíticos usando metodologia baseada

em espectroscopia de massas, eletroforese capilar e cromatografia eletrocínica micelar são também demonstrados na separação e detecção de intermediários primários em corantes de cabelo.⁶⁴⁻⁶⁶ A utilização da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em modo positivo foi também utilizada para determinação de PPD a partir de tinturas comerciais de cabelo. A técnica permitiu a determinação de PPD em níveis de até 0,05 mg mL⁻¹, e recomenda para a quantificação de PPD em produtos comerciais de corantes de cabelo.⁶⁷

Akyuz e Ata⁶⁸ desenvolveram uma técnica analítica baseada em CG-MS para determinação de aminas aromáticas em corantes de cabelo, hena e amostras de cabelo tingido. No método proposto, as aminas foram isoladas a partir de solução aquosa com clorofórmio contendo bis-2-etilhexilfosfato (BEHPA) como reagente par-iônico, que após diluição com solução ácida e derivatização com cloroformato de isobutila (IBCF) mostrou-se adequado.³⁹ Os resultados obtidos demonstraram precisão satisfatória e boa reprodutibilidade para a determinação qualitativa e quantitativa de aminas aromáticas em níveis compatíveis com o requerido em tinturas comerciais de cabelo permanentes, hena e amostras de cabelo tingido.⁶⁸

Dong e Chi⁶⁹ separaram e detectaram simultaneamente cinco principais componentes de tinturas de cabelo, *meta*, *orto* e *para*-fenilenodiamina e os isômeros catecol e resorcinol para melhorar o limite de detecção utilizando eletroforese capilar acoplada a detector amperométrico (ECZ-AD) sob eletrodo de trabalho de platina. Os efeitos do pH, potencial do eletrodo de trabalho, concentração do tampão, a tensão de separação e tempo de injeção em ECZ-AD foram investigados. Sob condições ótimas, os cinco analitos poderiam ser perfeitamente separados em tampão borato 0,30 mol L⁻¹ e tampão fosfato 0,40 mol L⁻¹ (pH 5,8) no tempo de 15 min. O eletrodo de platina de diâmetro de 300 µm obteve boas respostas em 0,85 V para os cinco analitos. As curvas de calibração no intervalo de 1,0 × 10⁻⁶ a 1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ e os limites de detecção obtidos a partir de 10⁻⁷ mol L⁻¹ (S/N = 3). Um método de eletroforese capilar (EC) para analisar cinco corantes básicos (*Basic Red 76*, *Basic Brown 16*, *Basic Yellow 57*, *Basic Brown 17* e *Basic Blue 99*), foi desenvolvido por Masukawa.⁷⁰ Sob condições otimizadas de ácido acético/acetato de amônio, contendo metanol. Os autores alcançaram limites de detecção da ordem de 0,7 – 4,5 µg mL⁻¹.

Andrisano e colaboradores⁷¹ desenvolveram um método para separação e identificação de *N*-hidroxialquil, nitrofenilenodiaminas e nitroaminofenóis utilizando cromatografia líquida com fase reversa e derivatização fotoquímica on-line pós-coluna. Wang e Huang⁷² reportam o uso da técnica de cromatografia líquida e cromatografia eletrocínica micelar (CECM) para separação e determinação de aminofenóis e fenilenodiamina, utilizando fase móvel contendo 1,5 × 10⁻² mol L⁻¹ de trietilamina em pH 8,0. A condição ideal de separação por CECM é definida pela utilização de cloreto de amônio 5,5 × 10⁻² mol L⁻¹ de cetiltrimetil em 5,0 × 10⁻² mol L⁻¹ de tampão de borato (pH 9,2) com a intensidade do campo elétrico de -145 V cm⁻¹.

Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas também tem sido empregada na determinação de aminas e fenóis. O método requer a extração de aminas aromáticas a partir de amostras aquosas com bis-2-etilhexilfosfato, seguido por derivatização.⁶⁸

CONCLUSÃO

A tintura de cabelo é utilizada por milhões de pessoas, independente da raça, sexo, nacionalidade, religião ou idade. Para atender a este mercado bilionário, há uma vertiginosa oferta de produtos, que aumenta a cada dia, graças aos avanços no entendimento da estrutura química e molecular dos cabelos, propriedades físico-químicas e amplo entendimento dos mecanismos de ação e desenvolvimento da cor. A busca por novas tecnologias visa não só aumentar a oferta

de cores e processos mais simples, rápidos e efetivos, mas também minimizar danos ao cabelo e a saúde do ser humano.⁶

Embora o uso de corantes de cabelo pela população humana seja altamente explorado, a IARC (*International Agency for Research on Cancer*) afirma que alguns produtos comerciais utilizados para este fim possuem em sua formulação corantes mutagênicos e carcinogênicos.⁷³ No entanto, em virtude da grande oferta de produtos e grande demanda dos consumidores, a avaliação destes compostos é relativamente escassa, pouco difundida e muitos ensaios toxicogênicos apresentam resultados inconclusivos para algumas classes de corantes e precursores.

Considerando a ampla versatilidade de produtos destinados à tintura de cabelo, observa-se ainda uma relativa escassez de informações relacionadas à toxicidade e mutagenicidade dos corantes de cabelo disponíveis a população. É imperativa, portanto, a obtenção de mais informações sobre os possíveis efeitos adversos que corantes podem causar para o ser humano e a biota em geral. Ainda é importante ressaltar a importância do monitoramento destes corantes provenientes da tintura de cabelo em efluentes industriais, esgotos domésticos, águas naturais e destinadas ao consumo humano, bem como obter mais dados sobre a sua persistência, biotransformação, transporte e destino no meio ambiente para que se possa avaliar os riscos envolvidos relativos à utilização de corantes em processos de tintura de cabelo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (Projeto Temático 2008/10449-7, intitulado “Avaliação da ocorrência, toxicidade/genotoxicidade e processos para degradação de corantes em efluentes e águas superficiais e todas as bolsas vinculadas ao projeto), CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Hueber-Becker, F.; Nohynek, G. J.; Meuling, W. J. A.; Benech-Kieffer, F.; Toutain, H.; *Food Chem. Toxicol.* **2004**, *42*, 1227.
- http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/tintura_cabelo.asp, acessada em Junho 2013.
- Püntener, A. G.; Schlesinger, U. Em *Colorants for Non-Textile Applications*, Peters, H. S. F. a. A. T., ed.; Elsevier Science: Amsterdam, 2000, cap. 9.
- Corbett, J. F.; *Hair colorants: chemistry and toxicology*, 2nd ed., Micelle Press: Weymouth, 1998.
- Draeos, Z. D.; *Hair Care - An Illustrated Dermatologic*, 1st ed., Taylor & Francis: London, 2005.
- Bouillon, C.; Wilkinson, J.; *The Science of Hair Care*, 2nd ed., Francis & Taylor: London, 2005.
- Ghosh, P.; Sinha, A. K.; *Anal. Lett.* **2008**, *41*, 2291.
- Scarpi, C.; Ninci, F.; Centini, M.; Anselmi, C.; *J. Chromatogr. A* **1998**, *796*, 319.
- Andrew, A. S.; Schned, A. R.; Heaney, J. A.; Karagas, M. R.; *Int. J. Cancer* **2004**, *109*, 581.
- Morel, O. J. X.; Christie, R. M.; *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 2537.
- Jones, L. N.; *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, *446*, 515.
- Robbins, C. R.; *Chemical and Physical Behavior of Human Hair*, 5th ed., Springer-Verlag: Berlin/Heidelberg, 2012.
- Chisvert, A.; Cháfer, A.; Salvador, A.; Em *Analysis of Cosmetic Products*; Salvador, A.; Chisvert, A., eds.; Elsevier: Amsterdã, 2007, cap. 2.
- Nohynek, G. J.; Antignac, E.; Re, T.; Toutain, H.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2010**, *243*, 239.
- http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0015_26_03_2013.html, acessada em Junho 2013.
- Corbett, J. F.; *Clinics in Dermatology* **1988**, *6*, 93.
- Harrison, S.; Sinclair, R.; *Journal of Cosmetic Dermatology* **2003**, *2*, 180.
- Guararini, C. C. I.; Zanoni, M. V. B.; *Quim. Nova* **2000**, *23*, 71.
- Hofmann, A. W.; *Jahr. Chem.* **1863**, 42.
- Möller, H.; Höffkes, H.; *WO/2000/015184*, **2000**.
- Berth, P.; *US pat. 3582253-A* **1968**. (CA899779-A)
- Lewis, D. M.; *U.S. pat. 5,364,415* **1994**.
- Kalopissis, G.; Bugaut, A.; Estradier, F.; *U.S. pat. 4,054,147* **1977**.
- Kalopissis, G.; Bugaut, A.; Estradier, F.; *U.S. pat. 4,112,229* **1978**.
- Randebrock, R. E.; *U.S. pat. 3,415,606* **1968**.
- Leon, N. H.; Swift, J. A.; *U.S. pat. 3,966,397* **1976**.
- Lehr, F.; *Dyes Pigm.* **1990**, *14*, 239.
- Peck, S. M.; *U.S. pat. 2,539,202* **1951**.
- Rosmarin, P. F.; Pantzer, M.; *U.S. pat. 2,875,769* **1959**.
- Pantzer, M.; Feier, M.; *U.S. pat. 3,698,852* **1965**.
- Jacobs, M. E.; *U.S. pat. 4,390,341* **1983**.
- <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Cosmeticos>, acessada em Junho 2013.
- http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/guia_cosmeticos_final_2.pdf, acessada em Junho 2013.
- Bolt, H. M.; Golka, K.; *Crit. Rev. Toxicol.* **2007**, *37*, 521.
- Kirkland, D. J.; Henderson, L.; Marzin, D.; Müller, L.; Parry, J. M.; Speit, G.; Tweats, D. J.; Williams, G. M.; *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **2005**, *588*, 88.
- Sardas, S.; Aygun, N.; Karakaya, A. E.; *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **1997**, *394*, 153.
- Watanabe, T.; Hirayama, T.; Fukui, S.; *Mutat. Res.* **1990**, *244*, 303.
- Lynch, B. S.; Delzell, E. S.; Bechtel, D. H.; *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2002**, *36*, 198.
- Nohynek, G. J.; Duche, D.; Garrigues, A.; Meunier, P.-A.; Toutain, H.; Leclaire, J.; *Toxicol. Lett.* **2005**, *158*, 196.
- Budavari, S. Em *The merck index: an encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals*; Budavari, S.; O'Neil, M. J., eds.; 11th ed., Merck: Rahway, U.S.A., 1989.
- Aeby, P.; Sieber, T.; Beck, H.; Gerberick, G. F.; Goebel, C.; *J. Invest. Dermatol.* **2009**, *129*, 99.
- Schottenfeld, D.; Fraumeni, J. F.; *Cancer epidemiology and prevention*, 3rd ed., Oxford University Press: New York, 2006.
- Kogevinasa, M.; Fernandez, F.; Garcia-Closas, M.; Tardon, A.; Garcia-Closas, R.; *Eur. J. Cancer* **2006**, *42*, 1448.
- Rauscher, G. H.; Shore, D.; Sandler, D. P.; *Am. J. Epidemiol.* **2004**, *160*, 19.
- Czene, K.; Tiikkaja, S.; Hemminki, K.; *Int. J. Cancer* **2003**, *105*, 108.
- Zheng, T.; Holford, T. R.; Mayne, S. T.; Owens, P. H.; Boyle, P.; Zhang, B.; Zhang, Y. W.; Zahm, S. H.; *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, 1647.
- Cook, L. S.; Malone, K. E.; Daling, J. R.; Voigt, L. F.; Weiss, N. S.; *Cancer Causes and Control* **1999**, *10*, 551.
- Zahm, S. H.; Weisenburger, D. D.; Babbitt, P. A.; Saal, R. C.; Vaught, J. B.; Blair, A.; *Am. J. Public Health* **1992**, *82*, 990.
- Altekruse, S. F.; Henley, S. J.; Thun, M. J.; *Cancer Causes and Control* **1999**, *10*, 617.
- Nagata, C.; Shimizu, H.; Hirashima, K.; Kakishita, E.; Fujimura, K.; Niho, Y.; Karasawa, M.; Oguma, S.; Yoshida, Y.; Mizoguchi, H.; *Leuk. Res.* **1999**, *23*, 57.
- Zhou, H.; Xu, H.; Wan, G. H.; Duan, C. F.; Cui, H.; *Talanta* **2004**, *64*, 467.
- Smyth, R. B.; McKeown, G. G.; *J. Chromatogr.* **1964**, *16*, 454.
- Sinha, A. K.; Verma, S. C.; Sharma, U. K.; *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 15.
- Dowle, C. J.; Malyan, A. P.; Matheson, A. M.; *Analyst* **1990**, *115*, 105.
- Mariani, E.; Neuhoff, C.; Villa, C.; *Int. J. Cosmet. Sci.* **1997**, *19*, 13.
- Meyer, A.; Bloemeke, B.; Fischer, K.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2009**, *877*, 1627.

57. Narita, M.; Murakami, K.; Kauffmann, J.-M.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, 588, 316.
58. Wang, L. H.; Tsai, S. J.; *Anal. Biochem.* **2003**, 312, 201.
59. Lizier, T. M.; Boldrin Zanoni, M. V.; *Molecules* **2012**, 17, 7961.
60. Baeyens, W. R. G.; De Keukeleire, D.; Korkidis, K.; *Luminescence Techniques in Chemical and Biochemical Analysis*. M. Dekker: New York, 1991.
61. Cui, H.; He, C. X.; Zhao, G. W.; *J. Chromatogr., A* **1999**, 855, 171.
62. Toilet Goods Association; *Joint Conference on Cosmetic Sciences: Proceedings*, Toilet Goods Association: Washington, 1968.
63. Choudhary, G.; *J. Chromatogr.* **1980**, 193, 277.
64. Fujita, Y.; Yamamoto, N.; Nakayama, M.; Kanbara, K.; Mitsuo, N.; Matsumoto, H.; Satoh, T.; *Jpn J. Toxicol. Environ. Health* **1989**, 35, 444.
65. Tanada, N.; Kageura, M.; Hara, K.; Hieda, Y.; Takamoto, M.; Kashimura, S.; *Forensic Sci. Int.* **1991**, 52, 5.
66. Tanada, N.; Kageura, M.; Hara, K.; Hieda, Y.; Takamoto, M.; Kashimura, S.; *Forensic Sci. Int.* **1994**, 64, 1.
67. Di Gioia, M. L.; Leggio, A.; Le Pera, A.; Liguori, A.; Napoli, A.; Perri, F.; Siciliano, C.; *J. Chromatogr., A* **2005**, 1066, 143.
68. Akyuz, M.; Ata, S.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, 47, 68.
69. Dong, S.; Zhang, S.; Cheng, X.; He, P.; Wang, Q.; Fang, Y.; *J. Chromatogr., A* **2007**, 1161, 327.
70. Masukawa, Y.; *J. Chromatogr., A* **2006**, 1108, 140.
71. Andrisano, V.; Gotti, R.; Roveri, P.; Cavrini, V.; *Chromatographia* **1997**, 44, 431.
72. Wang, S.-P.; Huang, T.-H.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, 534, 207.
73. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vo199/mono99.pdf>, acessada em Junho 2013.