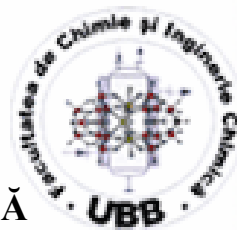




UNIVERSITATEA "BABEȘ-BOLYAI"
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ



**ANALIZA UNOR ANTIOXIDANȚI UTILIZAȚI ÎN COSMETICĂ
PRIN METODE CROMATOGRAFICE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT



CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC

PROF. UNIV. DR. TEODOR HODIȘAN

DOCTORAND

ANCA-MARIA JUNCAN

B.A.Sc., M.Sc., M.Pharm., MIM

*Cluj-Napoca
-2011-*

Cuprins

I. Introducere	I
-----------------------------	----------

PARTEA I

CONSIDERAȚII TEORETICE

II. Antioxidanți în cosmetică	1
II.1 Definiție.....	2
II.2 Clasificarea antioxidantilor.....	2
II.3 Considerații pentru utilizarea antioxidantilor în formulările cosmetice.....	5
II.3.1 Alegerea antioxidantilor în formulările cosmetice.....	6
II.3.2 Aplicații în cosmetică: Concepte și formulări.....	6
II.4 Modul de acțiune a antioxidantilor.....	9
II.4.1 Râncezirea și factorii care afectează râncezirea.....	10
II.4.2 Mecanismul de acțiune al antioxidantilor.....	12
III. Metode de extracție a antioxidantilor utilizați în cosmetică	14
III.1 Extracția directă a antioxidantilor fără saponificarea grăsimilor.....	15
III.1.1 Extracția cu solvenți organici.....	15
III.1.2 Extracția pe fază solidă.....	16
III.1.3 Extracția cu fluide în stare supercritică.....	17
III.2 Extracția Antioxidanților după saponificarea grăsimilor.....	18
IV. Metode de analiză a antioxidantilor utilizați în cosmetică	19
IV.1 Analiza antioxidantilor prin cromatografie de gaze (GC).....	21
IV.1.1 Metode de analiză gaz cromatografice a antioxidantilor sintetici utilizați în cosmetică.....	22
IV.1.2 Metode de analiză gaz cromatografice a antioxidantilor naturali utilizați în cosmetică.....	23
IV.2 Analiza antioxidantilor prin cromatografie de lichide (LC).....	29
IV.2.1 Analiza antioxidantilor utilizați în cosmetică prin cromatografie pe strat subțire.....	30
IV.2.1.1 Analiza antioxidantilor naturali prin TLC.....	30
IV.2.1.2 Analiza antioxidantilor sintetici prin TLC.....	33
IV.2.2 Analiza antioxidantilor utilizați în cosmetică prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC).....	33
IV.2.2.1 Analiza antioxidantilor naturali prin HPLC.....	34
IV.2.2.2 Analiza antioxidantilor sintetici prin HPLC.....	37

PARTEA a II-a

CONTRIBUȚII ORIGINALE

V. Aplicarea metodei spectrometrice FTIR (ATR) pentru caracterizarea unor produse cosmetice de tip anti-aging și a ingredientelor active cu potențial antioxidant	42
V.1 Materiale și metode.....	46
V.1.1 Materiale.....	46
V.1.2 Metode.....	48
V.1.2.1 Analiza spectrometrică FTIR.....	48
V.1.2.2 Determinarea acțiunii antioxidante prin metoda DPPH.....	48
V.1.2.3 Utilizarea metodei FTIR.....	49
V.2 Rezultate și discuții.....	50

V.2.1 Date de referință privind compoziția cremelor și spectrele FTIR specifice unor produse uleioase.....	50
V.2.2 Caracterizarea principalelor categorii de componente (ingrediente) de tip emolient, emulgator, antioxidant prin spectrometrie FTIR.....	54
V.2.3 Caracterizarea componentelor active hidrofile.....	60
V.2.4 Caracterizarea cremelor prin spectre FTIR generice și zone de fingerprint.....	62
V.2.5 Activitatea antioxidantă a cremelor investigate.....	64
V.3 Concluzii.....	65
VI. Analiza prin metode cromatografice a unor antioxidanți sintetici și naturali utilizați în produse cosmetice.....	67
VI.1 Analiza prin cromatografie de gaze a antioxidanților sintetici și naturali din produse cosmetice.....	74
VI.1.1 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu etanol urmată de analiza GC-FID.....	74
VI.1.2 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol urmată de analiza GC-FID.....	88
VI.1.3 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin prepararea probei cu metanol și extracție cu diclormetan urmată de analiza GC-FID.....	100
VI.1.4 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin prepararea probei cu amestec de solvent organic și extracție cu diclormetan urmată de analiza GC-FID.....	107
VI.1.5 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging după saponificarea grăsimilor și extracție cu amestec de hexan:acetat de etil urmată de analiza GC-FID.....	114
VI.1.6 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu metanol urmată de analiza GC-FID.....	123
VI.2 Analiza alfa tocoferol acetatului dintr-o formulare cosmetică de tip anti- aging conservată cu aditivi multifuncționali prin cromatografie de gaze cuplată cu FID.....	138
VI.3 Analiza prin cromatografie de lichide de înaltă performanță a antioxidanților sintetici și naturali din produse cosmetice.....	149
VI.3.1 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin diluție cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol urmată de analiza HPLC/UV.....	149
VI.3.2 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu metanol urmată de analiza HPLC/UV.....	162
VI.3.3 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin diluție cu amestec de tetrahidrofuran:metanol urmată de analiza HPLC/UV.....	171
VII. Concluzii finale.....	180
VIII. Bibliografie.....	188
ANEXE	

CUVINTE CHEIE:

Produse cosmetice

Compuși antioxidanți

Analiza FTIR (ATR)

Cromatografie de gaze cu detecție cu ionizare în flacără (GC-FID)

Cromatografie de lichide de înaltă performanță cu detector UV-VIS (HPLC-UV/VIS)

I. Introducere

O definiție amplă a produselor cosmetice include toate substanțele și mijloace sau procedee folosite în oricare mod, pentru a îmbunătăți aspectul corpului uman [1].

În mometul de față pe piață se găsesc produse, care nu numai curăță, protejează și hidratează, dar care și “înnoiesc”, refac și întineresc epiderma. La ora actuală maximul de atenție este acordat utilizării în formulările cosmetice a vitaminelor și a antioxidantilor. Există o multitudine de studii a căror rezultate sugerează beneficiul adus de acești compuși în industria cosmetică [6].

În ultimii ani, piața produselor cosmetice s-a îmbogățit cu numeroase produse de îngrijire a pielii, care sunt evidențiate în primul rând prin prisma efectelor și acțiunii antioxidante a acestora. Aceste produse, care conțin substanțe cu activitate antiradicalică, au fost create în primul rând pentru a satisface cererea unor produse în scopul tratamentelor și prevenției efectelor de foto-îmbătrânire [6]. Utilizarea topică a acestora este percepută a fi foarte benefică; când aceste produse sunt aplicate pe suprafața pielii, compușii antioxidanți se concentrează întâi în stratul cornos, care este țesutul cel mai expus stresului oxidativ. În cele mai multe produse din această categorie caracterul și capacitatea antioxidantă este dată, nu doar de o singură substanță activă, ci de o asociere de principii active diferite.

Vitaminele și antioxidanții sunt foarte răspândiți ca și ingrediente primari în formulările cosmetice. Există cercetări științifice semnificative referitoare la aceste produse cosmetice bioactive, care sugerează un beneficiu clar al consumatorului. Pentru ca orice ingredient să fie benefic, acesta trebuie să fie stabil în etapele de producție, depozitare și utilizare, să nu fie toxic pentru consumatori și să prezinte activitate biologică, după aplicarea pe suprafața cutanată. Cercetările de piață indică o mare popularitate și o satisfacție aparentă a consumatorilor vis-a-vis de produsele care conțin antioxidanți și vitamine. Piața produselor cosmetice oferă consumatorului multe produse care conțin în formulare componente active hidro- sau liposolubile, folosite pentru protejarea pielii împotriva stimulilor oxidanți. Prin acest mecanism, produsele ar trebui să prevină foto-îmbătrânirea și să mențină pielea într-o condiție corespunzătoare din punct de vedere cosmetic.

O diversitate de substanțe cu structură chimică mai mult sau mai puțin complexe au fost identificate ca având acțiune antiradicalică și au fost introduse pe piață pentru formularea de produse anti-ageing [9].

Antioxidanții din clasa celor sintetici, ca butilhidroxitoluen (BHT), butilhidroxianisol (BHA), sau antioxidanții naturali, ca tocoferolii (Vitamina E), sunt definiți ca orice substanțe care inhibă sau întârzie o schimbare oxidativă, când concentrația acestora este mai scăzută decât cea a substanței cosmetice, care este oxidată [10].

Antioxidanții sintetici sunt aditivi cosmetici recunoscuți, dar dispoziții și reguli

internaționale tind să fondeze și să stabilească din ce în ce mai multe restricții privind utilizarea acestora și se observă cu ușurință preferințele consumatorilor de a evita aditivi sintetici, în favoarea celor naturali.

Cercetarea în domeniul cosmetologiei s-a îndreptat din ce în ce mai mult către procesele care duc la degradarea anatomico-funcțională a pielii, identificată ca îmbătrânirea acesteia. În paralel s-au evaluat toate măsurile posibile de contracarare a acestor efecte. Un interes deosebit în acest sens a fost generat de studiul substanțelor capabile să prevină degradarea epidermei prin acțiunea radicalilor liberi: aceste substanțe sunt definite ca antioxidanți [11].

Interacțiunea dintre antioxidanți și radicalii liberi din piele prezintă un interes deosebit, din cauza faptului că aceștia au un rol semnificativ în prevenirea îmbătrânirii pielii [12].

Antioxidanții care conțin în structură o grupare fenolică joacă un rol important în cosmetice, produse farmaceutice și alimente. Aceștia sunt clasificați în două categorii, și anume: antioxidanți naturali, care sunt reprezentați în special de tocoferoli și antioxidanți sintetici, cum ar fi 2,6-di-tert-butil-p-hidroxitoluenul (BHT), tert-butil-4-hidroxianisolul (BHA), propil, octil și dodecil galat, tert-butilhidrochinona (TBHQ) și acidul nordihidroguaiaretic (NDGA) [15].

Unii dintre antioxidanții sintetici utilizați în formulările cosmetice, ca de exemplu butilhidroxi-anisol (BHA) sau butilhidroxi-toluen (BHT) sunt carcinogeni [174, 175], astfel încât utilizarea extensivă a acestor ingrediente în cosmetice poate reprezenta un potențial risc al sănătății [125]. BHA este considerat a fi utilizat corespunzător și sigur în produse cosmetice, dacă concentrația totală a acestuia în formularea produsului nu depășește limita de 0.02% din conținutul total de grăsimi și uleiuri, incluzând conținutul de uleiuri volatile din formulare.

Studii pe termen îndelungat au demonstrat că utilizarea unor antioxidanți sintetici în produsele cosmetice poate duce la un potențial risc asupra sănătății, asociat cu ingestia acestora [139]. Un caz particular în acest sens poate fi reprezentat de categoria de produse cosmetice decorative, cum sunt rujurile.

Produsele cosmetice de tip anti-îmbătrânire reprezintă o clasă de produse cosmetice, care conțin o compoziție complexă de materii prime. Determinarea antioxidanților din produsele cosmetice de tip anti-aging este adesea dificilă, datorită complexității matricii produsului, prin urmare o atenție deosebită trebuie alocată dezvoltării procedurilor și metodelor de extracție adecvate și evaluarea fiabilă a valorilor medii de recuperare. Procedura utilizată pentru extracția antioxidanților din matricea de produs cosmetic depinde de natura produsului și de asemenea de caracteristicile tehnicii analitice care este utilizată pentru determinarea substanței active. Din această cauză este necesar să se dezvolte metode de analiză noi și eficiente pentru monitorizarea antioxidanților într-un mod corespunzător și pentru determinarea și utilizarea acestora în industria cosmetică.

Lucrarea de față conturează rolul și importanța antioxidantilor în cosmetologie și totodată își propune să îmbunătățească unele metode de analiză a acestor compuși în produse cosmetice de tip anti-aging. Scopul studiului de față a fost implementarea unor metode rapide de determinare a antioxidantilor sintetici și naturali din produse cosmetice. În același timp s-a realizat formularea unei creme originale, propriu dezvoltate și analiza acesteia prin metodele cromatografice propuse.

PARTEA I CONSIDERAȚII TEORETICE

II. Antioxidanți în cosmetică

II.1 Definiție

Antioxidanții sunt „compuși organici, care adăugați la grăsimi naturale și alimentare întârzie oxidarea, deteriorarea și râncezirea”. Mulți dintre aceștia sunt compuși fenolici substituiți (butilhidroxianisolul, di-terț-butil-para-cresol și propil-galatul).

Concentrația maximă de antioxidanți, aprobată de către FDA (Food and Drug Administration) este 0.02%-0.05% [16].

II.2 Clasificarea antioxidanților

Antioxidanții se pot clasifica după natura acestora în antioxidanți naturali și sintetici. Antioxidanții se mai pot împărți în două clase, după funcția principală a acestora și anume în: antioxidanți propriu-zisi, care acționează prin ruperea catenei de radical liber și care sunt distruși în timpul perioadei de inducție și antioxidanți sinergici, care în general au efect propriu scăzut, dar amplifică acțiunea antioxidanților propriu-zisi și prezintă în egală măsură și alte funcții [4].

II.3 Considerații pentru utilizarea antioxidanților în formulările cosmetice

Abordarea cea mai adecvată pentru alegerea unui conservant sau antioxidant a unei formulări cosmetice este însă empirică. Aceasta nu înseamnă însă că multe publicații științifice referitoare la subiectul antioxidanților nu își au locul în selecția acestora [24]. În acest sens, datele din literatură servesc doar ca și ghid în stabilirea unor teste pentru formulările cosmetice ce urmează a utiliza conservanți.

II.3.1 Alegerea antioxidanților în formulările cosmetice

Bohem și Williams [25] au subliniat faptul că, pe lângă activitatea antioxidantă, substanța ar trebui să posede anumite proprietăți fizice și fiziologice, dacă se presupune utilizarea acestuia în practica cosmetică, farmaceutică sau alimentară:

- ar trebui să fie pe cât posibil neutră în reacție;
- ar trebui să fie ușor solubilă în substrat;
- trebuie să fie sigură din punct de vedere farmacologic și să nu prezinte toxicitate pentru țesuturile animale.

Spre deosebire de utilizarea antioxidanților și conservanților în preparate farmaceutice și alimente, acești compuși pot fi utilizați în preparate cosmetice, cu mențiunea că antioxidantul

trebuie să efectueze inocuitate dermatologică și să nu prezinte efecte primare de iritare și sensibilitate. Pielea este adesea sensibilă în afread cu aceste substanțe. Un caz particular este cazul rujurilor, în care se presupune o precauție deosebită în alegerea unui compus antioxidant adecvat, datorită faptului că acest produs ar putea a fi ingerat.

III.3.2 Aplicații în cosmetică: concepte și formulări

Vitaminele pot fi utilizate în formulările tuturor produselor cosmetice. Vitamina A (Retinyl Palmitate), C (Acid Ascorbic) și E (Tocopherol sau Tocopheryl Acetate) sunt cei mai populari antioxidanți folosiți în produsele de îngrijire a pielii. Sunt de asemenea utilizați în aceste formulări și ingrediente cosmetici naturali, bogați în antioxidanți. Unii dintre aceștia includ ceaiul verde, extractul de măceșe, uleiul de migdale, uleiul de sâmburi de struguri, precum și minerale, ca seleniul și zincul. Cei mai utilizați antioxidanți în formulările cosmetice sunt redați în Figura 3.

În creme și loțiuni, mai precis în produsele autobronzante, produse pentru protecție solară și uleiuri de corp, domeniul de dozare a vitaminei E poate fi și începând cu 25% [26].

II.4 Modul de acțiune a antioxidanților

Produsele cosmetice care conțin grăsimi și uleiuri, în special cele cu incidență mare a legăturilor nesaturate au tendința unei deteriorări oxidative. Compoziția grăsimii sau uleiului afectează gradul și ușurința cu care are loc acest proces [28]. Dacă există două sau mai multe legături duble, sau un sistem conjugat de legături nesaturate, atunci oxidarea va avea loc mai repede. Aproape toate uleiurile, cât și acizii grași a acestora, sunt expuse la degradare oxidativă, deoarece conțin componente cu două sau mai multe legături nesaturate.

Antioxidanții sunt adăugați grăsimilor și uleiurilor în cantități infime, datorita costului ridicat pe de o parte și a reglementărilor în vigoare pe de altă parte. Motivul principal însă este inversia, respectiv utilizarea în exces a unui antioxidant va avea un efect invers, de promovare a oxidării. Antioxidanții oferă o cale alternativă pentru oxidare, care nu implică substratul, ca, de exemplu grăsimile sau uleiurile. Agentul antioxidant nu funcționează pe o durată nelimitată; acesta este distrus în timpul procesului.

II.4.2 Mecanismul de acțiune al antioxidanților

Dacă privim inhibarea oxidării lipidelor, antioxidanții se împart în două categorii: antioxidanți care rup catenele (*chain-breaking antioxidants*) și cei care previn oxidarea (*preventive antioxidants*) [31]. Antioxidanții care rup catenele sunt substanțe care inhibă etapa de propagare, aceștia întrerupând lanțurile de autooxidare. Această perioadă de inhibiție puternică a oxidării lipidelor este denumită perioada de inducție. Antioxidanții care previn oxidarea funcționează prin

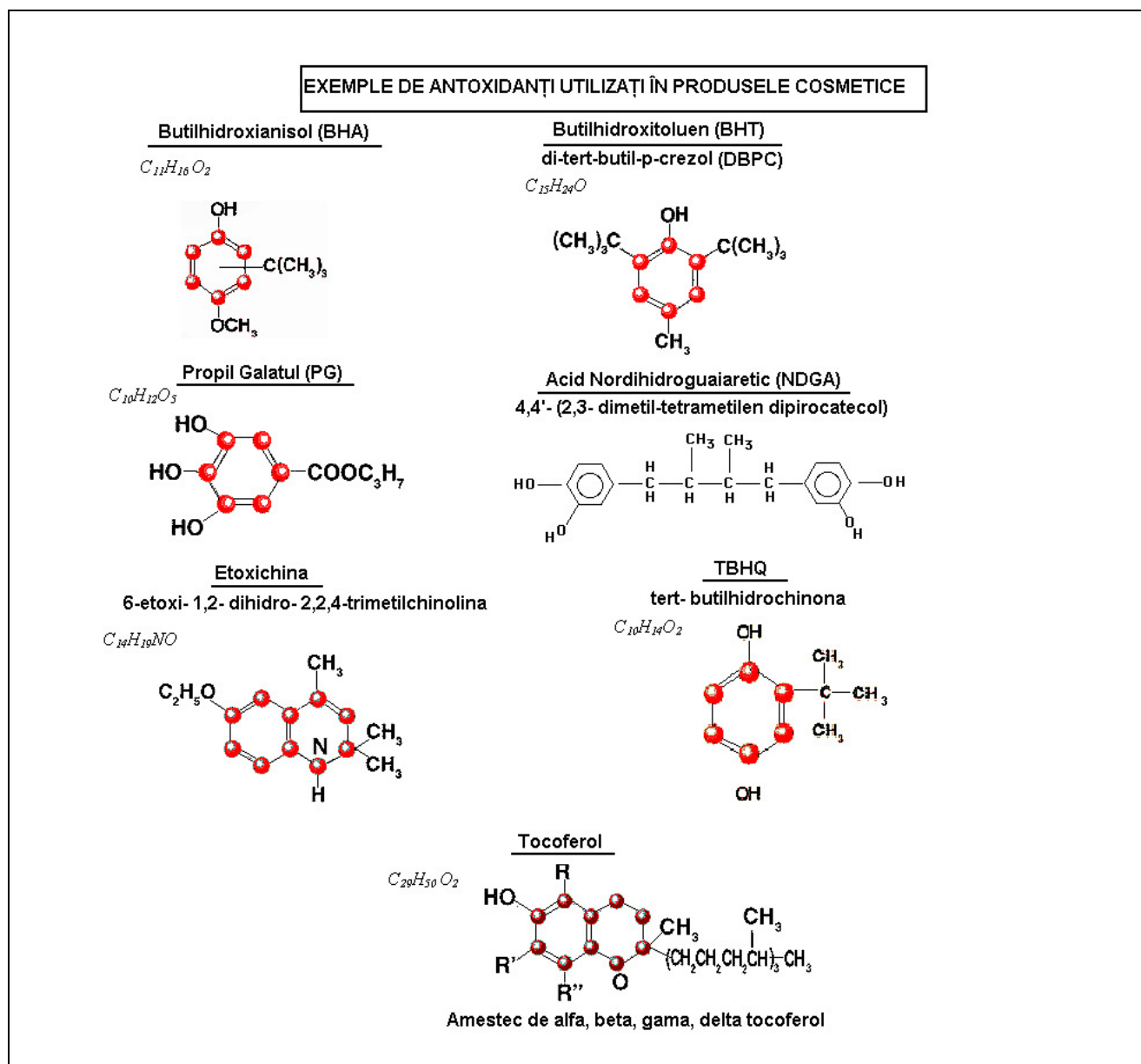


Figura 3: Antioxidanți utilizați în produse cosmetice

scăderea ratei autooxidării, prin inhibarea ratei reacțiilor de inițiere a acestor procese oxidative. Alte mecanisme pentru antioxidanții preventivi sunt fixarea de oxigen și reducerea hidroperoxizilor [33]. O parte din acești compuși pot acționa ca și agenți sinergici cu antioxidanții care rup catenele. Agenții sinergici sunt definiți ca fiind compuși care nu au activitate antioxidantă sau posedă una foarte scăzută, dar care pot potența efectul antioxidanților care acționează asupra catenelor. Antioxidanții pot avea efecte multiple, date de mecanismul lor de funcționare și de aceea pot fi dificil de interpretat. Mai mult, efectul antioxidant al unui compus se poate schimba în pro-oxidant sub anumite condiții de reacție sau concentrație.

Autooxidarea poate fi delimitată în trei etape individuale, după modelul unei reacții în lanț cu radical liber: *inițierea*, *propagarea* și *întreruperea* [34, 35] (Tabelul 4):

Tabelul 4: Mecanismul de acțiune al antioxidanților

Inițiere:	$RH \rightarrow R\cdot + H\cdot$	(1)
Propagare:	$R\cdot + O_2 \rightarrow ROO\cdot$	(2)
	$ROO\cdot + RH \rightarrow ROOH + R\cdot$	(3)
Înterupere:	$ROO\cdot + ROO\cdot \rightarrow ROOR + O_2$	(4)
	$ROO\cdot + R\cdot \rightarrow ROOR$	produși non-radicali (5)
	$R\cdot + R\cdot \rightarrow R-R$	(6)

În cadrul etapei inițiale, un radical alchil ($R\cdot$) se formează de la un acid gras nesaturat (RH)-reacția (1). Odată format, un radical alchil ($R\cdot$) reacționează foarte rapid cu oxigenul de la un radical peroxid ($ROO\cdot$)-reacția (2). A doua etapă a propagării, care este de fapt și determinantă de viteză-reacția (3), constă în modificarea unui radical peroxid ($ROO\cdot$), pentru a genera un hiperoxid ($ROOH$) și alt radical ($R\cdot$). Propagarea pașilor poate fi mai complicată decât un simplu transfer și poate conține etape adiționale. Reacțiile se încheie atunci când radicalii reacționează între ei și formează produși stabili, incapabili de a propaga reacțiile în lanț- reacțiile (4)-(6).

III. Metode de extracție a antioxidanților utilizați în cosmetică

Datorită faptului că antioxidanții utilizați în produsele cosmetice sunt prinși în matricea de produs cosmetic, extracția acestora din această matrice este dificilă, depinzând în mare măsură și de natura probei, care poate fi solidă sau lichidă. Pe de altă parte faza de extracție mai depinde și de tehnica prin care acești compuși urmează a fi analizați- spectrofotometric, electrochimic sau cromatografic.

Etapă de pregătire a probei în vederea determinării prin metode cromatografice a antioxidanților din produsele cosmetice este necesară atât pentru extracția analiților dintr-o matrice solidă cât și pentru preconcentrarea lor . Mai multe abordări au fost dezvoltate în acest scop, apoi aplicate pentru determinarea antioxidanților și vitaminelor din diferite tipuri de probe, printre care extracția cu solvenți organici, extracția pe fază solidă și extracția cu fluide în stare supercritică [38].

În ceea ce privește extracția antioxidanților din matricea în care aceștia se află există două abordări majore:

- *extracția directă a antioxidanților fără saponificarea grăsimilor*
- *extracția antioxidanților după saponificarea grăsimilor*

IV. Metode de analiză a antioxidanților utilizați în cosmetică

În general, utilizarea antioxidanților în produsele cosmetice se face în mod combinat, asocierea mai multor antioxidanți ducând la o creștere a puterii antioxidative a acestora din urmă. În același timp, acest lucru îngreunează procedeele de determinare a acestora datorită interferențelor ce

pot apărea și care duc în final la erori în rezultatele finale.

Metodele de analiză a antioxidantilor sunt multiple și depind de cele mai multe ori de dotarea materială a laboratoarelor de analiză, precum și de sensibilitatea ce se dorește a fi atinsă prin analiză. Cele mai importante metode de analiză a antioxidantilor utilizați în cosmetică sunt:

- *metodele spectrofotometrice*
- *metodele electrochimice*
- *metodele cromatografice*

Metodele cromatografice de toate tipurile, ca de exemplu cromatografia pe strat subțire [91], cromatografie de lichide [93-95] și de gaze [44] au fost aplicate în acest sens.

Cele mai utilizate metode cromatografice de analiză ale antioxidantilor sunt:

- *Cromatografia de Gaze*
- *Cromatografia de Lichide pe Strat Subțire*
- *Cromatografia de Lichide de Înaltă Performanță.*

PARTEA a II-a

CONTRIBUȚII ORIGINALE

V. Aplicarea metodei spectrometrice FTIR (ATR) pentru caracterizarea unor produse cosmetice de tip anti-aging și a ingredientelor active cu potențial antioxidant

Identificarea și cuantificarea ingredientelor active din produsele cosmetice, de îngrijire corporală și a părului se dovedesc deseori a fi provocatoare pentru chimiștii analiști. Adesea ingredientele active sunt prezente în concentrații scăzute, iar formulările cosmetice au compoziții complexe. Formularea tipică a unei creme (sistem de emulsie de tip apă/ulei) conține materii prime cosmetice ca apă demineralizată, glicerină, acid stearic, uleiuri minerale, trietanolamină, carbomeri și este conservată cu parabeni și antioxidanți, de cele mai multe ori aceștia fiind întâlniți în amestec în formulările cosmetice [140].

În primul rând, pentru ca o formulare cosmetică să îndeplinească toate cerințele de complexitate este necesar ca aceasta să aibă toate ingredientele adecvate (care includ emulsii, emolienți, materii prime hidratante, conservanți, compoziție de parfumare, coloranți) și de a include în formulare ingrediente active (filtre UV, extracte botanice sau animale), necesare pentru a susține efectele declarate ale produsului [143]. Ingredientele care fac obiectul unei formulări cosmetice pot fi clasificate generic în trei categorii: substanțe cu *caracter lipofilic*- uleiuri, grăsimi, tocoferoli (vitamina E), conservanți sintetici cu efect antioxidant, *emulgatori*- alcoolii grași de tip C₁₆-C₁₈, uleiuri siliconice și compuși *hidrofilici*, cum ar fi glicerina, un emolient întâlnit preponderent în formulările cosmetice. Echilibrul hidrofi/lipofil și ponderea emulgatorilor determină stabilitatea unei formulări cosmetice.

Antioxidanții de tip conservant sunt capabili de a inhiba reacțiile produse de speciile reactive de oxigen, evitând astfel oxidarea și rănecizarea materilor prime folosite în mod obișnuit pentru formularea cosmeticelor- uleiuri, grăsimi, ceruri, tensioactivi, compoziții de parfumare etc..

Având în vedere importanța vitaminei E pentru protecția epidermei din punct de vedere al prejudiciilor oxidative, precum și necesitatea unei evaluări corecte a activității antioxidante în formulări cosmetice, este de mare interes determinarea activității antioxidante a tocoferolilor sau a formulărilor topice care conțin aceste ingrediente, prin măsurarea capabilităților de donori de H [145].

Analiza spectrometrică în infraroșu, în general, și varianta sa optimizată (cu Transformantă Fourier) FTIR permite evidențierea „amprenteii” specifice pe baza grupărilor funcționale, precum și a unor modificări chimice care au loc în timpul procesului de oxidare. Metoda FTIR poate permite analiza calitativă și cantitativă a compoziției chimice a emulsilor, loțiunilor, produselor de îngrijire

a părului și a altor categorii de produse cosmetice [146]. FTIR este una dintre cele mai utilizate metode pentru a identifica compoziția chimică și pentru a elucida structura compușilor chimici și a fost introdusă ca metodă pentru identificarea compușilor din Farmacopeele mai multor țări. Datorită fingerprint-ului și aplicabilității extinse pentru o gamă largă de probe, FTIR joacă un rol important pentru analiza în domeniul farmaceutic și a industriei cosmetice [148].

Scopul metodei dezvoltate este reprezentat de studiul amprentelor specifice FTIR (ATR) pentru caracterizarea a trei tipuri de creme cosmetice grase sau semigrase și identificarea markerilor specifici de recunoaștere a ingredientelor active. Potențialul antioxidant al acetatului de tocoferol și al conservantului BHA existente, introduse uzual în creme sau în mod controlat, la concentrații cunoscute, într-o cremă standard a fost evaluat prin metoda DPPH [157].

V.1 MATERIALE ȘI METODE

V.1.1 Materiale

S-au utilizat trei tipuri de creme cosmetice obținute de la un furnizor local, denumite specific în funcție de efectele acestora: *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă*.

V.1.2 Metode

V.1.2.2 Determinarea acțiunii antioxidante prin metoda DPPH

S-a evaluat activitatea antioxidantă a unor ingrediente din creme, prin două tipuri de măsurători: prin introducerea în mod controlat a unor concentrații cunoscute de acetat de alfa-tocoferol (α -TA) și a conservantului butil-hidroxi-anisol (BHA) (experiment A) și prin măsurarea directă a acțiunii antioxidante a acestora, la concentrațiile uzuale introduse în cele trei creme investigate (experiment B).

Experiment A. Activitatea antioxidantă a acetatului de alfa-tocoferol și a conservantului butil-hidroxi-anisol (BHA) a fost testată pe o cremă cu compoziție de tip *Lift Intensiv Hidratantă*, în care s-au introdus în mod controlat concentrații diferite de acetat de alfa-tocoferol și/sau BHA.

Tabelul 9 reprezintă concentrațiile C0-C6 de acetat de alfa-tocoferol și/sau BHA, introduse în mod controlat în crema *Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă*, pentru a evalua activitatea antioxidantă prin metoda DPPH.

Experiment B. Activitatea antioxidantă a fost determinată la cremele 1-3, care aveau în prealabil o concentrație declarată de 0,5% α -TA și 0,05% BHA.

Tabelul 9: Concentrațiile de α -TA și BHA introduse în mod controlat în Cr. Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă pentru a determina activitatea antioxidantă

Cr. Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă		
Concentrație (%)	α -Tocoferol acetat	BHA
C0	-	-
C1	0,1%	-
C2	0,2%	-
C3	0,5%	0,05%
C4	0,5%	-
C5	-	0,05%
C6	0,1%	0,05%

V.1.2.3 Utilizarea metodei FTIR

Pe baza datelor obținute din spectrometria FTIR, utilizând absorbbanțele la anumite frecvențe, s-au calculat indicii de nesaturare, de peroxidare și de carbonil [146, 158, 159], considerând formulele:

Indicele de nesaturare (raportat la banda de absorbție $\nu_{C=CH}$ at 3006 cm^{-1}):

$$\frac{A_{3006}}{A_{3006} + A_{2921} + A_{2851}} \quad (V.1)$$

Indicele carbonil (raportat la banda de absorbție $\nu_{C=O}$ at 1746 cm^{-1}):

$$\frac{A_{1746}}{\sum A_i} \quad (V.2)$$

unde: $\sum A_i$ reprezintă suma arilor dintre 1800 și 650 cm^{-1} .

Indicele de peroxidare (lărgirea benzii $3460\text{-}3480\text{ cm}^{-1}$).

V.2 REZULTATE ȘI DISCUȚII

V.2.1 Date de referință privind compoziția cremelor și spectrele FTIR specifice unor produse uleioase.

Figura 9 prezintă comparativ compoziția celor trei tipuri de creme investigate. Se constată că acestea diferă prin ponderea diferită între componentele lipofilice și hidrofilice.

Dacă crema *Grasă Antirid Contur Ochi* are în compoziție acid stearic, alcool cetilic și octildodecanol și glicerină, extract de castravete și fosfat de cetil potasiu, componente polare, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* este mai bogată în componente nepolare (gliceril stearat, ulei avocado, ulei de soia, Ceteareth 20), în echilibru cu glicerina și extractul de castravete. În schimb, *Crema Grasă Lift Restructurantă* are mai puțin ulei de soia și alcool cetilic, fiind mai bogată în Ceteareth 20 și unt de cacao.

Pentru a interpreta adecvat amprenta FTIR specifică a acestor creme, s-a luat ca reper

spectrul FTIR specific produselor uleioase, cu evidențierea frecvențelor specifice grupărilor funcționale și a zonelor de recunoaștere (fingerprint) (Figura 10).

Pe baza acestui spectru s-au identificat zonele specifice de frecvențe (I-IV) care se pot atribui unor grupări funcționale din ingrediente și creme (Tabelul 10).

Tabelul 10: Identificarea zonelor de frecvență specifice unor uleiuri și emulsii (creme) și atribuirea lor

Zona de frecvență (cm^{-1})	Frecvențe caracteristice (cm^{-1})		Atribuire
Zona IV < 1000	721 921 954 995	- C = C trans - C = C cis	Compuși cu legături duble conjugate: acizi grași polinesaturați, carotenoide Tocoferoli
Zona III 1100 - 1800	1743 1718 1643 1465 1379 1111 1109 1165 1205 1043	COOH C = R OR -CH ₂ -CH ₃ - ν O-CH ₂ - ν C - O C- OR	Esteri Acizi grași liberi Aldehyde și cetone (arome) Grăsimi saturate Glicerină
Zona II 2270 - 2400	2358 2331	C = O	CO ₂
Zona I > 2800	2850 2916 2954	C - H (C = C) cis	Acizi grași naturali Colesterol sau fitosteroli Lanțuri polienice

Pe baza acestor indicații s-au caracterizat spectrele specifice componentelor din cremele investigate și anume emolienții naturali, emolienți sintetici, a emulgatorilor și a antioxidanților.

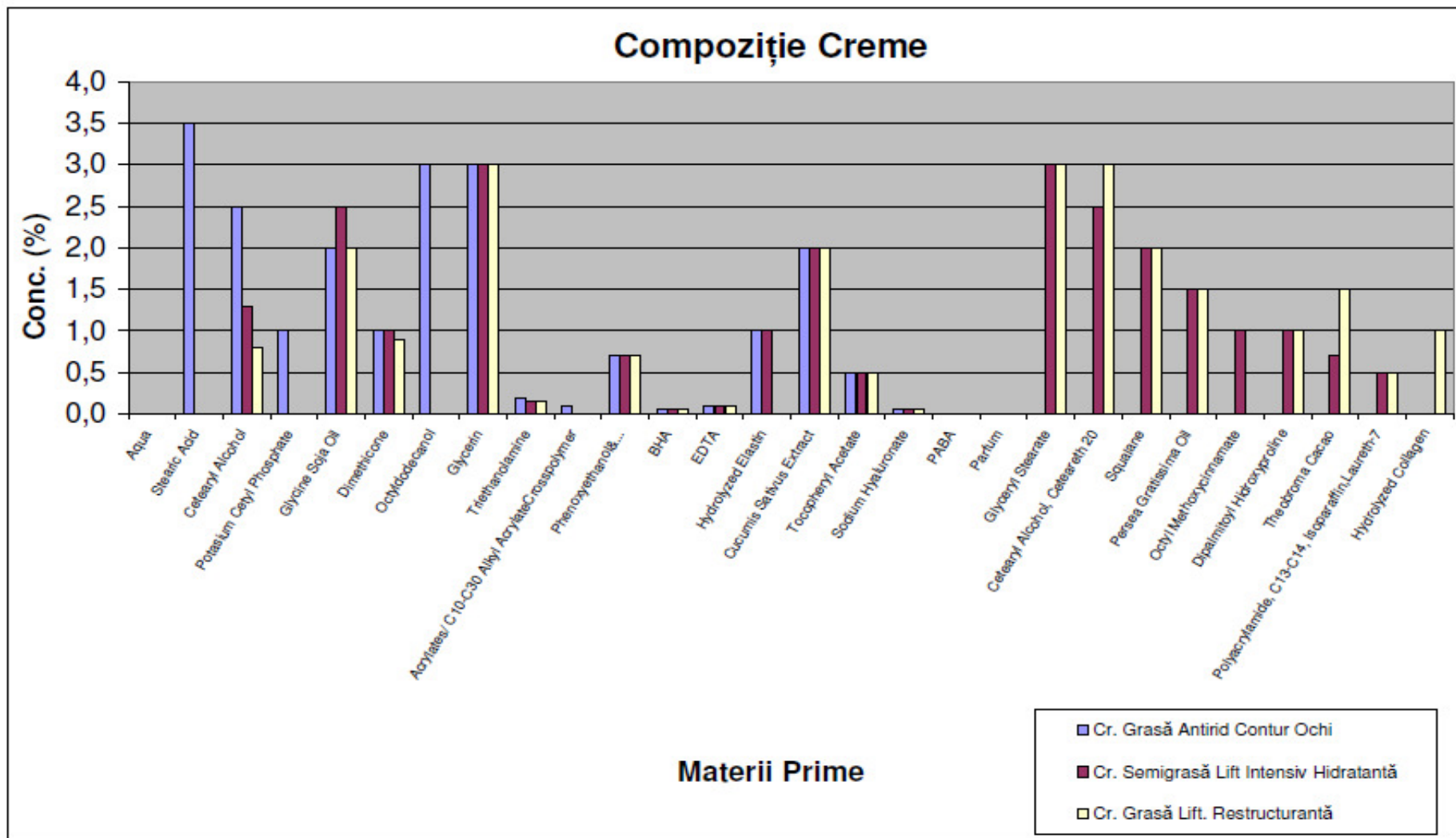


Figura 9: Reprezentarea grafică a compoziției cremelor utilizate în studiu

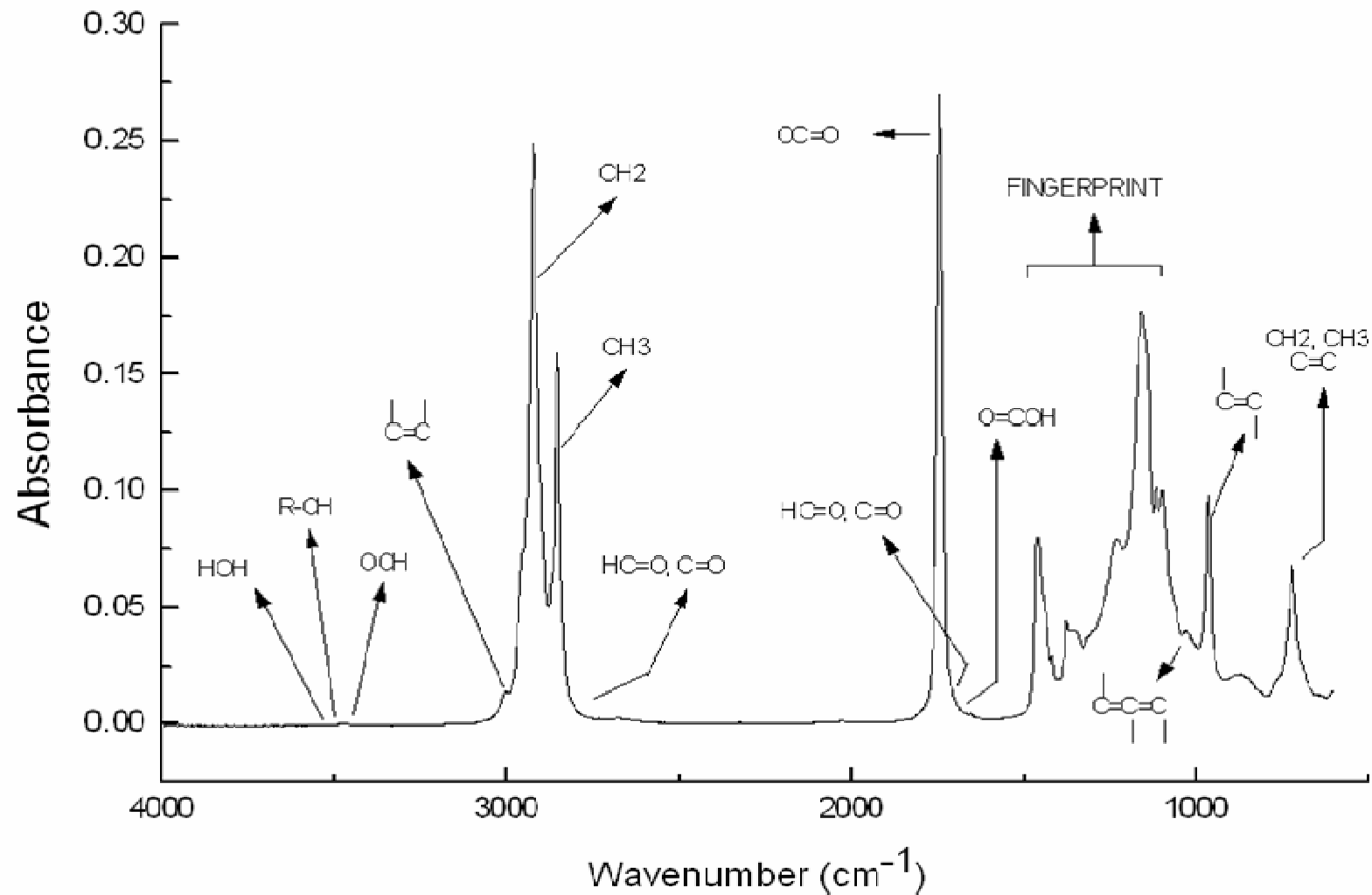


Figura 10: Spectrul FTIR specific produselor uleioase, cu evidențierea frecvențelor specifice grupărilor funcționale și a zonei de fingerprint

V.2.4 Caracterizarea cremelor prin spectre FTIR generice și zone de fingerprint.

Figura 16 reprezintă amprentele specifice FTIR (ATR) ale cremelor investigate. Figura prezintă comparativ spectrul FTIR al cremelor cu α -TA (a), spectrul general cu marcarea celor patru zone specifice (I-IV) (b) și detalii privind zona de fingerprint IV (c).

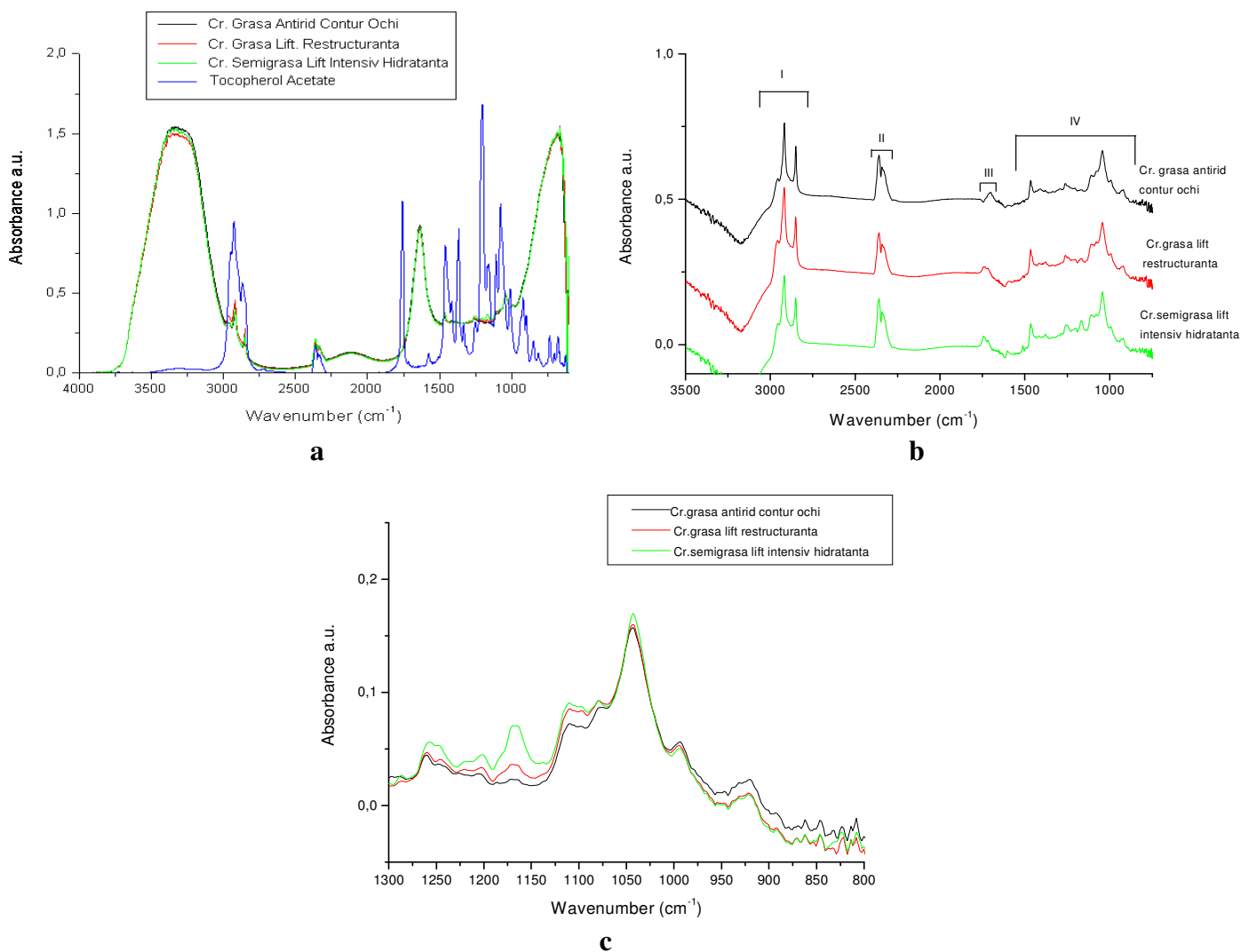


Figura 16: Amprelele specifice FTIR (ATR) ale cremelor investigate: a- Amprenta specifică FTIR a cremelor comparativ cu acetatul de tocoferol (α -TA); b- Reprezentarea spectrului FTIR (ATR) specific celor trei creme, cu marcarea zonelor specifice I-IV; c- Evidențierea zonei de fingerprint (zona IV), comparativ la cele trei tipuri de creme

Toate cele trei creme au un spectru FTIR asemănător, fiind foarte greu a fi diferențiate, deosebirile de compoziție prezentate în Figura 9 fiind prea mici pentru a se remarca deosebiri în absorbția IR. În zona de fingerprint IV (Figura 16 c) se evidențiază totuși intensități mai mari în zona de frecvență 1150-1200 cm⁻¹ (esteri și grăsimi) pentru crema *Crema Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și respectiv în zona 800-1000 cm⁻¹ pentru *Crema*

Grasă Antirid Contur Ochi (mai bogată în compuși polari).

Tabelul 16 include frecvențele specifice și intensitatea semnalelor la cele trei tipuri de creme.

Tabelul 16: Frecvențele specifice și intensitatea semnalelor la cele trei tipuri de creme

Zonă de frecvență (cm ⁻¹)	Cr. Grasă Antirid Contur Ochi		Cr. Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă		Cr. Grasă Lift Restructurantă		
	Numărul de undă	Intensitatea	Numărul de undă	Intensitatea	Numărul de undă	Intensitatea	
IV	920	0,331	921	0,0218	921	0,021	
	993	0,0662	995	0,0623	995	0,063	
	1043	0,1674	1043	0,1815	1043	0,1699	
III	1078	0,0968	1080	0,1043	1080	0,1025	
	1109	0,0824	1111	0,1027	1109	0,0955	
	1165	0,0327	1168	0,0826	1170	0,0464	
	1205	0,038	1201	0,0571	1203	0,0433	
	1247	0,0468	1257	0,068	1246	0,0508	
	1261	0,0544	1286	0,0389	1259	0,0569	
	1379	0,0299	1379	0,0353	1379	0,0351	
			1419	0,03	*1417	0,0297	
	1465	0,0648	1465	0,0725	1465	0,0771	
	1701	0,0234	1718	0,0147	1718	0,0137	
	II			**1743	0,0286	***1743	0,0171
		2331	0,0993	2331	0,1011	2331	0,0864
		2358	0,1521	2358	0,1586	2358	0,1349
I	2848	0,182	2850	0,1606	2850	0,1891	
	2916	0,2633	2916	0,2372	2916	0,2891	
	2954	0,0712	2954	0,0732	2956	0,1086	

Se remarcă doar două tipuri de frecvențe specifice, marcate **, respectiv ***, la cremele *Crema Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Crema Grasă Lift Restructurantă*.

V.2.5 Activitatea antioxidantă a cremelor investigate.

Prin metoda DPPH nu s-a putut pune în evidență activitatea antioxidantă a celor doi compuși analizați. Rezultatul obținut este confirmat și de alte studii care relevă faptul că acetatul de tocoferol, deși este mai stabil decât tocoferolul, nu are activitate antioxidantă [142, 145, 160, 161] utilizat individual în produse cosmetice, acesta fiind un antioxidant sinergic.

Tabelul 17 redă valorile indicilor de nesaturare (IN) și a celor carbonil (IC), considerând valorile absorbțiilor măsurate la diferite frecvențe IR (descrise la Materiale și Metode).

S-a constatat că cele trei creme au în general valori apropiate pentru IN și IC, totuși *Crema Grasă Antirid Contur Ochi* are un IN mai mare, în timp ce *Crema Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* are un IC mai mare. Lipsa benzii de peroxidare indică stabilitatea oxidativă a acestor creme.

Tabelul 17: Indicii de Nesaturare și Indicii Carbonil pentru cremele studiate

	IN	IC
<i>Cr. Grasă Antirid Contur Ochi</i>	$\frac{0,3631}{0,3631 + 0,3707 + 0,2315} = 0,3761$	$\frac{0,1621}{0,1008 + 1,3627} = 0,1107$
<i>Cr. Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	$\frac{0,3401}{0,3401 + 0,3801 + 0,2295} = 0,3581$	$\frac{0,1956}{0,0942 + 1,3875} = 0,1320$
<i>Cremă Grasă Lift Restructurantă</i>	$\frac{0,3447}{0,3447 + 0,4296 + 0,2553} = 0,3347$	$\frac{0,1854}{0,0972 + 1,3594} = 0,1272$

V.3 CONCLUZII

Utilizarea spectrometriei FTIR a permis evidențierea amprentei specifice a celor trei tipuri de creme investigate precum și a ingredientelor din aceste produse cosmetice, în funcție de rolul lor în amestec.

Astfel, comparând compoziția diferită a cremelor, în funcție de raportul între ingredientele lipofile/hidrofile, între ingrediente de tip emolient-emulgator, antioxidant, și ingrediente active (extract castravete, acetat de tocoferol) s-au constatat:

1. similitudini privind forma spectrelor FTIR între diferiți emolienți naturali, cu evidențierea totuși, a unor frecvențe specifice și markeri de recunoaștere, mai ales pentru uleiul de soia.
2. asemănări ale amprentelor FTIR între emulgatorii de tip stearat și emulgatorii de tip cetearil.
3. deosebiri nete între acilați și respectiv stearat și Cetearith.
4. deosebiri semnificative între emolienții sintetici, Dimethicone și Octildodecanol.
5. identificarea deosebirilor dintre antioxidanții naturali (în cazul de față acetatul de α -tocoferol) și cei sintetici (BHA) și evidențierea markerilor (frecvențe și semnale) specifici.
6. evidențierea principilor active (arome) din extract de castravete și a amprente sale în propilenglicol comparativ cu glicerina- ambele ingrediente fiind hidrofile.

În cazul cremelor, aspectul spectrului FTIR este similar, cu evidențierea unor deosebiri în intensitatea unor benzi, identificate în zonele 1150-1200 și 800-1000 cm^{-1} .

În concluzie, datele obținute pe analiza ingredientelor sunt foarte utile și constituie o bază de date pentru identificarea individuală a acestora sau pe categorii de componente. În cazul cremelor cu compoziție complexă, mai ales când acestea diferă prin procente mici între componentele polare și nepolare, este greu a evidenția markerii de recunoaștere prin metoda

FTIR (ATR). Datele obținute prin analiza FTIR necesită a fi corelate cu metode cromatografice (HPLC sau GC) în scopul de a valida determinarea componentelor individuale în formulări cosmetice.

Acțiunea antioxidantă a cremelor prin adaosuri de molecule cu potențial antioxidant pare a fi o problemă complexă ce impune studii ulterioare. Chiar dacă molecule precum BHA sau α -tocoferol acetat, luate individual, au acțiune antioxidantă (prin metoda DPPH), în amestecuri complexe cu lipide, mai ales când concentrația lor este sub 1%, acțiunea antioxidantă nu mai poate fi sesizată prin măsurători uzuale. Metode cu sensibilitate mai înaltă, precum rezonanța electronică de spin (RES) ar putea da, probabil, informații suplimentare privind potențialul antioxidant al unor amestecuri complexe, așa cum sunt cremele cosmetice.

VI. Analiza prin metode cromatografice a unor antioxidanți sintetici și naturali utilizați în produse cosmetice

Formulările cosmetice conțin amestecuri multiple de materii prime, substanțe active și conservanți care aparțin unor clase chimice diferite, caracterizate prin diferite grupări funcționale [143]. Prin urmare, sunt necesare metode de analiză multicomponente; în acest sens, tehnicile cromatografice de analiză sunt cele mai frecvent utilizate pentru determinarea antioxidanților și conservanților din produsele cosmetice.

Pentru analizele bazate pe tehnici cromatografice de lichide sau de gaze, pregătirea probelor, în funcție de natura și complexitatea matricei, utilizează fie operații simple de diluție cu solvenți sau amestecuri de solvenți adecvați, fie operații mai complexe pentru extragerea analitului din matricea solidă. De multe ori este necesară și o etapă suplimentară de purificare, folosind extracția pe fază solidă. Pregătirea probelor este necesară și în cazul determinării conservanților și antioxidanților din matrici complexe sau din probe heterogene, în care sunt posibile probleme de interferență. Cea mai la îndemână metodă pentru prelucrarea probelor din formulări cosmetice de tip „ulei în apă” este diluția și omogenizarea probei, sonicare sau centrifugare și filtrare.

Metodele utilizate pentru extracția conservanților și antioxidanților din produsele cosmetice depind în primul rând de natura produselor cosmetice- emulsii, creme, șampoane etc. și de asemenea de caracteristicile tehnicilor analitice care se utilizează pentru determinarea substanțelor active. Procedurile descrise în literatura de specialitate au fost grupate în funcție de produsul cosmetic analizat și prezentate după categoriile de produse cosmetice clasificate în Anexa I din Directiva EU privind produsele cosmetice (Directiva 76/768/CEE a Consiliului UE) [163] (Figura 17):

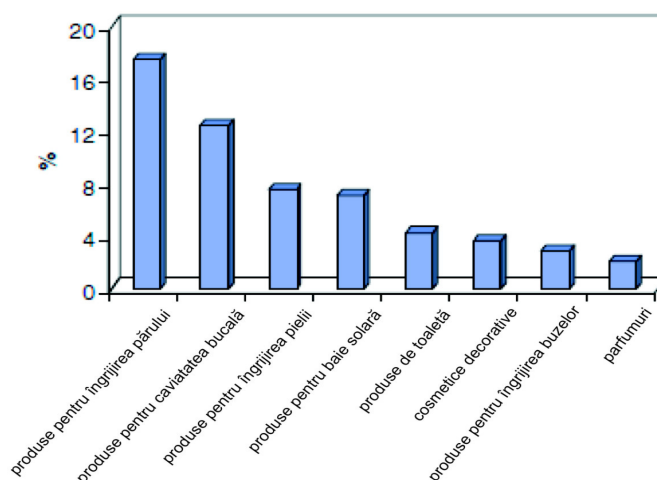


Figura 17: Procentajul procedurilor analitice în funcție de categoriile de produse cosmetice

Matricea produselor cosmetice este complexă, formulările cosmetice conțin un număr ridicat de ingrediente și adesea analiza acestor produse necesită prelucrări ale probelor (solubilizare, purificare și/sau preconcentrare). Dizolvarea probelor poate fi efectuată folosind substanțe chimice adecvate și/sau solvenți organici, proces asistat de un tratament fizic complementar cum ar fi încălzire sau expunerea la radiații cu ultrasunete sau microunde. Uneori procedura de analiză necesită o etapă de prelucrare/preconcentrare a analiților de interes, ca de exemplu extracția pe fază solidă sau extracția cu lichide (Figura 18).

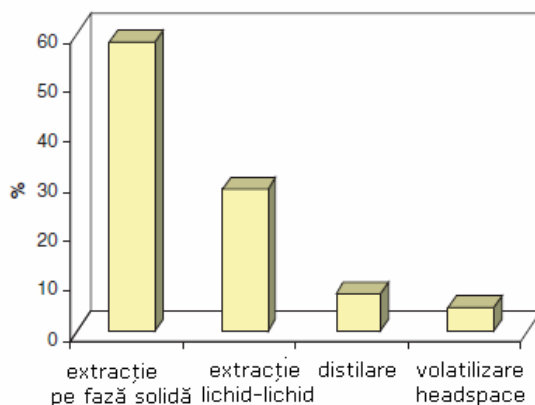


Figura 18: Frecvența relativă de pretratare/preconcentrare a analiților

În unele cazuri analiții necesită transformarea în compuși cu caracteristici analitice mai bune pentru tehnica de analiză utilizată, de exemplu prin intermediul derivatizării. Cromatografia de gaze necesită transformarea analiților slab volatili în derivați volatili. Alte reacții, cum ar fi reacția de saponificare pot fi aplicate pentru prelucrarea probelor (Figura 19).

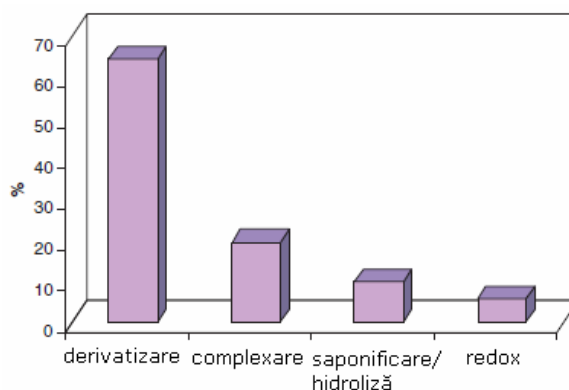


Figura 19: Frecvența relativă a reacțiilor chimice a analiților supuși analizei cromatografice

Referințele din literatură privind analiza produselor cosmetice au fost clasificate în cinci grupe în funcție de analiza utilizată (Figura 20) și anume, tehnici cromatografice și tehnici conexe, cum ar fi electroforeza (69%), spectroscopia moleculară (15%), măsurători electrochimice (8%), spectroscopia atomică (5%) și altele (3%) [143].

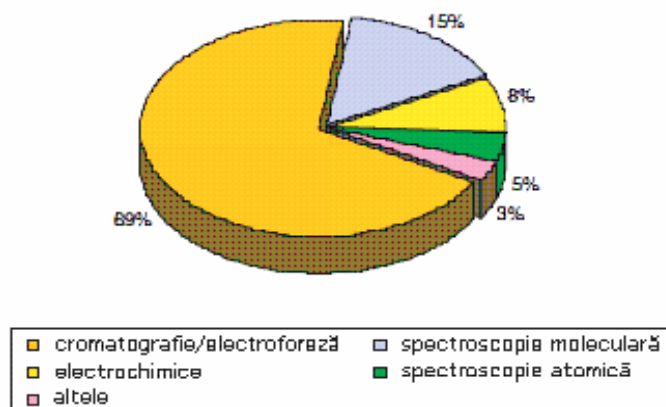


Figura 20: Procentajul tehnicilor analitice utilizate în metodele raportate pentru analiza produselor cosmetice

Metodele oficiale de analiză aprobate de diferite legislații nu sunt suficiente pentru a efectua controlul analitic necesar a produselor cosmetice. Dezvoltarea și validarea unor noi metode analitice pentru produsele de îngrijire este încă un domeniu în curs de dezvoltare, cercetările în domeniul chimiei analitice aducând îmbunătățiri la fezabilitatea controlului calității cosmeticelor [173].

Utilizarea antioxidanților în produsele cosmetice și de îngrijire se poate face, fie individual, fie în amestec, puterea de antioxidare crescând atunci când aceștia se folosesc în amestec. Unul dintre cei mai utilizați antioxidanți sintetici utilizați în formulările cosmetice este BHA (3-tert-butil-4-hidroxi anisol), iar din clasa antioxidanților naturali α -TA (alfa tocoferol acetat) este adesea întâlnit în formulările de tip anti-aging. Structura chimică a celor doi antioxidanți, cel sintetic și cel natural este prezentată în Figura 21:

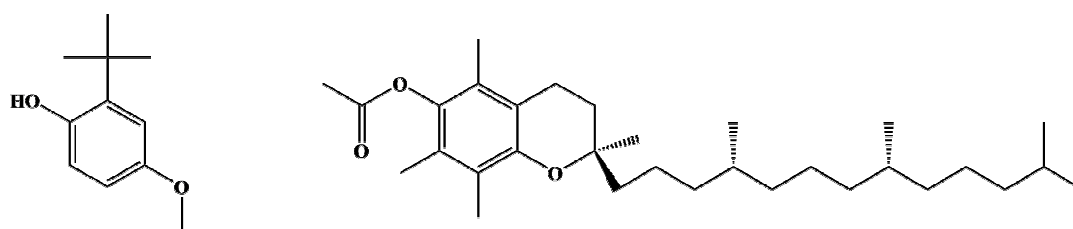


Figura 21: Structura BHA și α -TA

Studiul de față conturează rolul și importanța antioxidanților în formulările cosmetice și își propune totodată să îmbunătățească unele metode de analiză a acestor compuși din categoria de produse cosmetice de tip anti-aging. S-au vizat două aspecte ale analizei: pregătirea probei, care s-a efectuat prin extracția cu diverse sisteme de solvenți, extracția pe fază solidă și saponificare și analiza propriu-zisă, care s-a realizat fie prin GC-FID, fie prin HPLC-UV, urmărindu-se determinarea condițiilor optime de analiză. Analizele s-au efectuat pe probe sintetice (formulări de creme de tip anti-aging fortificate cu diverse cantități de BHA

la nivel de concentrație de 0,05% și α -TA la nivel de concentrație de 0,5%), pe creme disponibile comercial și pe formularea originală, propriu dezvoltată.

VI.1 Analiza prin cromatografie de gaze a antioxidanților sintetici și naturali din produse cosmetice

Antioxidanții folosiți în studiu și prezentați în Tabelul 18 sunt disponibili comercial:

Tabelul 18: Lista antioxidanților studiați

<i>Lista antioxidanților și conservanților studiați</i>		
<i>Denumirea chimică</i>	<i>Formulă</i>	<i>Producător</i>
3-tert-butil-4-hidroxi anisol	BHA	JAN DEKKER Nederland B.V.
Tocoferol Acetat	α -TA	BASF

Condiții pentru determinările cromatografice

Analizele cromatografice au fost efectuate pe un gaz cromatograf Shimadzu 2010 Model echipat cu detector FID. În sistem s-a folosit o coloană capilară din silice fuzibilă DB-5, 30m x 0,25 mm ID, cu o fază staționară de 5% difenil- 95% dimetilpolisiloxan, cu grosimea de 0,25 μ m. Temperatura cuptorului a fost menținută la 120°C timp de 5 minute, iar apoi mărită cu o viteză de 10°C/min până la 310°C unde a fost menținută timp de 10 min.. Parametrii detectorului au fost menținuți la 320°C, cu debite de N₂-30 mL/min. și H₂-40 mL/min. și aer 200mL/min.. Temperatura de injecție a fost de 350°C. S-au analizat cantități de câte un 1 μ l din soluțiile standard și soluțiile de probă, folosind condițiile descrise mai sus.

VI.1.1 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu etanol urmată de analiza GC-FID

Pentru determinarea simultană a antioxidanților naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA în trei formulări cosmetice de tip „oil in water” (o/w), a fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID. O procedură simplă de extracție cu etanol a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate [178].

S-a obținut o separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=8,073$ și $t_{R,\alpha-TA}=23,301$, prin condițiile cromatografice utilizate. Figura 22 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați.

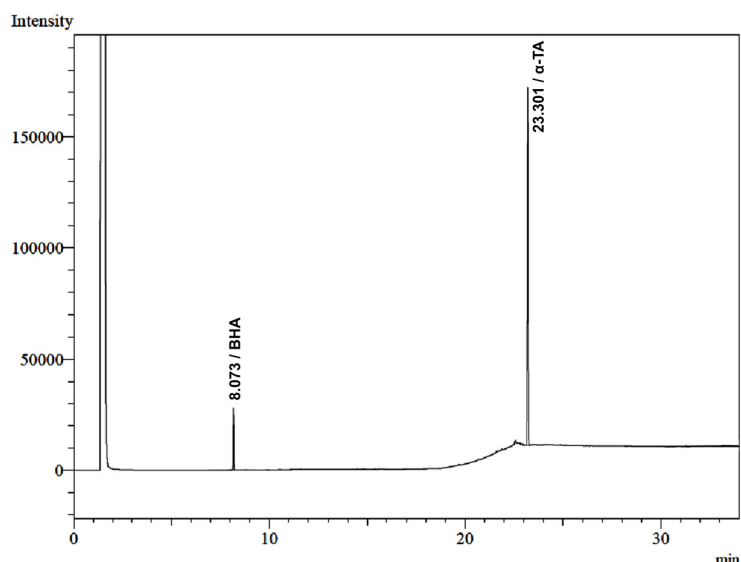


Figura 22: Cromatograma GC a unui standard de BHA și α-TA utilizând metodele de prelucrare a probei și condițiile cromatografice descrise

Dreptele de calibrare pentru BHA și α-TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 23A pentru BHA, respectiv în Figura 23B pentru α-TA:

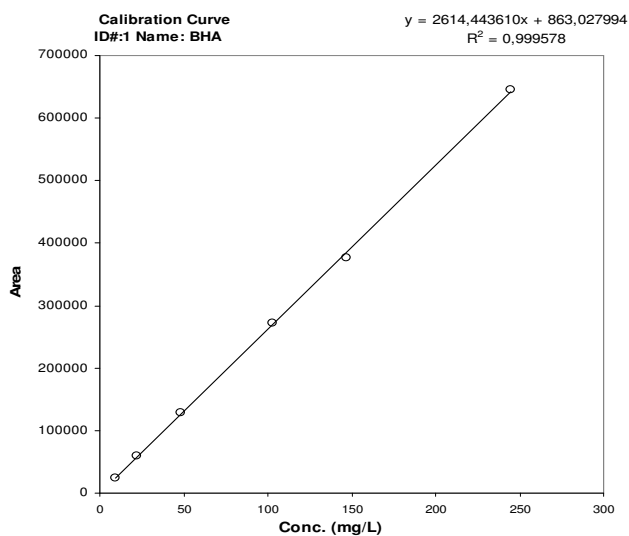


Figura 23A: Curba de calibrare a BHA

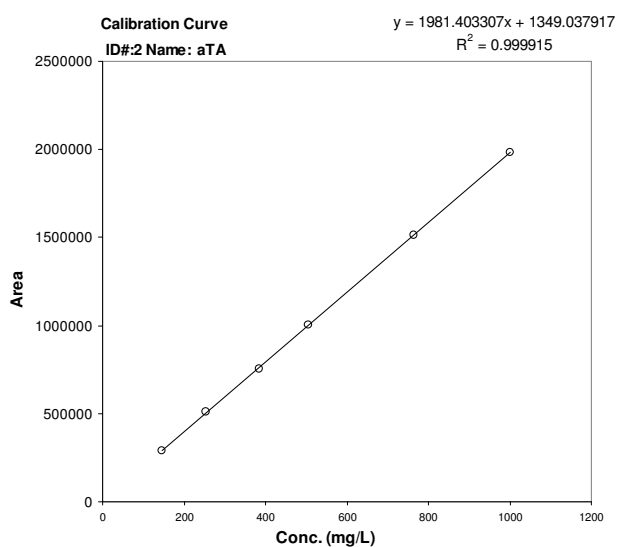


Figura 23B: Curba de calibrare a α-TA

Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,131 mg/L pentru BHA, respectiv 0,383 mg/L pentru α-TA și valori ale limitei de determinare de 0,396 mg/L pentru BHA, respectiv 1,160 mg/L pentru α-TA.

Trei probe de creme anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă*- au fost preparate în laborator.

Blank-ului de cremă i s-au adăugat controlat cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA. Analiza probelor a fost efectuată în triplicat pentru toate cele trei creme luate în studiu, pentru a permite calculul deviației standard (DS) și a deviației standard relative (DSR) ca și măsură a repetabilității cromatografice.

Trei mostre din probe comerciale ale cremelor luate în studiu, ce au conținut combinații ale antioxidantilor descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard.

Cromatograma unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi* este prezentată în Figura 24. Cromatograma unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă* este prezentată în Figura 25, respective Figura 26:

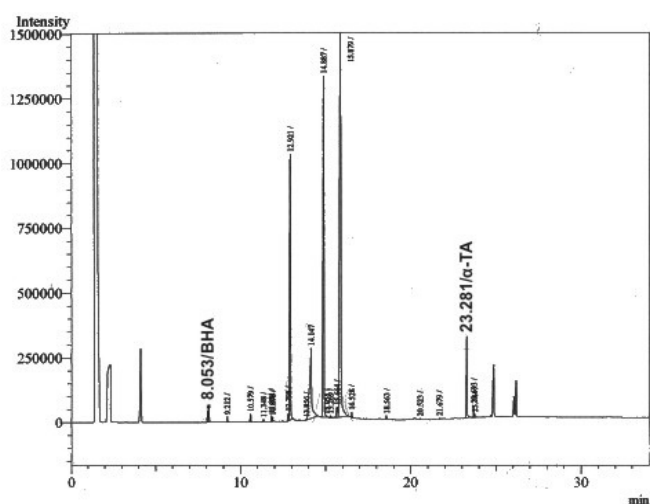


Figura 24: Cromatograma GC a unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi*

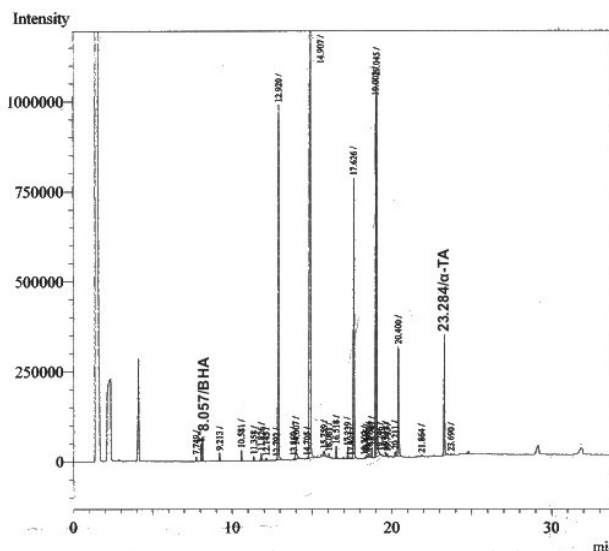


Figura 25: Cromatograma GC a unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă*

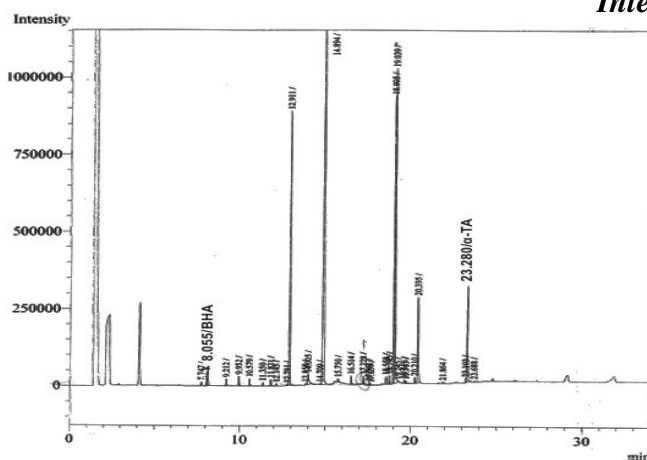


Figura 26: Cromatograma GC a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă*

Concentrațiile determinate ale antioxidantilor analizați în trei probe de creme de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și

Cremă Grasă Lift Restructurantă determinate prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidantilor determinați în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 25:

Tabelul 25: *Valorile concentrațiilor antioxidantilor în probele de cremă analizate*

Proba analizată	Concentrație ± DS Probă (g/100g)		Grad de recuperare (%)		Concentrație ± DS Probă comercială (g/100g)		Concentrație declarată (g/100g)	
	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,0447 ± 0,003	0,4241 ± 0,002	89,4	84,8	0,0413 ± 0,002	0,4391 ± 0,002	0,05	0,5
<i>Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,0468 ± 0,002	0,4414 ± 0,003	93,6	88,3	0,0438 ± 0,002	0,4663 ± 0,003	0,05	0,5
<i>Cremă Grasă Lift Restructurantă</i>	0,0470 ± 0,001	0,4159 ± 0,004	94,0	83,2	0,0406 ± 0,002	0,4284 ± 0,003	0,05	0,5

n = 3

Metoda a permis o determinare simultană, simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsele anti-aging, formulări cosmetice ce conțin un număr ridicat și variat de ingrediente cosmetice. Rezultatele obținute demonstrează că metoda propusă pentru analiza antioxidantilor cu un grad mare de interferență, din produsele cosmetice este adecvată.

Datorită asemănărilor grupărilor funcționale ale tocoferolilor și antioxidantilor sintetici s-a decis investigarea prin aceleași metode a acestor grupe de antioxidanți. Obiectivul acestui studiu a fost determinarea cantitativă simultană a alfa tocoferol acetatului și a 3-tert-butil-4-hidroxi-anisolului din formulări cosmetice prin analiza GC cuplată cu detector FID.

VI.1.2 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol urmată de analiza GC-FID

Pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA în trei formulări cosmetice de tip o/w, a fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID. O procedură simplă de extracție cu

amestec organic metanol:acetonitril a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate [182].

O separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=10.118$ și $t_{R,\alpha-TA}=26.074$ s-a obținut prin condițiile cromatografice utilizate.

Figura 29 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați:

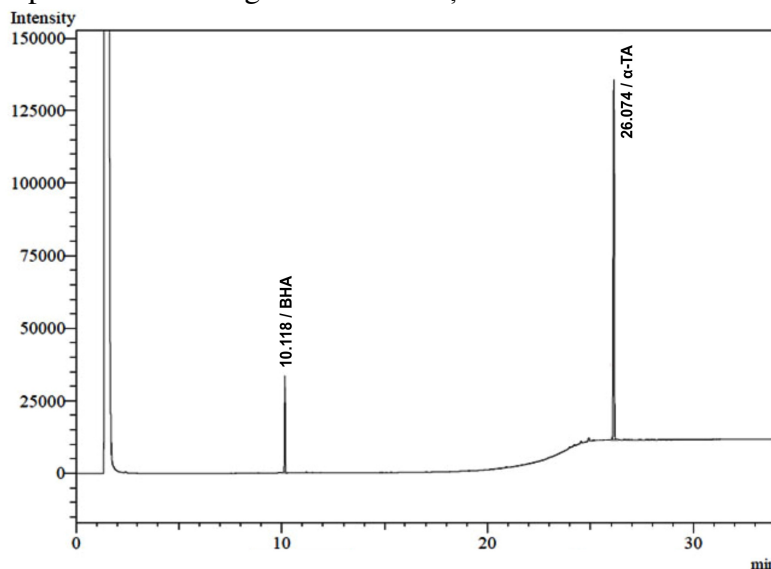


Figura 29: Cromatograma GC a unui standard de BHA și α-TA utilizând metodele de prelucrare a probei și condițiile cromatografice descrise

Dreptele de calibrare pentru BHA și α-TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 30A pentru BHA, respectiv Figura 30B pentru α-TA:

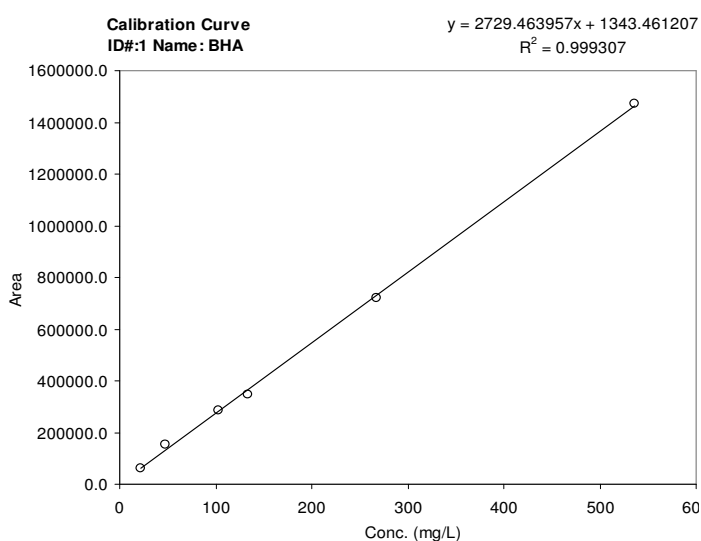


Figura 30A: Curba de calibrare a BHA

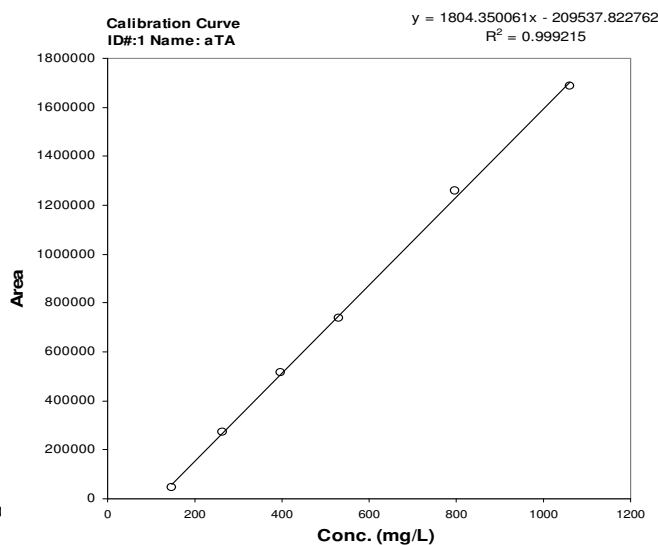


Figura 30B: Curba de calibrare a α-TA

Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,136 mg/L pentru BHA, respectiv 1,237 mg/L pentru α-TA și valori ale limitei de determinare de 0,413

mg/L pentru BHA, respectiv 3,749 mg/L pentru α -TA.

Trei probe de creme anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă*- au fost preparate în laborator. S-a adăugat controlat în creme cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA.

Trei mostre din probe comerciale ale cremelor luate în studiu, ce au conținut combinații ale antioxidanților descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard.

Cromatograma unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi* este prezentată în Figura 31.

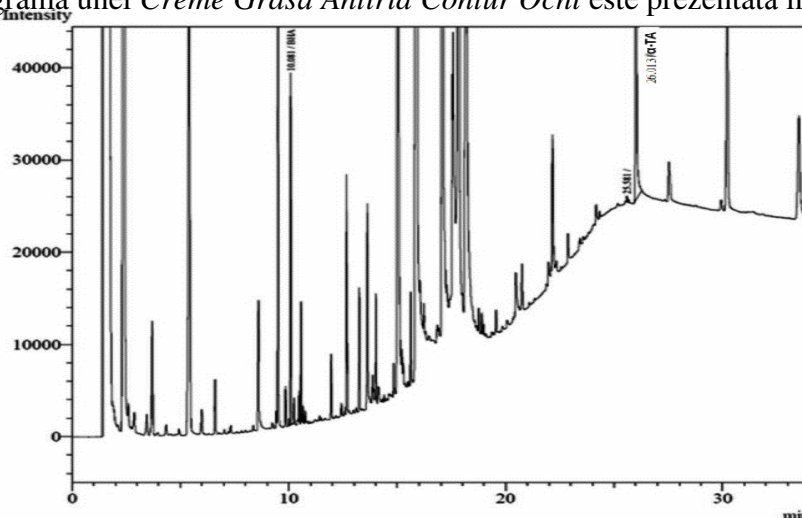


Figura 31: Cromatograma GC a unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi*

Cromatograma unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă* este prezentată în Figura 32, respective Figura 33:

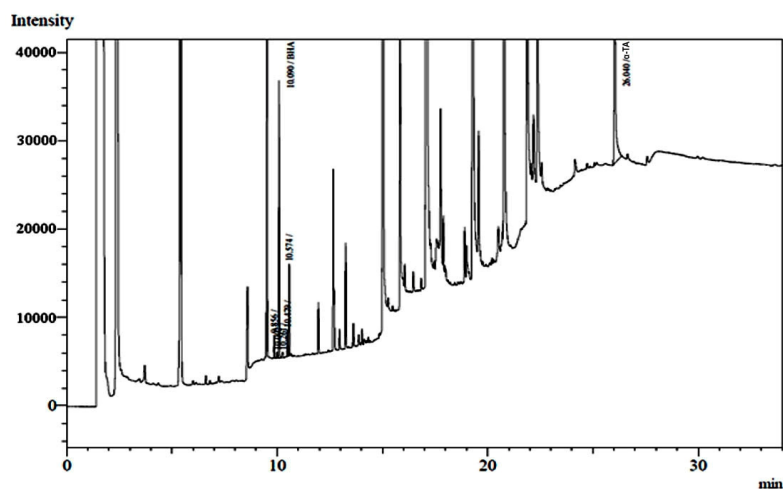


Figura 32: Cromatograma GC a unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă*

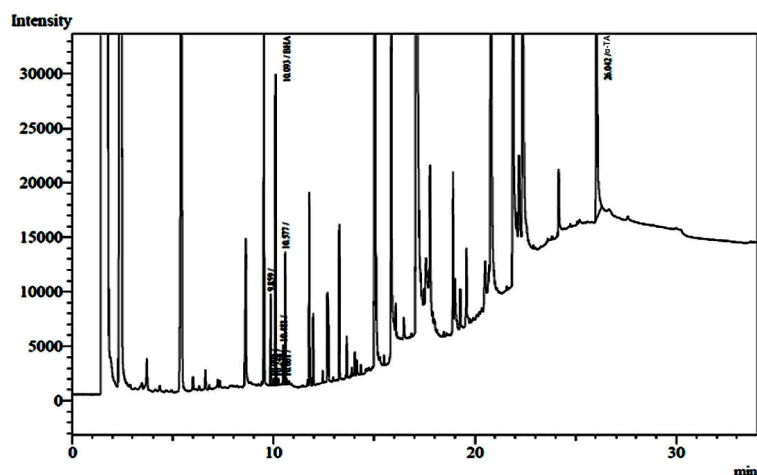


Figura 33: Cromatograma GC a unei *Cremă Grasă Lift Restructurantă*

Concentrațiile determinate ale antioxidanților analizați în trei probe de creme de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă* determinate prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidanților determinați în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 32:

Tabelul 32: Valorile concentrațiilor antioxidanților în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație ± DS Probă (g/100g)		Grad de recuperare (%)		Concentrație ± DS Probă comercială (g/100g)		Concentrație declarată (g/100g)	
	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,0455± 0,002	0,4846± 0,012	90,9	96,9	0,0595± 0,008	0,4819± 0,002	0,05	0,5
<i>Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,0467± 0,001	0,4408± 0,007	93,3	88,2	0,0491± 0,003	0,5348± 0,001	0,05	0,5
<i>Cremă Grasă Lift Restructurantă</i>	0,0456± 0,001	0,4663± 0,006	91,3	93,3	0,0478± 0,001	0,5368± 0,002	0,05	0,5

n = 3

Metoda a permis o determinare simultană, simplă, rapidă și exactă, precum și

confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsele anti-aging, formulări cosmetice ce conțin un număr ridicat și variat de ingrediente cosmetice. Rezultatele obținute demonstrează că metoda propusă pentru analiza antioxidantilor cu un grad mare de interferență, din produsele cosmetice este adecvată. Concentrațiile de antioxidanți determinate din produsele anti-aging au fost în conformitate cu cele declarate de producător.

VI.1.3 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin prepararea probei cu metanol și extracție cu diclormetan urmată de analiza GC-FID

Pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA dintr-o formulare cosmetică de tip o/w, a fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID. O procedură simplă de extracție cu diclormetan a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

S-a obținut o separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=10,118$ și $t_{R,\alpha-TA}=26,074$, prin condițiile cromatografice utilizate. Cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați este prezentată în Figura 29.

Dreptele de calibrare pentru BHA și α -TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 30A pentru BHA, respectiv Figura 30B pentru α -TA. Liniaritatea obținută a fost satisfăcătoare și a prezentat un coeficient de corelație de 0.999307 pentru BHA și 0.999215 pentru α -TA pentru metoda de analiză dezvoltată.

Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,136 mg/L pentru BHA, respectiv 1,237 mg/L pentru α -TA și valori ale limitei de determinare de 0,413 mg/L pentru BHA, respectiv 3,749 mg/L pentru α -TA.

O probă de *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* a fost preparată în laborator și prin adaos controlat de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA s-a determinat gradul de recuperare din probă.

Mostra de probă comercială a cremei luată în studiu, ce a conținut combinații ale antioxidantilor descriși, a fost analizată și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard. Figura 36B reprezintă cromatograma mărită a acestei probe, pentru evidențierea eluției compușilor antioxidanți.

Concentrațiile determinate ale antioxidantilor analizați în proba de cremă de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* determinate prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidantilor determinați în probe

comerciale sunt prezentate în Tabelul 36.

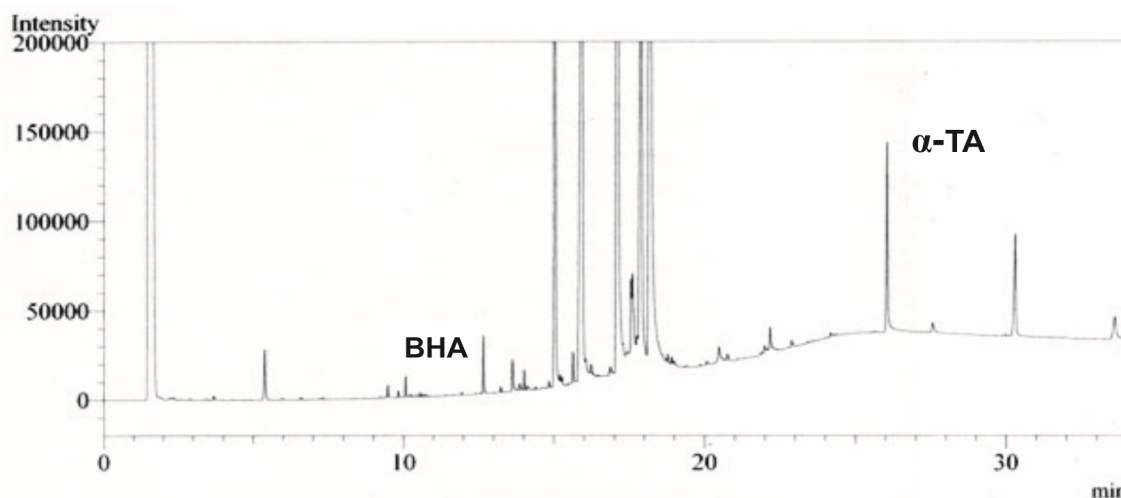


Figura 36B: Cromatograma GC mărită a unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi*

Tabelul 36: Valorile concentrațiilor antioxidanților în probela de cremă analizată

Proba analizată	Concentrație ± DS Probă (g/100g)		Grad de recuperare (%)		Concentrație ± DS Probă comercială (g/100g)		Concentrație declarată (g/100g)	
	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA
<i>Crema Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,0149±0,002	0,4977±0,0004	29,8	99,5	0,0146±0,001	0,5967±0,001	0,05	0,5

n = 3

Metoda a permis o determinare simultană, simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsul anti-aging. Rezultatele obținute pentru antioxidantul natural α -TA din produsul cosmetic analizat, demonstrează că metoda propusă pentru analiza antioxidanților naturali cu un grad mare de interferență, din produsele cosmetice este adecvată. Prin metoda aplicată s-a obținut însă un grad foarte mic de recuperare pentru determinarea antioxidantului sintetic BHA în crema analizată.

VI.1.4 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin prepararea probei cu amestec de solvent organic și extracție cu diclorometan urmată de analiza GC-FID

A fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID pentru determinarea simultană a antioxidanților naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv

BHA într-o formulare cosmetică de tip o/w. A fost necesară o procedură de extracție cu diclormetan, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate [183].

S-a obținut o separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=10,118$ și $t_{R,\alpha-TA}=26,074$, prin condițiile cromatografice utilizate. Cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați este prezentată în Figura 29.

Dreptele de calibrare pentru BHA și α -TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 30A, respectiv Figura 30B. Liniaritatea obținută a fost satisfăcătoare și a prezentat un coeficient de corelație de 0.999307 pentru BHA și de 0.999215 pentru α -TA pentru metoda de analiză dezvoltată. Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,136 mg/L pentru BHA, respectiv 1,237 mg/L pentru α -TA și valori ale limitei de determinare de 0,413 mg/L pentru BHA, respectiv 3,749 mg/L pentru α -TA.

Proba de cremă anti-aging, a fost preparată în laborator și prin adaos controlat de 0,05 BHA și 0,5 % α -TA s-a determinat gradul de recuperare din probă. Antioxidantul sintetic a eluat cu o formă și înălțime a peak-ului nesatisfăcătoare, care nu permite cuantificarea BHA prin metoda dezvoltată din produsul cosmetic luat în studiu. Gradul de recuperare a fost calculat pentru α -TA din crema luată în studiu.

Proba comercială luată în studiu, ce a conținut combinații ale antioxidanților descriși, a fost analizată și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard. Figura 39B reprezintă cromatograma mărită a acestei probe, pentru evidențierea eluției antioxidantului natural α -TA :

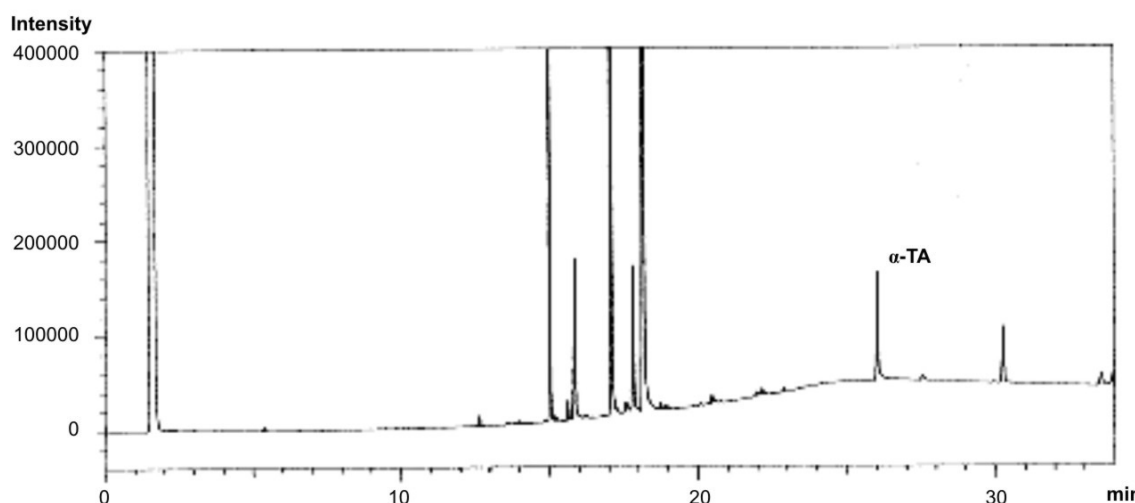


Figura 39B: Cromatograma GC mărită a unei Creme Grasă Antirid Contur Ochi

Concentrațiile obținute ale antioxidantului natural analizat în proba de cremă de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* determinat prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestuia, precum și concentrația antioxidantului α -TA determinat în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 40:

Tabelul 40: *Valorile concentrațiilor antioxidantilor în probele de cremă analizate*

Proba analizată	Concentrație \pm DS Probă (g/100g)	Grad de recuperare (%)	Concentrație \pm DS Probă comercială (g/100g)	Concentrație declarată (g/100g)
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,4360 \pm 0,02	87,2	0,6871 \pm 0,001	0,5

n = 3

Metoda a permis o determinare simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsul anti-aging.

BHA a eluat cu o formă și înălțime a peak-ului nesatisfăcătoare, care nu permite cuantificarea BHA prin metoda dezvoltată din produsul cosmetic luat în studiu. Concentrația foarte scăzută obținută în cazul antioxidantului sintetic, nu permite ca acest compus să poată fi determinat din punct de vedere cantitativ prin metoda aplicată.

Metoda descrisă anterior poate fi aplicată cu succes pentru determinarea calitativă și cantitativă a antioxidantilor, în special a α -TA în formulările cosmetice. Cantitatea de antioxidant natural determinată din produsului cosmetic s-a încadrat în limita concentrației declarate de producător.

VI.1.5 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging după saponificarea grăsimilor și extracție cu amestec de hexan:acetat de etil urmată de analiza GC-FID

A fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA din trei formulări cosmetice de tip o/w. A fost efectuată saponificarea grăsimilor, urmată de o procedură de extracție cu un amestec de hexan:acetat de etil, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

S-a obținut o separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=10,118$ și $t_{R,\alpha-TA}=26,074$, prin condițiile cromatografice utilizate. Cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați este prezentată în Figura 29.

Dreptele de calibrare pentru BHA și α -TA au fost construite pentru intervalul de

concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 30A, respectiv Figura 30B. Liniaritatea obținută a fost satisfăcătoare și a prezentat un coeficient de corelație de 0.999307 pentru BHA și de 0.999215 pentru α -TA pentru metoda de analiză dezvoltată. Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,136 mg/L pentru BHA, respectiv 1,237 mg/L pentru α -TA și valori ale limitei de determinare de 0,413 mg/L pentru BHA, respectiv 3,749 mg/L pentru α -TA.

Probe de *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă* au fost preparate în laborator și prin adaos controlat de 0,05 BHA și 0,5 % α -TA. Antioxidantul sintetic a eluat cu o formă și înălțime a peak-ului nesatisfăcătoare, care nu permite cuantificarea BHA prin metoda dezvoltată din produsul cosmetic luat în studiu. Gradul de recuperare a fost calculat pentru α -TA din crema luată în studiu.

Probele comerciale luate în studiu, ce au conținut combinații ale antioxidantilor descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard.

Cromatogramele *Cremei Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremei Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremei Grasă Lift Restructurantă* sunt prezentate în Figura 41A, respectiv Figura 41B și Figura 41C, reprezentând cromatogramele mărite ale probelor, pentru evidențierea eluției antioxidantului natural α -TA :

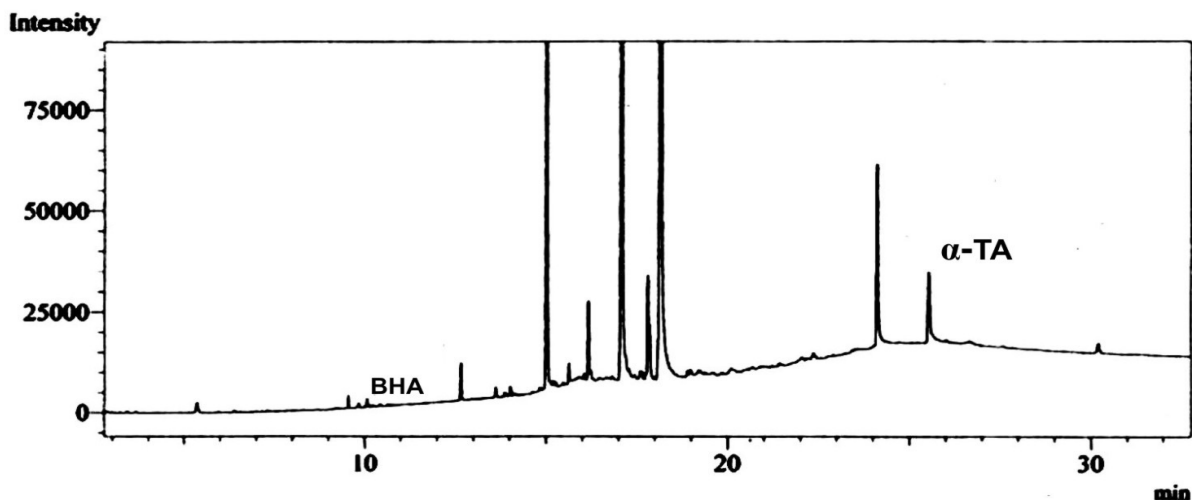


Figura 41A: Cromatograma GC mărită a unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi*

Concentrațiile obținute pentru antioxidantului natural analizat din probele de cremă de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremei Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremei Grasă Lift Restructurantă* determinat prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestuia, precum și concentrația antioxidantului α -TA determinat în probe

comerciale sunt prezentate în Tabelul 44.

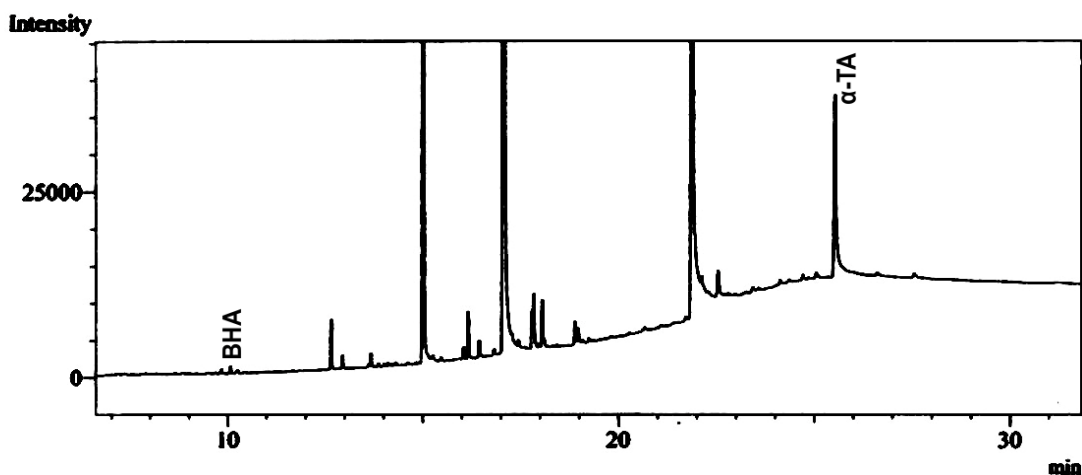


Figura 41B: Cromatograma GC mărită a unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă*

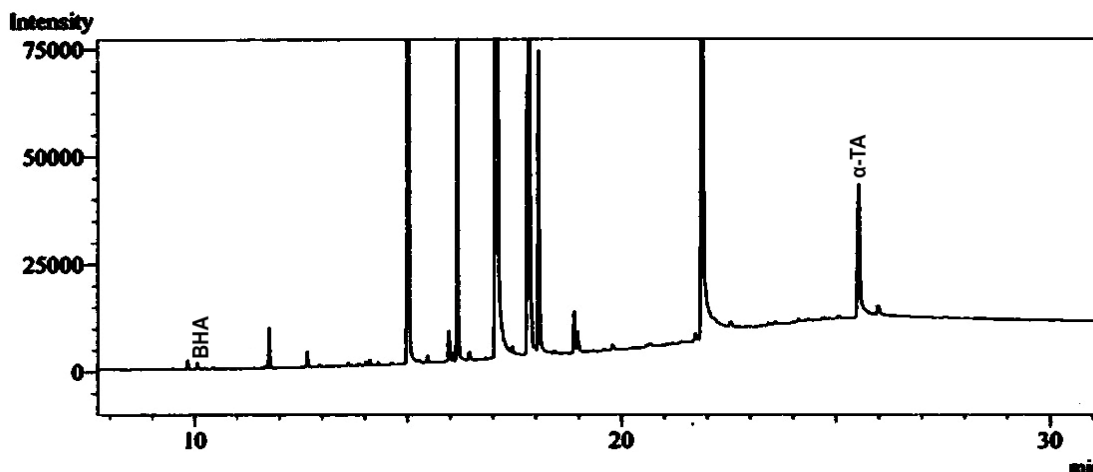


Figura 41C: Cromatograma GC mărită a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă*

Tabelul 44: Valorile concentrațiilor α -TA în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație \pm DS Probă (g/100g)	Grad de recuperare (%)	Concentrație \pm DS Probă comercială (g/100g)	Concentrație declarată (g/100g)
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,3345 \pm 0,001	66,9	0,3100 \pm 0,002	0,5
<i>Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,3367 \pm 0,001	67,3	0,3428 \pm 0,002	0,5
<i>Cremă Grasă Lift Restructurantă</i>	0,3268 \pm 0,003	65,4	0,3640 \pm 0,001	0,5

n = 3

Concentrația foarte scăzută obținută în cazul antioxidantului sintetic, nu permite ca acest compus să poată fi determinat din punct de vedere cantitativ prin metoda aplicată.

Concentrațiile α -TA determinate în probele de formulări cosmetice elaborate în laborator, cât și pentru cremele comerciale au fost relativ scăzute prin metoda dezvoltată. Rezultatele obținute confirmă faptul că acești compuși trebuie izolați de matricea lipidică printr-o metodă de prelucrare premergătoare analizei propriu-zise, dar totodată saponificarea sau extracția probelor de creme aduce de multe ori pierderi de analit în analiza antioxidantilor din probe de produs cosmetic.

VI.1.6 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu metanol urmată de analiza GC-FID

Pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA din două formulări cosmetice de tip o/w, a fost dezvoltată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID. O procedură simplă de extracție cu metanol a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

S-a obținut o separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=10.108$ și $t_{R,\alpha-TA}=26.101$ prin condițiile cromatografice utilizate. Figura 43 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați.

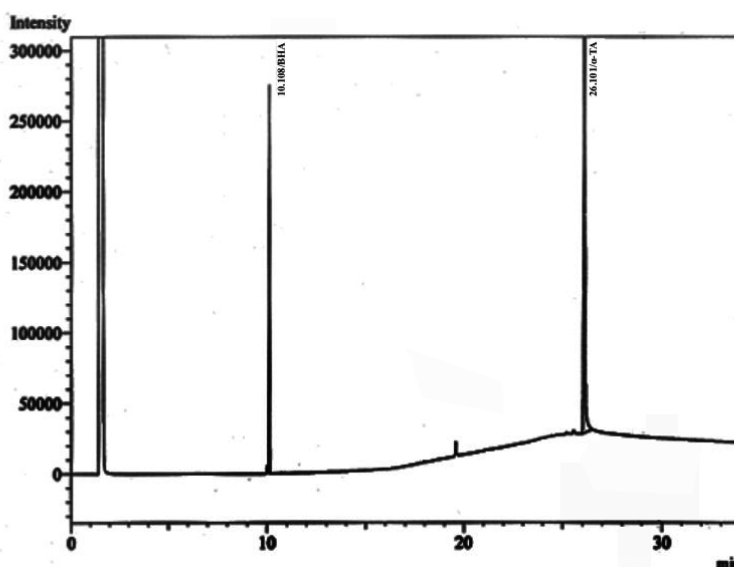


Figura 43: Cromatograma GC a unui standard de BHA și α -TA utilizând metodele de prelucrare a probei și condițiile cromatografice descrise

Dreptele de calibrare pentru BHA și α -TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 44A pentru BHA, respectiv Figura 44B pentru α -TA. Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,238 mg/L pentru BHA, respectiv 0,726 mg/L pentru α -TA și valori ale limitei de

determinare de 0,721 mg/L pentru BHA, respectiv 2,199 mg/L pentru α -TA.

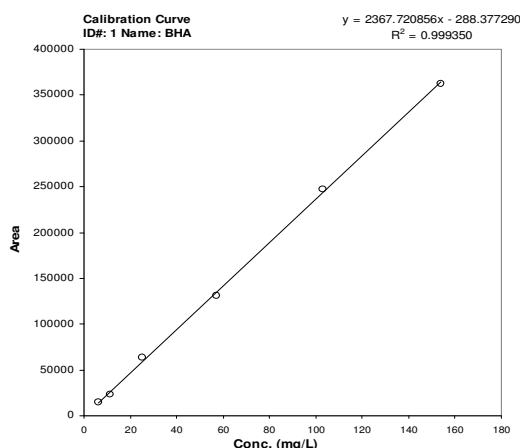


Figura 44A: Curba de calibrare a BHA

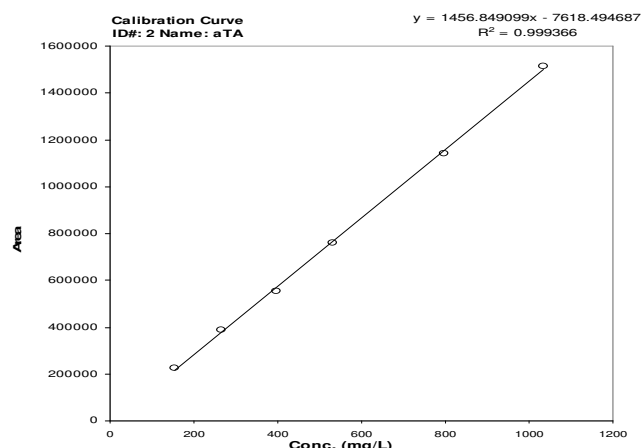


Figura 44B: Curba de calibrare a α -TA

Două probe de creme anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* și *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* - au fost preparate în laborator. Blank-ului de cremă i s-au adăugat controlat cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA. Picul cromatografic corespunzător este distorsionat, nu prezintă o formă corespunzătoare, ceea ce duce la imposibilitatea determinării cantitative din produsul cosmetic luat în studiu prin metoda dezvoltată. Gradul de recuperare a fost calculat pentru α -TA din fiecare cremă în parte.

Două mostre din probe comerciale ale cremelor luate în studiu, ce au conținut combinații ale antioxidantilor descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard.

Cromatograma unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi* este prezentată în Figura 45:

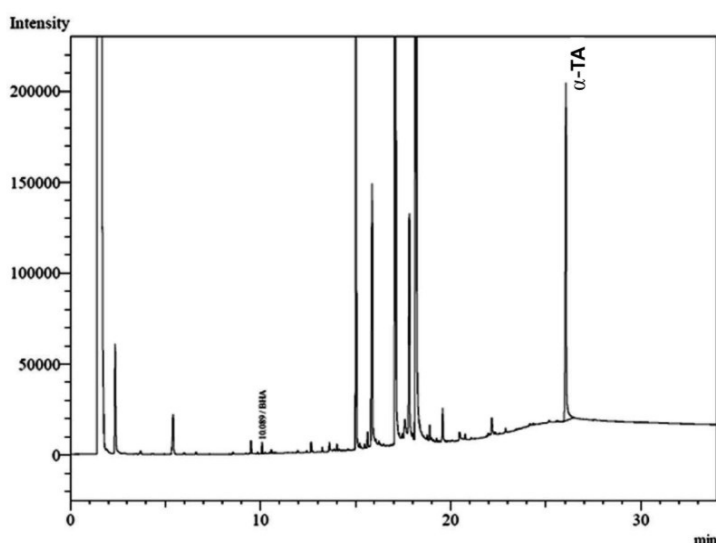


Figura 45: Cromatograma GC a unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi*

Cromatograma unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* este prezentată în Figura 46:

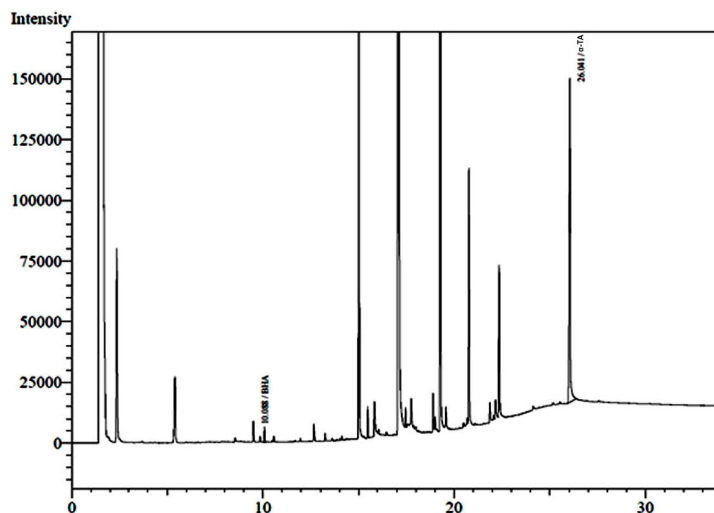


Figura 46: Cromatograma GC a unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă*

Concentrațiile determinate ale α -TA analizat în două probe de creme de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* și *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* determinate prin metoda de analiza GC-FID, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidantilor determinați în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 51.

Tabelul 51: Valorile concentrațiilor α -TA în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație \pm DS Probă (g/100g)	Grad de recuperare (%)	Concentrație \pm DS Probă comercială (g/100g)	Concentrație declarată (g/100g)
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,4625 \pm 0,002	92,5	0,4619 \pm 0,002	0,5
<i>Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,4131 \pm 0,002	82,6	0,3268 \pm 0,001	0,5

n = 3

Antioxidantul sintetic BHA a eluat cu o formă și înălțime a peak-ului nesatisfăcătoare, care nu permite cuantificarea acestuia prin metoda dezvoltată din produsul cosmetic luat în studiu. Concentrația foarte scăzută obținută în cazul antioxidantului sintetic, nu permite ca acest compus să poată fi determinat din punct de vedere calitativ prin metoda aplicată.

Metoda descrisă anterior poate fi aplicată cu succes pentru determinarea calitativă și cantitativă a α -TA în formulările cosmetice. Cantitatea de antioxidant natural determinată din produsele cosmetice s-au încadrat în limita concentrației declarate de producător.

CONCLUZII

Având în vedere că în produsele cosmetice se utilizează atât antioxidanți naturali și sintetici, ideală ar fi identificarea, respectiv cuantificarea simultană a acestora.

În general, cei mai utilizați antioxidanți în majoritatea formulărilor cosmetice sunt antioxidantul sintetic BHA și cel natural α -T, în forma acetată a acestuia α -TA, cu concentrații de 0,05%, respectiv 0,5%.

S-au dezvoltat diferite metode de pregătire a probelor de cremă, atât pentru probe sintetice, obținute prin impregnare până la un nivel de concentrație de 0,05% BHA și 0,5% α -TA, cât și probe de produse cosmetice disponibile comercial, acestea fiind analizate prin cromatografie GC cuplată cu FID. Cea mai adecvată metodă s-a dovedit a fi diluția probelor de cremă analizată cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol prin sonicare, filtrare și determinarea simultană a antioxidanților prin GC. Figura 48A, respectiv Figura 48B prezintă concentrația de antioxidant natural și sintetic regăsită în probele de cremă analizate, precum și cea determinată în probe comerciale de produs cosmetic prin GC-FID.

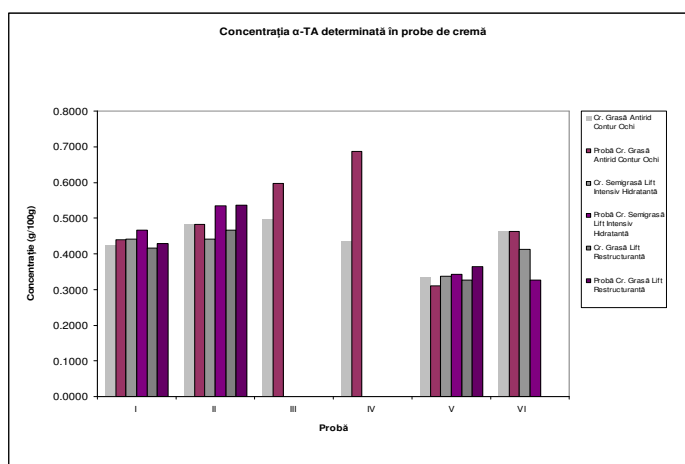


Figura 48A: Concentrația α -TA regăsită în probele de cremă analizate, prin GC-FID

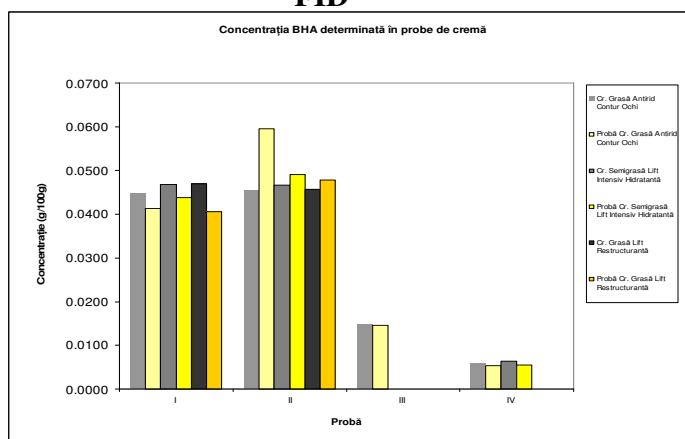


Figura 48B: Concentrația BHA regăsită în probele de cremă analizate, prin GC-FID

I.2 Analiza alfa tocoferol acetatului dintr-o formulare cosmetică de tip anti-aging conservată cu aditivi multifuncționali prin cromatografie de gaze cuplată cu FID

Pentru determinarea antioxidantului natural α -tocoferol acetat dintr-o formulare cosmetică de tip anti-aging, propriu dezvoltată și conservată cu aditivi multifuncționali, a fost aplicată o metodă cromatografică de gaze, utilizând tehnica GC-FID. O procedură simplă de extracție cu amestec de solvent organic metanol:acetonitril (50:50 v/v) a fost necesară, iar separarea compusului a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

Antioxidantul folosit în acest studiu și prezentat în Tabelul 53 este disponibil comercial:

Tabelul 53: Denumirea INCI a antioxidantului studiat

Denumirea comercială	INCI	Producător
Dermofeel [®] E 74 A	Tocopheryl Acetate; <i>Helianthus annuus</i> (sunflower) seed oil	Dr. Straetmans GmbH

Formularea cosmetică

În formularea cosmetică dezvoltată și analizată, α -TA este conținut într-un amestec cu ulei de floarea soarelui, materia primă care încorporează antioxidantul natural fiind cunoscută sub denumirea comercială de Dermofeel[®] E 74 A. Concentrația de α -TA declarată de furnizor este > 73,5 % α -TA în ulei de floarea soarelui. Formularea cosmetică dezvoltată și procedeul de fabricație sunt prezentate în Figura 50.

Figura 51 prezintă cromatograma unei soluții standard a antioxidantului studiat.

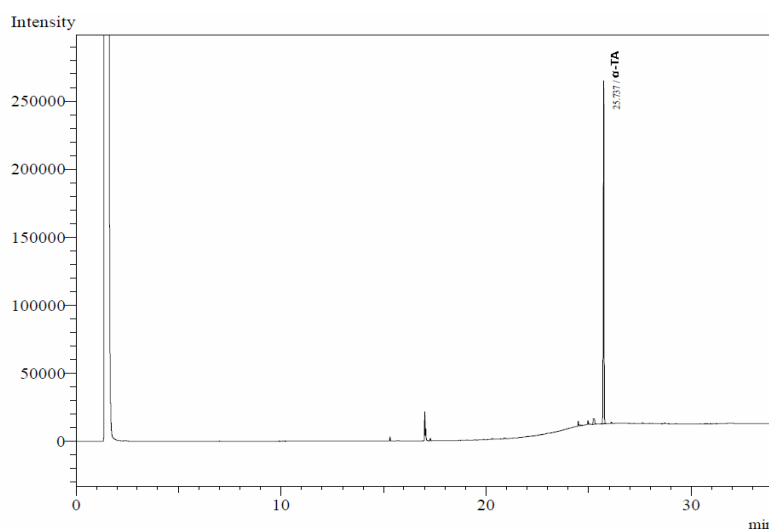


Figura 51: Cromatograma GC a unui standard de α -TA

Anti Aging Light Day Cream				
Claims:		Preservative free, PEG-free UV Protection, estimated SPF 10 Elegant skin feeling		
Phase	Ingredient	INCI	Supplier	%
A	Deionised Water	Aqua		56.50
	Glycerol	Glycerin	ROBOT Import Export SRL	3.00
A1	dermofeel® PA-3	Sodium Phytate, Aqua	Dr. Straetmans	0.10
	dermosoft® LP	Caprylyl Glycol, Glycerin, Glyceryl Caprylate, Phenylpropanol	Dr. Straetmans	0.80
	Rapithix A 100	Sodium Polyacrylate	ISP	0.20
	Keltrol RD	Xanthan Gum	CP Kelco	0.30
B	symbio®muls CG	Glyceryl Stearate Citrate, Cetearyl Alcohol, Glyceryl Caprylate	Dr. Straetmans	5.00
	Plantec Natural Shea Butter	Butyrospermum Parkii	CRM International	2.00
	Fitoderm	Squalane	Cognis	5.00
	dermofeel® sensolv	Isoamyl Laurate	Dr. Straetmans	8.00
	DC 345 Fluid	Cyclopentasiloxane, Cyclohexasiloxane	Dow Corning	3.00
	DC 200 Fluid	Dimethicone	Dow Corning	1.00
	Salisol AB	Butyl Methoxydibenzoylmethane	SALICYLATES & CHEMICALS PVT. LTD.	2.80
	Salisol OMC	Octyl Methoxycinnamate	SALICYLATES & CHEMICALS PVT. LTD.	5.20
	dermofeel® E 74 A	Tocopheryl Acetate, Helianthus Annuus (Sunflower) Seed Oil	Dr. Straetmans	0.50
	C	Extrapone Green Tea GW	Camelia Sinensis Extract, Glycerin, Aqua	Symrise
Nutrilan I-50		Hydrolyzed Collagen	Cognis	2.00
D	Parf. Lucky Light	Parfum	CPL	0.30
	Sodium Hydroxid (10%)	Sodium Hydroxid	Prod Alma	100.00

Manufacturing Procedure:

1. Heat Phase A up to 78 °C and disperse Keltrol and Cosmedia SP. Heat phase B up to 78 °C.
2. Emulsify phase B into phase A under stirring. Homogenize for 1-2 min. using an Ultra Turrax.
3. Start to cool down under medium stirring.
4. Add C and D below 40 °C and cool down under stirring. Adjust pH value if necessary.

Specification Values:

Appearance: Soft light yellow emulsion.
 pH: 5.5 – 6.0.
 Viscosity (Brookfield: Helipath TF; Speed 10): 30.000 - 40.000 mPas.
 Centrifugation (15 min., 4.000 rpm): No separation.

Stability: More than 3 months stable at 20 °C, 40 °C and 4 °C.

Microbiological Stability: Proven.

Figura 50: Formularea Cosmetică și procedeul de fabricație pentru produsul dezvoltat

Dreapta de calibrare pentru α -TA a fost construită pentru intervalul de concentrații de interes și este prezentată în Figura 52:

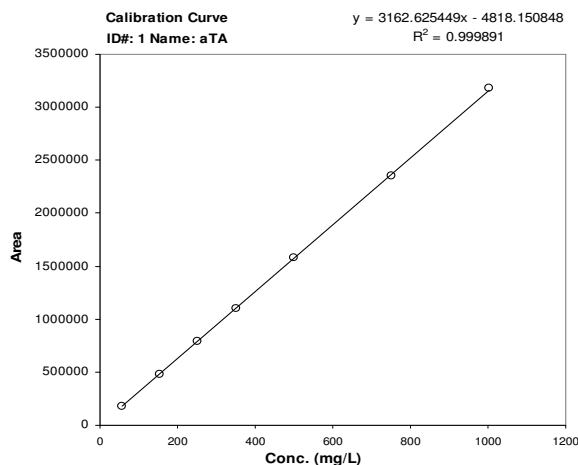


Figura 52: Curba de calibrare a α -TA

Valoarea limitei de detecție pentru antioxidantul natural, obținută prin metoda de

analiză propusă a fost de 0,044 mg/L și o valoare a limitei de determinare de 0,134 mg/L.

Crema luată în studiu, ce conține antioxidantul natural, a fost analizată și α -TA a fost identificat, comparând timpul de retenție a peak-ului observat, cu cele obținute pentru soluțiile standard. Cromatograma unei Creme Grasă Antirid Contur Ochi este prezentată în Figura 53:

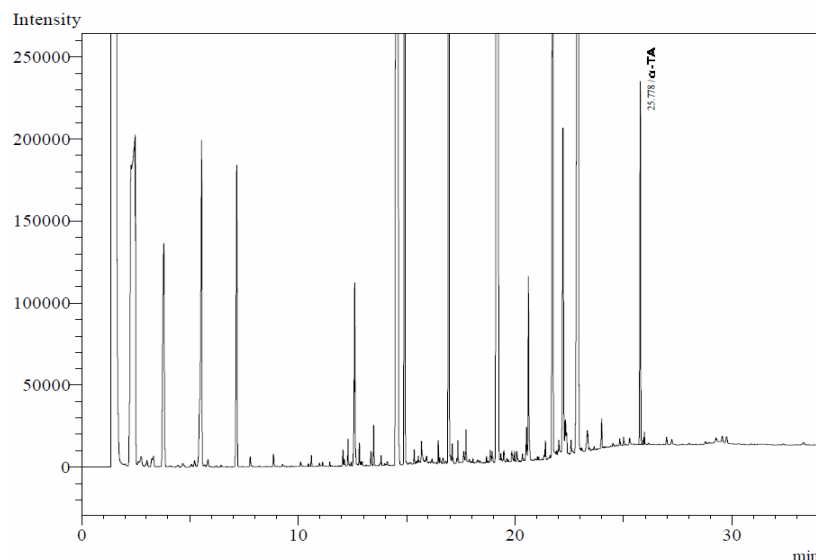


Figura 53: Cromatograma GC a Cremei Anti Aging Light Day Cream

Tabelul 58: Valorile concentrațiilor antioxidanților în probele de cremă Anti Aging Light Day Cream

Proba analizată	Concentrație \pm DS Probă (g/100g)	Grad de recuperare (%)	Concentrație declarată (g/100g)
Anti Aging Light Day Cream	0,3537 \pm 0,002	94,3	0,375

n = 3

CONCLUZII

A fost dezvoltată formularea unei creme de tip anti-aging, conservată alternativ cu aditivi multifuncționali.

Metoda a permis o determinare simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței α -TA în produsul anti-aging studiat, formulare cosmetică ce conține un număr ridicat și variat de ingrediente cosmetice. Rezultatele obținute demonstrează că metoda propusă pentru analiza antioxidanților cu un grad mare de interferență, din produsele cosmetice este adecvată.

VI.3 Analiza antioxidantilor sintetici și naturali din produse cosmetice prin cromatografie de lichide de înaltă performanță

Antioxidanții folosiți în studiu și prezențați în Tabelul 18 sunt disponibili comercial.

Condiții pentru determinările cromatografice

Analizele cromatografice s-au efectuat pe un sistem cromatografic Agilent 1100 Series echipat cu pompă cuaternară, degazificator, sistem de termostatare a coloanei cromatografice, autosampler și detector UV/VIS. Separarea s-a efectuat pe o coloană cromatografică Eclipse XDB-C18 (4,6mm Id x 250mm (5 μ m)). Compoziția fazei mobile a fost acetonitril:metanol (25:75 v/v). Debitul a fost de 1,5 mL/min., iar detecția a avut loc la 280 nm. Procesul a avut loc la temperatura ambiantă.

VI.3.1 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin diluție cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol urmată de analiza HPLC/UV

Pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA în trei formulări cosmetice de tip anti-aging, a fost dezvoltată o metodă cromatografică de lichide, utilizând tehnica RP-HPLC-UV. O procedură simplă de diluție cu un amestec organic metanol:acetonitril și sonicarea probei a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

O separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=1.849$ și $t_{R,\alpha-TA}=13.767$ s-a obținut prin condițiile cromatografice utilizate

Figura 56 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați:

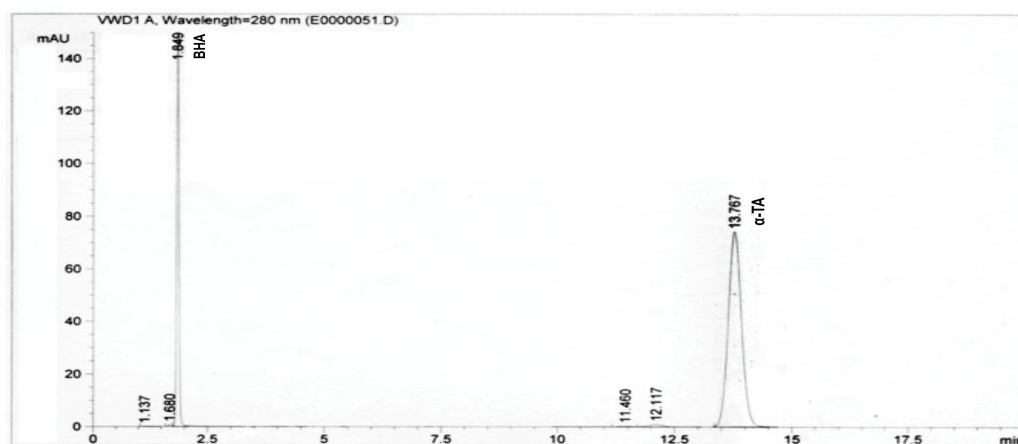


Figura 56: Cromatograma HPLC a unui standard de BHA și α -TA utilizând condițiile cromatografice descrise

Dreptele de calibrare pentru BHA și α -TA au fost construite pentru intervalul de concentrații de interes și sunt prezentate în Figura 57A pentru BHA, respectiv Figura 57B pentru α -TA:

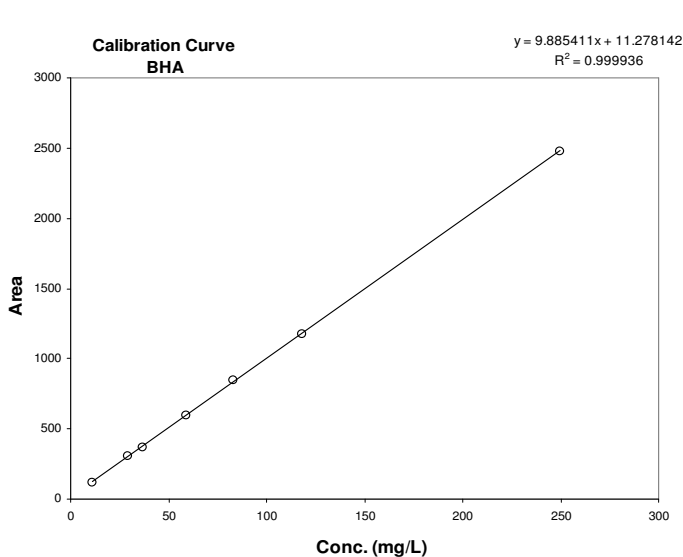


Figura 57A: Curba de calibrare a BHA

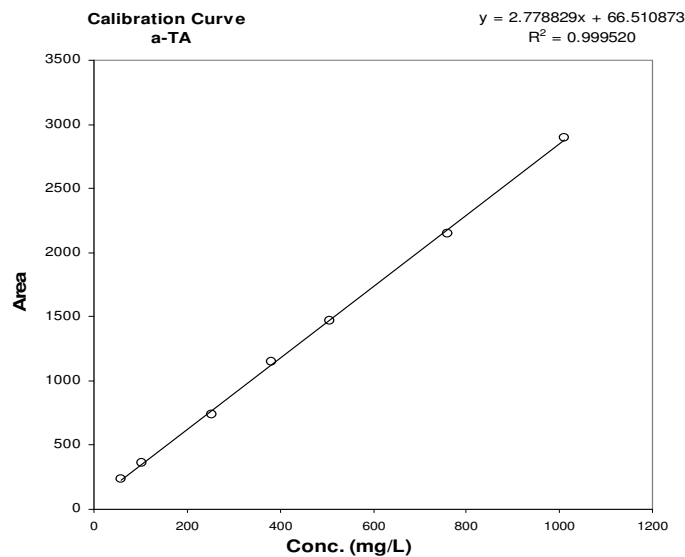


Figura 57B: Curba de calibrare a α -TA

Valorile limitei de detecție obținută prin metoda de analiză propusă au fost de 0,666 mg/L pentru BHA, respectiv 0,532 mg/L pentru α -TA și valori ale limitei de determinare de 2,019 mg/L pentru BHA, respectiv 1,613 mg/L pentru α -TA.

Trei probe de creme anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă*- au fost preparate în laborator. S-au adăugat controlat în creme cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA. Analiza probelor a fost efectuată în triplicat pentru toate cele trei creme luate în studiu, pentru a permite calculul deviației standard (DS) și a deviației standard relative (DSR) ca măsură a repetabilității cromatografice.

Trei mostre din probe comerciale ale cremelor luate în studiu, ce au conținut combinații ale antioxidantilor descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard. Cromatograma unei *Creme Grasă Antirid Contur Ochi* este prezentată în Figura 58.

Concentrațiile determinate ale antioxidantilor analizați în trei probe de creme de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi*, *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă* determinate prin metoda de analiza HPLC/UV, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidantilor determinați în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 66.

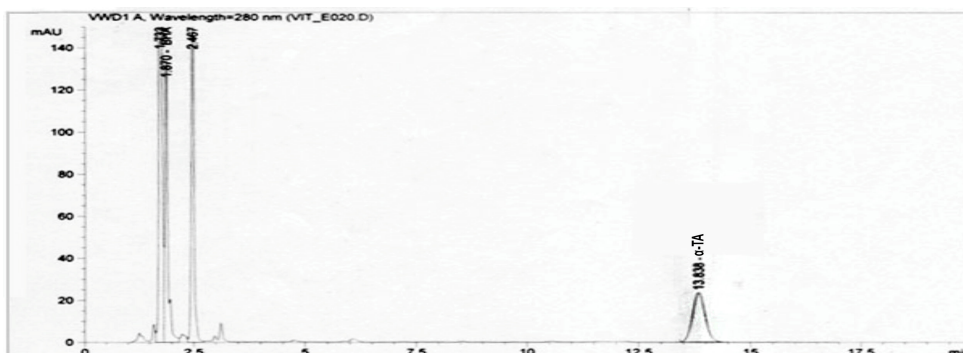


Figura 58: Cromatograma HPLC a unei Creme Grasă Antirid Contur Ochi

Cromatograma unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă* este prezentată în Figura 59, respectiv Figura 60:

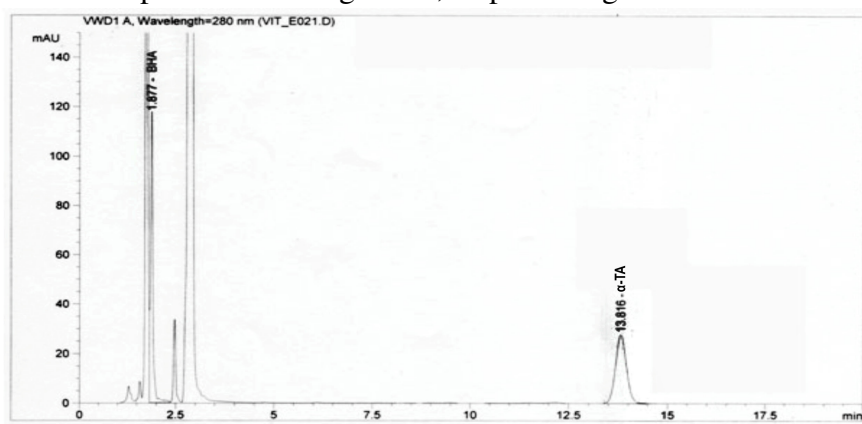


Figura 59: Cromatograma HPLC a unei Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă

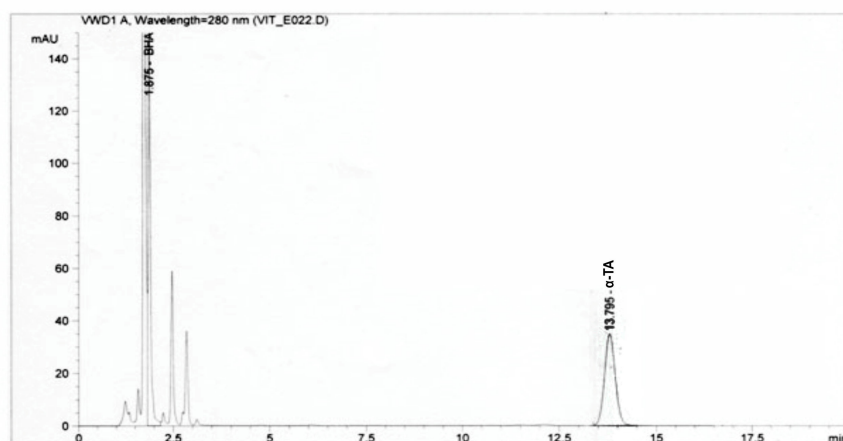


Figura 60: Cromatograma HPLC a unei Creme Grasă Lift Restructurantă

Metoda a permis o determinare simultană, simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsele anti-aging, formulări cosmetice ce conțin un număr ridicat și variat de ingrediente cosmetice. Rezultatele obținute demonstrează că

metoda propusă pentru analiza antioxidantilor cu un grad mare de interferență, din produsele cosmetice este adecvată.

Tabelul 66: Valorile concentrațiilor antioxidantilor în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație ± DS Probă (g/100g)		Grad de recuperare (%)		Concentrație ± DS Probă comercială (g/100g)		Concentrație declarată (g/100g)	
	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,0499±0,0008	0,2605±0,0012	99,7	52,1	0,0606±0,0011	0,1419±0,0008	0,05	0,5
<i>Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,0454±0,0012	0,2503±0,0007	90,8	50,1	0,0502±0,0014	0,1675±0,0003	0,05	0,5
<i>Cremă Grasă Lift Restructurantă</i>	0,0522±0,0005	0,2530±0,0005	104,4	50,6	0,0658±0,0006	0,2173±0,0008	0,05	0,5

n = 3

VI.3.2 Determinarea simultană a antioxidantilor sintetici și naturali din formulări cosmetice anti-aging prin extracție cu metanol urmată de analiza HPLC/UV

Pentru determinarea simultană a antioxidantilor naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA în două formulări cosmetice de tip anti-aging (*Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă și Cremă Grasă Lift Restructurantă*), a fost dezvoltată o metodă cromatografică de lichide, utilizând tehnica RP-HPLC-UV. O procedură simplă de extracție cu solvent organic a fost necesară, iar separarea celor doi compuși a fost obținută în condițiile cromatografice utilizate.

O separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=1.849$ și $t_{R,\alpha-TA}=13.767$ s-a obținut prin condițiile cromatografice utilizate. Figura 54 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați.

Două probe de creme anti-aging- *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă și Cremă Grasă Lift Restructurantă*- au fost preparate în laborator. S-au adăugat controlat în creme cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA.

Două mostre din probe comerciale ale cremelor luate în studiu, ce au conținut

combinații ale antioxidantilor descriși, au fost analizate și α -TA și respectiv BHA au fost identificați, comparând timpii de retenție a peak-urilor observate, cu cele obținute pentru soluțiile standard. Cromatograma unei *Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și a unei *Creme Grasă Lift Restructurantă* este prezentată în Figura 63, respectiv Figura 64:

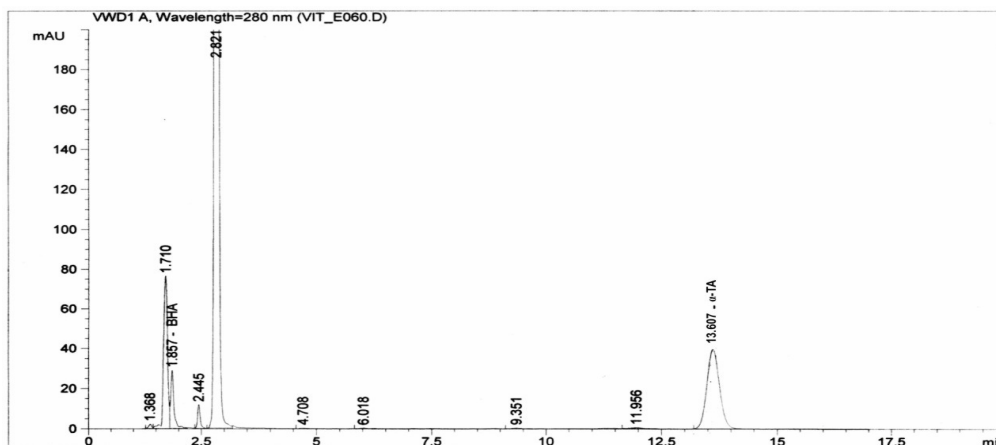


Figura 63: Cromatograma HPLC a unei Creme Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă

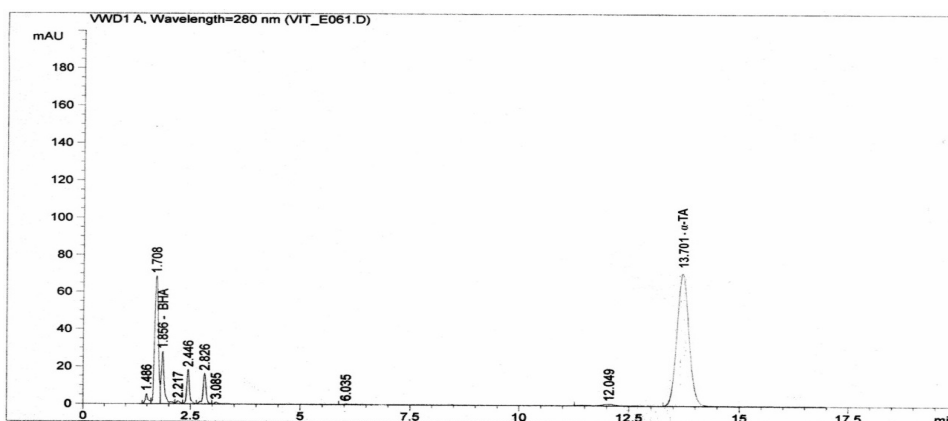


Figura 64: Cromatograma HPLC a unei Creme Grasă Lift Restructurantă

Concentrațiile determinate ale antioxidantilor analizați în două probe de creme de tip anti-aging- *Cremă Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și *Cremă Grasă Lift Restructurantă* determinate prin metoda de analiza HPLC/UV, gradul de recuperare a acestora, precum și concentrația antioxidantilor determinați în probe comerciale sunt prezentate în Tabelul 70.

Metoda a permis o determinare simultană, simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței a BHA și α -TA în produsele anti-aging. S-au obținut grade de recuperare bune pentru antioxidantul sintetic BHA, cu valori >80,9%, dar concentrațiile obținute pentru acest compus în probele de cremă studiate au fost mai mici decât cele declarate de către producător. În schimb, pentru antioxidantul natural s-au obținut grade de recuperare bune, cu valori de 102% α -TA pentru *Crema Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă* și

108,1% α -TA pentru *Crema Grasă Lift Restructurantă* prin metoda aplicată și determinare prin HPLC/UV.

Tabelul 70: Valorile concentrațiilor antioxidanților în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație \pm DS Probă (g/100g)		Grad de recuperare (%)		Concentrație \pm DS Probă comercială (g/100g)		Concentrație declarată (g/100g)	
	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA	BHA	α -TA
<i>Crema Semigrasă Lift Intensiv Hidratantă</i>	0,0421 \pm 0,001	0,5102 \pm 0,001	84,3	102,0	0,0262 \pm 0,001	0,4880 \pm 0,002	0,05	0,5
<i>Crema Grasă Lift Restructurantă</i>	0,0405 \pm 0,001	0,5404 \pm 0,001	80,9	108,1	0,0249 \pm 0,001	0,9112 \pm 0,0005	0,05	0,5

n = 3

VI.3.3 Determinarea simultană a antioxidanților sintetici și naturali dintr-o formulare cosmetică anti-aging prin diluție cu amestec de tetrahidrofuran:metanol urmată de analiza HPLC/UV

Pentru determinarea simultană a antioxidanților naturali și sintetici- α -tocoferol acetat, respectiv BHA într-o formulare cosmetică de tip anti-aging (*Crema Grasă Antirid Contur Ochi*), a fost dezvoltată o metodă cromatografică de lichide, utilizând tehnica RP-HPLC-UV. O procedură simplă de diluție cu amestec de solvent organic și sonicarea probei a fost necesară. Doar separarea antioxidantului natural α -TA a fost obținută prin condițiile cromatografice utilizate.

O separare bună a standardelor de antioxidanți, cu caracteristici de retenție de $t_{R,BHA}=1.849$ și $t_{R,\alpha-TA}= 13.767$ s-a obținut prin condițiile cromatografice utilizate. Figura 54 prezintă cromatograma unei soluții standard a celor doi antioxidanți studiați.

O probă de cremă anti-aging- *Crema Grasă Antirid Contur Ochi*- a fost preparată în laborator. S-a adăugat controlat în creme cantități de 0,05 % BHA și 0,5 % α -TA.

O probă comercială a cremei luate în studiu, ce a conținut combinații ale antioxidanților descriși, a fost analizată și doar antioxidantul natural α -TA a fost identificat, comparând timpul de retenție a peak-ului observat, cu cele obținute pentru soluțiile standard.

Cromatograma unei *Crema Grasă Antirid Contur Ochi* este prezentată în Figura 67:

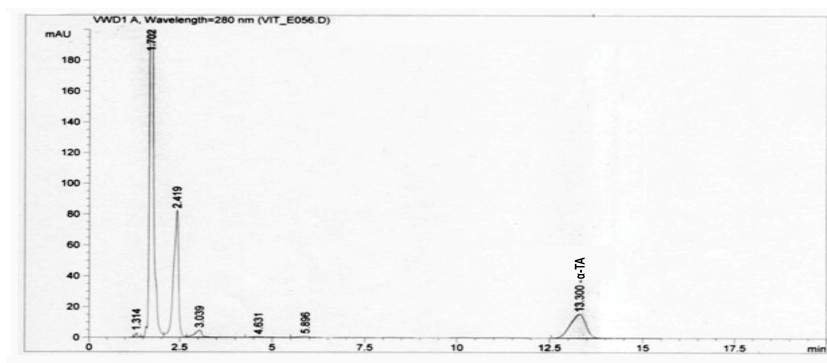


Figura 67: Cromatograma HPLC a unei Creme Grasă Antirid Contur Ochi

Concentrațiile determinate ale antioxidantului natural analizat într-o probă de cremă de tip anti-aging- *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* determinată prin metoda de analiza HPLC/UV descrisă anterior, gradul de recuperare a acestuia, precum și concentrația antioxidantului determinat într-o probă comercială sunt prezentate în Tabelul 74:

Tabelul 74: Valorile concentrațiilor antioxidantilor în probele de cremă analizate

Proba analizată	Concentrație ± DS Probă (g/100g)	Grad de recuperare (%)	Concentrație ± DS Probă comercială (g/100g)	Concentrație declarată (g/100g)
<i>Cremă Grasă Antirid Contur Ochi</i>	0,4221±0,001	84,4	0,3454±0,001	0,5

n = 3

Metoda a permis o determinare, simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței doar a antioxidantului natural α -TA în produsul anti-aging. S-a obținut un grad de recuperare bun de 84,4% pentru α -TA din *Cremă Grasă Antirid Contur Ochi* prin metoda aplicată și determinare prin HPLC/UV. Concentrația de α -TA a fost în conformitate cu cea declarată de producător pentru produsul studiat, prin metoda de analiza descrisă.

CONCLUZII

S-au dezvoltat diferite metode de pregătire a probelor de cremă, atât pentru probe sintetice, obținute prin impregnare până la un nivel de concentrație de 0,05% BHA și 0,5% α -TA, cât și probe de produse cosmetice disponibile comercial, în vederea analizelor HPLC cuplată cu detector UV. Toate metodele de determinare prin această tehnică s-au dovedit a putea fi aplicate pentru determinarea antioxidantilor sintetici și naturali din produse cosmetice. Totuși, prin metoda în care s-a aplicat diluția probei cu THF:metanol și determinare HPLC, antioxidantul sintetic nu a putut fi detectat. Această metodă a permis doar determinarea calitativă a antioxidantului natural α -TA în produsul anti-aging.

Figura 69A, respectiv Figura 69B prezintă concentrația de antioxidant natural și sintetic regăsită în probele de cremă analizate, precum și cea determinată în probe comerciale de produs cosmetic prin HPLC/UV:

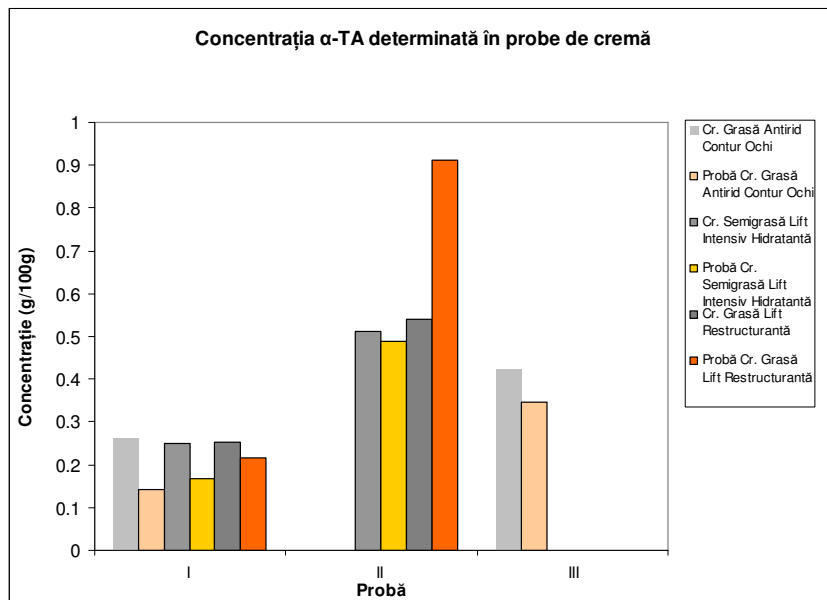


Figura 69A: Concentrația α -TA regăsită în probele de cremă analizate, prin HPLC-UV

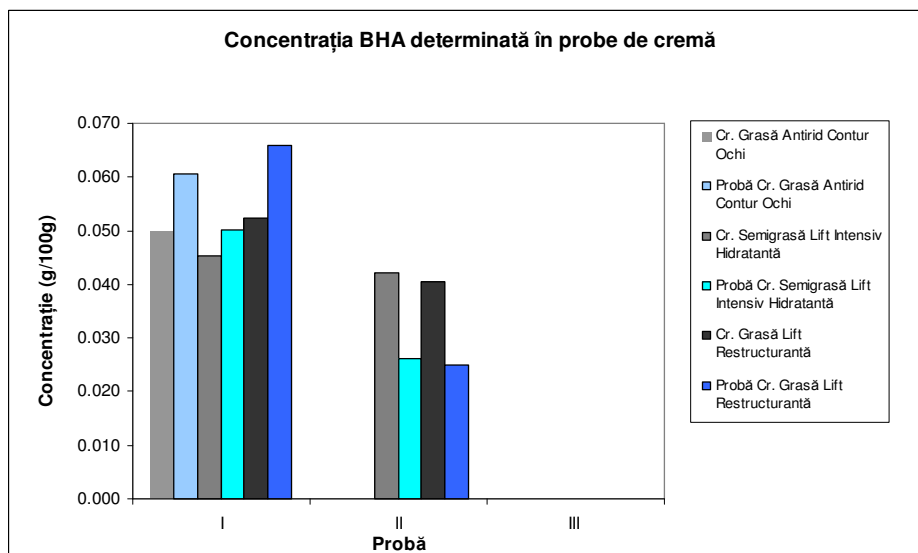


Figura 69B: Concentrația BHA regăsită în probele de cremă analizate, prin HPLC-UV

VII. Concluzii finale

Utilizarea compușilor antioxidanți în amestec în formulările cosmetice, face ca determinarea acestor compuși din produsele cosmetice să fie destul de dificilă, pe de o parte datorită multitudinii compușilor utilizați ca și antioxidanți, iar pe de altă parte a diversității de produse cosmetice prezente pe piață. Acestea ar putea fi cauza necesității dezvoltării de metode de analiză performante, care să poată stabili cu exactitate și precizie ridicată tipul și cantitatea de antioxidanți prezenți în produsele cosmetice.

Studiul de față conturează rolul și importanța antioxidanților în formulările cosmetice și își propune totodată să îmbunătățească unele metode de analiză a acestor compuși din categoria de produse cosmetice de tip anti-aging, produse care conțin o compoziție complexă de materii prime.

Potențialul antioxidant al acetatului de tocoferol și al conservantului BHA existente, introduse uzual în creme sau în mod controlat, la concentrații cunoscute, într-o cremă standard a fost evaluat prin metoda DPPH. Acțiunea antioxidantă a cremelor prin adaosuri de molecule cu potențial antioxidant se pare a fi o problemă complexă ce impune studii ulterioare. Chiar dacă molecule precum BHA sau α -tocoferol acetat, luate individual, cu acțiune antioxidantă (prin metoda DPPH), în amestecuri complexe cu lipide, mai ales când concentrația lor este sub 1%, acțiunea antioxidantă nu mai poate fi sesizată prin măsurători uzuale.

Utilizarea spectrometriei FTIR (ATR) a permis evidențierea amprentei specifice a celor trei tipuri de creme cosmetice grase sau semigrase investigate precum și identificarea markerilor specifici de recunoaștere a ingredientelor active din aceste produse cosmetice, în funcție de rolul acestora în amestec.

În cazul cremelor cu compoziție complexă, mai ales când acestea diferă prin procente mici între componentele polare și nepolare, este greu a evidenția markerii de recunoaștere prin metoda FTIR (ATR). Datele obținute prin analiza FTIR necesită a fi corelate cu metode cromatografice (HPLC sau GC) în scopul de a valida determinarea componentelor individuale în formulări cosmetice.

Pentru determinarea simultană a antioxidantului sintetic BHA și a celui natural (α -TA) din produse cosmetice de tip anti-aging s-au utilizat metoda cromatografică de gaze cu detector FID și cromatografia de înaltă performanță cu detector UV, după ce s-au optimizat condițiile, astfel încât să se obțină o separare cât mai bună a compușilor de interes. S-au dezvoltat și s-au încercat metode de pregătire a probelor de produs cosmetic, cât mai simple și care să prezinte un grad de recuperare cât mai ridicat a compușilor.

Produsele cosmetice de tip anti-îmbătrânire reprezintă o clasă de produse cosmetice,

care conțin o compoziție complexă de materii prime. Determinarea antioxidantilor din produsele cosmetice de tip anti-aging este adesea dificilă, datorită complexității matricii produsului, prin urmare o atenție deosebită trebuie alocată dezvoltării procedurilor și metodelor de extracție adecvate și evaluarea fiabilă a valorilor medii de recuperare. Procedura utilizată pentru extracția antioxidantilor din matricea de produs cosmetic depinde de natura produsului și de asemenea de caracteristicile tehnicii analitice care este utilizată pentru determinarea substanței active.

S-au dezvoltat diferite metode de pregătire a probelor acestea fiind analizate prin cromatografie GC cuplată cu FID. Cea mai adecvată metodă s-a dovedit a fi diluția probelor de cremă analizată cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol prin sonicare, filtrare și determinarea simultană a antioxidantilor prin GC.

Pentru determinarea acetatului de alfa tocoferol dintr-o formulare anti-aging proprie dezvoltată și conservată alternativ cu aditivi multifuncționali (*Anti Aging Light Day Cream*) s-a folosit o metodă de extracție cu amestec de solvent organic metanol:acetonitril, urmată de separare cromatografică cuplată cu detector FID. În formularea cosmetică analizată α -TA apare într-un amestec cu ulei de floarea soarelui. Concentrația de α -TA declarată de furnizor este >73,5 % α -TA în ulei de floarea soarelui, fapt confirmat prin analiza GC. Metoda a permis o determinare simplă, rapidă și exactă, precum și confirmarea prezenței α -TA în produsul anti-aging dezvoltat și studiat.

Determinarea simultană a BHA și α -TA din produse cosmetice prin metoda RP-HPLC-UV s-a efectuat utilizând diluția probei prin sonicare cu amestec de solvent organic acetonitril:metanol în prima metodă dezvoltată și diluție cu THF:metanol în cea de-a doua. În altă metodă de determinare prin HPLC-UV s-a utilizat extracția pe fază solidă inițial analizei cromatografice. Toate metodele de determinare prin această tehnică s-au dovedit a putea fi aplicate pentru determinarea antioxidantilor sintetici și naturali din produse cosmetice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [1] Führer H., *Dragoco Report*, **1970**, April, 79.
- [4] Schlossman M. L., *The Chemistry and Manufactures of Cosmetics*, Allured Publishing Corporation, **2000**, 9.
- [6] Lupo M. P., *Clinics in Dermatology*, 19, **2001**, 467-473.
- [9] Andreassi M., Andreassi L., *J. Cosmetic Dermatol.*, 2, **2004**, 153-160.
- [10] Cadenas E., Packer L., *Handbook of Antioxidants*, Marcel Dekker Inc., 2nd Edition, **2002**, 1-5.
- [11] Tebbe B., *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, 14, **2001**, 296-302.
- [12] Lademann J., Gehse S., Patzelt A., Schanzer S., Sterry W., Darvin M. E., *SÖFW J.*, 9, **2008**, 3.
- [15] Gonzalez M., Ballesteros E., Gallego M., Valcarcel M., *Anal. Chim. Acta*, 359, **1998**, 47-55.
- [16] Gessner G. H., *The Condensed Chemical Dictionary*, Eight Edition, Reinhold Publishing Corporation, Encyclopedia of Chemistry, **1971**, 71-72.
- [24] Baran R., Maibach H. I., *Textbook of Cosmetic Dermatology*, 2nd Ed., London: Martin-Dunitz, **1998**, 121-128.
- [25] Boehm M., Williams J., *J. Pharm.*, 232, **1943**, 292.
- [26] **Juncan A. M.**, Hodișan T., *Rev. Soc. Rom. Chim. Cosmet.*, 7, 3, **2007**, 42-46.
- [28] Dugan H. R., Butyl hydroxyanisole as an antioxidant for animal fats, *J. Am. Oil Chemist's Society*, **1989**, 49.
- [31] Niki E., Antioxidants in Relation to Lipid Peroxidation, *Chem. Phys. Lipids*, 44, **1987**, 227- 233.
- [33] Frankel E. N., Meyer A. S., *J. Sci. Agric.*, 80, **2000**, 1925-1941.
- [34] Porter N. A., Caldwell S. E., Mills K. A., Mechanisms of Free Radical Oxidation of Unstaturated Lipids, *Lipids*, 30, **1995**, 277-290.
- [35] Yanishlieva- Maslorova V., Inhibiting Oxidation, In: *Antioxidants in Food Practical Applications*, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, **2001**, 22.
- [38] Luque- Garcia J. L., Luque de Castro M. D., *J. Chromatogr. A*, 935, **2001**, 3-11.
- [44] Kmostak S., Kurtz D. A., *J. AOAC Int.*, 76, **1993**, 735.
- [91] Guldborg M., *J. Anal. Chem.*, 309, **1981**, 117.
- [93] King W. P., Kissinger J., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, **1980**, 137.
- [94] Ivanovic D., Medenica M., *Chromatographia*, 40, **1995**, 652.

- [95] Bianchin L., Colivicchi M. A., Dellacorte L., *J. Chromatogr.*, 694, **1997**, 359.
- [125] Tsai T. F., Lee M. R., *Chromatographia*, 67, 5-6, **2008**, 425-431.
- [139] Maw-Rong L., Chueh-Yu L., Zu-Guang L., Tzu-Feng T., *J. Chromatogr. A*, 1120, **2006**, 244-251.
- [140] Sabo M., Gross J., Rosenberg I. E., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 35, **1984**, 273-281.
- [142] Jung K., Sacher M., Blume G., Janssen F., Herrling Th., *SÖFW-Journal*, 133, **2007**, 2.
- [143] Salvador A., Chisvert A., Actives for Skin-Care Products. Actives for Personal Hygiene and Other Toiletry Products. Actives with Specific Claims. Analytical Methods, in Analysis of Cosmetic Products, Elsevier, **2007**, 364-380.
- [145] Di Mambro V. A., Azzolini A. E. C. S., Valim Y. M. L., Fonseca M. J. V., *Int. J. Pharm.*, 262, **2003**, 93-99.
- [146] Masmoudi H., Y. Le Dreau Y., P. Piccerelle P., Kister J., *Int. J. Pharm.*, 289, **2005**, 117-131.
- [148] Liu H., Sun S., Lv G., Chan K., *Spectrochim. Acta A*, 64, **2006**, 321-326.
- [157] **Juncan A. M.**, Fetea F., Socaciu C., *EEMJ (Environmental Engineering and Management Journal)*, **2011** (accepted for publication).
- [158] Guillen M. D., Cabo N., *J. Sci. Food Agric.*, 80, **2000**, 2028-2036.
- [159] Dubois J. Van de Voort F. R., Sedman J., Ismail A.A., Ramaswamy H. R., *JAOCS*, 73, **1996**, 787-794.
- [160] Graf R., Beck T., Rudolph T., Jung K., Herrling T., Pflücker F., *SÖFW-Journal*, 134, **2008**, 52-60.
- [161] Fuchs J., *Free Radic. Biol. Med.*, 25, **1998**, 848-873.
- [163] European Commission, *The rules governing cosmetic products in the European Union*, vol. 1: Cosmetics legislation, ANNEX I, European Commission, Bruxelles, **1999**.
- [173] **Juncan A. M.**, Hodișan T., Horga C. E., Muntean N., Mitan M., *Rev. Soc. Rom. Chim. Cosmet.*, 10, 2, **2010**, 8-10.
- [174] Ito N., Hirose M., Fukushima S., Shirai T., Tatematsu M., *Food Chem. Toxicol.*, **1986**, 24, 10-11, 1071.
- [175] Hirose M., Takesada Y., Tanaka H., Tamano S., Kato T., Shirai T., *Carcinogenesis*, **1997**, 19, 1, 207.
- [178] **Juncan A. M.**, Horga C. E., Hodișan T., *Studia Universitatis, Chemia*, **2011** (accepted for publication).
- [182] **Juncan A. M.**, Lung C., Horga C. E., LV, 2, *STUDIA UBB. PHYSICA*, **2010**, 85-94.
- [183] **Juncan A. M.**, Hodișan T., 62, 4, *Rev. Chim.*, **2011**, 415-419.