

## Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em formulações dermocosméticas

Bianca Gonzalez Henriques, Valéria Pereira de Sousa, Nadia Maria Volpato, Sheila Garcia\*

Laboratório de Controle de Qualidade de Fármacos e Medicamentos (LabCQ), Departamento de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, UFRJ

*O ácido glicólico é amplamente utilizado na terapêutica para se obter um peeling suave, levando ao afinamento do estrato córneo útil na renovação da epiderme e na redução das linhas faciais. Porém, em concentrações elevadas pode estar associado a um alto potencial de irritação da pele. O peeling químico tem diversas aplicações clínicas dentre elas o tratamento da pele facial lesada por problemas como acne, ictiose, melasma, verrugas e outros problemas. O presente trabalho objetivou estabelecer e validar a metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em formulações dermocosméticas, tendo empregado o método titulométrico de neutralização ácido-base, determinando-se o ponto de equivalência com indicador e/ou indicação potenciométrica. A análise do teor de ácido glicólico na matéria-prima e, particularmente, no produto acabado, é importante para o controle de qualidade, principalmente, para a segurança dos consumidores. Portanto, a matéria-prima e os produtos, contendo ácido glicólico, foram analisados em dois dias, quanto ao teor de ácido glicólico livre e total utilizando soluções de hidróxido de sódio 0,1 N e o ácido clorídrico 0,1 N. A metodologia desenvolvida baseou-se na reação com a substância ativa e com as características próprias destas formulações, demonstrando ser prática e eficaz na quantificação do ácido glicólico.*

### Unitermos

- Ácido glicólico
- Titulação de neutralização ácido-base
- Titulação potenciométrica
- Análise quantitativa
- Validação

### \*Correspondência:

S. Garcia  
Departamento de Medicamentos -  
LabCQ  
Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Av. Brigadeiro Trompowski, s/nº, CCS -  
Bloco Bss/sala 24-34.  
Cidade Universitária  
21941-590 O Rio de Janeiro - RJ, Brasil  
E-mail: sheila@pharma.ufrj.br

## INTRODUÇÃO

O ácido glicólico é um alfa-hidroxiácido encontrado em alimentos naturais, como a cana-de-açúcar e possui propriedades ideais para ser usado na dermo-

cosmética (Cotellessa, Peris, Chimenti, 1995). O ácido glicólico tem boa absorção em diferentes camadas da pele (Kraeling, Bronaugh, 1997) e age como um solvente para a matriz intercorneócita reduzindo a excessiva queratinização; este *peeling* suave leva ao

afinamento do estrato córneo útil na renovação da epiderme e redução visível das linhas faciais (Campos *et al.*, 1999). O *peeling* químico tem diversas aplicações clínicas dentre elas o tratamento da pele facial lesada por problemas como acne, ictiose, melasma, verrugas e outros problemas (Perugini *et al.*, 2000). Nesta técnica, produtos cosméticos contendo agentes químicos terapêuticos, como o ácido glicólico, são aplicados localmente para estimular a renovação da pele. O ácido glicólico é também um agente clareador hidrofílico, que aumenta a hidratação da pele (Chang, Chang, 2003) e aumenta a elasticidade da pele. Essa ação se deve provavelmente à estimulação direta na produção de colágeno, elastina e mucopolissacarídeos nas camadas profundas da pele (Ditre, Griffin, Murphy, 1996).

Sistemas como lipossomas e microesferas têm sido estudados com o objetivo de otimizar as propriedades cosméticas do ácido glicólico, diminuindo seus efeitos adversos (Perugini *et al.*, 2000).

Em 1996, a Revisão de Ingredientes Cosméticos (CIR) concluiu ser seguro o uso dos alfa-hidroxiácidos em produtos cosméticos até 10% e que o pH final da formulação não deveria ser inferior a 3,5 (Johnson, Kligman, 2000). A apresentação do Guia para a Indústria aplicada a produtos cosméticos contendo alfa-hidroxiácidos estabelece o uso em até 10% e pH maior do que 3,5; já para produtos de uso profissional é permitida concentração de até 30% e o pH maior do que 3,0 (Draft Guidance for Industry, 2002).

Na literatura está preconizada a determinação de ácido glicólico em formulações pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sendo este método seletivo e de determinação rápida. Neste foi necessária uma extração prévia, tendo apresentado desvio padrão relativo (DPR) de 1,5 a 5,4 para as formulações escolhidas (Scalia, Callegari, Villani, 1998). A separação de alfa-hidroxiácidos, fenol, resorcinol e ácido salicílico em produtos cosméticos também utilizaram a CLAE com extração em fase sólida (Yates, Havery, 1999). Outro método por cromatografia gasosa capilar, também envolvendo etapa de extração, foi descrito (Molever, 2002).

Neste trabalho foi desenvolvido e validado método titulométrico de neutralização ácido-base para a análise do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em várias formulações dermocosméticas contendo o ácido glicólico, em diferentes concentrações. Os parâmetros de validação estudados foram: exatidão, precisão, recuperação e linearidade (Brasil, 2003). O método analítico por volumetria tem larga aplicabilidade por ser eco-

nômico, rápido e de fácil acesso, principalmente para farmácias com manipulação e indústrias de pequeno porte.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

- Matéria-prima: Solução de ácido glicólico a 70%.
- Gel de ácido glicólico a 10% (3 lotes).
- Gel de ácido glicólico com PCA-Na a 5%(3 lotes).
- Máscara de ácido glicólico a 10% (3 lotes).
- Sabonete líquido de ácido glicólico a 5% (3 lotes).

### Equipamentos, materiais e reagentes

- Balança analítica, Mettler Toledo, modelo AG 204.
- Titulador automático potenciométrico – Mettler Toledo DL 25.
- Eletrodo ácido-base, Mettler Toledo, modelo DG115-SC.
- Impressora Epson, modelo LX-300.
- Potenciômetro Digimed - eletrodo em ponte eletrolítica, modelo DME CV 4.
- Fita indicadora de pH universal (pH 0-14) – Merck.
- Indicador solução alcoólica de fenolftaleína a 1%.
- Ácido clorídrico PA, Merck.
- Solução volumétrica de ácido clorídrico 0,1 N.
- Hidróxido de sódio PA, lentilhas, Vetec.
- Solução volumétrica de hidróxido de sódio 0,1 N.
- Água destilada isenta de gás carbônico.

A matéria-prima, solução de ácido glicólico a 70%, foi analisada quanto ao teor de ácido glicólico por método titulométrico empregando a solução volumétrica de hidróxido de sódio 0,1 N como titulante e o ponto de equivalência foi determinado com o uso de indicador visual (fenolftaleína) e por indicação potenciométrica (eletrodo ácido-base). Para o método com indicador visual pesar cerca de 0,2 g, enquanto que para o método potenciométrico pesar cerca de 0,09 g da matéria-prima.

A matéria-prima foi analisada por ambos os meios de indicação, em dois dias consecutivos e seis replicatas cada dia. Os parâmetros estatísticos foram aplicados para validar o método.

Foram enviados para a análise produtos comerciais de uso clínico contendo ácido glicólico em diferentes concentrações: gel de ácido glicólico a 10%, gel de ácido glicólico a 5% contendo PCA-Na e alfa-bisabolol, máscara de ácido glicólico a 10% e sabonete líquido de ácido glicólico a 5%, os quais foram previamente avaliados, de acordo com o seu aspecto e pH. O pH de cada produto foi determinado potenciometricamente,

em dois dias consecutivos, com exceção da máscara de ácido glicólico, que foi determinado com fita indicadora de pH universal. Cada concentração foi analisada em triplicata.

As amostras a serem analisadas foram preparadas em três concentrações diferentes de ácido glicólico: 3, 5, 7% para os produtos com teor declarado de 5%, correspondendo a 60, 100 e 140% do declarado, e amostras de 8, 10 e 12% para aqueles produtos com teor declarado de 10% em ácido glicólico, correspondendo a 80, 100 e 120% do declarado.

A metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico livre e total, nos produtos comerciais foi desenvolvida baseando-se na reação com a substância ativa e com as características próprias destas formulações. Desta forma, aplicou-se à titulação de neutralização ácido-base, usando o titulador automático Mettler DL 25. Para que o produto apresente pH final de acordo com a legislação vigente, faz-se necessário o uso de substâncias que neutralizem parte do ácido glicólico presente na formulação. Desta forma, foi solicitado ao fabricante a base de cada produto a ser analisado, utilizando-a como branco, sendo titulada com solução de ácido clorídrico 0,1 N.

O teor de ácido glicólico livre foi determinado por meio de pesagem de uma quantidade do produto em análise, equivalente a 0,06 g de ácido glicólico, sendo transferido quantitativamente com auxílio de aproximadamente 40 mL de água destilada, recentemente fervida, para copo plástico do titulador potenciométrico. A titulação foi realizada com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até o ponto de equivalência determinado automaticamente. O teor percentual foi calculado baseado no valor de ácido declarado na ficha de produção de cada um dos produtos. Todas as determinações foram feitas nas três concentrações, em triplicata e em dias diferentes.

Para determinar a quantidade total de ácido glicólico nas formulações, adicionou-se o volume gasto da solução de ácido clorídrico 0,1 N, que foi utilizada na titulação das bases das formulações, ao volume hidróxido de sódio, já consumido pelo ácido glicólico livre. Foram realizadas três determinações, sendo utilizada a média dos volumes gastos da solução de ácido clorídrico 0,1 N na titulação da base de cada um dos produtos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para se avaliar os dois métodos de determinação do ponto de equivalência utilizado na análise titulométrica da matéria-prima foi aplicado o Teste F bicaudal, para 95% de confiança e ( $F_{5,5}$ ) graus de liberdade. A fim de expressar a precisão das medidas foi calculado o desvio-padrão e o desvio-padrão relativo de cada conjunto de determinações. Pelos resultados obtidos pode-se verificar que os métodos não apresentam diferenças estatisticamente significativas e que os valores calculados para o desvio padrão relativo (DPR) encontram-se abaixo de 2% (Haswell, 1992), demonstrando precisão de ambos os métodos (Tabela I). Adotou-se para os cálculos do teor de ácido glicólico nas formulações o valor determinado potenciometricamente, uma vez que estas seriam dosadas por este método.

As formulações foram avaliadas de acordo com o seu aspecto e pH, como indicado na Tabela II. Os valores de pH encontrados estão dentro das especificações para os produtos de uso clínico contendo ácido glicólico, conforme estabelecido pelo FDA/CFSAN, 2003.

Foi avaliada a precisão do método pela repetibilidade e pela precisão intermediária, segundo procedimentos recomendados pela ICH e ANVISA (ICH, 1997; Brasil, 2003). Para avaliar a precisão intermediária foram realizadas as mesmas titulações anteriores, porém em dias diferentes.

Foi calculada a linearidade do método interformulação (todas as formulações) e foram selecionadas as seguintes

**TABELA I** - Validação do método titulométrico de neutralização ácido-base para determinação quantitativa do ácido glicólico em matéria-prima

Método de determinação do ponto de equivalência	Teor de ácido glicólico livre(%)		Repetibilidade DPR(%)		Precisão Intermediária (n=12)DPR (%)
	Primeiro Dia (n=6)	Segundo Dia (n=6)	Primeiro Dia (n=6)	Segundo Dia (n=6)	
<b>Indicador</b>					
<b>Fenoltaleína</b>	65,59 ± 0,47	65,98 ± 0,19	0,72	0,29	0,61
<b>Indicação</b>					
<b>Potenciométrica</b>	64,90 ± 0,33	64,89 ± 0,46	0,51	0,71	0,59

**TABELA II** - Avaliação do pH nas formulações dermocosméticas

Produto	Concentração % (p/p)	pH	
		Primeiro Dia	Segundo Dia
<b>Gel de ácido glicólico 10%</b>	8,0	3,04	3,08
	10,0	2,95	3,03
	12,0	2,92	2,99
<b>Gel de ácido glicólico 5% com PCA-Na e alfa-bisabolol</b>	3,0	3,11	3,17
	5,0	3,03	3,09
	7,0	2,97	3,04
<b>Máscara de ácido glicólico 10%</b>	8,0	4,00	4,00
	10,0	4,00	4,00
	12,0	4,00	4,00
<b>Sabonete líquido de ácido glicólico 5%</b>	3,0	3,28	3,36
	5,0	3,25	3,35
	7,0	3,20	3,30

**TABELA III** - Validação do método titulométrico de neutralização ácido-base para a determinação quantitativa do ácido glicólico livre em formulações dermocosméticas

Produtos com a concentração declarada	Ácido glicólico % (p/p)	massa de ácido livre encontrado intradia % (p/p) (n=3)		repetibilidade DPR (%)		massa de ácido livre interdia % (p/p)(n=6)	Precisão Intermediária DPR(%)
		1ºDia	2º Dia	1ºDia	2º Dia		
	corrigido *						
<b>Gel 8, 10 e 12%</b>	8,0	5,68±0,07	5,58±0,14	1,23	2,51	5,63±0,11	1,95
	10,0	7,10±0,15	7,23±0,04	2,11	0,55	7,16±0,12	1,68
	12,0	8,99±0,02	9,01±0,02	0,22	0,22	9,00±0,02	0,22
<b>Gel Pca-Na / alfa-bisabolol 3, 5 e 7%</b>	3,0	2,06±0,05	2,04±0,09	2,43	4,41	2,05±0,06	2,93
	5,0	3,61±0,01	3,62±0,01	0,28	0,28	3,62±0,01	0,28
	7,0	5,01±0,06	5,05±0,01	1,20	0,20	5,03±0,05	0,99
<b>Máscara 8, 10 e 12%</b>	8,0	5,62±0,17	5,50±0,10	3,02	1,82	5,60±0,15	2,68
	10,0	6,86±0,03	6,80±0,06	0,44	0,88	6,83±0,05	0,73
	12,00	8,05±0,06	8,05±0,06	0,75	0,75	8,05±0,05	0,62
<b>Sabonete 3, 5 e 7%</b>	3,47	2,12±0,02	2,12±0,02	0,94	0,94	2,12±0,02	0,94
	4,92	3,10±0,02	3,10±0,05	0,65	1,61	3,04±0,08	2,63
	6,88	4,24±0,01	4,30±0,05	0,24	1,16	4,27±0,05	1,17

\* corrigida em função da pesada no preparo das amostras

concentrações: 5, 7, 8, 10, 12% (p/p) correspondendo a 60, 80, 100, 120 e 140%, respectivamente. Nesta relação obteve-se coeficiente de correlação de 0,9997, sendo que o critério mínimo aceitável para o coeficiente de correlação deve ser igual a 0,99 Brasil, 2003).

Os parâmetros analisados, para validar o método proposto de análise quantitativa do ácido glicólico em formulações, estão condensados nas Tabelas III e IV. Na determinação do ácido glicólico livre, na precisão intermediária, três resultados foram superiores a 2%, porém abaixo de 5%, e

**TABELA IV** - Validação do método titulométrico de neutralização ácido-base para a determinação quantitativa do ácido glicólico total em formulações dermocosméticas

Produtos com a concentração declarada	Ácido glicólico % (p/p)	massa de ácido livre encontrado intradia % (p/p) (n=3)		repetibilidade DPR (%)		massa de ácido total encontrado interdia % (p/p) (n=6)	Precisão Intermediária DPR (%)
		1ºDia	2º Dia	1ºDia	2º Dia		
	corrigido *						
<b>Gel 8, 10 e 12%</b>	8,0	8,63±0,07	8,53±0,40	0,81	1,64	8,58±0,11	1,28
	10,0	10,90±0,16	11,05±0,04	1,47	0,36	10,97±0,13	1,19
	12,0	13,83±0,02	13,85±0,02	0,14	0,14	13,84±0,02	0,14
<b>Gel PcA-Na / alfa bisabolol 3, 5 e 7%</b>	3,0	3,05±0,05	3,03±0,09	1,64	2,97	3,04±0,07	2,30
	5,0	5,28±0,02	5,28±0,01	0,38	0,19	5,28±0,01	0,19
	7,0	7,53±0,06	7,58±0,01	0,8	0,13	7,56±0,04	0,53
<b>Máscara 8, 10 e 12%</b>	8,0	8,18±0,16	8,07±0,11	1,96	1,36	8,14±0,15	1,84
	10,0	10,43±0,02	10,37±0,06	0,19	0,58	10,40±0,05	0,48
	12,00	12,37±0,06	12,38±0,05	0,49	0,40	12,37±0,05	0,40
<b>Sabonete 3, 5 e 7%</b>	3,47	3,33±0,02	3,33±0,02	0,60	0,60	3,33±0,02	0,60
	4,92	4,90±0,01	4,89±0,05	0,20	1,02	4,90±0,03	0,61
	6,88	7,03±0,02	7,09±0,04	0,28	0,56	7,06±0,04	0,57

\* corrigida em função da pesada no preparo das amostras

**TABELA V** - Parâmetros estatísticos para avaliar o método titulométrico de neutralização ácido-base para determinação do teor de ácido glicólico em formulações dermocosméticas

Produto	Concentração declarada na formulação % (p/p)	% Recuperado (n=6)	Exatidão DPR (%)	Teste t Student	
				t	p
<b>Gel de ácido glicólico 10%</b>	8,0	107,23 ± 1,29	1,20	1,06	0,3469
	10,0	109,73 ± 1,18	1,08	-1,60	0,1849
	12,0	115,35 ± 0,13	0,11	-1,33	0,2537
<b>Gel de ácido glicólico 5% com PcA-Na e alfa bisabolol</b>	3,0	101,28 ± 1,99	1,96	0,351	0,7434
	5,0	105,57 ± 0,21	0,20	0,232	0,8277
	7,0	107,95 ± 0,58	0,54	-1,39	0,2356
<b>Máscara de ácido glicólico 10%</b>	8,0	101,73 ± 1,59	1,56	0,876	0,4456
	10,0	104,00 ± 0,44	0,42	1,50	0,2082
	12,0	103,11 ± 0,36	0,35	-0,356	0,7395
<b>Sabonete líquido de ácido glicólico 5%</b>	3,0	111,00 ± 0,63	0,57	0,614	0,5721
	5,0	97,90 ± 0,68	0,69	0,439	0,6835
	7,0	100,85 ± 0,63	0,62	-2,28	0,0844

\* com 4 graus de liberdade (teste realizado para teor de ácido glicólico total), o valor de t tabelado para distribuição bicaudal é 2,78

para o ácido glicólico total apenas um resultado encontra-se acima, os demais estão abaixo de 2% (Haswell, 1992).

Os resultados para a recuperação foram obtidos e aplicou-se o Teste t-Student (Boddy, Caulcutt, 1983; Vogel, 2002) para o teor de ácido glicólico total em cada uma das concentrações das formulações conforme mostrados na Tabela V. Foram estabelecidos o intervalo de confiança em 95% e os valores de p calculados com quatro graus de liberdade, sendo observadas boa recuperação e exatidão do método.

## CONCLUSÃO

Por serem produtos destinados ao uso clínico os valores de pH encontraram-se dentro do recomendado para este tipo de preparação.

A maior facilidade de execução nos leva a propor o método titulométrico de neutralização ácido-base com determinação do ponto de equivalência por potenciometria como primeira escolha para futura monografia da matéria-prima, ácido glicólico solução a 70%, e das formulações dermocosméticas para a Farmacopéia Brasileira. Além disso, o desenvolvimento de métodos simples, econômicos e devidamente validados permite a utilização por farmácias com manipulação, para o controle de qualidade de seus produtos.

O método apresentado permite a determinação do ácido glicólico com relativa facilidade, precisão e exatidão. Todos os parâmetros avaliados estão compatíveis com as recomendações estabelecidas pelos órgãos competentes e oficiais, validando a metodologia testada para análises quantitativa do ácido glicólico em formulações dermocosméticas.

## ABSTRACT

### **Development and validation of an analytical methodology for determination of glycolic acid acid in raw material and dermocosmetic formulations**

*Glycolic acid is widely used in therapeutical care as a soft peeling, leading to the thickness of the horny layer, which is useful in the renewal of the epidermis and the reduction of the face lines. However, in high concentrations it can be associated to a potential of irritation of the skin. A chemical peeling has diverse clinical applications, among them the treatment of injured skin face like: acne, ichthyose, melasma, warts and other else. The present work had the goal to establish and to validate an analytical methodology for the determination of the glycolic acid purity in the raw material and in the*

*dermocosmetic formulations, the acid-base neutralization titration method was used, and the end point was determined with visual indicator as well as potentiometric. The analysis of glycolic acid in the raw material, and particularly, in the finished product is important to maintain the quality control and to guarantee the consumers security. Therefore, the raw material and the products, with glycolic acid, were analyzed in two days, as its purity in free and total glycolic acid was determined using sodium hydroxide 0,1 N and the hydrochloric acid 0,1 N solutions. The developed methodology was based on the reaction with the active substance and with the property characteristics of these formulations. It was demonstrated to be practical and efficient in quantify the glycolic acid.*

*UNITERMS: Glycolic acid. Acid-base titration. Potentiometric titration. Quantitative analysis. Validation.*

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a SCD Laboratório Cosmético Ltda pelo fornecimento das formulações de ácido glicólico e da matéria-prima e ao Laboratório de Controle de Qualidade de Fármacos e Medicamentos (LabCQ), pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BODDY, R.; CAULCUTT, R. *Statistics for analytical chemists*. London: Chapman and Hall, 1983. p.240.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. R.E, nº 899 de 29 de maio de 2003 – *Guia para validação de métodos qualitativos e bioanalíticos*. Disponível em: <<http://www.e-legis.brs.br/leis>>. Acesso em: 12 de dez. 2003.
- CAMPOS, P.M.B.G.M.; RICCI, G.; SEMPRINI, M.; LOPES, R.A. Histopathological, morphometric, and stereologic studies of dermocosmetic skin formulations containing vitamin A and/or glycolic acid. *J. Cosmet. Sci.*, v.50, p.159-170, 1999.
- CHANG, M.; CHANG, C. Simultaneous HPLC determination of hydrophilic whitening agents in cosmetic products. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v.33, p.617-626, 2003.

- COTELLESA, C.; PERIS, K.; CHIMENTI, S. Glycolic acid and its use in dermatology. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.*, v.5, p.215-217, 1995.
- DITRE, C.M.; GRIFFIN, T.D.; MURPHY, G.F. Effects of alpha hydroxy acids on photoaged skin: a pilot clinical, histological and ultrastructural study. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.34, p.187-195, 1996.
- FDA/CFSAN. Draft guidance for industry. Labeling for topically applied cosmetic products containing alpha hydroxy acids as ingredients, december 2, 2002. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/ahaguide.html>>. Acesso em: 31 mar. 2003.
- HASWELL, S. J. *Statistical evaluation of data*. Practical guide to chemometrics. New York: Marcel Dekker, 1992. p.5-38.
- ICH – International conference on harmonization, Q2b: *Validation of analytical procedures: Methodology*. US FDA Federal Register, v.62, p.27463, 1997.
- JOHNSON, A. W.; KLIGMAN, A.M. Application of 4% and 8% glycolic acid to human skin in commercial skin creams formulated to CIR guidelines does not thin the stratum corneum or increase sensitivity to UVR. *J. Cosmet. Sci.*, v.51, p.343-349, 2000.
- KRAELING, M.E.K.; BRONAUGH, R.L. In vitro percutaneous absorption of alpha hydroxy acids in human skin. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, v.48, p.187-197, 1997.
- MOLEVER, K. Simultaneous determination of alpha and beta hydroxy acids in personal care products by capillary gas chromatography. *J. Cosmet. Sci.*, v.53, p.121-126, 2002.
- PERUGINI, P.; GENTA, L.; PAVANETTO, F.; CONTI, B.; SCALIA, S. Study on glycolic acid delivery by liposomes and microspheres. *Int. J. Pharm.*, v. 196, p.51-56, 2000.
- SCALIA, S.; CALLEGARI, R.; VILLANI, S. Determination of glycolic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and reversed phase ion-pair high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, v.795, p.219-222, 1998.
- SHABIR, G.: Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *J. Chromatogr. A*, v.987, p.57-66, 2003.
- VOGEL, A.I. *Análise química quantitativa*. 6 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002. p.63-89.
- YATES, R. L.; HAVERY, D. C. Determination of phenol, resorcinol, salicylic acid and alpha hydroxiacids in cosmetic products and salon preparations. *J. Cosmet. Sci.*, v.50, p.315-325, 1999.
- Recebido para publicação em 21 de dezembro de 2005.  
Aceito para publicação em 03 de outubro de 2006.