

II

(Atti per i quali la pubblicazione non è una condizione di applicabilità)

COMMISSIONE

QUINTA DIRETTIVA 93/73/CEE DELLA COMMISSIONE

del 9 settembre 1993

relativa ai metodi di analisi necessari per i controlli della composizione dei prodotti cosmetici

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il Trattato che istituisce la Comunità economica europea,

vista la direttiva 76/768/CEE del Consiglio, del 27 luglio 1976, riguardante il ravvicinamento delle legislazioni degli Stati membri relative ai prodotti cosmetici⁽¹⁾ modificata da ultimo dalla direttiva 93/35/CEE⁽²⁾, in particolare l'articolo 8, paragrafo 1,

considerando che la direttiva 76/768/CEE prevede controlli ufficiali dei prodotti cosmetici intesi a verificare l'osservanza delle disposizioni comunitarie relative alla composizione dei prodotti cosmetici;

considerando che vanno definiti al più presto tutti i metodi di analisi necessari dopo le prime quattro tappe realizzate con i metodi adottati dalla direttiva 80/1335/CEE della Commissione⁽³⁾, modificata dalla direttiva 87/143/CEE⁽⁴⁾, dalla direttiva 82/434/CEE della Commissione⁽⁵⁾, modificata dalla direttiva 90/207/CEE⁽⁶⁾, e dalle direttive 83/514/CEE⁽⁷⁾ e 85/490/CEE della Commissione⁽⁸⁾; che l'identificazione e la determinazione del nitrato d'argento, l'identificazione e la determinazione del bisolfuro di selenio come selenio negli shampoo antiforfora, la determinazione del bario e dello stronzio solubili in pigmenti sotto forma di sali o in lacche, l'identifica-

zione e la determinazione dell'alcool benzilico, l'identificazione dello zirconio e la determinazione dello zirconio, dell'alluminio e del cloro negli antidiaforetici non aerosol e l'identificazione e dosaggio dell'esamidina, della dibromoesamidina, della dibromopropamidina e della cloroesidina, costituiscono una quinta tappa;

considerando che le disposizioni della presente direttiva sono conformi al parere del comitato per l'adeguamento al progresso tecnico della direttiva 76/768/CEE,

HA ADOTTATO LA PRESENTE DIRETTIVA:

Articolo 1

Gli Stati membri adottano tutti i provvedimenti utili affinché, all'atto dei controlli ufficiali dei prodotti cosmetici:

- l'identificazione e la determinazione del nitrato d'argento,
- l'identificazione e la determinazione del bisolfuro di selenio come selenio negli shampoo antiforfora,
- determinazione del bario e dello stronzio solubili in pigmenti sotto forma di sali o in lacche,
- identificazione e determinazione dell'alcool benzilico,
- l'identificazione dello zirconio e determinazione dello zirconio, dell'alluminio e del cloro negli antidiaforetici non aerosol,
- l'identificazione e dosaggio dell'esamidina, della dibromoesamidina, della dibromopropamidina e della cloroesidina,

siano eseguite secondo i metodi descritti in allegato.

⁽¹⁾ GU n. L 262 del 27. 9. 1976, pag. 169.

⁽²⁾ GU n. L 151 del 23. 6. 1993, pag. 32.

⁽³⁾ GU n. L 383 del 31. 12. 1980, pag. 27.

⁽⁴⁾ GU n. L 57 del 27. 2. 1987, pag. 56.

⁽⁵⁾ GU n. L 185 del 30. 6. 1982, pag. 1.

⁽⁶⁾ GU n. L 108 del 28. 4. 1990, pag. 92.

⁽⁷⁾ GU n. L 291 del 24. 10. 1983, pag. 9.

⁽⁸⁾ GU n. L 295 del 7. 11. 1985, pag. 30.

Articolo 2

1. Gli Stati membri mettono in vigore le disposizioni legislative, regolamentari o amministrative necessarie per conformarsi alla presente direttiva entro il 30 settembre 1994.

Essi ne informano immediatamente la Commissione.

Quando gli Stati membri adottano tali disposizioni, queste contengono un riferimento alla presente direttiva o sono corredate da un siffatto riferimento all'atto della pubblicazione ufficiale. Le modalità del riferimento sono decise dagli Stati membri.

2. Gli Stati membri comunicano alla Commissione il testo delle disposizioni di diritto interno da essi adottate nel settore disciplinato dalla presente direttiva.

Articolo 3

Gli Stati membri sono destinatari della presente direttiva.

Fatto a Bruxelles, il 9 settembre 1993.

Per la Commissione

Christiane SCRIVENER

Membro della Commissione

ALLEGATO

IDENTIFICAZIONE E DETERMINAZIONE DEL NITRATO D'ARGENTO

A. Identificazione

1. *Scopo e campo di applicazione*

Questo metodo descrive l'identificazione del nitrato d'argento, come argento metallico nei prodotti cosmetici acquosi.

2. *Principio*

L'argento viene identificato dal caratteristico precipitato bianco che si forma con ioni cloruro.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Soluzione 2 M di acido cloridrico

3.2. Soluzione di ammoniaca: diluire la soluzione di ammonio idrossido concentrato ($d_{20} = 0,88$ g/ml) con un'eguale quantità di acqua e mescolare.

3.3. Soluzione 2 M di acido nitrico

4. *Apparecchiature*

4.1. Normale apparecchiatura di laboratorio

4.2. Centrifuga

5. *Procedimento*

5.1. A circa 1 g di campione aggiungere, in un tubo da centrifuga, la soluzione 2 M di acido cloridrico, goccia a goccia, finché la precipitazione sia completa; mescolare e centrifugare.

5.2. Eliminare la soluzione surnatante, e lavare il precipitato una volta con cinque gocce di acqua fredda. Eliminare il liquido di lavaggio.

5.3. Aggiungere, nel tubo da centrifuga, una quantità di acqua pari alla massa di precipitato. Riscaldare all'ebollizione e mescolare.

5.4. Centrifugare a caldo e scartare il surnatante.

5.5. Aggiungere al precipitato qualche goccia di soluzione di ammonio idrossido (3.2); mescolare e centrifugare.

5.6. Ad una goccia di surnatante aggiungere, su di un vetrino, qualche goccia di soluzione 2 M di acido nitrico 2 M (3.3).

5.7. La formazione di un precipitato bianco, indica la presenza dell'argento.

B. Determinazione

1. *Scopo e campo di applicazione*

Questo metodo è adatto alla determinazione del nitrato di argento, come argento, in prodotti cosmetici destinati alla colorazione di ciglia e sopracciglia.

2. *Principio*

Si determina l'argento per spettrometria di assorbimento atomico.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Soluzione 0,02 M di acido nitrico

3.2. Soluzione standard di argento

3.2.1. Soluzione madre di argento standard, 1 000 µg/ml in soluzione 0,5 M di acido nitrico, (« Spectrosol », o equivalente).

- 3.2.2. Soluzione standard di argento, 100 µg/ml : pipettare 10 ml di soluzione madre (3.2.1) in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con soluzione di acido nitrico 0,02 M (3.1) e mescolare. Questa soluzione standard deve essere preparata di fresco e conservata in bottiglia di vetro scuro.

4. *Apparecchiature*

- 4.1. Attrezzature normali di laboratorio
4.2. Spettrometro ad assorbimento atomico, dotato di lampada a catodo cavo d'argento.

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione

Pesare, accuratamente, circa 0,1 g (m grammi) di campione omogeneo. Trasferirlo accuratamente in un matraccio tarato da 1 000 ml portare a volume con soluzione 0,02 M di acido nitrico (3.1) e mescolare.

5.2. Condizione per la spettrometria di assorbimento atomico

Fiamma : aria-acetilene

Lunghezza d'onda di lettura : 338,3 nm

Correzione del fondo : sì

Condizioni del carburante : miscela povera ; per ottenere un assorbimento massimo sarà necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.

5.3. Calibrazione

- 5.3.1. Pipettare 1,0 — 2,0 — 3,0 — 4,0 e 5,0 ml della soluzione standard di argento (3.2.2) rispettivamente in una serie di matracci tarati da 100 ml. Portare a volume con la soluzione 0,02 M di acido nitrico (3.1) e mescolare. Queste soluzioni contengono rispettivamente 1,0 — 2,0 — 3,0 — 4,0 e 5,0 µg di argento per millilitro.

- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione di acido nitrico 0,02 (3.1) ed usare il valore ottenuto come concentrazione di argento pari a 0 per la curva di calibrazione. Misurare l'assorbanza di ogni soluzione standard di argento (5.3.1). Tracciare la curva di calibrazione, correlando i valori delle assorbanze con le relative concentrazioni di argento.

5.4. Dosaggio

Misurare il valore dell'assorbanza della soluzione campione (5.1). Dalla curva di calibrazione ricavare il valore della concentrazione di argento dall'assorbanza ottenuta per la soluzione campione.

6. *Calcolo*

Calcolare il contenuto in nitrato d'argento nel campione, in percentuale di massa (% m/m), usando la formula :

$$\% \text{ (m/m) di nitrato d'argento} = \frac{1,5748 \times c}{10 \times m}$$

dove :

m = massa in grammi del campione prelevato per l'analisi (5.1) ;

c = concentrazione in argento nella soluzione campione (5.1), espressa in µg/ml, ottenuta dalla curva di calibrazione.

7. *Ripetibilità*(¹⁾)

Per un contenuto in nitrato di argento del 4 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni condotte in parallelo sullo stesso campione non deve superare lo 0,05 % (m/m).

IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DEL SELENIO DISOLFURO IN SHAMPOO ANTIFORFORA

A. Identificazione

1. *Scopo e campo di applicazione*

Questo metodo descrive il procedimento per l'identificazione del disolfuro di selenio come selenio negli shampoo antiforfora.

2. *Principio*

Il selenio viene identificato per il caratteristico colore giallo-arancio che si produce per reazione con urea e potassio ioduro.

(¹) ISO 5725.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

- 3.1. Acido nitrico concentrato ($d_{20} = 1,42$ g/ml)
- 3.2. Urea
- 3.3. Soluzione di ioduro di potassio al 10 % (m/v): solubilizzare 10 g di potassio ioduro in 100 ml di acqua

4. *Apparecchiatura*

- 4.1. Attrezzatura normale di laboratorio
- 4.2. Tubi da digestione, della capacità di 100 ml
- 4.3. Blocco riscaldante da digestione
- 4.4. Carta da filtro (Whatman N 42 o equivalente) o membrana filtrante da 0,45 μ m

5. *Procedimento*

- 5.1. Ad una quantità di shampoo, pari circa ad 1 g aggiungere, in un tubo da digestione (4.2), 2,5 ml di acido nitrico concentrato (3.1) e lasciare a 150 °C per 30 minuti nel blocco riscaldante (4.3).
- 5.2. Diluire il campione trattato con acqua a 25 ml e filtrare attraverso carta da filtro o membrana filtrante (4.4).
- 5.3. A 2,5 ml di filtrato aggiungere 5 ml di acqua, 2,5 g di urea (3.2) e far bollire. Raffreddare ed aggiungere 1 ml di soluzione di ioduro di potassio.
- 5.4. Un colore giallo-arancio, che imbrunisce rapidamente con il tempo, indica la presenza del selenio.

B. Dosaggio1. *Scopo e campo di applicazione*

Questo metodo è adatto per il dosaggio del disolfuro di selenio, come selenio, in shampoo antiforfora contenenti fino al 4,5 % (m/m) di disolfuro di selenio.

2. *Principio*

Il campione è trattato con acido nitrico e il selenio ottenuto viene dosato per spettrometria di assorbimento atomico.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

- 3.1. Acido nitrico concentrato ($d_{20} = 1,42$ g/ml).
- 3.2. Soluzione di acido nitrico al 5 % (v/v): diluire 50 ml di acido nitrico concentrato (3.1) a 500 ml di acqua, in un beaker, agitando di continuo. Trasferire questa soluzione in un matraccio tarato da 1 000 ml e portare a volume con acqua.
- 3.3. Soluzione madre di selenio standard, 1 000 μ g/ml in soluzione di acido nitrico 0,5 M (« Spectrosol » o equivalente).

4. *Apparecchiatura*

- 4.1. Normale attrezzatura di laboratorio
- 4.2. Tubi da digestione della capacità di 100 ml
- 4.3. Blocco riscaldante da digestione
- 4.4. Carta da filtro (Whatman N 42 o equivalente) o membrana filtrante da 0,45 μ m
- 4.5. Spettrometro di assorbimento atomico, dotato di lampada a catodo cavo al selenio.

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione

- 5.1.1. Pesare accuratamente una quantità di campione omogeneo pari a circa 0,2 g (m grammi), in un tubo da digestione (4.2).
- 5.1.2. Aggiungere 5 ml di acido nitrico concentrato (3.1) e lasciare a 150 °C per 1 ora nel blocco (4.3).
- 5.1.3. Lasciare raffreddare la soluzione ottenuta e diluirla a 100 ml con acqua. Filtrare mediante il dispositivo filtrante (4.4) ed usare la soluzione filtrata per il dosaggio.

5.2. Condizioni operative dello spettrometro ad assorbimento atomico

Fiamma: aria-acetilene

Lunghezza d'onda di determinazione: 196 nm

Correzione di fondo: sì

Condizioni del carburante: miscela ricca; per ottenere un assorbimento massimo sarà necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.

5.3. Calibrazione

- 5.3.1. Pipettare 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 ml della soluzione madre di selenio (3.3) rispettivamente in una serie di matracci tarati da 100 ml. Portarli a volume con soluzione di acido nitrico al 5 % (3.2) e mescolare. Queste soluzioni conterranno rispettivamente 10, 20, 30, 40 e 50 µg/ml di selenio.
- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione di acido nitrico al 5 % (3.2) ed usare il valore ottenuto per la curva di taratura, attribuendogli il valore 0 come concentrazione di selenio. Misurare le assorbanze di ogni soluzione standard di selenio (5.3.1). Tracciare una curva di calibrazione correlando i valori delle assorbanze ottenute con le concentrazioni di selenio.

5.4. Determinazione

Misurare l'assorbanza della soluzione campione (5.1.3). Dalla curva di calibrazione ricavare, in funzione dell'assorbanza letta, la concentrazione di selenio.

6. *Calcolo*

Calcolare il contenuto in disolfuro di selenio presente nel campione, espresso in percentuale di massa (% m/m), usando la formula:

$$\% \text{ (m/m) di disolfuro di selenio} = \frac{1,812 \times c}{100 \times m}$$

dove:

m = massa in grammi del campione prelevato per l'analisi (5.1.1);

c = concentrazione del selenio nella soluzione in esame (5.1.3), espressa in µg/ml, ricavata dalla curva di calibrazione.

7. *Ripetibilità⁽¹⁾*

Per un contenuto di disolfuro di selenio dell'1 % (m/m) la differenza fra i risultati di due determinazioni condotte in parallelo sullo stesso campione non dovrebbe superare lo 0,05 % (m/m).

DETERMINAZIONE DEL BARIO E DELLO STRONZIO SOLUBILI IN PIGMENTI SOTTO FORMA DI SALI E LACCHE

A. Determinazione del bario solubile

1. *Scopo e campo di applicazione*

Questo metodo descrive la procedura di estrazione e determinazione del bario solubile dai pigmenti sotto forma di sali o lacche.

2. *Principio*

Il pigmento è estratto con soluzione acido cloridrico 0,07 M, in condizioni opportune, e la quantità di bario nel mezzo estraente è determinata per spettrometria di assorbimento atomico.

⁽¹⁾ ISO 5725.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

- 3.1. Etanolo anidro
- 3.2. Soluzione di acido cloridrico 0,07 M
- 3.3. Soluzione di acido cloridrico 0,5 M
- 3.4. Soluzione di potassio cloruro all'8 % (m/v): solubilizzare 16 g di potassio cloruro in 200 ml di soluzione di acido cloridrico 0,07 M (3.2)
- 3.5. Soluzione standard di bario
 - 3.5.1. Soluzione madre di bario standard, 1 000 µg/ml in soluzione 0,5 M di acido nitrico (« Spectrosol » o equivalente)
 - 3.5.2. Soluzione standard di bario, 200 µg/ml: pipettare 20,0 ml della soluzione madre di bario standard (3.5.1) in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con soluzione 0,07 M di acido cloridrico (3.2) e mescolare.

4. *Apparecchiatura*

- 4.1. Normale attrezzatura di laboratorio
- 4.2. Piaccametro con una precisione di $\pm 0,02$ unità
- 4.3. Agitatore meccanico per beute
- 4.4. Membrana filtrante con una porosità di 0,45 µm
- 4.5. Spettrometro di assorbimento atomico con lampada a catodo cavo al bario

5. *Procedimento*

- 5.1. Preparazione del campione
 - 5.1.1. Pesare accuratamente, circa 0,5 g (m grammi) di pigmento, in una beuta conica, di almeno 150 ml di volume, per consentire un'agitazione efficiente.
 - 5.1.2. Pipettare 1,0 ml di etanolo (3.1) e ruotare la beuta per ottenere una omogenea bagnabilità del pigmento. Aggiungere con una buretta l'esatta quantità di soluzione 0,07 M di volume di acido cloridrico (3.2), necessaria perché il rapporto volume di acido massa di pigmento sia esattamente di 50 ml per grammo. Sia quindi il volume totale di soluzione impiegata, incluso l'etanolo, pari a V ml. Agitare per 5 secondi il contenuto della beuta, per assicurarne la perfetta omogeneità.
 - 5.1.3. Mediante il piaccametro (4.2), misurare il pH della sospensione ottenuta e, se sopra 1,5, aggiungere goccia a goccia la soluzione 0,5 M di acido cloridrico (3.3) fino a raggiungere l'intervallo 1,4 — 1,5.
 - 5.1.4. Chiudere ed agitare immediatamente la beuta per 60 minuti, usando l'agitatore meccanico (4.3). L'agitatore deve operare ad una velocità sufficientemente alta da produrre una schiuma. Filtrare attraverso un filtro a membrana (4.4) e raccogliere il filtrato. Non centrifugare prima della filtrazione. Pipettare 5,0 ml di filtrato in un matraccio tarato da 50 ml; portare a volume con soluzione 0,07 M di acido cloridrico (3.2) e mescolare. Questa soluzione viene usata anche per la determinazione dello stronzio (parte B).
 - 5.1.5. Pipettare in un matraccio tarato da 100 ml 5,0 ml di soluzione di potassio cloruro (3.4) ed un'aliquota (W ml) di filtrato diluito (5.1.4) per ottenere una concentrazione compresa tra 3 e 10 µg di bario per ml. (Un'aliquota di 10 ml potrebbe essere sufficiente.) Portare a volume con soluzione 0,07 M (3.2) e mescolare.
 - 5.1.6. Determinare la concentrazione in bario della soluzione (5.1.5) per spettrometria di assorbimento atomico nello stesso giorno.
- 5.2. Condizioni della spettrometria di assorbimento atomico

Fiamma: perossido nitroso/acetilene

Lunghezza d'onda: 553,5 nm

Correzione di fondo: no

Condizioni del carburante: miscela ricca; per ottenere un assorbimento massimo sarà necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.

5.3. Calibrazione

- 5.3.1. In una serie di matracci tarati da 100 ml, pipettare 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 e 5,0 ml di soluzione standard di bario (3.5.2). Aggiungere ad ogni matraccio 5,0 ml di soluzione di acido cloridrico (3.4); portare a volume con soluzione di acido cloridrico (3.2) e mescolare. Queste soluzioni contengono rispettivamente 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 ; 10,0 µg di bario per millilitro.

Preparare una soluzione bianco, omettendo l'aggiunta della soluzione standard di bario.

- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione bianco (5.3.1) ed usare il valore ottenuto come valore 0 per la curva di standard di calibrazione (5.3.1). Tracciare una curva di concentrazione correlando i valori di assorbanza con le concentrazioni di bario.

5.4. Determinazione

Misurare l'assorbanza della soluzione campione (5.1.5). Dalla curva di calibrazione leggere la concentrazione di bario corrispondente al valor di assorbanza ottenuto per la soluzione in esame.

6. Calcolo

Il contenuto in bario solubile (% m/m) del pigmento è dato dalla formula :

$$\% \text{ (m/m) di bario solubile} = \frac{C \times V}{10W_{Ba} \times m}$$

dove :

m = massa in grammi del campione prelevato per l'analisi (5.1.1);

c = concentrazione del bario nella soluzione (5.1.5), in microgrammi per millilitro, ottenuta dalla curva di calibrazione ;

V = volume totale della soluzione estraente in millilitri (5.1.2);

W_{Ba} = volume dell'estratto in millilitri, prelevato in 5.1.5.

7. Ripetibilità

Il migliore valore stimato di ripetibilità (ISO 5725) per questo metodo è dello 0,3 % per un contenuto in bario solubile del 2 % (m/m).

8. Nota

- 8.1. In certe condizioni l'assorbanza del bario può essere incrementata dalla presenza del calcio. Questo fenomeno può essere minimizzato con l'aggiunta di ioni magnesio alla concentrazione di 5 g per litro⁽¹⁾.
- 8.2. È possibile usare uno spettrometro a plasma accoppiato induttivamente, come alternativa allo spettrometro di assorbimento atomico a fiamma.

B. Determinazione dello stronzio solubile

1. Scopo e campo di applicazione

Questo metodo descrive la procedura di estrazione e determinazione dello stronzio solubile dai pigmenti sotto forma di sali o lacche.

2. Principio

Il pigmento è estratto con soluzione acido cloridrico 0,07 M, in condizioni opportune, e la quantità di stronzio nel mezzo estraente è determinata per spettrometria di assorbimento atomico.

3. Reattivi

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Etanolo anidro

3.2. Soluzione di acido cloridrico 0,07 M

3.3. Soluzione di potassio cloruro all'8 % (m/v) : solubilizzare 16 g di potassio cloruro in 200 ml di soluzione di acido cloridrico 0,07 M (3.2)

⁽¹⁾ • Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry •, Jerrow M. et al., Analytical Proceedings, 1991, 28, 40.

3.4. Soluzioni standard di stronzio

- 3.4.1. Soluzione madre di stronzio standard, 1 000 µg/ml in soluzione 0,5 M di acido nitrico (« Spectrosol » o equivalente)
- 3.4.2. Soluzione standard di stronzio, 100 µg/ml : pipettare 10,0 ml della soluzione madre di bario standard (3.4.1) in un matraccio tarato da 100 ml. Portare a volume con soluzione 0,07 M di acido cloridrico (3.2) e mescolare.

4. *Apparecchiatura*

- 4.1. Normale attrezzatura di laboratorio
- 4.2. Membrana filtrante con una porosità di 0,45 µm
- 4.3. Spettrometro di assorbimento atomico con lampada a catodo

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione

Per determinare il contenuto in stronzio solubile si usa la soluzione preparata in A 5.1.4.

- 5.1.1. Pipettare 5,0 ml di soluzione di potassio cloruro (3.3) in un matraccio tarato da 100 ml ed un'aliquota (W_{sr} , ml) di soluzione filtrata diluita (A.5.1.4) per ottenere una concentrazione compresa tra 2 e 5 µg di stronzio per ml. (Un'aliquota di 25 ml dovrebbe essere ottimale). Portare a volume con soluzione di acido cloridrico 0,07 M (3.2) e mescolare.
- 5.1.2. Determinare la concentrazione della soluzione (5.1.1) in stronzio, per spettrometria di assorbimento atomico, nello stesso giorno.

5.2. Condizioni della spettrometria di assorbimento atomico

Fiamma : protossido di azoto/acetilene

Lunghezza d'onda : 460,7 nm

Correzione di fondo : no

Condizioni del carburante : miscela povera ; per ottenere un assorbimento massimo sarà necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.

5.3. Calibrazione

- 5.3.1. In una serie di matracci tarati da 100 ml, pipettare 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 e 5,0 ml di soluzione standard di stronzio (3.4.2). Aggiungere ad ogni matraccio 5,0 ml di soluzione di potassio cloruro (3.3) ; portare a volume con soluzione di acido cloridrico 0,07 M (3.2) e mescolare. Queste soluzioni contengono rispettivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 e 5,0 µg di stronzio per millilitro.
- Preparare una soluzione bianco, omettendo l'aggiunta della soluzione standard di stronzio.

- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione bianco (5.3.1) ed usare il valore ottenuto come valore 0 per la curva di standard di calibrazione. Misurare l'assorbanza di ogni soluzione standard di calibrazione (5.3.1). Tracciare una curva di concentrazioni correlando i valori di assorbanza con le concentrazioni di stronzio.

5.4. Determinazione

Misurare l'assorbanza della soluzione campione (5.1.1). Dalla curva di calibrazione leggere la concentrazione di bario corrispondente al valor di assorbanza ottenuto per la soluzione in esame.

6. *Calcolo*

Il contenuto in stronzio solubile (% m/m) del pigmento è dato dalla formula :

$$\% \text{ (m/m) di stronzio solubile} = \frac{c \times V}{10W_{sr} \times m}$$

dove :

m = massa in grammi del campione prelevato per l'analisi (5.1.1) ;

c = concentrazione dello stronzio nella soluzione (5.1.1), in microgrammi per millilitro, ottenuta dalla curva di calibrazione ;

V = volume totale della soluzione estraente in millilitri (A.5.1.2) ;

W_{sr} = volume dell'estratto in millilitri, prelevato in 5.1.1

7. *Ripetibilità*

Il migliore valore stimato di ripetibilità (ISO 5725) per questo metodo è dello 0,09 % per un contenuto in stronzio solubile dello 0,6 % (m/m).

8. *Nota*

È possibile usare uno spettrometro a plasma accoppiato induttivamente, come alternativa allo spettrometro di assorbimento atomico o fiamma.

IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'ALCOOL BENZILICO NEI PRODOTTI COSMETICI**A. Identificazione**1. *Oggetto e campo di applicazione*

Questo metodo descrive l'identificazione dell'alcool benzilico nei prodotti cosmetici.

2. *Principio*

L'alcool benzilico viene identificato per cromatografia su strato sottile su lastre di silice.

3. *Reattivi*

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica.

3.1. Alcool benzilico

3.2. Cloroformio

3.3. Etanolo

3.4. n-Pentano

3.5. Solvente di sviluppo: etere etilico

3.6. Soluzione standard di alcool benzilico: trasferire 0,1 g di alcool benzilico (3.1) in un matraccio da 100 ml, portare a volume con etanolo (3.3) e mescolare.

3.7. Lastre di vetro per cromatografia su strato sottile di dimensioni 100 mm × 200 mm o 200 mm × 200 mm, ricoperte con uno strato di gel di silice 60 F₂₅₄.

3.8. Reattivo di visualizzazione: acido 12-fosfomolibdico al 10 % (m/v) in etanolo (3.3).

4. *Attrezzatura*

4.1. Attrezzatura normale di laboratorio per cromatografia su strato sottile

4.2. Camera per cromatografia, a doppia vasca di dimensioni esterne pari a circa 80 mm × 230 mm × 240 mm

4.3. Carta per cromatografia: Whatman, o analoga

4.4. Lampada a radiazioni u.v. con emissione alla lunghezza d'onda di 254 nm

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione

Pesare 1,0 g del prodotto da analizzare in una provetta da 10 ml. Aggiungere 3 ml di cloroformio (3.2) ed agitare vigorosamente fino a dispersione completa. Portare a volume con etanolo (3.3) ed agitare energicamente fino ad ottenere una soluzione limpida o quasi limpida.

5.2. Cromatografia su strato sottile

5.2.1. Saturare la vaschetta cromatografica (4.2) con n-pentano (3.4) come segue: foderare la parete della camera adiacente al fondo con carta cromatografica (4.3), assicurandosi che la piega inferiore della carta sia nel pozzetto con il solvente. Trasferire 25 ml di n-pentano (3.4) nel pozzetto facendo scorrere il solvente sulla superficie esposta del foglio di carta. Richiudere il coperchio e lasciare la vasca a riposo per 15 minuti.

5.2.2. Depositare 10 µl di soluzione campione (5.1) e 10 µl di soluzione standard di alcool benzilico (3.6) sulla linea di partenza di una lastrina cromatografica (3.7) lasciare asciugare.

5.2.3. Pipettare 10 ml di etere etilico (3.5) nella vaschetta anteriore e immediatamente dopo inserire la lastrina (5.2.2) nella stessa vaschetta. Richiudere e sviluppare la lastrina per 150 mm. Estrarre la lastrina ed asciugarla a temperatura ambiente.

- 5.2.4. Esporre la lastrina (5.2.3) alla luce u.v. e segnare la posizione delle macchie viola. Spruzzare con il reattivo di visualizzazione (3.8) e riscaldare la lastra a 120 °C per circa 15 minuti. L'alcool benzilico appare come una macchia blu scura.
- 5.2.5. Calcolare il valore Rf ottenuto con la soluzione standard d'alcool benzilico. Una macchia blu scura con lo stesso valore Rf, ottenuto con la soluzione campione, conferma la presenza d'alcool benzilico.
- Limite di sensibilità: 0,1 µg di alcool benzilico.

B. Dosaggio

1. Oggetto e campo di applicazione

Questo metodo descrive il dosaggio dell'alcool benzilico nei prodotti cosmetici.

2. Definizione

La quantità di alcool benzilico determinata con questo metodo viene espressa come percentuale di massa (% m/m).

3. Principio

Il campione è estratto con metanolo e la quantità di alcool benzilico presente nell'estratto è determinata per cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC).

4. Reattivi

Tutti i reattivi devono essere di purezza analitica ed idonei, quando richiesto, per HPLC.

4.1. Metanolo

4.2. 4-Etossifenolo

4.3. Alcool benzilico

4.4. Fase mobile: metanolo (4.1)/acqua (45 : 55 ; v/v)

4.5. Soluzione madre di alcool benzilico: pesare accuratamente circa 0,1 g di alcool benzilico (4.3) in un matraccio da 100 ml. Portare a volume con metanolo (4.1) e mescolare.

4.6. Soluzione madre di standard interno: pesare accuratamente circa 0,1 g di etossifenolo (4.2) in un matraccio da 100 ml. Portare a volume con metanolo e mescolare.

4.7. Soluzioni standard: in una serie di matracci da 25 ml, pipettare quantità di soluzione madre di alcool benzilico (4.5) e di soluzione madre di standard interno (4.6) secondo le indicazioni della tabella sotto-riportata.

Portare a volume con metanolo (4.1) e mescolare.

Soluzione standard	Concentrazione di alcool benzilico		Concentrazione di 4-etossifenolo	
	ml (4.5) addizionati	µg/ml (*)	ml (4.6) addizionati	µg/ml (*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Questi valori vengono riportati a solo titolo indicativo e corrispondono alle concentrazioni di soluzioni standard preparate usando soluzioni di alcool benzilico (4.5) e 4-etossifenolo (4.6) che contengono esattamente lo 0,1 % (m/v) dei rispettivi soluti.

5. Apparecchiatura

5.1. Normale apparecchiatura di laboratorio

5.2. Cromatografo liquido ad alta risoluzione con detector a luce ultravioletta a lunghezza d'onda variabile e loop da iniezione da 10 µl

5.3. Colonna analitica in acciaio inossidabile impaccata con Spherisorb da 5 µm di granulometria, lunga 250 mm e di 4,6 mm di diametro o equivalente

- 5.4. Bagnomaria
- 5.5. Bagno ad ultrasuoni
- 5.6. Centrifuga
- 5.7. Tubi da centrifuga da 15 ml di capacità
6. *Procedimento*
 - 6.1. Preparazione del campione
 - 6.1.1. Pesare accuratamente circa 0,1 g (m grammi) del campione in un tubo da centrifuga (5.7) ed aggiungere 5 ml di metanolo (4.1).
 - 6.1.2. Riscaldare per 10 minuti in un bagnomaria (5.4) a 50 °C, trasferendolo poi in un bagno ad ultrasuoni (5.5) fino a dispersione.
 - 6.1.3. Raffreddare e centrifugare a 3 500 giri/min per 5 minuti.
 - 6.1.4. Trasferire il surnatante in un matraccio tarato da 25 ml.
 - 6.1.5. Estrarre nuovamente il campione con 5 ml di metanolo (4.1). Riunire gli estratti nel matraccio tarato da 25 ml.
 - 6.1.6. Pipettare 2,0 ml di soluzione di standard interno (4.6) nel matraccio tarato da 25 ml. Portare a volume con metanolo (4.1) e mescolare. Questa soluzione è usata nella fase quantitativa dell'analisi descritta al punto 6.4.
 - 6.2. Cromatografia
 - 6.2.1. Preparare il cromatografo liquido (5.2) secondo le modalità operative. Fissare il flusso della fase mobile (4.4) a 2,0 ml al minuto.
 - 6.2.2. Fissare la lunghezza d'onda del detector (5.2) a 210 nm.
 - 6.3. Calibrazione
 - 6.3.1. Iniettare 10 µl di ogni soluzione standard di alcool benzilico (4.7) e misurare le aree dei picchi dell'alcool benzilico e del 4-etossifenolo.
 - 6.3.2. Per ogni soluzione standard (4.7) calcolare il rapporto delle aree dei picchi dell'alcool benzilico e del 4-etossifenolo. Tracciare una curva di calibrazione usando questi rapporti come ordinate e le corrispondenti concentrazioni di alcool benzilico in µg per ml come ascisse.
 - 6.4. Determinazione
 - 6.4.1. Iniettare 10 µl della soluzione campione (6.1.6) e misurare le aree dei picchi dell'alcool benzilico e del 4-etossifenolo. Calcolare il rapporto delle aree dei picchi dell'alcool benzilico e del 4-etossifenolo. Ripetere l'operazione con altre aliquote da 10 µl della soluzione campione finché non si ottengano risultati concordanti.
 - 6.4.2. Dalla curva di calibrazione (6.3.2) leggere la concentrazione di alcool benzilico corrispondente al rapporto dei picchi alcool benzilico/4-etossifenolo.
7. *Calcolo*

Calcolare il contenuto del campione in alcool benzilico, come percentuale di massa, usando la formula :

$$\% \text{ (m/m) di alcool benzilico} = \frac{c}{400 \times m}$$

dove :

m = massa espressa in grammi di campione prelevato per le analisi (6.1.1);

c = concentrazione dell'alcool benzilico nella soluzione campione (6.1.6), espressa in microgrammi per millilitro, ottenuta dalla curva di calibrazione.

8. *Ripetibilità⁽¹⁾*

Per un contenuto in alcool benzilico pari all'1 % (m/m) la differenza tra i risultati di due determinazioni condotte in parallelo sullo stesso campione non dovrebbe superare lo 0,1 %.

⁽¹⁾ ISO 5725.

IDENTIFICAZIONE DELLO ZIRCONIO E DETERMINAZIONE DELLO ZIRCONIO, DELL'ALLUMINIO E DEL CLORO NEGLI ANTIDIAFORETICI NON AEROSOL

Il metodo è articolato in cinque fasi :

- A. Identificazione dello zirconio
- B. Determinazione dello zirconio
- C. Determinazione dell'alluminio
- D. Determinazione del cloro
- E. Calcolo dei rapporti tra gli atomi di alluminio e quelli di zirconio e dei rapporti tra gli atomi di alluminio più zirconio e quelli di cloro

A. Identificazione dello zirconio

1. *Oggetto e campo di applicazione*

Il metodo ha per oggetto l'identificazione dello zirconio negli antidiaforetici non aerosol impiegati in cosmesi. Non è stato effettuato alcun tentativo di descrivere metodi adatti all'identificazione del complesso idrato alluminio/zirconio/cloro $[Al_2Zr(OH)_4Cl_2 \cdot nH_2O]$.

2. *Principio*

Lo zirconio è identificato attraverso il caratteristico precipitato rosso-violetto ottenuto in condizioni fortemente acide con rosso S di alizarina.

3. *Reagenti*

Tutti i reagenti devono avere il grado di purezza richiesto per analisi.

3.1. Acido cloridrico concentrato ($d_{20} = 1,18$ g/ml).

3.2. Rosso S di alizarina (Cl. 58005) in soluzione : 2 % (m/v) sulfonato acquoso di sodio-alizarina.

4. *Apparecchiature*

4.1. Attrezzature normali di laboratorio.

5. *Procedimento*

5.1. Diluire con 2 ml di acqua 1 g circa di campione in una provetta. Tappare e agitare.

5.2. Aggiungere tre gocce di soluzione di rosso S di alizarina (3.2) e poi aggiungere 2 ml di acido cloridrico concentrato (3.1). Tappare e agitare.

5.3. Far riposare circa 2 minuti.

5.4. Una soluzione supernatante di colore rosso-violetto e un precipitato indicano la presenza di zirconio.

B. Determinazione dello zirconio

1. *Oggetto e campo di applicazione*

Questo metodo è adatto alla determinazione dello zirconio nei complessi idrati alluminio/zirconio/cloruro fino ad una concentrazione massima di 7,5 % (m/m) di zirconio negli antidiaforetici non aerosol.

2. *Principio*

Lo zirconio è estratto dal prodotto in condizioni acide ed è determinato mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico su fiamma.

3. *Reagenti*

Tutti i reagenti devono essere della purezza richiesta per analisi.

3.1. Acido cloridrico concentrato ($d_{20} = 1,18$ g/ml)

3.2. Soluzione di acido cloridrico, 10 % (v/v) : aggiungere 100 ml di acido cloridrico concentrato a 500 ml di acqua in un bicchiere, mescolando continuamente. Trasferire questa soluzione in una beuta volumetrica da 1 l e completare a volume con acqua.

3.3. Preparare e mettere a riposare una soluzione standard di zirconio da 1 000 µg/ml in una soluzione di acido cloridrico 0,5 M (« Spectrosol » o equivalente).

- 3.4. Reagente : cloruro di alluminio (idrato) $[\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$: sciogliere 22,6 g di esaidrato di cloruro di alluminio in 250 ml di soluzione di acido cloridrico al 10 % (v/v) (3.2).
- 3.5. Reagente : cloruro di ammonio ; sciogliere 5,0 g di cloruro di ammonio in 250 ml di soluzione di acido cloridrico al 10 % (v/v) (3.2).
4. *Apparecchiature*
- 4.1. Attrezzature normali da laboratorio.
- 4.2. Riscaldatore con mescolatore magnetico.
- 4.3. Filtri di carta (Whatman n. 41 o equivalenti).
- 4.4. Spettrofotometro ad assorbimento atomico dotato di lampada allo zirconio a catodo cavo.
5. *Procedimento*
- 5.1. Preparazione del campione.
- 5.1.1. Pesare con precisione 1,0 g (m gram) di un campione omogeneo del prodotto in un bicchiere da 150 ml. Diluire con 40 ml d'acqua e 10 ml di acido cloridrico concentrato (3.1).
- 5.1.2. Porre il bicchiere sul riscaldatore dotato di mescolatore magnetico (4.2). Iniziare a mescolare e riscaldare fino a raggiungere il punto di ebollizione. Per evitare una rapida essiccazione, porre un coperchio in vetro sopra al bicchiere. Far bollire per 5 minuti, togliere il bicchiere dal fornello e raffreddare a temperatura ambiente.
- 5.1.3. Servendosi del filtro di carta (4.3), procedere al filtraggio del contenuto del bicchiere in una beuta volumetrica da 100 ml. Risciacquare il bicchiere due volte con 10 ml d'acqua e aggiungere nella beuta il liquido di lavaggio, dopo averlo filtrato. Completare a volume con acqua e mescolare. Questa soluzione è impiegata anche per la determinazione dell'alluminio (parte C).
- 5.1.4. In una beuta volumetrica da 50 ml pipettare 20,00 ml di soluzione campione (5.1.3), 5,00 ml di reagente al cloruro d'alluminio (3.4) e 5,00 ml di reagente al cloruro d'ammonio (3.5). Completare a volume con la soluzione di acido cloridrico al 10 % (v/v) (3.2) e mescolare.
- 5.2. Condizioni per la spettrometria ad assorbimento atomico
Fiamma : ossido nitroso/acetilene
Lunghezza d'onda : 360,1 nm
Correzione di fondo : no
Condizioni del carburante : miscela ricca ; per ottenere un assorbimento massimo sarà necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.
- 5.3. Taratura
- 5.3.1. Pipettare in una serie di beute graduate da 50 ml 5,00 ; 10,00 ; 15,00 ; 20,00 e 25,00 ml della soluzione standard di zirconio preparata in precedenza (3.3). Pipettare 5,00 ml di reagente a base di cloruro di alluminio (3.4) e 5,00 ml di reagente a base di cloruro d'ammonio (3.5) in ciascuna beuta graduata. Completare a volume con la soluzione di acido cloridrico al 10 % (v/v) (3.2) e mescolare. Queste soluzioni contengono rispettivamente 100, 200, 300, 400 e 500 µg di zirconio per millilitro. Preparare nello stesso modo una soluzione di riferimento, omettendo la soluzione standard di zirconio.
- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione di riferimento (5.3.1) e impiegare il valore ottenuto come concentrazione zero di zirconio per la curva di taratura. Misurare l'assorbanza di ciascuna soluzione di taratura dello zirconio (5.3.1). Tracciare la curva di taratura dei valori di assorbanza in funzione delle concentrazioni di zirconio.
- 5.4. Determinazione
Misurare l'assorbanza della soluzione campione (5.1.4). Ricavare dalla curva di taratura la concentrazione di zirconio corrispondente al valore di assorbanza ottenuto per la soluzione campione.
6. *Calcolo*
Calcolare il contenuto di zirconio del campione, in percentuale rispetto alla massa, servendosi della seguente formula :
- $$\% \text{ (m/m) di zirconio} = \frac{c}{40 \times m}$$
- dove :
- m = massa espressa in grammi del campione prelevato per analisi (5.1.1) ;
- c = concentrazione dello zirconio nella soluzione campione (5.1.4) espressa in microgrammi per millilitro, ricavata dalla curva di taratura.

7. *Ripetibilità* ⁽¹⁾

Per un contenuto di zirconio del 3,00 % (m/m), la differenza fra i risultati di due determinazioni effettuate in parallelo sullo stesso campione non deve essere superiore a 0,10 % (m/m).

8. *Nota*

L'impiego della spettrometria ad accoppiamento induttivo plasma/emissione ottica è consentito, quale alternativa alla spettrometria ad assorbimento atomico su fiamma.

C. Determinazione dell'alluminio

1. *Oggetto e campo di applicazione*

Questo metodo serve a determinare l'alluminio presente nei complessi idrati alluminio/zirconio/cloruro, fino ad una concentrazione massima del 12 % (m/m) di alluminio negli antidiaforetici non aerosol.

2. *Principio*

L'alluminio è estratto dal prodotto in condizioni acide ed è determinato mediante spettrometria ad assorbimento atomico su fiamma.

3. *Reagenti*

Tutti i reagenti devono essere della purezza richiesta per analisi.

3.1. Acido cloridrico concentrato ($d_{20} = 1,18$ g/ml).

3.2. Soluzione di acido cloridrico, 1 % (v/v): diluire 10 ml di acido cloridrico concentrato (3.1) in 500 ml d'acqua in un bicchiere, mescolando continuamente. Versare questa soluzione in un matraccio graduato da 1 l e completare a volume con acqua.

3.3. Soluzione standard di alluminio, 1 000 µg/ml in soluzione 0,5 M di acido nitrico (« SpettrosoL » o equivalenti).

3.4. Reagente a base di cloruro di potassio: sciogliere 10,0 g di cloruro di potassio in 250 ml di soluzione di acido cloridrico all'1 % (v/v) (3.2).

4. *Apparecchiature*

4.1. Attrezzature normali da laboratorio

4.2. Spettrofotometro ad assorbimento atomico dotato di lampada all'alluminio a catodo cavo.

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione

La soluzione preparata al punto B.5.1.3 è impiegata per determinare il contenuto di alluminio.

5.1.1. In una beuta graduata da 100 ml pipettare 5,00 ml di soluzione campione (B.5.1.3), 10,00 ml di reagente a base di cloruro di potassio (3.4). Completare a volume con la soluzione di acido cloridrico all'1 % (v/v) (3.2) e mescolare.

5.2. Condizioni per la spettrometria ad assorbimento atomico

Fiamma: ossido nitroso/acetilene

Lunghezza d'onda: 309,3 nm

Correzione di fondo: no

Condizioni del carburante: miscela ricca; per ottenere una assorbanza massima, è necessario ottimizzare l'altezza del bruciatore e le condizioni del carburante.

5.3. Taratura

5.3.1. In una serie di beute graduate da 100 ml, pipettare 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 e 5,00 ml della soluzione standard di alluminio (3.3). Pipettare in ciascuna beuta graduata 10,00 ml di reagente a base di cloruro di potassio (3.4) e completare a volume con la soluzione di acido cloridrico all'1 % (v/v) (3.2) e mescolare. Queste soluzioni contengono rispettivamente 10, 20, 30, 40 e 50 µg di alluminio per millilitro.

Preparare analogamente una soluzione di riferimento, omettendo la soluzione standard di alluminio.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 5.3.2. Misurare l'assorbanza della soluzione di riferimento (5.3.1) e servirsi del valore ottenuto come concentrazione zero dell'alluminio per la curva di taratura. Misurare l'assorbanza di ciascuna soluzione standard di alluminio. Tracciare la curva di taratura che esprime i valori di assorbanza in rapporto alle concentrazioni di alluminio.

5.4. *Determinazione*

Misurare l'assorbanza della soluzione campione (5.1.1). Ricavare dalla curva di taratura le concentrazioni di alluminio corrispondenti ai valori ottenuti per la soluzione campione.

6. *Calcolo*

Calcolare il contenuto di alluminio nel campione, in percentuale rispetto alla massa, servendosi della seguente formula

$$\% \text{ (m/m) di alluminio} = \frac{c}{5 \times m}$$

dove :

m = massa espressa in grammi del campione prelevato per analisi (B.5.1.1);

c = concentrazione dell'alluminio nella soluzione campione (5.1.1) espressa in microgrammi per millilitro, ricavata dalla curva di taratura.

7. *Ripetibilità⁽¹⁾*

Per un contenuto di alluminio del 3,5 % (m/m), la differenza fra i risultati di due determinazioni effettuate in parallelo sullo stesso campione non deve essere superiore a 0,10 % (m/m).

8. *Nota*

L'impiego della spettrometria ad accoppiamento induttivo plasma/emissione ottica è consentito, quale alternativa alla spettrometria ad assorbimento atomico su fiamma.

D. Determinazione del cloro

1. *Oggetto e campo di applicazione*

Questo metodo serve a determinare il cloro presente come ione cloruro nei complessi idrati alluminio/zirconio/cloruro negli antidiaforetici non aerosol.

2. *Principio*

Il cloruro presente nel prodotto è determinato mediante titolazione potenziometrica contro soluzione standard di nitrato d'argento.

3. *Reagenti*

Tutti i reagenti devono essere della purezza richiesta per analisi.

- 3.1. Acido nitrico concentrato ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$).

- 3.2. Soluzione di acido nitrico al 5 % (v/v): diluire 25 ml di acido nitrico concentrato (3.1) in 250 ml di acqua in un bicchiere, mescolando di continuo. Trasferire questa soluzione in un matraccio graduato da 500 ml e completare a volume con acqua.

- 3.3. Acetone.

- 3.4. Nitrato d'argento, soluzione volumetrica 0,1 M (* AnalaR * o equivalenti).

4. *Apparecchiature*

- 4.1. Attrezzature normali da laboratorio.

- 4.2. Riscaldatore con mescolatore magnetico.

- 4.3. Elettrodo d'argento.

- 4.4. Elettrodo di riferimento al cloruro mercurioso.

- 4.5. pH/millivolt metro adatto alla titolazione potenziometrica.

⁽¹⁾ ISO 5725.

5. *Procedimento*

5.1. Preparazione del campione.

- 5.1.1. In un bicchiere da 250 ml pesare accuratamente 1,0 g (m gram) di un campione omogeneo del prodotto. Aggiungere 80 ml d'acqua e 20 ml di soluzione di acido nitrico al 5 % (v/v) (3.2).
- 5.1.2. Porre il bicchiere su un riscaldatore dotato di mescolatore magnetico (4.2). Iniziare a mescolare e riscaldare fino a raggiungere il punto di ebollizione. Per evitare un rapido raffreddamento, porre un coperchio di vetro sul bicchiere. Far bollire per 5 minuti, togliere il bicchiere dalla fonte di calore lasciare raffreddare a temperatura ambiente.
- 5.1.3. Aggiungere 10 ml di acetone (3.3), immergere gli elettrodi (4.3 e 4.4) al di sotto della superficie della soluzione e iniziare a mescolare. Procedere alla titolazione potenziometrica contro la soluzione di nitrato d'argento 0,1 M (3.4) e tracciare una curva differenziale per determinare il punto finale (V ml).

6. *Calcolo*

Calcolare il contenuto di cloro del campione, in percentuale rispetto alla massa, servendosi della formula seguente :

$$\% \text{ (m/m) di cloro} = \frac{0,3545 \times V}{m}$$

dove :

m = massa espressa in grammi del campione prelevato per analisi (5.1.1);

V = volume di nitrato d'argento 0,1 M, espresso in millilitri, titolato al punto finale (5.1.3).

7. *Ripetibilità* ⁽¹⁾

Per un contenuto di cloro del 4,00 % (m/m), la differenza tra i risultati di due determinazioni eseguite in parallelo sullo stesso campione non deve superare 0,10 % (m/m).

E. Calcolo dei rapporti degli atomi di alluminio rispetto a quelli di zirconio e degli atomi di alluminio più gli atomi di zirconio rispetto a quelli di cloro

1. *Calcolo del rapporto degli atomi di alluminio rispetto agli atomi di zirconio*

Calcolare il rapporto Al : Zr mediante la formula :

$$\text{rapporto Al : Zr} = \frac{\text{Al \% (m/m)} \times 91,22}{\text{Zr \% (m/m)} \times 26,98}$$

2. *Calcolo del rapporto degli atomi di alluminio più gli atomi di zirconio rispetto agli atomi di cloro*

Calcolare il rapporto (Al + Zr) : Cl mediante la formula :

$$\text{rapporto (Al + Zr) : Cl} = \frac{\frac{\text{Al \% (m/m)}}{26,98} + \frac{\text{Zr \% (m/m)}}{91,22}}{\frac{\text{Cl \% (m/m)}}{35,45}}$$

IDENTIFICAZIONE E DOSAGGIO DELL'ESAMIDINA, DELLA DIBROMOESAMIDINA, DELLA DIBROMOPROPAMIDINA E DELLA CLOROESIDINA

1. *Oggetto e campo di applicazione*

Il metodo descrive la determinazione qualitativa e quantitativa di :

- esamidina e suoi sali, tra cui l'isetionato e il 4-idrossibenzoato ;
- dibromoesamidina e i suoi sali, tra cui l'isetionato ;
- diacetato, digluconato e dicloridrato di cloroesidina presenti nei cosmetici.

2. *Definizione*

Le concentrazioni di esamidina, dibromoesamidina, dibromopropamidina e cloroesidina determinate con questo metodo sono espresse in percentuale di massa (% m/m) del prodotto.

3. *Principio*

La determinazione qualitativa e quantitativa è effettuata mediante cromatografia liquida ad alta risoluzione a fase inversa per coppie ioniche, seguita da rilevamento mediante spettrofotometria ad ultravioletti. L'esamidina, la dibromoesamidina, la dibromopropamidina e la cloroesidina sono identificate attraverso il tempo di ritenzione sulla colonna del cromatografo.

Il tasso di esamidina, dibromoesamidina, dibromopropamidina e cloroesidina misurato attraverso questo metodo è espresso in percentuale di massa (% m/m) del prodotto.

⁽¹⁾ ISO 5725.

4. *Reagenti*

Tutti i reagenti devono essere della purezza richiesta per analisi e adatti alla cromatografia in fase liquida ad alta risoluzione.

- 4.1. Metanolo
 - 4.2. Sale sodico monoidrato dell'acido 1-eptansulfonico
 - 4.3. Acido acetico glaciale ($D_{20} = 1,05$ g/ml)
 - 4.4. Cloruro di sodio
 - 4.5. Fasi mobili
 - 4.5.1. Solvente I: soluzione in metanolo (4.1) 0,005 M di sale sodico monoidrato dell'acido 1-eptansulfonico (4.2) portata ad un pH apparente di 3,5 mediante acido acetico glaciale (4.3).
 - 4.5.2. Solvente II: soluzione acquosa 0,005 M di sale sodico monoidrato dell'acido 1-eptansulfonico (4.2) portata a pH 3,5 mediante acido acetico (4.3).
- Nota:* Se necessario per migliorare la forma dei picchi, le fasi mobili possono essere modificate e preparate con il metodo seguente:
- Solvente I: sciogliere 5,84 g di cloruro di sodio (4.4) e 1,1013 g di sale sodico monoidrato dell'acido 1-eptansulfonico (4.2) in 100 ml di acqua. Aggiungere 900 ml di metanolo (4.1) e portare al pH apparente di 3,5 mediante acido acetico glaciale (4.3).
 - Solvente II: sciogliere 5,84 g di cloruro di sodio (4.4) e 1,1013 g di sale sodico monoidrato dell'acido 1-eptansulfonico in 1 l di acqua e portare a pH 3,5 mediante acido acetico glaciale (4.3).
- 4.6. Diisetonato di esamidina [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
 - 4.7. Diisetonato di dibromoesamidina [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
 - 4.8. Diisetonato di dibromopropamidina [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
 - 4.9. Diacetato di cloroetidina [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]
 - 4.10. Soluzioni di riferimento: preparare per ciascuno dei quattro conservanti (da 4.6 a 4.9) soluzioni allo 0,005 % (m/v) nel solvente I (4.5.1).
 - 4.11. 3,4,4'-triclorocarbanilide (triclorocarban)
 - 4.12. 4,4'-dicloro-3-(trifluorometil)carbanilide (halocarban)

5. *Apparecchiature*

- 5.1. Materiale di impiego corrente in laboratorio
- 5.2. Cromatografo in fase liquida ad alta risoluzione con rilevatore UV a lunghezze d'onde variabili
- 5.3. Colonna per analisi: acciaio inossidabile, larghezza 30 cm, diametro interno 4 mm, riempita con μ -Bondapak C_{18} , 10 μ m o equivalente
- 5.4. Bagno ad ultrasuoni

6. *Identificazione*

- 6.1. Preparazione del campione.

Pesare circa 0,5 g di campione in una provetta graduata da 10 ml. Completare con il solvente I (4.5.1). Porre la provetta graduata per 10 minuti in un bagno ad ultrasuoni (5.4). Filtrare o centrifugare la soluzione. Raccogliere il filtrato o il supernatante per la cromatografia.

- 6.2. Cromatografia

- 6.2.1. Gradiente di fase mobile

Tempo (min.)	Solvente I (% v/v) (4.5.1)	Solvente II (% v/v) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

- 6.2.2. Regolare il flusso della fase mobile (6.2.1) a 1,5 ml/min e fissare la temperatura della colonna a 35 °C.
- 6.2.3. Regolare la lunghezza d'onda del rilevatore su 264 nm.
- 6.2.4. Iniettare 10 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (4.10) e registrarne i cromatogrammi.
- 6.2.5. Iniettare 10 µl di soluzione campione (6.1) e registrarne il cromatogramma.
- 6.3. Identificare la presenza della esamidina, della dibromoesamidina, della dibromopropamidina o della cloroesidina paragonando il/i tempo/i di ritenzione del/dei picco/i registrato/i al punto 6.2.5 con quello/i ottenuto/i dalle soluzioni di riferimento di cui al punto 6.2.4.

7. Determinazione

7.1. Preparazione delle soluzioni standard

Impiegare uno dei conservanti da (4.6 a 4.9) che sia assente dal campione come standard interno. Qualora ciò non sia possibile, impiegare il triclocarban (4.11), oppure l'halocarban (4.12).

- 7.1.1. Soluzione madre allo 0,05 % (m/v) nel solvente I (4.5.1) del conservante identificato in 6.3.
- 7.1.2. Soluzione madre allo 0,05 % (m/v) nel solvente I (4.5.1) del conservante scelto come standard interno.
- 7.1.3. Per ciascun conservante identificato, preparare quattro soluzioni standard trasferendo in una serie di provette graduate da 10 ml campioni della soluzione madre del conservante identificato (7.1.1) e adeguati quantitativi della soluzione madre dello standard interno (7.1.2) secondo la tabella seguente. Completare a volume ciascuna provetta con il solvente I (4.5.1) e mescolare.

Soluzione standard	Soluzione madre standard interno	Soluzione madre conservante identificato	
	ml (7.1.2) aggiunti	ml (7.1.1) aggiunti	µg/ml (*)
I	1,0	0,5	25
II	1,0	1,0	50
III	1,0	1,5	75
IV	1,0	2,0	100

(*) Questi valori sono forniti a titolo indicativo e corrispondono alle concentrazioni del conservante identificato nelle soluzioni standard preparate impiegando una soluzione che contiene esattamente 0,05 % del conservante identificato.

7.2. Preparazione del campione

- 7.2.1. Pesare con esattezza 0,5 g di campione (p gram) in una provetta graduata da 10 ml; aggiungere 1,0 ml di soluzione standard interno (7.1.2) e 6 ml di solvente I (4.5.1) e mescolare.
- 7.2.2. Porre la provetta graduata per 10 minuti in un bagno ultrasuoni (5.4). Dopo raffreddamento, completare a volume con il solvente I e mescolare. Centrifugare o filtrare su filtro di carta piegheggiata. Raccolgere, se del caso, il supernatante o il filtrato per l'analisi cromatografica.

7.3. Cromatografia

- 7.3.1. Regolare il gradiente di fase mobile, il suo flusso, la temperatura della colonna e la lunghezza d'onda del rilevatore dell'impianto di cromatografia in fase liquida ad alta risoluzione (5.2) alle condizioni richieste nella fase di identificazione (da 6.2.1 a 6.2.3).
- 7.3.2. Iniettare 10 µl della soluzione campione (7.2.2) e misurare la superficie dei picchi. Ripetere questo procedimento con altri quantitativi da 10 ml della soluzione campione fino ad ottenere risultati coerenti. Calcolare il rapporto della superficie del picco ottenuto con il composto da analizzare, rispetto alla superficie del picco ottenuto con lo standard interno.

7.4. Calibratura

- 7.4.1. Iniettare 10 µl di ciascuna delle soluzioni di riferimento (7.1.3) e misurare la superficie dei picchi.
- 7.4.2. Per ciascuna soluzione di riferimento (7.1.3), calcolare il rapporto della superficie del picco di esamidina, dibromoesamidina, dibromopropamidina o cloroesidina rispetto alla superficie del picco del riferimento interno. Tracciare una curva di calibratura indicando questi rapporti in ordinata e le concentrazioni corrispondenti del conservante identificato nelle soluzioni di riferimento, in microgrammi per millilitro, in ascissa.
- 7.4.3. Leggere sulla curva di calibratura (7.4.2) la concentrazione del conservante identificato, corrispondente al rapporto delle superfici dei picchi, calcolato al punto 7.3.2.

8. *Calcolo*

- 8.1. Calcolare il contenuto di esamidina, dibromoesamidina, dibromopropamidina o cloroesidina nel campione, in percentuale di massa, mediante la formula seguente :

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

dove :

p = massa in grammi del campione impiegato per analisi (7.2.1);

c = concentrazione del conservante nella soluzione campione, in microgrammi per millilitro, ottenuta dalla curva di calibratura;

MW₁ = peso molecolare della forma di base del conservante presente;

MW₂ = peso molecolare del sale corrispondente (vedi punto 10).

9. *Ripetibilità (*)*

Per una concentrazione dello 0,1 % (m/m) di esamidina, dibromoesamidina, dibromopropamidina o cloroesidina, la differenza tra i risultati di 2 dosaggi paralleli sullo stesso campione non deve superare lo 0,005 %.

10. *Table des poids formulaires*

Esamidina	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Diisetionato di esamidina	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Esamidina di-p-idrossibenzoato	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromoesamidina	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Diisetionato di dibromoesamidina	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibromopropamidina	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Diisetionato di dibromopropamidina	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Cloroesidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Diacetato di cloroesidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Digluconato di cloroesidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Diidrocloreuro di cloroesidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(*) ISO 5725.