



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



AGENZIA

ADM

L'AGENZIA DELLE ACCISE, DOGANE E MONOPOLI

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE
CORSO DI LAUREA IN CHIMICA INDUSTRIALE

TESI DI LAUREA

ANALISI DI METALLI PESANTI IN PRODOTTI COSMETICI IN
POLVERE COMPATTA TRAMITE SPETTROSCOPIA AD EMISSIONE
OTTICA AL PLASMA

RELATRICE: PROF. MAREGA CARLA

LAUREANDA: BALDAN CAMILLA

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

DATA DI LAUREA 19/09/2024

INDICE

I.	INTRODUZIONE AL PROGETTO	2
II.	QUADRO NORMATIVO ²	3
	PROFILO TOSSICOLOGICO DEI METALLI ANALIZZATI	5
III.	MATERIALI E METODI.....	8
	1. MINERALIZZAZIONE A CALDO IN MICROONDE ¹¹	8
	2. SPETTROSCOPIA DI EMISSIONE OTTICA AL PLASMA (ICP-OES) ⁸	9
	3. FLUORIMETRIA A RAGGI X (XRF) ^{6,7}	10
IV.	PARTE SPERIMENTALE ⁴	12
	1. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI.....	12
	2. PREPARAZIONE SOLUZIONI STANDARD.....	13
V.	ANALISI DEI DATI E RISULTATI SPERIMENTALI.....	14
	1. ANALISI CON XRF	14
	2. ANALISI CON L'ICP-OES	16
	○ <i>Retta di calibrazione e linearità</i>	17
	○ <i>Limite di rilevabilità (LoD) e limite di quantificazione (LoQ)</i>	19
	○ <i>Campioni</i>	20
VI.	CONCLUSIONI E SVILUPPI FUTURI.....	23
	BIBLIOGRAFIA.....	25

I. INTRODUZIONE AL PROGETTO

I cosmetici hanno da sempre ricoperto un ruolo importante nella nostra vita quotidiana. Svolgono numerose funzioni, tra cui la detergenza, il miglioramento dell'aspetto della pelle, l'idratazione, la protezione, la profumazione e l'igiene personale. Tutte queste funzioni hanno contribuito ad aumentare la qualità della vita e il benessere personale. Un tempo considerati beni voluttuari, oggi i cosmetici sono prodotti con cui interagiamo più volte al giorno. Basta pensare a quante volte ci laviamo le mani, usiamo il deodorante, laviamo i denti o i capelli, o ci trucciamo.

Rappresentano beni di consumo su larga scala e coprono una grossa fetta di mercato con numerose implicazioni di tipo economico, sociale, ambientale e sanitario. I cosmetici, oltre a svolgere una vasta gamma di funzioni pratiche, sono diventati una parte integrante della nostra cultura e identità personale. Essi riflettono le tendenze estetiche e le preferenze individuali, contribuendo a definire il nostro stile e la nostra espressione personale. Tuttavia, nonostante i benefici che i cosmetici apportano alla nostra vita quotidiana, è essenziale considerare anche la sicurezza e la qualità di tali prodotti.

Questo progetto di tesi si propone di sviluppare un metodo di analisi per la determinazione quantitativa di alcuni metalli, come cadmio (Cd), cromo (Cr), nichel (Ni) e piombo (Pb), in cosmetici in polvere (es. cipria, ombretti, fard, terre) tramite la spettroscopia di emissione ottica al plasma (ICP-OES). La scelta dei cosmetici in polvere è stata determinata da due motivazioni principali: innanzitutto, la preparazione del campione risulta essere più agevole e ciò costituisce un vantaggio rilevante; inoltre, si apre una maggiore opportunità di individuare metalli pesanti, grazie alla presenza dei pigmenti. Questi pigmenti possono essere polveri fini di composti organici o inorganici, i quali presentano nella loro struttura molecolare gruppi funzionali cromofori, i quali sono responsabili della colorazione. Tra i pigmenti più diffusi nelle formulazioni in polvere troviamo quelli a base di ossidi di metalli come titanio, cromo, ferro, zinco e altri ancora^{9,10}.

Il progetto nasce dalla collaborazione tra il dipartimento di scienze chimiche dell'Università degli Studi di Padova e ADM, Agenzia Dogane e Monopoli e si inserisce nell'ambito della sorveglianza per la sicurezza dei prodotti cosmetici presenti sul mercato, il cui scopo è la tutela del consumatore e la tutela degli operatori economici dalla concorrenza sleale.

II. QUADRO NORMATIVO²

Lo strumento giuridico di riferimento è rappresentato dal Regolamento CE 1223/2009, che armonizza e governa la produzione, l'importazione e l'immissione in commercio dei prodotti cosmetici in tutto il territorio comunitario.

Il Regolamento (CE) 1223/2009 definisce un prodotto cosmetico come *“qualsiasi sostanza o miscela destinata ad essere applicata sulle superfici esterne del corpo umano (epidermide, sistema pilifero e capelli, unghie, labbra, organi genitali esterni) oppure sui denti e sulle mucose della bocca allo scopo, esclusivamente o prevalentemente di pulirli, profumarli, modificarne l'aspetto, proteggerli, mantenerli in buono stato o correggere gli odori corporei”*. Tale regolamento disciplina, inoltre, le sostanze che possono o non possono essere utilizzate nella formulazione dei cosmetici: tra le sostanze vietate ci sono quelle classificate come cancerogene, mutagene o tossiche per la riproduzione (CMR) di categoria 1A e 1B, con alcune eccezioni per quelle classificate in categoria 2. Inoltre, vieta l'uso di molti metalli, sebbene ammetta la loro presenza in tracce se considerate *“tecnicamente inevitabili”*. Per livello *“tecnicamente inevitabile”* si intende la quantità di metallo che non può essere evitata, poiché derivante direttamente dalle materie prime e/o dal processo di fabbricazione del prodotto.

Al momento non sono disponibili standard europei ed internazionali che definiscono i livelli di metalli pesanti considerate tracce inevitabili tollerate nei cosmetici. In Italia, i limiti di tolleranza per i metalli nei cosmetici si basano sui riferimenti forniti dal *Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)* tedesco e da *Health Canada*. Questi enti riportano i livelli accettabili dei metalli nei cosmetici, ottenuti tramite l'analisi dei prodotti presenti sul mercato dei due paesi, considerando i valori minimi rilevati per ciascun metallo. Questi limiti non sono identificati tenendo conto né delle proprietà tossicologiche dei singoli elementi, né sono relativi a valutazioni di sicurezza per la salute del consumatore; è importante sottolineare che dato lo sviluppo continuo di metodi di produzione e di analisi, i livelli considerati validi anni fa potrebbero non esserlo più oggi, per esempio i valori delle tracce tecnicamente inevitabili suggeriti dal BfR nel 2006 sono diminuiti di un 30-50% rispetto ai limiti riscontrati dall'Health Canada in un rapporto pubblicato nel 2012. I valori che sono più simili a quelli odierni, e quindi che possono essere considerati come *“tracce tecnicamente inevitabili”* sono riportati in Tabella 1:

Metallo	Limite massimo in cosmetici (ppm)
Cadmio (Cd)	0.1
Cromo esavalente (Cr ^{VI})	1.0
Cromo trivalente (Cr ^{III})	5.0
Cromo totale (Cr)	1.0 ^a
Nichel (Ni)	1.0
Piombo (Pb)	2.0

Tabella 1: limiti massimi (in ppm) di metalli per essere considerati come tracce tecnicamente inevitabili.

Tuttavia, non è detto che se un prodotto contiene una quantità superiore di tali limiti non sia conforme, purché questo sia sicuro per la salute umana^b, ogni prodotto deve essere valutato individualmente a seconda del tipo di prodotto e degli utilizzatori, per stimare la reale “sicurezza” per i consumatori.

La valutazione del rischio relativo all’uso dei prodotti cosmetici è descritta nella revisione del 2018 delle *Notes of Guidance* del SCCS (*Scientific Committee for Consumer Safety*) e si basa sull’approccio MOS “*Margine Of Safety*” ovvero:

$$MOS = \frac{NOAEL}{SED}$$

con NOAEL “*No Observed Adverse Effect Level*” dell’effetto critico, ovvero il valore più alto al quale non si osservano effetti e l’SED “*Systemic Exposure Dosage*” cioè la dose sistematica di esposizione, più precisamente è la quantità attesa, a seguito dell’uso del prodotto, che può entrare in circolo sanguigno giornalmente. Un prodotto non rischioso per l’uomo deve presentare valori di MOS superiori o uguali a 100. Questi valori non coprono tutto il mercato dei prodotti cosmetici, per cui la figura del valutatore di sicurezza ha il compito di stabilire scenari, livelli di esposizione e target di consumatori.

Prendiamo come esempio il fondotinta e face paint, considerando un’esposizione di tipo solo cutaneo avremo:

- *Adulto di 60 kg*: dose giornaliera di fondotinta 510 mg con un’esposizione cutanea di 8.5 mg/kg
- *Bambini 3-6 anni di 18.6 kg*: dose utilizzata mediamente è 1400 mg di cui:

^a in mancanza di informazioni sullo stato di valenza

^b Articolo 3, Regolamento (CE) 1223/2009

- 15% ovvero 210 mg sia ingerito, considerata l'età, l'assorbimento orale quindi sarà pari a 11.3 mg/kg
- 85% ovvero 1190 mg di prodotto sulla pelle, con assorbimento cutaneo pari a 64 mg/kg
- *Bambini 6-11 anni di 31.8 kg*: dose utilizzata giornalmente è la medesima al punto precedente, 1400 mg di cui:
 - 15%, quindi 210 mg di prodotto ingerito, con assorbimento orale di 6.6 mg/kg
 - 1190 mg di prodotto sulla pelle, con assorbimento cutaneo di 37.4 mg/kg

Profilo tossicologico dei metalli analizzati

Le informazioni sulla tossicità dei vari metalli vengono ottenute da fonti quali Agenzie e Istituti internazionali o nazionali come EFSA, US ATDRS, SCCS, ECHA, Health Canada, US EPA, comitati scientifici europei, WHO, IARC^c. Di seguito vengono riportate le principali informazioni sul profilo tossicologico di cadmio (Cd), cromo (Cr), nichel (Ni) e piombo (Pb).

- *Cadmio*: Il cadmio (Cd) è un metallo non essenziale presente nell'ambiente come contaminante da fonti naturali e industriali. Viene assorbito principalmente attraverso la dieta (3-5%), con un tasso di assorbimento orale influenzato dallo stato nutrizionale. L'assorbimento tramite polmoni (5-50%) è superiore a quello gastrointestinale, mentre quello cutaneo è limitato (0.3-0.8%). Il Cd si accumula principalmente nel fegato, nei reni e nelle ossa, con una emivita di 10-30 anni. La tossicità principale è renale, causando danni ai tubuli prossimali. È classificato come cancerogeno umano e può aumentare il rischio di fratture e osteoporosi. I livelli urinari di Cd sono utilizzati come indicatore dell'accumulo renale, con una dose giornaliera accettabile definita dall'EFSA (1µg Cd/g creatinina). La dieta è la principale fonte di esposizione, con livelli variabili nella popolazione generale da 1.9-3.9 µg/kg per settimana e un'ulteriore esposizione per i fumatori.
- *Cromo*: Il cromo (Cr) è un elemento naturale che si presenta principalmente in tre forme: Cr(0), Cr(III) e Cr(VI). Nel cibo e negli integratori, prevale la forma Cr(III), mentre il Cr(VI) è più comunemente trovato nell'acqua potabile, spesso a causa dell'inquinamento

^c EFSA; European Food Safety Authority
 US ATDRS: Agenet for Toxic Suctstances and Disease Registry
 ECHA: Euroopean Chemicals Agency
 US EPA: Environmental Protection Agency
 WHO: World Health Organisation
 IARC: International Agency For Research on Cancer

derivante dalle attività industriali come la lavorazione dei metalli e la produzione di cromati. La biodisponibilità del Cr(III) è bassa. Il Cr(VI) può attraversare le membrane cellulari, anche se generalmente viene ridotto a Cr(III) a contatto con i tessuti. L'assorbimento orale del Cr(III) è tra lo 0.13% e il 2.8% ed è influenzato dalla solubilità dei composti, mentre il Cr(VI) è assorbito tra l'1% e il 6.9%, inoltre quest'ultimo può anche essere assorbito attraverso la pelle, specialmente sotto forma di cromati e bicromati. Tuttavia, il Cr(III) è considerato la causa principale delle reazioni allergiche da contatto, poiché forma legami covalenti con le proteine della pelle, con una soglia allergenica di 5 mg/kg; per il Cr(VI), invece la soglia è 1 mg/kg. I composti del Cr(VI) sono generalmente più tossici di quelli del Cr(III) a causa del loro maggiore potenziale redox e della facilità nell'entrare nelle cellule. Mentre i sali di Cr(III) hanno una bassa tossicità orale, ci sono risultati contrastanti sugli effetti sulla riproduzione e lo sviluppo. Non è considerato cancerogeno nei modelli animali, ma l'esposizione cronica può causare effetti tossici su vari organi. L'esposizione cronica media al Cr(III) attraverso il cibo varia da 0.6 a 1.6 µg/kg al giorno per gli adulti, mentre per il Cr(VI) attraverso l'acqua potabile va da 1.4 a 43.7 ng/kg al giorno. L'utilizzo dell'acqua nella preparazione di determinati cibi può aumentare l'esposizione al Cr(VI).

- *Nichel*: Il nichel (Ni) è un elemento che si trova naturalmente nel suolo, nell'acqua, nelle piante e negli animali, prevalentemente con valenza +2. L'assorbimento dei sali di nichel è notevolmente ridotto quando vengono consumati insieme a cibi come latte, caffè, tè e succo d'arancia, mentre a digiuno è più elevato. Studi di tossicità indicano che i principali organi bersaglio dell'assunzione orale sono i reni, la milza, i polmoni e il sistema mieloide. Anche se i sali di nichel sono noti per essere cancerogeni per via inalatoria, la cancerogenicità per via orale non è ben definita. Un NOAEL di 1.1 mg/kg pc al giorno è stato stabilito da uno studio su due generazioni, ma potrebbe non essere sufficientemente protettivo per individui sensibili, soprattutto considerando le dermatiti allergiche da contatto, che rappresentano un effetto rilevante. L'EFSA ha definito una *Benchmark Dose*^d di 1.1 µg/kg pc per le dermatiti sistemiche da contatto dopo esposizione orale. L'intake medio di nichel da una dieta media varia da 80 a 150 µg/persona al giorno, ma può salire fino a 900 µg/persona al giorno con il consumo di prodotti ad alto contenuto di nichel. Le dermatiti possono essere scatenate o peggiorate dall'esposizione orale, con una dose di 8-12 µg/kg pc (a stomaco vuoto) in grado di esacerbare tali condizioni.

^d *BMDL (Benchmark Dose)* ovvero il limite inferiore dell'intervallo di confidenza della dose di riferimento, rappresenta la dose associata ad un effetto in una determinata % di animali o ad un effetto pari ad una % dell'effetto massimo.

- *Piombo*: Il piombo (Pb) è un inquinante ambientale che si trova sia in natura che a causa delle attività umane, come l'estrazione mineraria e la produzione di batterie. Può essere presente nell'ambiente sotto forma organica e inorganica. L'assorbimento nel tratto gastrointestinale dipende dalle proprietà del materiale ingerito e varia tra bambini e adulti, con un tasso di assorbimento generalmente più elevato nei primi. Una volta assorbito, il piombo viene trasportato nel sangue e distribuito ai tessuti molli e alle ossa, dove può accumularsi nel tempo. La tossicità cronica è il principale rischio per la salute, con effetti neurotossici nei bambini; cardiovascolari e nefrotossici negli adulti. Il piombo inorganico è classificato come probabile cancerogeno per l'uomo. L'esposizione avviene principalmente attraverso cibo e acqua, con notevoli differenze tra i paesi nella dieta tipica. Gli adulti sono esposti mediamente da 0.36 a 1.24 µg/kg al giorno tramite la dieta, mentre i forti consumatori possono raggiungere da 0.73 a 2.43 µg/kg al giorno.

III. MATERIALI E METODI

Questo capitolo descrive le principali caratteristiche della strumentazione utilizzata per l'analisi dei metalli nei cosmetici. In particolare, sarà esaminato il principio di funzionamento e quali sono le principali componenti strutturali.

Il metodo⁴ prevede una prima fase in cui il campione viene solubilizzato tramite mineralizzazione in forno a microonde con acidi forti, seguita da una seconda fase in cui si determina quantitativamente la presenza dei metalli nella soluzione ottenuta attraverso la spettroscopia di emissione ottica al plasma ICP-OES. Inoltre, per uno screening iniziale dei campioni è stato utilizzato uno spettrometro a raggi X (XRF).

1. Mineralizzazione a caldo in microonde¹¹

Per determinare il contenuto di metalli nelle matrici solide e non (come polveri, oli, saponi ed emulsioni), i campioni vengono sottoposti ad un processo di solubilizzazione totale a caldo in un sistema chiuso a microonde. La procedura prevede la digestione totale del campione con una miscela di acidi forti (come per esempio acido nitrico HNO₃, acido cloridrico HCl, acido solforico H₂SO₄, acido fluoridrico HF e/o miscele di acidi) in opportuni digestori sotto pressione. L'obiettivo è portare in soluzione i metalli presenti nel prodotto e la distruzione di tutte le parti organiche del cosmetico costituenti la matrice, che interferiscono con le analisi dei metalli.

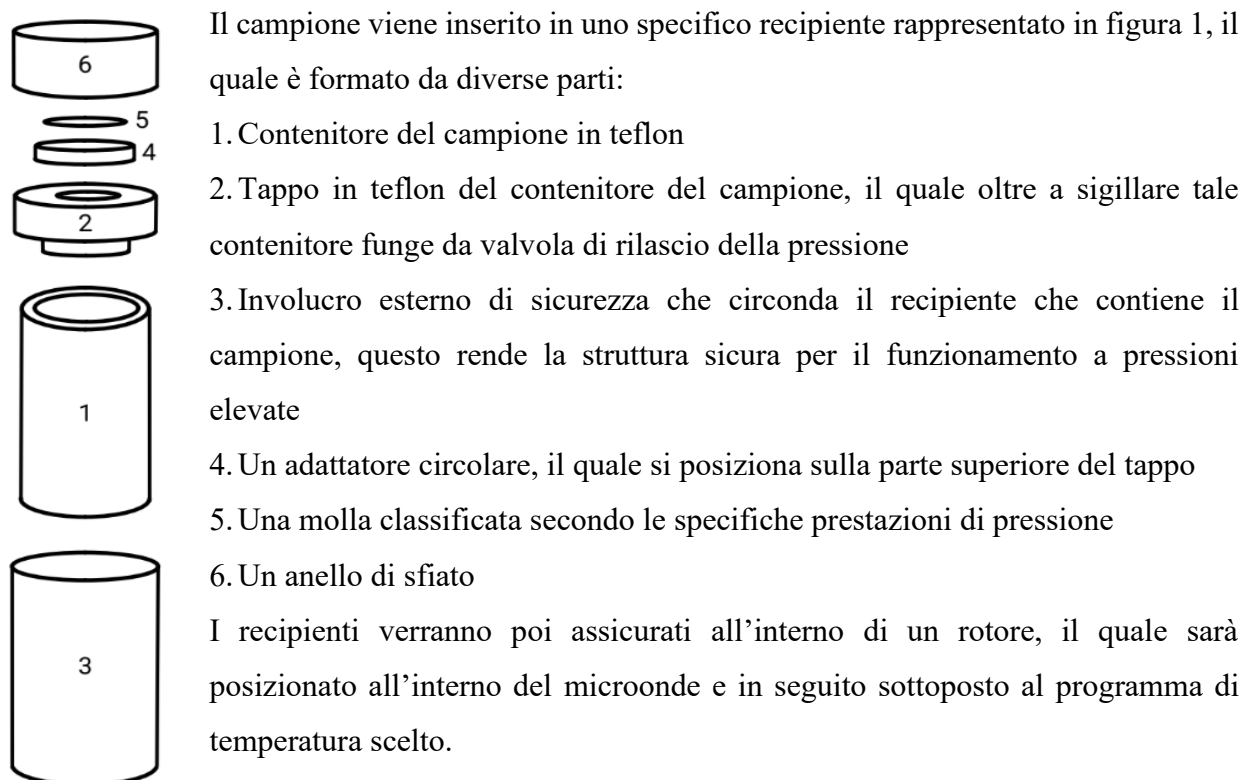


Figura 1: rappresentazione specifica delle parti del contenitore del digestore.

2. Spettroscopia di emissione ottica al plasma (ICP-OES)⁸

La spettroscopia di emissione ottica al plasma o ICP-OES “*Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy*” è un tipo di spettroscopia che viene utilizzata per l’analisi qualitativa e quantitativa di svariati elementi in matrici diverse. Si basa sull’emanazione di onde elettromagnetiche generate dagli atomi a seguito di un’eccitazione tramite energia termica o elettrica.

La sorgente di eccitazione è il plasma, ovvero un gas molto ionizzato nel quale sono presenti ioni ed elettroni in uguale numero e che quindi è elettricamente neutro. Nel nostro caso il plasma viene generato utilizzando l’argon, in questo modo si possono raggiungere temperature dell’ordine dei 9000-10000 K, le quali consentono di ridurre le interferenze date dall’effetto matrice e di ottenere una ionizzazione in cui gli elementi sono presenti nel plasma al 90% come ioni monovalenti. Tra i vantaggi dell’utilizzo del plasma per quest’analisi, si includono: capacità di operare in un’atmosfera inerte, stabilità ottica, riproducibilità dei processi di eccitazione/ionizzazione, un’elevata qualità del segnale rispetto al rumore di fondo e la bassa probabilità di autoassorbimento. Il plasma è generato tramite accoppiamento induttivo, dove la formazione degli ioni è innescata da una scarica elettrica, mentre l’accelerazione avviene attraverso un campo magnetico oscillante generato da una bobina di induzione a radiofrequenza. Questa sorgente di plasma viene denominata “torcia” poiché assume la forma di una fiamma. Osserviamo ora tutte le parti dell’ICP-OES (figura 2):

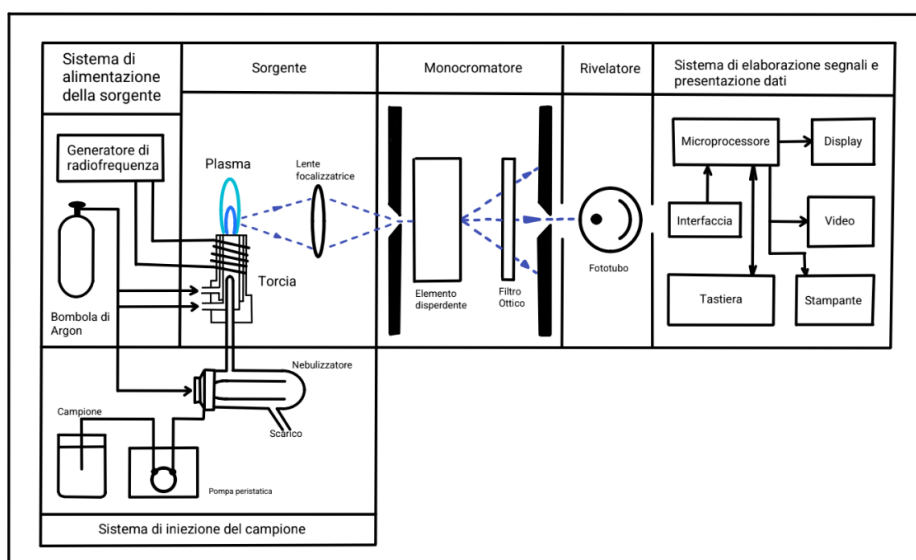


Figura 2: rappresentazione schematica di uno spettrometro ICP-OES

Il sistema di nebulizzazione che viene utilizzato è a flusso coassiale o di Meinhard, deriva dai nebulizzatori per assorbimento atomico, ma realizzato in scala minore, riducendo così pressione e velocità dell’aerosol.

La torcia presenta un diametro di circa 2 cm, è composta da 3 tubi cilindrici concentrici: al centro troviamo l'iniettore il quale è attraversato dal campione nebulizzato con argon denominato "flusso del campione". Questo forma l'anello toroidale del plasma assumendo così la forma di una fiammella; nella copertura più esterna, a spirale, fluisce l'argon di raffreddamento che sostiene il plasma assicurando il corretto scambio termico con le pareti della torcia; nel tubo intermedio è presente un flusso ausiliario di argon, il quale serve a facilitare l'inserimento della nebulizzazione nel centro del plasma, impedendogli inoltre di raggiungere la parte superiore dei tubi interni.

Le radiazioni emesse dalla torcia vengono raccolte in direzione radiale e assiale, quest'ultima va a distorcere la parte più fredda della fiammella, escludendo così tale zona della torcia, questo permette di abbassare i limiti di rilevabilità, migliorando il rapporto segnale/rumore e riducendo l'effetto matrice.

Il policromatore a reticolo di dispersione concavo suddivide le righe di emissione tramite una lastra trasparente in cui sono incise una serie di fenditure, tra le quali può passare la luce. Quando la luce incide sul reticolo, viene dispersa in base alla sua lunghezza d'onda. Questo significa che le diverse righe di emissione vengono divise in modo tale da poterle analizzare separatamente.

Il rivelatore è di tipo "Charge-Coupled Device". La luce dispersa, separata nelle sue componenti spettrali, colpisce il rivelatore e ogni pixel del CCD rileva l'intensità della luce in una determinata regione dello spettro. La radiazione viene così convertita in cariche elettriche proporzionali all'intensità luminosa. Queste cariche sono quindi lette dal rivelatore e convertite in segnali elettrici, i quali vengono quindi elaborati digitalmente per ottenere uno spettro di emissione del campione.

3. Fluorimetria a raggi X (XRF)^{6,7}

La spettrofotometria XRF o "X-Ray Fluorescence Spectroscopy" (figura 3) è un tipo di spettroscopia non distruttiva che permette di eseguire un'analisi semi-quantitativa di un campione, solido o liquido. Si basa sulla misura della lunghezza d'onda e dell'intensità dei raggi X emessi da un campione, a seguito di un'eccitazione da parte della radiazione prodotta da un tubo a raggi X; è una tecnica di superficie, poiché il raggio primario non penetra molto in profondità del campione: tipicamente pochi micrometri per un elemento pesante come l'oro, fino ad arrivare a mezzo millimetro per elementi più leggeri come l'alluminio.

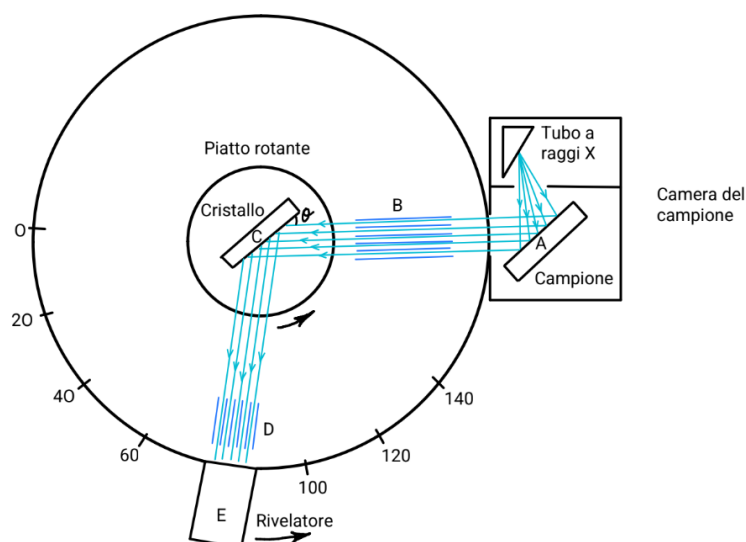


Figura 3: rappresentazione schematica di uno spettrometro XRF

Il tubo a raggi X emette un fascio di raggi X che irradia il campione nella camera, innescando la fluorescenza caratteristica (A). Questo fenomeno si verifica quando la radiazione colpisce gli atomi del campione con sufficiente energia da far espellere un elettrone dagli orbitali più interni degli atomi che costituiscono il campione. Questa perdita crea uno ione instabile, e la lacuna elettronica viene prontamente compensata da un altro elettrone proveniente da uno dei gusci più esterni. Tale transizione elettronica genera l'emissione caratteristica di fluorescenza, rappresentata da un fotone con una lunghezza d'onda specifica corrispondente alla differenza di energia dei due livelli elettronici coinvolti. La radiazione emessa è collimata con un sistema di fenditure su un cristallo (B), il quale è posizionato su un piatto rotante (C). Durante la rotazione del cristallo, varia anche l'angolo θ di incidenza della radiazione di fluorescenza emessa. Solo la radiazione di lunghezza d'onda tale da soddisfare la legge di Bragg ($\theta = \frac{n\lambda}{2d}$)^e, per quel particolare θ raggiungerà quindi il rivelatore (E), passando per un ulteriore set di fenditure (D). Notiamo come il rivelatore e il tavolo rotante siano connessi in modo da ruotare contemporaneamente; quando il cristallo ruota di un angolo θ , il rivelatore ruoterà di 2θ ; risulterà così che il rivelatore sarà sempre nella posizione corretta per ricevere i raggi riflessi dal cristallo.

^e Tale formula vale per angoli piccoli, per i quali il valore del $\sin(\theta)$ coincide circa con quello dell'angolo

IV. PARTE SPERIMENTALE⁴

Il metodo di analisi utilizzato in questo lavoro di tesi si basa sulla norma europea UNI EN ISO 21392 dell'ottobre 2021, intitolata "*Cosmetics – Analytical Methods – Measurement of traces of heavy metals in cosmetic finished products using ICP-MS technique*"⁴. Questa norma descrive la misurazione delle tracce di metalli pesanti nei prodotti cosmetici finiti utilizzando la tecnica ICP-MS (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*). Tuttavia, poiché non disponiamo di uno spettrometro di massa, il metodo è stato adattato per l'utilizzo dello spettrometro di emissione ottica al plasma (ICP-OES), indagando precisione e accuratezza e facendo riferimento ai valori dati dalla norma⁴.

1. Preparazione dei campioni

Sono stati selezionati diversi campioni: una terra, un contour doppio in polvere, un bronzer, un ombretto, una cipria e un blush di diverse marche. Per ogni campione sono state preparate quattro aliquote indipendenti da 200 mg ciascuna, ogni ciclo di digestione presentava almeno 1 contenitore con all'interno il bianco processo, ovvero contenente solo i reagenti. La metodologia adottata per pesare ed omogeneizzare i campioni si basa sulla tecnica della quartatura, che consiste nella suddivisione in sequenza del campione in sottoinsiemi, nel nostro caso quattro, seguita in ogni passaggio da un accurato processo di omogeneizzazione al fine di ottenere una stima più precisa e rappresentativa del campione.

In seguito, sono stati aggiunti 1 ml di acqua di grado 2 (ISO 3696) e 5 ml di acido nitrico al 65%, e si è atteso circa 30 minuti per osservare se avvenissero eventuali reazioni incontrollate. Successivamente, è stato aggiunto 1 ml di acido cloridrico al 37% attendendo ulteriori 5 minuti.

Chiusi i contenitori del digestore e assicurati negli appositi slot, è stato fatto partire il programma di temperatura di riscaldamento del digestore, rappresentato in figura 4:

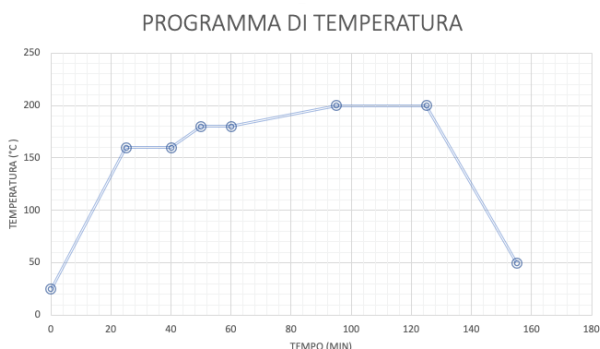


Figura 4: Profilo del programma di temperatura usato nella digestione dei campioni

- 1) Riscaldamento da temperatura ambiente fino a 160°C in 25 minuti,
- 2) Isoterma a 160°C per 15 minuti,
- 3) Riscaldamento da 160°C a 180° in 10 minuti,
- 4) Isoterma a 180°C per 10 minuti,
- 5) Riscaldamento da 180°C a 200°C in 35 minuti,
- 6) Isoterma a 200°C per 30 minuti
- 7) Raffreddamento da 200°C per 30 minuti
- 8) Raffreddamento fino a 50°C, prima di rimuovere il contenitore

Vengono trasferiti quantitativamente i campioni, portati a volume a 40 ml e filtrati su carta, successivamente è stata eseguita una diluizione 1:2 per mantenere la percentuale di acido nitrico al di sotto del 5%, limite per l'ICP. I campioni così diluiti possono poi essere analizzati con l'ICP-OES.

2. Preparazione soluzioni standard

I metalli sono quantificati attraverso il metodo della retta di taratura esterna. Gli intervalli della retta di taratura sono scelti in funzione del livello di concentrazione del metallo atteso nel campione, della sensibilità strumentale e compresi all'interno dell'intervallo di linearità del metodo. Le soluzioni di taratura sono preparate al momento dell'analisi per diluizione di soluzioni di riferimento, nel nostro caso è stato utilizzato uno standard multicomponente della Agilent con concentrazione pari a 100 µg/ml, in figura 5 viene riportato il certificato.

Per le soluzioni "madri", sono portati a volume con sola acqua di tipo 2. Per le soluzioni "figlie", invece, prima di portare a volume a 100 ml con acqua di tipo 2, sono aggiunti rispettivamente 6.26 ml di acido nitrico e 1.36 ml di acido cloridrico. Questo processo porta la soluzione al 5.70% di HNO₃ e allo 0.60% di HCl, che sono le percentuali finali ottenute a seguito della diluizione dei campioni. Queste concentrazioni permettono di avvicinarsi il più possibile alla matrice del campione da analizzare.

Tabella 2: diluizioni madre da standard

	Concentrazione (µg/ml)			
CRM	100		Volume prelevato (ml)	Volume totale (ml)
Madre 1	1		1 da CRM	100
Madre 2	0.1		1 da Madre 1	10

772.23.5

Component Name	Concentration	Expanded Uncertainty	CAS#	Analyte Lot
aluminum nitrate nonahydrate (ICP grade) (as aluminum)	100.1	± 0.5 µg/mL	007784-27-2	RM15137
barium nitrate (ICP grade) (as barium)	100.0	± 0.5 µg/mL	010022-31-8	RM15201
beryllium acetate (ICP grade) (as beryllium)	100.0	± 0.5 µg/mL	000545-81-7	RM15228
biometh (ICP grade)	100.0	± 0.5 µg/mL	007440-88-9	RM15232
boric acid (ICP grade) (as boron)	100.1	± 0.5 µg/mL	010600-36-5	RM15236
cadmium nitrate hexahydrate (ICP grade) (as cadmium)	100.2	± 0.5 µg/mL	010022-68-1	RM15288
calcium carbonate (ICP grade) (as calcium)	100.1	± 0.5 µg/mL	000471-34-1	RM15284
chromium (VI) nitrate nonahydrate (ICP grade) (as chromium)	100.4	± 0.5 µg/mL	007738-02-8	RM14409
cobalt nitrate hexahydrate (ICP grade) (as cobalt)	100.1	± 0.5 µg/mL	010028-22-9	RM15280
copper (II) nitrate hexahydrate (ICP grade) (as copper)	100.1	± 0.5 µg/mL	010031-43-3	RM15229
gadolinium (ICP grade)	100.0	± 0.5 µg/mL	007440-85-3	RM15229
iron (II) nitrate hexahydrate (ICP grade) (as iron)	100.0	± 0.5 µg/mL	007732-01-8	RM15234
lead (II) nitrate (ICP grade) (as lead)	100.1	± 0.5 µg/mL	010008-74-8	RM15232
lithium carbonate (ICP grade) (as lithium)	100.1	± 0.5 µg/mL	000044-13-2	RM15234
magnesium nitrate hexahydrate (ICP grade) (as magnesium)	100.1	± 0.5 µg/mL	011446-08-0	RM15234
manganese (II) nitrate (ICP grade) (as manganese)	100.1	± 0.5 µg/mL	010371-06-9	RM15219
nickel (II) nitrate hexahydrate (ICP grade) (as nickel)	100.1	± 0.5 µg/mL	013478-00-7	RM15144
potassium nitrate (ICP grade) (as potassium)	100.1	± 0.5 µg/mL	007767-79-1	RM14214
selenium (IV) nitrate (ICP grade) (as selenium)	100.0	± 0.5 µg/mL	001460-08-4	RM15294
sodium nitrate (ICP grade) (as sodium)	100.1	± 0.5 µg/mL	007051-09-4	RM15202
strontium nitrate (ICP grade) (as strontium)	100.1	± 0.5 µg/mL	010042-79-9	RM15274
tellurium (ICP grade)	100.0	± 0.5 µg/mL	013404-00-0	RM15202
thallium (I) nitrate (ICP grade) (as thallium)	100.0	± 0.5 µg/mL	010102-45-1	RM15294
zinc nitrate hexahydrate (ICP grade) (as zinc)	100.1	± 0.5 µg/mL	011106-18-6	RM15277

Matrix: 5% nitric acid with trace hydrofluoric acid in water

Description: This document is prepared in accordance with ISO 17034 and Guide 31. This analytical reference material (RM) was manufactured and verified in accordance with an ISO 9001 registered quality system. The analyte concentration(s) were prepared and verified by an ISO 17034 / ISO 17025 accredited laboratory and compared to calibration standards independently prepared using NIST SRMs, when available. The certified value and uncertainty value at the 95% confidence level for each analyte is determined gravimetrically.

Figura 5: certificato dello standard multicomponente Agilent

Tabella 3: diluizioni degli standard

	Concentrazione ($\mu\text{g/ml}$)	Volume prelevato (ml)	Volume prelevato da:
Standard 0,5 ppb	0.0005	0.500	
Standard 1 ppb	0.0010	1.000	Madre 2
Standard 2 ppb	0.0020	2.000	
Standard 5 ppb	0.0050	0.500	
Standard 10 ppb	0.0100	1.000	Madre 1
Standard 25 ppb	0.0250	2.500	
Standard 50 ppb	0.0500	5.000	

V. Analisi dei dati e risultati sperimentali

1. Analisi con XRF

Preliminarmente è stata eseguita un'analisi, non distruttiva, sui campioni tramite XRF, grazie alla quale è stato ottenuto uno screening iniziale di tutti gli elementi presenti nei campioni, i valori in tabella 4 sono riportati in ppm.

Tabella 4: valori ottenuti tramite l'analisi con spettroscopia XRF (in ppm)

	Terra	Contour scuro	Contour chiaro	Bronzer	Ombretto	Blush minerale	Cipria
Al	7.6	3.8	17.7	9.8	4.1	22.5	0.4
Ar	0.02						
Ba	0.04	0.01	0.04				
Ca	1.3	0.2	0.5	10.0	0.3	0.4	1.0
Cl					0.09	0.05	
Er				0.02		0.01	
Fe	19.0	9.4	8.0	18.2	6.1	9.8	2.7
Ga						0.01	
K	10.8	5.0	21.0	7.9	3.1	14.0	0.03
La							0.01
Mg	8.3	0.8	4.4	14.0	4.6	0.5	26.6
Mn	0.07	0.03	0.04	0.03	0.01	0.06	
Na				2.3	0.8		1.1
Ni	0.01						
P	1.2	0.3	0.8	0.7	0.4	0.5	1.4

Rb	0.03	0.02	0.05	0.02	0.01	0.07	
S	0.1	0.1	0.1	0.06	0.1	5.7	0.03
Si	37.4	7.8	37.9	36.2	21.2	29.3	66.7
Tb		0.011					
Ti	11.8	6.4	9.4	0.7	0.09	17.0	0.05
U							0.01
V	0.06	0.3	0.05			0.09	
Zn	2.3			0.01		0.02	0.01
Zr	0.02						

L'analisi XRF è fondamentale perché fornisce una prima idea della composizione della matrice del campione, questo aiuta a scegliere le lunghezze d'onda più accurate nell'ICP-OES, considerando i possibili interferenti presenti nei campioni. L'XRF permette anche di identificare rapidamente gli elementi principali, facilitando una preparazione più accurata e mirata delle analisi successive. Possiamo osservare che in tutti i campioni analizzati gli elementi più abbondanti sono silicio (Si), ferro (Fe), titanio (Ti), potassio (K) e magnesio (Mg). La presenza di questi elementi può essere spiegata andando a osservare la composizione e i pigmenti di base dei cosmetici in polvere. La silice agisce come viscosizzante e texturizzante, andando a modificare le caratteristiche tattili del prodotto e migliorando la scorrevolezza e la stendibilità, oltre a ridurre l'effetto oleoso. Il talco, un silicato di magnesio con piccole quantità di silicato di alluminio, viene utilizzato come filler per la sua trasparenza e il costo ridotto. I borosilicati di calcio e alluminio conferiscono un effetto soft focus e migliorano la scorrevolezza, oltre a fungere da booster SPF. I pigmenti inorganici e organici possibili comprendono ossidi di ferro, che forniscono colori come giallo, bruno, rosso e marrone; ossidi di cromo, che danno verde e turchese; ferrocianuro ferrico, noto come blu di Prussia; pirofosfato di manganese, che offre colori viola e rosa; silicati di alluminio, che producono colori rosa, viola, azzurro e lilla; ossido di zinco e biossido di titanio, che sono bianchi; carbonato di calcio, usato come assorbente per il suo basso potere coprente; carbonato di magnesio, che facilita la compattatura; caolino, con un alto potere assorbente e opacizzante, disponibile in colori grigio, verdastro e avorio; stearati di zinco, calcio e magnesio, che migliorano la scorrevolezza^{9,10}. Tutti questi composti sono coerenti con i risultati ottenuti all'XRF.

2. Analisi con L'ICP-OES

L'analisi principale si effettua con l'ICP-OES. Sono stati impostati i seguenti parametri:

Tabella 5: Condizioni operative utilizzate per ICP-OES

Repliche di misura	3
Velocità di pompaggio (rpm)	12
Tempo di aspirazione del campione (s)	25
Tempo di risciacquo	30
Tempo di lettura (s)	5
RF Power (KW)	1.2
Tempo di stabilizzazione (s)	15
Flusso del nebulizzatore (L/min)	0.7
Flusso del plasma (L/min)	12
Flusso in uscita (L/min)	1
Modalità di visione	Assiale

La scelta delle lunghezze d'onda per ogni elemento è una fase cruciale, che si basa su diversi fattori come l'intensità, la matrice del campione, la presenza di interferenti ecc... Ad esempio, nel nostro caso, gli interferenti principali sono il ferro e il silicio, identificati tramite l'analisi con l'XRF nel capitolo 5.1.

Pertanto, sono state scelte lunghezze d'onda che non presentano tali interferenze.

- *Cadmio*: la lunghezza d'onda è 228.802 nm con LoD^f 0.5 ppb
- *Cromo*: la lunghezza d'onda scelta è la 267.716 nm con LoD^e 1 ppb
- *Nichel*: la lunghezza d'onda scelta è 227.021 nm con LoD^e 2 ppb
- *Piombo*: la lunghezza d'onda scelta è 220.353 nm con LoD^e 5 ppb

La sequenza analitica è stata la seguente: bianco, standard, bianco, bianco processo, campioni, carte di controllo. Il software esegue una retta di calibrazione lineare pesata, con un R^2 che deve essere maggiore di 0.995, ogni soluzione viene letta dallo strumento 3 volte ed eseguita una media delle letture, in output quindi avremo le intensità per i vari standard e le concentrazioni per i campioni analizzati.

^f Questi valori di LoD sono riportati nella norma "Metodi Analitici per le Acque" (ISBN 88-448-0083-7)¹³ i quali poi andranno verificati

○ **Retta di calibrazione e linearità**

Le rette di calibrazione, come detto in precedenza, si basano sul metodo lineare pesato. Per verificare la loro linearità, vengono analizzati tre set di standard indipendenti. Attraverso l'analisi dei dati, si esaminano le fasce di confidenza della retta e viene condotto uno studio sui residui.

Le fasce di confidenza vengono calcolate per ogni punto della retta con la seguente formula, sapendo che x è la concentrazione, y è il segnale e S_{retta} è la deviazione standard della retta avremo:

$$x = y_{calc} \pm t_{student} * S_{retta}$$

Con:

- $y_{calc} = a + b * C_{std}$
- $b = \frac{n \sum_{i=0}^n (x_i y_i) - \sum_{i=1}^n x_i * \sum_{i=1}^n y_i}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$
- $a = \bar{y} - b \bar{x}$
- $S_{retta} = S_{y/x} * \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$
- $S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - y_{i,retta})^2}{n-2}}$

Inoltre, troviamo C_{std} che è la concentrazione in ppb del singolo standard, a e b sono intercetta e pendenza della retta e $S_{y/x}$ è la deviazione standard degli scarti tra i punti e la retta.

Il t di Student è una variabile che consente di confrontare due set di dati. Si basa su una distribuzione continua che dipende dal numero di valori disponibili (n). Il valore di t è in funzione dei gradi di libertà $n-2$ e del livello di significatività α scelto, nel nostro caso 0.025%.

I residui si calcolano come:

$$e_N = \frac{y_{regr} - y_{sper}}{S_{res}}$$

Con:

- $y_{reg} = b * C_{std} + a$
- $S_{res} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{reg} - y_{sper})^2}{n-2}}$

Troviamo S_{res} deviazione standard dei resiui, y_{reg} e y_{sper} sono rispettivamente il segnale di regressione e il segnale sperimentale ottenuto dall'ICP-OES.

Per disegnare il grafico poi è stata eseguita la media per ogni valore di concentrazione di standard.

Nella pagina seguente troviamo i grafici di linearità e dei residui per ogni elemento (figure 7-12).

Cadmio a 228.802 nm

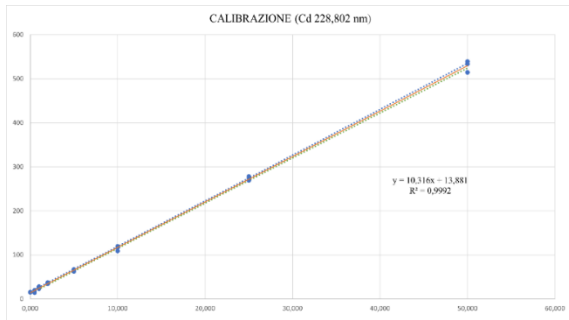


Figura 7: Calibrazione cadmio

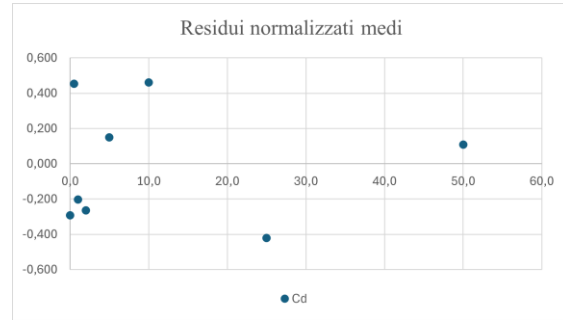


Figura 6: Residui normalizzati medi cadmio

Cromo a 267.716 nm

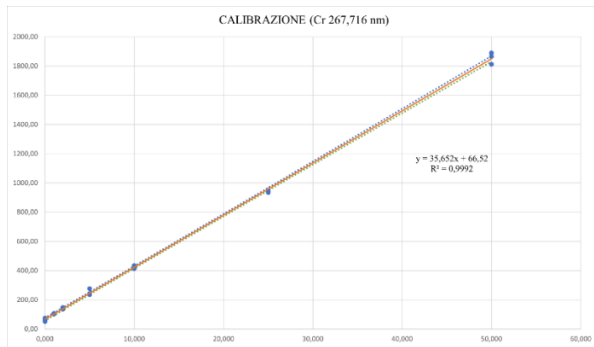


Figura 11: Calibrazione cromo

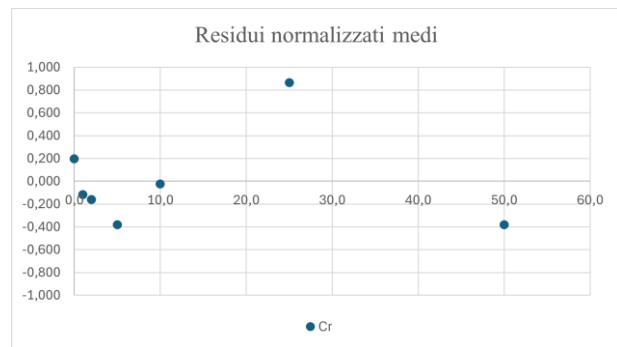


Figura 8: Residui normalizzati medi cromo

Nichel a 227.021 nm

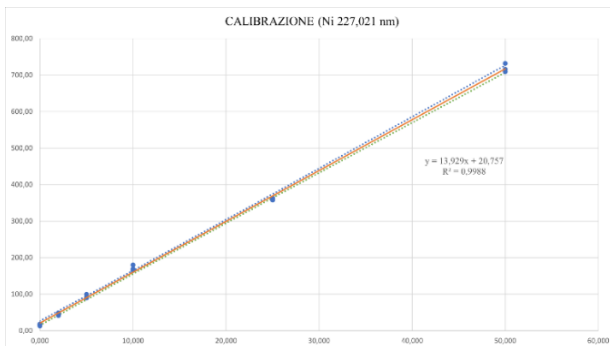


Figura 9: Calibrazione nichel

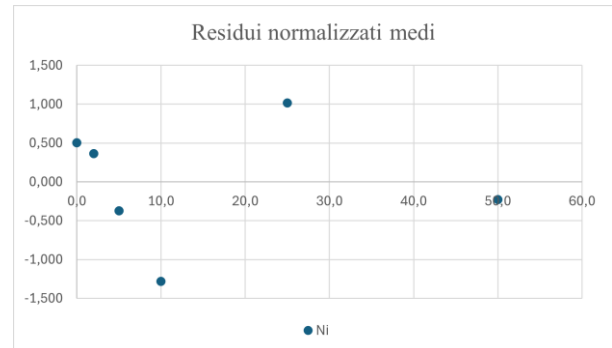


Figura 10: Residui normalizzati medi nichel

Pb a 220.353 nm

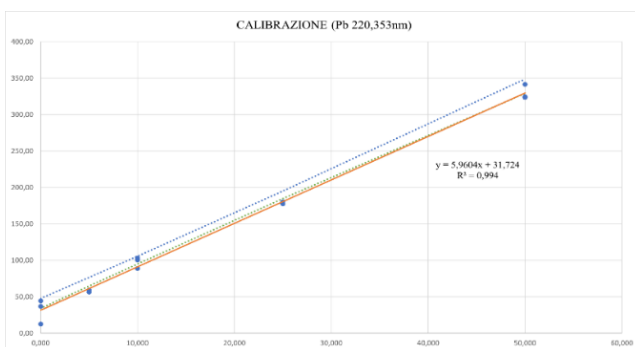


Figura 13: Calibrazione piombo

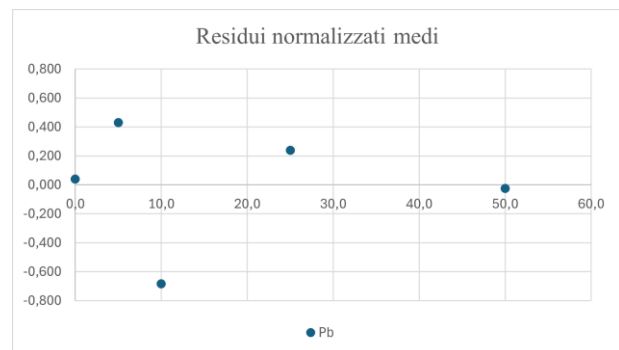


Figura 12: Residui normalizzati medi piombo

È possibile osservare che per quasi tutti gli elementi, la retta di calibrazione (arancione) è ben inclusa all'interno delle fasce di confidenza (azzurra e verde), che risultano essere molto strette. La distribuzione dei residui appare generalmente casuale, questo indica che la regressione lineare è ottimale. Solo per il piombo, le fasce di confidenza sono leggermente più ampie rispetto agli altri elementi e la retta di regressione non è ben compresa all'interno di esse.

Viene eseguito anche l'F-test il quale controlla se i dati siano distribuiti normalmente, questo è vero se l'F calcolato è minore del valore di F critico che dipende anch'esso dai gradi di libertà e dal livello di confidenza, troviamo i valori in tabella 6:

Tabella 6: F-test

Elemento	F calcolato	F critico
Cadmio	0.00073	3.4668
Cromo	0.00094	3.5546
Nichel	0.00019	3.6823
Piombo	0.00049	3.8853

○ **Limite di rilevabilità (LoD) e limite di quantificazione (LoQ)**

Per indicare correttamente la concentrazione di analita nei campioni, è necessario definire due limiti fondamentali: il limite di rilevabilità (LoD) e il limite di quantificazione (LoQ).

Il LoD, (Limit of Detection), è la concentrazione più bassa di analita che può essere rilevata dallo strumento con un certo livello di fiducia; questo limite determina la capacità di affermare la presenza o l'assenza dell'analita. Il LoQ, (Limit of Quantification), invece rappresenta la concentrazione più bassa alla quale l'analita può essere misurato quantitativamente con precisione e accuratezza accettabili. Questi valori sono stati calcolati con due metodi:

1. Metodo EPA

$$i. x_{LoD} = \frac{t_{stud} * s_{res}}{b}$$

$$ii. x_{LoQ} = 3 * x_{LoD}$$

2. Primo punto di taratura

$$i. x_{LoD} = \frac{3 * s_0 * \bar{y}_i}{x_i} \rightarrow \text{LoD come determinazione dello scarto tipo a bassi livelli}$$

$$ii. x_{LoQ} = 3 * x_{LoD}$$

Con s_0 si intende la deviazione standard dei 9 valori di intensità alla concentrazione stabilita per il primo punto di taratura x_i , mentre \bar{y}_i rappresenta la media dei valori di intensità, a quel livello di concentrazione

Di seguito vengono riportati i valori di LoD e LoQ per gli elementi con i due metodi:

Tabella 7: LoD e LoQ con metodo EPA e con il primo punto di taratura, i valori sono espressi in ppb.

	Metodo	LoD	LoQ
Cadmio	EPA	1.0	3.0
	1° punto (0.5 ppb)	0.46	1.4
Cromo	EPA	1.0	3.1
	1° punto (1 ppb)	0.14	0.41
Nichel	EPA	1.4	4.1
	1° punto (2 ppb)	1.2	3.5
Piombo	EPA	3.2	9.7
	1° punto (5 ppb)	2.8	8.5

○ **Campioni**

Il valore ottenuto dall'analisi con ICP-OES non rappresenta la concentrazione reale dell'analita nel campione. Pertanto, è stato eseguito un calcolo per determinare la concentrazione effettiva C , tenendo conto del peso del campione $m_{campione}$ e del fattore di diluizione D :

$$C = \frac{(x_{ICP} - x_{bianco\ processo}) * D}{m_{campione} * 1000}$$

È stata poi eseguita la media (\bar{C}) delle 4 aliquote ottenute per ogni campione, per ogni elemento.

I campioni per essere riportati in modo corretto devono soddisfare alcuni parametri:

- Se $\bar{x}_{ICP} < x_{LoD}$ oppure se $\bar{C} < s_c$: l'analita sarà "assente"
- Se $x_{LoD} < \bar{x}_{ICP} < x_{LoQ}$: l'analita sarà "presente"
- Se $\bar{x}_{ICP} > x_{LoQ}$: l'analita sarà espresso come $\bar{C} \pm s_c$

Con \bar{x}_{ICP} che rappresenta la concentrazione media in output dall'ICP in ppb e \bar{C} invece la concentrazione media tenendo conto di massa e fattore di diluizione in ppm.

Definiamo la s_c come l'errore composto tra la retta di taratura e lo scarto tipo dei campioni:

$$s_c = \sqrt{u_c^2 + u_{tar}^2}$$

Con: $u_c = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$ e $u_{tar} = \frac{s_{res}}{b} * \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_i - \bar{y})^2}{b^2 * \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$

Sapendo che u_c è l'incertezza tipo associata alla stima della ripetibilità del metodo, s_r lo scarto tipo di ripetibilità dei risultati e n il numero di misurazioni effettuate; invece u_{tar} è l'incertezza associata alla regressione lineare con m il numero di letture del campione sulla curva di taratura e n il numero dei punti di taratura, per y_i è stato scelto il punto centrale a 25 ppm, questo perché disponendo di bande di confidenza rette e strette, l'errore si può considerare costante in tutti i suoi punti.

Viene scelto il metodo più conservativo per il LoD e il LoQ, ovvero l'EPA, facendo riferimento alle regole descritte nella pagina precedente in tabella 8 troviamo le concentrazioni dei vari analiti nei campioni:

Tabella 8: Concentrazioni dei vari analiti nei campioni in ppm

	Cadmio	Cromo	Nichel	Piombo
Terra	Assente	6.1 ± 0.6	4.2 ± 0.8	Presente
Contour Scuro	Assente	9.4 ± 0.9	9 ± 1	5 ± 2
Contour Chiaro	Assente	11 ± 4	6.2 ± 0.1	4 ± 2
Bronzer	Assente	9 ± 3	5.6 ± 0.9	Presente
Ombretto	Assente	3 ± 1	2.2 ± 0.9	Presente
Blush	Assente	26 ± 5	9.9 ± 0.9	6 ± 2
Cipria	Assente	Presente	Assente	Assente

Per completare l'analisi e verificare l'accuratezza del metodo, è stato effettuato il recupero utilizzando un campione fortificato con due spike: uno a 10 ppb e uno a 25 ppb. Tale aggiunta è stata eseguita utilizzando una soluzione intermedia a 0.5 ppm, ricavata da una diluizione 1:200 dello standard multielemento (100 ppm), utilizzato per la preparazione degli standard (vedi cap. 4.2).

È stato scelto un campione, nel nostro caso "Terra" e sono state preparate:

- 2 aliquote senza spike
- 2 aliquote con spike a 10 ppb, tramite aggiunta di 1.6 ml di soluzione intermedia
- 2 aliquote con spike a 25 ppb, tramite aggiunta di 4 ml di soluzione intermedia

I campioni poi hanno eseguito lo stesso percorso del metodo descritto al capitolo 4.1, cioè mineralizzazione a caldo, filtrazione, diluizione e infine analisi all'ICP-OES.

Il recupero accettabile varia dall' 80% al 120%² e si calcola con la seguente formula:

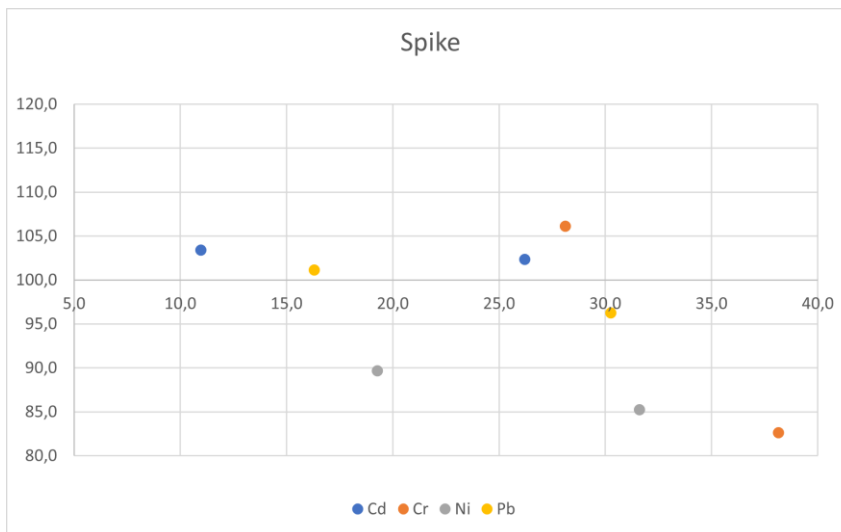
$$R_{\%} = \frac{\bar{x}_{spike} - \bar{x}_{no\ spike}}{\mu_{spike}} * 100$$

Con \overline{x}_{spike} la media della concentrazione ottenuta dall'ICP-OES tramite le 2 aliquote del campione con l'aggiunta e $\overline{x}_{no\ spike}$ la media della concentrazione ottenuta dal campione senza aggiunta e μ_{spike} è la concentrazione in ppb dell'aggiunta che è stata effettuata.

Otteniamo così i seguenti risultati (tabella 9):

Tabella 9: recupero per il campione "terra"

	\overline{x}_{spike} (in ppb)	Recupero (%)
Cadmio	11.0	103
	26.2	102
Cromo	28.1	106
	38.2	83
Nichel	19.3	90
	31.6	85
Piombo	16.3	101
	30.3	96



Possiamo osservare in figura 14 come il recupero per entrambe le concentrazioni e per tutti e 4 gli elementi analizzati sia compreso nella fascia richiesta per l'accettabilità.

Figura 14: recupero % rispetto alla concentrazione

VI. Conclusioni e sviluppi futuri

La sicurezza dei prodotti è un tema molto sentito in questi anni, andare a verificare metodi differenti per l'analisi delle tracce di metalli pesanti nei prodotti cosmetici è molto importante.

Il lavoro svolto in questa tesi è iniziato come un'attività di sondaggio per controllare la validità dell'ICP-OES per l'analisi delle tracce di metalli pesanti nei prodotti cosmetici, abbiamo mirato a valutare se questo strumento potesse fornire risultati comparabili a quelli ottenuti con il metodo basato sull'ICP-MS⁴.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che il metodo può essere validato, presentando stabilità del segnale e sovrapposizione dei picchi adeguate, tramite l'analisi dati è emersa l'accuratezza e la sensibilità del metodo, elementi cruciali per questa l'analisi, inoltre la metodologia è risultata ben dimensionata per lo scopo, riuscendo a soddisfare i requisiti di precisione richiesti. La capacità dell'ICP-OES di rilevare e quantificare accuratamente i metalli pesanti nei campioni cosmetici si conferma efficace per questa analisi.

Possiamo osservare le differenze nei LoD rispetto a quelli riportati nel metodo “*Metodi Analitici per le Acque*”¹² nel paragrafo 5.2. Nella tabella 10 vengono presentati i valori tabulati del metodo e quelli calcolati utilizzando il metodo EPA.

Tabella 10: LoD tabulati e calcolati in ppb

	Metodo	LoD (ppb)
Cadmio	Tabulati	0.5
	EPA	1.0
Cromo	Tabulati	1
	EPA	1.0
Nichel	Tabulati	2
	EPA	1.4
Piombo	Tabulati	5
	EPA	3.2

Osserviamo come tali valori non si discostano molto, questo è considerato positivo perché rispecchia l'accuratezza del metodo utilizzato in questa tesi.

Facendo poi, riferimento alla tabella 1 possiamo riscrivere la tabella 8 evidenziando i valori di concentrazione considerati fuori dalle linee guida europee (tabella 11):

Tabella 11: tabella 8 evidenziando valori non consoni

	Cadmio	Cromo	Nichel	Piombo
Terra	Assente	6.1 ± 0.6	4.2 ± 0.8	Presente
Contour Scuro	Assente	9.4 ± 0.9	9 ± 1	5 ± 2
Contour Chiaro	Assente	11 ± 4	6.2 ± 0.1	4 ± 2
Bronzer	Assente	9 ± 3	5.6 ± 0.9	Presente
Ombretto	Assente	3 ± 1	2.2 ± 0.9	Presente
Blush	Assente	26 ± 5	9.9 ± 0.9	6 ± 2
Cipria	Assente	Presente	Assente	Assente

Il cromo presenta concentrazioni molto elevate poiché la nostra analisi considera il cromo totale. Come spiegato nel capitolo 5.1, il colorante maggiormente utilizzato in questo tipo di prodotti è l'ossido di cromo, il che è coerente con i risultati analitici ottenuti. Tuttavia, questo dato non è rappresentativo della tossicità del prodotto, poiché per valutarla sarebbe necessario uno studio specifico sulla concentrazione di cromo(VI).

Questo metodo, andando ad analizzare quantitativi di analita molto bassi, richiede l'utilizzo di stanze e vetreria dedicata, inoltre una pulizia accurata dell'ambiente di lavoro e dei risciacqui delle attrezzature con acido nitrico. Tutte queste precauzioni sono necessarie per prevenire la contaminazione incrociata e garantire l'integrità dei risultati.

In conclusione, l'ICP-OES si è dimostrato uno strumento eccellente per l'analisi di tracce di metalli pesanti nei prodotti cosmetici. La sua capacità di fornire risultati precisi e affidabili, unita alla necessità di misure preventive per evitare contaminazioni, ne fa una scelta ottimale per questo tipo di analisi. Questo studio conferma che l'ICP-OES può essere utilizzato efficacemente come alternativa all'ICP-MS, offrendo una soluzione valida e robusta per la misurazione dei metalli pesanti nei prodotti cosmetici finiti.

Bibliografia

1. Regolamento CE 1223/2009
2. Alimonti, A., Bocca, B., Buratti, F.M., Fabbri, E., & Tesstai, E. (2019). *"Metalli in prodotti cosmetici: procedure raccomandate per la determinazione e valutazione dei rischi per la salute."* Rapporti ISTISAN 19/18.
3. Ministero della Salute. *"Metalli pesanti e cosmetici."* Disponibile su: https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_sostanzePericolose_673_1_documento.pdf
4. UNI EN ISO 21392 (2021). *"Cosmetici - Metodi per la determinazione di metalli pesanti."*
5. ISO 11885 (2007). *"Qualità dell'acqua - Determinazione degli elementi selezionati mediante spettrometria di emissione atomica a plasma accoppiato induttivamente (ICP-OES)."*
6. Bonisconi, L. (1977). *Introduzione alla spettrometria dei raggi X di fluorescenza.* Milano: Etas Libri.
7. Whiston, C. (1987). *X-Ray Methods – Analytical Chemistry by Open Learning.* London: ACOL, Thames Polytechnic, by Wiley.
8. Cozzi, R., Protti, P., & Ruaro, T. (1997). *Elementi di chimica strumentale.* Bologna: Zanichelli.
9. Lanzendörfer-Yu, G., & Ghita, G. (2021). "Colorants in cosmetic applications." *Physical Sciences Reviews*, 6(12), 835-877. <https://doi.org/10.1515/psr-2020-0161>
10. D'Agostinis, G., & Mignini, E. (2022). *Manuale del cosmetologo.* Milano: Tecniche nuove.
11. Borowski, K. (2003). *Tips and techniques for Ethos Series Microwave Lab Stations.* Mileston Inc.
12. CNR - IRSA Istituto di Ricerca Sulle Acque. *Metodi Analitici per le Acque* (ISBN 88-448-0083-7). Risorse e servizi - L13 - manuale dei metodi. https://www.irsa.cnr.it/wp/?page_id=5435